FLÁVIA SIQUEIRA CUNHA

**Prevalência dos fatores de risco cardiovascular em
homens transexuais em tratamento com ésteres de
testosterona e sua associação com as variantes
polimórficas do gene do receptor androgênico**

**Tese apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutora em Ciências**

Programa de Endocrinologia

**Orientadora: Profa. Dra. Sorahia Domenice
Co-orientadora: Profa. Dra. Tânia Aparecida
Sartori Sanchez Bachega**

São Paulo

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Cunha, Flávia Siqueira

Prevalência dos fatores de risco cardiovascular em homens transexuais em tratamento com ésteres de testosterona e sua associação com as variantes polimórficas do gene do receptor androgênico / Flávia Siqueira Cunha -- São Paulo, 2017.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Endocrinologia.

Orientador: Sorahia Domenice.

Coorientador: Tânia Aparecida Sartori Sanchez Bachega.

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Hormônios e Genética Molecular LIM/42 da Divisão de Endocrinologia e Metabologia, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

Apoio: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq; processo nº 457978/2014-7)

Dedicatória

A todos os indivíduos transgêneros.

Agradecimentos

Começo por Deus porque tudo começa por Ele.

Agradeço à minha mãe Margareth por ser a grande inspiração para tudo que busco e alcanço.

Aos meus dois amados pais Aldo (in memorian) e Otávio.

Às minhas irmãs Mônica e Manu, minhas melhores amigas.

Aos meus avós (in memorian) Márjurie e Ricardo, que estão olhando lá de cima orgulhosos das minhas vitórias.

À Teté, que sempre cuidou de mim com muito amor.

Ao meu marido e melhor companheiro Carlos Armando.

À minha família, tios, tias, primos e primas que tanto amo e que torcem pelo meu sucesso.

À Dra Nilza Nei Gonçalves Torres, que me introduziu na vida acadêmica nos tempos de iniciação científica, tornando ainda maior meu amor pela endocrinologia e pesquisa.

Agradeço em especial à minha orientadora Profa. Dra Sorahia Domenice, exemplo máximo e pleno de profissional, médica, endocrinologista, pesquisadora e ser humano. Agradeço pelos ensinamentos preciosos, pela amizade, pelo acolhimento e pela convivência feliz nos 4 anos em que desenvolvemos juntas esta obra.

À minha co-orientadora Profa. Dra Tânia Bachega, pelos ensinamentos de bancada, pelas excelentes revisões, pelas reuniões semanais frenéticas e divertidas.

Agradecimentos especiais à Dra Elaine Frade Costa por sua incrível expertise em transexualidade, à Dra Maria Helena Palma Sircili por suas belas artes cirúrgicas em nossos pacientes, à Profa. Dra Berenice Bilharinho de Mendonça, grande mentora e desbravadora do projeto transexualizador no Brasil, e à Profa. Dra Ana Claudia Latrônico, por seu exemplo de renomada pesquisadora.

Às psicólogas Dra Elisa Ugarte e Dra Marlene Inácio, que me ensinaram a entender a alma do indivíduo transexual.

Ao Prof. Dr Luiz Aparecido Bortolotto e Dra Valéria Costa-Hong, pelas fundamentais colaborações no estudo vascular dos nossos pacientes.

À Mariana Funari, pela fantástica orientação na bancada, à Dra Miriam Nishi, à Dra Maria Aparecida Medeiros e à Andresa de Santi pelas especiais colaborações genéticas.

Às minhas queridas Nilda Oliveira e Rosangele Zamboni, por suas contribuições do início ao fim deste projeto.

À Marilda, Greici, Graça e Roseli pelo apoio técnico fundamental.

Aos endocrinologistas e companheiros de pós-graduação Rosana Barbosa, Viviane Yance, Rafael Loch, Nathália Lisboa, José Antônio e Daniela Moraes que me acompanharam nos ambulatorios, tornando o serviço ainda mais agradável e divertido. Aos residentes de endocrinologia do HCFMUSP que me estimularam ao estudo por suas perguntas e dúvidas sempre muito inteligentes.

À estimada amiga endocrinologista Dra Michele Patrocínio, que me conectou ao HCFMUSP, sendo responsável pelo início de tudo.

A todos os amigos e funcionários do LIM/42 – HCFMUSP.

Aos indivíduos transexuais que me ensinaram novos conceitos de normalidade.

Conheça todas as teorias, domine todas as técnicas, mas ao tocar
uma alma humana, seja apenas outra alma humana.
Carl Gustav Jung

Normatização Adotada

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valeria Vilhena. 3a ed. São Paulo. Divisão de Biblioteca e documentação: 2011.

Abreviatura dos títulos dos periódicos de acordo com o *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

LISTA DE SIGLAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE ANEXOS

Resumo

1. Introdução.....	1
1.1 Disforia de gênero e o homem transexual.....	1
1.2 Andrógenos e risco cardiovascular.....	4
1.2.1 Estudos em animais.....	4
1.2.2 Estudos em humanos.....	6
1.3 Homem transexual e risco cardiovascular.....	9
1.4 Propriedades estruturais e funcionais de grandes artérias e risco cardiovascular.....	11
1.5 Trato polimórfico CAG do gene do receptor androgênico e doenças andrógeno-dependentes.....	13
1.6 Gene do receptor androgênico e a inativação do cromossomo X.....	15
2. Justificativa.....	17
3. Objetivos.....	20
4. Pacientes e Métodos.....	22
4.1 Considerações éticas.....	23
4.2 Natureza do estudo.....	23
4.3 Pacientes.....	24
4.3.1 Tamanho da amostra.....	24
4.3.2 Critérios de inclusão.....	24
4.3.3 Grupo controle.....	25
4.3.4 Caracterização do grupo de estudo.....	25
4.4 Obtenção de dados clínicos.....	27
4.4.1 Vícios.....	27
4.4.2 Dados metabólicos.....	28
4.4.3 Dados laboratoriais.....	32
4.4.4 Parâmetros vasculares.....	33
4.5 Estudo molecular.....	34

4.5.1 Extração do DNA a partir de sangue periférico.....	34
4.5.2 Análise do produto amplificado da região de repetições CAG do exon 1 do gene do receptor androgênico de homens transexuais utilizando o software <i>GeneMapper</i>	35
4.5.3 Amplificação de DNA genômico de indivíduos controle do sexo masculino por reação de polimerização em cadeia.....	36
4.5.4 Estudo da inativação do cromossomo X.....	38
4.5.5 Cálculo da média ponderada e classificação do número de repetições CAG do exon 1 do gene do <i>RA</i>	39
4.6 Análise estatística.....	40
5. Resultados	42
5.1 Prevalência de fatores clássicos de risco cardiovascular em homens transexuais em tratamento com ésteres de testosterona.....	43
5.2 Propriedade arteriais (velocidade de onda de pulso carotídeo-femoral, diâmetro, espessura íntima-média e distensão relativa da artéria carótida) em homens transexuais e controles.....	47
5.3 Estudo das repetições CAG do gene do receptor androgênico em homens transexuais.....	53
6. Discussão	60
7. Conclusões	77
8. Anexos	80
9. Referências Bibliográficas	96

Lista de siglas

ADA	Associação Americana de Diabetes
Apo A-I	Apolipoproteína A-I
Apo B	Apolipoproteína B
CA	Circunferência Abdominal
CAPPesq	Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
CEBRID	Centro Brasileiro de Informações Sobre Drogas Psicotrópicas
CID 10	Classificação Internacional de Doenças – versão 10
CQ	Circunferência do Quadril
CT	Colesterol Total
CYP17	Gene Codificador da Enzima 17 Alfa Hidroxilase
DBD	Domínio de Ligação ao DNA
DHT	Di-Hidrotestosterona
DIS	Unidade Disforia de Gênero
DM	Diabetes Mellitus
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
dNTP	Desoxinucleotídeo
DP	Desvio-Padrão
DSM V	Manual Diagnóstico e Estatístico de Doenças Mentais – versão V
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
EIMC	Espessura íntima média carotídea
EPM	Escola Paulista de Medicina
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
GJ	Glicemia de jejum
HbA1c	Hemoglobina Glicada
HCFMSUP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HDLc	Lipoproteína de Baixa Densidade
HOMA IR	Homeostatic Model Assessment – Insulin Resistance
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
HT	Homens Transexuais
IMC	Índice de Massa Corpórea

INCOR	Instituto do Coração
LBD	Domínio de Ligação ao Ligante
LDLc	Lipoproteína de Alta Densidade
LH	Hormônio Luteinizante
MT	Mulheres Transexuais
nCAG	Número de Repetições CAG
NCBI	National Center for Biotechnology and Information
NGSP	National Glycohemoglobin Standardization Program
NTD	Domínio Amino-Terminal
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPAS	Organização Panamericana de Saúde
PA	Pressão Arterial
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PAS	Pressão Arterial Sistólica
PCR	Reação de Polimerização em Cadeia
PP	Pressão de Pulso
RA	Receptor Androgênico
<i>RA</i>	Gene do Receptor Androgênico
Relação C/Q	Relação Cintura-Quadril
SBD	Sociedade Brasileira de Diabetes
SHBG	Globulina Ligadora de Hormônios Sexuais
SOP	Síndrome dos Ovários Policísticos
T	Testosterona
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TG	Triglicerídeos
UNIFESP	Universidade Federal de São Paulo
US	Ultrassonografia
VOP	Velocidade de Onda de Pulso
VOP-cf	Velocidade de Onda de Pulso carotídeo-femoral

Lista de tabelas

Tabela 1 - Características clínicas de homens transexuais em tratamento com ésteres de testosterona.....	26
Tabela 2 - Características pressóricas, antropométricas e laboratoriais de homens transexuais em tratamento com ésteres de testosterona.....	45
Tabela 3 - Distribuição dos homens transexuais em tratamento com ésteres de testosterona segundo presença de comorbidade metabólicas.....	46
Tabela 4 - Distribuição dos homens transexuais em tratamento com ésteres de testosterona segundo vícios.....	47
Tabela 5 - Características clínicas e laboratoriais de homens transexuais e indivíduos controle masculino e feminino pareados para idade e IMC.....	51
Tabela 6 - Correlações entre variáveis clínicas e rigidez aórtica de homens transexuais após análise multivariada.....	53
Tabela 7 - Frequência de alelos curtos (≤ 20) e longos (≥ 23) do trato CAG RA entre homens transexuais com e sem comorbidades metabólicas.....	56
Tabela 8 - Características clínicas, antropométricas e laboratoriais distribuídas de acordo com o comprimento do trato CAG RA em 32 homens transexuais em tratamento com ésteres de testosterona.....	57
Tabela 9 - Correlação das propriedades estruturais e funcionais dos vasos arteriais com a média ponderada do trato CAG RA em homens transexuais em tratamento com ésteres de testosterona.....	60

Lista de figuras

Figura 1 - Velocidade de onda de pulso carotídeo-femoral de homens transexuais e indivíduos controle masculino e feminino pareados para idade e IMC; * $p < 0,05$	49
Figura 2 - Diâmetro carotídeo de homens transexuais e indivíduos controle masculino e feminino pareados para idade e IMC; * $p < 0,05$	49
Figura 3 - Distensão relativa da artéria carótida de homens transexuais e indivíduos controle masculino e feminino pareados para idade e IMC.....	50
Figura 4 - Espessura íntima-média carotídea de homens transexuais e indivíduos controle masculino e feminino pareados para idade e IMC.....	50
Figura 5 - Distribuição do número de repetições CAG do gene do receptor androgênico em 44 homens transexuais e 87 controles femininos.....	55
Figura 6 - Distribuição dos valores das propriedades estruturais e funcionais dos vasos arteriais de homens transexuais de acordo com o comprimento do trato CAG RA.....	58
Figura 6a - Distribuição dos valores de VOP carotídeo-femoral de homens transexuais de acordo com o comprimento do trato CAG RA.....	58
Figura 6b - Distribuição dos valores de diâmetro carotídeo de homens transexuais de acordo com o comprimento do trato CAG RA.....	58
Figura 6c - Distribuição dos valores de distensão relativa da artéria carótida de homens transexuais de acordo com o comprimento do trato CAG RA.....	59
Figura 6d - Distribuição dos valores de espessura íntima-média carotídea de homens transexuais de acordo com o comprimento do trato CAG RA.....	59

Lista de anexos

ANEXO A. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)	81
ANEXO B. Protocolo de avaliação clínica de indivíduos transexuais.....	86
ANEXO C. Distribuição dos valores das propriedades estruturais e funcionais dos vasos arteriais de homens transexuais de acordo com a classificação de comorbidades metabólicas.....	89
ANEXO D. Distribuição dos valores das propriedades estruturais e funcionais dos vasos arteriais de homens transexuais de acordo com a classificação de tabagismo.....	90
ANEXO E. Distribuição dos valores das propriedades estruturais e funcionais dos vasos arteriais de homens transexuais de acordo com o <i>status</i> cirúrgico gonadal.....	90
ANEXO F. Distribuição dos valores das propriedades estruturais e funcionais dos vasos arteriais de homens transexuais de acordo com o tipo de éster de testosterona utilizado.....	91
ANEXO G. Correlação das propriedades estruturais e funcionais dos vasos arteriais com variáveis clínicas em homens transexuais em tratamento com ésteres de testosterona.....	91
ANEXO H. Correlação das propriedades estruturais e funcionais dos vasos arteriais com variáveis pressóricas em homens transexuais em tratamento com ésteres de testosterona.....	92
ANEXO I. Correlação das propriedades estruturais e funcionais dos vasos arteriais com variáveis antropométricas em homens transexuais em tratamento com ésteres de testosterona.....	93
ANEXO J. Correlação das propriedades estruturais e funcionais dos vasos arteriais com variáveis laboratoriais em homens transexuais em tratamento com ésteres de testosterona.....	94
ANEXO K. Variação, média ponderada e mediana do nCAG <i>RA</i> de homens transexuais e controles femininos.....	95
ANEXO L. Frequência de desvio de inativação do cromossomo X entre homens transexuais e controles femininos.....	95

Resumo

Cunha FS. **Prevalência dos fatores de risco cardiovascular em homens transexuais em tratamento com ésteres de testosterona e sua associação com as variantes polimórficas do gene do receptor androgênico** [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2017.

Introdução: O homem transexual (HT) é um indivíduo de sexo genético feminino, com fenótipo feminino normal, que deseja viver e ser aceito como um membro do sexo masculino. O tratamento hormonal que é realizado no processo de redesignação sexual nesses pacientes consiste na administração de testosterona nas suas diversas apresentações, mais comumente ésteres de testosterona de curta ou longa ação. O tratamento hormonal visa induzir virilização, através da produção de um padrão masculino de crescimento dos pelos faciais e corporais, aumento da massa muscular e interrupção dos ciclos menstruais. O efeito da terapia androgênica na saúde cardiovascular de HT é pouco conhecido, principalmente em relação às repercussões em longo prazo. O HT representa um modelo ideal e único para a avaliação das ações da testosterona exógena administrada em doses suprafisiológicas em um organismo geneticamente feminino. Alguns estudos de farmacogenética demonstraram a influência da repetição CAG do gene do receptor androgênico (RA) nos efeitos observados durante terapia com testosterona em homens hipogonádicos e a maioria dos estudos confirmou a modulação desses polimorfismos sobre fatores de risco cardiovascular. **Objetivos:** avaliar em HT em tratamento androgênico a prevalência de fatores clássicos de risco cardiovascular e as propriedades estruturais e funcionais dos vasos arteriais; correlacionar a distribuição alélica do microssatélite CAG RA com a ocorrência de comorbidades e com as propriedades estruturais e funcionais dos vasos arteriais; comparar os valores das propriedades estruturais e funcionais dos vasos arteriais de HT com uma população controle (feminina e masculina). **Pacientes:** 46 pacientes com diagnóstico de HT (faixa etária 42 ± 10 anos) acompanhados no Ambulatório da Unidade de Disforia de Gênero do HCFMUSP e em tratamento com ésteres de testosterona há pelo menos um ano (variação de 1 a 38 anos) foram selecionados para o estudo. **Métodos:** Parâmetros clínicos (IMC, circunferência abdominal, relação cintura quadril, pressão arterial e pressão de pulso, composição corporal por bioimpedância), a presença de comorbidades (hipertensão arterial, dislipidemia, diabetes mellitus, obesidade) e vícios (tabagismo, etilismo e uso de drogas ilícitas), dados laboratoriais (hematócrito, glicemia de jejum, insulina, índice HOMA IR, hemoglobina glicada, colesterol total, HDL colesterol, LDL colesterol, triglicerídeos e creatinina) e parâmetros vasculares (espessura íntima média da carótida, diâmetro da carótida, percentual da variação sistó-diastólica da carótida e velocidade de onda de pulso dos vasos arteriais) foram avaliados no grupo de HT. Os mesmos parâmetros vasculares também foram avaliados em controles saudáveis masculinos e femininos pareados para idade e IMC com os HT. A distribuição alélica do microssatélite CAG RA foi avaliada em 44 HT através da análise do produto amplificado da região de repetições CAG do exon 1 do gene do RA, utilizando o software *GeneMapper*. **Resultados e Conclusões:** Neste grupo de HT em terapia com ésteres de testosterona observamos uma prevalência de dislipidemia de 42%, hipertensão arterial sistêmica de 35%, obesidade de 30%, diabetes de 4% e tabagismo de 20%. HT em tratamento androgênico apresentaram maior velocidade de onda de pulso carotídeo-femoral do que controles masculinos, mas não do que controles femininos, embora no subgrupo ≥ 42 anos os HT tenham apresentado maior

VOP do que controles masculinos e femininos. Não houve diferença de diâmetro, distensão relativa e espessura íntima média carotídea entre HT e controles. Maior diâmetro, maior espessura íntima média e menor distensão relativa da carótida foram observados em HT obesos e hipertensos; e maior velocidade de onda de pulso aórtica em HT hipertensos. Os parâmetros correlacionados à medida funcional da artéria aorta foram a idade, o tempo de tratamento androgênico e a relação cintura-quadril, enquanto que as propriedades estruturais e funcionais da carótida se correlacionaram com idade, parâmetros antropométricos e glicêmicos. Não houve influência do trato CAG RA na comparação entre os HT com e sem comorbidades metabólicas. Repetições CAG RA curtas se associaram com níveis significativamente mais elevados de glicemia de jejum, insulina basal e HOMA IR. Em relação aos parâmetros antropométricos, pressóricos, lipídicos e arteriais, não foi identificada associação com o número de repetições CAG RA. Estes achados sugerem um potencial efeito deletério da terapia androgênica prolongada sobre os vasos arteriais e a necessidade de medidas preventivas em HT.

Descritores: pessoas transgênero; disforia de gênero; testosterona; receptores androgênicos; polimorfismo genético; rigidez vascular; doenças cardiovasculares.

Summary

Cunha FS. **Prevalence of cardiovascular risk factors in transgender men receiving treatment with testosterone esters and its association with polymorphic variants of the androgen receptor gene** [Thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2017.

Introduction: Transgender men (TM) are 46, XX individuals, with normal female phenotype, who desire to live and be accepted as a male member. Testosterone esters are used in sex reassignment therapy to induce virilization and to adapt the body to the male identity. The effects of androgen therapy on TM cardiovascular function are poorly known, particularly with regard to long-term androgen treatment. TM represents a good model for evaluation of high-dose exogenous testosterone action in biological women. Pharmacogenetic studies have demonstrated the influence of CAG polymorphic tract of the androgen receptor gene (*AR*) on the androgenic effects observed during testosterone therapy in hypogonadal men, and most studies confirmed the modulation of these polymorphisms on cardiovascular risk factors. **Objective:** to evaluate the prevalence of cardiovascular risk factors and the structural and functional properties of large arteries in TM on long-term cross sex hormone therapy compared to a male and female healthy control group; to correlate the allelic distribution of CAG *AR* polymorphic tract with the cardiovascular comorbidities and the structural and functional properties of large arteries in TM. **Patients:** Forty-six patients with a diagnosis of TM (42 ± 10 years old), followed at the Gender Dysphoria Unit-HCFMUSP, receiving cross-sex hormone treatment with testosterone esters for at least one year (ranging from 1 to 38 years) were selected for the study. **Methods:** Clinical parameters (BMI, waist circumference, waist-to-hip ratio, blood pressure, pulse pressure, body fat percentage), the presence of cardiovascular comorbidities (hypertension, dyslipidemia, diabetes mellitus, obesity) and addictions (smoking, alcohol and drug abuse), laboratory parameters (hematocrit, fasting plasma glucose, basal insulin, HOMA IR index, glycated hemoglobin, total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, triglycerides and creatinine) and vascular parameters (carotid intima-media thickness, carotid diameter, carotid relative distensibility and aortic pulse wave velocity - PWV) were evaluated in the TM group. The same vascular parameters were also evaluated in healthy male and female control group, matched for age and BMI. The allelic distribution of the CAG *AR* polymorphic tract was evaluated in 44 TM using the GeneMapper software. **Results and Conclusions:** In the TM group, we observed dyslipidemia in 42%, hypertension in 35%, obesity in 30%, diabetes in 4% and smoking habit in 20%. The mean aortic PWV values in TM was higher than in male healthy controls ($p=0.005$), but not than in female controls ($p=0.640$). When categorized by age, considering the median age, $TM \geq 42$ years had higher aortic PWV measures than male ($p < 0.001$) and female ($p = 0.024$) controls, regardless of their arterial blood pressure values. There was no difference in carotid diameter, carotid relative distensibility and carotid intima-media thickness between TM and controls. Obese and hypertensive TM presented significantly higher values of carotid diameter and carotid intima-media thickness, and lower values of carotid relative distensibility than healthy transgenders. Hypertensive TM showed higher aortic PWV values than non-hypertensive TM. The aortic stiffness correlated significantly and positively with age, androgen treatment duration and waist-to-hip ratio in TM. Properties of the carotid

artery correlated with age, anthropometric parameters and glycemic parameters in TM. Shorter CAG polymorphic tracts of TM were associated with higher levels of fasting plasma glucose, basal insulin and HOMA IR index. There was no influence of the CAG polymorphic tract of TM on the presence of cardiovascular comorbidities, anthropometric, pressure, lipid and arterial parameters. These findings suggest a potential deleterious effect of the long-term testosterone therapy on vessels and the need for preventive measures in TM.

Descriptors: transgender persons; gender dysphoria; testosterone; androgen receptor; genetic polymorphism; vascular stiffness; cardiovascular diseases.

1. Introdução

1.1 Disforia de gênero e o homem transexual

Identidade de gênero é a percepção que um indivíduo tem de pertencer ao gênero masculino ou feminino. A transexualidade é considerada um transtorno de identidade de gênero, caracterizada por uma inadequação entre a identidade de gênero e o sexo atribuído ao nascimento, gerando uma situação de desconforto conhecida como disforia de gênero (1). O termo “disforia de gênero”, por ser considerado menos estigmatizante, vem substituindo a nomenclatura “transtornos de identidade de gênero” e surge como um sinônimo à “transexualidade”, mas este último ainda é um termo bastante utilizado na literatura médica (2, 3).

A mulher transexual (MT), ou transexual masculino-para-feminino, é o indivíduo de sexo genético masculino, com fenótipo masculino normal, que deseja viver e ser aceito como um membro do sexo feminino, enquanto que o homem transexual (HT), ou transexual feminino-para-masculino, é o indivíduo de sexo genético feminino, com fenótipo feminino normal, que deseja viver e ser aceito como um membro do sexo masculino (1).

Dados publicados mostram prevalências bem distintas desta condição conforme a população estudada, variando de 1:3.000 a 1:100.000 em mulheres transexuais e 1:9.000 a 1:400.000 em homens transexuais. Estima-se que a razão MT/ HT varie de 3:1 a 4:1, sugerindo uma diferença sexual na vulnerabilidade à disforia de gênero (4).

A etiologia da disforia de gênero permanece desconhecida. A identidade de gênero evolui gradualmente durante a infância e adolescência, porém não se sabe o momento exato em que ela se cristaliza, e ainda não se conhecem

exatamente os fatores que contribuem para as incongruências de gênero. Fatores biológicos e psicossociais têm sido relatados, mas não explicam satisfatoriamente a ocorrência desta condição (4). Alguns estudos envolvendo genes relacionados a ação e metabolização dos hormônios sexuais tentaram associar a presença de polimorfismos genéticos ao diagnóstico de disforia de gênero. Avaliações nos genes do receptor estrogênico alfa e beta, receptor androgênico (RA), receptor de progesterona, genes da enzima 5-alfa redutase 2 e da aromatase não foram conclusivas. Em MT foi encontrada uma frequência maior de polimorfismos no gene do receptor estrogênico beta e no gene do receptor androgênico (RA), porém esses dados não foram confirmados em outros estudos. Uma variante polimórfica no CYP17 e outra no receptor estrogênico beta foram as únicas associações positivas encontradas em HT até o momento (5-9).

O processo de redesignação sexual, que consiste no tratamento psicoterápico, terapia hormonal e procedimentos cirúrgicos promove uma melhor adequação social e qualidade de vida nos indivíduos com disforia de gênero (10-12).

A psicoterapia é determinante para o diagnóstico da disforia de gênero, o qual se baseia em critérios especificados no DSM V (Manual Diagnóstico e Estatístico de Doenças Mentais – versão V) (13) e CID 10 (Classificação Internacional de Doenças – versão 10) (14) e deve também preceder e acompanhar o processo de adequação ao sexo de identidade, preparando o paciente para as modificações provenientes do tratamento hormonal e cirúrgico.

O tratamento hormonal nesses pacientes tem como objetivo reduzir o nível hormonal endógeno, amenizando as características sexuais secundárias referentes ao sexo biológico e, ao mesmo tempo, promover o surgimento de caracteres sexuais secundários compatíveis com o gênero desejado (1).

Os objetivos específicos do tratamento hormonal em HT são induzir virilização, através da produção de um padrão masculino de crescimento dos pelos faciais e corporais, aumento da massa muscular e interrupção dos ciclos menstruais (1, 15-17). Para essa finalidade, utiliza-se o tratamento hormonal com testosterona (T) nas suas diversas apresentações: ésteres de testosterona intramuscular de curta ação, undecanoato de testosterona intramuscular de longa ação, undecanoato de testosterona oral e testosterona em gel ou transdérmica (1).

As formulações mais frequentemente prescritas no tratamento de HT são as injeções intramusculares de ésteres de testosterona de curta ou longa ação. O intervalo de administração das doses varia conforme a resposta clínica, o nível hormonal atingido e os efeitos adversos observados, mas geralmente permanece entre 15 e 21 dias para os de curta ação e em torno de 90 dias para os de longa ação. Os níveis séricos de testosterona total devem ser mantidos no intervalo normal de referência para o sexo masculino (320 – 1000 ng/dl), evitando-se doses suprafisiológicas potencialmente associadas a efeitos adversos nesses pacientes (1, 18). Os efeitos colaterais mais comumente observados nessa população são eritrocitose, hipertensão arterial, ganho de peso, alterações no perfil lipídico, surgimento ou piora da acne, alterações psicológicas e comportamento agressivo (15-17, 19). Outros eventos indesejados incluem neoplasias estrogênio-dependentes como as de

mama, útero, ovário e vagina. Embora muito raras, essas neoplasias devem ser investigadas, principalmente em pacientes não operados, visto que parte da testosterona administrada é convertida em estrogênio (20-22).

O efeito do tratamento hormonal transexualizador na saúde cardiovascular ainda não é totalmente conhecido, principalmente no que se refere à terapia androgênica de longo prazo (23).

1.2 Andrógenos e risco cardiovascular

1.2.1 Estudos em animais

O impacto da testosterona no sistema cardiovascular é bastante controverso e estudos provenientes da ciência básica apresentaram resultados contraditórios no que diz respeito às ações androgênicas sobre o sistema cardiovascular.

Diferentes modelos de ratos transgênicos e *knockout* mostraram dimorfismo sexual na função e estrutura cardíacas. Na maioria desses modelos, as coortes femininas apresentaram menor mortalidade, melhor função cardíaca e menor hipertrofia do que suas homólogas masculinas (24).

Em modelos de sobrecarga de volume ventricular, camundongos fêmeas apresentaram menor remodelamento ventricular e menor mortalidade quando comparadas aos machos (25). Em relação à adaptação do ventrículo esquerdo à pressão, camundongos machos mostraram redução da contratilidade miocárdica, transição mais rápida para falência ventricular esquerda, perda do

remodelamento concêntrico e maior disfunção diastólica quando comparados às fêmeas (26-28).

A exposição aos andrógenos em meios de cultura aumentou a contratilidade de cardiomiócitos de ventrículos de camundongos. Efeitos antiarrítmicos da testosterona também foram demonstrados em estudos com músculos papilares de coelhos fêmeas e machos (29).

Alguns autores mostraram que o tratamento com testosterona em camundongos castrados pode contribuir para a redução da extensão do infarto do miocárdio (30,31). Entretanto, em camundongos machos não castrados com infarto do miocárdio induzido, o tratamento com testosterona resultou em maior ruptura cardíaca, maior área de infarto, piora da função cardíaca e dilatação ventricular esquerda mais pronunciada em comparação com controles não tratados com testosterona (32).

As ações da testosterona sobre a aterosclerose também são controversas. Alguns estudos mostraram que a testosterona em níveis fisiológicos reduz a formação de placas em animais recebendo dieta hiperlipídica (33-34). Por outro lado, estudos com células endoteliais expostas a di-hidrotestosterona (DHT), um metabólito ativo ainda mais potente que a testosterona, mostraram que a ação androgênica induz maior expressão de VCAM-1, uma molécula de adesão endotelial que contribui para a formação inicial da placa aterosclerótica (35). Além disso, verificou-se que a testosterona aumenta a formação de células espumosas, responsáveis pelo desenvolvimento de estrias gordurosas na parede dos vasos (36).

Embora tenha sido documentado um efeito vasodilatador da testosterona através de sua ação relaxante sobre o músculo liso, um estudo

utilizando vasos aórticos de coelhos mostrou que a testosterona atenua a dilatação induzida por nitroprussiato de sódio e intensifica a constrição induzida por 5-hidroxitriptamina nos vasos (37). Em corações de camundongos, a testosterona inibiu parcialmente o efeito vasodilatador da adenosina. Estes resultados sugerem que a testosterona interage de forma diferente com diversos componentes dos vasos, e que ela pode competir com outros compostos vasodilatadores induzindo vasoconstrição (38).

1.2.2 Estudos em humanos

Estudos epidemiológicos revelam uma diferença gênero-específica na incidência de doenças cardiovasculares, sendo o risco mais elevado em homens. O risco de mortalidade por essas doenças é cinco vezes maior em homens do que em mulheres no menacme. Esses dados sugerem que a testosterona possa ter algum papel na patogênese dessas doenças, mas os efeitos androgênicos na reatividade vascular ainda não foram totalmente elucidados (39).

Os efeitos aterogênicos atribuídos à testosterona, principalmente pela redução da concentração de HDL colesterol (HDLc), são considerados contribuintes para essas diferenças gênero-específicas de risco cardiovascular (40). No entanto, há grande divergência nos resultados de ensaios clínicos e epidemiológicos que abordam deficiência de andrógenos, deprivação androgênica terapêutica e reposição farmacológica de testosterona sobre o risco de desenvolvimento de doença cardiovascular. Isto se deve às diferentes

populações estudadas, variabilidade das doses e das vias de administração utilizadas e à manifestação concomitante de outros fatores de risco.

A administração exógena de testosterona em homens, independentemente de sua conversão, vincula-se, na maioria dos estudos, a um perfil lipídico desfavorável do ponto de vista do HDLc (41), embora reduza a concentração de LDL-colesterol (LDLc) e triglicérides e melhore a distribuição corporal de gordura e a utilização periférica de glicose (42). Por outro lado, a baixa concentração de andrógenos no hipogonadismo congênito e em homens idosos associa-se com maior risco de doenças cardiovasculares e mortalidade (43, 44), embora nestas condições prevaleçam fatores associados à síndrome metabólica. Na deprivação androgênica induzida na terapêutica do câncer de próstata também se observa aumento da incidência de síndrome metabólica e diabetes mellitus (DM) tipo 2, ambos considerados fatores de risco para eventos cardiovasculares (45).

Em mulheres é conhecido que o hiperandrogenismo, comumente encontrado na síndrome dos ovários policísticos (SOP), associa-se a evento cardiovascular desfavorável. Entretanto, na SOP, o hiperandrogenismo aparece em conjunto com outras características da síndrome metabólica (hiperinsulinemia, obesidade visceral, hipertensão e dislipidemia). Essa associação dificulta a definição do grau de contribuição de cada um dos fatores para o risco cardiovascular (46).

O Estudo Multi-Étnico de Aterosclerose, analisando 1947 mulheres na pós-menopausa, evidenciou associação positiva entre espessura da íntima-média de artéria carótida (EIMC) e níveis séricos endógenos de testosterona. Em uma sub-análise desse estudo, a dosagem sérica de globulina ligadora de

hormônios sexuais (SHBG) foi inversamente relacionada com a presença e extensão de calcificações aórticas abdominais (47, 48).

Elevados níveis de testosterona em mulheres na pós-menopausa têm sido relacionados com progressão da doença aterosclerótica coronariana, bem como com o aumento da prevalência e incidência de doença coronariana (49-52). Outros estudos defendem a hipótese de que mulheres com baixos níveis circulantes de andrógenos têm mais aterosclerose carotídea quando comparadas com mulheres com níveis séricos de testosterona mais elevados, porém ainda dentro do intervalo normal de referência para o sexo feminino (47, 53-55).

Baixos níveis androgênicos têm sido associados com maior incidência de doença cardiovascular e maior mortalidade cardiovascular em homens, como já discutido anteriormente (56). Laughlin e colaboradores (43) propuseram a hipótese de que, para manutenção da saúde cardiovascular, os níveis androgênicos devem permanecer dentro dos limites normais para o sexo. Valores de andrógenos extremos, abaixo ou acima da faixa de referência, podem desempenhar um efeito negativo sobre o sistema cardiovascular. Nesse contexto, um estudo do mesmo autor, com seguimento de 20 anos, analisando valores séricos femininos de testosterona biodisponível, observou que os grupos de mulheres no menor e no maior quintil desses níveis apresentaram, respectivamente, um odds ratio de 1,79 e 1,96 para o desenvolvimento de doença arterial coronariana, quando comparadas com mulheres no quintil intermediário (50).

Um acúmulo de evidências baseadas na análise dos níveis endógenos de androgênios sugere que o hiperandrogenismo em mulheres está associado

a um maior risco cardiovascular e progressão da doença arterial subclínica (57-62). O homem transexual representa o modelo ideal para avaliação da relação entre andrógenos de fonte exógena e risco cardiovascular em organismos geneticamente femininos.

1.3 Homem transexual e risco cardiovascular

Um perfil pró-aterogênico tem sido descrito em vários estudos que avaliaram as repercussões do tratamento com doses suprafisiológicas de testosterona em homens transexuais (40, 63, 64).

Goh e colaboradores (40), avaliando homens transexuais tratados com ésteres de testosterona por 33 meses, observaram redução do HDLc e aumento de colesterol total (CT), LDLc, apolipoproteína B (apo B) e triglicérides, em comparação ao grupo controle de homens transexuais sem terapia androgênica. Os índices de aterogenicidade, representados pelas razões LDLc/HDLc e apoA-I/apoB foram, respectivamente, aumentados e diminuídos no grupo tratado em relação ao não tratado.

Em nível celular, o andrógeno age sobre o tecido adiposo estimulando a lipólise e, portanto, reduzindo o depósito de gordura (65). Entretanto, a administração de testosterona em homens transexuais geralmente leva a um perfil lipídico mais aterogênico, com redução de HDLc e aumento de triglicerídeos (19).

O impacto da testosterona exógena na homeostasia insulínica é controverso. O aumento da massa muscular induzido por andrógenos deveria apresentar efeitos benéficos na captação de glicose e melhora da resistência

insulínica, entretanto, alguns estudos não confirmaram esse resultado (64, 66, 67)

Berra e colaboradores (64) avaliaram 16 homens transexuais durante seis meses de tratamento androgênico e demonstraram redução significativa dos níveis de adiponectina e leptina, embora sem nenhuma alteração nos marcadores de resistência insulínica. Nesse mesmo estudo, entretanto, houve aumento significativo do índice de massa corpórea (IMC) e da circunferência abdominal (CA).

Elbers e colaboradores (63), no seguimento de 10 homens transexuais em reposição androgênica, observaram aumento da gordura visceral avaliado por ressonância nuclear magnética após 3,2 anos de tratamento, mas não após 1 ano, sugerindo um efeito dependente do tempo prolongado de tratamento. Os mesmos autores, em publicação mais recente, avaliaram 17 homens transexuais não obesos em reposição androgênica, e demonstraram que, após 1 ano de tratamento, houve aumento de gordura visceral, piora do perfil lipídico, porém sem alteração de pressão arterial e sensibilidade insulínica (66). Os estudos em homens transexuais, de forma geral, sugerem que o risco cardiovascular observado é provavelmente secundário ao ganho de peso e acúmulo de gordura visceral (39).

Emi e colaboradores (68) mostraram aumento da rigidez arterial em homens transexuais tratados com ésteres de testosterona após seguimento médio de 45 meses, entretanto um estudo semelhante não conseguiu reproduzir o mesmo achado (67). McCredie e colaboradores (69) avaliaram 12 homens transexuais em uso de testosterona por um tempo médio de 38 meses e observaram redução significativa da resposta vascular à nitroglicerina

sublingual, independentemente dos níveis de lipoproteínas e do diâmetro do vaso.

A avaliação do risco de administração de testosterona em homens transexuais é limitada devido ao número restrito de pacientes nos centros de tratamento e aos resultados controversos em estudos com pequenas casuísticas. Uma meta-análise avaliou 16 estudos, incluindo um total de 651 homens transexuais, e não encontrou associação positiva entre terapia hormonal com testosterona e eventos adversos cardiovasculares (70).

1.4 Propriedades estruturais e funcionais de grandes artérias e risco cardiovascular

Alterações das propriedades estruturais e funcionais de grandes artérias são correlacionadas a um maior risco cardiovascular em diferentes populações (71-74). Níveis elevados de pressão de pulso (PP), uma medida indireta de rigidez arterial, e a velocidade de onda de pulso (VOP) carotídeo-femoral, uma medida direta desta rigidez, são associados a eventos cardiovasculares independentemente de fatores de risco convencionais (74-76).

As diretrizes europeias de hipertensão arterial e as VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão incluíram medidas de VOP aórtica e espessura íntima média carotídea como parâmetros de avaliação de doença cardiovascular subclínica em pacientes hipertensos (77, 78).

A VOP é considerada o padrão-ouro para avaliação de rigidez arterial por ser um método simples, não invasivo, de fácil reprodutibilidade e elevada confiabilidade. A VOP é considerada uma propriedade funcional do vaso

arterial, mensurada através de captadores externos colocados sobre dois pontos conhecidos da árvore arterial, e calculada como a distância entre os dois pontos de medida divididos pelo tempo percorrido entre os dois pontos (79).

Os parâmetros estruturais diâmetro interno da artéria carótida e espessura íntima média carotídea e o parâmetro funcional distensão relativa da carótida são considerados marcadores de risco cardiovascular em estudos de base populacional (80). São mensurados através de técnicas ultrassonográficas que permitem direta visualização do segmento da parede do vaso, com direta avaliação da geometria arterial, através das características acústicas dos tecidos (80).

Muitos fatores afetam as características da árvore arterial como idade, sexo, obesidade, diabetes mellitus, hipertensão arterial, dislipidemia, doença renal crônica e tabagismo, entre outros (73, 81-83). As diferenças de rigidez arterial observadas entre os gêneros podem ser intrínsecas ou influenciadas pela ação dos esteroides sexuais (84-85). As mudanças hormonais na menopausa se associam a maior rigidez arterial no período pós-menopausa e a terapia de reposição hormonal com estrógenos nessas mulheres se associa a redução da rigidez dos vasos (86-88). Esses dados sugerem que os hormônios sexuais femininos modulam a rigidez de grandes artérias, mas pouco se conhece sobre o papel dos hormônios sexuais masculinos influenciando os vasos arteriais.

Embora tenha sido demonstrado um efeito indireto da testosterona sobre a vasculatura através de sua aromatização a estrógeno (89), foi documentada a expressão de receptores de andrógenos tanto em células endoteliais como em células musculares lisas de múltiplos vasos, sugerindo adicionalmente uma

ação direta da testosterona sobre os vasos arteriais através de sua ligação ao receptor androgênico (90).

1.5 Trato polimórfico CAG do gene do receptor androgênico e doenças andrógeno-dependentes

Os andrógenos têm a sua ação mediada através do receptor androgênico. A di-hidrotestosterona e a testosterona ligam-se ao receptor androgênico no citoplasma celular e o complexo migra para o núcleo para transativar genes alvo. Esta ação androgênica é tecido-específica, sendo o RA expresso em diversos tecidos (91).

O gene do RA (*RA*) está localizado no cromossomo X (Xq11-12) e é constituído por 8 exons. O primeiro exon codifica o domínio amino-terminal (NTD), região responsável pela regulação transcricional da proteína. Os exons 2 e 3 codificam o domínio de ligação ao DNA (DBD) e os exons 4 a 8 codificam a região carboxi-terminal que contém o domínio de ligação ao ligante (LBD) (92-94).

O exon 1 do gene do RA possui um trato polimórfico, composto de repetições de glutamina (CAG), variando na população normal de 11 a 31 repetições, sendo que 90% das mulheres são heterozigotas para este número de repetições (95). Estudos *in vitro* identificaram que a atividade de transativação do *RA* possui correlação inversa com o número de repetições CAG (nCAG), causando ganho ou diminuição de função (96).

O trato polimórfico CAG tem sido associado com o desenvolvimento de diferentes doenças andrógeno-dependentes. Um número acima de 40

repetições causa redução da atividade androgênica e correlaciona-se com o desenvolvimento de doença neurodegenerativa, a atrofia muscular espinhal-bulbar (97, 98). Adicionalmente, alelos curtos (menores ou iguais a 18 repetições CAG), teriam maior atividade androgênica e foram associados com pubarca precoce idiopática, síndrome dos ovários policísticos e com maior agressividade do câncer de próstata e mama (99-101).

Avaliando 131 pacientes hipogonádicos em reposição androgênica, Zitzman e colaboradores (102) demonstraram que o crescimento prostático foi profundamente influenciado por polimorfismos da repetição CAG do exon 1 do gene do RA, com menores efeitos anabólicos em pacientes com repetições mais longas.

Em um grupo de 48 pacientes com síndrome de Klinefelter em terapia com testosterona, esses mesmos autores observaram maior crescimento prostático, maior supressão dos níveis de LH e maiores concentrações de hemoglobina nos pacientes que apresentavam repetições CAG mais curtas (103). O mesmo autor, em outra publicação, observou que o número de repetições CAG correlacionou-se positivamente com a concentração plasmática de HDLc e apo A-I, independentemente da concentração de testosterona livre e gordura corporal. De modo semelhante, houve associação entre o número de repetições CAG com a função endotelial, acessada pela vasodilatação fluxo-dependente na artéria braquial (104).

Sugere-se que a influência farmacogenética de polimorfismos da repetição CAG do gene do RA possa desempenhar um papel importante sobre os aspectos de segurança da reposição androgênica e já foi comprovado que

os efeitos de preparações intramusculares, orais e transdérmicas com testosterona são modulados por estes polimorfismos (102-105).

1.6 Gene do receptor androgênico e a inativação do cromossomo X

O desequilíbrio no número de cópias dos genes presentes no cromossomo X, entre machos e fêmeas, é resolvido através do fenômeno de inativação de um dos cromossomos X nas fêmeas (106). Este é um mecanismo de compensação de dose gênica, processo que ocorre ao acaso para os cromossomos materno ou paterno e, uma vez estabelecido, é mantido de maneira clonal e espontânea (107).

O fenômeno de inativação do cromossomo X ocorre em células somáticas de fêmeas, durante a diferenciação celular no final da fase de blastocito, mas só se completa ao final da 1ª semana de desenvolvimento embrionário. Em cada célula somática feminina, um cromossomo X é inativado ao nível da transcrição, permanecendo condensado e aparecendo na intérfase como o Corpúsculo de Barr (cromatina sexual), enquanto que o outro permanece ativo. Embora o esperado fosse que nas células somáticas de fêmeas, os cromossomos maternos e paternos tivessem uma probabilidade igual de inativação, isto é, uma distribuição normal ao redor de uma taxa de 50:50 para cada alelo inativo, 5 a 20% das mulheres normais apresentam desvios de inativação, inativando preferencialmente um dos alelos (108).

A disponibilidade de um grande número de mulheres heterozigotas (90% da população de mulheres) e de metodologias confiáveis torna possível a

determinação da incidência de inativação desbalanceada do cromossomo X (109).

Outro fator relacionado à inativação do cromossomo X é a metilação dos resíduos desoxicitosina nos dinucleotídeos CpG envolvida na modulação da expressão do gene do RA. O padrão de inativação pode ser avaliado pela proximidade entre as repetições CAG *RA* e os sítios das enzimas de restrição, *HpaII* e *HhaI*, sensíveis à metilação. Após a amplificação por reação de polimerização em cadeia (PCR) do locus do gene do RA no cromossomo X, dois alelos estão presentes como dois produtos de PCR de tamanhos diferentes. A discriminação entre os alelos ativos e inativos é feita por comparação dos produtos de PCR a partir de DNA digerido e não digerido com enzima *HpaII*. O cromossomo X inativo é pesadamente metilado e por isso ele não é digerido pela enzima de restrição *HpaII*, e somente o alelo inativado servirá de modelo para a PCR (110).

2. Justificativa

As evidências atuais do papel da testosterona no perfil aterogênico e risco cardiovascular são controversas e vários aspectos da segurança do uso terapêutico da testosterona não estão completamente esclarecidos.

O homem transexual representa um modelo ideal e único do ponto de vista ético para a avaliação das ações da testosterona exógena em doses suprafisiológicas em um organismo geneticamente feminino. Os ésteres de testosterona mais amplamente utilizados para o tratamento desses indivíduos são formulações que geram grandes flutuações nos níveis séricos de testosterona, atingindo seus níveis mais elevados por volta de 48 a 72 horas após a aplicação, podendo nesse período atingir valores até 5 vezes acima do considerado normal para o sexo masculino.

Considerando o desconhecimento da literatura médica atual sobre as repercussões dos níveis séricos elevados e flutuantes de testosterona na saúde cardiovascular desses indivíduos, torna-se de grande importância a avaliação de fatores de risco cardiovascular tradicionais e não tradicionais neste grupo de indivíduos submetidos a um regime terapêutico crônico com ésteres de testosterona.

Alguns estudos de farmacogenética demonstraram a influência da repetição CAG do gene do RA nos efeitos adversos observados durante terapia com testosterona em indivíduos hipogonádicos e vários desses estudos confirmaram a modulação desses polimorfismos sobre fatores de risco cardiovascular. Nenhum estudo semelhante foi realizado até o momento em homens transexuais em terapia de substituição hormonal. A utilização da farmacogenômica poderá permitir, no futuro, uma prescrição individualizada e

com menor risco de efeitos androgênicos indesejáveis, especialmente em relação aos riscos cardiovasculares.

As características de um grupo expressivo de pacientes selecionados (46 homens transexuais) que serão avaliados, com tempo prolongado e uniformidade de tratamento androgênico, e as metodologias refinadas de investigação poderão contribuir para o avanço na compreensão do real papel da testosterona como fator determinante de risco cardiovascular, bem como irão estabelecer a prevalência dos fatores de risco cardiovascular nesta população.

3. Objetivos

3.1 Descrever a prevalência de fatores clássicos de risco cardiovascular (hipertensão arterial sistêmica, dislipidemia, diabetes mellitus, obesidade e tabagismo) em homens transexuais em tratamento androgênico;

3.2 Comparar as propriedades estruturais e funcionais dos vasos arteriais (valores da medida da velocidade de onda de pulso aórtica e dos índices – diâmetro, espessura íntima medial e distensão da carótida) de homens transexuais em tratamento androgênico e uma população controle (feminina e masculina);

3.3 Correlacionar a distribuição alélica do microssatélite CAG do gene do receptor androgênico em homens transexuais com:

- os fatores clássicos de risco cardiovascular;
- as propriedades estruturais e funcionais dos vasos arteriais.

4. Pacientes e Métodos

4.1 Considerações éticas

O estudo foi conduzido de acordo com princípios éticos seguindo as orientações contidas na declaração de Helsinki e pelos termos descritos pela Portaria 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq, da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (processo número 43078815.4.0000.0068). Todos os pacientes foram esclarecidos sobre o estudo e assinaram o Termo de Consentimento Pós-Informado autorizando sua participação (Anexo A).

Os estudos utilizando técnicas de biologia molecular foram desenvolvidos na Unidade de Endocrinologia do Desenvolvimento, Laboratório de Hormônios e Genética Molecular LIM/42 da Disciplina de Endocrinologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

A avaliação das propriedades arteriais foi realizada no Laboratório de Hipertensão do Instituto do Coração (INCOR) - FMUSP pela Dra. Valeria A. Costa-Hong, sob supervisão do Prof. Dr. Luiz Aparecido Bortolotto em estudo colaborativo.

4.2 Natureza do estudo

Trata-se de um estudo transversal avaliando fatores de risco cardiovascular em homens transexuais tratados com ésteres de testosterona e sua associação com variantes polimórficas do gene do receptor androgênico.

4.3 Pacientes

4.3.1 Tamanho da amostra

Os pacientes selecionados para o estudo são acompanhados no Ambulatório da Unidade de Disforia de Gênero (Unidade DIS 1002) da Disciplina de Endocrinologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP). O diagnóstico de transexualidade destes pacientes foi baseado na avaliação psiquiátrica/ psicológica de acordo com critérios do DSM IV-V / CID 10. Todos os pacientes apresentam cariótipo 46, XX, sem anormalidades cromossômicas numéricas ou estruturais.

4.3.2 Critérios de inclusão

Os critérios de inclusão adotados foram:

- a) Pacientes com diagnóstico de homem transexual acompanhados no Ambulatório da Unidade de Disforia de Gênero (Unidade DIS 1002) da Disciplina de Endocrinologia da FMUSP, no período de 1998 a 2015.
- b) Idade maior ou igual a 18 anos.
- c) Tempo mínimo de tratamento androgênico de 1 ano.

4.3.3 Grupo controle

O grupo controle para avaliação das propriedades estruturais e funcionais dos vasos arteriais foi constituído por 147 indivíduos de ambos os sexos (76 de sexo genético feminino e 71 de sexo genético masculino), na faixa etária de 25 a 63 anos, sem nenhuma evidência de doença cardiovascular após cuidadosa avaliação clínica e laboratorial. Estes indivíduos hígidos participaram como controles de projetos de pesquisa já realizados e devidamente autorizados pelo Comitê de Ética da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (111). O grupo controle foi pareado para idade e IMC com os homens transexuais.

O grupo controle para o estudo das repetições CAG do gene do RA foi constituído por amostras de DNA de 87 indivíduos adultos de sexo genético feminino armazenadas no banco de DNA do Laboratório de Hormônios e Genética Molecular LIM/42 da Disciplina de Endocrinologia do Hospital das Clínicas da FMUSP.

4.3.4 Caracterização do grupo de estudo

Neste estudo foram avaliados 46 homens transexuais em tratamento com ésteres de testosterona, há pelo menos um ano, acompanhados no Ambulatório da Unidade de Disforia de Gênero do Hospital das Clínicas da FMUSP entre 1998 e 2015.

Os participantes tinham idade média de 42 ± 10 anos de idade (variação de 25 a 61 anos) e referiam identificação com o sexo masculino desde 6 ± 2 anos de idade (variação de 2 a 16 anos).

Os pacientes iniciaram tratamento hormonal, em média, aos 30 ± 8 anos de idade (variação de 18 a 48 anos) e faziam uso de testosterona há 11 ± 10 anos (variação de 1 a 38 anos). Os tipos de testosterona utilizados foram cipionato de testosterona ($n=39$, 85%) e undecanoato de testosterona ($n=7$, 15%), ambos por via intramuscular. A maioria dos pacientes já havia sido submetida à gonadectomia no momento do início do estudo ($n=27$, 59%) (Tabela 1).

Tabela 1. Características clínicas de homens transexuais em tratamento com ésteres de testosterona.

VARIÁVEIS	
Idade, média $\pm$ DP, anos	42 ± 10
Tempo de tratamento hormonal, média $\pm$ DP, anos	11 ± 10
Idade de início de tratamento hormonal, média $\pm$ DP, anos	30 ± 8
Ésteres de Testosterona	
- Cipionato de testosterona (n, %)	39 (85%)
- Undecanoato de testosterona (n, %)	7 (15%)
Nível sérico de testosterona (média $\pm$ DP, ng/dL)	611 ± 439
Gonadectomia prévia (n, %)	27 (59%)

4.4 Obtenção de dados clínicos

Todos os dados clínicos foram coletados por um único observador que foi o autor da pesquisa.

Para obtenção dos dados clínicos foi elaborado um protocolo de avaliação clínica dos pacientes (Anexo B).

4.4.1 Vícios

Os pacientes da pesquisa foram interrogados quanto aos vícios: tabagismo, etilismo e uso de drogas ilícitas.

Para classificação de tabagismo, utilizaram-se os critérios da Organização Panamericana de Saúde (OPAS) (112):

- Nunca fumantes: aqueles que não fumaram ou fumaram menos de 100 cigarros por toda a vida.
- Ex-fumantes: aqueles que já fumaram pelo menos 100 cigarros durante a vida, mas haviam parado de fumar.
- Fumantes atuais: aqueles que já fumaram 100 ou mais cigarros durante a vida e que continuam fumando.

Para classificação de etilismo, utilizaram-se os critérios da Organização Mundial de Saúde (OMS) (113):

- Etilistas: aqueles que excedem o consumo aceitável de até 10 doses/semana, sendo que uma dose equivale a 350 ml de cerveja, 150 ml de vinho ou 40 ml de bebida destilada, considerando que cada uma contém 10 a 15g de álcool.

Para classificação do uso de drogas ilícitas, utilizaram-se os critérios

adaptados do Centro Brasileiro de Informações Sobre Drogas Psicotrópicas (CEBRID – Escola Paulista de Medicina / Universidade Federal de São Paulo – EPM/ UNIFESP) (114):

- Não usuário: nunca utilizou drogas (classificamos como “nunca usuários”)
- Uso na vida: uso de droga pelo menos uma vez na vida (classificamos como “experimentadores”)
- Uso recente ou no último mês: uso de droga pelo menos uma vez nos últimos 30 dias (classificamos como “usuário atual”)

4.4.2 Dados metabólicos

Peso (Kg): Aferido duas vezes, considerado o peso médio, estando os participantes da pesquisa descalços e com roupas leves.

Estatura (cm): Aferida três vezes, considerada a estatura média. Foi utilizado estadiômetro graduado em centímetro e com barra de madeira vertical e fixa, com esquadro móvel, para posicionamento sobre a cabeça do indivíduo, estando o mesmo descalço.

Índice de Massa Corpórea (IMC): Calculado pela fórmula $\text{peso (Kg)} / \text{altura}^2$ (m).

Considerado IMC normal de 18,5 a 24,9 Kg/m², sobrepeso de 25 a 29,9 Kg/m² e obesidade ≥ 30 Kg/m². A obesidade foi subdividida em obesidade grau 1 (IMC de 30 a 34,9 Kg/m²), obesidade grau 2 (IMC de 35 a 39,9 Kg/m²) e obesidade grau 3 (IMC ≥ 40 Kg/m²) (99). Para as análises de associação, os

indivíduos com IMC normal e sobrepeso foram agrupados e comparados com os indivíduos obesos (115).

Circunferência Abdominal (CA) (cm): Aferida com o paciente em posição ortostática, ereto, sem roupas, no ponto médio da distância entre a margem inferior dos arcos costais e a borda superior da crista ilíaca. Utilizou-se fita plástica não elástica e foi considerada a média de duas medidas. São considerados valores normais para mulheres < 80 cm e para homens < 94 cm (115).

Circunferência do Quadril (CQ) (cm): Aferida com fita plástica não elástica, no maior diâmetro da região glútea, passando sobre os trocânteres maiores do fêmur. A média de duas medidas foi utilizada para cálculo da relação cintura-quadril (115).

Relação Cintura-Quadril (Relação C/Q): Calculada pela fórmula circunferência abdominal (cm) / circunferência do quadril (cm). São considerados valores normais para mulheres $\leq 0,85$ e para homens $\leq 0,9$ (115).

Bioimpedância: A composição corporal foi medida através do aparelho InBody 720 (Biospace, Coreia) com leitura de 8 pontos através de eletrodo tátil. Os pacientes realizaram o exame com roupas leves, cabelos secos, em jejum de 4 horas, e foram orientados a ingerir oito copos de água no dia anterior ao exame e a não realizar atividade física no mínimo oito horas antes do exame.

Pressão Arterial (PA)

A pressão arterial foi aferida de acordo com as recomendações da VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial, com manguito apropriado para a circunferência do braço direito, na posição sentada, após descanso de 5 minutos. Utilizou-se aparelho calibrado, de braço, digital e automático *Microlife*, testado e validado pela *British Hypertension Society*. Optou-se por esse aparelho pois permite a obtenção de medidas de pressão arterial de modo simples, eficaz, pouco dispendioso e evita o erro do avaliador. A média de duas medidas foi utilizada no estudo. O paciente foi orientado a manter durante a medição as pernas descruzadas, pés apoiados no chão, dorso recostado na cadeira e relaxado. Roupas e objetos do braço direito foram removidas e o braço posicionado na altura do coração, apoiado, com a palma da mão voltada para cima e o cotovelo ligeiramente fletido; foi solicitado que o paciente não falasse durante a medição (78).

Critérios utilizados para caracterização de Hipertensão Arterial Sistêmica no grupo de estudo

Considerou-se hipertenso o paciente com duas ou mais medidas de pressão arterial sistólica (PAS) > 140 mmHg e/ou pressão arterial diastólica (PAD) > 90 mmHg ou que já estivesse em uso regular de medicação anti-hipertensiva, e pré-hipertenso aquele com PAS de 130-140 e/ou PAD de 85-90 (78). Para as análises de associação, os indivíduos com pressão arterial normal e pré-hipertensos foram agrupados e comparados com indivíduos hipertensos.

Pressão de Pulso (PP)

A pressão de pulso foi determinada pela fórmula PAS – PAD.

Crítérios utilizados para caracterização de Dislipidemia no grupo de estudo

Foram considerados portadores de dislipidemia aqueles que já estivessem em uso de medicação anti-lipêmica ou que apresentassem algum dos critérios definidos pela V Diretriz Brasileira de Dislipidemia e Prevenção da Aterosclerose (116):

- Colesterol total (CT) $\geq$ 240 mg/dL. Pacientes com CT de 200 – 239 mg/dL foram considerados portadores de dislipidemia limítrofe.
- LDL colesterol (LDLc) $\geq$ 160 mg/dL. Pacientes com LDLc de 130 – 159 mg/dL foram considerados portadores de dislipidemia limítrofe.
- HDL colesterol (HDLc) $<$ 40 mg/dL em homens e $<$ 50 mg/dL em mulheres. Para esta classificação, foi considerado entre os homens transexuais o ponto de corte de 40 mg/dL.
- Triglicerídeos (TG) $>$ 200 mg/dL. Pacientes com TG de 150 – 200 mg/dL foram considerados portadores de dislipidemia limítrofe.

Para as análises de associação, os indivíduos sem dislipidemia e com dislipidemia limítrofe foram agrupados e comparados com indivíduos dislipidêmicos.

Crítérios utilizados para caracterização de Diabetes Mellitus (DM) no grupo de estudo

Foram considerados portadores de perfil glicêmico alterado os indivíduos que já estivessem em uso regular de medicação anti-diabética ou que

apresentassem diagnóstico de diabetes ou pré-diabetes (condição de alto risco para o desenvolvimento de diabetes) de acordo com os critérios definidos pela *American Diabetes Association* (ADA) (117):

- Pré-diabetes: Glicemia de jejum (GJ) 100 – 125 mg/dL; ou tolerância à glicose diminuída (glicemia 2 horas após sobrecarga de glicose de 140-199 mg/dL); ou hemoglobina glicada de 5,7% - 6,4%.

- Diabetes: Duas medidas de glicemia de jejum ≥ 126 mg/dL em dias distintos; ou sintomas clássicos de diabetes associado a glicemia ≥ 200 mg/dL; ou glicemia 2 horas após sobrecarga de glicose ≥ 200 mg/dL; ou hemoglobina glicada $\geq 6,5\%$ a ser confirmada em outra coleta (dispensável na presença de sintomas ou se glicemia ≥ 200 mg/dL).

Para as análises de associação, devido à pequena concentração de pacientes diabéticos na amostra, os indivíduos diabéticos e pré-diabéticos foram agrupados e comparados com indivíduos sem alteração do perfil glicêmico.

4.4.3 Dados laboratoriais

Os seguintes exames laboratoriais foram coletados no Laboratório do Instituto Central do Hospital das Clínicas da FMUSP (HCFMUSP), após jejum de 12 horas: hematócrito (método contador eletrônico, automático + avaliação morfológica em esfregaços corados), glicemia de jejum (método enzimático colorimétrico automatizado), insulina (eletroquimioluminescência), hemoglobina glicada (HPLC – certificado por NGSP), colesterol total (método cinético automatizado), HDL colesterol (método enzimático), LDL colesterol [Fórmula de Friedewald: $LDL = CT - (HDL + TG/5)$], triglicerídeos (método enzimático) e

creatinina (método Jaffe, colorimétrico). O modelo de resistência insulínica (índice HOMA IR) foi calculado de acordo com a fórmula proposta por Levy et al. (118): $\text{HOMA IR} = \text{insulinemia de jejum (um/L)} \times \text{glicemia de jejum (mmol/L)} / 22,5$.

4.4.4 Parâmetros vasculares

Ultrassonografia (US) de Carótidas

As propriedades da artéria carótida foram avaliadas por um sistema ecossonográfico pulsátil (*Echotracking*, Wall-Track System 2, PIE Medical, Maastricht, Nederland) desenvolvido para mensurar a espessura íntima média da parede arterial e o diâmetro e a variação percentual sistó-diastólica do vaso, pelo processamento de sinais de ultrassom obtidos em modo M, transformados em sinais de radiofrequência e interpretados por um programa específico. A precisão do sistema é de 30 µm para o diâmetro diastólico e <1 µm por variação pulsátil do diâmetro do vaso (diâmetro sistólico menos diâmetro diastólico) (119, 120).

Os parâmetros avaliados foram: espessura íntima média da carótida medida em mm, diâmetro da carótida em µm e percentual da variação sistó-diastólica da carótida batimento-a-batimento. Essas medidas foram realizadas na artéria carótida, 2 cm abaixo do bulbo carotídeo e sobre a parede contralateral da artéria.

Medição da Velocidade de Onda de Pulso Carotídeo-Femoral (VOP-cf)

Considerada uma propriedade funcional do vaso, a VOP avalia o grau de rigidez arterial. A velocidade com que a onda de pulso se propaga na árvore arterial serve como uma medida indireta do grau de rigidez do vaso (121). Quanto maior a velocidade de deslocamento da onda, maior a rigidez da artéria. A medida da velocidade da onda de pulso é realizada a partir da base da onda de pulso obtida por captadores externos colocados sobre dois pontos conhecidos da árvore arterial e calculada como a distância entre os dois pontos de medida divididos pelo tempo percorrido entre os dois pontos. No Laboratório da Unidade de Hipertensão do Instituto do Coração utiliza-se um aparelho Complior (Gonnesse, France) já validado e utilizado em diversos estudos (122-124). A VOP é determinada no segmento carotídeo-femoral da árvore arterial. Cada onda pulsátil aparece em tempo real na tela do computador, e o aparelho determina, pela tangente à fase ascendente inicial da onda de pulso, o início da onda nos dois locais, e deduz, em função da distância medida, a velocidade de onda de pulso. Cada valor obtido da velocidade da onda de pulso representa a média de pelo menos dez curvas selecionadas pela sua qualidade e nitidez.

4.5 Estudo molecular

4.5.1 Extração do DNA a partir de sangue periférico

As amostras de DNA genômico foram obtidas a partir de leucócitos de sangue periférico dos pacientes selecionados. Quinze mL de sangue venoso foram colhidos em EDTA 25mM e submetidos ao método de extração com NaCl saturado modificado (125).

A primeira etapa da técnica é a lise de hemácias (114 mM de NH_4Cl , 1 mM de NH_4HCO_3) e a segunda etapa é a lise de leucócitos (100 mM de NaCl , 10 mM de Tris-HCl pH8, 1 mM de EDTA pH8) utilizando-se SDS (0,2%) e proteinase K (160 $\mu\text{g/mL}$). A precipitação do DNA foi realizada com etanol absoluto gelado, seguida de lavagem com etanol 70% e finalizando com a suspensão do DNA em TE (10:0,1) (10 mM de Tris-HCl pH8, 0,1 mM de EDTA pH8) (126).

A concentração do DNA extraído foi obtida por leitura em espectrofotômetro (*Biophotometer, Eppendorf, Alemanha*) nos comprimentos de onda de 260 e 280 nm. Foi estabelecido que a relação acima de 1,75 entre esses dois comprimentos de onda seria a ideal para a caracterização da pureza do material.

4.5.2 Análise do produto amplificado da região de repetições CAG do exon 1 do gene do receptor androgênico de homens transexuais utilizando o software *GeneMapper*

Estudo da região de repetições CAG do exon 1 do gene do RA

Dez nanogramas de DNA foram submetidos à reação de polimerização em cadeia (PCR) utilizando-se oligonucleotídeos (*primers*) que flanqueiam a região de repetições CAG: **A2** GCT GTG AAG GTT GCT GTT CCT C e *primer 1F* Hex- GTG CGC GAA GTG ATC CAG AA marcado com um corante fluorescente na extremidade 5' (127). O volume final da reação foi de 25 μL , com 200 μM de cada desoxinucleotídeo (dNTP), 10 μM de cada *primer*, 0,75 U de enzima *Go Taq DNA polimerase* (*Promega, Madison, WI, USA*) e tampão 5X da reação fornecido pelo fabricante. A amplificação foi realizada em um

termociclador *Veriti* (*Life Technologies, Foster City, CA, USA*). O programa de amplificação consistiu em um ciclo de 98°C 5 minutos, seguido de 30 ciclos de 98°C 30 segundos, 58°C 1 minuto e 72°C 1 minuto. Após os 30 ciclos foi acrescentada uma extensão final de 72°C 10 minutos.

Dois microlitros do produto resultante da amplificação mais 24 µL de formamida foram submetidos à eletroforese capilar no sequenciador *ABI Prism Genetic Analyzer 3130 automatic DNA sequencer* (*Life Technologies, Foster City, CA, USA*) e analisados pelo programa de análise de fragmentos *GeneMapper* (*Life Technologies, Foster City, CA, USA*). Uma amostra controle, com tamanho previamente conhecido, foi incluída em todas as eletroforeses, a fim de corrigir possíveis variações na análise do tamanho dos fragmentos.

Como o software *GeneMapper* não fornece o tamanho real do fragmento analisado, o DNA de um grupo de indivíduos do sexo genético masculino teve a região das repetições CAG estudada, tanto por sequenciamento como por análise de *GeneMapper*, a fim de se determinar a correspondência entre o número de repetições e o tamanho do fragmento.

4.5.3 Amplificação de DNA genômico de indivíduos controle do sexo masculino por reação de polimerização em cadeia

Estudo da região de repetições CAG do exon 1 do gene do RA

A região do exon 1 do *RA* de indivíduos do sexo masculino foi amplificada utilizando-se um par de oligonucleotídeos iniciadores: *primer A1* CGC CTG TTG AAC TCT TCT GAG C e *primer A2* GCT GTG AAG GTT GCT GTT CCT C e em seguida foi sequenciada (127). A reação foi realizada em um volume final

de 25 µL utilizando-se 100-200 ng de DNA genômico, 200 µM de dNTPs, 10 µM de cada oligonucleotídeo, tampão de PCR 5x e 0,75 U de enzima *Go Taq DNA polimerase*. A amplificação foi realizada em um termociclador *Veriti (Life Technologies, Foster City, CA, USA)*.

O programa de amplificação consistiu em um ciclo de 98°C durante 5 minutos, seguido por 30 ciclos de 98°C 30 segundos, 58°C 1 minuto, 72°C 1 minuto e extensão final de 72°C 10 minutos.

Três microlitros do produto da PCR e 0,5 µg do marcador de peso molecular *Low DNA Mass (Invitrogen, Life Technology, Gaithersburg, MD, USA)* foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 2%, visualizado em luz ultravioleta e fotografado para confirmar a amplificação do fragmento de interesse. A concentração dos produtos gerados pela PCR foi determinada pela comparação da intensidade de sinal do fragmento amplificado com os fragmentos do marcador de peso molecular.

Sequenciamento Automático do exon 1 do gene do RA

A concentração de DNA dos produtos gerados pela PCR foi determinada através da comparação da intensidade de sinal emitido pelos fragmentos de um marcador de peso molecular, de concentração conhecida, em gel de agarose. Posteriormente, os produtos de PCR foram submetidos à purificação com as enzimas *Shrimp* e *exonuclease* utilizando-se o kit *EXO-SAP (Amersham Science, USB, Cleveland, Ohio, USA)*. Após a purificação, estes produtos foram submetidos ao sequenciamento automático utilizando-se o kit *ABI Prism™ Big Dye terminator (Life Technologies, Foster City, CA, USA)* no equipamento *ABI Prism Genetic Analyzer 3130 automatic DNA sequencer (Life*

Technologies, Foster City, CA, USA). As sequências obtidas foram comparadas com as sequências depositadas na base de dados do *National Center for Biotechnology and Information (NCBI)* (127).

4.5.4 Estudo da inativação do cromossomo X

Cem nanogramas de DNA genômico dos pacientes heterozigotos para o número de repetições CAG foram digeridos com 4 U da enzima *HpaII* (CCGG) (*Invitrogen, Life Technology, Gaithersburg, MD, USA*) de acordo com as instruções do fabricante. Esta enzima digere o DNA não metilado (alelo ativo), permitindo a amplificação na PCR apenas do DNA metilado (alelo inativo). Para cada amostra de DNA foram feitas duas reações paralelas: na primeira o DNA e o tampão foram incubados com a enzima *HpaII* e, na segunda, não foi colocada a enzima de digestão. Este protocolo foi realizado em duplicata, ou seja, para cada amostra de DNA foram feitas quatro reações, sendo duas com a presença da enzima e duas sem a presença da enzima.

Cem nanogramas dos produtos, digerido e controle, foram submetidos à amplificação por PCR e à eletroforese capilar no sequenciador automático *ABI Prism Genetic Analyzer 3130 automatic DNA sequencer* (*Life Technologies, Foster City, CA, EUA*) e analisados pelo programa de análise de fragmentos *GeneMapper* (*Applied Biosystems, Foster City, CA, USA*) (127).

Determinação do padrão de inativação do cromossomo X – fator de correção

Nas amplificações de fragmentos de tamanhos diferentes em função do número de repetições CAG, ocorre uma amplificação preferencial dos alelos menores. Este fato se reflete na presença, no eletroferograma, de dois picos com amplitudes diferentes, quando o esperado seria o mesmo grau de amplitude, pois os dois alelos ocorrem na mesma frequência. Quando o DNA é digerido pela enzima *HpaII*, a influência deste fato continua ocorrendo somando-se à redução da amplificação do alelo não metilado. Por este motivo, é aplicado um fator de correção para normalizar o nível de amplificação dos dois alelos.

A área do alelo menor (que é preferencialmente amplificado) é dividida pela área do alelo maior, para se verificar quantas vezes o alelo menor foi amplificado preferencialmente em relação ao alelo maior.

Após a aplicação do fator de correção na amostra digerida, consideraremos como inativação ao acaso quando a área de um dos fragmentos corresponder de 50 a 74% da soma da área dos dois fragmentos e como desvio de inativação quando for $\geq 75\%$ (95).

4.5.5 Cálculo da média ponderada e classificação do número de repetições CAG do exon 1 do gene do RA

Os resultados da análise da inativação do cromossomo X foram usados para gerar um valor médio que considera as diferenças na expressão dos alelos constituintes. Este valor foi obtido multiplicando-se cada alelo por sua percentagem de expressão (100 menos % inatividade) e somando os valores

dos dois alelos para atingir um novo valor médio, que é chamado de média ponderada.

Calculou-se então a mediana do número médio ponderado de repetições CAG e, a partir deste valor, considerou-se alelo curto o alelo com número de repetições CAG menor ou igual ao percentil 25 e alelo longo o alelo com número de repetições CAG maior ou igual ao percentil 75 da distribuição. Alelos com número de repetições CAG entre o percentil 25 e 75 foram classificados como médios (128, 129).

4.6 Análise estatística

Para os valores das propriedades estruturais e funcionais dos vasos arteriais e das variáveis metabólicas em homens transexuais, controles femininos e controles masculinos foram conduzidos testes de normalidade de distribuição de probabilidades avaliadas com uso do teste de Kolmogorov-Smirnov. Nas situações em que os 3 grupos apresentaram distribuição normal, a comparação foi realizada com o teste ANOVA seguido por comparações múltiplas de Bonferroni quando verificada diferença com significância estatística entre os grupos. No caso de não normalidade em pelo menos um dos grupos, empregou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis para comparação seguido pelo teste de comparações múltiplas de Dunn.

Utilizou-se o teste não paramétrico de correlação de Spearman para verificar a relação entre os valores das propriedades estruturais e funcionais

dos vasos arteriais em homens transexuais com as demais mensurações do estudo.

Os valores das propriedades estruturais e funcionais dos vasos arteriais também foram avaliados segundo ocorrência ou não de fatores clássicos de risco cardiovascular em homens transexuais. Para essas comparações foi utilizado o teste t-Student, quando os grupos apresentavam distribuição normal, ou, caso contrário, o teste não paramétrico de Mann-Whitney.

A associação da distribuição alélica do microssatélite CAG do gene do receptor androgênico, em homens transexuais, com variáveis qualitativas foi analisada pelo teste qui-quadrado, já em relação às variáveis quantitativas a comparação foi realizada com o teste ANOVA. No caso de não normalidade em pelo menos um dos grupos, empregou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis para comparação seguido pelo teste de comparações múltiplas de Dunn quando verificada diferença com significância estatística entre os grupos.

Neste estudo adotou-se nível de significância de 5%. Os dados foram inseridos no programa Excel e analisados no programa estatístico STATA versão 13.0 (*StataCorp LP, College Station, Texas, USA*).

5.1 Prevalência de fatores clássicos de risco cardiovascular em homens transexuais em tratamento com ésteres de testosterona

No grupo avaliado de 46 homens transexuais em uso terapêutico de ésteres de testosterona há pelo menos 1 ano, o diagnóstico de dislipidemia foi estabelecido em 42% (n=19), sendo que 9 pacientes estavam usando medicações anti-lipêmicas (sinvastatina, atorvastatina, ezetimibe e ciprofibrato foram as medicações prescritas). Os valores médios de colesterol total, HDLc, LDLc e triglicerídeos do grupo foram 198 ± 43 mg/dL, 50 ± 16 mg/dL, 124 ± 34 mg/dL e 127 ± 86 mg/dL, respectivamente. Vinte e dois por cento dos pacientes (n=10) apresentaram HDLc < 40 mg/dL (Tabelas 2 e 3).

O diagnóstico de hipertensão arterial sistêmica foi feito em 35% (n=16) dos pacientes, sendo que 11 estavam sendo medicados com anti-hipertensivos (losartana, enalapril, hidroclorotiazida, anlodipina, nifedipina e atenolol). Os valores médios de pressão arterial sistólica e diastólica foram 132 ± 17 mmHg e 84 ± 11 mmHg, respectivamente (Tabelas 2 e 3).

O diagnóstico de obesidade foi realizado em 30% (n=14) dos indivíduos, caracterizado por obesidade grau 1, 2 e 3 em 17%, 11% e 2% dos indivíduos, respectivamente. A média do IMC considerando-se o grupo foi de $27,5 \pm 5,4$ Kg/m² e o percentual de gordura corporal de $28,3 \pm 9,6\%$. Os pacientes apresentaram circunferência abdominal média de $93 \pm 13,8$ cm e relação cintura-quadril de $0,92 \pm 0,08$ (Tabelas 2 e 3).

O diagnóstico de Diabetes Mellitus foi realizado em 4% (n=2) dos indivíduos deste grupo e os pacientes estavam recebendo medicamentos anti-

diabéticos (metformina e glimepirida). A glicemia de jejum média do grupo foi de 90 ± 13 mg/dL, hemoglobina glicada de $5,4 \pm 0,5\%$, insulina basal de $10,5 \pm 7$ μ UI/mL e HOMA IR de $2,4 \pm 1,7$ (Tabelas 2 e 3).

Os valores médios de hematócrito e creatinina foram de $47 \pm 3\%$ e $0,9 \pm 0,2$ mg/dL, respectivamente (Tabela 2). Valores de hematócrito acima de 50% foram encontrados em 17,4% dos pacientes.

Em relação aos vícios, observou-se que 20% (n=9) dos indivíduos eram tabagistas (fumantes atuais), 9% (n=4) praticavam abuso de álcool e 9% (n=4) de drogas ilícitas (Tabela 4).

Tabela 2. Características pressóricas, antropométricas e laboratoriais de homens transexuais em tratamento com ésteres de testosterona.

VARIÁVEIS	Média ± DP	Variação
Pressão arterial sistólica, mmHg	132 ± 17	90 – 180
Pressão arterial diastólica, mmHg	84 ± 11	60 – 110
IMC, Kg/m ²	27,5 ± 5,4	19,1 – 41
Percentual de gordura corporal, %	28,3 ± 9,6	10,7 – 49,9
Circunferência abdominal, cm	93 ± 13,8	70 – 125,5
Relação cintura-quadril	0,92 ± 0,08	0,77 – 1,1
Colesterol total, mg/dL	198 ± 43	132 – 311
HDL colesterol, mg/dL	50 ± 16	29 – 112
LDL colesterol, mg/dL	124 ± 34	56 – 206
Triglicerídeos, mg/dL	127 ± 86	41 – 540
Glicemia de jejum, mg/dL	90 ± 13	59 – 128
Hemoglobina glicada, %	5,4 ± 0,5	4,6 – 7,3
Insulina, µIU/mL	10,5 ± 7	2,5 – 32,8
HOMA IR	2,4 ± 1,7	0,5 – 7,4
Hematócrito, %	47 ± 3	40,5 – 55,9
Creatinina, mg/dL	0,9 ± 0,2	0,7 – 1,3

Tabela 3: Distribuição dos homens transexuais em tratamento com ésteres de testosterona segundo presença de comorbidades metabólicas.

VARIÁVEIS	n (%)
DISLIPIDEMIA #	
Ausente	17 (38)
Limítrofe	9 (20)
Dislipidemia	19 (42)
HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA	
Ausente	16 (35)
Pré-hipertensão	14 (30)
Hipertensão	16 (35)
OBESIDADE	
IMC normal	19 (42)
Sobrepeso	13 (28)
Obesidade	14 (30)
DIABETES MELLITUS	
Ausente	31 (68)
Pré-DM	13 (28)
DM	2 (4)

Dados ignorados: (#) 1

Tabela 4: Distribuição dos homens transexuais em tratamento com ésteres de testosterona segundo vícios.

VARIÁVEIS	n (%)
TABAGISMO #	
Nunca fumantes	24 (53)
Ex-fumantes	12 (27)
Fumantes atuais	9 (20)
ETILISMO #	
Nunca etilistas	33 (73)
Ex-etilistas	8 (18)
Etilistas atuais	4 (9)
DROGAS ILÍCITAS #	
Nunca usuários	36 (80)
Experimentadores	5 (11)
Usuários atuais	4 (9)

Dados ignorados: (#) 1

5.2 Propriedade arteriais (velocidade de onda de pulso carotídeo-femoral, diâmetro, espessura íntima-média e distensão relativa da artéria carótida) em homens transexuais e controles

As propriedades estruturais e funcionais de grandes artérias foram comparadas entre 42 homens transexuais e 147 indivíduos controle (76 do sexo feminino e 71 do sexo masculino) pareados para idade e IMC.

A velocidade de onda de pulso carotídeo-femoral foi maior em homens transexuais (7,2 m/s) do que em controles (7,0 m/s para o sexo feminino e 6,6 m/s para o sexo masculino), mas esta diferença só atingiu significância estatística em relação aos controles masculinos ($p=0,005$). O valor de VOP-cf não diferiu entre controles masculinos e femininos ($p=0,076$). Quando categorizados por idade, considerando a mediana da idade (42 anos) como ponto de corte, homens transexuais ≥ 42 anos ($n=20$) apresentaram maior

VOP-cf do que controles masculinos (n=37) (7.8 ± 0.8 vs 6.8 ± 1.0 , $p < 0.001$) e femininos (n=51) (7.8 ± 0.8 vs 7.2 ± 0.9 , $p = 0.024$) da mesma faixa etária, independentemente dos valores de pressão arterial (Fig. 1). Em quatro pacientes (dois homens transexuais, um controle feminino e um controle masculino) não foi possível realizar a mensuração da velocidade de onda de pulso carotídeo-femoral por dificuldades técnicas.

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores de diâmetro carotídeo dos homens transexuais e dos controles masculinos ($p=0,145$) ou controles femininos ($p=0,359$). Quando categorizados por idade, no subgrupo ≥ 42 anos, os controles masculinos apresentaram diâmetro carotídeo significativamente maior do que homens transexuais e controles femininos (Fig. 2). Não houve diferença estatisticamente significativa nos parâmetros vasculares espessura íntima-média carotídea ($p=0,288$) (Fig. 3) e distensão relativa da carótida ($p=0,378$) (Fig. 4) entre homens transexuais e controles.

Figura 1. Velocidade de onda de pulso carotídeo-femoral de homens transexuais e indivíduos controle masculino e feminino pareados para idade e IMC; * $p < 0,05$.

Figura 2. Diâmetro carotídeo de homens transexuais e indivíduos controle masculino e feminino pareados para idade e IMC; * $p < 0,05$.

Figura 3. Distensão relativa da artéria carótida de homens transexuais e indivíduos controle masculino e feminino pareados para idade e IMC.

Figura 4. Espessura íntima média carotídea de homens transexuais e indivíduos controle masculino e feminino pareados para idade e IMC

Os valores de pressão arterial sistólica e diastólica mostraram-se mais elevados no grupo de homens transexuais do que no grupo controle. Os níveis de hematócrito também foram mais elevados entre os homens transexuais

quando comparados com os controles masculino e feminino. Os níveis de HDLc foram semelhantes entre homens transexuais e controles femininos e maiores em relação aos controles masculinos. Níveis de creatinina em homens transexuais foram similares aos dos controles masculinos e maiores em relação aos controles femininos. Não houve diferença estatisticamente significativa nos níveis de colesterol total, LDLc, triglicerídeos e glicemia de jejum entre os grupos (Tabela 5).

Tabela 5. Características clínicas e laboratoriais de homens transexuais e indivíduos controle masculino e feminino pareados para idade e IMC.

VARIÁVEIS	HOMENS TRANSEXUAIS (n=42)	CONTROLES FEMININOS (n=76)	CONTROLES MASCULINOS (n=71)	P
	média (dp)	média (dp)	média (dp)	
IDADE (anos)	42 (10)	45 (10)	43 (10)	0.180*
IMC (kg/m ²)	28 (5)	26 (5)	26 (4)	0.451*
PAS (mm Hg)	128 (16)	117 (15)	120 (16)	0.003^a
PAD (mm Hg)	81 (10)	74 (11)	74 (13)	0.009^b
PP (mm Hg)	48 (11)	43 (9)	46 (12)	0.026^c
HEMATÓCRITO (%)	47 (3)	40 (3)	45 (3)	<0.001^d
CT (mg/dL)	198 (42)	202 (39)	186 (34)	0.068
HDLc (mg/dL)	50 (16)	53 (20)	43 (9)	<0.001^e
LDLc (mg/dL)	124 (34)	129 (35)	116 (28)	0.104
TRIGLICERÍDEOS (mg/dL)	127 (86)	117 (74)	130 (74)	0.350*
GJ (mg/dL)	90 (13)	93 (9)	94 (8)	0.096*
CREATININA (mg/dL)	0.9 (0.2)	0.8 (0.1)	1.0 (0.1)	<0.001^f

(*) Teste de Kruskal-Wallis.

IMC: índice de massa corpórea; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; PP: pressão de pulso; HDLc: HDL colesterol; LDLc: LDL colesterol; GJ: glicemia de jejum.

a: homens transexuais vs controles femininos (p<0,001), homens transexuais vs controles masculinos (p=0,012); b: homens transexuais vs controles femininos (p=0,015), homens transexuais vs controles masculinos (p=0,019); c: homens transexuais vs controles femininos (p=0,024); d: homens transexuais vs controles femininos (p<0,001), homens transexuais vs controles masculinos (p<0,001), controles femininos vs controles masculinos (p<0,001); e: homens transexuais vs controles masculinos (p=0,005), controles femininos vs controles masculinos (p<0,001); f: homens transexuais vs controles femininos (p<0,001), controles femininos vs controles masculinos (p<0,001).

Avaliando os parâmetros vasculares exclusivamente no grupo de homens transexuais, encontrou-se que a velocidade de onda de pulso carotídeo-femoral foi significativamente maior em transexuais hipertensos em relação aos não hipertensos ($p=0,022$) (Anexo C).

O diâmetro carotídeo foi significativamente maior em indivíduos transexuais obesos em relação aos não obesos ($p<0,001$) e em hipertensos em relação aos não hipertensos ($p=0,007$) (Anexo C).

A distensão relativa da carótida foi significativamente menor em transexuais obesos em relação aos não obesos ($p=0,016$), e em hipertensos em relação aos não hipertensos ($p=0,019$) (Anexo C).

A espessura íntima-média carotídea foi significativamente maior em transexuais obesos em relação aos não obesos ($p=0,006$) e em hipertensos em relação aos não hipertensos ($p=0,011$) (Anexo C).

Dislipidemia e diabetes não influenciaram nenhum dos parâmetros vasculares analisados (Anexo C), bem como tabagismo (Anexo D). Não houve diferença de parâmetros vasculares entre pacientes gonadectomizados e não-gonadectomizados (Anexo E). Não houve diferença de parâmetros vasculares entre pacientes que receberam cipionato e undecanoato de testosterona (Anexo F).

A velocidade de onda de pulso carotídeo-femoral teve correlação significativa e positiva com idade, tempo de tratamento androgênico e relação cintura-quadril. O diâmetro carotídeo teve correlação significativa e positiva com IMC, circunferência abdominal, relação cintura-quadril, porcentagem de gordura corporal, insulina basal e HOMA IR. A distensão relativa da carótida

teve correlação significativa e negativa com idade, IMC, circunferência abdominal, relação cintura-quadril, porcentagem de gordura corporal e hemoglobina glicada. A espessura íntima-média carotídea teve correlação significativa e positiva com idade e relação cintura-quadril (Anexo G, Anexo H, Anexo I, Anexo J). Na análise multivariada, apenas a idade manteve-se como fator determinante independente positivo da VOP-cf (Tabela 6).

Tabela 6. Correlações entre variáveis clínicas e rigidez aórtica de homens transexuais após análise multivariada.

Parâmetro	Coefficiente	Erro padrão	Valor t	p	R ²
Intercepto	3,621	1,753	2,07	0,047	
Idade	0,051	0,019	2,60	0,014	
Duração do tratamento androgênico	-0,005	0,019	-0,24	0,814	0,374
Diagnóstico de hipertensão	-0,290	0,329	-0,88	0,384	
Relação cintura-quadril	1,926	2,276	0,85	0,404	

5.3 Estudo das repetições CAG do gene do receptor androgênico em homens transexuais

A distribuição do número de repetições CAG do exon 1 do gene do RA foi analisada em 44 de 46 homens transexuais e em 87 indivíduos controle do sexo feminino (Fig.5).

O número de repetições CAG nos homens transexuais variou de 17 a 27, com média $\pm$ DP de $21,5 \pm 2$ e mediana de 21. Os alelos 20 e 23 representaram, respectivamente, os percentis 25 e 75 desta distribuição. Noventa e três por cento dos homens transexuais (41/44) foram heterozigotos para o número de repetições CAG e 14,6% dos heterozigotos (6/41) apresentaram desvio de inativação do cromossomo X, sendo que em 5 deles houve inativação preferencial do alelo mais curto.

No grupo de controles femininos, o nCAG variou de 14 a 29 repetições, com média $\pm$ DP de $22 \pm 2,6$ e mediana de 22. Os alelos 21 e 24 representaram, respectivamente, os percentis 25 e 75 da distribuição. Noventa por cento dos indivíduos controle (78/87) foram heterozigotos para o número de repetições CAG e 25,6% dos heterozigotos (20/78) apresentaram desvio de inativação do cromossomo X, sendo que em 15 deles houve inativação preferencial do alelo mais curto.

Não houve diferença estatisticamente significativa entre homens transexuais e controles femininos quanto à média ponderada do nCAG RA, porcentagem de heterozigose e padrão de inativação do cromossomo X ($p>0,05$) (Anexo K, Anexo L).

Figura 5. Distribuição do número de repetições CAG do gene do receptor androgênico em 44 homens transexuais e 87 controles femininos.

Uma análise mais aprofundada foi realizada entre o grupo de homens transexuais carreando repetições mais longas (≥ 23 , referente ao maior quartil) e repetições mais curtas (≤ 20 , referente ao menor quartil) do nCAG *RA* quanto às comorbidades metabólicas. Não houve diferença entre a prevalência de repetições curtas e longas do nCAG *RA* entre homens transexuais com e sem comorbidades metabólicas (Tabela 7).

Tabela 7: Frequência de alelos curtos (≤ 20) e longos (≥ 23) do trato CAG RA entre homens transexuais com e sem comorbidades metabólicas.

VARIÁVEIS	TRATO CAG DO GENE DO RECEPTOR ANDROGÊNICO		<i>p</i> *
	CURTO (≤ 20)	LONGO (≥ 23)	
DISLIPIDEMIA			>0,999
Não dislipidêmicos	9 (52,9)	8 (53,3)	
Dislipidêmicos	8 (47,1)	7 (46,7)	
HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA			0,472
Não hipertensos	10 (58,8)	11 (73,3)	
Hipertensos	7 (41,2)	4 (26,7)	
OBESIDADE			0,444
Não obesos	11 (64,7)	12 (80,0)	
Obesos	6 (35,3)	3 (20,0)	
DIABETES			0,691
Não diabéticos	12 (70,6)	12 (80,0)	
Pré-diabéticos e diabéticos	5 (29,4)	3 (20,0)	

(*) teste exato de Fisher

Pacientes com repetições CAG mais curtas (≤ 20 repetições) apresentaram valores significativamente maiores de glicemia de jejum, insulina e HOMA-IR em relação a pacientes com repetições CAG mais longas (≥ 23 repetições). O valor médio de hemoglobina glicada também foi maior no grupo com repetições CAG mais curtas, mas esta diferença não atingiu significância estatística ($p=0,07$). Os parâmetros antropométricos (IMC, CA, Relação C/Q, porcentagem de gordura corporal), os parâmetros pressóricos (PAS, PAD, PP) e os demais parâmetros laboratoriais (hematócrito, colesterol total e frações, triglicerídeos) não diferiram entre pacientes portadores de repetições CAG curtas e longas (Tabela 8).

Tabela 8: Características clínicas, antropométricas e laboratoriais distribuídas de acordo com o comprimento do trato CAG RA em 32 homens transexuais em tratamento com ésteres de testosterona.

VARIÁVEIS	TRATO CAG DO GENE DO RA		P
	CURTO (≤ 20), n=17	LONGO (≥ 23), n=15	
	média (dp)	média (dp)	
PAS (mm Hg)	135 (13,4)	131 (12,1)	0,487
PAD (mm Hg)	83 (5,0)	84 (10,4)	0,725
PP (mm Hg)	52 (12,5)	48 (6,8)	0,239
IMC (kg/m ²)	28 (4,7)	27 (4,8)	0,614
GORDURA CORPORAL (%)	30 (9,8)	27 (7,6) ##	0,320
CA (cm)	95 (12,7)	90 (14,0) ##	0,318
RELAÇÃO C/Q	0,9 (0,1)	0,9 (0,1) ##	0,977
CT (mg/dL)	211 (35,5)	189 (35,6)	0,095
HDLc (mg/dL)	52 (21,3)	48 (11,5)	0,865*
LDLc (mg/dL)	131 (29,7)	119 (29,6)	0,270
TRIGLICERÍDEOS (mg/dL)	140 (66,8)	111 (60,2)	0,216
GJ (mg/dL)	95 (12,9)	86 (11,3)	0,043
HbA1c (%)	5,5 (0,5) #	5,2 (0,3) ##	0,070*
INSULINA (μ IU/mL)	11 (3,5) #	9 (8,1) ###	0,011*
HOMA IR	2,5 (0,9) #	1,9 (1,7) ###	0,017*
HEMATÓCRITO (%)	47 (3,0)	47 (3,8)	0,501

(*) teste de Mann—Whitney

PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; PP: pressão de pulso; IMC: índice de massa corpórea; CA: circunferência abdominal; Relação C/Q: relação cintura-quadril; CT: colesterol total; HDLc: HDL colesterol; LDLc: LDL colesterol; GJ: glicemia de jejum; HbA1c: hemoglobina glicada; HOMA IR: *homesotatic model assessment – insulin resistance*.

Dados ignorados: (#) 1; (##) 2; (###) 3

Não se observou diferença significativa nos parâmetros vasculares de pacientes portadores de alelos curtos e longos do trato CAG RA (Fig. 6), bem como não houve correlação significativa entre a média ponderada do nCAG RA e as propriedades vasculares analisadas (Tabela 9).

Figura 6. Distribuição dos valores das propriedades estruturais e funcionais dos vasos arteriais de homens transexuais de acordo com o comprimento do trato CAG RA.

Figura 6a. Distribuição dos valores de VOP carotídeo-femoral de homens transexuais de acordo com o comprimento do trato CAG RA.

Figura 6b. Distribuição dos valores de diâmetro carotídeo de homens transexuais de acordo com o comprimento do trato CAG RA.

Figura 6c. Distribuição dos valores de distensão relativa da artéria carótida de homens transexuais de acordo com o comprimento do trato CAG RA.

Figura 6d. Distribuição dos valores de espessura íntima-média carotídea de homens transexuais de acordo com o comprimento do trato CAG RA.

Tabela 9. Correlação das propriedades estruturais e funcionais dos vasos arteriais com a média ponderada do trato CAG RA em homens transexuais em tratamento com ésteres de testosterona.

VARIÁVEIS		VOP-cf (m/s)	DIÂMETRO (μ m)	DISTENSÃO (%)	EIMC (mm)
CAG - MÉDIA PONDERADA	N	39	41	41	41
	R	-0,244	-0,024	0,186	-0,027
	P	0,134	0,880	0,243	0,866

VOP-cf: velocidade de onda de pulso carotídeo-femoral; EIMC: espessura íntima-média carotídea.

6. *Discussão*

Poucos estudos de morbimortalidade em indivíduos transexuais são disponíveis na literatura e os resultados observados nestes estudos contrariam as considerações originais de que o padrão de risco cardiovascular apresentado por homens transexuais recebendo tratamento com testosterona fosse supostamente semelhante ao risco cardiovascular de homens biológicos e que mulheres transexuais recebendo tratamento com estrógenos seguissem o padrão de risco cardiovascular de mulheres biológicas. De forma surpreendente, identificou-se que mulheres transexuais apresentaram maior morbimortalidade cardiovascular em relação à população geral, o que não foi observado, até o momento, no grupo de homens transexuais (130).

A grande crítica a estes estudos, no entanto, é a diferença de idade entre mulheres transexuais e homens transexuais, sendo estes últimos geralmente mais jovens que as primeiras, na maioria das casuísticas (130, 131). Outra discussão é sobre o tempo de tratamento. A curva de Kaplan-Meier, nos estudos com mulheres transexuais, mostrou divergência de sobrevivência entre essas pacientes e indivíduos controle apenas após 10 anos de seguimento, justificando os resultados negativos observados em dois estudos anteriores que avaliaram mortalidade cardiovascular em mulheres transexuais com seguimento médio de 9 anos (130, 132, 133).

Assim, os resultados negativos presentes até o momento na literatura em relação a risco de morbimortalidade cardiovascular em homens transexuais poderiam ser parcialmente explicados pela ausência de tempo suficiente para manifestação dos eventos, sugerindo-se que esses resultados possam ser modificados com o envelhecimento e consequente aumento do tempo de

tratamento androgênico desses indivíduos. Nesse contexto, existem poucos estudos na literatura internacional e nenhum estudo na literatura nacional sobre a prevalência de fatores de risco cardiovascular na população de homens transexuais (134, 135). O estudo de fatores de risco cardiovascular em nossa casuística de homens transexuais mostra-se importante por constituir-se de uma população com tempo prolongado de tratamento androgênico e com média de idade acima da média analisada na literatura.

A comparação dos achados de prevalência de fatores de risco cardiovascular na nossa população com o estudo de Wierckx e colaboradores, que avaliou a prevalência dessas doenças em 50 homens transexuais, revelou em nossa casuística maior frequência de obesidade (30% versus 14%) e hipertensão (35% versus 28%) e menor frequência de dislipidemia (42% versus 64%), embora o critério de seleção de pacientes dislipidêmicos naquele estudo (colesterol total $\geq$ 190 mg/dL) tenha sido menos rigoroso que o nosso (134).

Outro estudo realizado pelo mesmo autor avaliou a presença de diabetes mellitus em homens transexuais e encontrou uma frequência de 3,6%, semelhante à frequência de 4% encontrada na nossa casuística (135).

Observamos que uma parcela expressiva da nossa casuística (22%) apresentou HDLc $<$ 40 mg/dL, resultado que está de acordo com os achados de uma metanálise envolvendo 16 estudos e 651 homens transexuais, na qual o tratamento com testosterona se associou com redução significativa de HDLc (70). As ações da testosterona sobre a redução do HDLc são principalmente determinadas pelo aumento da lipase hepática, enzima que hidrolisa fosfolípidos da superfície desta lipoproteína e que contribui para redução do seu tempo de residência na circulação (136).

Eritrocitose é uma complicação frequentemente descrita no tratamento androgênico de homens transexuais, decorrente do efeito estimulatório exercido pela testosterona na eritropoiese (137). Valores de hematócrito > 50% foram encontrados em 17,4% da nossa casuística. De forma semelhante aos nossos resultados, Emi e colaboradores também demonstraram aumento estatisticamente significativo de hematócrito em homens transexuais tratados com testosterona em relação aos não tratados (68). Este aumento de hematócrito impacta no tratamento androgênico, levando à necessidade de redução da dose de testosterona, através do aumento do intervalo de administração das injeções de ésteres de testosterona, objetivando-se reduzir o risco de evento tromboembólico (68, 138).

O tabagismo é relatado na literatura como um vício frequente entre indivíduos transexuais e é reconhecidamente um fator de impacto importante no risco CV. Um estudo de Asscheman e colaboradores, com casuística expressiva de homens transexuais (n=365), já havia mostrado elevada prevalência de tabagismo atual e prévio nesta população (35,9% e 38,3%, respectivamente) (130). Um número grande de pacientes da nossa casuística apresentou história de tabagismo, sendo o uso atual relatado por 20% e o uso prévio por 27% dos indivíduos. O abuso de álcool e drogas ilícitas é associado de forma menos frequente que o tabagismo a eventos cardiovasculares, embora estudos tenham mostrado efeitos deletérios dessas substâncias no coração (139, 140). Dados sobre abuso de álcool e drogas ilícitas na população de homens transexuais são controversos na literatura. Um estudo realizado por Guzmán-Parra e colaboradores mostrou frequência de uso prévio e atual de drogas entre homens transexuais de 40,6% e 20,8%, respectivamente, bem

acima dos valores encontrados na nossa casuística (141). Gómez-Gil e colegas documentaram abuso de álcool e drogas em, respectivamente, 4,2% e 11,3% de homens transexuais (142). Não existem dados na literatura nacional sobre vícios em homens transexuais.

Os estudos das possíveis repercussões dos níveis séricos elevados e flutuantes de testosterona nos fatores de risco cardiovascular não tradicionais em homens transexuais são ainda mais escassos. Os resultados do efeito da testosterona exógena sobre parâmetros vasculares, analisando as propriedades estruturais e funcionais de vasos arteriais de um grupo selecionado de homens transexuais tratados com testosterona, por tempo prolongado e de maneira uniforme, trouxeram informações inéditas e importantes.

Os homens transexuais apresentaram maior velocidade de onda de pulso carotídeo-femoral (e, portanto, maior rigidez aórtica) do que controles masculinos e femininos pareados para idade e IMC, mas esta diferença só foi estatisticamente significativa em relação aos controles masculinos ($p=0,005$). Comparando apenas os controles masculinos e femininos do nosso estudo, os valores de VOP foram semelhantes entre os dois grupos ($p=0,076$). Alecu e colaboradores, estudando um grupo de 206 pacientes idosos saudáveis, também não encontraram diferença de valor de VOP entre os sexos (143).

Entretanto, quando categorizamos o grupo por idade, considerando a mediana como ponto de corte, observamos que os transexuais ≥ 42 anos apresentaram maior rigidez aórtica do que controles masculinos e femininos da mesma faixa etária, sugerindo a necessidade de exposição prolongada aos andrógenos para que haja modificação do vaso arterial, visto que a rigidez

aórtica se correlacionou, em nosso estudo, significativa e positivamente à idade e à duração do tratamento androgênico.

Nenhum estudo na literatura, até então, avaliou a velocidade de onda de pulso carotídeo-femoral em homens transexuais e apenas um estudo utilizou a VOP tornozelo-braquial para avaliação da rigidez arterial nesses indivíduos. Nesse estudo, os transexuais tratados com testosterona apresentaram maior rigidez arterial do que os não tratados (68). Já é bem documentada na literatura a superioridade da velocidade de onda de pulso carotídeo-femoral em relação a outros métodos na avaliação de rigidez arterial, bem como para a predição de eventos cardiovasculares, sendo, por isso, considerada o método padrão-ouro para estudo da rigidez aórtica (79, 144).

Sabe-se que a rigidez arterial é considerada um fator de risco independente para doença cardiovascular e aumenta com a idade em ambos os sexos. No entanto, esse aumento parece ser mais pronunciado nas mulheres, visto que na fase da pós-menopausa elas apresentam maior rigidez de grandes vasos do que os homens da mesma idade (84). Essas diferenças podem ser intrínsecas ao gênero ou influenciadas por hormônios sexuais. O estudo de Ahismastos e colaboradores avaliou, através da análise de VOP e complacência arterial, o padrão de enrijecimento dos vasos de 110 crianças de ambos os sexos, 58 pré-púberes e 52 pós-púberes. Na fase pré-puberal, as meninas apresentaram maior rigidez arterial (maior VOP e menor complacência arterial) do que os meninos, mas esta diferença foi eliminada na fase pós-puberal. Ambos os gêneros demonstraram aumento da capacitância de grandes vasos após a puberdade, mas as meninas desenvolveram vasos com maior distensibilidade e os meninos desenvolveram vasos mais rígidos (85).

Esses resultados sugerem que as diferenças de gênero sobre a rigidez arterial são intrínsecas (visto que na fase pré-puberal praticamente não existe a influência hormonal), mas podem ser moduladas por hormônios sexuais masculinos e femininos.

Os nossos resultados sugerem que a testosterona exógena contribuiu para o aumento da VOP nos homens transexuais, mas isoladamente não foi capaz de alterar a VOP em relação aos controles femininos (a ação do gênero nesse caso prevaleceu). Mas a testosterona, juntamente com a ação intrínseca do gênero feminino, foi responsável por elevar a VOP, atingindo significância estatística em relação aos controles masculinos.

Receptores para hormônios esteroides foram identificados em vasos arteriais de seres humanos como aorta, carótida e coronárias (145, 146). Em cultura de células musculares lisas da aorta, a testosterona reduziu a proporção elastina/colágeno, fornecendo bases estruturais para o aumento da rigidez da parede arterial observada em meninos durante a transição para puberdade (85, 147).

Em 2007, as diretrizes europeias de Cardiologia e Hipertensão sugeriram um ponto de corte para a VOP carotídeo-femoral de 12 m/s, a partir do qual existe um risco aumentado de eventos cardiovasculares. Esse cutoff vem sendo contestado e, recentemente, sugeriu-se sua redução para 10 m/s justificando que a medição direta da distância (artéria femoral comum menos artéria carótida comum) é geralmente superestimada e que a utilização de 80% dessa distância seria uma medida mais acurada (148). Notamos que nenhum dos indivíduos transexuais apresentou valores superiores a 10 m/s. Ainda assim, é bastante controversa na literatura a utilização de valores fixos como

ponto de corte de parâmetros vasculares, visto que muitas variáveis como idade, IMC e presença de comorbidades podem interferir nos valores desses parâmetros arteriais, dificultando a seleção de um único valor como ponto de corte para todos os indivíduos (149).

O grupo de homens transexuais avaliados neste estudo apresentou diâmetro da artéria carótida menor que o de controles masculinos e mais elevado que o de controles femininos, porém estas diferenças não atingiram significância estatística. Por outro lado, controles masculinos apresentaram diâmetro de carótida significativamente maior que o de controles femininos ($P < 0,001$). É provável que a testosterona tenha sido responsável pelo aumento no diâmetro carotídeo de homens transexuais, mas nossos dados não conseguem estabelecer esta associação. Não encontramos diferença significativa nos parâmetros vasculares espessura íntima-média carotídea ($p = 0,288$) e distensão relativa da carótida ($p = 0,378$) entre homens transexuais e controles.

Existem poucos dados na literatura abordando a influência de andrógenos sobre o diâmetro de grandes vasos. O estudo de Vaidya e colegas, avaliando diâmetro e distensibilidade carotídeos em uma grande casuística de mulheres no período de pós menopausa e homens na faixa etária de 45 a 84 anos, encontrou que um ambiente mais androgênico (valores maiores de dehidroepiandrosterona – DHEA e valores menores de proteína ligadora de hormônios sexuais – SHBG) se associou com menor distensibilidade e maior diâmetro carotídeo nas mulheres. Em homens, o resultado foi contrário, ou seja, maiores níveis de testosterona biodisponível e menores níveis de estradiol se associaram com maior distensibilidade e menor diâmetro carotídeo

(150). Devemos ressaltar, no entanto, que os níveis hormonais avaliados no estudo citado foram os níveis endógenos e que a faixa etária da população do estudo era maior do que a faixa de idade dos nossos pacientes, dificultando uma comparação entre os resultados observados e os obtidos no nosso grupo de pacientes.

O estudo de Ciccone e colegas identificou um maior diâmetro ântero-posterior da aorta abdominal em mulheres jovens com SOP quando comparadas com controles femininos pareados para idade. No entanto, esta diferença estatística desapareceu quando os dados foram ajustados para IMC e relação cintura-quadril, cujos valores eram significativamente maiores nas mulheres com SOP (151). Nossos dados confirmaram uma correlação significativa e positiva entre diâmetro carotídeo e parâmetros de composição corporal. O pareamento para IMC entre transexuais e controles realizado em nosso estudo deve ter contribuído para que os grupos tenham apresentado valores semelhantes de diâmetro carotídeo.

A espessura íntima média carotídea foi estudada em uma casuística de 1083 pacientes de 30 a 80 anos por Yao e colaboradores. Os autores dividiram os pacientes conforme gravidade de risco cardiovascular calculada pelo escore de Framingham. A espessura íntima média carotídea se elevou com a elevação do escore de Framingham em ambos os sexos, mas para um mesmo escore de risco não houve diferença significativa da espessura entre homens e mulheres (152). Os nossos resultados também não mostraram diferença da espessura íntima média carotídea entre os três grupos analisados. Embora a espessura íntima média seja considerada o parâmetro mais específico para identificar aterosclerose subclínica, nossos resultados sugerem que a

velocidade de onda de pulso carotídeo-femoral seja um marcador mais sensível para detectar mudanças no sistema arterial antes mesmo que ocorra uma alteração estrutural do vaso, potencialmente induzida por esteroides sexuais.

Analisando os fatores determinantes dos parâmetros estruturais e funcionais de grandes artérias, observamos que, com exceção do diâmetro, a idade influenciou todos os demais parâmetros (VOP, distensão e espessura íntima média). A influência do envelhecimento sobre a rigidez arterial já é bem estabelecida na literatura (153). Com o avançar da idade, ocorre degeneração progressiva das fibras elásticas, espessamento da parede arterial secundária a hiperplasia da íntima e degeneração e desorganização da camada média com substituição parcial de elastina por formas menos distensíveis de colágeno (154-156).

Parâmetros antropométricos (IMC, circunferência abdominal, relação cintura-quadril e porcentagem de gordura corporal) também influenciaram de forma significativa os parâmetros vasculares. A relação cintura-quadril foi fator determinante para todos os quatro parâmetros vasculares analisados nesse estudo. Semelhante aos nossos achados, Wildman e colaboradores também encontraram forte associação entre parâmetros antropométricos (IMC, circunferência abdominal e relação cintura-quadril) e velocidade de onda de pulso carotídeo-femoral em adultos jovens e idosos (157). Estudos populacionais com casuísticas expressivas também mostraram que o IMC e a circunferência abdominal foram fatores determinantes para alteração das propriedades estruturais e funcionais da artéria carótida (158, 159). Esses resultados demonstram que o excesso de peso, em especial a gordura

abdominal, tem efeito no sistema vascular e este pode ser um dos mecanismos que explicam a ação da obesidade sobre o desenvolvimento de doenças cardiovasculares.

Notamos que o tempo de tratamento androgênico nos homens transexuais foi determinante apenas para o valor de VOP aórtica e não para os parâmetros da artéria carótida; no entanto, após análise multivariada, apenas a idade se manteve como variável independentemente associada à VOP.

A manutenção da reposição hormonal após a gonadectomia realizada no processo transexualizador dos pacientes provavelmente previne o aumento da rigidez arterial, uma vez que não foi observada uma diferença significativa de parâmetros vasculares entre homens transexuais gonadectomizados e não-gonadectomizados. Este resultado está em acordo com estudos que mostram redução de fatores de risco cardiovascular em homens hipogonádicos que recebem reposição androgênica (160).

Tabagismo, dislipidemia e diabetes e/ou pré diabetes não se associaram com piora nos marcadores arteriais analisados em nosso estudo. O papel dos lipídios sobre as propriedades de grandes artérias tem sido motivo de discussão na literatura, pois os resultados são ainda controversos. Em estudo brasileiro com pacientes portadores de hipercolesterolemia familiar, Martinez e colaboradores observaram que o nível de triglicerídeos foi um determinante importante da VOP carotídeo-femoral e da distensão da carótida (122). No estudo multi-étnico sobre aterosclerose publicado em 2010, a espessura íntima-média foi maior nos pacientes portadores de hipercolesterolemia simples e hiperlipidemia mista (161). Por outro lado, em uma revisão sistemática sobre VOP carotídeo-femoral, os autores demonstraram que a maioria dos estudos

não encontrou associação de VOP com colesterol total, HDL colesterol, LDL colesterol ou triglicerídeos. Essa mesma revisão também não encontrou associação entre VOP e tabagismo, embora uma fraca associação entre VOP e diabetes mellitus tenha sido identificada em metade dos estudos analisados (162). O fato de os nossos pacientes estarem recebendo tratamento medicamentoso para diabetes e dislipidemia pode ter contribuído para a ausência de associação positiva entre essas doenças e os marcadores vasculares analisados.

Observamos que o grupo de homens transexuais apresentou níveis significativamente maiores de pressão arterial e hematócrito em relação aos controles masculinos e femininos. Estudos em homens transexuais demonstraram que a testosterona exógena geralmente promove, em organismos geneticamente femininos, aumento da pressão arterial, eritrocitose, piora do perfil lipídico (redução de HDLc e aumento de triglicerídeos), aumento do IMC e da gordura visceral, efeitos diferentes dos observados em pacientes masculinos hipogonádicos em terapia de reposição androgênica (19). Não encontramos redução significativa de HDLc em nossos pacientes transexuais quando comparados com controles, assim como não encontramos alterações em outras frações lipídicas ou mesmo alterações glicêmicas. A ação androgênica sobre o perfil glicêmico e resistência insulínica em homens transexuais é ainda controversa (19, 66, 67).

Estudos in vitro demonstraram uma correlação inversa entre o número de repetições CAG e a atividade de transativação do receptor androgênico, em que repetições CAG longas estariam associadas a menor transativação e repetições CAG curtas a maior transativação do receptor androgênico (96,

163). Destacamos que na literatura a categorização de alelos curtos e longos do trato CAG utiliza diferentes critérios, dificultando muitas vezes comparações entre as diferentes populações estudadas (164). Um dos critérios de categorização dos alelos, escolhido para a análise neste estudo, é o que utiliza os quartis da distribuição do nCAG para definição de trato curto e longo (165). Optamos pela categorização a partir do cálculo de quartis por considerá-la mais rigorosa, visto que leva em conta apenas os valores extremos da distribuição, diferente do critério que utiliza o valor da mediana da distribuição, no qual alelos abaixo da mediana são considerados curtos e os acima da mediana são classificados como longos (6, 166).

Através desta categorização em quartis, não observamos, em nossa casuística, influência do comprimento do trato CAG na presença ou ausência de dislipidemia, hipertensão arterial, obesidade ou diabetes. O fato de serem doenças poligênicas e fortemente influenciadas por fatores ambientais poderia justificar os resultados neutros encontrados entre o trato CAG e a presença de doenças cardiometabólicas em nossa casuística.

Os valores de glicemia de jejum, insulina basal e HOMA-IR foram significativamente maiores ($p=0,043$, $p=0,011$ e $p=0,017$, respectivamente) no grupo com trato CAG mais curto (≤ 20 repetições) quando comparado ao grupo com trato CAG mais longo (≥ 23 repetições) em nosso estudo. A hemoglobina glicada seguiu o mesmo comportamento dos demais parâmetros glicêmicos, também apresentando maior elevação no grupo com trato CAG mais curto, porém esta diferença não atingiu significância estatística ($p=0,07$). Estes dados sugerem que homens transexuais com trato CAG mais curto (e, portanto, com um receptor androgênico mais ativo) apresentam menor sensibilidade insulínica

em relação a indivíduos com trato CAG mais longo. Na nossa casuística, cinco pacientes heterozigotos para o número de repetições CAG apresentaram desvio de inativação do cromossomo X com inativação preferencial do alelo curto. Este comportamento, de acordo com nossos resultados, poderia contribuir para uma maior proteção genética ao desenvolvimento de resistência insulínica nesses pacientes.

Em mulheres com síndrome dos ovários policísticos (SOP), a resistência insulínica tem sido correlacionada com hiperandrogenismo em diversos estudos (167-169). O estudo de Möhlig e colaboradores, avaliando mulheres com SOP, não conseguiu mostrar correlação direta entre sensibilidade insulínica e comprimento CAG, mas após análise de regressão linear múltipla, os autores demonstraram que o comprimento CAG foi um modificador da ação da testosterona na sensibilidade insulínica. Neste modelo, repetições CAG curtas se relacionaram com piora na sensibilidade insulínica na presença de elevados níveis de testosterona e um efeito oposto foi observado com comprimentos CAG com mais de 23 repetições (170). Não existem dados na literatura avaliando a influência do nCAG *RA* nos parâmetros metabólicos em homens transexuais e os dados ainda são escassos em homens hipogonádicos em reposição androgênica (171).

Em homens com hipogonadismo hipogonadotrófico recebendo tratamento androgênico, tratos CAG mais curtos foram responsáveis por produzir melhores efeitos metabólicos em resposta à administração de testosterona (171). A administração de testosterona em doses farmacológicas parece produzir diferentes efeitos metabólicos em homens biológicos e mulheres biológicas, visto que melhora parâmetros cardiometabólicos em

homens hipogonádicos e piora, na maioria das vezes, estes parâmetros em homens transexuais, como discutido anteriormente. Alguns desses efeitos androgênicos, positivos ou negativos para a saúde cardiometabólica, parecem ser modulados pelo trato CAG, sendo exacerbados por tratos CAG mais curtos.

Skjaerpe e colaboradores, estudando 172 homens de 60 a 80 anos de idade, encontraram que indivíduos com comprimento CAG inferior a 21 repetições tinham valores mais elevados de glicemia de jejum, peptídeo C e hemoglobina glicada do que aqueles com tratos CAG superiores a 21 repetições, resultado semelhante ao encontrado em nossa casuística, embora o ponto de corte referente ao número de repetições CAG tenha sido diferente (172).

Os demais parâmetros laboratoriais como hematócrito, colesterol total e frações e triglicerídeos não diferiram entre os pacientes transexuais com tratos CAG curtos e longos. De forma semelhante aos nossos achados, outros autores também encontraram um efeito neutro do trato CAG nos níveis lipídicos em homens (102, 173). Em contrapartida, um estudo com 110 homens saudáveis de 20 a 50 anos mostrou uma correlação significativa e positiva entre o número de repetições CAG e os níveis de HDL colesterol, sugerindo que pacientes com receptores androgênicos mais ativos teriam menores níveis de HDL colesterol (104). Vale ressaltar que os pacientes deste estudo eram homens saudáveis e um dos critérios de exclusão foi o uso de qualquer medicamento, o que não ocorreu no nosso estudo. Dois estudos de Zitzmann e colaboradores, avaliando reposição androgênica em pacientes hipogonádicos, demonstraram modulação de tratos curtos CAG no aumento de hemoglobina e hematócrito durante o tratamento (102, 103).

Haring e colegas estudaram os efeitos do trato CAG *RA* sobre fatores de risco cardiometabólicos de 1859 homens com idade entre 20 e 79 anos e mostraram que indivíduos com trato CAG menor que 22 repetições tinham menores níveis de IMC e pressão arterial sistólica (174). Da mesma forma, Zitzmann e colaboradores encontraram uma associação independente entre trato CAG curto e menor massa de gordura corporal em homens saudáveis de 20 a 50 anos de idade (175).

Em nossa casuística não conseguimos demonstrar associação entre comprimento CAG e parâmetros antropométricos e de pressão arterial. Ressaltamos, no entanto, que utilizamos um critério bastante rigoroso na definição de trato CAG curto e longo, que contribuiu para uma redução importante do número de indivíduos utilizados na análise, visto que descartamos desta análise os pacientes portadores de trato CAG classificado como médio (n=12). Esta seleção pode ter prejudicado de alguma forma o poder do tamanho da amostra para gerar resultados estatisticamente significativos. Estes achados negativos sugerem ainda que os efeitos da testosterona via receptor androgênico podem ser contrabalanceados por efeitos opostos através de outros mecanismos, explicados por ação direta da testosterona (não genômica) ou indireta através de seus metabólitos.

A correlação dos níveis séricos de testosterona com parâmetros vasculares, trato CAG e comorbidades metabólicas não foi realizada e isto representa uma limitação do nosso estudo. O uso de ésteres de testosterona de curta ação resulta em uma grande variabilidade dos níveis séricos de testosterona, sofrendo influência do tempo de intervalo entre as injeções e da habilidade pessoal de cada organismo em metabolizar os andrógenos. A

dificuldade de padronização de coleta dos exames de sangue no mesmo período em todos os pacientes contribuiu para esta dificuldade em utilizar os níveis séricos de testosterona nas análises estatísticas.

7. Conclusões

-
- As prevalências de obesidade e hipertensão observadas foram maiores do que as encontradas na literatura transgênero, enquanto as de dislipidemia e tabagismo foram menores. A prevalência de diabetes mellitus foi semelhante à prevalência relatada na literatura.
 - Homens transexuais em tratamento androgênico apresentaram significativamente maior rigidez aórtica do que controles masculinos, mas não do que controles femininos. Porém, no subgrupo de indivíduos na faixa etária acima de 42 anos, identificamos a presença de rigidez aórtica significativamente maior nos homens transexuais do que nos controles masculino e feminino da mesma faixa etária, o que sugere um potencial efeito da terapia androgênica sobre os vasos. Não houve diferença de diâmetro, distensão relativa e espessura íntima média carotídea entre homens transexuais e controles.
 - Obesidade e hipertensão arterial sistêmica foram preditores de maior rigidez arterial em homens transexuais em tratamento androgênico. Tabagismo, dislipidemia e diabetes não influenciaram as propriedades dos vasos arteriais em homens transexuais em tratamento androgênico.
 - Os parâmetros correlacionados à rigidez aórtica foram a idade, o tempo de tratamento androgênico e a relação cintura-quadril. As propriedades da artéria carótida se correlacionaram com idade, parâmetros antropométricos e parâmetros glicêmicos.

-
- Tratos curtos CAG do gene do receptor androgênico (≤ 20 repetições) se associaram a menor sensibilidade insulínica em homens transexuais em tratamento androgênico.
 - O tamanho do trato CAG do gene do receptor androgênico não se associou significativamente com a presença de comorbidades cardiometabólicas, parâmetros antropométricos, pressóricos e lipídicos em homens transexuais em tratamento androgênico.
 - Não houve associação do tamanho do trato CAG do gene do receptor androgênico com nenhuma das propriedades dos vasos arteriais avaliadas.
 - Os resultados sugerem um potencial efeito deletério da terapia androgênica prolongada sobre os vasos arteriais, alertando para a necessidade de medidas preventivas em homens transexuais recebendo tratamento androgênico, através do controle precoce de fatores de risco cardiometabólicos.

Anexo A. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO PARTICIPANTE DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL
LEGAL**

1. NOME:

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: SEXO : M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº APTO:
.....

BAIRRO: CIDADE:

CEP: TELEFONE: DDD (.....)
.....

2. RESPONSÁVEL LEGAL

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)

DOCUMENTO DE IDENTIDADE: SEXO: M ☐ F ☐

DATA DE NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO: Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE:

CEP: TELEFONE: DDD (.....)
.....

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA:

Prevalência dos fatores de risco cardiovascular em homens transexuais em tratamento com ésteres de testosterona e sua associação com as variantes polimórficas do gene do receptor androgênico

2. PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Sorahia Domenice

CARGO/FUNÇÃO: Médica Assistente
51403

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº

UNIDADE DO HCFMUSP: Disciplina de Endocrinologia e Metabologia/ Laboratório de Hormônios e Genéticos Molecular LIM 42/ Unidade de Endocrinologia do Desenvolvimento

PESQUISADOR EXECUTANTE: Flávia Siqueira Cunha

CARGO/FUNÇÃO: Médica pós-graduanda
127878

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº

UNIDADE DO HCFMUSP: Disciplina de Endocrinologia e Metabologia/ Laboratório de Hormônios e Genéticos Molecular LIM 42/ Unidade de Endocrinologia do Desenvolvimento

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO	☒	RISCO MÉDIO	☐
RISCO BAIXO	☐	RISCO MAIOR	☐

3. DURAÇÃO DA PESQUISA: 36 meses

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

EXPLICAÇÕES SOBRE A PESQUISA

Você está sendo convidado a participar dessa pesquisa por ter apresentado diagnóstico de transexualismo de acordo com critérios diagnósticos do CID 10 e/ou DSM IV. As informações abaixo estão sendo fornecidas para explicar a importância da sua participação voluntária nesse estudo.

Desenho do estudo e objetivo: O objetivo principal deste estudo é avaliar a presença de fatores de risco para doenças do coração e dos vasos sanguíneos (risco cardiovascular) em pacientes com transexualismo feminino-para-masculino (homens transexuais) que recebem tratamento com testosterona. O efeito do tratamento com testosterona na saúde cardiovascular de transexuais não é totalmente conhecido. Alguns estudos mostraram aumento de peso, aumento de colesterol e triglicerídeos, risco de desenvolver diabetes, aumento da pressão arterial e aumento da gordura visceral (do abdômen). Outros estudos não confirmaram as mesmas alterações. Um gene (que são estruturas presentes em todas as células do corpo) chamado gene do receptor androgênico é o responsável pela atividade do hormônio testosterona nos órgãos e tecidos do corpo. Alterações no gene do receptor androgênico podem aumentar ou diminuir a ação da testosterona sobre os tecidos. O objetivo secundário deste estudo é analisar o gene do receptor androgênico de transexuais em uso de

testosterona e avaliar se existe relação entre as alterações deste gene e o surgimento dos fatores de risco cardiovascular.

Descrição dos procedimentos que serão realizados, com seus propósitos:

Para avaliar o risco cardiovascular, os procedimentos serão:

Dosagem de marcadores de risco cardiovascular (substâncias no sangue que indicam risco aumentado de doenças do coração). Este exame será realizado através de cinco coletas seriadas de sangue (tempos da coleta: Dia 0, Dia 2, Dia 7, Dia 14 e Dia 21).

Bioimpedância elétrica. Este exame determina a quantidade de gordura e de músculo no corpo. Você fica em pé na balança do aparelho e uma corrente elétrica passa pelo seu corpo para medir a gordura e o músculo. Você não sentirá esta corrente passando e também não sentirá nenhuma dor. O exame dura cerca de 10 minutos.

Ultrassonografia da artéria carótida. Este exame avalia a grossura da parede da artéria do pescoço. Será colocado um aparelho com gel no pescoço e você não sentirá nenhuma dor. O exame dura cerca de 10 minutos.

Medição da Velocidade de Onda de Pulso (VOP). Este exame avalia a rigidez das artérias. Será colocado um eletrodo no pescoço (sobre a artéria carótida) e outro na virilha (sobre a artéria femoral). Este eletrodo não dá choque e não dói. A duração do exame é de aproximadamente 10 minutos.

Para pesquisa de defeitos no gene do receptor androgênico, o procedimento realizado será uma coleta de sangue. O propósito deste procedimento é obter uma amostra de células do seu sangue para extração de DNA (conjunto de genes das células).

Desconfortos e riscos esperados: Os exames de coleta de sangue apresentam apenas a dor da picada e eventualmente o aparecimento de um pequeno hematoma (mancha arroxeadada em torno da picada) que desaparecerá em pouco menos de uma semana. Os exames de bioimpedância, ultrassonografia de carótidas e medição da VOP não são dolorosos e não utilizam agulhas.

Benefícios que poderão ser obtidos: O benefício ao participar desse estudo será a identificação de possíveis fatores de risco associados ao uso da testosterona. A partir dessas informações poderemos melhorar a segurança do seu tratamento e alertar sobre a necessidade de hábitos de vida que possam reduzir esses possíveis riscos.

Procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo: É possível que estes novos conhecimentos possam contribuir para o tratamento hormonal futuro de pacientes em início de tratamento e para o seu próprio tratamento.

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 2661-6442 ramais 16, 17 e 18. CEP: 05403-010 – e-mail: cappelq.adm@hc.fm.usp.br

É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade do seu tratamento na Instituição;

Direito de confidencialidade – As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente;

Direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores;

Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

Se você permitir, o seu material genético (DNA) será armazenado no HC-FMUSP para futuras pesquisas. A cada nova pesquisa você será contatado, perguntado se concorda, e um novo termo de consentimento lhe será apresentado. O tempo de armazenamento do material será autorizado pela Comissão de Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas (CAPPesq). Você concorda com o armazenamento do seu material genético?

(....) SIM. Eu concordo com o armazenamento do meu material genético.

(....) NÃO. Eu não concordo com o armazenamento do meu material genético.

**INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS
PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE
INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.**

Pesquisador responsável: Dra. Sorahia Domenice CRM:51403

Pesquisador executante: Flávia Siqueira Cunha CRM: 127878

Laboratório de Hormônios e Genética Molecular LIM 42, Hospital das Clínicas

Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar 155, 2º andar, bloco 6, CEP 05403-900, São Paulo
– Tel: (0xx11) 2661-7512 (HC).

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo **“Prevalência dos fatores de risco cardiovascular em homens transexuais em tratamento com ésteres de testosterona e sua associação com as variantes polimórficas do gene do receptor androgênico”**.

Eu discuti com a Dra. Sorahia Domenice sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal Data / /

Assinatura da testemunha Data / /

Para casos de pacientes, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual:

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo. Este termo deverá ser assinado em duas vias, ficando uma retida com o pesquisador responsável ou pessoa por ele delegada e a outra com o participante da pesquisa ou seu representante legal.

Assinatura do responsável pelo estudo Data / /

Anexo B. Protocolo de Avaliação Clínica de Indivíduos Transexuais.

Avaliação Clínica e Laboratorial de Pacientes com Disforia de Gênero

Data :.....IC.....anos

Tel para contacto.....

Nome:.....RG.....

Encaminhado por:.....

Razão da consulta:.....

Religião.....

Grau de escolaridade.....

Profissão:.....

Atividade atual:.....

Sexo ao nascimento:.....

Sexo de criação:.....

Sexo com o qual se identifica:.....

Idade de inicio da identificação sexual e descrição.....

.....

Idade de inicio e tipo de atividade sexual.....

.....

Descrição da atividade sexual atual.....

.....

Opção sexual.....

Relação prévia com homens (HT)..... Mulheres (MT).....

Abuso sexual.....

Auto-mutilação..... Tentativa de suicídio.....

Uso de drogas ilícitas.....

Tabagismo..... Etilismo.....

Estado civil.....

Companheiro/a atual:

Filhos:.....Papel junto aos filhos:.....

Uso de hormônios: sim.....não..... Data de início.....

Quais medicações e dose já utilizadas.....

.....

Uso atual de hormônios e dose

.....

Idade da Pubarca.....Idade da Telarca.....Idade da Menarca.....

Descrição dos ciclos menstruais.....

.....

Tempo de cessação da menstruação após T.....

Desenvolvimento dos pelos corporais pré medicação.....

.....

Antecedentes pessoais.....

.....

.....

Antecedentes familiares.....

.....

.....

Idade dos pais ao nascer: Mãe:.....anos.....Pai.....anos

Irmandade

.....

Data da avaliação:_____ Idade cronológica:_____

Exame físico: Alt.....Peso.....PA.....FC.....

Aspecto geral.....

.....

Entradas temporais.....Voz.....

Roupas.....

Roupas íntimas: Mas.....Fem.....

Hábitos e trejeitos:.....

Compleição:.....
 Pelos faciais
 Pelos torácicos:.....
 Mamas:.....
 Galactorreia.....
 Mamas em Tanner :D.....E.....
 Pelos pubianos
 Penis/clitoris:.....cm.....
 Testículos:Localização.....
 Consistência.....TD.....cm; TE.....cm

Descendência:.....
 DNA:.....Cariótipo:.....
 Data:.....
 LH.....U/L FSH.....U/L Testo.....ng/dl E2.....pg/ml
 Prog..... Prolact..... TSH..... T4L..... Cr.....
 Glic..... Insul..... A1C.....
 Hemograma.....
 CT..... HDL..... LDL..... TRIG.....
 Sorologia para SIDA.....
 Sorologia para hepatite B.....
 Sorologia para hepatite C.....
 Sorologia para Sífilis.....
 Outros exames:.....

Anexo C. Distribuição dos valores das propriedades estruturais e funcionais dos vasos arteriais de homens transexuais de acordo com a classificação de comorbidades metabólicas.

VARIÁVEIS	VOP-cf (m/s)			DIÂMETRO (µm)			DISTENSÃO (%)			EIMC (mm)		
	N	média (dp)	P	N	média (dp)	P	N	média (dp)	P	N	média (dp)	P
DISLIPIDEMIA			0,464			0,409			0,605			0,104
Não dislipidêmicos	22	7,3 (1,0)		21	6528 (650,2)		23	6,2 (2,3)		23	0,604 (0,118)	
Dislipidêmicos	17	7,1 (0,9)		20	6685 (543,5)		18	5,8 (1,9)		18	0,665 (0,118)	
HIPERTENSÃO			0,022			<0,001			0,019			0,011*
Não hipertensos	26	7,0 (0,9)		29	6396 (477,8)		28	6,5 (2,1)		28	0,599 (0,113)	
Hipertensos	14	7,7 (0,9)		13	7077 (560,6)		14	4,9 (1,8)		14	0,689 (0,114)	
OBESIDADE			0,830			0,007			0,016			0,006
Não obesos	29	7,2 (1,0)		28	6438 (555,4)		29	6,5 (2,1)		29	0,601 (0,127)	
Obesos	11	7,3 (0,8)		14	6944 (527,7)		13	4,8 (1,5)		13	691 (0,072)	
DIABETES			0,530			0,334			0,483			0,877
Não diabéticos	27	7,3 (1,0)		23	6562 (510,7)		27	6,1 (2,2)		27	0,631 (0,113)	
Pré-diabéticos e diabéticos	13	7,1 (0,8)		18	6735 (623,3)		15	5,6 (2,0)		15	0,625 (0,135)	

(*) teste de Mann-Whitney

VOP-cf: velocidade de onda de pulso carotídeo-femoral; EIMC: espessura íntima-média carotídea.

Anexo D. Distribuição dos valores das propriedades estruturais e funcionais dos vasos arteriais de homens transexuais de acordo com a classificação de tabagismo.

VARIÁVEIS	VOP-cf (m/s)		DIÂMETRO (μ m)		DISTENSÃO (%)		EIMC (mm)	
	média (dp)	P	média (dp)	P	média (dp)	P	média (dp)	P
TABAGISMO		0,824		0,409		0,822		0,439
Nunca fumantes (n=21)	7,3 (0,8) #		6528 (650,2)		5,9 (2,1)		0,618 (0,109)	
Ex/atuais fumantes (n=20)	7,2 (1,0) #		6685 (543,5)		6,0 (2,2)		0,648 (0,130)	

VOP-cf: velocidade de onda de pulso carotídeo-femoral; EIMC: espessura íntima-média carotídea.
Dados ignorados: (#) 1

Anexo E. Distribuição dos valores das propriedades estruturais e funcionais dos vasos arteriais de homens transexuais de acordo com o *status* cirúrgico gonadal.

VARIÁVEIS	VOP-cf (m/s)		DIÂMETRO (μ m)		DISTENSÃO (%)		EIMC (mm)	
	média (dp)	P	média (dp)	P	média (dp)	P	média (dp)	P
GONAECTOMIA		0,3		0,8		0,6		0,5
Não gonadectomizados (n=18)	7,1 (0,8) #		6638 (624)		6,2 (2,0)		0,6 (0,1)	
Gonadectomizados (n=24)	7,4 (1,0) #		6654 (567)		5,5 (1,9)		0,6 (0,1)	

VOP-cf: velocidade de onda de pulso carotídeo-femoral; EIMC: espessura íntima-média carotídea.
Dados ignorados: (#) 1.

Anexo F. Distribuição dos valores das propriedades estruturais e funcionais dos vasos arteriais de homens transexuais de acordo com o tipo de éster de testosterona utilizado.

VARIÁVEIS	VOP-cf (m/s)		DIÂMETRO (μ m)		DISTENSÃO (%)		EIMC (mm)	
	média (dp)	<i>P</i>	média (dp)	<i>P</i>	média (dp)	<i>P</i>	média (dp)	<i>P</i>
ÉSTER DE TESTOSTERONA Cipionato de testosterona (n=35) Undecanoato de testosterona (n=7)		0,7		0,06		0,5		0,2
	7,2 (0,9) [#]		6684 (584)		6,0 (2,0)		0,6 (0,1)	
	7,4 (1,0)		6223 (498)		6,0 (2,0)		0,6 (0,1)	

VOP-cf: velocidade de onda de pulso carotídeo-femoral; EIMC: espessura íntima-média carotídea.
Dados ignorados: (#) 2.

Anexo G. Correlação das propriedades estruturais e funcionais dos vasos arteriais com variáveis clínicas em homens transexuais em tratamento com ésteres de testosterona.

VARIÁVEIS		VOP-cf (m/s)	DIÂMETRO (μ m)	DISTENSÃO (%)	EIMC (mm)
IDADE (anos)	N	40	42	42	42
	R	0,632	0,279	-0,598	0,362
	P	<0,001	0,074	<0,001	0,019
TEMPO DE TRATAMENTO HORMONAL (anos)	N	42	42	42	42
	R	0,366	0,126	-0,271	0,091
	P	0,020	0,426	0,083	0,565
TEMPO DE GONAECTOMIA (meses)	N	40	42	42	42
	R	0,184	0,107	-0,210	0,209
	P	0,257	0,501	0,182	0,185

VOP-cf: velocidade de onda de pulso carotídeo-femoral; EIMC: espessura íntima-média carotídea.

Anexo H. Correlação das propriedades estruturais e funcionais dos vasos arteriais com variáveis pressóricas em homens transexuais em tratamento com ésteres de testosterona.

VARIÁVEIS		VOP-cf (m/s)	DIÂMETRO (μ m)	DISTENSÃO (%)	EIMC (mm)
PAS (mmHg)	N	39	41	41	41
	R	0,187	0,268	-0,175	-0,021
	P	0,254	0,091	0,273	0,895
PAD (mmHg)	N	39	41	41	41
	R	0,169	0,262	-0,247	0,012
	P	0,305	0,099	0,119	0,943
PP (mm Hg)	N	40	42	42	42
	R	0,064	-0,053	-0,112	0,170
	P	0,695	0,739	0,481	0,282

VOP-cf: velocidade de onda de pulso carotídeo-femoral; EIMC: espessura íntima-média carotídea; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; PP: pressão de pulso.

Anexo I. Correlação das propriedades estruturais e funcionais dos vasos arteriais com variáveis antropométricas em homens transexuais em tratamento com ésteres de testosterona.

VARIÁVEIS		VOP-cf (m/s)	DIÂMETRO (mm)	DISTENSÃO (%)	EIMC (mm)
IMC (kg/m ²)	N	40	42	42	42
	R	-0,089	0,567	-0,404	0,242
	P	0,584	<0,001	0,008	0,122
GORDURA CORPORAL (%)	N	40	42	42	42
	R	-0,022	0,565	-0,315	0,278
	P	0,892	<0,001	0,042	0,075
CA (cm)	N	37	39	39	39
	R	0,145	0,597	-0,440	0,264
	P	0,392	<0,001	0,005	0,105
RELAÇÃO C/Q	N	37	39	39	39
	R	0,390	0,489	-0,517	0,457
	P	0,017	0,002	<0,001	0,004

VOP-cf: velocidade de onda de pulso carotídeo-femoral; EIMC: espessura íntima-média carotídea; IMC: índice de massa corpórea; CA: circunferência abdominal; Relação C/Q: relação cintura-quadril.

Anexo J. Correlação das propriedades estruturais e funcionais dos vasos arteriais com variáveis laboratoriais em homens transexuais em tratamento com ésteres de testosterona.

VARIÁVEIS		VOP-cf (m/s)	DIÂMETRO (μ m)	DISTENSÃO (%)	EIMC (mm)
CT (mg/dL)	N	39	41	41	41
	R	-0,104	0,154	-0,161	0,001
	P	0,530	0,337	0,316	0,997
HDLc (mg/dL)	N	39	41	41	41
	R	-0,049	0,045	0,115	0,035
	P	0,768	0,779	0,474	0,826
LDLc (mg/dL)	N	39	41	41	41
	R	-0,162	0,090	-0,195	-0,092
	P	0,325	0,577	0,221	0,569
TRIGLICERÍDEOS (mg/dL)	N	39	41	41	41
	R	-0,116	0,152	-0,014	0,128
	P	0,482	0,342	0,930	0,425
GJ (mg/dL)	N	40	42	42	42
	R	-0,104	0,182	-0,086	0,069
	P	0,525	0,248	0,587	0,667
HbA1c (%)	N	37	39	39	39
	R	0,210	0,182	-0,377	0,037
	P	0,212	0,269	0,018	0,824
INSULINA (μ U/mL)	N	36	38	38	38
	R	-0,046	0,325	-0,207	0,154
	P	0,788	0,046	0,212	0,357
HOMA IR	N	36	38	38	38
	R	-0,101	0,330	-0,200	0,099
	P	0,557	0,043	0,229	0,554
HEMATÓCRITO (%)	N	40	42	42	42
	R	0,097	-0,211	-0,248	0,008
	P	0,551	0,180	0,114	0,958
CREATININA (mg/dL)	N	39	41	41	41
	R	-0,099	0,029	-0,066	0,022
	P	0,551	0,859	0,681	0,891

VOP-cf: velocidade de onda de pulso carotídeo-femoral; EIMC: espessura íntima-média carotídea; CT: colesterol total; HDLc: HDL colesterol; LDLc: LDL colesterol; GJ: glicemia de jejum; HbA1c: hemoglobina glicada; HOMA IR: *homesotatic model assessment – insulin resistance*.

Anexo K. Variação, média ponderada e mediana do nCAG RA de homens transexuais e controles femininos.

Categoria	Ncag		
	Variação	Média ± DP	Mediana (25% / 75%)
Homens Transexuais (n=44)	17 – 27	21,5 ± 2,0	21 (20 / 23)
Controles Femininos (n=87)	14 – 29	22,0 ± 2,6	22 (21 / 24)
p>0,05			

Anexo L. Frequência de desvio de inativação do cromossomo X entre homens transexuais e controles femininos.

Categoria		Heterozigotos	Padrão de inativação	
		N (%)	≤ 74%	≥ 75%
			N (%)	N (%)
Homens Transexuais (n=44)		41 (93)	35 (85,4)	6 (14,6)
Controles Femininos (n=87)		78 (90)	62 (74,4)	20 (25,6)
p>0,05				

9. Referências Bibliográficas

-
1. Hembree WC, Cohen-Kettenis P, Delemarre-van de Waal HA, Gooren LJ, Meyer WJ, Spack NP, et al. Endocrine Treatment of Transsexual Persons: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2009;94(9):3132-54.
 2. Regier DA, Kuhl EA, Kupfer DJ. The DSM-5: Classification and criteria changes. *World Psychiatry*. 2013;12(2):92-8.
 3. Nemeroff CB, Weinberger D, Rutter M, MacMillan HL, Bryant RA, Wessely S, et al. DSM-5: a collection of psychiatrist views on the changes, controversies, and future directions. *BMC Med*. 2013;11:202.
 4. Cohen-Kettenis PT, Gooren LJ. Transsexualism: a review of etiology, diagnosis and treatment. *J Psychosom Res*. 1999;46(4):315-33.
 5. Henningsson S, Westberg L, Nilsson S, Lundstrom B, Ekselius L, Bodlund O, et al. Sex steroid-related genes and male-to-female transsexualism. *Psychoneuroendocrinology*. 2005;30(7):657-64.
 6. Hare L, Bernard P, Sánchez FJ, Baird PN, Vilain E, Kennedy T, et al. Androgen receptor repeat length polymorphism associated with male-to-female transsexualism. *Biol Psychiatry*. 2009;65(1):93-6.
 7. Bentz EK, Schneeberger C, Hefler LA, van Trotsenburg M, Kaufmann U, Huber JC, et al. A common polymorphism of the SRD5A2 gene and transsexualism. *Reprod Sci*. 2007;14(7):705-9.
 8. Bentz EK, Hefler LA, Kaufmann U, Huber JC, Kolbus A, Tempfer CB. A polymorphism of the CYP17 gene related to sex steroid metabolism is associated with female-to-male but not male-to-female transsexualism. *Fertil Steril*. 2008;90(1):56-9.
 9. Ujike H, Otani K, Nakatsuka M, Ishii K, Sasaki A, Oishi T, et al. Association study of gender identity disorder and sex hormone-related genes. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*. 2009;33(7):1241-4.
 10. Imbimbo C, Verze P, Palmieri A, Longo N, Fusco F, Arcaniolo D, et al. A report from a single institute's 14-year experience in treatment of male-to-female transsexuals. *J Sex Med*. 2009;6(10):2736-45.
 11. Gorin-Lazard A, Baumstarck K, Boyer L, Maquigneau A, Gebleux S, Penochet JC, et al. Is hormonal therapy associated with better quality of life in transsexuals? A cross-sectional study. *J Sex Med*. 2012;9(2):531-41.
 12. Gorin-Lazard A, Baumstarck K, Boyer L, Maquigneau A, Penochet JC, Pringuey D, et al. Hormonal therapy is associated with better self-esteem, mood, and quality of life in transsexuals. *J Nerv Ment Dis*. 2013;201(11):996-1000.

-
13. Byne W, Bradley SJ, Coleman E, Eyler AE, Green R, Menvielle EJ, et al. Report of the American Psychiatric Association Task Force on Treatment of Gender Identity Disorder. *Arch Sex Behav*. 2012;41(4):759-96.
 14. Drescher J, Cohen-Kettenis P, Winter S. Minding the body: situating gender identity diagnoses in the ICD-11. *Int Rev Psychiatry*. 2012;24(6):568-77.
 15. Moreno-Pérez O, Esteva De Antonio I, (GIDSEEN) GdlyDSdIS. [Clinical practice guidelines for assessment and treatment of transsexualism. SEEN Identity and Sexual Differentiation Group (GIDSEEN)]. *Endocrinol Nutr*. 2012;59(6):367-82.
 16. Gooren LJ. Clinical practice. Care of transsexual persons. *N Engl J Med*. 2011;364(13):1251-7.
 17. Moore E, Wisniewski A, Dobs A. Endocrine treatment of transsexual people: A review of treatment regimens, outcomes, and adverse effects. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2003;88(8):3467-73.
 18. Costa EM, Mendonca BB. Clinical management of transsexual subjects. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2014;58(2):188-96.
 19. Gooren LJ, Giltay EJ. Review of studies of androgen treatment of female-to-male transsexuals: effects and risks of administration of androgens to females. *J Sex Med*. 2008;5(4):765-76.
 20. Mueller A, Gooren L. Hormone-related tumors in transsexuals receiving treatment with cross-sex hormones. *European Journal of Endocrinology*. 2008;159(3):197-202.
 21. Burcombe RJ, Makris A, Pittam M, Finer N. Breast cancer after bilateral subcutaneous mastectomy in a female-to-male trans-sexual. *Breast*. 2003;12(4):290-3.
 22. Dizon DS, Tejada-Berges T, Koelliker S, Steinhoff M, Granai CO. Ovarian cancer associated with testosterone supplementation in a female-to-male transsexual patient. *Gynecol Obstet Invest*. 2006;62(4):226-8.
 23. Gooren LJ, Giltay EJ, Bunck MC. Long-term treatment of transsexuals with cross-sex hormones: extensive personal experience. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(1):19-25.
 24. De Smet MA, Lapauw B, De Backer T. Sex steroids in relation to cardiac structure and function in men. *Andrologia*. 2017;49(2).
 25. Gardner JD, Murray DB, Voloshenyuk TG, Brower GL, Bradley JM, Janicki JS. Estrogen attenuates chronic volume overload induced structural and

functional remodeling in male rat hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2010;298(2):H497-504.

26. Weinberg EO, Thienelt CD, Katz SE, Bartunek J, Tajima M, Rohrbach S, et al. Gender differences in molecular remodeling in pressure overload hypertrophy. *J Am Coll Cardiol*. 1999;34(1):264-73.

27. Douglas PS, Katz SE, Weinberg EO, Chen MH, Bishop SP, Lorell BH. Hypertrophic remodeling: gender differences in the early response to left ventricular pressure overload. *J Am Coll Cardiol*. 1998;32(4):1118-25.

28. Tamura T, Said S, Gerdes AM. Gender-related differences in myocyte remodeling in progression to heart failure. *Hypertension*. 1999;33(2):676-80.

29. Herring MJ, Oskui PM, Hale SL, Kloner RA. Testosterone and the cardiovascular system: a comprehensive review of the basic science literature. *J Am Heart Assoc*. 2013;2(4):e000271.

30. Liu J, Tsang S, Wong TM. Testosterone is required for delayed cardioprotection and enhanced heat shock protein 70 expression induced by preconditioning. *Endocrinology*. 2006;147(10):4569-77.

31. Tsang S, Wu S, Liu J, Wong TM. Testosterone protects rat hearts against ischaemic insults by enhancing the effects of alpha(1)-adrenoceptor stimulation. *Br J Pharmacol*. 2008;153(4):693-709.

32. Cavaasin MA, Tao ZY, Yu AL, Yang XP. Testosterone enhances early cardiac remodeling after myocardial infarction, causing rupture and degrading cardiac function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006;290(5):H2043-50.

33. Bruck B, Brehme U, Gugel N, Hanke S, Finking G, Lutz C, et al. Gender-specific differences in the effects of testosterone and estrogen on the development of atherosclerosis in rabbits. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997;17(10):2192-9.

34. Alexandersen P, Haarbo J, Byrjalsen I, Lawaetz H, Christiansen C. Natural androgens inhibit male atherosclerosis: a study in castrated, cholesterol-fed rabbits. *Circ Res*. 1999;84(7):813-9.

35. McCrohon JA, Jessup W, Handelsman DJ, Celermajer DS. Androgen exposure increases human monocyte adhesion to vascular endothelium and endothelial cell expression of vascular cell adhesion molecule-1. *Circulation*. 1999;99(17):2317-22.

36. McCrohon JA, Death AK, Nakhla S, Jessup W, Handelsman DJ, Stanley KK, et al. Androgen receptor expression is greater in macrophages from male than from female donors. A sex difference with implications for atherogenesis. *Circulation*. 2000;101(3):224-6.

-
37. Ammar EM, Said SA, Hassan MS. Enhanced vasoconstriction and reduced vasorelaxation induced by testosterone and nandrolone in hypercholesterolemic rabbits. *Pharmacol Res.* 2004;50(3):253-9.
 38. Ceballos G, Figueroa L, Rubio I, Gallo G, Garcia A, Martinez A, et al. Acute and nongenomic effects of testosterone on isolated and perfused rat heart. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1999;33(5):691-7.
 39. Liu PY, Death AK, Handelsman DJ. Androgens and cardiovascular disease. *Endocr Rev.* 2003;24(3):313-40.
 40. Goh HH, Loke DF, Ratnam SS. The impact of long-term testosterone replacement therapy on lipid and lipoprotein profiles in women. *Maturitas.* 1995;21(1):65-70.
 41. Basaria S, Coviello AD, Travison TG, Storer TW, Farwell WR, Jette AM, et al. Adverse events associated with testosterone administration. *N Engl J Med.* 2010;363(2):109-22.
 42. Kelly DM, Jones TH. Testosterone: a metabolic hormone in health and disease. *J Endocrinol.* 2013;217(3):R25-45.
 43. Laughlin GA, Barrett-Connor E, Bergstrom J. Low serum testosterone and mortality in older men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(1):68-75.
 44. Vikan T, Schirmer H, Njølstad I, Svartberg J. Endogenous sex hormones and the prospective association with cardiovascular disease and mortality in men: the Tromsø Study. *Eur J Endocrinol.* 2009;161(3):435-42.
 45. Levine GN, D'Amico AV, Berger P, Clark PE, Eckel RH, Keating NL, et al. Androgen-deprivation therapy in prostate cancer and cardiovascular risk: a science advisory from the American Heart Association, American Cancer Society, and American Urological Association: endorsed by the American Society for Radiation Oncology. *Circulation.* 2010;121(6):833-40.
 46. Cupisti S, Giltay EJ, Gooren LJ, Kronawitter D, Oppelt PG, Beckmann MW, et al. The impact of testosterone administration to female-to-male transsexuals on insulin resistance and lipid parameters compared with women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2010;94(7):2647-53.
 47. Ouyang P, Vaidya D, Dobs A, Golden SH, Szklo M, Heckbert SR, et al. Sex hormone levels and subclinical atherosclerosis in postmenopausal women: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2009;204(1):255-61.
 48. Michos ED, Vaidya D, Gapstur SM, Schreiner PJ, Golden SH, Wong ND, et al. Sex hormones, sex hormone binding globulin, and abdominal aortic calcification in women and men in the multi-ethnic study of atherosclerosis (MESA). *Atherosclerosis.* 2008;200(2):432-8.

-
49. Patel SM, Ratcliffe SJ, Reilly MP, Weinstein R, Bhasin S, Blackman MR, et al. Higher serum testosterone concentration in older women is associated with insulin resistance, metabolic syndrome, and cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(12):4776-84.
50. Laughlin GA, Goodell V, Barrett-Connor E. Extremes of endogenous testosterone are associated with increased risk of incident coronary events in older women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(2):740-7.
51. He H, Yang F, Liu X, Zeng X, Hu Q, Zhu Q, et al. Sex hormone ratio changes in men and postmenopausal women with coronary artery disease. *Menopause.* 2007;14(3 Pt 1):385-90.
52. Braunstein GD, Johnson BD, Stanczyk FZ, Bittner V, Berga SL, Shaw L, et al. Relations between endogenous androgens and estrogens in postmenopausal women with suspected ischemic heart disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(11):4268-75.
53. Vitale C, Fini M, Speziale G, Chierchia S. Gender differences in the cardiovascular effects of sex hormones. *Fundam Clin Pharmacol.* 2010;24(6):675-85.
54. Maturana MA, Breda V, Lhullier F, Spritzer PM. Relationship between endogenous testosterone and cardiovascular risk in early postmenopausal women. *Metabolism.* 2008;57(7):961-5.
55. Sievers C, Klotsche J, Pieper L, Schneider HJ, März W, Wittchen HU, et al. Low testosterone levels predict all-cause mortality and cardiovascular events in women: a prospective cohort study in German primary care patients. *Eur J Endocrinol.* 2010;163(4):699-708.
56. Ma RC, Tong PC. Testosterone levels and cardiovascular disease. *Heart.* 2010;96(22):1787-8.
57. Golden SH, Maguire A, Ding J, Crouse JR, Cauley JA, Zacur H, et al. Endogenous postmenopausal hormones and carotid atherosclerosis: a case-control study of the atherosclerosis risk in communities cohort. *Am J Epidemiol.* 2002;155(5):437-45.
58. Lambrinoudaki I, Christodoulakos G, Rizos D, Economou E, Argeitis J, Vlachou S, et al. Endogenous sex hormones and risk factors for atherosclerosis in healthy Greek postmenopausal women. *Eur J Endocrinol.* 2006;154(6):907-16.
59. Mesch VR, Siseles NO, Maidana PN, Boero LE, Sayegh F, Prada M, et al. Androgens in relationship to cardiovascular risk factors in the menopausal transition. *Climacteric.* 2008;11(6):509-17.

-
60. Vaidya D, Dobs A, Gapstur SM, Golden SH, Hankinson A, Liu K, et al. The association of endogenous sex hormones with lipoprotein subfraction profile in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Metabolism*. 2008;57(6):782-90.
61. Diamanti-Kandarakis E, Lambrinoudaki I, Economou F, Christou M, Piperi C, Papavassiliou AG, et al. Androgens associated with advanced glycation end-products in postmenopausal women. *Menopause*. 2010;17(6):1182-7.
62. Brand JS, van der Schouw YT. Testosterone, SHBG and cardiovascular health in postmenopausal women. *Int J Impot Res*. 2010;22(2):91-104.
63. Elbers JM, Asscheman H, Seidell JC, Megens JA, Gooren LJ. Long-term testosterone administration increases visceral fat in female to male transsexuals. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82(7):2044-7.
64. Berra M, Armillotta F, D'Emidio L, Costantino A, Martorana G, Pelusi G, et al. Testosterone decreases adiponectin levels in female to male transsexuals. *Asian Journal of Andrology*. 2006;8(6):725-9.
65. O'Reilly MW, House PJ, Tomlinson JW. Understanding androgen action in adipose tissue. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2014;143:277-84.
66. Elbers JMH, Giltay EJ, Teerlink T, Scheffer PG, Asscheman H, Seidell JC, et al. Effects of sex steroids on components of the insulin resistance syndrome in transsexual subjects. *Clinical Endocrinology*. 2003;58(5):562-71.
67. Giltay EJ, Lambert J, Gooren LJ, Elbers JM, Steyn M, Stehouwer CD. Sex steroids, insulin, and arterial stiffness in women and Men. *Hypertension*. 1999;34(4 Pt 1):590-7.
68. Emi Y, Adachi M, Sasaki A, Nakamura Y, Nakatsuka M. Increased arterial stiffness in female-to-male transsexuals treated with androgen. *J Obstet Gynaecol Res*. 2008;34(5):890-7.
69. McCredie RJ, McCrohon JA, Turner L, Griffiths KA, Handelsman DJ, Celmaj DS. Vascular reactivity is impaired in genetic females taking high-dose androgens. *J Am Coll Cardiol*. 1998;32(5):1331-5.
70. Elamin MB, Garcia MZ, Murad MH, Erwin PJ, Montori VM. Effect of sex steroid use on cardiovascular risk in transsexual individuals: a systematic review and meta-analyses. *Clinical Endocrinology*. 2010;72(1):1-10.
71. Laurent S, Boutouyrie P, Asmar R, Gautier I, Laloux B, Guize L, et al. Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients. *Hypertension*. 2001;37(5):1236-41.

-
72. Najjar SS, Scuteri A, Lakatta EG. Arterial aging: is it an immutable cardiovascular risk factor? *Hypertension*. 2005;46(3):454-62.
73. Cohn JN. Arterial stiffness, vascular disease, and risk of cardiovascular events. *Circulation*. 2006;113(5):601-3.
74. Sutton-Tyrrell K, Najjar SS, Boudreau RM, Venkitachalam L, Kupelian V, Simonsick EM, et al. Elevated aortic pulse wave velocity, a marker of arterial stiffness, predicts cardiovascular events in well-functioning older adults. *Circulation*. 2005;111(25):3384-90.
75. Boutouyrie P, Bussy C, Lacolley P, Girerd X, Laloux B, Laurent S. Association between local pulse pressure, mean blood pressure, and large-artery remodeling. *Circulation*. 1999;100(13):1387-93.
76. Willum-Hansen T, Staessen JA, Torp-Pedersen C, Rasmussen S, Thijs L, Ibsen H, et al. Prognostic value of aortic pulse wave velocity as index of arterial stiffness in the general population. *Circulation*. 2006;113(5):664-70.
77. Committee ESoH-ESoCG. 2003 European Society of Hypertension-European Society of Cardiology guidelines for the management of arterial hypertension. *J Hypertens*. 2003;21(6):1011-53.
78. Cardiologia SBd, Hipertensão SBd, Nefrologia SBd. [VI Brazilian Guidelines on Hypertension]. *Arq Bras Cardiol*. 2010;95(1 Suppl):1-51.
79. Laurent S, Cockcroft J, Van Bortel L, Boutouyrie P, Giannattasio C, Hayoz D, et al. Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. *Eur Heart J*. 2006;27(21):2588-605.
80. Lehmann ED. Terminology for the definition of arterial elastic properties. *Pathol Biol (Paris)*. 1999;47(6):656-64.
81. Hashimoto J, Chonan K, Aoki Y, Nishimura T, Ohkubo T, Hozawa A, et al. Pulse wave velocity and the second derivative of the finger photoplethysmogram in treated hypertensive patients: their relationship and associating factors. *J Hypertens*. 2002;20(12):2415-22.
82. Benetos A, Adamopoulos C, Bureau JM, Temmar M, Labat C, Bean K, et al. Determinants of accelerated progression of arterial stiffness in normotensive subjects and in treated hypertensive subjects over a 6-year period. *Circulation*. 2002;105(10):1202-7.
83. Bortolotto LA, Blacher J, Kondo T, Takazawa K, Safar ME. Assessment of vascular aging and atherosclerosis in hypertensive subjects: second derivative of photoplethysmogram versus pulse wave velocity. *Am J Hypertens*. 2000;13(2):165-71.

-
84. Waddell TK, Dart AM, Gatzka CD, Cameron JD, Kingwell BA. Women exhibit a greater age-related increase in proximal aortic stiffness than men. *J Hypertens*. 2001;19(12):2205-12.
85. Ahimastos AA, Formosa M, Dart AM, Kingwell BA. Gender differences in large artery stiffness pre- and post puberty. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(11):5375-80.
86. Rajkumar C, Kingwell BA, Cameron JD, Waddell T, Mehra R, Christophidis N, et al. Hormonal therapy increases arterial compliance in postmenopausal women. *J Am Coll Cardiol*. 1997;30(2):350-6.
87. Teede H, McGrath B. Cardiovascular effects of sex hormones. *Clin Sci (Lond)*. 1999;97(1):1-3.
88. Waddell TK, Rajkumar C, Cameron JD, Jennings GL, Dart AM, Kingwell BA. Withdrawal of hormonal therapy for 4 weeks decreases arterial compliance in postmenopausal women. *J Hypertens*. 1999;17(3):413-8.
89. Nathan L, Shi W, Dinh H, Mukherjee TK, Wang X, Lusis AJ, et al. Testosterone inhibits early atherogenesis by conversion to estradiol: critical role of aromatase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98(6):3589-93.
90. Hatakeyama H, Nishizawa M, Nakagawa A, Nakano S, Kigoshi T, Uchida K. Testosterone inhibits tumor necrosis factor-alpha-induced vascular cell adhesion molecule-1 expression in human aortic endothelial cells. *FEBS Lett*. 2002;530(1-3):129-32.
91. Gelmann EP. Molecular biology of the androgen receptor. *J Clin Oncol*. 2002;20(13):3001-15.
92. Gao T, Marcelli M, McPhaul MJ. Transcriptional activation and transient expression of the human androgen receptor. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 1996;59(1):9-20.
93. Dehm SM, Tindall DJ. Androgen receptor structural and functional elements: role and regulation in prostate cancer. *Mol Endocrinol*. 2007;21(12):2855-63.
94. Reid J, Betney R, Watt K, McEwan IJ. The androgen receptor transactivation domain: the interplay between protein conformation and protein-protein interactions. *Biochem Soc Trans*. 2003;31(Pt 5):1042-6.
95. Rocha RO, Billerbeck AE, Pinto EM, Melo KF, Lin CJ, Longui CA, et al. The degree of external genitalia virilization in girls with 21-hydroxylase deficiency appears to be influenced by the CAG repeats in the androgen receptor gene. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2008;68(2):226-32.

-
96. Chamberlain NL, Driver ED, Miesfeld RL. The length and location of CAG trinucleotide repeats in the androgen receptor N-terminal domain affect transactivation function. *Nucleic Acids Res.* 1994;22(15):3181-6.
97. Tut TG, Ghadessy FJ, Trifiro MA, Pinsky L, Yong EL. Long polyglutamine tracts in the androgen receptor are associated with reduced trans-activation, impaired sperm production, and male infertility. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82(11):3777-82.
98. La Spada AR, Clark AW. Inherited neurodegenerative disorders caused by CAG/polyglutamine tract expansions: symposium introduction. *Brain Pathol.* 1997;7(3):877-80.
99. Ibáñez L, Ong KK, Mongan N, Jääskeläinen J, Marcos MV, Hughes IA, et al. Androgen receptor gene CAG repeat polymorphism in the development of ovarian hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(7):3333-8.
100. Kuasne H, Rodrigues IS, Fuganti PE, Losi-Guembarovski R, Ito K, Kishima MO, et al. Polymorphisms in the AR and PSA genes as markers of susceptibility and aggressiveness in prostate cancer. *Cancer Invest.* 2010;28(9):917-24.
101. Schüring AN, Welp A, Gromoll J, Zitzmann M, Sonntag B, Nieschlag E, et al. Role of the CAG repeat polymorphism of the androgen receptor gene in polycystic ovary syndrome (PCOS). *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2012;120(2):73-9.
102. Zitzmann M, Nieschlag E. Androgen receptor gene CAG repeat length and body mass index modulate the safety of long-term intramuscular testosterone undecanoate therapy in hypogonadal men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(10):3844-53.
103. Zitzmann M, Depenbusch M, Gromoll J, Nieschlag E. X-chromosome inactivation patterns and androgen receptor functionality influence phenotype and social characteristics as well as pharmacogenetics of testosterone therapy in Klinefelter patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(12):6208-17.
104. Zitzmann M, Brune M, Kornmann B, Gromoll J, von Eckardstein S, von Eckardstein A, et al. The CAG repeat polymorphism in the AR gene affects high density lipoprotein cholesterol and arterial vasoreactivity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(10):4867-73.
105. Zitzmann M, Nieschlag E. The CAG repeat polymorphism within the androgen receptor gene and maleness. *Int J Androl.* 2003;26(2):76-83.
106. LYON MF. Gene action in the X-chromosome of the mouse (*Mus musculus* L.). *Nature.* 1961;190:372-3.

-
107. Lyon MF. X-chromosome inactivation as a system of gene dosage compensation to regulate gene expression. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol*. 1989;36:119-30.
108. Heard E, Clerc P, Avner P. X-chromosome inactivation in mammals. *Annu Rev Genet*. 1997;31:571-610.
109. Racchi O, Mangerini R, Rapezzi D, Rolfo M, Gaetani GF, Ferraris AM. X chromosome inactivation patterns in normal females. *Blood Cells Mol Dis*. 1998;24(4):439-47.
110. Allen RC, Zoghbi HY, Moseley AB, Rosenblatt HM, Belmont JW. Methylation of HpaII and HhaI sites near the polymorphic CAG repeat in the human androgen-receptor gene correlates with X chromosome inactivation. *Am J Hum Genet*. 1992;51(6):1229-39.
111. Tolezani EC, Costa-Hong V, Correia G, Mansur AJ, Drager LF, Bortolotto LA. Determinants of Functional and Structural Properties of Large Arteries in Healthy Individuals. *Arq Bras Cardiol*. 2014;103(5):426-32.
112. Pan American Health Organization and World Health Organization: concerns regarding tobacco use. *Int Q Community Health Educ*. 2012;33(2):225-7.
113. Breslow L. A quantitative approach to the World Health Organization definition of health: physical, mental and social well-being. *Int J Epidemiol*. 1972;1(4):347-55.
114. Pereira BA, Schram PF, Azevedo RC. [Evaluation of the Brazilian version of the CRAFFT/CESARE scale for screening drug use by adolescents]. *Cien Saude Colet*. 2016;21(1):91-9.
115. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. *World Health Organ Tech Rep Ser*. 1995;854:1-452.
116. Xavier HT, Izar MC, Faria Neto JR, Assad MH, Rocha VZ, Sposito AC, et al. [V Brazilian Guidelines on Dyslipidemias and Prevention of Atherosclerosis]. *Arq Bras Cardiol*. 2013;101(4 Suppl 1):1-20.
117. Association AD. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2014;37 Suppl 1:S81-90.
118. Levy JC, Matthews DR, Hermans MP. Correct homeostasis model assessment (HOMA) evaluation uses the computer program. *Diabetes Care*. 1998;21(12):2191-2.
119. Laurent S, Caviezel B, Beck L, Girerd X, Billaud E, Boutouyrie P, et al. Carotid artery distensibility and distending pressure in hypertensive humans. *Hypertension*. 1994;23(6 Pt 2):878-83.

-
120. Safar ME, Levy BI, Struijker-Boudier H. Current perspectives on arterial stiffness and pulse pressure in hypertension and cardiovascular diseases. *Circulation*. 2003;107(22):2864-9.
121. Collaboration RVfAS. Determinants of pulse wave velocity in healthy people and in the presence of cardiovascular risk factors: 'establishing normal and reference values'. *Eur Heart J*. 2010;31(19):2338-50.
122. Martinez LR, Miname MH, Bortolotto LA, Chacra AP, Rochitte CE, Sposito AC, et al. No correlation and low agreement of imaging and inflammatory atherosclerosis' markers in familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2008;200(1):83-8.
123. Guimarães GV, Ciolac EG, Carvalho VO, D'Avila VM, Bortolotto LA, Bocchi EA. Effects of continuous vs. interval exercise training on blood pressure and arterial stiffness in treated hypertension. *Hypertens Res*. 2010;33(6):627-32.
124. Drager LF, Bortolotto LA, Figueiredo AC, Silva BC, Krieger EM, Lorenzi-Filho G. Obstructive sleep apnea, hypertension, and their interaction on arterial stiffness and heart remodeling. *Chest*. 2007;131(5):1379-86.
125. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*. 1988;16(3):1215.
126. Sambrook J, Gething MJ. Protein structure. Chaperones, paperones. *Nature*. 1989;342(6247):224-5.
127. Lubahn DB, Joseph DR, Sullivan PM, Willard HF, French FS, Wilson EM. Cloning of human androgen receptor complementary DNA and localization to the X chromosome. *Science*. 1988;240(4850):327-30.
128. Allen RC, Zoghbi HY, Moseley AB, Rosenblatt HM, Belmont JW. Methylation of HpaII and HhaI sites near the polymorphic CAG repeat in the human androgen-receptor gene correlates with X chromosome inactivation. *Am J Hum Genet*. 1992;51(6):1229-39.
129. Pegoraro E, Schimke RN, Arahata K, Hayashi Y, Stern H, Marks H, et al. Detection of new paternal dystrophin gene mutations in isolated cases of dystrophinopathy in females. *Am J Hum Genet*. 1994;54(6):989-1003.
130. Asscheman H, Giltay EJ, Megens JAJ, de Ronde W, van Trotsenburg MAA, Gooren LJG. A long-term follow-up study of mortality in transsexuals receiving treatment with cross-sex hormones. *European Journal of Endocrinology*. 2011;164(4):635-42.
131. Gooren LJ, Wierckx K, Giltay EJ. Cardiovascular disease in transsexual persons treated with cross-sex hormones: reversal of the traditional sex

difference in cardiovascular disease pattern. *Eur J Endocrinol*. 2014;170(6):809-19.

132. Asscheman H, Gooren LJ, Eklund PL. Mortality and morbidity in transsexual patients with cross-gender hormone treatment. *Metabolism*. 1989;38(9):869-73.

133. van Kesteren PJ, Asscheman H, Megens JA, Gooren LJ. Mortality and morbidity in transsexual subjects treated with cross-sex hormones. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1997;47(3):337-42.

134. Wierckx K, Mueller S, Weyers S, Van Caenegem E, Roef G, Heylens G, et al. Long-term evaluation of cross-sex hormone treatment in transsexual persons. *J Sex Med*. 2012;9(10):2641-51.

135. Wierckx K, Elaut E, Declercq E, Heylens G, De Cuypere G, Taes Y, et al. Prevalence of cardiovascular disease and cancer during cross-sex hormone therapy in a large cohort of trans persons: a case-control study. *European Journal of Endocrinology*. 2013;169(4):471-8.

136. Tan KC, Shiu SW, Kung AW. Alterations in hepatic lipase and lipoprotein subfractions with transdermal testosterone replacement therapy. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1999;51(6):765-9.

137. Fabris B, Bernardi S, Trombetta C. Cross-sex hormone therapy for gender dysphoria. *J Endocrinol Invest*. 2014.

138. Ajayi AA, Mathur R, Halushka PV. Testosterone increases human platelet thromboxane A2 receptor density and aggregation responses. *Circulation*. 1995;91(11):2742-7.

139. Matsumoto C, Miedema MD, Ofman P, Gaziano JM, Sesso HD. An expanding knowledge of the mechanisms and effects of alcohol consumption on cardiovascular disease. *J Cardiopulm Rehabil Prev*. 2014;34(3):159-71.

140. Fischbach P. The role of illicit drug use in sudden death in the young. *Cardiol Young*. 2017;27(S1):S75-S9.

141. Guzmán-Parra J, Sánchez-Álvarez N, de Diego-Otero Y, Pérez-Costillas L, Esteva de Antonio I, Navais-Barranco M, et al. Sociodemographic Characteristics and Psychological Adjustment Among Transsexuals in Spain. *Arch Sex Behav*. 2015.

142. Gómez-Gil E, Trilla A, Salamero M, Godás T, Valdés M. Sociodemographic, clinical, and psychiatric characteristics of transsexuals from Spain. *Arch Sex Behav*. 2009;38(3):378-92.

-
143. Alecu C, Labat C, Kearney-Schwartz A, Fay R, Salvi P, Joly L, et al. Reference values of aortic pulse wave velocity in the elderly. *J Hypertens*. 2008;26(11):2207-12.
144. Mitchell GF, Hwang SJ, Vasan RS, Larson MG, Pencina MJ, Hamburg NM, et al. Arterial stiffness and cardiovascular events: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2010;121(4):505-11.
145. Karas RH, Patterson BL, Mendelsohn ME. Human vascular smooth muscle cells contain functional estrogen receptor. *Circulation*. 1994;89(5):1943-50.
146. Torres-Estay V, Carreño DV, San Francisco IF, Sotomayor P, Godoy AS, Smith GJ. Androgen receptor in human endothelial cells. *J Endocrinol*. 2015;224(3):R131-7.
147. Natoli AK, Medley TL, Ahimastos AA, Drew BG, Thearle DJ, Dilley RJ, et al. Sex steroids modulate human aortic smooth muscle cell matrix protein deposition and matrix metalloproteinase expression. *Hypertension*. 2005;46(5):1129-34.
148. Van Bortel LM, Laurent S, Boutouyrie P, Chowienczyk P, Cruickshank JK, De Backer T, et al. Expert consensus document on the measurement of aortic stiffness in daily practice using carotid-femoral pulse wave velocity. *J Hypertens*. 2012;30(3):445-8.
149. Huybrechts SA, Devos DG, Vermeersch SJ, Mahieu D, Achten E, de Backer TL, et al. Carotid to femoral pulse wave velocity: a comparison of real travelled aortic path lengths determined by MRI and superficial measurements. *J Hypertens*. 2011;29(8):1577-82.
150. Vaidya D, Golden SH, Haq N, Heckbert SR, Liu K, Ouyang P. Association of sex hormones with carotid artery distensibility in men and postmenopausal women: multi-ethnic study of atherosclerosis. *Hypertension*. 2015;65(5):1020-5.
151. Ciccone MM, Favale S, Bhuva A, Scicchitano P, Caragnano V, Lavopa C, et al. Anteroposterior diameter of the infrarenal abdominal aorta is higher in women with polycystic ovary syndrome. *Vasc Health Risk Manag*. 2009;5(3):561-6.
152. Yao F, Liu Y, Liu D, Wu S, Lin H, Fan R, et al. Sex differences between vascular endothelial function and carotid intima-media thickness by Framingham Risk Score. *J Ultrasound Med*. 2014;33(2):281-6.
153. Arnett DK, Evans GW, Riley WA. Arterial stiffness: a new cardiovascular risk factor? *Am J Epidemiol*. 1994;140(8):669-82.

-
154. Oliver JJ, Webb DJ. Noninvasive assessment of arterial stiffness and risk of atherosclerotic events. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23(4):554-66.
155. Vaitkevicius PV, Fleg JL, Engel JH, O'Connor FC, Wright JG, Lakatta LE, et al. Effects of age and aerobic capacity on arterial stiffness in healthy adults. *Circulation.* 1993;88(4 Pt 1):1456-62.
156. O'Rourke MF. Arterial aging: pathophysiological principles. *Vasc Med.* 2007;12(4):329-41.
157. Wildman RP, Mackey RH, Bostom A, Thompson T, Sutton-Tyrrell K. Measures of obesity are associated with vascular stiffness in young and older adults. *Hypertension.* 2003;42(4):468-73.
158. Stevens J, Juhaeri, Cai J, Evans GW. Impact of body mass index on changes in common carotid artery wall thickness. *Obes Res.* 2002;10(10):1000-7.
159. Scuteri A, Orru' M, Morrell CH, Tarasov K, Schlessinger D, Uda M, et al. Associations of large artery structure and function with adiposity: effects of age, gender, and hypertension. The SardiNIA Study. *Atherosclerosis.* 2012;221(1):189-97.
160. Doğan BA, Karakılıç E, Tuna MM, Arduç A, Berker D, Güler S. Effect of androgen replacement therapy on atherosclerotic risk markers in young-to-middle-aged men with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2015;82(3):422-8.
161. Paramsothy P, Knopp RH, Bertoni AG, Blumenthal RS, Wasserman BA, Tsai MY, et al. Association of combinations of lipid parameters with carotid intima-media thickness and coronary artery calcium in the MESA (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis). *J Am Coll Cardiol.* 2010;56(13):1034-41.
162. Cecelja M, Chowienzyk P. Dissociation of aortic pulse wave velocity with risk factors for cardiovascular disease other than hypertension: a systematic review. *Hypertension.* 2009;54(6):1328-36.
163. Mhatre AN, Trifiro MA, Kaufman M, Kazemi-Esfarjani P, Figlewicz D, Rouleau G, et al. Reduced transcriptional regulatory competence of the androgen receptor in X-linked spinal and bulbar muscular atrophy. *Nat Genet.* 1993;5(2):184-8.
164. Ryan CP, Crespi BJ. Androgen receptor polyglutamine repeat number: models of selection and disease susceptibility. *Evol Appl.* 2013;6(2):180-96.
165. Nenonen HA, Giwercman A, Hallengren E, Giwercman YL. Non-linear association between androgen receptor CAG repeat length and risk of male subfertility--a meta-analysis. *Int J Androl.* 2011;34(4):327-32.

-
166. Alevizaki M, Cimponeriu AT, Garofallaki M, Sarika HL, Alevizaki CC, Papamichael C, et al. The androgen receptor gene CAG polymorphism is associated with the severity of coronary artery disease in men. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2003;59(6):749-55.
167. Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. *Endocr Rev*. 1997;18(6):774-800.
168. Franks S. Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med*. 1995;333(13):853-61.
169. Burghen GA, Givens JR, Kitabchi AE. Correlation of hyperandrogenism with hyperinsulinism in polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 1980;50(1):113-6.
170. Möhlig M, Jürgens A, Spranger J, Hoffmann K, Weickert MO, Schlösser HW, et al. The androgen receptor CAG repeat modifies the impact of testosterone on insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol*. 2006;155(1):127-30.
171. Tirabassi G, Delli Muti N, Corona G, Maggi M, Balercia G. Androgen Receptor Gene CAG Repeat Polymorphism Regulates the Metabolic Effects of Testosterone Replacement Therapy in Male Postsurgical Hypogonadotropic Hypogonadism. *Int J Endocrinol*. 2013;2013:816740.
172. Skjaerpe PA, Giwercman YL, Giwercman A, Svartberg J. Androgen receptor gene polymorphism and the metabolic syndrome in 60-80 years old Norwegian men. *Int J Androl*. 2010;33(3):500-6.
173. Goutou M, Sakka C, Stakias N, Stefanidis I, Koukoulis GN. AR CAG repeat length is not associated with serum gonadal steroids and lipid levels in healthy men. *Int J Androl*. 2009;32(6):616-22.
174. Haring R, Ernst F, Schurmann C, Homuth G, Völker U, Völzke H, et al. The androgen receptor CAG repeat polymorphism as a risk factor of low serum testosterone and its cardiometabolic effects in men. *Int J Androl*. 2012;35(4):511-20.
175. Zitzmann M, Gromoll J, von Eckardstein A, Nieschlag E. The CAG repeat polymorphism in the androgen receptor gene modulates body fat mass and serum concentrations of leptin and insulin in men. *Diabetologia*. 2003;46(1):31-9.