ANDRESSA HEIMBECHER SOARES

**Hipogonadismo associado à obesidade: efeitos do
tratamento com citrato de clomifeno**

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

Programa de Endocrinologia

Orientadora: Dra. Cintia Cercato

**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

Soares, Andressa Heimbecher

Hipogonadismo associado à obesidade : efeitos do
tratamento com citrato de clomifeno / Andressa
Heimbecher Soares. -- São Paulo, 2017.

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

Programa de Endocrinologia.

Orientadora: Cintia Cercato.

Descritores: 1.Obesidade 2.Hipogonadismo
3.Testosterona 4.Vasodilatação 5.Molécula 1 de
adesão intercelular 6.Molécula 1 de adesão de
célula vascular 7.Selectina E 8.Células
progenitoras endoteliais 9.Síndrome X metabólica
10.Clomifeno

USP/FM/DBD-498/17

*À minha mãe Dorothy, pela sua
sempre presença e apoio.*

AGRADECIMENTOS

À Dra. Cíntia Cercato, minha orientadora, cujos conhecimentos em Endocrinologia e Obesidade me inspiram a estudar e crescer. Pela sua generosidade e confiança em ter me acolhido como aluna.

À Dra. Elaine Maria Frade Costa, minha coorientadora, por agregar sua expertise a esta linha de pesquisa na área de Hipogonadismo masculino.

Ao Marcos Tavares, pela compreensão e parceria durante todos esses anos.

À Nidia Horie, pela sua imensa paciência e ajuda. Um exemplo de pessoa e profissional que tenho o prazer de conviver.

Ao Dr. Bruno Caramelli, pela contribuição com a realização da dilatação fluxo mediada e por compartilhar seu conhecimento dos processos de disfunção endotelial. Por ter se colocado à disposição sempre e pelo empréstimo do espaço e apoio nos atendimentos.

À Adriana Pastana e Mariana Gomes Matheus, pelo seu auxílio no desenvolvimento da tese, pois sem sua ajuda o projeto não teria saído do papel.

Ao Dr. Alexandre Holthausen e Dra. Luciana Marti, por agregarem seu conhecimento e técnica no estudo das células progenitoras endoteliais, as CPEs.

À Cidinha e toda equipe do LIM 42, pela disponibilidade na realização do congelamento das células progenitoras. Ao Lucas Chiang, por ter se dedicado à aprendizagem de uma nova técnica e ter contribuído no processamento das CPEs.

À equipe do LIM 18, pelo auxílio nas análises das adesinas, em especial Rosa Fukui e Aritania Sousa Santos. Ao Laboratório Central pelo suporte nos exames laboratoriais.

À equipe de apoio do Ambulatório de Endocrinologia, da Sala de testes e da Disciplina de Endocrinologia, entre elas: Eliana, Roseli, Ana Maria, Maria José, Cida, Senária, Francisca, Greci, Renata e Marilda. Meu carinho especial à Eliana, Roseli, Francisca, Greci, Renata e Marilda, por me ajudarem todas as quintas-feiras no atendimento aos voluntários.

Ao meu amigo André Doi, pela sua ajuda no entendimento dos processos laboratoriais e pelo apoio no transporte das células progenitoras. À Maria Dalva, por organizar minha agenda de atendimentos.

Aos meus professores do Ambulatório de Obesidade, Dra. Maria Edna de Melo, Dr. Márcio Mancini e Dr. Alfredo Halpern (*in memoriam*) que me acolheram como aluna há mais de 6 anos.

Às queridas colegas da Pós-Graduação: Soraya Amorim, Paula Fábrega, Claudia Brito, Priscila Priori e Paula Waki.

Aos professores Dra. Edna R. Nakandakare, Dra. Daniela Calderaro e Dr. Luiz Aparecido Bortolotto, pelas essenciais contribuições na qualificação.

Aos voluntários e suas famílias, que não doam somente o seu tempo, mas permitem que suas informações sejam utilizadas no desenvolvimento desta pesquisa, muito obrigada pela generosidade.

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo apoio financeiro (2013/16781-1).

Para aqueles que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigada.

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. Serviço 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, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentações; 2011.

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

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e siglas

Lista de figuras

Lista de quadros

Lista de tabelas

Lista de gráficos

Resumo

Abstract

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Justificativa	3
2	OBJETIVOS	5
3	REVISÃO DA LITERATURA	7
3.1	Definição e Sintomas de Hipogonadismo	8
3.2	Associação entre HG, Obesidade e SM: Uma Via de Mão Dupla, Independente da Faixa Etária	9
3.3	Fisiopatologia HG Associado à Obesidade e SM	13
3.3.1	Papel da leptina: o elo entre o eixo metabólico e o reprodutivo?	13
3.3.2	Papel do estado pró-inflamatório da SM e obesidade	15
3.3.3	Redução dos níveis de SHBG	17
3.3.4	Papel da relação T:E ₂ e a relação adipócito - Eixo HHT	18
3.4	Ciclo Obesidade-HG e o Papel da Inibina B na Espermatogênese	20
3.5	Diagnóstico do HG e do HGAO e SM	22
3.5.1	Diagnóstico de HG	22
3.5.1.1	Diagnóstico através de questionário	24
3.5.1.2	Diagnóstico laboratorial	25
3.5.2	Diagnóstico laboratorial do HGAO	28
3.6	HG e Risco Cardiovascular	29
3.6.1	Avaliação da função endotelial	31
3.6.1.1	Vasodilatação e Efeitos do HG na dilatação fluxo mediada (DFM)	32
3.6.1.2	Ações antitrombóticas e anti-inflamatórias do endotélio: moléculas de adesão endotelial e hipogonadismo	36
3.6.1.3	Células endoteliais progenitoras (CEP) como marcadores de função endotelial e o hipogonadismo masculino	40
3.7	Tratamento do HG	45
3.7.1	Controvérsias quanto ao uso da TRT exógena	45
3.7.2	Mecanismo de ação do CC: restauo de testosterona versus reparação	49
3.7.3	Citrato de clomifeno: uma opção?	49

4	MÉTODOS	52
4.1	Casuística.....	53
4.1.1	Aspectos éticos da pesquisa.....	53
4.1.2	População do estudo e critérios de inclusão e exclusão	53
4.1.3	Desenho do estudo	57
4.2	Métodos.....	61
4.2.1	Confecção dos placebos e embalagem do comprimido de CC 50 mg	61
4.2.2	Parâmetros de resposta clínica	61
4.2.3	Parâmetros de resposta hormonal	62
4.2.4	Parâmetros antropométricos e de composição corporal	64
4.2.4.1	Técnica da bioimpedanciometria.....	65
4.2.5	Parâmetros laboratoriais metabólicos e de perfil de segurança	66
4.2.6	Parâmetros cardiovasculares.....	69
4.2.6.1	Técnica do parâmetro dilatação fluxo mediada.....	69
4.2.6.2	Técnicas laboratoriais do parâmetro moléculas de adesão	73
4.2.6.3	Técnicas laboratoriais do parâmetro células progenitoras	74
4.2.7	Parâmetros de perfil de segurança: questionário internacional de sintomas prostáticos e efeitos adversos autorreferidos	77
4.2.8	Análise estatística	77
4.2.9	Cálculo da amostra	79
5	RESULTADOS.....	80
5.1	Dados Triagem.....	83
5.2	Dados da Randomização (Alocação)	83
5.3	Resultados do Seguimento	85
5.3.1	Resposta clínica.....	85
5.3.1.1	Respostas positivas ao questionário ADAM	85
5.3.1.2	Respostas positivas nas questões 1 e 7 do questionário ADAM.....	86
5.3.1.3	Número de intercursos sexuais.....	87
5.3.1.4	Queixa de Insatisfação com a vida sexual	88
5.3.2	Resultados de resposta hormonal.....	89
5.3.2.1	Análise de testosterona total e testosterona livre.....	89
5.3.2.2	Análise de Estradiol	92
5.3.2.3	Análise de LH e FSH.....	93
5.3.2.4	Análise de SHBG	96
5.3.2.5	Análise da relação testosterona total: estradiol (T: E ₂)	97
5.3.3	Resultados de composição corporal	98
5.3.3.1	Análise de índice de massa corporal e circunferência abdominal	98
5.3.3.2	Análise da massa magra.....	100
5.3.3.3	Análise da massa livre de gordura	101
5.3.3.4	Análise da Massa de musculoesquelético (MME).....	102
5.3.3.5	Análise de percentual de gordura corporal, área de gordura visceral (GV) em cm ² e massa de gordura	103

5.3.4	Resultados parâmetros laboratoriais e antropométricos de resposta metabólica	105
5.3.4.1	Análise de Pressão Arterial Sistólica e Pressão Arterial Diastólica (Pad).....	105
5.3.4.2	Análise de parâmetros glicêmicos: glicemia, hemoglobina glicada (HBA1c), insulinemia e índice Homeostasis model assesment (HOMA-IR).....	107
5.3.4.3	Análise de colesterol total, LDL colesterol e TGL.....	109
5.3.4.4	Análise de HDL Colesterol	111
5.3.4.5	Análise de síndrome metabólica	112
5.3.5	Resultados dos parâmetros de resposta cardiovascular.....	113
5.3.5.1	Parâmetro dilatação fluxo mediada da artéria braquial.....	113
5.3.5.2	Parâmetro moléculas de adesão endotelial: sICAM-1, sVCAM-1 e Selectina-sE em ng/mL.....	115
5.3.5.3	Parâmetro células progenitoras endoteliais: CPEC, CPEC146+, CEC e CEC146+	116
5.3.5.4	Considerações sobre as análises dos objetivos	117
5.3.6	Resultados parâmetros de efeitos adversos	119
5.3.6.1	Comparativos para hematócrito	120
5.3.6.2	Comparativos para antígeno prostático específico sérico (PSA) total.....	120
5.3.6.3	Respostas ao questionário internacional de sintomas prostáticos	122
5.3.6.4	Comparativos para transaminase glutâmico- pirúvica (TGP)	122
5.3.6.5	Comparativos para transaminase glutâmico-oxalacética (TGO).....	123
5.3.6.6	Efeitos Adversos autorreferidos	124
6	DISCUSSÃO	125
6.1	Resultados de Resposta Clínica.....	127
6.2	Resultados de Resposta Hormonal	130
6.2.1	Considerações sobre a redução da testosterona sérica e seu diagnóstico no contexto da obesidade	130
6.2.2	Considerações sobre a resposta hormonal.....	133
6.2.3	Considerações sobre a dose utilizada de CC no perfil hormonal	136
6.3	Considerações Sobre os Parâmetros de Composição Corporal	138
6.4	Considerações Sobre os Parâmetros Metabólicos.....	140
6.5	Resultados Parâmetros de Resposta Cardiovascular	144
6.6	Resultados dos Parâmetros Efeitos de Segurança	153
7	CONCLUSÕES	155
8	ANEXOS	158
9	REFERÊNCIAS.....	189

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%DFM	- Porcentagem de dilatação fluxo mediada
AACE	- Associação Americana de Endocrinologia Clínica
ADAM	- <i>Androgen Deficiency in Ageing Males</i>
ADAMq	- Variante do Questionário ADAM
ANOVA	- Análise Variância
AVC	- Acidente vascular cerebral
CA	- Circunferência abdominal
CAMs	- Moléculas de adesão (<i>Cellular adhesion molecules</i>)
CAPPesq	- Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
CC	- Citrato de clomifeno
CCP	- Células circulantes progenitoras
CD	- Grupamento de diferenciação (<i>Cluster of differentiation</i>)
CEC	- Células endoteliais circulantes
CEP	- Células endoteliais progenitoras
CEPCs	- Células endoteliais progenitoras circulantes
CQ	- Circunferência do quadril
CV	- Cardiovascular
DE	- Disfunção erétil
DFM	- Dilatação fluxo mediada
DFMAB	- Dilatação fluxo mediada da artéria braquial
DM2	- Diabetes tipo 2
DMO	- Densidade mineral óssea
DNT	- Dilatação nitrato dependente
DP	- Desvio e padrão
E ₁	- Estrona
E ₂	- Estradiol
ECRC	- Estudos clínicos randomizados controlados
EMAS	- Estudo Europeu do Envelhecimento Masculino (<i>European Male Aging Study</i>)
FAPESP	- Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
FDA	- <i>Food and Drug Administration</i>
FFM	- Massa livre de gordura (<i>Free fat mass</i>)
FMUSP	- Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
FSH	- Folículo estimulante
GMH	- Gonadotrofina humana da menopausa
GnRH	- Hormônio liberador de gonadotrofina

GV	- Gordura visceral
HAS	- Hipertensão arterial sistêmica
HbA1c	- Hemoglobina glicada
HC-FMUSP	- Hospital de Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HCG	- Gonadotrofina coriônica humana
HDL	- Lipoproteína de alta densidade (<i>High-density lipoprotein</i>)
HG	- Hipogonadismo
HGAO	- Hipogonadismo associado à obesidade
HHT	- Hipotálamo-hipófise-testículo
HIM	- Hypogonadism in males
HIV	- Vírus da imunodeficiência humana
HOMA-IR	- Homeostasis model assesment
ICAMs	- Moléculas de adesão intercelular (<i>Intercellular adhesion molecules</i>)
IFN- γ	- Interferon-gamma
IIEP	- Instituto Israelita de Ensino e Pesquisa
IL	- Interleucinas
IMC	- Índice de massa corporal
InCor-HC-FMUSP	- Instituto do Coração do Hospital das Clinicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
IPSS	- Questinário Internacional de Sintomas Prostáticos
KDR	- Receptor de domínio de inserção da kinase (<i>Kinase insert domain receptor</i>)
LC-MS	- Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa
LDL	- Lipoproteína de baixa densidade (<i>Low-density lipoprotein</i>)
LH	- Hormônio luteinizante
LIM	- Laboratório da Investigação Médica
LOCF	- Last-observation-carried-forward
LPL	- Lipoproteína lipase
MACE	- Fator de redução dos eventos cardiovasculares maiores (<i>Major adverse cardiovascular event</i>)
MMAS	- <i>Massachusetts Male Aging Study</i>
MME	- Massa musculoesquelético
MOSH	- Male Obesity Secondary Hypogonadism
NCEP-ATP III	- <i>National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III</i>
NF κ B	- Fator nuclear κ B

NO	- Óxido nítrico
OEC	- Células endoteliais de crescimento (<i>Outgrowth endothelial cells</i>)
OMS	- Organização Mundial de Saúde
Pad	- Pressão arterial diastólica
Pas	- Pressão arterial sistólica
PCRus	- Proteína C reativa ultrassensível
PSA	- Antígeno prostático específico sérico
RI	- Resistência insulínica
RIA	- Radioimunoensaio
SDHEA	- Sulfato de deidroepiandrosterona
selectina-sE	- Selectina-E solúvel
selectina-sP	- Selectina-P solúvel
SHBG	- Globulina de ligação de hormônios sexuais
sICAM-1	- ICAM-1 solúvel
SM	- Síndrome metabólica
sVCAM-1	- VCAM-1 solúvel
T	- Testosterona
TBW	- Água corporal total (<i>Total body water</i>)
TCLE	- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TEEAM	- <i>Testosterone Replacement in Older Men and Atherosclerosis Progression</i>
TGL	- Triglicérides
TGO	- Transaminase glutâmico-oxalacética
TGP	- Transaminase glutâmico-pirúvica
TIBC	- Capacidade total de ligação de ferro
TIMES2	- <i>Testosterone replacement in hypogonadal men with either Metabolic Syndrome or type 2 diabetes</i>
TNF- α	- Fator de necrose tumoral-alfa
TOM	- <i>Testosterone in Older Men with Mobility Limitation</i>
TRT	- Terapia de reposição com testosterona
TT	- Testosterona total
UIBC	- Capacidade livre de ligação do ferro
VA	- <i>Veterans Affairs</i>
VCAMs	- Moléculas de adesão vascular (<i>Vascular cell adhesion molecules</i>)
VLDL	- Lipoproteína de densidade muito baixa (<i>Very low density lipoprotein</i>)
VR	- Valor de referência

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Eixo HHT	8
Figura 2 - Ciclo obesidade-hipogonadismo	22
Figura 3 - Frações de testosterona	26
Figura 4 - Mecanismos envolvidos na associação de HG e disfunção endotelial	31
Figura 5 - Blísteres	61
Figura 6 - Orquidômetro	65
Figura 7 - Posicionamento do transdutor	71
Figura 8 - Estratégia de análise das células endoteliais circulantes (CECs) e células endoteliais progenitoras circulante (CEPs) nas amostras de pacientes	76
Figura 9 - Recrutamento e alocação	81
Figura 10 - Fluxograma da alocação	83

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 -	Condições associadas à alteração de SHBG	27
Quadro 2 -	-Técnicas laboratoriais dos parâmetros utilizados na triagem.....	56
Quadro 3 -	Desenho do estudo.....	58
Quadro 4 -	Procedimentos nas visitas	60
Quadro 5 -	Técnicas laboratoriais dos parâmetros de resposta hormonal.....	63
Quadro 6 -	Técnicas laboratoriais dos parâmetros metabólicos e de perfil de segurança	67
Quadro 7 -	Moléculas de adesão	73
Quadro 8 -	Perdas de pacientes durante o seguimento.....	82
Quadro 9 -	Relação de pacientes não utilizados nas análises de DFMA B	119
Quadro 10 -	-Estudos com CC.....	137
Quadro 11 -	-Estudos avaliando hipogonadismo e risco cardiovascular.....	146

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características iniciais da amostra quanto à idade, dados antropométricos e características clínicas, segundo grupo de intervenção.....	84
Tabela 2 - Características iniciais da amostra quanto a variáveis categóricas, segundo grupo de intervenção	85
Tabela 3 - Respostas positivas ao Questionário ADAM* em média e desvio padrão com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção	86
Tabela 4 - Respostas positivas à Questão 1 do Questionário ADAM com início e variação após variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção	86
Tabela 5 - Respostas positivas à Questão 7 do Questionário ADAM com início e variação após 12 semanas, segundo grupo de intervenção	87
Tabela 6 - Número de intercursos sexuais com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção	88
Tabela 7 - Respostas positivas à queixa de insatisfação com a vida sexual com início e variação após 12 semanas, segundo grupo de intervenção	88
Tabela 8 - Valores de testosterona total e testosterona livre em média e desvio padrão com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção	90
Tabela 9 - Valores de para estradiol em média e desvio padrão com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção	92
Tabela 10 - Valores de LH e FSH em média e desvio padrão com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção	94
Tabela 11 - Valores para SHBG (nmol/L) em média e desvio padrão com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção	96
Tabela 12 - Valores para relação T: E ₂ com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção	97

Tabela 13 - Valores de IMC e CA com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção	99
Tabela 14 - Valores para massa magra (kg) em média e desvio padrão com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção.....	100
Tabela 15 - Valores para massa livre de gordura (kg) em média e desvio padrão com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção	102
Tabela 16 - Valores para massa de musculoesquelético (kg) em média e desvio padrão com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção	103
Tabela 17 - Valores para percentual de gordura corporal e área de GV e massa de gordura e com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção	104
Tabela 18 - Valores de Pas e Pad com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção	106
Tabela 19 - Valores de glicemia, HbA1c, Insulinemia e HOMA-IR com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção	108
Tabela 20 - Valores de colesterol total, LDL colesterol e TGL com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção	110
Tabela 21 - Valores de HDL colesterol em média e desvio padrão com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção	111
Tabela 22 - Número de pacientes com SM com início e após 12 semanas, segundo grupo de intervenção	113
Tabela 23 - Valores do diâmetro basal e diâmetro HR40-60 com início e variação após 12 semanas, segundo grupo de intervenção	114
Tabela 24 - Valores para %DFM com início e variação após 12 semanas, segundo grupo de intervenção	114
Tabela 25 - Valores de sICAM, sVCAM e Selectina-sE com início e variação em 12 semanas, segundo grupo de intervenção.....	115
Tabela 26 - Valores de CEPs, CEPs146+, CECs e CECs146+ em 1×10^4 PBMC* com início e variação em 12 semanas, segundo grupo de intervenção.....	116

Tabela 27 - Análise de correlação entre CEPs, CEPs146+, CECs e CECs146+ (em 1×10^4 PBMC*) e testosterona total (ng/dL)	117
Tabela 28 - Valores para hematócrito (%) com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção	120
Tabela 29 - Valores para PSA total (ng/mL) em média e desvio padrão com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção.....	121
Tabela 30 - Valores da pontuação de IPSS com início e variação após 4,8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção	122
Tabela 31 - Valores para TGP (U/L) em média e desvio padrão com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção	123
Tabela 32 - Valores para TGO (U/L) com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção	124
Tabela 33 - Efeitos adversos	124

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Comportamento da média de testosterona total nos quatro momentos de análise.....	91
Gráfico 2 -	Comportamento da média de testosterona livre nos quatro momentos de análise.....	91
Gráfico 3 -	Comportamento da variável média de estradiol nos quatro momentos de análise.....	93
Gráfico 4 -	Comportamento da variável média de LH nos quatro momentos de análise.....	95
Gráfico 5 -	Comportamento da variável FSH nos quatro momentos de análise	95
Gráfico 6-	Comportamento da variável média de SHBG nos quatro momentos de análise.....	97
Gráfico 7 -	Comportamento da variável média de massa magra nos quatro momentos de análise	101
Gráfico 8 -	Comportamento da variável média de massa livre de gordura nos quatro momentos de análise.....	102
Gráfico 9 -	Comportamento da variável média de musculoesquelético nos quatro momentos de análise	103
Gráfico 10 -	Comportamento da variável média de HDL colesterol nos quatro momentos de análise.....	112
Gráfico 11 -	Comportamento da variável PSA os quatro momentos de análise	121
Gráfico 12 -	Comportamento da variável TGP nos quatro momentos de análise	123

RESUMO

Soares AH. *Hipogonadismo associado à obesidade: efeitos do tratamento com citrato de clomifeno*. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2017.

INTRODUÇÃO: A obesidade é uma das causas de hipogonadismo (HG) secundário no homem. A terapia de reposição padrão de testosterona (TRT) é associada à melhora dos parâmetros metabólicos, mas pode levar à infertilidade. Apenas recentemente indicou-se que não há novas evidências nível 1 para apoiar uma conexão definitiva entre TRT e eventos cardiovasculares (CV). **OBJETIVO:** Avaliar os efeitos do Citrato de Clomifeno (CC) em homens jovens com hipogonadismo associado à obesidade diagnosticado por testosterona total (TT) ≤ 300 ng/dL em duas ocasiões, sintomas positivos no questionário ADAM, hormônio Luteinizante (LH) baixo ou inadequadamente normal (VR: 1,7 - 8,6 UI/L). **MÉTODOS:** Estudo randomizado, duplo cego, controlado por placebo (PLB), longitudinal em centro único. Setenta e oito pacientes com idade entre $36,5 \pm 7,8$ anos, índice de massa corporal (IMC) $46,2 \pm 8,5$ kg/m² foram randomizados (1:1) para receber CC 50 mg ou PLB durante 12 semanas. Os pacientes foram avaliados através de: 1) Parâmetros clínicos: Questionário ADAM, número de intercursos sexuais, queixa de insatisfação com a vida sexual; 2) Parâmetros hormonais: dosagem sérica de TT, testosterona livre, Estradiol (E₂), LH, hormônio folículo estimulante (FSH), SHBG, relação TT:E₂; 3) Parâmetros de composição corporal: IMC, circunferência abdominal (CA) e análise de bioimpedanciometria; 4) Parâmetros metabólicos: pressão arterial sistólica e diastólica, glicemia em jejum (GJ), hemoglobina glicada (HbA1c), índice HOMA-IR, colesterol total e frações, triglicérides; 5) Parâmetros de resposta CV: dilatação fluxo mediada artéria braquial (FMDAB), níveis circulantes de sICAM-1, sVCAM-1, Selectina-sE e quantificação de células endoteliais progenitoras (CEPs) por citometria de fluxo;

6) Efeitos adversos: hematócrito, antígeno prostático específico sérico (PSA), questionário internacional de sintomas prostáticos (I-PSS), dosagem sérica de alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), e efeitos adversos autorreferidos. **RESULTADOS:** Na randomização os dois grupos foram semelhantes em relação à idade (CC: 35,5±7,8 anos, PLB: 35,6±7,8; p= 0,951), IMC (CC: 45,5±11,3 kg/m²; PLB: 47,2±9,6; p= 0,470), CA (CC: 137,5±17,9 cm; PLB: 140,2±19,6; p= 0,526) e testosterona total (CC: 225,8±70,0 ng/dL; PLB: 216,0±72,1; p= 0,543). Não houve diferenças nos parâmetros de resposta clínica, exceto com relação à queixa de perda de vigor nas ereções (p<0,001). Observou-se elevação significativa (p= <0,001) de TT, Testosterona livre, E2, LH, FSH e SHBG no grupo CC em comparação com PLB. Houve um aumento significativo (p<0,001) na massa magra e na massa muscular; e também na massa livre de gordura (p= 0,004). O CC reduziu HDL em comparação com PLB (p<0,001) e não mostrou efeito em outros parâmetros metabólicos. Não houve significância estatística nos parâmetros CV, indicando efeito nulo do tratamento. CC reduziu ALT (p<0,001) e aumentou o PSA (p= 0,023) dentro dos limites da normalidade. **CONCLUSÕES:** CC foi efetivo para melhorar os parâmetros de resposta hormonal e afetou positivamente um parâmetro de resposta clínica (perda de vigor nas ereções). Apesar das alterações na composição corporal, não se observou melhora do perfil metabólico. No entanto, o CC não ocasionou resposta adversa nos parâmetros CV. O tratamento CC para HG parece ser uma alternativa efetiva em jovens obesos que desejam preservar sua fertilidade, mas ensaios clínicos de seguimento em longo prazo e com maior número de participantes são necessários para melhor análise do perfil metabólico e de sintomas, além de impactos CV.

Descritores: obesidade; hipogonadismo; testosterona; vasodilatação; molécula 1 de adesão intercelular; molécula 1 de adesão de célula vascular; selectina E; células progenitoras endoteliais; síndrome X metabólica; clomifeno

ABSTRACT

Soares AH. *Obesity related hypogonadism: clomiphene citrate treatment effects*. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2017.

INTRODUCTION: Obesity can cause secondary hypogonadism in man. The standard testosterone replacement therapy (TRT) improves metabolic parameters but can lead to infertility. Only recently TRT was not clearly associated with adverse cardiovascular (CV) events, but its impacts on endothelial function are still controversial. **AIM:** To evaluate the effects of Clomiphene Citrate (CC) in out clinic young man with obesity related hypogonadism: total testosterone (TT) ≤ 300 ng/dL on two occasions, positive symptoms in ADAM questionnaire, Luteinizing Hormone (LH) low or inappropriate normal (RV: 1.7-8.6 IU/liter). **METHODS:** This is a randomized, double blind, placebo-controlled, parallel group, single-center study. Seventy eight patients aged 36.5 ± 7.8 years, Body mass index (BMI) 46.2 ± 8.5 kg/m² were randomized (1:1) to receive CC 50 mg or Placebo (PLB) during 12 weeks. **MAIN OUTCOME MEASURES:** 1) Clinical symptomology: ADAM Questionnaire, number of sexual intercourses and satisfaction with sexual life; 2) Hormonal monitoring: serum TT, Free testosterone, Estradiol (E₂), LH and Follicle-stimulating hormone (FSH), SHBG, TT/E₂ ratio; 3) Body composition and anthropometric measurements: BMI, waist circumference (WC) and Bioelectric Impedance analysis parameters; 4) Metabolic response parameters: systolic and diastolic blood pressure, fasting blood glucose (FBG), glycated hemoglobin (HbA1c), serum cholesterol and fractions, triglycerides; 5) CV assessment by endothelial function parameters: Flow-mediated dilatation of the brachial artery (FMDAB), circulating levels of sICAM-1, sVCAM-1, E-selectin and flow cytometry endothelial progenitor cells (EPCs); 6) Adverse outcomes: Hematocrit, serum Prostate-Specific

Antigen (PSA), International Prostate Symptom Score (I-PSS), Alanine Aminotransferase (ALT), Aspartate Aminotransferase (AST) and Self-reported Adverse Effects. **RESULTS:** Two groups were similar with regard to age (CC: 35.5±7.8 years; PLB: 35.6±7.8; P=0.951), BMI (CC: 45.5±11.3 kg/m²; PLB: 47.2±9.6; P=0.470), WC (CC: 137.5±17.9 cm; PLB: 140.2±19.6; P=0.526) and total testosterone (CC: 225.8±70.0 ng/dL; PLB: 216.0±72.1; P=0.543) in baseline data. There was an improvement in one sexual complaint (weaker erections) (P<0.001) and there were significant improvements (P<0.001) in TT, Free Testosterone, E₂, LH, FSH and SHBG in CC group (vs. PLB). There was a gain in lean mass (P<0.001), free fat mass (P=0.004) and muscle mass (P<0.001). CC reduced HDL compared to PLB (P<0.001) and showed no effect in other metabolic parameters. No statistical significance was seen in CV parameters. CC reduced ALT (P<0.001) and increased PSA (P=0.023). **CONCLUSIONS:** CC was effective in increase hormonal response parameters and improved one sexual complaint (weaker erections). Despite body composition changes, CC did not improved metabolic profile and lowered LDL cholesterol. CC showed no adverse response in CV parameters. CC treatment for HG appears to be an effective alternative in young obese men wishing to preserve their fertility but long-term follow-up trials to better analyze the metabolic profile and CV outcomes are needed.

Descriptors: obesity; hypogonadism; testosterone; vasodilation; intercellular adhesion molecule-1; vascular cell adhesion molecule-1; e-selectin; endothelial progenitor cells; metabolic syndrome X; clomiphene

1 INTRODUÇÃO

A obesidade impacta negativamente na qualidade de vida e determina o aparecimento de importantes comorbidades como aterosclerose, síndrome metabólica (SM) e diabetes tipo 2 (DM2). Através de mecanismos fisiopatológicos em comum, é possível observar que a obesidade também é causa de hipogonadismo (HG) secundário em homens. A associação destas condições clínicas contribui para o aumento no risco cardiovascular (CV) e finalmente, pode levar à redução da expectativa de vida¹.

O tratamento padrão para o HG é a terapia de reposição com testosterona (TRT)^{2,3}, ou como atualmente proposto, apenas “tratamento com testosterona”⁴. Este é o método mais utilizado para elevar os níveis séricos desse hormônio e melhorar a função sexual, libido, bem-estar, densidade mineral óssea e composição corpórea⁵. No entanto, o uso da testosterona (T) exógena afeta o mecanismo de retroalimentação do eixo hipotálamo-hipófise-testículo (HHT) e leva ao prejuízo na espermatogênese e atrofia testicular a longo prazo. Dessa forma, a TRT passa a ser uma opção problemática em homens jovens hipogonádicos que desejem manter fertilidade^{6,7}.

Adicionalmente, sabe-se que a TRT ainda gera dúvidas quanto à sua segurança cardiovascular - apesar de recentes evidências (nível 1) não indicarem aumento do riscos de eventos cardiovasculares^{4,8-10}. Neste contexto, surge a necessidade de estudarmos novos tratamentos para

pacientes obesos jovens e hipogonádicos que não apresentem risco (ou possibilidade de risco) cardiovascular. Buscam-se também dados para uma nova estratégia de manejo de sobrepeso e obesidade, como forma de melhorar a composição corporal, levar à perda de peso, reduzir a circunferência abdominal (CA) e o índice de massa corporal (IMC)¹¹⁻¹³.

O citrato de clomifeno (CC) é uma opção bastante atraente para o tratamento de homens jovens hipogonádicos. O CC restaura o eixo HHT através de sua ação moduladora seletiva do receptor de estrógeno, normaliza a secreção de gonadotrofinas e estimula produção de testosterona e de espermatozoides. Nos estudos em que foi utilizado, não se observou efeitos colaterais maiores^{6,14,15}, porém até o presente momento são poucos os dados na literatura que suportam a eficácia do CC no tratamento do hipogonadismo associado à obesidade (HGAO) e sobre seus efeitos cardiovasculares.

1.1 Justificativa

O HGAO é condição subdiagnosticada e subtratada atualmente. Estudos tem demonstrado cada vez mais potenciais benefícios metabólicos com o uso da TRT no contexto da SM em homens^{1,12,16-21}, e mais recentemente¹⁶ verifica-se em metanálises, ensaios clínicos prospectivos e trabalhos de revisão que não há evidências para uma conexão entre TRT e risco cardiovascular²²⁻²⁶.

Com as taxas de obesidade em níveis epidêmicos, as faixas etárias mais jovens têm a possibilidade de desenvolver o HGAO podendo igualmente apresentar benefícios com o tratamento do HG no contexto da obesidade e SM.

Homens jovens com elevados níveis de IMC devem ser avaliados quanto ao seu perfil androgênico e, ao se estabelecer o diagnóstico, deve-se considerar tratamento. Entender que somente a TRT é a única opção nestes casos é ignorar que muitos desses pacientes apresentam desejo de fertilidade.

Verifica-se na literatura um conceito emergente que diferencia a TRT da terapia de restauração de testosterona²⁷⁻²⁹. A opção do uso de medicamento que preserve a fertilidade e que possivelmente se mostre não inferior quando comparado aos benefícios do tratamento padrão com TRT pode ser útil para determinados grupos de pacientes, como homens jovens. O CC tem se apresentado como alternativa para manejar o HG, porém estudos são necessários para melhor avaliar suas consequências na função endotelial (como preditor de risco cardiovascular) e nos parâmetros metabólicos. É consenso na discussão de diversos estudos que evidências mais concretas na literatura são necessárias, através de estudos com maior grau de evidência.

Assim como nos últimos anos diversos estudos avaliam a TRT em seus efeitos hormonais, metabólicos em perfil de sintomas e risco cardiovascular^{1,11,12,20,23,24,26, 30-32}, o uso do CC, quando comparado à TRT, também deixa alguns questionamentos em aberto. O primeiro deles é se a testosterona endógena restaurada a partir do uso do CC teria efeito discrepante em relação à TRT (exógena) sobre os seus efeitos metabólicos e o risco cardiovascular. E, finalmente, qual seria impacto do uso do CC sobre os parâmetros de função endotelial, o que poderia antecipar o risco cardíaco do paciente submetido ao tratamento.

2 OBJETIVOS

Avaliar o tratamento com citrato de clomifeno em homens com hipogonadismo associado à obesidade, em relação aos seguintes parâmetros:

- a) Resposta clínica;
- b) Resposta hormonal;
- c) Composição corporal;
- d) Resposta metabólica;
- e) Resposta cardiovascular;
- f) Segurança.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Definição e Sintomas de Hipogonadismo

Define-se HG no homem como a síndrome clínica que resulta da falência testicular em produzir níveis fisiológicos de testosterona levando à perda da função gonadal, por ruptura do eixo HHT em algum nível^{2,33}.

O eixo HHT pode ser observado na Figura 1: na hipófise anterior, o hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) hipotalâmico estimula a secreção dos hormônios luteinizante (LH) e folículo estimulante (FSH). O LH age nas células de Leydig do testículo levando à produção de testosterona enquanto o FSH tem sua ação na célula de Sertoli testicular estimulando a espermatogênese³⁴.

FSH: Folículo estimulante; GnRH: Hormônio liberador de gonadotrofina; LH: Hormônios luteinizante

Figura 1 - Eixo HHT [Fonte: modificado de Dandona *et al.*³³]

A deficiência androgênica ocasionada pelo HG acarreta sinais e sintomas específicos e inespecíficos, que dependem da idade de acometimento, comorbidades associadas, severidade e duração da doença^{2,35}.

Quando o HG se desenvolve antes da puberdade, as manifestações clínicas são decorrentes do atraso do desenvolvimento sexual: testículos pequenos, pelos pubianos e axilares escassos, hábito eunucoide, redução da musculatura, ginecomastia e voz aguda³⁵.

A perda pós-puberal da função hormonal testicular resulta em sintomas como a redução da libido e atividade sexual, perda de ereções espontâneas, ginecomastia, diminuição na frequência do barbear e dos pelos axilares e pubianos. Observa-se ainda infertilidade com contagem baixa ou ausência de espermatozoides ao espermograma, além de perda da densidade mineral óssea e fogachos^{2,33,35}.

Sintomas menos específicos incluem: redução na energia, motivação, sensação de tristeza, declínio cognitivo, alterações do padrão de sono com aumento da sonolência e perda do rendimento no trabalho^{2,33}.

3.2 Associação entre HG, Obesidade e SM: Uma Via de Mão Dupla, Independente da Faixa Etária

As evidências do impacto da obesidade e da SM sobre o eixo HHT e o sistema reprodutivo masculino são várias e podem ser organizadas temporalmente. Em 1977, Glass *et al.*³⁶ foram os primeiros a demonstrar uma associação consistente entre obesidade e redução de testosterona. Neste estudo, o perfil hormonal de 10 homens obesos mostrou correlação negativa entre a testosterona sérica e a porcentagem do peso ideal. Além

disso, nesse primeiro estudo, foi descrito que os homens obesos mantinham as características sexuais secundárias, com tamanho testicular normal, exceto por discreta perda de pelos em face.

Em nova publicação de 1989, Glass³⁷ avalia os efeitos da obesidade em homens sobre o perfil hormonal, como o estado de hiperestrogenemia. O autor ressalta que a não normalização do perfil hormonal após a redução de peso levanta a possibilidade de um distúrbio que poderia unir tanto a obesidade quanto a disfunção endócrina.

Em 1996, Vermeulen³⁸ descreve que a hipotestosteronemia em homens obesos se deve à redução da capacidade de ligação da globulina de ligação de hormônios sexuais (SHBG), como consequência ao aumento da insulinemia. Adicionalmente postula que, nos homens com obesidade moderada, os níveis de testosterona livre seriam normais e portanto, não haveria HG real. Já nos obesos mais severos haveria HG real devido à redução da testosterona livre. Os estudos subsequentes passam, então, a considerar a obesidade como uma das causas de HG secundário^{39,40} com perfil hormonal descrito como “hipogonadismo hipogonadotrófico hiperestrogênico”^{37,39,41}.

Quanto à infertilidade, o estudo de Jensen *et al.*⁴² com 1558 voluntários demonstrou que os níveis séricos de testosterona total (TT), SHBG e Inibina B apresentaram redução com o aumento do IMC, enquanto os níveis de estradiol (E₂) sérico e de testosterona livre aumentavam de forma significativa com o aumento do IMC. Adicionalmente, houve redução no número de espermatozoides em homens com IMC abaixo de 20 kg/m² ou acima de 25 kg/m².

Estudos realizados nos anos seguintes confirmaram que o declínio da testosterona total sérica na obesidade está relacionado o aumento na taxa de infertilidade⁴³⁻⁴⁵.

Uma das peças fundamentais para o entendimento do impacto do IMC sobre os níveis de testosterona foi o *Massachusetts Male Aging Study*⁴⁶. Nele, buscou-se entender os fatores contributivos que levariam ao declínio da T com a idade. As análises do estudo, apesar de claramente confirmarem que de fato ocorre redução de testosterona com a idade, indicam que outras alterações específicas, como o aumento do IMC, estão envolvidas para acelerar o declínio da testosterona⁴⁷.

Quando as faixas etárias puberal e pré-puberal foram estudadas, verificou-se atraso puberal em meninos obesos comparados a meninos magros⁴⁸. Em adolescentes, o estudo de Moriarty-Kelsey *et al.*⁴⁹ indicou redução de testosterona nos obesos e nos diabéticos quando comparados com a concentração de testosterona nos adolescentes de peso normal.

Na senescência, os achados não são diferentes. A resistência insulínica (RI) está associada à redução da testosterona total sérica independente de medidas de obesidade central⁵⁰. Kaplan *et al.*⁵¹ realizaram um interessante estudo que envolveu 864 homens com idade média de 52 anos e critérios de inclusão de SM conforme os componentes do *National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III* (NCEP-ATP III)⁵². Os resultados sugeriram associação entre o envelhecimento masculino, a redução de testosterona e a presença de SM.

Cabe salientar que, se por um lado a SM e a RI estão implicadas em produzir estados patológicos que contribuem para a deficiência androgênica^{53,54}, por outro lado, o estado de deficiência androgênica (com baixos níveis de testosterona sérica e SHBG) é descrito como fator de risco para o desenvolvimento de SM em homens^{55,56}. Neste sentido, o estudo de Blouim *et al.*⁵⁷, foi importante em relacionar a redução dos níveis séricos de andrógenos e o próprio envelhecimento com o risco aumentado para SM. E como a obesidade central, determinada pela aferição da CA, é utilizada na definição da SM, o que se pode observar é que todos os processos estão inter-relacionados, sendo obesidade e SM igualmente causas e consequências do HG.

Finalmente, o reconhecimento da inter-relação entre obesidade e HG torna-se ainda mais importante quando atualmente, detectam-se níveis epidêmicos de obesidade nos países ocidentais^{39,58,59}. Segundo dados recentes, em 2025 a prevalência global da obesidade atingirá 18% nos homens⁶⁰. Na realidade brasileira, os dados do projeto VIGITEL, publicados em 2017, indicam que a frequência de excesso de peso na população foi de 52,3% no ano de 2015, sendo maior entre os homens (60,4%) do que entre as mulheres (45,9%)⁶¹. Diante desses dados, certamente o HGAO será cada vez mais frequente conforme eleva-se o número de obesos.

3.3 Fisiopatologia HG Associado à Obesidade e SM

A origem do HG em homens obesos é multifatorial. No entanto, alguns mecanismos principais podem ser identificados. O primeiro deles relaciona o aumento da leptina - devido à expansão do tecido adiposo - à redução da testosterona. O segundo refere-se ao estado pró-inflamatório da obesidade e SM sobre a produção testicular de testosterona; o terceiro mecanismo atribui ao excesso de E₂ a ação na regulação negativa sobre o eixo HHT⁶². Finalmente, o quarto mecanismo principal envolve a redução dos níveis séricos de SHBG nos homens obesos³⁹.

3.3.1 Papel da leptina: o elo entre o eixo metabólico e o reprodutivo?

A leptina é o hormônio proteico do gene *ob* expresso no adipócito, cuja função é a sinalização ao cérebro de reserva energética disponível^{63,64}. Apesar de estudos relacionarem a deficiência de leptina (devido à mutação no gene *ob*) como causa de obesidade, a maior parte dos obesos apresenta níveis elevados de leptina, o que sugere que nesses indivíduos exista uma forma de resistência funcional a este hormônio⁶⁵.

Nos modelos clássicos de camundongos *ob/ob*, carreadores de mutação em homozigose para deficiência de leptina, observa-se hiperfagia, redução da taxa metabólica basal, espermatogênese anormal e esterilidade^{66,67}. No entanto, quando cobaias macho *ob/ob* foram submetidas à restrição calórica com perda de peso, não se observou restauração da fertilidade, diferente das cobaias *ob/ob* que receberam reposição de leptina⁶⁸. Este achado sugeriu que a leptina poderia ter um papel direto na regulação do eixo reprodutivo.

Em 1997, Vettor *et al.*⁶⁹ observaram em 46 homens (29 obesos e 17 magros) a existência de correlação negativa entre leptina e T independente do IMC, sendo consistente com a hipótese que a T tenha efeito inibitório na transcrição do gene *ob* do adipócito.

Segundo estudo de Luukkaa *et al.*⁷⁰ houve variação inversamente proporcional entre os níveis séricos de leptina e testosterona após o ajuste para IMC e insulinemia em uma coorte de 269 homens. Adicionalmente a reposição de testosterona em 10 indivíduos dessa coorte resultou em supressão dos níveis de leptinemia - o que sugere que a testosterona, direta ou indiretamente, suprima a leptinemia na população de homens normais. No ano seguinte, Caprio *et al.*⁷¹ identificaram a presença de receptores funcionais de leptina nas células de Leydig de roedores, o que estaria relacionado à redução da testosterona sérica e poderia explicar a relação inversa entre os níveis séricos de leptina e testosterona.

Além da influência da leptina na produção de testosterona nas células de Leydig, também foi observado seu efeito direto nas células germinativas, através da expressão de receptores funcionais de leptina nestas células⁷². O conjunto dos efeitos desses dois mecanismos determina, então, que o excesso de leptina possa agir na fisiopatologia do HG, sendo provável que exista uma margem estreita na sua concentração que mantenha a função reprodutiva de forma fisiológica⁶⁶.

Em 1998, o estudo de Finn *et al.*⁷³ em macacos Rhesus, demonstrou que a leptina poderia representar um sinalizador metabólico para o eixo reprodutivo nos primatas. No ano seguinte, Isidori *et al.*⁷⁴ indicam que a leptina é o melhor preditor de baixos níveis de andrógenos na obesidade.

A leptina estimula os neurônios produtores de GnRH hipotalâmicos e induz a liberação de LH. No entanto, como os neurônios GnRH produtores não possuem receptores para leptina, esta sinalização ocorre através das kisspeptinas. As kisspeptinas são peptídeos secretados por neurônios específicos do hipotálamo, e estes neurônios produtores de kisspeptina, por sua vez, expressam receptores para a leptina⁷⁵. Na obesidade, contudo, devido à resistência do sistema nervoso central à leptina, todo este sistema de controle é alterado, e o excesso de leptina poderia exercer uma ação direta negativa sobre a pulsatilidade do LH, segundo observado por Isidori *et al.*⁷⁴.

Assim sendo, pode-se verificar uma íntima relação entre os níveis de leptina e fertilidade. Níveis baixos de leptina - como os vistos na deficiência congênita de leptina⁷⁶ - e níveis altos - como na obesidade - estão associados ao prejuízo na fertilidade.

3.3.2 Papel do estado pró-inflamatório da SM e obesidade

A obesidade visceral associada à RI resulta em vários graus de deficiência androgênica, com a redução de testosterona sendo proposta como marcadora do estado metabólico anormal⁷⁷.

A obesidade geral, e não apenas a visceral, inicia uma resposta inflamatória sistêmica no organismo, e é associada a níveis significativamente elevados de interleucinas (IL): IL-5, IL-10, IL-12, IL-13, IL-1 β , IL-6, interferon-gamma (IFN- γ) e fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α)⁷⁸⁻⁸⁰. Sabe-se que nos homens a CA, como determinante da obesidade visceral, é o preditor com mais força de associação aos marcadores inflamatórios, se comparado ao IMC⁸¹.

Diversos mecanismos são implicados na mudança dos níveis de citocinas com propriedades anti-inflamatórias para citocinas pró-inflamatórias na obesidade. Observa-se que adipócitos viscerais sintetizam as adipocinas pró-inflamatórias, e os macrófagos passam a migrar para o tecido adiposo, gerando aumento da polarização de macrófagos de reparação tecidual (M2) para macrófagos ativados contra potenciais patógenos (M1)^{82,83}.

Assim sendo, o segundo mecanismo da fisiopatologia HGAO relaciona a existência de estado pró-inflamatório da SM e obesidade ao desenvolvimento do HG. Neste cenário, existe uma elevação nos níveis séricos de citocinas, especificamente as IL-1 β , IL-6 e TNF- α . Estas citocinas teriam efeito de inibição sobre a esteroidogênese na célula de Leydig, através da alteração de expressão de diferentes enzimas envolvidas no processo⁸⁴.

O TNF- α reduz a expressão das enzimas esteroidogênicas P450scc, P450c17, e 3 β -HSD nas culturas de células de Leydig em ratos⁸⁵ e também reduz a expressão da proteína regulatória esteroidogênica aguda (*steroidogenic acute regulatory - protein*)⁸⁶ nas culturas de células de Leydig porcinas^{87,88}.

Além da ação testicular, estudos *in vitro* e estudos experimentais em animais demonstraram que TNF- α e IL-1 β tem papel de suprimir o GnRH hipotalâmico e a secreção de LH⁸⁹. Hong *et al.*⁸⁷ propõem que TNF- α e IL-1 tenham uma ação inibitória direta nas funções gonadais, em específico na esteroidogênese da célula de Leydig.

Wu *et al.*⁹⁰ estudaram os efeitos protetores da adiponectina - predominantemente secretada por adipócitos - em receptores específicos de adiponectina em testículos. Sabe-se que além de ter função na homeostase

de lipídeos e glicose, esta adipocina apresenta função de regulação hormonal de ovários, supra renais e hipófise. Os pesquisadores avaliaram que a adiponectina tinha papel protetor contra as citocinas pro-inflamatórias em células de Leydig, através da inibição da ativação da via NF- κ B. Esta via de fatores de transcrição está envolvida na regulação da resposta inflamatória em células eucarióticas.

3.3.3 Redução dos níveis de SHBG

A redução nos níveis de SHBG nos pacientes obesos é descrita em diversos estudos^{72,91,92}. Dentre eles, destaca-se o achado da redução da testosterona total e da concentração de SHBG durante o seguimento de 9 anos em homens com sobrepeso comparados aos homens magros no *Massachusetts Male Aging Study* (MMAS), sem diferença com relação à testosterona livre^{46,93,94}.

A obesidade cria um ambiente hiperinsulinêmico devido à RI, afetando diretamente a produção hepática de SHBG e redução de testosterona total circulante. Baixos níveis de SBHG permitem que mais testosterona livre seja entregue aos tecidos e convertida em E₂, no tecido adiposo⁷⁴.

Em homens obesos leves e moderados, a redução da testosterona total sérica pode ser atribuída à redução da SHBG, mas em homens severamente obesos, a redução da testosterona total vem associada aos outros fatores descritos nesta seção, que em conjunto contribuem para a redução hormonal⁷².

Pasquali *et al.*⁹⁵ estudaram o perfil de SHBG sérico de homens obesos antes e após a cirurgia de derivação biliopancreática. Os grupos

obesos tiveram SHBG significativamente menor do que os controles de peso normais e observou-se que a perda de peso dos pacientes massivamente obesos pode reverter completamente as anormalidades de SHBG. Uma vez que as concentrações reduzidas de SHBG podem configurar um fator de risco independente para o desenvolvimento de diabetes e doenças cardiovasculares, isso representa um benefício adicional da perda de peso em indivíduos massivamente obesos.

3.3.4 Papel da relação T:E₂ e a relação adipócito - Eixo HHT

O quarto mecanismo identificado é a atenuação de pulso de LH no paciente obeso. Aqui, foca-se na origem hipotálamo-hipofisária do HG, ou HG secundário.

O complexo enzimático aromatase é a maior fonte produtora de E₂ tanto no homem quanto na mulher, sendo encontrado nas células testiculares de Leydig, no tecido adiposo, pele e fígado⁹⁶. Em homens magros, observa-se que as concentrações de E₂ tendem a se manter constantes durante a vida^{96,97}. No entanto, em homens obesos a expansão do tecido adiposo resulta no aumento da atividade da enzima aromatase^{40,98}. O resultado é a elevação no nível sérico de E₂ e o consequente desequilíbrio na relação T:E₂. Este aumento de E₂ inibe a secreção de gonadotrofinas pela hipófise e ocasiona HG secundário^{40,99-101}.

Schneider *et al.*¹⁰² foram pioneiros em identificar aumento dos níveis urinários de estrona (E₁) e E₂ relacionado à obesidade, e parâmetros de avaliação para a conversão andrógeno - estrógeno mostrando elevação

relacionada à obesidade. Como apesar da hiperestrogenemia os pacientes não apresentaram sinais de feminização, foi proposto que a obesidade masculina poderia levar ao bloqueio do receptor estrogênico.

Em 1991, Raven *et al.*⁹⁹ levantam o seguinte questionamento: seria o eixo HHT primariamente regulado por T ou E₂? Segundo os pesquisadores, o eixo seria mais sensível aos níveis circulantes de E₂, porém várias concentrações periféricas de E₂ dentro dos níveis fisiológicos resultaram em níveis de testosterona os mais variados, do limite inferior ao limite superior, sugerindo que a relação T:E₂ como clinicamente mais útil em diagnosticar o excesso de estrógeno no homem do que o uso isolado da dosagem sérica de T^{40,99}.

Lakshman *et al.*¹⁰³ avaliando os efeitos de TRT injetável sobre a conversão de T em E₂ em homens jovens e idosos, identificaram que os homens jovens apresentam níveis mais altos de T total e livre que homens idosos. Porém os níveis de E₂ são menores nos jovens, o que configura que a relação T total:E₂ total seja maior em homens idosos comparada com homens jovens.

Em resumo, a expansão do tecido adiposo visceral leva ao aumento de atividade da aromatase com elevação nos níveis séricos de E₂. A hipoestrogenemia atua negativamente sobre o eixo hipotalâmico hipofisário, o que perpetua o processo de obesidade. Esta é a descrição de parte do ciclo obesidade-hipogonadismo, em que a aromatase é peça fundamental ao modular o desvio (*shunt*) T:E₂^{79,96}, descrito a seguir.

3.4 Ciclo Obesidade-HG e o Papel da Inibina B na Espermatogênese

O ciclo obesidade-HG foi inicialmente descrito por Cohen⁹⁶, em 1999 e sintetiza o raciocínio de via de mão dupla. Em 2001, o mesmo autor¹⁰⁴ indica que à medida que há expansão do tecido adiposo abdominal e o consequente aumento da RI, ocorre um padrão de dislipidemia em que observa-se aumento de triglicérides (TGL) e redução de lipoproteína de baixa densidade (high-density lipoprotein [HDL]). Além disso, a densidade da partícula da lipoproteína de baixa densidade (*low-density lipoprotein* [LDL]) colesterol torna-se mais densa (padrão conhecido como fenótipo tipo B; pequeno e denso)¹⁰⁵ e forma uma tríade de aumento de risco CV quando associado à redução de HDL colesterol e aumento de triglicérides¹⁰⁶.

Nos anos seguintes o ciclo obesidade-HG é melhor caracterizado. A presença de níveis aumentados de E₂ por aumento do IMC causa expansão do depósito de gordura em tecido visceral, o que leva ao aumento adicional da atividade da aromatase. Ainda neste ciclo, o HG induz redução de massa muscular, aumento de gordura visceral, aumento da RI e aumento da atividade da lipoproteína lipase (LPL). A LPL é o principal regulador enzimático da captação de triglicérides no adipócito, preferencialmente no adipócito visceral¹⁰⁷. O aumento da ação da LPL acarreta igualmente expansão da gordura visceral que leva ao aumento adicional da atividade da aromatase, perpetuando assim o ciclo.

Com relação ao impacto na espermatogênese, ressalta-se que a inibina B, o mais acurado marcador da espermatogênese normal, apresenta-se reduzido em homens obesos comparados com não obesos, cerca de 25%

a 32% menor nos homens obesos em comparação com homens de peso normal¹⁰⁸. Níveis subnormais de inibina B indicam espermatogênese irregular. Em primatas, os níveis de inibina B se correlacionam inversamente com a quantidade de células de Sertoli¹⁰⁹.

Observa-se também correlação inversa entre os níveis de leptina e inibina B¹¹⁰, o que poderia explicar, em parte, os efeitos negativos tanto em redução de testosterona quanto em espermatogênese. Além desse efeitos, o hipoandrogenismo igualmente desregula funções controladas pelos adipócitos como: a RI, pressão arterial, reatividade vascular e imunidade. O estado de RI determina a redução na produção de SHBG, que reduz a testosterona sérica e aumenta a ação da aromatase, elevando o E₂. Esta elevação de E₂ atenua os pulsos de LH e reduz da produção testicular androgênica, já afetada negativamente pela leptina⁹⁹.

Adicionalmente, a leptina tem ação inibitória hipotalâmica sobre o sistema neuronal GnRH produtor, juntamente com os efeitos da IL-6, do TNF- α e do E₂. A redução da amplitude de pulso de LH, já descrita anteriormente, contribui para a ciclicidade do processo, conforme Figura 2.

IL6: Interleucina-6; SHBG: Globulina de ligação de hormônios sexuais; TNF- α : Fator de necrose tumoral-alfa

Figura 2 - Ciclo obesidade-hipogonadismo

3.5 Diagnóstico do HG e do HGAO e SM

3.5.1 Diagnóstico de HG

Segundo o Consenso para a Terapia de testosterona em homens com síndromes de deficiência androgênica da Sociedade Americana de Endocrinologia (*Endocrine Society*), de 2010², o rastreamento da deficiência androgênica não é recomendado na população geral. A dosagem de testosterona é preconizada em condições nas quais há maior prevalência como: infertilidade, osteoporose ou fratura com baixo trauma em homem jovem, massa ou doenças selares, doença renal em fase terminal, doença pulmonar obstrutiva crônica moderada a severa, uso de medicamentos que afetem a produção ou o metabolismo da testosterona - como uso crônico de glicocorticoides; perda de peso associada ao vírus da imunodeficiência humana (HIV) e diabetes tipo 2.

Ainda em seu Consenso, a Sociedade Americana de Endocrinologia recomenda que o diagnóstico seja feito em homens com sinais e sintomas consistentes com HG associados ao baixo nível sérico de testosterona total^{2,33}, o que também é igualmente preconizado pelo Consenso Europeu de Infertilidade Masculina¹¹¹.

No entanto, é importante considerar uma mudança de direcionamento nos últimos anos, principalmente após a última atualização crítica do Consenso, em 2015¹⁶. Nela, os benefícios da TRT no perfil de RI e de composição corporal de pacientes com diagnóstico de DM2 e SM são discutidos, e a TRT passa a ser considerada possivelmente benéfica nestes casos¹⁶. A partir dessa mudança no perfil de possíveis benefícios no tratamento, talvez as indicações para o rastreamento se modifiquem próximos consensos.

Seftel *et al.*¹¹² avaliam que o HG pode ser caracterizado pela redução de testosterona total em níveis menores que 300 ng/dL associados com mais de um sinal ou sintoma. Os sintomas incluem^{2,7,35,113}: (a) alteração na função sexual, como redução da libido disfunção erétil (DE), dificuldade em atingir o orgasmo, bem como a ejaculação reduzida durante o orgasmo; (b) redução na energia, vitalidade ou resistência física; (c) alteração de humor - humor deprimido ou sensação de bem-estar diminuída; e/ou aumento da irritabilidade; (d) dificuldade de concentração e outros problemas cognitivos; e/ou (e) fogachos, que em alguns casos podem ser de início agudo. Os sinais podem ser: (a) anemia; (b) perda muscular (sarcopenia); (c) massa óssea reduzida ou densidade mineral óssea (DMO); (d) ausência ou regressão de características sexuais secundárias; (e) adiposidade abdominal; e/ou (f) oligospermia ou azoospermia.

Além da avaliação dos sintomas, conduzir uma avaliação apropriada é foco central no diagnóstico do HG, descrita a seguir¹¹².

3.5.1.1 Diagnóstico através de questionário

Existem ferramentas diagnósticas que podem ser úteis na identificação dos pacientes com maior probabilidade de apresentar níveis reduzidos de testosterona total. Segundo Wang *et al.*¹¹⁴ o diagnóstico deve incluir a presença de sinais de hipoandrogenismo, sendo a redução de libido o sinal mais associado ao HG. Dessa forma a aplicação de questionários seria indicada na triagem de possíveis pacientes hipogonádicos³³.

O questionário ADAM (*Androgen Deficiency in Ageing Males*)¹¹⁵ (Anexo A), desenvolvido por Morley *et al.*¹¹⁶ tem sido amplamente utilizado como ferramenta de triagem para detectar homens em risco de deficiência de andrógenos.

O questionário ADAM padrão consiste em 10 perguntas “sim” ou “não” sobre sintomas de deficiência de andrógenos¹¹⁶. Dandona *et al.*³³ indicam a possibilidade de redução de testosterona com a resposta “sim” nas questões de 1 e 7 ou com pelo menos três ou mais questões positivas. Uma das restrições do uso do questionário é que estas questões “sim” ou “não”, embora efetivas na identificação de sintomas associados à deficiência de andrógenos, não oferecem informações sobre a gravidade dos sintomas¹¹⁵. No entanto, a aplicação do questionário permite que se inicie uma busca ativa durante a consulta sobre sintomas e sinais compatíveis com HG^{33,117,118}.

3.5.1.2 Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico laboratorial do HG tardio é baseado na dosagem de testosterona total. A Sociedade Americana de Endocrinologia recomenda o valor de 300 ng/dL como limite inferior para definir o estado hipogonádicos²; porém, os níveis de corte para o diagnóstico não são consenso.

O valor de 300 ng/dL foi estabelecido a partir de estudos relacionando a presença de sintomas de hipoandrogenismo e níveis séricos de testosterona. Kelleher *et al.*¹⁰³ conseguiram determinar que a maior parte dos homens sintomáticos apresentava níveis de testosterona total próximos dos níveis inferiores da faixa eugonadal para homens jovens, ressaltando que o nível abaixo do qual os sintomas se iniciam pode variar de homem para homem^{2,119}. O estudo *Hypogonadism in males* (HIM) de Mulligan *et al.*¹²⁰ estimou a prevalência de HG, utilizando o nível de corte de 300 ng/dL, em 38,7% para homens acima dos 45 anos.

Ainda assim, existem divergências nas recomendações sobre abaixo de quais níveis de testosterona sérica o diagnóstico de HG deva ser estabelecido. A Associação Americana de Endocrinologia Clínica (AAEC) sugere o valor abaixo de 200 ng/dL enquanto que as Sociedades Americana e Europeia de Urologia recomendam o valor abaixo de 230 ng/dL para indicação de TRT^{33,114}.

Há ainda a possibilidade de se considerar uma definição, proposta por Wu *et al.*¹²¹, que inclui a presença de no mínimo três sintomas sexuais e a dosagem de testosterona total inferior a 320 ng/dL.

Sabe-se também que os níveis séricos de testosterona variam ao longo do dia, com pico no começo da manhã e declínio no final da

tarde^{122,123}. Além disso, os níveis sofrem alteração circadiana, circanual e com o uso de medicações orais como glicocorticoides e opiáceos. Observa-se ainda a redução dos níveis de testosterona na presença de doenças crônicas. Dessa forma, foi então estabelecido que a testosterona sérica deve ser coletada pela manhã (entre 8:00 e 11:00 horas), com no mínimo duas dosagens em dias diferentes, e com 1 semana de intervalo^{2,114,124}.

Verifica-se, nas recomendações e artigos, a convergência para o uso da testosterona total no diagnóstico do HG^{2,33,120}. A testosterona total (100%) é a soma da testosterona livre (2%) e da testosterona ligada à SHBG (44%) e à albumina sérica (54%), conforme Figura 3. As dosagens de testosterona total por radioimunoensaio (RIA), ensaios imunométricos ou cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa (LC-MS) são utilizadas e realizadas na maioria dos centros e hospitais^{86,125}.

SHBG: Globulina de ligação de hormônios sexuais; T: Testosterona

Figura 3 - Frações de testosterona

No entanto, como somente 2% a 3% da testosterona total é livre e disponível, alguns autores propõem o uso da testosterona livre para o diagnóstico do HG. Os níveis de testosterona livre são mais sensíveis às oscilações da SHBG e as condições que afetam a SHBG podem, portanto,

afetar o cálculo da testosterona livre. Dessa forma, quando o paciente apresenta níveis de testosterona total próximos ao limite inferior da normalidade, recomenda-se dosar as frações de testosterona livre ou testosterona biodisponível, e dosa-se a SHBG em condições em que exista possibilidade de sua alteração (Quadro 1)^{2,123,126}.

Quadro 1 - Condições associadas à alteração de SHBG

Aumento de concentração de SHBG	Redução de concentração de SHBG
Envelhecimento	Síndrome nefrótica
Hipertireoidismo	Hipotireoidismo
Cirrose hepática	Uso de glicocorticoides, andrógenos, progestágenos
Uso de anticonvulsivantes	Acromegalia
Estrógenos	Obesidade e SM
HIV	Diabetes Mellitus tipo 2
Condições de aumento de catabolismo como síndrome de mal absorção de desnutrição	

Fonte: modificada de Bhasin *et al.*²

HIV: Vírus da imunodeficiência humana; SHBG: Globulina de ligação de hormônios sexuais; SM: Síndrome metabólica

Nessas condições - em que há suspeita de alteração de SHBG - prefere-se dosar a testosterona livre pelo método de diálise de equilíbrio, mais confiável e acurado¹¹⁴. Caso este método não esteja disponível calcula-se a testosterona livre através de fórmulas^{2,33,127}.

Existem duas situações principais em que foi observada alteração na SHBG: obesidade - que diminui as concentrações de SHBG em proporção ao grau de obesidade e envelhecimento masculino - que pode aumentar ligeiramente a SHBG^{36,128}.

Em resumo, o algoritmo diagnóstico do HG se inicia com a coleta da história e exame físico⁸⁹ e a dosagem da testosterona total pela manhã. Níveis de testosterona para continuar com investigação são definidos como o limite inferior da testosterona total para homens jovens no laboratório de referência.

Geralmente este valor encontra-se entre 280 ng/dL e 300 ng/dL, sendo próximo ao valor recomendado pela Sociedade Americana de Endocrinologia².

Neste ponto, segue-se para a avaliação de presença de doenças agudas, deficiência nutricionais e uso de medicamentos, além da repetição da nova dosagem de testosterona total e dosagens de LH e FSH. Causas de alteração de SHBG deverão ser consideradas e o cálculo ou dosagem de testosterona livre poderão ser necessários^{16,2}. A partir das dosagens de LH e FSH, associadas à confirmação de baixo nível de testosterona, define-se HG primário ou secundário e prossegue-se para a investigação específica^{33,112}.

3.5.2 Diagnóstico laboratorial do HGAO

Saboor *et al.*¹²⁹ propõem que o diagnóstico de HGAO - chamada pelos autores de *Male Obesity Secondary Hypogonadism* (MOSH), seja feito com as seguintes características presentes:

- IMC maior ou igual a 30 kg/m².
- Presença de sinais e sintomas que sugiram HG, como piora da performance sexual, física ou mental, ou alterações das características sexuais como ginecomastia ou relato de fogachos. Perda da densidade mineral óssea e alterações metabólicas como alterações de glicemia.
- Na presença de SHBG em níveis normais, a presença de testosterona total abaixo do limite inferior para homens jovens, confirmada em duas ocasiões. No caso de SHBG anormal, dosagem de testosterona livre ou biodisponível, em ensaio confiável, nos limites inferiores ao de homens jovens.

- LH e FSH baixos ou inapropriadamente normais e exclusão de lesões hipotalâmicas e do HG primário.

Quanto à secreção de LH, a dosagem integrada diurna apresentou-se significativamente menor em homens obesos comparada aos controles não obesos. A amplitude média de pulso e o somatório médio de todos os pulsos diurnos foram igualmente reduzidos¹³⁰.

3.6 HG e Risco Cardiovascular

Existe crescente interesse nos últimos anos em relação ao impacto dos efeitos androgênicos no risco cardiovascular. Desde a constatação de que há uma diferença significativa na mortalidade cardiovascular entre os sexos, elaborou-se a hipótese que os andrógenos são responsáveis pelo risco cardiovascular elevado em homens, ou de forma complementar, que a falta de estrogênio nos homens poderia ser a causa da diferença no risco cardiovascular entre os sexos¹³¹.

Em diversos estudos, uma linha comum é encontrada: a redução de testosterona que contribui para o desenvolvimento da SM, também aumenta o risco cardiovascular^{132,133}. Em metanálise que reuniu 70 estudos, Corona *et al.*¹³⁴, demonstraram que pacientes com doença cardiovascular apresentaram níveis significativamente menores de testosterona e maiores de 17 β estradiol.

O HG e sua relação com a SM envolve o aumento de mediadores de aterosclerose¹³⁵⁻¹³⁹. O estado hipogonádico leva à expansão do tecido adiposo abdominal, que por sua vez acaba por perpetuar o HG. Em paralelo,

os marcadores inflamatórios que resultam da SM também elevam o risco de aterosclerose. O ciclo obesidade - HG é mais uma vez implicado na amplificação do processo de dano endotelial. Os mecanismos propostos deste dano envolvem, basicamente, os mesmos fatores associados à SM: DM2, RI, adiposidade visceral, dislipidemia e a presença de citocinas inflamatórias¹³⁵.

Dados do *Massachusetts Male Aging Study* apontam para a associação inversamente proporcional entre baixo nível sérico de sulfato de deidroepiandrosterona (SDHEA) e elevação de doença cardíaca¹⁴⁰. Por outro lado, nos pacientes que receberam TRT, observou-se efeitos anti-isquêmicos e vasodilatadores endoteliais, com possibilidade de redução do riscocardiovascular^{141,139}.

Diversos mecanismos estão envolvidos na associação de hipogonadismo e disfunção endotelial, e eles estão resumidos na Figura 4, modificada de Traish *et al.*¹³³.

Figura 4 - Mecanismos envolvidos na associação de HG e disfunção endotelial. A deficiência androgênica é um fator de risco para SM e disfunção endotelial. Os mecanismos de aumento da resistência insulínica^{132,142}, piora do padrão lipídico¹³⁸ e aumento de fatores inflamatórios¹⁴³ contribuem para a disfunção endotelial. O resultado é o estresse oxidativo¹⁴⁴, vasoconstrição¹⁴⁵, perda da reparação do endotélio^{135,146}, adesão celular ao endotélio e inflamação¹⁴⁷

3.6.1 Avaliação da função endotelial

O endotélio consiste de uma camada única de células de revestimento interno arterial. É responsável pela interface entre o fluxo sanguíneo e a parede vascular, mas não se limita unicamente à função de proteção^{148,149}.

Quando se considera a avaliação da função endotelial, cabe o entendimento que o endotélio é um órgão parácrino que secreta fatores regulatórios do fluxo vascular, crescimento celular, adesividade plaquetária e leucocitária^{149,150}.

Esse controle é realizado através da liberação de substâncias vasoativas, trombaregulatórias e fatores de crescimento, devido à existência de mecanismos de transdução celulares. Quando ocorre a perda dessa homeostase endotelial, a consequência é a gênese de diversas patologias

como: aterosclerose, insuficiência cardíaca e coronariopatia¹⁵⁰. Isso é reforçado por evidências crescentes indicando que a manifestação precoce da aterosclerose reside justamente na disfunção endotelial^{148,149}.

Dessa forma, o endotélio sadio é aquele que promove: vasodilatação, antitrombose e ação anti-inflamatória. Portanto a avaliação da função endotelial, marcador precoce do impacto de fatores genéticos e ambientais, deve contemplar os três aspectos supracitados¹⁴⁹.

3.6.1.1 Vasodilatação e Efeitos do HG na dilatação fluxo mediada (DFM)

O funcionamento do endotélio é um dos principais determinantes da saúde vascular. Sabe-se que quando um endotélio é disfuncional, dele resultam hipertensão arterial sistêmica (HAS), formação de trombos e início de placa aterosclerótica. No entanto, há um grande hiato de tempo - de até décadas - entre o início da disfunção endotelial devido à exposição à fatores de risco e o aparecimento de eventos clínicos. Assim sendo, a avaliação da vasodilatação arterial é uma das formas possíveis de se acessar a capacidade do endotélio de forma mais precoce¹³⁵.

A promoção da vasodilatação endotelial está inicialmente centrada na função do óxido nítrico (NO), gerado a partir da L-arginina pela ação da enzima NO sintase¹⁵¹. A ativação da NO sintase pode ocorrer na presença de moléculas de sinalização, como a bradicinina; na hipóxia; ou após a liberação de serotonina secundária à agregação plaquetária¹⁵². Sabe-se que o NO tem sua biodisponibilidade diminuída em modelos animais de obesidade induzida por dieta e em pacientes obesos e resistentes à insulina¹⁵³.

Na fisiologia normal, o NO mantém a parede vascular em repouso, controlando inflamação, trombose e proliferação celular¹⁵⁴. No entanto, os vasos sanguíneos apresentam uma capacidade de resposta à estímulos físicos ou químicos que leva à autorregulação do seu tônus, e à consequente redistribuição do fluxo sanguíneo¹⁵⁰.

A resposta dos vasos sanguíneos ao aumento de fluxo e ao estresse de cisalhamento é a dilatação, fenômeno chamado de DFM, cujo principal mediador é o NO^{150,155}. Como técnica validada, a dilatação fluxo mediada da artéria braquial (DFMAB) permite a avaliação da macrovasculatura NO dependente, com boa correlação com a função endotelial^{156,157}.

Dessa forma, do ponto de vista macrovascular, a DFMAB é o método padrão para avaliação da função vasomotora, sendo não invasiva e amplamente replicável¹⁵⁰. Essa técnica foi desenvolvida baseada na capacidade de resposta dos vasos sanguíneos aos estímulos físicos e químicos, a fim de autorregular seu tônus e para ajustar a distribuição do fluxo sanguíneo conforme demanda^{156,158}.

Em publicação no ano de 2003, Gokce *et al.*¹⁵⁸ propuseram a DFM como marcador substituto para o risco cardiovascular. No estudo, 199 pacientes foram avaliados pela DFMAB antes de cirurgia vascular eletiva para doença arterial periférica. Os resultados quanto a sobrevida livre de eventos cardiovasculares no pós-operatório tiveram correlação com a capacidade de DFM antes do procedimento cirúrgico. Os pacientes que apresentaram menor DFM apresentaram significativamente mais eventos cardiovasculares no pós-operatório.

Bai *et al.*¹⁵⁹ em estudo com pacientes renais crônicos portadores de SM, demonstraram que a DFM era significativamente menor no grupo SM comparada aos pacientes que não preenchiam critérios para SM. Os resultados mostraram também, através de regressão múltipla linear, que a glicemia de jejum alterada foi um fator independente associado à DFM reduzida.

Os mecanismos propostos para a ação vasomotora da testosterona indicam uma ação de proteção ao endotelial devido à efeitos vasodilatadores. Akishita *et al.*¹³⁹ em estudo de coorte transversal avaliaram a relação entre a DFMAB e os níveis séricos dos hormônios sexuais. Cento e oitenta e sete homens foram submetidos à dosagem de testosterona total, livre e à DFMAB, sendo encontrada correlação positiva entre a porcentagem de dilatação fluxo mediada (%DFM) e os níveis séricos desses hormônios. Foi verificado impacto maior na correlação com a testosterona total, e concluiu-se que a testosterona é um determinante independente da função endotelial em homens, devido justamente a um efeito vasodilatador protetor.

Observou-se que a administração intracoronariana de testosterona aumenta o fluxo sanguíneo e estimula a vasodilatação de forma endotélio dependente e endotélio independente^{160,161}. A forma endotélio dependente ocorre através de liberação de NO, mas no entanto, apesar de existirem receptores androgênicos nas células endoteliais, o mecanismo que une a ação da testosterona e a liberação de óxido nítrico ainda é incerto¹³⁹.

Por sua vez, a forma endotélio independente é descrita *in vitro*, quando doses supra fisiológicas de testosterona induzem relaxamento de

vasos sanguíneos, sendo as ações endoteliais da testosterona mediadas via canais de membrana do músculo liso^{161,162}.

Ainda sobre sua possível ação endotelial, observou-se correlação inversa entre os níveis de testosterona e a rigidez arterial¹⁶³ e evidências que a TRT poderia reduzir a rigidez arterial^{135,164}. O *link* para estes achados seria através da Endotelina-1, hormônio de ação vasoconstritora com efeitos na HAS e na doença arterial coronariana. Observou-se que a testosterona induziu um aumento de células endoteliais secretoras da Endotelina-1 em cultura de células endoteliais aórticas humanas¹⁶⁵.

Com relação aos hipogonádicos, também foi verificado um possível aumento nos níveis de Endotelina-1, por Kumanov *et al.*¹⁶⁶. Parte destes autores, em uma nova publicação de 2007, observa que os níveis plasmáticos de endotelina-1 estavam elevados em homens hipogonádicos com uma tendência de redução após TRT. O estudo indica que, se mantida em nível ótimo, a testosterona não é associada ao aumento do risco cardiovascular, quando considerada a endotelina-1 e os níveis de lípidos¹⁶⁷.

Há também a hipótese menos provável de que o E₂ convertido da testosterona pela ação da aromatase poderia apresentar o efeito vasodilatador. Apesar de Akishita *et al.*¹³⁹ não verificarem correlação entre os níveis séricos de E₂ e a porcentagem de DFM, a conversão tecidual pode ter papel na dilatação endotelial.

3.6.1.2 Ações antitrombóticas e anti-inflamatórias do endotélio: moléculas de adesão endotelial e hipogonadismo

A avaliação da função endotelial pode ser realizada, além da DFMAB, com a dosagem bioquímica de marcadores de disfunção endotelial. Dentre esses marcadores pode-se citar substâncias que interferem no tônus vascular (como óxido nítrico, endotelina e prostaciclina), substâncias que indicam estado de hipercoagulabilidade (como inibidor do plasminogênio tecidual ou fator de Von-Willebrand) ou moléculas de adesão endotelial (como integrinas, selectinas, ICAMs ou VCAMs)¹⁶⁸.

O endotélio saudável é naturalmente anticoagulante e antitrombótico¹⁶⁹ e suas células endoteliais não expressam moléculas que possibilitam a adesão de leucócitos circulantes. Porém, quando está ativado por substâncias pró-inflamatórias como citocinas (IL-1 e TNF- α), endotoxinas e trombina, essa expressão ocorre na superfície da célula endotelial¹⁷⁰.

A partir da expressão destas moléculas, ocorre sequencialmente a adesão, rolamento e migração dos leucócitos da corrente sanguínea para os locais lesados, o que constitui o processo de ativação endotelial^{171,172}.

As moléculas de adesão celular (*Cellular Adhesion Molecules* [CAMs]) e são divididas em quatro grandes grupos: imunoglobulinas, selectinas, integrinas e caderinas. As caderinas são responsáveis por manter a integridade célula a célula em nível tecidual, enquanto os três primeiros grupos estão envolvidos na passagem dos leucócitos do lúmen para os tecidos^{170,173}.

O grupo das imunoglobulinas inclui as moléculas de adesão intercelular (*intercellular adhesion molecules* [ICAMs]), e as moléculas de adesão vascular (*vascular cell adhesion molecules* [VCAMs]). A família das

selectinas inclui a molécula de adesão leucócito-endotelial selectina-E, a selectina-P e a molécula de adesão leucócito-linfocitária selectina-L. No grupo das integrinas, as mais importantes são as integrinas $\beta 1$, $\beta 2$ e $\beta 7$ ^{170,173}.

As selectinas estão envolvidas na primeira fase da passagem leucocitária, e são expressas no endotélio pela presença das citocinas inflamatórias IL-1 e TNF- α ^{174,175}. Níveis de selectinas - selectina-P solúvel (selectina-sP) e selectina-E solúvel (selectina-sE) - são utilizados como instrumento preditivo de risco para patologia aterosclerótica. A selectina-sE, diferente da selectina-sP, tem sua única origem no endotélio, sendo portanto mais específica^{170,176}. Esta selectina estabiliza as interações entre o leucócito e o endotélio, induzindo a desaceleração dos leucócitos no fluxo laminar para o início do processo de rolamento^{170,175}.

Após o rolamento, segue-se uma etapa em que os leucócitos deverão permanecer firmemente ligados ao endotélio para então iniciar a transmigração^{170,175}. Nessa fase, o grupo das imunoglobulinas tem papel fundamental. VCAM-1 e ICAM-1 promovem ligação estável dos leucócitos ao endotélio¹⁷⁷.

A ICAM-1 é expressa nas condições basais pelo endotélio e tem maior expressão quando há estímulo inflamatório. Em contrapartida, a VCAM-1 tem sua expressão em células endoteliais ativadas e células musculares lisas^{170,175}; logo é mais voltada para as áreas que sofreram lesão, sendo mais proeminente na neovasculatura íntima do que em lesões mais complexas¹⁷⁸.

A ligação e recrutamento dos leucócitos circulantes para o endotélio vascular e na sequência, para o tecido subendotelial, são processos fisiopatológicos comuns à arteriosclerose¹⁷⁹. Portanto, é importante reconhecer o papel das moléculas de adesão endotelial, sendo que VCAM-1, ICAM-1 e selectina-sE são as mais bem identificadas e caracterizadas¹⁷⁹. Apesar do seu carácter não específico, podem ser utilizadas como complemento da avaliação por imagem do endotélio¹⁴⁹ e vários estudos mostram correlação entre os níveis séricos de ICAM-1 e VCAM-1 e fatores de risco cardiovascular^{179,180}.

Segundo Demerath *et al.*¹⁷⁶ nos indivíduos sem manifestações clínicas de doença cardiovascular, a ICAM-1 solúvel (sICAM-1) parece ser o melhor marcador de lesão endotelial entre as moléculas de adesão. Igualmente é a que melhor se correlaciona com os vários fatores de risco cardiovascular. A importância da sICAM-1 está no fato de que seus níveis séricos encontram-se elevados em indivíduos com fatores de risco cardiovascular, mas assintomáticos¹⁷⁰.

A VCAM-1 é contribuinte da formação inicial da placa aterosclerótica¹³⁵. Sabe-se que a expressão da VCAM-1 é induzida pela presença de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α ou interferon γ e que a TRT pode atenuar o efeito do TNF- α sobre as células endoteliais¹⁸¹. Este efeito da testosterona ocorreria devido ao seu poder de inibição do fator nuclear κ B (NF κ B) que tem função crítica na expressão de VCAM-1¹⁸¹. A inibição do NF κ B poderia também ligar a TRT como possível moduladora da resposta inflamatória endotelial, uma vez que as regiões promotoras dos genes de ICAM-1 e E-selectina contém ao menos um sítio de ativação para NF κ B^{172,182}.

Os níveis elevados de VCAM-1 solúvel (sVCAM-1) têm também valor preditivo positivo para morte por causas cardiovasculares em pacientes com doença coronariana aguda, sendo importante indicador de instabilidade da placa aterosclerótica¹⁸³.

No estudo de Fu *et al.*¹⁴⁴, foi vista a correlação inversa entre os níveis de VCAM-1 e níveis de testosterona em homens com doença coronariana. No entanto, em outro estudo¹⁸⁴, a reposição de testosterona não afetou os níveis séricos de VCAM-1.

Jones *et al.*¹⁸⁵ associam o declínio da testosterona em homens com HG tardio, à presença de fatores de risco cardiovascular. Além disso, demonstram evidência de que a TRT é efetiva em reduzir os níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias como IL- β , TNF- α e também reduz a expressão de VCAM-1 nas células endoteliais aórticas. Um estudo experimental demonstrou redução da expressão mRNA de ICAM-1, VCAM-1 e P-selectina em células endoteliais pré-tratadas com estrona, progesterona ou testosterona¹⁸⁶.

Ainda é possível observar que os dados sobre os efeitos ateroprotetores da testosterona não são consenso. Devido aos dados conflitantes, é necessário que mais estudos sejam realizados no sentido de avaliar os efeitos da TRT na adesão endotelial¹³⁵, principalmente para elucidar os mecanismos moleculares envolvidos¹⁸⁷. É sugerida uma ação receptor mediada (como um facilitador) para a ação da testosterona sobre a expressão de E-selectina e VCAM-1, uma vez que diretamente não houve efeito significativo na expressão das adesinas quando administrados sem TNF- α ¹⁸⁷.

3.6.1.3 Células endoteliais progenitoras (CEP) como marcadores de função endotelial e o hipogonadismo masculino

Data de 1970 o primeiro relato¹⁸⁸ da presença de células não hematopoiéticas de possível origem endotelial no sangue periférico de coelhos. Essas células, melhor descritas nos anos seguintes, recebem o nome de células endoteliais circulantes (CEC) e apresentam correlação direta com patologias vasculares. Em indivíduos saudáveis seu número é bastante reduzido, enquanto que nas patologias vasculares observa-se elevada concentração de CECs^{170,188}.

O entendimento do endotélio como peça central no desenvolvimento da doença vascular devido ao seu processo regenerativo, levou à busca de evidências sobre como se processa a angiogênese e o reparo em caso de injúria local¹⁸⁹.

Em 1997, através da descrição e isolamento realizados por Asahara *et al.*¹⁹⁰ foi possível estabelecer que, em caso de lesão endotelial, uma população de células, chamada de CEPs teria o potencial de diferenciação em células endoteliais maduras, agindo nos locais de angiogênese¹⁹¹.

As CEPs apresentam marcadores superfície de linhagem hematopoiética (CD34 e CD133) e endotelial (*kinase insert domain receptor* [KDR], receptor de domínio de inserção da kinase, em português, CD31 e fator de von Willebrand), caracterizando sua habilidade de participação no processo de angiogênese. As CPEs tem origem na medula óssea e podem ser mobilizadas para a circulação periférica por estímulos como: injúria endotelial, isquemia tecidual, presença de citocinas inflamatórias, contribuindo para o reparo do endotélio danificado¹⁴⁶.

As CEPs, ao constituírem um conjunto circulante de reparação endotelial, são de fato um determinante direto da saúde cardiovascular. Hill *et al.*¹⁹¹, em importante estudo, conseguem relacionar a atividade das CEPs ao grau de risco cardiovascular em voluntários saudáveis. Verificou-se forte correlação entre o número de células progenitoras circulantes e o escore combinado de Framingham¹⁹² em 45 voluntários.

É interessante colocar que o dano endotelial determinante do aumento do risco cardiovascular está relacionado com a capacidade do endotélio em responder a este dano através do seu sistema de reparo. E um dos mecanismos do sistema de regeneração é justamente a presença das CEPs. Essas células, portanto, tem papel na neovascularização e caso sua mobilização na medula óssea ocorra de forma deficiente, perde-se capacidade regenerativa e aumenta-se o risco de aterogênese¹⁴³. Estudos indicam que as CEPs podem contribuir com cerca de 25% das células endoteliais envolvidas na formação de novos vasos sanguíneos¹⁹³.

O estudo das CEPs pode ser feito de duas formas: avaliação quantitativa e avaliação funcional. A avaliação quantitativa consiste em determinar o número de células endoteliais progenitoras circulantes (CEPCs) por citometria de fluxo *ex vivo* sendo o método padrão ouro, que irá identificar os marcadores de superfície mais comuns: CD34, CD133 e KDR¹⁴⁶.

A avaliação funcional é feita *in vitro* através de protocolos, e inclui avaliação de proliferação das CEPs, capacidade de adesão ao endotélio lesado, migração através da matriz extracelular e finalmente de sua habilidade de organização espacial para a angiogênese¹⁴⁶.

Um estudo muito importante que correlacionou a quantidade de CEPs por citometria de fluxo e a presença de coronariopatia, foi o de Werner *et al.*¹⁹⁴. Neste trabalho prospectivo, foram avaliados 519 pacientes com doença arterial coronariana confirmada por angiografia. Comparou-se a presença de CEPs (CD34+KDR+) no sangue em duas dosagens: basal e após 12 meses, e sua associação com eventos cardiovasculares maiores (infarto do miocárdio, hospitalização, revascularização) e morte por todas as causas. O resultado foi a presença de mais CEPs na associação com redução do risco de morte por causas cardiovasculares, desta forma poderiam ser úteis em identificar os pacientes com aumento de risco cardiovascular.

No mesmo ano de 2005, Fadini *et al.*¹⁹⁵ publicaram estudo para estabelecer o impacto da redução das CEPs na doença vascular periférica no paciente com diabetes tipo 2. A citometria de fluxo foi utilizada para quantificar células circulantes progenitoras (CCPs), que apresentam apenas CD34+, e as CEPs (CD34+KDR+) em 51 pacientes com diabetes tipo 2 e 17 controles. Os resultados indicaram redução das CCPs em 33% e das CEPs em 40% no grupo dos indivíduos diabéticos, comparados com os controles saudáveis. Ademais, uma relação inversa entre os níveis de CEPs e glicemia de jejum foi identificada.

A exaustão do sistema de reparo endotelial tem sido foco de diversas pesquisas nos últimos anos, bem como a quantificação das CEPs em diversas patologias, com o objetivo de melhor determinar o perfil destas células. Estudos indicam redução do nível circulante de CEPs e/ou alteração de sua função no diabetes tipo 2¹⁹⁶, hipertensão arterial¹⁹⁷ e doença renal

crônica¹⁹⁸, enquanto que nas síndromes coronarianas agudas, ocorre mobilização transitória¹⁹⁹.

Os estudos sobre o comportamento das CEPs no HG e na TRT são mais uma ferramenta para o entendimento do papel dos andrógenos no sistema cardiovascular. Sabe-se que a redução das CEPs circulantes é considerada preditora independente da disfunção endotelial e de eventos cardiovasculares futuros²⁰⁰ e que a testosterona pode melhorar os parâmetros relativos ao sistema cardiovascular através da atividade das células endoteliais progenitoras¹³³.

Foresta *et al.*²⁰¹ identificaram que a proliferação, migração e formação de colônias de CEPs é induzida por andrógenos em uma via mediada pelo receptor androgênico. Em outra publicação do mesmo autor²⁰² foi investigada a relação entre o baixo nível sérico de testosterona em pacientes hipogonádicos e os níveis circulantes CCPs e de CEPs. Quando não tratados, estes pacientes apresentavam níveis baixos de CCPs e CEPs, o que sugere um papel da testosterona na de maturação e proliferação destas células. E, por outro lado, a TRT induzia aumento significativo das CCPs e CEPs. No entanto é consenso nos trabalhos que são necessários mais estudos para melhor definir o comportamento das CEPs no contexto de TRT à longo e curto prazo.

Um interessante estudo publicado recentemente correlacionou a expressão de marcadores de CEPs nos espaços endoteliais do corpo cavernoso de ratos castrados e TRT. Foi observado que no grupo de ratos castrados a porcentagem de células positivas para marcadores de CEP (CD34+/Flk1+ e CD34+/VE-caderina+) apresentava redução significativa, porém após a TRT, com propionato de testosterona subcutâneo, houve novo aumento²⁰³.

Marcadores de diferenciação na identificação de CEC e CEP

Evidências experimentais sugerem que as CEPs no sangue periférico são uma população heterogênea de células. A classificação é feita a partir da ordem de aparecimento e características morfológicas em células endoteliais precoces ou tardias, ditas células endoteliais de crescimento (*outgrowth endothelial cells* [OEC])²⁰⁴.

Apesar do método padrão ouro para a identificação das CECs ser a citometria de fluxo, não há ainda consenso quanto à melhor combinação de marcadores. Vários estudos tem proposto painéis para a identificação mais específicos²⁰⁵ e vários marcadores tem sido sugeridos para definir a origem das OECs afim de isolá-las da melhor maneira possível das células mononucleares²⁰⁶.

O uso do grupamento de diferenciação CD146 (*cluster of differentiation* [CD]) indica o isolamento de células com características de OEC no sangue periférico de adultos sendo, portanto, um marcador endotelial^{206,207}. A molécula de adesão CD146 é expressa em diferentes tipos de células endoteliais e é utilizada para identificar as CECs maduras²⁰⁸.

Delorme *et al.*²⁰⁸ estudaram a fração não aderente de células mononucleares de sangue do cordão umbilical, que foram separadas por coluna imunomagnética para CD146+. Estas células CD146+ selecionadas quando cultivadas se diferenciavam em uma camada única, semelhante à paralelepípedos, sem expressar antígenos leucocitários. O estudo pôde ainda estabelecer que, ao lado de CECs, as células circulantes CD146+ contém uma subpopulação de CEPs com potencial uso em terapia

proangiogênica. Além disso, a dupla medida de CECs CD146+ e CEPs CD146+ ofereceu uma ferramenta promissora para o monitoramento de lesões vasculares e processos de regeneração em situações clínicas.

Assim sendo, partindo deste raciocínio, no presente estudo são avaliadas: CEPs, CEPs 146+, CECs e CECs 146+.

3.7 Tratamento do HG

3.7.1 Controvérsias quanto ao uso da TRT exógena

A Sociedade Americana de Endocrinologia preconiza a TRT exógena como o tratamento padrão para homens hipogonádicos sintomáticos a fim de manter as características sexuais secundárias e melhorar a função sexual, sensação de bem-estar e densidade mineral óssea².

Quando se discute tratamento do HG masculino, é necessário definir se há desejo ou não de fertilidade⁴⁰. Caso não se deseje fertilidade, a reposição de testosterona exógena é o método mais estudado a fim de elevar os níveis séricos desse hormônio e melhorar a função sexual, libido, bem-estar, densidade mineral óssea e composição corpórea⁵.

A testosterona exógena, no entanto, afeta mecanismos do eixo HHT, e conseqüentemente suprime os hormônios gonadotróficos: LH e FSH⁷, o que determina prejuízo à espermatogênese. Adicionalmente, o uso de injeções intramusculares de testosterona (enatato de testosterona e cipionato de testosterona) leva à grande flutuação nos níveis séricos deste hormônio e pode acarretar efeitos adversos hematológicos como eritrocitose, acne e ginecomastia, além de atrofia testicular e infertilidade^{6,7}.

A formulação de testosterona exógena de extra longa duração, undecanoato de testosterona²⁰⁹, é utilizada como forma de reposição estável nos pacientes com diagnóstico de HG tardio. Aversa *et al.*²¹⁰ em estudo randomizado duplo cego e duplo simulado com três braços paralelos (oral, gel e intramuscular de undecanoato de testosterona) puderam avaliar a maior eficácia clínica da reposição intramuscular. Apesar da sua estabilidade e segurança prostática, observada por Francomano *et al.*²¹¹, os efeitos adversos relatados são semelhantes aos descritos nas outras formas intramusculares de reposição²¹².

Caso a fertilidade seja desejada, o tratamento inclui o uso de gonadotrofina coriônica humana (HCG). O HCG age como análogo de LH e pode ser empregado de forma isolada ou em combinação a gonadotrofina humana da menopausa (GMH) ou ainda associado ao FSH⁴⁰.

Quando se avalia o uso da TRT com relação ao seu impacto no perfil metabólico no contexto de HGAO e SM, apesar de recente trabalho demonstrar benefício nos parâmetros de composição corporal¹², ainda não há consenso sobre a indicação de TRT neste grupo de pacientes¹⁶.

Após a publicação da metanálise de Corona *et al.*¹⁰, o painel consultivo do *Us Food and Drug Administration* (FDA), em setembro de 2014, determinou que mais estudos sejam realizados para identificar o verdadeiro risco cardiovascular relacionado à TRT. Houve também recomendação na mudança da rotulagem para uso dos medicamentos apenas em pacientes com diagnóstico de HG²¹³.

Em 2015, a Sociedade Americana de Endocrinologia publica uma atualização¹⁶ do Consenso de 2010² sobre alguns pontos, principalmente o uso da TRT em homens com SM, baseado na melhora da RI e parâmetros de biometria. Os autores ressaltam que não há evidências nível 1 para estabelecer uma conexão entre TRT e risco cardiovascular. No entanto, dados conflitantes e/ou incompletos tem levado diversas agências regulatórias a avaliar os riscos e benefícios da TRT, como a agência canadense que, em 2015, indicou riscos possíveis cardiovasculares para terapias de reposição com testosterona²¹⁴.

Diversos estudos tem indicado que a manutenção dos níveis de testosterona dentro da faixa da normalidade é fator de redução dos eventos cardiovasculares maiores (*major adverse cardiovascular event* [MACE])²¹⁵. Um estudo recente com mais de 80 mil veteranos com baixos níveis de testosterona e sem doença cardiovascular indicou que os que receberam TRT e normalizaram os níveis de testosterona apresentaram menores riscos de morte, infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral (AVC)⁹. Em contrapartida, mas ainda não indicando aumento de risco, Anderson *et al.*²¹⁵ analisaram de forma retrospectiva prontuários de 4736 pacientes com testosterona total em três níveis de corte: sendo persistentemente baixo(< 212 ng/dL) normal (212 ng/dL a 742 ng/dL, e alto (> 742 ng /dL). Os resultados demonstraram que TRT que mantinha a testosterona em níveis normais foi não inferior com relação aos MACEs em comparação com pacientes com baixa testosterona em seguimento de 3 anos.

Morgentaler *et al.*⁴ indicam a necessidade de iniciativas que relacionem o uso da TRT em doenças cardiometabólicas e DM2. É de 2017 uma metanálise²¹⁶ que avalia a TRT exógena em ensaios clínicos randomizados, que incluiu uma faixa etária de idade média entre 50 e 60 anos e com níveis de corte de testosterona total entre 300 ng/dL e 480 ng/dL. Os participantes apresentavam doença cardiovascular preexistente e/ou DM2 e/ou SM. Os achados indicaram não associação entre TRT e infarto do miocárdio e mortalidade geral. No entanto, ressalta-se que existe um risco dose dependente ou maior em certos grupos já sabidamente de risco.

Enquanto os estudos apontam na direção de melhor evidenciar os efeitos da TRT exógena no risco cardiovascular e seus efeitos metabólicos em homens acima dos 50 anos, é importante considerar que homens mais jovens também são acometidos pelo HG e obesidade^{11,49}.

Assim sendo, sabendo-se dos efeitos benéficos da TRT em homens com SM^{1,11,12,19,217,218}, somados à elevação das taxas de obesidade em pacientes jovens⁶¹, torna-se importante considerar formas alternativas de tratamento do HGAO, principalmente pensando na manutenção da fertilidade - que não ocorre com a TRT exógena. Além disso, é importante que essas formas alternativas de tratamento se apresentem potencialmente seguras com relação ao perfil cardiovascular, mantendo a testosterona dentro dos níveis médios da normalidade. Uma opção, neste contexto, seria o uso do CC, discutida a seguir.

3.7.2 Mecanismo de ação do CC: restauro de testosterona *versus* reparação

O CC é um modulador seletivo do receptor estrogênico (*selective estrogen receptor modulator*)²¹⁹. Age como antagonista fraco do E₂ ao nível hipotalâmico, impedindo a inibição estrogênica central que ocorre no HG. Dessa forma ocorre a estimulação da secreção de FSH e LH, restaurando-se o eixo HHT^{15,220}.

3.7.3 Citrato de clomifeno: uma opção?

Observa-se o uso do CC no contexto do HG masculino desde a publicação de Anderson *et al.*²²¹, em 1970. A publicação sugeria, à época, o uso do CC como teste de estímulo para o diagnóstico de deficiência de gonadotrofinas quando os níveis de LH fossem baixos. Apesar do CC não ser uma medicação aprovada pelo FDA, ele tem sido usado de forma off-label há muitos anos²²².

Destaca-se temporalmente, o uso do CC na importante publicação de Glass *et al.*³⁶ em 1977. Homens obesos com redução de testosterona total quando submetidos ao tratamento com CC 50 mg via oral a cada 8 horas por 10 dias apresentaram em incremento de 190% nos níveis séricos de testosterona. Verificou-se, dessa forma, que o CC poderia ser uma opção de tratamento hormonal, por estimular diretamente a resposta hipofisária, restaurando o eixo HHT.

Schneider *et al.*¹⁰², 2 anos após, ao examinarem a resposta do eixo HHT em homens obesos à administração de CC 50 mg via oral quatro vezes

ao dia por 5 dias, puderam verificar resposta normal do eixo com aumento do FSH e LH após o estímulo no período avaliado. Consequentemente, se verificou elevação dos níveis séricos de testosterona. Essa publicação, à época, lança as bases para a correlação entre a redução de testosterona e aumento de E₂ em homens obesos.

O uso do CC em homens obesos com hipoandrogenismo foi também empregado por Glass *et al.*³⁶ em 1977. Mais tarde, Tenover *et al.*²²³ avaliaram o uso de 100 mg de CC ao dia por 8 semanas em 10 pacientes hipogonádicos, com elevação significativa dos níveis de testosterona. Em pequeno estudo duplo cego controlado por placebo, Guay²²⁴ avaliou 17 homens com DE e baixos níveis de testosterona, mostrando que o CC elevou significativamente os níveis de T; contudo, somente os homens jovens e saudáveis melhoraram a função sexual. Em um estudo seguinte do mesmo autor, com uma coorte de 178 pacientes com HG e DE, o uso de CC 50 mg às segundas, quartas e sextas por 4 meses elevou os níveis de T e melhorou a função sexual em 75% dos pacientes¹⁴.

Ramasamy *et al.*²²² avaliaram três grupos de pacientes hipogonádicos de forma retrospectiva. Pacientes que receberam testosterona em gel, injetável e CC. Foi observado maior incremento de testosterona no grupo que recebeu a terapia injetável. O grupo que recebeu CC teve aumento de testosterona semelhante ao grupo gel. Observou-se, no entanto, que não houve diferenças em relação ao relato dos sintomas, apesar da diferença com relação aos níveis de testosterona entre os grupos.

O citrato de clomifeno é constituído de uma mistura de dois diastereoisômeros: citrato de (cis)zuclomifeno (38%) e citrato de (trans)enclomifeno²²⁵. O uso do citrato de enclomifeno tem sido proposto para o tratamento de pacientes com hipogonadismo secundário pois o zuclomifeno é associado à alguns efeitos adversos²²⁶. A ideia da utilização do enclomifeno, assim como do clomifeno é seu uso no HG disfuncional, porém reversível. No entanto, no HG secundário causado por tumores pituitários, hemocromatose ou deficiência congênita de GnRH ele não seria indicado²²⁵. Em recente estudo de Helo *et al.*²²⁶ observou-se em pacientes com pelo menos 6 semanas de tratamento com CC a relação enclomifeno: zuclomifeno de 1:20. Os autores levantam a possibilidade do zuclomifeno desempenhar um efeito deletério na espermatogênese e na função testicular e sugerem que talvez um isômero mais puro poderia ser mais benéfico.

Até o presente momento, na literatura, várias publicações avaliaram o efeito do CC no tratamento de homens hipogonádicos^{28,227-233}. Sua ação em restaurar o eixo HHT ao levar ao aumento de GnRH resultou na normalização dos níveis de testosterona^{6,14,222,224,227,230,234-239}. Adicionalmente, não se observou efeitos colaterais maiores, sendo portanto o CC uma alternativa proposta na terapia desses pacientes^{6,223,224,234}.

4 MÉTODOS

4.1 Casuística

4.1.1 Aspectos éticos da pesquisa

O estudo foi realizado em conformidade às Diretrizes estabelecidas na Declaração de Helsinki e obedeceu, em todas as fases, aos preceitos da Resolução no. 466, de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde²⁴⁰. A inclusão foi feita mediante assinatura de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq), Parecer número 385.615, após explicação sobre o conteúdo do protocolo diretamente ao paciente (Anexo B).

O projeto foi registrado na plataforma ClinicalTrials.gov (NCT02380755) e obteve financiamento da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) número 2013/16781-1.

4.1.2 População do estudo e critérios de inclusão e exclusão

A população do estudo foi constituída de homens com idade entre 20 e 50 anos. Iniciou-se o recrutamento e triagem em junho de 2013 com a captação de pacientes registrados para avaliação no Serviço de Gastrocirurgia (Divisão de Cirurgia do Aparelho Digestivo - Unidade de Cirurgia Bariátrica, Hospital de Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo [HC-FMUSP]).

Paralelamente à captação dos pacientes do Serviço de Gastrocirurgia, o processo de triagem foi divulgado em imprensa leiga (Anexo C). Dessa forma, recebeu-se pacientes de serviços primários (postos de saúde), de serviços secundários, como Ambulatórios de Especialidades, e também pacientes de demanda espontânea.

A população do estudo foi constituída por homens que deveriam atender a todos os critérios de inclusão:

- Idade de 20 a 50 anos.
- IMC maior ou igual a 30 kg/m².
- Sintomas de HG avaliados por meio do questionário ADAM e questionário de avaliação de sintomas sexuais (Anexo D).
- TT abaixo de 300 ng/dL dosada em dois dias diferentes com no mínimo 1 semana de intervalo, entre as 8 h e 11 h da manhã².
- Nível de LH sérico inapropriadamente normal ou baixo (VR: 1,7 - 8,6 UI/L).
- Cintura abdominal: CA ≥102 cm (homens), conforme critérios da NCEP ATPIII^{52,241}.

Segundo o Consenso para a Terapia de testosterona em homens com síndromes de deficiência androgênica da Sociedade Americana de Endocrinologia de 2010² a avaliação da função hipofisária se faz necessária na presença de HG secundário com testosterona total abaixo de 150 ng/dL. No presente estudo foram incluídos os indivíduos que apresentam testosterona total abaixo deste nível e a ressonância nuclear magnética de sela foi solicitada nos pacientes com duas dosagens de testosterona total

abaixo de 150 ng/dL, coletadas com no mínimo uma semana de intervalo, conforme previamente descrito.

Os seguintes dados colhidos na anamnese constituíram fatores de exclusão: presença de doenças sistêmicas graves como insuficiência cardíaca graus III e IV²⁴², hepatopatias ou insuficiência renal²; prática de exercícios físicos extenuantes²; uso de algumas medicações (como opioides, metadona ou corticoides cronicamente)²; homens em tratamento de câncer prostático por GnRH também foram excluídos, devido ao HG ocasionado pelo tratamento²; uso de drogas recreacionais e presença de desordens alimentares (como anorexia e bulimia), uma vez que as condições acima poderiam reduzir transitoriamente os níveis séricos de testosterona². Indivíduos com volume testicular abaixo de 4 mL²⁴³, indicando testículo pré-puberal, também foram excluídos.

Ainda com relação ao diagnóstico, os indivíduos foram avaliados no sentido de excluir outras possíveis causas de HG secundário. Obteve-se dosagens de prolactina sérica (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha, VR: 3,4 - 18,6 ng/mL), ferro sérico (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha, VR: 65 - 175 ug/dL), ferritina (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha, VR: 30 - 400 ng/mL) e índice de saturação de transferrina²⁴⁴, conforme o Quadro 2.

Quadro 2 - Técnicas laboratoriais dos parâmetros utilizados na triagem

Exame laboratorial	Material	Método e KIT comercial	Valor de referência
Ferro sérico***	Soro; 3 a 5 mL de sangue venoso coletado em tubo BD Vacutainer® sem anticoagulante	Ensaio colorimétrico (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha)	Adultos maiores de 12 anos: Masculino = 65 - 175 µg/dL
Prolactina sérica**	Soro; 3 a 5 mL de sangue venoso coletado em tubo BD Vacutainer® sem anticoagulante	Eletroquimioluminescência (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha)	Homens: 4,0 a 15,2 ng/mL
Ferritina sérica**	Soro; 3 a 5 mL de sangue venoso coletado em tubo BD Vacutainer® sem anticoagulante	Imunoensaio de eletroquimioluminescência (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha)	Homens acima de 20 anos: 30 - 400 ng/mL
TIBC ***	Soro; 3 a 5 mL de sangue venoso coletado em tubo BD Vacutainer® sem anticoagulante	Colorimétrico (Determinação direta com Ferrozine)	UIBC: 125-345 µg/dL - SI (22,3-61,7 umol/L) TIBC: 228 - 428 µg/dL (SI 40,8 - 76,6 umol/L) (TIBC = ferro + UIBC)
Índice de Saturação de Ferro	Soro; 3 a 5 mL de sangue venoso coletado em tubo BD Vacutainer® sem anticoagulante	Calculado a partir do ferro sérico dividido pela TIBC ²⁴	20% a 40%

TIBC: Capacidade total de ligação de ferro; UIBC: Capacidade livre de ligação do ferro

Homens com história de cefaleia, pressão arterial sistólica (Pas) menor que 100 mmHg, reação prévia adversa aos nitratos não prosseguiram no protocolo de estudo uma vez que estes fatores impediriam o uso do nitrato para a DFMAB¹⁵⁸.

Ainda foram excluídos os pacientes tabagistas pela interferência na avaliação da função endotelial. Pacientes que apresentavam DM2 de longa duração (acima de dez anos de doença) também não prosseguiram com o protocolo, devido às evidências do estudo de Naka *et al.*²⁴⁵, sobre o comportamento da DFM nos pacientes DM2: para cada 10 anos de doença a DFM é reduzida em aproximadamente 1,0% (em valores absolutos de DFM). Hipoglicemiantes orais, medicações anti-hipertensivas e hipolipemiantes foram permitidos e continuados ao longo do estudo sem ajustes de dose.

4.1.3 Desenho do estudo

Trata-se de um ensaio clínico randomizado (1:1), duplo cego, controlado por placebo, longitudinal, realizado em um único centro. O presente estudo apresenta 2 braços paralelos (Quadro 3):

- Grupo Placebo.
- Grupo Ativo: 50 mg de CC (Serophene® Merck Serono S.p.A, Bari, Itália).

Os participantes foram randomizados em dois grupos terapêuticos, recebendo medicamentos ativo (CC) ou placebo na proporção 1:1. Os placebos foram manufaturados pela Farmácia do HC-FMUSP idênticos ao medicamento original. Os participantes permaneceram no mesmo grupo

inicialmente randomizado até o final do estudo. Durante o seguimento, os indivíduos foram orientados a evitar maiores modificações no seu padrão de atividade física e dieta.

Quadro 3 - Desenho do estudo

Visita	Tempo	Intervenção	Coleta de amostra
Visita 0 (V0)	-	Triagem do participante, histórico dirigido, exame físico e primeira amostra de testosterona total; aplicação de critérios de inclusão e exclusão	Sim
Visita 1 (V1)	Pelo menos uma semana de distância de V0	Segunda triagem do participante, segunda amostra total de testosterona; Aplicação de critérios de inclusão e exclusão	Sim
Visita 2 (V2)	Pelo menos uma semana de distância da V1	Randomização, avaliação de sintomatologia clínica, composição corporal e medidas antropométricas, avaliação da função endotelial	Sim
Visita 3 (V3)	4 semanas	Monitoramento de parâmetros hormonais e metabólicos, composição corporal e medidas antropométricas	Sim
Visita 4 (V4)	8 semanas	Avaliação de sintomatologia clínica, monitoramento de parâmetros hormonais e metabólicos, composição corporal e medidas antropométricas	Sim
Visita 5 (V5)	12 semanas	Avaliação de sintomatologia clínica, monitoração de parâmetros hormonais e metabólicos, composição corporal e medidas antropométricas, avaliação da função endotelial	Sim

Neste estudo utilizou-se a randomização pelo *Graphpad software*²⁴⁶.

Os participantes foram avaliados em seis visitas durante a duração do protocolo. A Visita 0 teve o objetivo de realizar anamnese e exame físico direcionados pelo médico responsável e aplicação dos critérios de inclusão/exclusão, com solicitação de exames necessários. Na Visita 1 o médico responsável avaliou os critérios de inclusão/exclusão e se caso o paciente fosse apto, marcava-se a data da randomização (ou Visita 2). A partir da randomização, os pacientes incluídos foram acompanhados por 12 semanas, da seguinte forma:

- **Visita 3:** 4 semanas após a Visita 2, com objetivo de acompanhamento.

- **Visita 4:** 8 semanas após a Visita 2 com objetivo de acompanhamento.

- **Visita 5 ou visita de encerramento:** 12 semanas após a Visita 2.

Na sequência, o Quadro 4 contém os detalhes dos procedimentos que foram realizados em cada visita.

Quadro 4 - Procedimentos nas visitas

Procedimentos	Visita 2	Visitas 3 e 4		Visita 5*
	Semana 0 (randomização)	Semanas 4 e 8 da data de randomização		Semana 12 da data de randomização
1. Coleta de dados demográficos e socioeconômicos-culturais	Idade atual, escolaridade, atividade profissional e procedência	-		-
2. Aplicação de questionário sobre função sexual:	Início atividade sexual, frequência das relações sexuais no último mês, manifestação de desejo e excitação sexual, manifestação de insatisfação com a vida sexual	Frequência das relações sexuais no último mês, manifestação de desejo e excitação sexual, manifestação de insatisfação com a vida sexual		Idem visitas 4 e 5
3. Coleta de dados antropométricos	Peso, estatura, CA, circunferência cervical, circunferência do quadril	Peso, CA, circunferência cervical, circunferência do quadril		Peso, CA, circunferência cervical, circunferência do quadril
4. Aferição da pressão arterial	Aferição da pressão arterial	Idem visita 2		Idem visita 2
5. Perfil de Segurança e efeitos colaterais autorreferidos	Aplicação de questionário de avaliação dos sintomas prostáticos (Anexo A) e solicitação para dosagem de PSA total e livre, Hematócrito, Transaminases e função renal	Idem visita 2		Idem visita 2
6. Avaliação função endotelial	Dosagem quantitativa de CPEs, dosagens séricas de sICAM-1, sVCAM-1 e selectina-sE, e DFMAB realizada em duas fases: hiperemia relativa e nitroglicerina	Não será realizado nestas visitas		Idem visita 2
7. Dosagem do perfil androgênico	LH, FSH, E ₂ , T total e SHBG para cálculo de T livre	Idem visita 2		Idem visita 2
8. Avaliação do perfil metabólico	glicemia, colesterol total e frações, triglicérides, índice HOMA-IR e HbA1c e realização de bioimpedanciometria	Idem visita 2		Idem visita 2

*Na visita 5 os pacientes foram orientados a trazer os blisters com os comprimidos remanescentes. ** Os dados dos exames laboratoriais do perfil hormonal somente foram checados ao final do estudo. Já os dados de perfil metabólico, avaliação prostática, transaminases, hemograma, ureia e creatinina foram checados tão logo os exames são processados pelo laboratório, para fins de rastreio de possíveis efeitos colaterais. CA: Circunferência abdominal; CPEs: Células endoteliais progenitoras; DFMAB: Dilatação fluxo mediada da artéria braquial; E₂: Estradiol; FSH: Foliculo estimulante; HbA1c: Hemoglobina glicada; HOMA-IR: Homeostasis model assesment; LH: Hormônio luteinizante; PSA: Antígeno prostático específico sérico; SHBG: Globulina de ligação de hormônios sexuais; sICAM-1: ICAM-1 solúvel; sVCAM-1: VCAM-1 solúvel; T: Testosterona

4.2 Métodos

4.2.1 Confeção dos placebos e reembalagem do comprimido de CC 50 mg

A Divisão de Farmácia do HC-FMUSP realizou a confecção dos placebos e a reembalagem do comprimido de CC. Cada paciente recebeu 84 comprimidos, distribuídos em três embalagens, contendo cada uma quatro *blísteres* com sete comprimidos de CC 50 mg ou placebo, devidamente identificados com o número de randomização (Figura 5). Os pacientes foram orientados a trazer os *blísteres* vazios para avaliação de aderência ao final do protocolo.

Figura 5 - *Blísteres*

4.2.2 Parâmetros de resposta clínica

Para a avaliação da sintomatologia, foi aplicado o Questionário ADAM (Anexo A) conforme previamente descrito. Em cada visita, os pacientes respondiam também o questionário de avaliação de sintomas sexuais (Anexo D) que incluía perguntas sobre a frequência das relações sexuais no último mês por semana, se havia desejo e vontade sexual e se sentia-se insatisfeito com a vida sexual.

4.2.3 Parâmetros de resposta hormonal

Os indivíduos foram instruídos a realizar jejum de 12 horas, após o qual foi realizada a coleta de sangue, no período da manhã entre 8:00 e 11:00 horas. As amostras foram coletadas em tubos (BD Vacutainer®) com e sem anticoagulante por punção venosa periférica na sala de testes do Ambulatório de Endocrinologia e Metabologia do HC-FMUSP nas seguintes visitas: V2, V3, V4 e V5. As amostras foram imediatamente encaminhadas ao laboratório para processamento. A coleta de sangue foi realizada por profissionais especializados, utilizando materiais descartáveis. As dosagens laboratoriais foram realizadas com os *kits* comercialmente disponíveis através dos seguintes métodos, conforme Quadro 5.

Quadro 5 - Técnicas laboratoriais dos parâmetros de resposta hormonal

Exame laboratorial	Material	Método e <i>kit</i> comercial	Valor de referência
Testosterona sérica total	Soro; 3 a 5 mL de sangue venoso coletado em tubo BD Vacutainer® sem anticoagulante	Eletroquimioluminescência (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha)	20 a 49 anos: 249 a 836 ng/dL maior que 50 anos: 193 a 740 ng/dL
Testosterona livre	Soro; 3 a 5 mL de sangue venoso coletado em tubo BD Vacutainer® sem anticoagulante	Testosterona Livre é baseado no cálculo da TT e do SHBG dosados por eletroquimioluminescência	131 a 640 pmol/L
LH sérico	Soro; 3 a 5 mL de sangue venoso coletado em tubo BD Vacutainer® sem anticoagulante	Eletroquimioluminescência (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha)	1,7 a 8,6 IU/L
FSH sérico	Soro; 3 a 5 mL de sangue venoso coletado em tubo BD Vacutainer® sem anticoagulante	Eletroquimioluminescência (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha)	1,5 a 12,4 IU/L
Estradiol	Soro; 3 a 5 mL de sangue venoso coletado em tubo BD Vacutainer® sem anticoagulante	Eletroquimioluminescência (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha)	Basal: sexo masculino: 25,8 a 60,7 pg/mL
SHBG	Soro; 3 a 5 mL de sangue venoso coletado em tubo BD Vacutainer® sem anticoagulante	Eletroquimioluminescência (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha)	De 20 a 49 anos: 18,3 a 54,1 nmol/L Mais de 50 anos: 20,6 a 76,7 nmol/L

FSH: Folículo estimulante; LH: Hormônio luteinizante; SHBG: Globulina de ligação de hormônios sexuais; TT: Testosterona total

4.2.4 Parâmetros antropométricos e de composição corporal

Todas as medidas antropométricas foram realizadas pelo mesmo investigador. Foram coletadas medidas de:

- a) peso;
- b) estatura;
- c) CA;
- d) circunferência cervical; e
- e) circunferência do quadril (CQ).

Para aferição do peso foi utilizada balança digital de plataforma da marca Lucastec® (modelo PLE), com capacidade para 300 quilos e precisão de 100 gramas. Para a aferição da estatura, utilizou-se um estadiômetro de 2 metros e precisão de 1 milímetro, e a cabeça do participante foi posicionada em plano de Frankfurt²⁴⁷.

Aferiu-se a CA com fita métrica inextensível de 1,5 metro e precisão de 1 milímetro. A medida foi realizada no ponto médio entre a porção inferior da última costela e a borda superior da crista ilíaca, ao final de uma expiração normal²⁴⁷.

A aferição da circunferência cervical foi realizada conforme descrito por Ben-Noun *et al.*²⁴⁸ medida na altura média do pescoço com fita métrica inextensível de 1,5 metro e precisão de 1 milímetro. A CQ foi aferida circundando o quadril na região de maior perímetro entre a cintura e a coxa. A mesma fita métrica foi utilizada durante todas as medidas.

Os testículos foram medidos através de método de comparação com orquidômetro de madeira validado pela Sociedade Americana de Endocrinologia, conforme Figura 6, sempre pelo mesmo investigador.

Figura 6 - Orquidômetro

A aferição da pressão arterial foi realizada manualmente, com esfigmomanômetro (aparelho de pressão arterial esfigmomanômetro pedestal com rodízios marca Premium® Adulto) com manguito ajustado para pacientes obesos. A aferição da pressão arterial foi realizada com mínimo 5 minutos de repouso, na posição sentada, com paciente orientado a não falar durante o procedimento. O manguito era colocado no braço com sua bolsa inflável posicionada sobre a artéria braquial. Os pacientes estavam em jejum de 12 horas.

4.2.4.1 Técnica da bioimpedanciometria

A composição corporal foi medida com o aparelho InBody 720 (Biospace, Coreia)²⁴⁹, com leitura de oito pontos através de eletrodo tátil. A água corporal total (*Total body water* [TBW]) foi estimada pela área, volume, comprimento, impedância e uma constante de proporção; a massa livre de gordura (*Free Fat Mass* [FFM]) e a área de gordura visceral ao nível umbilical foram estimadas pelo software *InBody*. A opção para o uso da bioimpedância InBody 720 foi feita por se tratar de um método mais

acessível e validado como alternativa segura para a população com obesidade²⁵⁰.

No participante 26, por se tratar de paciente com amputação de membro inferior, foi realizada a composição corporal por meio dos dados de resistência e reatância mensurados em bioimpedância elétrica de sistema tetrapolar da marca RJL Systems® (modelo Quantum II, Michigan, Estados Unidos). A aplicação dos eletrodos foi realizada em hemicorpo direito.

As orientações para todos os pacientes consistiram em não realizar atividade física e não ingerir bebidas alcoólicas e/ou bebidas contendo cafeína nas 12 horas antecedentes ao exame. Orientações essas em parte coincidentes com aquelas para a realização do exame de DFMAB, descritas a seguir.

Para a realização da composição corporal, no momento da realização dos exames, foram removidos os acessórios que pudessem conter metal evitando interferência no teste.

4.2.5 Parâmetros laboratoriais metabólicos e de perfil de segurança

As coletas foram realizadas conforme previamente descrito nas seguintes visitas: V2, V3, V4 e V5. As dosagens laboratoriais foram realizadas com os *kits* comercialmente disponíveis através dos seguintes métodos, conforme o Quadro 6.

Quadro 6 - Técnicas laboratoriais dos parâmetros metabólicos e de perfil de segurança

Exame	Material de coleta e recipiente	Método (kit)	Valor de referência
Glicemia sérica	Soro; 3 a 5 mL de sangue venoso coletado em tubo BD Vacutainer® sem anticoagulante	Teste UV método enzimático de referência hexoquinase (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha)	70 a 99 mg/dL
HbA1c	Sangue; 3 a 5 mL de sangue venoso em tubo BD Vacutainer® contendo anticoagulante EDTA K2	Cromatografia líquida de alta performance por troca iônica (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha)	4,1 a 6%
Insulinemia	Soro; 3 a 5 mL de sangue venoso coletado em tubo BD Vacutainer® sem anticoagulante	Eletroquimioluminescência (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha)	2,6 a 24,9 µU/mL
Colesterol total	Soro; 3 a 5 mL de sangue venoso coletado em tubo BD Vacutainer® sem anticoagulante	Enzimático colorimétrico CHOD/PAP ID-MS (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha)	Acima de 20 anos: Com ou sem jejum de 12 horas: Desejável: menor que 190 mg/dL Ótimo: inferior a 100 mg/dL Desejável: 100 - 129 mg/dL Limítrofe: 130 - 159 mg/dL Alto: 160 - 189 mg/dL Muito alto: superior ou igual a 190 mg/dL
LDL - colesterol	Soro; 3 a 5 mL de sangue venoso coletado em tubo BD Vacutainer® sem anticoagulante	Enzimático - colorimétrico em fase homogênea (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha)	Baixo: inferior a 40 mg/dL
HDL - colesterol	Soro; 3 a 5 mL de sangue venoso coletado em tubo BD Vacutainer® sem anticoagulante	Enzimático - colorimétrico em fase homogênea (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha)	Acima de 20 anos: Com jejum de 12 horas: Desejável: menor que 30 mg/dL Desejável: inferior a 150 mg/dL Limítrofe: 150 - 200 mg/dL Alto: 200 - 499 mg/dL Muito alto: superior ou igual a 500 mg/dL
VLDL - colesterol	Soro; 3 a 5 mL de sangue venoso coletado em tubo BD Vacutainer® sem anticoagulante	Enzimático - colorimétrico em fase homogênea (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha)	200 - 360 mg/dL (2,0 - 3,6 g/L)
Triglicérides sérico	Soro; 3 a 5 mL de sangue venoso coletado em tubo BD Vacutainer® sem anticoagulante	Enzimático colorimétrico GPO - PAP (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha)	
Transferrina	Soro; 3 a 5 mL de sangue venoso coletado em tubo BD Vacutainer® sem anticoagulante	Ensaio Imunoturbidimétrico (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha)	
PSA total sérico	Soro; 3 a 5 mL de sangue venoso coletado em tubo BD Vacutainer® sem anticoagulante	Quimioluminescência (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha)	Até 4,0 ng/mL

Continua

Exame	Material de coleta e recipiente	Método (kit)	Conclusão	
			Valor de referência	não se aplica
PSA livre sérico	Soro; 3 a 5 mL de sangue venoso coletado em tubo BD Vacutainer® sem anticoagulante	Quimoluminescência (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha)		
TGP	Soro; 3 a 5 mL de sangue venoso coletado em tubo BD Vacutainer® sem anticoagulante	Cinético UV - IFCC automatizado (COBAS SYSTEM Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha)	Homens: até 41 U/L	
TGO	Soro; 3 a 5 mL de sangue venoso coletado em tubo BD Vacutainer® sem anticoagulante	Cinético UV - IFCC automatizado (COBAS SYSTEM Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha)	Homens até 37 U/L	
Ureia	Soro; 3 a 5 mL de sangue venoso coletado em tubo BD Vacutainer® sem anticoagulante;	Cinético UV, através da ação da urease (COBAS INTEGRA Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha)	Soro: 10 - 50 mg/dL (1,7 - 8,3 mmol/L)	
Creatinina	Soro; 3 a 5 mL de sangue venoso coletado em tubo BD Vacutainer® sem anticoagulante;	Ensaio colorimétrico cinético baseado no método Jaffé (COBAS INTEGRA Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha)	Homens: 0,70 - 1,20 mg/dL (62 - 106 µmol/L)	
Hemograma completo	Sangue; 4 mL de sangue venoso BD Vacutainer® contendo anticoagulante EDTA K2	Automatizado/microscopia/coloração panóptica (Sysmex XE-2100 automatic hematology analyzer. Tokio, Japão)	Referência masculino Eritrócitos (milhões/mm³): 4,4 - 5,9 Hemoglobina (g/dL): 13,0 - 18,0 Hematócrito (%): 40,0 - 52,0	

O índice HOMA-IR foi calculado conforme previamente descrito²⁰⁰.

HbA1c: Hemoglobina glicada; HDL: Lipoproteína de alta densidade; LDL: Lipoproteína de baixa densidade; PSA: Antígeno prostático específico sérico; TGO: Transaminase glutâmico-oxalacética; TGP: Transaminase glutâmico-pirúvica; VLDL: Lipoproteína de densidade muito baixa

4.2.6 Parâmetros cardiovasculares

A função endotelial foi avaliada de forma não invasiva por três parâmetros em V2 e V5: (a) DFMAb, (b) sICAM-1, sVCAM-1 e selectina-sE séricas (c) Avaliação quantitativa de CEPs.

4.2.6.1 Técnica do parâmetro dilatação fluxo mediada

Os exames foram realizados no ambulatório de Dilatação Fluxo Mediada do Instituto do Coração do HC-FMUSP (InCor-HC-FMUSP). A técnica envolveu o repouso do paciente por cerca de 10 minutos em posição supina em quarto confortável de temperatura controlada. O paciente estava entre 8 e 12 horas de jejum, pois diversos fatores como temperatura, alimentação e estímulo simpático podem alterar a reatividade vascular^{150,251}. Orientou-se aos pacientes não tomar nenhuma medicação - quando possível - na manhã do exame e suspender o uso de medicamentos a base de nitrato 24 horas antes do exame. Orientou-se igualmente a não ingestão de cafeína, vitamina C e alimentos gordurosos, evitar fumar por cerca de 4 a 6 horas antes do exame e não se exercitar no período da manhã^{150,159}.

Os exames foram realizados com aparelho Vividi (GE Medical Systems, Tirat Carmel, Israel Ltda.), equipado com transdutor linear de alta resolução vascular (8L-RS, GE Ultrasound®). O paciente foi mantido em posição supina desde 15 minutos antes até o final do exame. A temperatura ambiente no local é controlada entre 20°C e 25°C. A artéria braquial examinada foi a do membro superior esquerdo nos pacientes, por padronização, pois não há relato na literatura de lado preferencial¹⁵⁰. Os

exames foram realizados no período da manhã, pois se sabe que a realização em horários diferentes do dia pode afetar o resultado²⁵¹.

A artéria braquial é avaliada através de ultrassom durante a hiperemia de reperfusão que se segue à sua oclusão por 5 minutos. Isso acarreta o fenômeno descrito como estresse de cisalhamento, com elevação da concentração de NO localmente - liberado pela parede do endotélio - e resultando na dilatação arterial^{150,252}.

A técnica da DFM inclui também a avaliação endotélio independente, induzida através da administração de nitroglicerina, fonte inorgânica de NO. A função desta dilatação endotélio independente é excluir a disfunção de músculo liso, que se apresentará alterada com o uso de nitroglicerina. Esta dilatação denomina-se dilatação nitrato dependente (DNT)²⁵².

Com o paciente em repouso, a imagem da artéria braquial foi captada acima fossa antecubital (Figura 7) por meio do ultrassom-Doppler de alta resolução¹⁵⁰. A imagem utilizada para a medida do diâmetro é adquirida no corte longitudinal com adequada visualização da luz. A análise da imagem é feita entre a média-adventícia da parede anterior até a posterior por meio de *software* que calcula o diâmetro médio, pela detecção de borda e rastreamento de parede, o que permite menor variação intraobservador^{251,253}. O Doppler é posicionado a 60°, em relação ao centro do vaso, identificado como a imagem mais clara entre as paredes anterior e posterior do vaso.

Figura 7 - Posicionamento do transdutor [Fonte: Ambulatório de DFM do InCor-HC-FMUSP]

O estímulo de fluxo é criado com o esfigmomanômetro colocado abaixo da fossa antecubital. Primeiramente foram obtidas imagens em repouso e o fluxo sanguíneo foi estimado através do sinal do Doppler. Na sequência a artéria braquial foi ocluída ao inflar-se o *cuff* até 200 mmHg por 5 minutos²⁵⁴. A isquemia distal gera vasodilatação por mecanismo auto regulatório. Ao desinflar o *cuff* uma hiperemia reativa se segue e o estresse de cisalhamento força a artéria braquial a dilatar. Os primeiros cinco fluxos são monitorizados e o diâmetro da artéria é medido por 1 minuto (40 a 60 segundos). Outras medidas de diâmetro de fluxo foram aferidas após 30 minutos de repouso, e após 5 minutos da administração do nitrato sublingual.

Os sinais de fluxo na artéria braquial foram gravados no início do exame (basal) e nos primeiros segundos após a liberação do *cuff*²⁵⁴.

A DFM é expressa na porcentagem de mudança do diâmetro da artéria braquial (%DFM) após o estímulo em relação ao diâmetro basal, conforme a seguinte fórmula^{254,255}:

$$\%DFM = \frac{(\text{diâmetro na hiperemia reativa} - \text{diâmetro basal}) \times 100}{\text{diâmetro basal}}$$

O valor da %DFM que indica a função endotelial íntegra é $7,8\% \pm 3,1\%$ em homens saudáveis, segundo Dalli *et al.*²⁵⁶. Por sua vez, Hashimoto *et al.*¹⁴⁵ identificaram valores entre $8,91 \pm 0,44\%$.

Com cerca de 10 minutos de repouso, iniciou-se a avaliação endotélio independente através da administração de 5 mg de nitrato via sublingual (Isordil®, EMS Sigma Pharma Ltda., Hortolândia, Brasil) e a aquisição das imagens da artéria braquial foi realizada na sequência^{150,252}.

Após 3 a 5 minutos foi novamente aferido diâmetro e fluxo, e calculou-se a porcentagem de dilatação da artéria braquial. Considera-se normal a dilatação após nitrato acima de 10% ²⁵⁴.

A DFM também pode ser aplicada nas artérias femural, radial e tibial posterior, com a colocação do *cuff* do esfigmomanômetro nos respectivos locais. Como técnica validada, a DFMAB permite a avaliação da macrovasculatura NO dependente, com boa correlação com a função endotelial^{156,157}. Todas as imagens digitais foram armazenadas para análises *offline* subsequentes no mesmo dispositivo usando o EchoPAC PC (GE® Medical Systems, Tirat Carmel Israel, Ultrasound Ltda.).

4.2.6.2 Técnicas laboratoriais do parâmetro moléculas de adesão

Os níveis séricos das adesinas (sVCAM-1, sICAM-1 e Selectina-sE) foram determinados através de *kits* de ELISA (Quadro 7). As coletas foram realizadas com os pacientes em jejum de 12 horas, no mesmo momento das demais coletas do protocolo, no período da manhã entre 8:00 e 11:00 horas. As amostras foram coletadas em tubos sem anticoagulante (BD Vacutainer®) por punção venosa periférica nas Visitas 2 e 5. As amostras foram imediatamente encaminhadas ao laboratório para processamento.

Quadro 7 - Moléculas de adesão

Exame	Material	Método	Reagentes	Valores de referência	Procedência/número do catálogo
sICAM-1	soro	ELISA	Human sICAM-1	328±77,4 ng/mL	Merck Millipore, Estados Unidos da América/Cat. No. ECM335
sVCAM-1	soro	ELISA	Human sVCAM-1	675±693 ng/mL	Merck Millipore, Estados Unidos da América/Cat. No. ECM340
selectina-sE	soro	ELISA	Human sE-Selectin-1	42,7±13,6ng/mL	Merck Millipore, Estados Unidos da América/Cat. No. ECM330

selectina-sE: Selectina-E solúvel; sICAM-1: ICAM-1 solúvel; sVCAM-1: VCAM-1 solúvel

As amostras foram centrifugadas a 2500 RPM por 15 minutos (centrífuga refrigerada Sorvall RC 3C PLUS, rotor H2000B). As alíquotas foram armazenadas a -20°C e processadas posteriormente nos meses de julho e agosto de 2017. As dosagens foram realizadas de acordo com o protocolo sugerido nos manuais dos fabricantes, em duplicata e amostras pré e pós-tratamento avaliadas no mesmo ensaio, para minimizar as variações. O processamento das amostras foi realizado no Laboratório de Investigação Médica (LIM) 18, da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP).

4.2.6.3 Técnicas laboratoriais do parâmetro células progenitoras

Obtenção e congelamento das amostras

Foram coletados de cada participante do protocolo 8 mL de sangue total em dois tubos BD Vacutainer® contendo anticoagulante EDTA K2 (4 mL cada tubo) por punção venosa periférica, em V2 e V5.

O processamento das amostras foi realizado dentro de 24 horas após a coleta, a fim de se manter a viabilidade das células para o congelamento, conforme técnica descrita no Anexo E.

O congelamento das amostras foi realizado LIM-42 onde foram mantidas congeladas a -80°C em criotubos (tubos CryoPure® Sarstedt®, Nümbrecht, Alemanha) até o processamento do Instituto Israelita de Ensino e Pesquisa (IIEP) no primeiro trimestre de 2017. As amostras foram transportadas mantendo estável a temperatura.

Descongelamento das amostras

As amostras de cada criotubo (paciente) foram descongeladas em temperatura ambiente e imediatamente ressuspendidas em 2 mL de solução de lavagem (PBS+1% de albumina humana+0,1% de azida sódica). Em seguida as amostras foram centrifugadas (Centrifuga Sorval® RT7 Benchtop) por 10 minutos a 1.500 rpm à temperatura de $\pm 20^{\circ}\text{C}$. Após a centrifugação o sobrenadante foi descartado e a amostra foi ressuspensa em 300 μL da solução de lavagem.

Citometria de fluxo

As amostras descongeladas e ressuspensas em 300 uL de solução de lavagem foram divididas em três tubos, cerca de 100 uL de amostra em cada tubo. O tubo 1 não foi marcado com nenhum anticorpo e foi utilizado como controle de autofluorescência das amostras. O tubo 2 foi marcado com anticorpos isotipos controles de cada anticorpo utilizado (IgG2-FITC, IgG1-PE, IgG3-PE-CF594, IgG1-PerCP-Cy5.5, IgG2-APC-Cy7) todos da BD Pharmingen®, (San Diego, CA), BD Biosciences® (Frank Lakes, NJ) ou BD Horizon® (San Diego, CA) e foram utilizados como controle de marcação inespecífica. O tubo 3 foi marcado com os anticorpos de interesse CD31-FITC clone:WM59 (BD Pharmingen®), CD309/KDR clone:89106 (BD Pharmingen®), CD3-PE-CF594 clone:UCHT1 e CD19-PE-CF594 clone: HIB19 (BD Horizon®), CD146-PerCP-Cy5.5 clone:P1H12 (BD Bioscience®), CD34-PE-Cy7 clone:8G12 (BD Biosciences®), CD14-APC-Cy7 clone:MØPg (BD Pharmingen®). Após a adição da quantidade recomendada de anticorpo, as amostras foram incubadas por 30 minutos no escuro em temperatura ambiente. Após incubação as amostras foram lavadas com a solução de lavagem, ressuspensas em 200 uL da solução de lavagem e em seguida as amostras foram adquiridas no citometro FORTESSA LSRII (BD Biosciences®), e cada amostra gerou cerca de 100.000 eventos. Os dados foram analisados utilizando o software FlowJo (Treestar, Ashland, OR). As análises ocorreram de acordo com a estratégia apresentada na Figura 8.

Figura 8 - Estratégia de análise das células endoteliais circulantes (CECs) e células endoteliais progenitoras circulante (CEPs) nas amostras de pacientes.- (A) O primeiro gate incluiu as células por tamanho e granulosidade (SSCvs FSC). (B) O segundo gate excluiu as células que marcaram para CD19 (linfócitos B) e CD3 (linfócitos T). (C) As células CD19/CD3 negativas foram então analisadas para expressão de CD14 (monócitos), e somente as células CD14 negativas foram selecionadas. (D) Então as células CD3/CD19/CD14 negativas foram analisadas para expressão de CD31 (endotélio) e somente as células CD31 foram selecionadas. (E) A seguir as células CD31 foram analisadas para expressão de CD309/KDR e somente as células CD31+ e CD309/KDR+ foram selecionadas, estas células (CD3/CD19/CD14) negativas e (CD31/CD309/KDR) positivas foram consideradas as CECs. (F) A seguir as células foram analisadas para expressão de CD146 e CD34, as células (CD3/CD19/CD14) negativas e (CD31/CD309/KDR) positivas, CD146+ e CD34- foi considerada a população de CECs CD146+, as células (CD3/CD19/CD14) negativas e (CD31/CD309/KDR) positivas, CD146- e CD34+ foi considerada a população de CEPs, as células (CD3/CD19/CD14) negativas e (CD31/CD309/KDR) positivas, CD146+ e CD34+ foi considerada a população de CEPs CD146+

4.2.7 Parâmetros de perfil de segurança: questionário internacional de sintomas prostáticos e efeitos adversos autorreferidos

Nas visitas 2, 3, 4 e 5 do protocolo os pacientes recebiam o questionário Internacional de Sintomas Prostáticos (IPSS)²⁵⁷ (Anexo F) para pesquisa de sintomas de trato urinário inferior e eram perguntados sobre os efeitos colaterais durante o mês de tratamento.

4.2.8 Análise estatística

No presente estudo realizou-se inicialmente a análise descritiva da amostra total segundo os grupos de intervenção. Obteve-se tabelas de frequência das variáveis nominais e categóricas apresentadas como número de indivíduos e porcentagem do total e foram apresentadas estatísticas descritivas das variáveis contínuas, em média e desvio-padrão.

As análises das características iniciais (*baseline*) foram realizadas considerando os pacientes totais (39 em cada grupo) enquanto as análises por momentos foram realizadas considerando os pacientes com dados completos nas 4 semanas. Dessa forma é possível que as médias iniciais (*baseline*) apresentem diferenças quanto as médias iniciais das análises por momentos.

Foram utilizados testes de Análise Variância (ANOVA)²⁵⁸ com dois fatores para o comparativo das variáveis numéricas: comparação fator independente-efeito grupo (Ativo x Placebo), fator repetitivo-momento (semana 0 x semana 4 x semana 8 x semana 12 ou semana 0 x semana 12) e interação momento-grupo, sendo obtidos valores de significância para os três efeitos. Quando se encontrou diferença significativa, foram utilizados os

testes de comparações múltiplas de Tukey²⁵⁸ para detectar onde ocorriam essas diferenças.

Para as variáveis categóricas: perda de ereção, desejo sexual, insatisfeito com a vida sexual e síndrome metabólica foram utilizados os testes de qui-quadrado²⁵⁸ para verificar diferenças entre os grupos (Ativo x Placebo) e testes de McNemar²⁵⁸ para verificar diferenças entre os momentos (semana 0 x semana 4 x semana 8 x semana 12 ou semana 0 x semana 12).

Para a variável categórica perda de libido foram utilizados os testes de qui-quadrado para verificar diferenças entre os grupos (Ativo x Placebo) e testes de Cochran²⁵⁸ para verificar diferenças entre os momentos (semana 0 x semana 4 x semana 8 x semana 12). Para as variáveis categóricas de efeitos adversos foram aplicados os testes de qui-quadrado²⁵⁸ para verificar diferenças entre os grupos (Ativo x Placebo).

O *software* SPSS for Windows versão 19.0.0²⁵⁹ foi utilizado na análise estatística de dados. Todas as análises de significância apresentadas são do tipo bilateral e valores menores que 0,05 considerados estatisticamente significantes. As tabelas complementares podem ser verificadas no Anexo G.

4.2.9 Cálculo da amostra

A variável %DFM foi selecionada para definição de tamanho da amostra por fazer parte do objetivo primário do presente estudo.

Para identificar diferenças clinicamente significativas, o diretriz da International Brachial Artery Reactivity Task Force¹⁵⁰ indica que uma amostra em grupos paralelos dever incluir entre 40 a 60 pacientes¹⁵⁰. Considerando possibilidade de perda entre 20 a 25% dos pacientes, foi proposta a inclusão de 78 pacientes.

5 RESULTADOS

Foram recebidos para triagem 252 pacientes entre junho de 2013 e agosto de 2016 dos quais 78 foram incluídos para randomização (Figura 9). Dos 174 pacientes excluídos, 129 não apresentaram redução de testosterona total na primeira ou segunda triagens, cinco declinaram em participar e 40 foram excluídos por outras razões, como: antecedente de câncer de testículo, panhipopituitarismo, impossibilidade de contato para segunda coleta laboratorial, descompensação de doença de base e diagnóstico de macroprolactinoma durante triagem.

Figura 9 - Recrutamento e alocação

Destes, 67 completaram o seguimento (85,89%) e 11 (14,10%) não retornaram à alguma consulta agendada do seguimento, sendo considerados perda de seguimento. Dessa forma, os pacientes que se

apresentaram à consulta 4 (semana 4) e perderam seguimento após, tiveram seus dados utilizados através de imputação simples pela última observação realizada (*last-observation-carried-forward* [LOCF]), segundo o Quadro 8.

Quadro 8 - Perdas de pacientes durante o seguimento

Paciente	Randomização	Visita de não comparecimento	Motivo da saída	Utilização dos dados
6	Ativo	Semana 8 (Visita 4)	Perda de seguimento	LOCF
13	Placebo	Semana 8 (Visita 4)	Perda de seguimento	LOCF
20	Placebo	Semana 4 (Visita 3)	Intervenção descontinuada	Não utilizado
24	Ativo	Semana 12 (Visita 5)	Perda de seguimento	LOCF
30	Placebo	Semana 8 (Visita 4)	Perda de seguimento	LOCF
45	Placebo	Semana 8 (Visita 4)	Perda de seguimento	LOCF
55	Ativo	Semana 8 (Visita 4)	Perda de seguimento	LOCF
61	Ativo	Semana 4 (Visita 3)	Perda de seguimento	Não utilizado
69	Placebo	Semana 4 (Visita 3)	Óbito	Não utilizado
71	Ativo	Semana 4 (Visita 3)	Perda de seguimento	Não utilizado
77	Placebo	Semana 4 (Visita 3)	Perda de seguimento	Não utilizado

LOCF - *Last-observation-carried-forward*

5.1 Dados Triagem

A média de idade dos pacientes triados foi de $36,8 \pm 8,3$ anos (média desvio e padrão [DP]) de testosterona total e 297 ± 126 ng/dL de testosterona livre.

Ressalta-se que, durante processo de triagem, nem todos os pacientes foram encaminhados para coleta laboratorial, por apresentarem critérios iniciais de exclusão, como antecedente de câncer prostático à anamnese. Nas primeiras semanas de triagem a dosagem de testosterona livre não era incluída na coleta, sendo após incorporada ao protocolo de triagem.

5.2 Dados da Randomização (Alocação)

O fluxograma da alocação e seguimento pode ser visualizado a seguir, na Figura 10.

Figura 10 - Fluxograma da alocação

Os dois grupos foram comparáveis em relação às suas características clínicas basais (Tabelas 1 e 2). As Tabelas complementares podem ser verificadas no Anexo G.

Tabela 1 - Características iniciais da amostra quanto à idade, dados antropométricos e características clínicas, segundo grupo de intervenção - HC-FMUSP 2013 a 2016

Variável em Média±DP	Grupo Ativo	Grupo Placebo	p
Idade (anos)	35,5±7,8	35,6±7,8	0,951
Peso (kg)	140,9±27,9	145,5±32,2	0,502
IMC (kg/m ²)	45,5±11,3	47,2±9,6	0,470
Testículo direito (cm ³) *	23,1±3,6	21,9±5,0	0,257
Testículo esquerdo (cm ³)	23,2±3,5	21,1±5,8	0,055
Circunferência abdominal (cm)	137,5±17,9	139,7±19,6	0,611
Circunferência de quadril (cm)	120,3±14,0	122,9±15,8	0,450
Questionário ADAM em número de questões positivas	5,2±2,6	5,0±2,1	0,777
Número de relações sexuais por semana no último mês	1,6±1,4	1,6±1,7	0,941
Questionário IPSS	8,2±5,1	10,0±6,0	0,153
Testosterona total (ng/dL)	225,8±70,0	216,0±72,1	0,543
Testosterona livre (pmol/L)**	192,6±57,1	186,4±66,6	0,676
LH (IU/L)	4,3±1,8	5,2±2,9	0,089
FSH (IU/L)	4,1±2,6	4,7±2,5	0,301
SHBG (nmol/L)	21,2±7,9	22,9±9,6	0,413
Estradiol (E ₂) (pg/mL)	31,4±12,4	35,9±16,0	0,169
Relação testosterona total (ng/dL): E ₂ (ng/dL)	8,2±3,9	7,0±3,4	0,142
Massa magra (kg)***	70,3±9,9	72,3±12,3	0,431
Massa livre de gordura (kg)***	74,7±9,8	76,4±13,0	0,500
Massa de musculoesquelético (kg)***	42,5±5,6	43,5±7,5	0,524
Massa de gordura (kg)***	66,3±20,6	69,4±22,8	0,526
Percentual de gordura corporal***	46,1±6,1	46,4±6,6	0,875
Glicemia (mg/dL)	95,5±24,4	100,4±23,7	0,372
Insulinemia (μU/mL)	33,0±15,7	31,6±13,1	0,667
HbA1c	5,8±0,8	5,9±1,1	0,715
HOMA-IR	13,4±10,9	11,5±7,0	0,361
Pas (mmHg)	126,2±13,9	123,8±13,5	0,450
Pad (mmHg)	81,6±9,2	80,0±8,3	0,410
Colesterol total (mg/dL)	197,6±35,8	190,3±35,8	0,367
HDL - colesterol (mg/dL)	41,5±9,1	38,9±8,3	0,203
LDL - colesterol (mg/dL)	126,7±31,6	122,1±31,2	0,520
Triglicérides (mg/dL)	152,4±70,2	152,4±84,4	0,999

teste t-student de duas amostras. * Paciente 10 (placebo) com testículo direito ausente. ** Em 4 pacientes ativos e três pacientes placebo a dosagem de testosterona livre não foi realizada, por problemas de hemólise na coleta. *** Paciente 26 não realizou bioimpedanciometria no aparelho InBody 720, e sim pela bioimpedância tetrapolar.

ADAM: *Androgen Deficiency in Ageing Males*; E₂: Estradiol; FSH: Hormônio foliculo-estimulante; HbA1c: Hemoglobina glicada; HDL-colesterol: HDL: Lipoproteína de alta densidade-colesterol; HOMA-IR: *Homeostasis model assesment*; IMC: Índice de massa corporal; IPSS: Questionário Internacional de Sintomas Prostáticos; LDL-colesterol: *LDL*: Lipoproteína de baixa densidade-colesterol; LH - Hormônio luteinizante; PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; SHBG: Globulina ligadora dos hormônios sexuais

Tabela 2 - Características iniciais da amostra quanto a variáveis categóricas, segundo grupo de intervenção - HC-FMUSP 2013 a 2016

	Ativo		Placebo		Total		(p) ¹
	N	%	N	%	N	%	
Hipertensão arterial	14	35,9%	15	38,5%	29	37,2%	1,000
Diabetes	2	5,1%	7	17,9%	9	11,5%	0,156
Dislipidemia	4	10,3%	6	15,4%	10	12,8%	0,735
Uso de Estatina	4	10,3%	3	7,7%	7	9,0%	1,000
Síndrome Metabólica*	22	56,4%	23	59,0%	45	57,7%	1,000

¹teste de Qui-quadrado; *Síndrome Metabólica pelos critérios NCEP ATPIII

5.3 Resultados do Seguimento

Os resultados foram divididos conforme os objetivos propostos em seis grupos:

- a) Resposta clínica.
- b) Resposta hormonal.
- c) Composição corporal.
- d) Resposta metabólica.
- e) Resposta cardiovascular.
- f) Parâmetros de segurança.

5.3.1 Resposta clínica

5.3.1.1 Respostas positivas ao questionário ADAM

Para este parâmetro observou-se que na semana 0 os grupos apresentam os mesmos resultados. Como houve diferença significativa na análise de variância, aplicou-se o teste de comparações múltiplas para verificar onde estariam as diferenças. Na semana 4 ambos os grupos diminuem

significativamente a pontuação de queixas positivas ao questionário ADAM e se mantêm em um patamar semelhante até a semana 12 (Tabela 3). Os resultados completos das análises podem ser verificados no Anexo G (análises de comparações múltiplas e comparações múltiplas de Tukey).

Tabela 3 - Respostas positivas ao Questionário ADAM* em média e desvio padrão com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção - HC-FMUSP - 2013 a 2016

Randomização	Semana 0	Semana +4	Semana +8	Semana +12	p ¹ grupo	p ¹ momento	p ¹ interação
Grupo Ativo	5,26±2,67	3,82±2,61	2,88±2,43	3,38±2,74	0,482	<0,001	0,229
Grupo Placebo	5,00±2,15	2,82±2,31	2,94±2,46	3,12±2,63			
Comparativo entre grupos (p ²)	0,997	0,126	1,000	0,997			

*questionário ADAM totaliza 10 questões. ¹ análise de variância (ANOVA). ² análise de comparações múltiplas.

5.3.1.2 Respostas positivas nas questões 1 e 7 do questionário ADAM

Optou-se para avaliação das questões que individualmente respondidas de forma afirmativa já tornariam o questionário positivo. A resposta positiva à questão 1 (“Tem observado diminuição do libido?”) apresentou redução em ambos os grupos entre a semana 0 e a semana 4 (Tabela 4). O nível de afirmativos se manteve entre as semanas 8 e 12.

Tabela 4 - Respostas positivas à Questão 1 do Questionário ADAM com início e variação após variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção - HC-FMUSP - 2013

Randomização	Semana 0		Semana 4		Semana 8		Semana 12		p ³
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Grupo Ativo	23	67,6%	12	35,3%	7	20,6%	9	26,5%	<0,001
Grupo Placebo	17	51,5%	10	30,3%	11	33,3%	7	21,2%	0,016
p ⁴	0,273		0,861		0,368		0,827		

³Teste de Cochran. ⁴Teste de Qui-quadrado

Para a questão 7 (“Percebe se as ereções são menos vigorosas?”) observou-se na análise dos dados pareados que houve diferença significativa em cada um dos grupos entre os momentos (semana 0 e semana 12). Para o comparativo entre os grupos (Ativo x Placebo) verificou-se que ambos apresentaram resultados semelhantes em todos os momentos. No grupo Ativo há uma redução da queixa entre a semana 0 e a semana 12. No grupo Placebo, a queixa é semelhante entre a semana 0 e a semana 12 (Tabela 5). As Tabelas de comparações múltiplas podem ser verificadas no Anexo G.

Tabela 5 - Respostas positivas à Questão 7 do Questionário ADAM com início e variação após 12 semanas, segundo grupo de intervenção - HC-FMUSP - 2013 a 2016

Randomização	Semana 0		Semana 12		p ⁵
	N	%	N	%	
Grupo Ativo	21	61,8%	8	23,5%	<0,001
Grupo Placebo	16	48,5%	10	30,3%	0,070
p ⁴	0,397		0,727		

⁴Teste de Qui-quadrado ⁵Teste de Mc Nemar

5.3.1.3 Número de intercursos sexuais

Para este parâmetro observou-se que não há diferença entre os grupos em todos os momentos e não há diferença entre os momentos para ambos os grupos (Ativo x Placebo) (Tabela 6). A Tabela de comparações múltiplas pode ser verificada no Anexo G.

Tabela 6 - Número de intercursos sexuais com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção - HC-FMUSP - 2013 a 2016

Grupo	Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12	p ¹		
	Média±DP				grupo	momento	interação
Ativo	1,68±1,42	1,79±1,08	1,95±1,19	1,94±1,12	0,287	0,116	0,786
Placebo	1,41±1,26	1,47±1,32	1,53±1,26	1,80±1,65			

legenda: ¹análise de variância (ANOVA)
DP: Desvio padrão

5.3.1.4 Queixa de Insatisfação com a vida sexual

Para este parâmetro a análise dos dados pareados em cada um dos grupos e o comparativo entre os grupos (Ativo x Placebo) apresentou resultados semelhantes em todas as análises. Dessa forma não se verificou diferença para a queixa de insatisfação com a vida sexual no período observado (Tabela 7). A Tabela de comparações múltiplas pode ser verificada no Anexo G.

Tabela 7 - Respostas positivas à queixa de insatisfação com a vida sexual com início e variação após 12 semanas, segundo grupo de intervenção - HC-FMUSP - 2013 a 2016

Grupo	Semana 0		Semana 12		p ⁵
	N	%	N	%	
Ativo	20	58,8%	18	52,9%	0,774
Placebo	17	53,1%	18	56,3%	
p ⁴	0,827		0,982		

⁴Teste de Qui-quadrado ⁵Teste de Mc Nemar

5.3.2 Resultados de resposta hormonal

5.3.2.1 Análise de testosterona total e testosterona livre

Para estes parâmetros observou-se que na semana 0 os grupos apresentam resultados semelhantes. Como houve diferença significativa na análise de variância, aplicou-se o teste de comparações múltiplas de para verificar onde estariam as diferenças. Na semana 4 o grupo Ativo aumenta significativamente a testosterona total e se mantém nesse patamar acima dos demais tempos que o grupo Placebo. O grupo Placebo se mantém no mesmo patamar de resposta o tempo todo. Para o parâmetro testosterona livre houve elevação a partir da semana 4 no grupo Ativo, mantendo-se no mesmo patamar até o final do estudo, conforme Tabela 8 e Gráficos 1 e 2. As Tabelas de análise de comparações múltiplas podem ser verificadas no Anexo G.

Tabela 8 - Valores de testosterona total e testosterona livre em média e desvio padrão com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção - HC-FMUSP - 2013 a 2016

Parâmetro	Grupo	Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12	p ¹ grupo	p ¹ momento	p ¹ interação
Testosterona total (ng/dL)	Ativo	225,54±72,49	665,49 ±275,61	708,09±267,14	687,94±276,66			
	Placebo	220,28±69,30	225,64±62,67	224,61±62,43	220,19±48,46	<0,001	<0,001	<0,001
	p ²	1,000	<0,001	<0,001	<0,001			
Testosterona livre (pmol/L)	Ativo	191,47±60,08	573,30±214,43	610,73 ±219,73	565,97 ±217,93			
	Placebo	193,61±67,28	195,61 ±54,97	198,87 ±59,37	184,52 ±41,12	<0,001	<0,001	<0,001
	p ²	1,000	<0,001	<0,001	<0,001			

¹ análise de variância (ANOVA). ² análise de comparações múltiplas

Gráfico 1 - Comportamento da média de testosterona total nos quatro momentos de análise

Gráfico 2 - Comportamento da média de testosterona livre nos quatro momentos de análise

5.3.2.2 Análise de Estradiol

Para este parâmetro observou-se que na semana 0 os grupos apresentam resultados semelhantes. Como houve diferença significativa na análise de variância, aplicou-se o teste de comparações múltiplas para verificar onde estariam as diferenças. Na semana 4 o grupo Ativo aumenta significativamente e se mantém nesse patamar acima nos demais tempos que o grupo Placebo. O grupo Placebo se mantém no mesmo patamar de resposta o tempo todo, conforme Tabela 9 e Gráfico 3. As Tabelas de comparações múltiplas podem ser verificadas no Anexo G.

Tabela 9 - Valores de para estradiol em média e desvio padrão com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção - HC-FMUSP - 2013 a 2016

Grupo	Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12	p ¹ grupo	p ¹ momento	p ¹ interação
Ativo	32,48±12,59	83,35±43,69	89,91±45,87	89,44±47,85	<0,001	<0,001	<0,001
Placebo	33,45±12,57	34,34±13,14	35,89±12,23	35,77±11,51			
p ²	1,000	<0,001	<0,001	<0,001			

¹ análise de variância (ANOVA). ² análise de comparações múltiplas

Gráfico 3 - Comportamento da variável média de estradiol nos quatro momentos de análise

5.3.2.3 Análise de LH e FSH

Para estes parâmetros observou-se que na semana 0 os grupos apresentam resultados semelhantes. Como houve diferença significativa na análise de variância, aplicou-se o teste de comparações múltiplas para verificar onde estariam as diferenças. Na semana 4 o grupo Ativo aumenta significativamente e se mantém nesse patamar acima nos demais tempos que o grupo Placebo para ambas variáveis. Da mesma forma, o grupo Placebo se mantém no mesmo patamar de resposta o tempo todo, conforme Tabela 10 e Gráficos 4 e 5. As Tabelas de análise de variância e comparações múltiplas podem ser verificadas no Anexo G.

Tabela 10 - Valores de LH e FSH em média e desvio padrão com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção - HC-FMUSP - 2013 a 2016

Parâmetro	Grupo	Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12	p ¹ grupo	p ¹ momento	p ¹ interação
LH (IU/L)	Ativo	4,25±1,81	10,70±4,55	9,82±4,54	9,75±4,75	<0,001	<0,001	<0,001
	Placebo	5,10±2,88	4,76±2,10	5,15±2,87	5,00±2,77			
	p ²	0,733	<0,001	<0,001	<0,001			
FSH (IU/L)	Ativo	4,13±2,77	9,61±6,18	9,59±5,90	9,36±5,81	<0,001	<0,001	<0,001
	Placebo	4,56±2,41	4,59±2,57	4,60±2,61	4,53±2,66			
	p ²	0,949	<0,001	<0,001	<0,001			

¹ análise de variância (ANOVA). ² análise de comparações múltiplas
FSH: Folículo estimulante; LH: Hormônio luteinizante

Gráfico 4 - Comportamento da variável média de LH nos quatro momentos de análise

LH - Hormônio luteinizante

Gráfico 5 - Comportamento da variável FSH nos quatro momentos de análise

FSH: Folículo estimulante

5.3.2.3 Análise de SHBG

Para este parâmetro observou-se, que na semana 0 os grupos apresentam resultados semelhantes. Como houve diferença significativa na análise de variância, aplicou-se o teste de comparações múltiplas para verificar onde estariam as diferenças. Na semana 0 os grupos apresentam os mesmos resultados. Na semana 4 o grupo Ativo aumenta significativamente, se mantém na semana 8 e aumenta novamente na semana 12, ficando sempre acima do grupo Placebo. O grupo Placebo se mantém no mesmo patamar de resposta o tempo todo, conforme Tabela 11 e Gráfico 2. As Tabelas de comparações múltiplas podem ser verificadas no Anexo G.

Tabela 11 - Valores para SHBG (nmol/L) em média e desvio padrão com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção - HC-FMUSP - 2013 a 2016

Grupo	Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12	p ¹ grupo	p ¹ momento	p ¹ interação
Ativo	21,55±7,86	26,48±10,69	27,06±8,88	29,48±9,79	<0,001	<0,001	<0,001
Placebo	22,26±9,09	21,97±8,48	22,30±8,86	23,14±9,60			
p ²	0,979	<0,001	<0,001	<0,001			

¹ análise de variância (ANOVA). ² análise de comparações múltiplas

Gráfico 6- Comportamento da variável média de SHBG nos quatro momentos de análise

SHBG - Globulina de ligação de hormônios sexuais

5.3.2.3 Análise da relação testosterona total: estradiol (T: E₂)

Para este parâmetro observou-se que na semana 0 os grupos apresentam resultados semelhantes. Segundo as análises realizadas, não há diferença significativa entre os grupos em todos os momentos (semana 0, semana 4, semana 8 e semana 12). Não há diferença significativa entre os momentos para ambos os Grupos (A e P), conforme Tabela 12. As Tabelas de comparações múltiplas podem ser verificadas no Anexo G.

Tabela 12 - Valores para relação T: E₂ com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção - HC-FMUSP - 2013 a 2016

Grupo	Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12	p ¹		
	Média±DP				grupo	momento	interação
Ativo	7,88±3,94	8,67±3,38	8,56±2,83	8,54±3,44	0,117	0,254	0,225
Placebo	7,31±3,38	7,64±3,90	7,01±3,47	6,86±3,17			

¹ análise de variância (ANOVA)

5.3.3 Resultados de composição corporal

5.3.3.1 Análise de índice de massa corporal e circunferência abdominal

Para estes parâmetros observou-se que na semana 0 os grupos apresentam resultados semelhantes. Segundo as análises realizadas, não há diferença entre os grupos em todos os momentos (semana 0, semana 4, semana 8 e semana 12). Também não há diferença significativa entre os momentos para ambos os grupos (Ativo e Placebo), conforme Tabela 13. As Tabelas de comparações múltiplas podem ser verificadas no Anexo G.

Tabela 13 - Valores de IMC e CA com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção - HC-FMUSP - 2013 a 2016

Parâmetro	Grupo	Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12	p ¹	
		Média±DP				grupo	momento interação
IMC (kg/m²)	Ativo	45,80±11,51	46,1±11,18	47,45±8,9	47,71±8,97	0,808	0,228
	Placebo	46,26±8,54	46,28±8,62	46,26 ±8,64	46,21±8,79		
CA (cm)	Ativo	138,14±18,18	137,96±18,86	137,82±18,85	138,23±19,11	0,943	0,793
	Placebo	137,83±18,36	138,04±18,54	137,73±18,88	137,29±18,29		

¹ análise de variância (ANOVA) ² análise de comparações múltiplas
CA: Circunferência abdominal; DP: Desvio padrão; IMC: Índice de massa corporal

5.3.3.2 Análise da massa magra

Para este parâmetro observou-se que na semana 0 os grupos apresentam resultados semelhantes. Na semana 12 os grupos apresentam diferença significativa no sentido de maiores valores para o grupo Ativo. Como houve diferença na análise de variância, aplicou-se o teste de comparações múltiplas para verificar onde estariam as diferenças. Na semana 12 o grupo Ativo apresenta maior massa magra que grupo Placebo. O grupo Placebo se mantém no mesmo patamar de resposta o tempo todo, conforme Tabela 14 e Gráfico 7. As Tabelas de comparações múltiplas podem ser verificadas no Anexo G.

Tabela 14 - Valores para massa magra (kg) em média e desvio padrão com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção - HC-FMUSP - 2013 a 2016

Grupo	Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12	p ¹ grupo	p ¹ momento	p ¹ interação
Ativo	70,11±10,11	71,29±9,53	71,82±9,44	72,32±9,66	0,880	<0,001	<0,001
Placebo	71,00±11,98	71,02±12,12	71,07±12,40	70,89±12,05			
p ²	0,144	0,993	0,346	0,001			

¹ análise de variância (ANOVA). ² análise de comparações múltiplas

Gráfico 7 - Comportamento da variável média de massa magra nos quatro momentos de análise

5.3.3.3 Análise da massa livre de gordura

Para este parâmetro observou-se que na semana 0 os grupos apresentam resultados semelhantes. Segundo as análises realizadas, o grupo Ativo mantém os resultados entre as semanas 0 a 8 e aumenta o valores de massa livre de gordura na semana 12. O grupo Placebo se mantém no mesmo patamar de resposta o tempo todo, conforme Tabela 15 e Gráfico 8. As Tabelas de comparações múltiplas podem ser verificadas no Anexo G.

Tabela 15 - Valores para massa livre de gordura (kg) em média e desvio padrão com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção - HC-FMUSP - 2013 a 2016

Grupo	Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12	p ¹ grupo	p ¹ momento	p ¹ interação
Ativo	74,45±10,04	74,52±11,73	75,81±9,90	76,33±10,12	0,943	0,011	0,004
Placebo	75,09±12,69	75,11±12,80	75,16±13,11	74,96±12,73			
p ²	0,870	0,907	0,860	0,062			

¹ análise de variância (ANOVA). ² análise de comparações múltiplas

Gráfico 8 - Comportamento da variável média de massa livre de gordura nos quatro momentos de análise

5.3.3.4 Análise da Massa de musculoesquelético (MME)

Para este parâmetro observou-se que na semana 0 os grupos apresentam os mesmos resultados. Na semana 12 os grupos apresentam diferença significativa no sentido de maiores valores para o grupo Ativo. Como houve diferença na análise de variância, aplicou-se o teste de comparações múltiplas para verificar onde estariam as diferenças. A partir da semana 8 nota-se uma diferença significativa ($p = 0,025$), conforme Tabela 16 e Gráfico 9. As Tabelas de comparações múltiplas podem ser verificadas no Anexo G.

Tabela 16 - Valores para massa de musculoesquelético (kg) em média e desvio padrão com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção - HC-FMUSP - 2013 a 2016

Grupo	Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12	p ¹ grupo	p ¹ momento	p ¹ interação
Ativo	42,39±5,73	42,82±5,72	43,17±5,65	43,43±5,74	0,859	<0,001	<0,001
Placebo	42,68±7,32	42,70±7,43	42,70±7,52	42,63±7,35			
p ²	0,504	0,989	0,025	<0,001			

¹ análise de variância (ANOVA). ² análise de comparações múltiplas

Gráfico 9 - Comportamento da variável média de musculoesquelético nos quatro momentos de análise

5.3.3.5 Análise de percentual de gordura corporal, área de gordura visceral (GV) em cm² e massa de gordura

Para estes parâmetros observou-se que na semana 0 os grupos apresentam resultados semelhantes. Segundo as análises realizadas, não há diferença entre os grupos em todos os momentos (semana 0, semana 4, semana 8 e semana 12). Também não há diferença significativa entre os momentos para ambos os Grupos (Ativo e Placebo) (Tabela 17). As Tabelas de comparações múltiplas podem ser verificadas no Anexo G.

Tabela 17 - Valores para percentual de gordura corporal e área de GV e massa de gordura e com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção - HC-FMUSP - 2013 a 2016

Parâmetro	Grupo	Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12	p ¹	
		Média±DP				grupo	momento interação
Percentual de Gordura Corporal	Ativo	46,54±5,97	46,21±6,02	46,09±6,13	46,05±6,20	0,882	0,326
	Placebo	45,93±6,70	46,05±6,58	46,00±6,44	46,02±6,57		
área de GV (cm²)	Ativo	266,08±75,25	262,70±75,15	263,96±76,17	263,62±77,20	0,971	0,785
	Placebo	264,31±72,32	265,60±72,11	264,41±70,77	264,61±73,48		
Massa de gordura (kg)	Ativo	67,15±20,70	66,72±20,91	67,55±21,41	68,43±21,39	0,894	0,076
	Placebo	67,09±22,14	66,54±22,30	66,25±21,68	67,26±22,40		

¹ análise de variância (ANOVA)
GV: Gordura visceral

5.3.4 Resultados parâmetros laboratoriais e antropométricos de resposta metabólica

5.3.4.1 Análise de Pressão Arterial Sistólica e Pressão Arterial Diastólica (Pad)

Para estes parâmetros observou-se que na semana 0 os grupos apresentam resultados semelhantes. Segundo as análises realizadas, não há diferença entre os grupos em todos os momentos (semana 0, semana 4, semana 8 e semana 12). Também não há diferença significativa entre os momentos para ambos os Grupos (Ativo e Placebo) (Tabela 18). As Tabelas de comparações múltiplas podem ser verificadas no Anexo G.

Tabela 18 - Valores de Pas e Pad com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção - HC-FMUSP - 2013 a 2016

Parâmetro	Grupo	Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12	p ¹		
		Média±DP				grupo	momento	interação
Pas (mmHg)	Ativo	126,54±14,24	126,32±13,33	124,24±12,04	127,24±10,86	0,566	0,840	0,431
	Placebo	123,89±13,79	124,50±12,42	125,47±11,90	124,83±11,42			
Pad (mmHg)	Ativo	81,73±9,43	81,89±7,76	80,46±7,34	82,97±7,77	0,638	0,273	0,326
	Placebo	79,44±8,26	81,03±8,37	81,81±7,56	82,00±8,33			

¹ análise de variância (ANOVA)
DP: Desvio padrão; Pad: Pressão arterial diastólica; Pas: Pressão arterial sistólica

5.3.4.2 Análise de parâmetros glicêmicos: glicemia, hemoglobina glicada (HBA1c), insulinemia e índice *Homeostasis model assesment* (HOMA-IR)

Para estes parâmetros observou-se que na semana 0 os grupos apresentam resultados semelhantes. Segundo as análises realizadas, não há diferença entre os grupos em todos os momentos (semana 0, semana 4, semana 8 e semana 12). Também não há diferença significativa entre os momentos para ambos os Grupos (Ativo e Placebo) (Tabela 19). As Tabelas de comparações múltiplas podem ser verificadas no Anexo G.

Tabela 19 - Valores de glicemia, HbA1c, Insulinemia e HOMA-IR com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção - HC-FMUSP - 2013 a 2016

Parâmetro	Grupo	Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12	p ¹	
		Média±DP				grupo	interação
Glicemia (mg/dL)	Ativo	95,19±25,31	97,08±40,75	92,83±19,10	97,67±35,74	0,620	0,268
	Placebo	100,29±24,31	99,54±27,42	97,17±20,75	98,11±20,69		
HbA1c (%)	Ativo	5,79±0,83	5,89±0,91	5,95±1,04	5,88±0,84	0,544	0,153
	Placebo	5,73±0,70	5,80±0,73	5,79±0,74	5,75±0,69		
Insulinemia (µU/mL)	Ativo	32,74 ±15,63	29,19 ±13,85	31,60 ±15,84	31,73 ±13,42	0,981	0,859
	Placebo	30,83±12,87	31,79±18,74	30,97±13,65	31,36±19,60		
HOMA-IR	Ativo	12,87±10,82	12,33±13,29	11,04±8,84	12,21±9,28	0,528	0,772
	Placebo	11,49±6,99	10,81±8,27	11,16±8,28	10,57±8,68		

¹ análise de variância (ANOVA)
DP: Desvio padrão; HbA1c: Hemoglobina glicada; HOMA-IR - Homeostasis model assesment

5.3.4.3 Análise de colesterol total, LDL colesterol e TGL

Para estes parâmetros observou-se que na semana 0 os grupos apresentam resultados semelhantes. Segundo as análises realizadas, não há diferença entre os grupos em todos os momentos (semana 0, semana 4, semana 8 e semana 12). Também não há diferença significativa entre os momentos para ambos os Grupos (Ativo e Placebo) (Tabela 20). As Tabelas de comparações múltiplas podem ser verificadas no Anexo G.

Tabela 20 - Valores de colesterol total, LDL colesterol e TGL com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção - HC-FMUSP - 2013 a 2016

Parâmetro	Grupo	Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12	p ¹	
		Média±DP				grupo	momento interação
Colesterol Total (mg/dL)	Ativo	199,86±35,59	192,80±32,83	194,03±27,49	189,77±28,85	0,530	0,240
	Placebo	190,50±36,11	188,03±37,64	188,00±36,74	191,00±39,53		
LDL colesterol (mg/dL)	Ativo	126,31±32,51	123,89±30,70	126,83±25,66	122,53±30,35	0,683	0,985
	Placebo	121,56±30,58	123,81±36,38	120,42±32,88	123,19±32,77		
TGL (mg/dL)	Ativo	150,89±71,39	178,11±157,27	171,38±104,71	176,30±97,31	0,524	0,390
	Placebo	157,72±85,82	161,08±87,91	158,92±76,87	148,25±59,86		

¹ análise de variância (ANOVA)
DP: Desvio padrão; LDL: Lipoproteína de baixa densidade; TGL: Triglicérides

5.3.4.4 Análise de HDL Colesterol

Para este parâmetro observou-se que na semana 0 os grupos apresentam os mesmos resultados. Como houve diferença significativa na análise de variância, aplicou-se o teste de comparações múltiplas para verificar onde estariam as diferenças.

Segundo as análises realizadas, na semana 0 os grupos apresentam resultados semelhantes. Nos demais tempos houve diferença significativa no sentido de maiores resultados de HDL colesterol no grupo Placebo. Na semana 4 o grupo Ativo diminuiu significativamente o HDL colesterol e se mantém nesse patamar. O grupo Placebo se mantém no mesmo patamar de resposta em todos os momentos, conforme Tabela 21 e Gráfico 10. As Tabelas de comparações múltiplas podem ser verificadas no Anexo G.

Tabela 21 - Valores de HDL colesterol em média e desvio padrão com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção - HC-FMUSP - 2013 a 2016

Grupo	Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12	p ¹ grupo	p ¹ momento	p ¹ interação
Ativo	41,65±9,34	34,32±8,03	34,03±9,10	33,24±8,52	0,085	<0,001	<0,001
Placebo	38,78±8,43	39,58±11,49	38,83±7,51	38,61±6,35			
p ²	0,166	<0,001	<0,001	<0,001			

¹ análise de variância (ANOVA). ² análise de comparações múltiplas
HDL: Lipoproteína de alta densidade

Gráfico 10 - Comportamento da variável média de HDL colesterol nos quatro momentos de análise

HDL: Lipoproteína de alta densidade

5.3.4.5 Análise de síndrome metabólica

Para este parâmetro observou-se que na semana 0 os grupos apresentam resultados semelhantes. Segundo as análises realizadas, não há diferença entre os grupos em todos os momentos (semana 0, semana 4, semana 8 e semana 12). Também não há diferença significativa entre os momentos para ambos os grupos (Ativo e Placebo) (Tabela 22). As Tabelas de comparações múltiplas podem ser verificadas no Anexo G.

Tabela 22 - Número de pacientes com SM com início e após 12 semanas, segundo grupo de intervenção - HC-FMUSP - 2013 a 2016

Grupo	Semana 0		Semana 12		p ⁵
	N	%	N	%	
Ativo	21	56,8%	27	73,0%	0,109
Placebo	21	58,3%	19	52,8%	0,754
p ⁴	1,000		0,122		

⁴Teste de Qui-quadrado ⁵Teste de Mc Nemar
SM: Síndrome metabólica

5.3.5 Resultados dos parâmetros de resposta cardiovascular

5.3.5.1 Parâmetro dilatação fluxo mediada da artéria braquial

Para o parâmetro de DFMAF foram feitas as seguintes análises: comparativo do diâmetro basal da artéria braquial, comparativo para o diâmetro do vaso após estresse de cisalhamento nos momentos 40 a 60 segundos (variação absoluta) e porcentagem de dilatação (variação percentual) para os dois grupos.

Comparativos para diâmetro basal e diâmetro dilatado entre 40 e 60 segundos (diâmetro HR40-60) em mm

Para estes parâmetros observou-se que na semana 0 os grupos apresentam resultados semelhantes. Segundo as análises realizadas, não há diferença entre os grupos em todos os momentos para os dois parâmetros (semana 0 e semana 12). Também não há diferença significativa entre os momentos para ambos os grupos (Ativo e Placebo) (Tabela 23). As Tabelas de comparações múltiplas podem ser verificadas no Anexo G.

Tabela 23 - Valores do diâmetro basal e diâmetro HR40-60 com início e variação após 12 semanas, segundo grupo de intervenção - HC-FMUSP - 2013 a 2016

Parâmetro	Grupo	Semana 0	Semana 12	p ¹		
		Média±DP	grupo	momento	interação	
Diâmetro Basal (mm)	Ativo	4,56±0,53	4,60±0,52	0,718	0,701	0,132
	Placebo	4,55±0,48	4,52±0,46			
Diâmetro HR40-60 (mm)	Ativo	4,67±0,51	4,79±0,52	0,369	0,117	0,051
	Placebo	4,63±0,54	4,61±0,45			

¹ análise de variância (ANOVA)

DP: Desvio padrão

Comparativos para porcentagem de dilatação

Para estes parâmetros observou-se que na semana 0 os grupos apresentam resultados semelhantes. Segundo as análises realizadas, não há diferença entre os grupos em todos os momentos para a %DFM (semana 0 e semana 12). Também não há diferença significativa entre os momentos para ambos os Grupos (Ativo e Placebo) (Tabela 24). As Tabelas de comparações múltiplas podem ser verificadas no Anexo G.

Tabela 24 - Valores para %DFM com início e variação após 12 semanas, segundo grupo de intervenção - HC-FMUSP - 2013 a 2016

Grupo	Semana 0	Semana 12	p ¹		
	Média±DP	grupo	momento	interação	
Ativo	2,65±3,94	4,17±3,93	0,877	0,198	0,455
Placebo	1,70±5,82	2,10±4,07			

¹ análise de variância (ANOVA)

%DFM: Porcentagem de dilatação fluxo mediada; DP: Desvio padrão

5.3.5.2 Parâmetro moléculas de adesão endotelial: sICAM-1, sVCAM-1 e Selectina-sE em ng/mL

Para estes parâmetros foi preconizado ajuste das variáveis conforme o Estudo PRIME²⁶⁰. Inicialmente foi utilizado o teste t-student para verificar se havia diferenças significantes quanto às características basais de idade, colesterol HDL e LDL e triglicérides, conforme descrito anteriormente neste capítulo. Como não se encontrou diferenças significativas entre os grupos nas suas características basais, não se indicou necessidade de ajuste.

Foi realizada análise comparativa entre os grupos Ativo e Placebo para os momentos semana 0 e semana 12 para as moléculas de adesão endotelial. Segundo as análises realizadas, não há diferença entre os grupos em todos os momentos para sICAM-1, sVCAM-1 e Selectina-sE (semana 0 e semana 12). Também não há diferença significativa entre os momentos para ambos os grupos (Ativo e Placebo) (Tabela 25).

Tabela 25 - Valores de sICAM, sVCAM e Selectina-sE com início e variação em 12 semanas, segundo grupo de intervenção - HC-FMUSP - 2013 a 2016

Parâmetro	Grupo	Semana 0	Semana 12	p ¹		
		Média±DP		grupo	momento	interação
sICAM-1 (ng/mL)	Ativo	507,7±179,9	528,4±254,1	0,606	0,592	0,387
	Placebo	542,6±142,9	537,7±140,5			
sVCAM-1 (ng/mL)	Ativo	612,6±159,7	598,1±144,3	0,724	0,219	0,611
	Placebo	635,1±172,8	600,3±177,5			
Selectina-sE (ng/mL)	Ativo	99,9 1±42,5	100,8 1±42,1	0,923	0,551	0,299
	Placebo	101,2 1±37,4	97,7 1±36,2			

¹ análise de variância (ANOVA)

DP: Desvio padrão; sICAM-1: ICAM-1 solúvel; sVCAM-2: VCAM-1 solúvel

5.3.5.3 Parâmetro células progenitoras endoteliais: CPEC, CPEC146+, CEC e CEC146+

Para avaliação de CPEs foram feitas as seguintes análises: comparativo das células CEPs, CEPs146+, CECs e CECs146+. No entanto, algumas considerações são necessárias: os primeiros oito pacientes não tiveram sua dosagem de CPEs realizada por questões de logística quanto ao fluxo e organização do processamento; e os pacientes considerados de valor aberrante ou atípicos (*outliers*) foram retirados das análises.

Para estes parâmetros observou-se que na semana 0 os grupos apresentam resultados semelhantes. Segundo as análises realizadas, não há diferença entre os grupos em todos os momentos para CEPs, CEPs146+, CECs e CECs146+ (semana 0 e semana 12). Também não há diferença significativa entre os momentos para ambos os Grupos (Ativo e Placebo) (Tabelas 26). As Tabelas de comparações múltiplas podem ser verificadas no Anexo G.

Tabela 26 - Valores de CEPs, CEPs146+, CECs e CECs146+ em 1 x 10⁴ PBMC* com início e variação em 12 semanas, segundo grupo de intervenção - HC-FMUSP - 2013 a 2016

Parâmetro	Grupo	Semana 0	Semana 12	p ¹		
		Média±DP		grupo	momento	interação
CEPs	Ativo	0,185±0,247	0,163±0,214	0,203	0,658	0,355
	Placebo	0,212±0,267	0,272±0,257			
CEPs 146+	Ativo	0,050±0,094	0,027±0,030	0,179	0,878	0,146
	Placebo	0,048±0,073	0,076±0,097			
CECs	Ativo	0,370±0,243	0,291±0,212	0,909	0,551	0,203
	Placebo	0,321±0,223	0,350±0,226			
CEC146+	Ativo	0,059±0,069	0,034±0,025	0,306	0,383	0,074
	Placebo	0,033±0,026	0,042±0,031			

¹ análise de variância (ANOVA). * *Peripheral Blood Mononuclear Cells* (PBMC); Células mononucleares de sangue periférico
CEC: Células endoteliais circulantes; CEPs: Células endoteliais progenitoras; DP: Desvio padrão

Na sequência foi realizada análise de correlação entre testosterona total e CEPs, CEPs146+, CECs e CECs146+ na semana 0. Não se verificou correlação entre as variáveis, indicando que na amostra estudada não houve redução de células progenitoras ou células endoteliais circulantes associada aos níveis de testosterona total, conforme Tabela 27. A Tabela completa pode ser verificadas no Anexo G.

Tabela 27 - Análise de correlação entre CEPs, CEPs146+, CECs e CECs146+ (em 1 x 10⁴ PBMC*) e testosterona total (ng/dL) - HC-FMUSP - 2013 a 2016

		Testosterona semana 0
CEPs semana 0	Coefficiente de Correlação*	-0,072
	p	0,564
CEPs 146+ semana 0	Coefficiente de Correlação*	-0,136
	p	0,358
CEC semana 0	Coefficiente de Correlação*	-0,209
	p	0,101
CEC 146+ semana 0	Coefficiente de Correlação*	-0,190
	p	0,182

*Coeficiente de correlação de Pearson

**Peripheral Blood Mononuclear Cells* (PBMC); Células mononucleares de sangue periférico

CEC: Células endoteliais circulantes; CEPs: Células endoteliais progenitoras

5.3.5.4 Considerações sobre as análises dos objetivos

Algumas observações quanto ao seguimento dos pacientes se fazem necessárias:

- O paciente 26, cadeirante com amputação de membro inferior, realizou bioimpedância elétrica de sistema tetrapolar, sendo método diferente do realizado nos demais pacientes do protocolo e portanto não foi considerado para a análise dos parâmetros de composição corporal, exceto IMC e CA.

- O Paciente 43 teve parte de sua amostra laboratorial hemolisada na semana 12 (Visita 6) e teve parte de suas análises laboratoriais excluídas.

Para análise do parâmetro DFMA B algumas considerações são necessárias:

- O paciente 1 (placebo) foi excluído da análise por apresentar câncer de tireoide em tratamento, apesar de bom prognóstico, devido à oscilações no TSH do paciente ao longo do seguimento - apesar de níveis de TSH não terem sido considerados na triagem como critérios de exclusão.
- O paciente 33 compareceu à visita 6 porém recusou-se a realizar a DFMA B. No entanto, teve seus dados antropométricos, de bioimpedanciometria e exames laboratoriais coletados. Dessa forma, terá as análises realizadas somente destes parâmetros.
- A DFMA B não foi realizada no paciente 63 (ativo) devido a problemas técnicos no aparelho.
- O paciente 67 (placebo) foi excluído da análise por ter apresentado recaída de tabagismo durante o seguimento.

Quadro 9 - Relação de pacientes não utilizados nas análises de DFMAB

Paciente	Randomização	Motivo para não utilização dos dados
1	Placebo	Carcinoma papilífero de tireoide em tratamento, com oscilação de TSH.
6	Ativo	Perda de seguimento
13	Placebo	Perda de seguimento
20	Placebo	Intervenção descontinuada
24	Ativo	Perda de seguimento
30	Placebo	Perda de seguimento
33	Placebo	Recusa
45	Placebo	Perda de seguimento
55	Ativo	Perda de seguimento
61	Ativo	Perda de seguimento
63	Ativo	Problemas técnicos no aparelho
67	Placebo	Recaída Tabagismo
69	Placebo	Óbito
71	Ativo	Perda de seguimento
75	Placebo	Perda de seguimento
77	Placebo	Perda de seguimento

5.3.6 Resultados parâmetros de efeitos adversos

Durante o período de acompanhamento, o paciente 20 foi considerado intervenção descontinuada por queixa de cefaleia atribuída à intervenção e o paciente 69 faleceu entre a randomização e a semana 4 por broncopneumonia. Ambos pacientes estavam alocados no grupo placebo.

5.3.6.1 Comparativos para hematócrito

Para este parâmetro observou-se que na semana 0 os grupos apresentam resultados semelhantes. Segundo as análises realizadas, não há diferença entre os grupos em todos os momentos (semana 0, semana 4, semana 8 e semana 12) (Tabela 28). A Tabela de comparações múltiplas pode ser verificada no Anexo G.

Tabela 28 - Valores para hematócrito (%) com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção - HC-FMUSP - 2013 a 2016

Randomização	Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12	p ¹		
	Média±DP				grupo	momento	interação
Grupo Ativo	43,93±2,35	44,29±2,52	45,28±2,61	44,89±5,66	0,267	0,141	0,409
Grupo Placebo	43,86±2,59	43,80±2,56	44,00±2,68	44,06±2,70			

¹ análise de variância (ANOVA)

DP: Desvio padrão

5.3.6.2 Comparativos para antígeno prostático específico sérico (PSA) total

Segundo as análises realizadas, na semana 0 os grupos apresentam resultados semelhantes. Como houve diferença significativa na análise de variância, aplicou-se o teste de comparações múltiplas para verificar onde estariam as diferenças. Na semana 4 o Grupo Ativo aumenta significativamente o PSA total e se mantém nesse patamar nos demais momentos. O Grupo Placebo se mantém no mesmo patamar de resposta, conforme Tabela 29 e Gráfico 11. As Tabelas de comparações múltiplas pode ser verificada no Anexo G.

Tabela 29 - Valores para PSA total (ng/mL) em média e desvio padrão com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção - HC-FMUSP - 2013 a 2016

Randomização	Semana 0	Semana +4	Semana +8	Semana +12	p ¹ grupo	p ¹ momento	p ¹ interação
Grupo Ativo	0,62±0,41	0,77±0,50	0,75±0,51	0,76±0,48	0,114	0,265	0,023
Grupo Placebo	0,58±0,50	0,56±0,39	0,55±0,40	0,55±0,40			
Comparativo entre grupos (p ²)	0,995	<0,001	0,001	<0,001			

¹ análise de variância (ANOVA). ² análise de comparações múltiplas
PSA: Antígeno prostático específico sérico

Gráfico 11 - Comportamento da variável PSA os quatro momentos de análise

PSA: Antígeno prostático específico sérico

5.3.6.3 Respostas ao questionário internacional de sintomas prostáticos

Para este parâmetro observou-se que na semana 0 os grupos apresentam resultados semelhantes. Segundo as análises realizadas, não há diferença entre os grupos em todos os momentos (semana 0, semana +4, semana +8 e semana +12). Também não há diferença significativa entre os momentos para ambos os Grupos (Ativo e Placebo) (Tabela 30). A Tabela de comparações múltiplas pode ser verificada no Anexo G.

Tabela 30 - Valores da pontuação de IPSS com início e variação após 4,8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção - HC-FMUSP - 2013 a 2016

Randomização	Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12	p ¹		
	Média±DP				grupo	momento	interação
Grupo Ativo	8,39±5,19	8,14±4,52	7,86±4,67	8,58±5,23	0,583	0,233	0,312
Grupo Placebo	9,86±5,98	8,11±5,41	8,89±5,30	8,50±5,75			

¹ análise de variância (ANOVA)

DP: Desvio padrão

5.3.6.4 Comparativos para transaminase glutâmico- pirúvica (TGP)

Segundo as análises realizadas, na semana 0 os grupos apresentam resultados semelhantes. Como houve diferença significativa na análise de variância, aplicou-se o teste de comparações múltiplas para verificar onde estariam as diferenças. Na semana 8 o Grupo Ativo reduz significativamente o valor de TGP e se mantém nesse patamar nos demais momentos. O Grupo Placebo se mantém no mesmo patamar de resposta, conforme Tabela 31 e Gráfico 12. As Tabelas de comparações múltiplas podem ser verificadas no Anexo G.

Tabela 31 - Valores para TGP (U/L) em média e desvio padrão com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção - HC-FMUSP - 2013 a 2016

Randomizaçã o	Semana 0	Semana +4	Semana +8	Semana +12	p ¹ grupo	p ¹ momento	p ¹ interação
Grupo Ativo	35,41±19,12	29,73±14,21	27,30±11,91	27,95±13,20	0,042	<0,001	0,109
Grupo Placebo	38,50±19,12	37,56±18,62	35,85±15,63	37,21±17,04			
Comparativo entre grupos (p ²)	0,759	0,002	<0,001	<0,001			

¹ análise de variância (ANOVA). ² análise de comparações múltiplas
TGP: Transaminase glutâmico-pirúvica

Gráfico 12 - Comportamento da variável TGP nos quatro momentos de análise

TGP: Transaminase glutâmico-pirúvica

5.3.6.5 Comparativos para transaminase glutâmico-oxalacética (TGO)

Para estes parâmetros observou-se que na semana 0 os grupos apresentam resultados semelhantes. Segundo as análises realizadas, não há diferença entre os grupos em todos os momentos (semana 0, semana 4, semana 8 e semana 12). Também não há diferença significativa entre os momentos para ambos os Grupos (Ativo e Placebo) (Tabela 32). A Tabela de comparações múltiplas pode ser verificada no Anexo G.

Tabela 32 - Valores para TGO (U/L) com início e variação após 4, 8 e 12 semanas, segundo grupo de intervenção - HC-FMUSP - 2013 a 2016

Randomi zação	Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12	p ¹		
	Média±DP				grupo	momento	interação
Grupo Ativo	22,54±6,84	20,92±6,75	22,08±9,56	22,89±11,30	0,913	0,172	0,891
Grupo Placebo	22,03±8,73	21,40±8,65	21,46±8,51	22,74±8,60			

¹ análise de variância (ANOVA)

DP: Desvio padrão; TGO: Transaminase glutâmico-oxalacética

5.3.6.6 Efeitos Adversos autorreferidos

Durante o período de seguimento os eventos adversos eram rastreados em cada consulta (semana 4, semana 8 e semana 12) e os comparativos foram feitos através do teste de qui-quadrado. Observa-se que não há diferença significativa nas proporções de eventos adversos autorreferidos nos dois grupos.

Tabela 33 - Efeitos adversos

Variável	Grupo Ativo (N=39)	Grupo Placebo (N=39)	p ⁴
Sonolência	5 (12,8%)	0	0,064
Ganho de peso/edema (inchaço)	3 (7,7%)	3 (7,7%)	1
Cansaço/astenia	2 (5,1%)	4 (10,3%)	0,671
Irritabilidade	2 (5,1%)	0	0,474
Insônia	2 (5,1%)	0	0,474
Alteração de hábito intestinal	1 (2,6%)	1 (2,6%)	1
Ansiedade	1 (2,6%)	1 (2,6%)	1
Aumento do apetite	1 (2,6%)	1 (2,6%)	1
Candidíase uretral	1 (2,6%)	1 (2,6%)	1
Enxaqueca	0	1 (2,6%)	0,979
Percepção de redução de testículos	0	1 (2,6%)	1
Roncos	0	1 (2,6%)	1
Câimbras	0	1 (2,6%)	1

⁴ teste de qui-quadrado

6 DISCUSSÃO

A obesidade é uma doença crônica que tem apresentado taxa de crescimento cada vez maior em escala global⁶⁰. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), os níveis de obesidade praticamente triplicaram em nível mundial desde 1975²⁶¹. Nesse ambiente, faixas etárias mais jovens tem sido cada vez mais acometidas e portanto, novas estratégias de tratamento devem ser consideradas para essa população.

O uso do CC no tratamento do HG masculino, considerando sua capacidade na manutenção de fertilidade, tem se tornado uma opção emergente nos últimos anos, conforme verificado em literatura^{6,15,27-29,220,222,225-227,234,262-264}. No entanto, sua indicação em pacientes obesos com diagnóstico de HG ainda é bastante reduzida se comparada à sua aplicação no tratamento de infertilidade como terapia antiestrogênica para oligoespermia^{35,231,262,265}.

Apesar dos benefícios potenciais do CC para o tratamento de homens hipogonádicos descritos em diversos estudos^{14,227,266-268} observa-se que não há na literatura, até o presente momento, estudos duplo cegos, randomizados controlados que contemplem os objetivos do presente trabalho.

6.1 Resultados de Resposta Clínica

O objetivo do presente estudo é fornecer dados referentes ao uso do CC em pacientes obesos hipogonádicos com relação aos sintomas, perfil hormonal e metabólico, risco cardiovascular e efeitos adversos. Dessa forma optou-se por não realizar a avaliação de fertilidade, focando nos efeitos possíveis de melhora clínica, metabólica e composição corporal quando se traça um paralelo aos efeitos da TRT em homens obesos^{12,18,19,269}.

Wilken *et al.*²⁹ ao estudarem o uso do CC e da TRT com gel ou injeções em hipogonádicos sintomáticos entre 35 e 75 anos (acompanhados entre 2013 e 2014) verificaram que os sintomas sexuais e psicológicos responderam de forma semelhante e independente da terapêutica utilizada. A avaliação foi realizada através da aplicação do questionário ADAM (três ou mais questões positivas), sendo que a menor idade dos pacientes estudados foi preditora de melhor resposta.

Taylor *et al.*²⁶⁶ ao avaliarem o CC e a testosterona em gel no contexto de custo efetividade em homens com diagnóstico de infertilidade, aplicaram o questionário ADAM via telefone após 6 meses de tratamento com CC. A média do questionário ADAM pré tratamento foi de 4,9 questões para 2,1 questões positivas no seguimento. Os pacientes incluídos apresentavam testosterona total abaixo de 300 ng/dL à inclusão.

No presente estudo houve redução significativa da pontuação do ADAM em ambos os grupos, indicando que a melhora não se deveu ao efeito da medicação em si. Também não se verificou diferença entre os grupos estudados (Placebo e Ativo) durante o tratamento. Ambos os grupos apresentaram redução dos sintomas após a semana 4 de acompanhamento.

Diversos estudos demonstraram que o questionário ADAM apresenta alta sensibilidade na identificação do HG - uma sensibilidade de 88%; porém por apresentar baixa especificidade - de 60%; deverá ser associado à dosagem de testosterona sérica para o diagnóstico de HG^{116,117,270,271}.

Scovell *et al.*²⁷², em recente publicação de 2015, investigaram a associação entre sintomas de HG e testosterona total sérica em homens jovens, abaixo dos 40 anos, a fim de determinar um nível de testosterona abaixo do qual os sintomas avaliados em questionário seriam mais prevalentes. O resultado foi a associação de sintomas com testosterona total menor que 400 ng/dL. O sintoma falta de energia foi o maior preditor do nível abaixo de 400 ng/dL.

Atualmente, o questionário ADAM é uma das ferramentas de triagem mais utilizadas porém não permite a quantificação das respostas, o que torna a avaliação do grau de melhora após o início da terapia mais difícil¹¹⁵. A proposta de uso de outros testes, como o uma variante do questionário ADAM (ADAMq) usando uma resposta graduada, é uma possibilidade de monitorar as respostas dos pacientes ao tratamento¹¹⁵. No entanto, ainda é necessário que se tenha a validação para o uso desse novo questionário.

Para uma avaliação mais detalhada do perfil de sintomas no seguimento, também foram incluídos, no presente estudo, perguntas sobre o número de intercursos sexuais por semana e queixa de insatisfação com a vida sexual. Também foram avaliadas individualmente as queixas de perda de libido (questão 1 questionário ADAM) e perda de vigor na ereção (questão 7 questionário ADAM) - pois estas são questões que isoladamente

recebendo “sim” também tornariam o questionário positivo. Com relação à questão 7 (“Percebe se as ereções são menos vigorosas?”), o grupo Ativo apresentou redução da queixa entre a semana 0 e a semana 12.

No importante estudo de Katz *et al.*⁶, com uso de CC em uma média de 19 meses, observou-se melhora subjetiva em todas as questões do questionário ADAM - exceto perda de altura; sendo que mais da metade dos pacientes observados (do total de 86 homens com testosterona total abaixo de 300 ng/dL) obtiveram melhora em no mínimo três questões. Quando se compara o presente estudo com a literatura¹⁵ verifica-se um maior tempo de uso de CC para que se cheguem às conclusões sobre sua efetividade na redução/melhora dos sintomas⁶.

Seguindo este raciocínio, pode-se observar no trabalho de Guay *et al.*²²⁴ - com administração de CC 50 mg em 3 dias na semana por 2 meses - ausência de resposta com relação a um combinado de questionários de satisfação sexual e número de intercursos sexuais mensais. Apesar da normalização da testosterona nos pacientes estudados, o período de 2 meses não foi suficiente para a melhora clínica.

A eficácia da CC no alívio dos sintomas do hipogonadismo é frequentemente relatada como sendo inferior à TRT, porém sem o apoio de estudos randomizados duplo cegos²⁷. Ramasamy *et al.*²²² em estudo comparativo observacional retrospectivo de 93 homens que receberam CC ou terapia de suplementação de testosterona, verificaram que níveis de testosterona foram mais altos com TRT injetável que CC ou gel. Para o diagnóstico foi aplicado o questionário ADAM e para o seguimento, o

questionário ADAMq. Nenhuma diferença nos sintomas foi observada entre os participantes em qualquer forma de tratamento utilizado.

6.2 Resultados de Resposta Hormonal

6.2.1 Considerações sobre a redução da testosterona sérica e seu diagnóstico no contexto da obesidade

A redução da testosterona associada ao ganho de peso é bem estabelecida na literatura, como demonstram diversos estudos^{36,37,39-41,79,273}. Conforme discutido anteriormente, a associação entre SM e baixos valores de testosterona também é bem documentada^{274,275}, além da identificação de baixos níveis séricos de testosterona como marcadores de SM. Neste ponto a SM associa-se a baixos valores de testosterona independente do critério aplicado, ratificando a ideia de que a SM pode ser considerada fator de risco independente para o HG⁶⁶. No presente estudo, verificou-se a presença de SM em 22 (56,4%) de 39 pacientes do grupo ativo e 23 (59%) de 39 pacientes do grupo placebo pelos critérios NCEP ATPIII²⁷⁶. Na literatura o estudo de Hamidi Madani *et al.*²⁷⁷ em 214 homens com DE, encontrou frequência relativa da SM de 41,5%, e de deficiência de testosterona (considerada pelos autores de menos que 5 ng/dL de testosterona livre, ou seja, 200 pmol/L) de 36,5%. Verificou-se que a associação de SM com deficiência de testosterona foi de 19,5%.

Ainda sobre os dados dos pacientes na randomização, a média da testosterona total na inclusão foi de 225,8 ng/dL $\pm$ 70 ng/dL no grupo ativo e 216 ng/dL $\pm$ 72,1 ng/dL no grupo placebo. Com relação à testosterona total

como critério de inclusão, ao analisarmos os dados de literatura sobre os critérios de diagnóstico de HG em pacientes obesos, observa-se pouca padronização.

Loves *et al.*²⁷⁸, a fim de normalizar os níveis de testosterona em pacientes com HGAO, utilizaram para o diagnóstico a dosagem sérica de testosterona livre abaixo de 225 pmol/L, dosagem de LH sérico inapropriadamente baixa (menor que 9,0 UI/L) além da exclusão de deficiências adicionais pituitárias, doenças metabólicas ou uso de medicamentos com possibilidade de interferência com o eixo HHT. Bendre *et al.*²³⁴ em estudo retrospectivo para avaliação de CC em homens jovens utilizaram a dosagem de testosterona total abaixo de 350 ng/dL em duas ocasiões e níveis baixos ou normais de LH e FSH.

A opção, no presente estudo, do uso de testosterona total abaixo de 300 ng/dL em duas medidas, se baseou no ponto de corte proposto pela Sociedade Americana de Endocrinologia². No entanto, estudos^{279,280} apontam para o uso da testosterona total e a presença sintomas, e indicam o valor abaixo de 346 ng/dL (12 nmol/L) e 320 ng/dL²¹⁰. Para a análise atual, a presença de sintomas foi avaliada por meio do questionário ADAM e um composto de questões relativas aos sintomas conforme previamente descrito, seguindo protocolo diagnóstico de Dandona *et al.*³³.

Tajar *et al.*²⁸¹ nos pacientes provenientes do Estudo Europeu do Envelhecimento Masculino (*European Male Aging Study* [EMAS]) propuseram critérios mínimos para o diagnóstico: (a) a presença de sintomas sexuais em combinação com (b) testosterona total inferior a 11

nmol/L (317 ng/dL) e testosterona livre abaixo de 220 pmol/L. No presente estudo, apesar da testosterona livre não ter sido considerada critério de inclusão, os pacientes apresentavam valores médios abaixo dos preconizados pelos autores, no grupo ativo 192,6 pmol/L $\pm$ 57,1 pmol/L e no grupo placebo 186,4 pmol/L $\pm$ 66,6 pmol/L na semana 0.

Para diagnóstico é importante considerar, segundo Saboor *et al.*¹²⁹ a presença de: (a) IMC $\geq$ 30 kg/m²; (b) sinais e sintomas que sugiram HG; (c) caso a SHBG esteja em níveis normais, a presença de testosterona total abaixo do limite inferior para homens jovens, confirmada em duas ocasiões ou no caso de SHBG anormal, dosagem de testosterona livre ou biodisponível, em ensaio confiável, nos limites inferiores ao de homens jovens; e (d) LH e FSH baixos ou inapropriadamente normais e exclusão de lesões hipotalâmicas e do HG primário.

Ao analisar o comportamento da SHBG nos quatro momentos do estudo, observou-se que na semana 0 a SHBG do grupo ativo (21,2 nmol/L $\pm$ 7,9 nmol/L) e placebo (22,9 nmol/L $\pm$ 9,6 nmol/L) apresentam-se na média dentro do valor de referência utilizado (18,3 nmol/L a 54,1 nmol/L) - o que indica que a redução da SHBG não ocorre em todos os pacientes. Isso reforça a observação feita por Teerds *et al.*⁷² que em homens obesos leves e moderados, a redução da testosterona total sérica pode ser atribuída à redução da SHBG, mas em homens severamente obesos, a redução da testosterona total vem associada aos outros fatores que em conjunto contribuem para a redução hormonal.

6.2.2 Considerações sobre a resposta hormonal

Após as 12 semanas do presente estudo, foi possível observar que os pacientes do grupo Ativo apresentaram elevação dos níveis séricos de testosterona total, livre, FSH e LH já a partir da quarta semana de tratamento. Os parâmetros hormonais são compatíveis com os resultados encontrados por Moskovic *et al.*¹⁵ durante tratamento de 46 pacientes durante 36 meses e com outros estudos descritos na literatura^{6,14,226,227,229,282}.

Na comparação de dados entre o estudo atual e Moskovic *et al.*¹⁵ observou-se que testosterona total inicial dos autores (228 ng/dL±48 ng/dL) foi semelhante à do presente estudo (225,8 ng/dL±70 ng/dL para o grupo Ativo). No primeiro ano, observou-se elevação da testosterona total, com média da amostra de 612 ng/dL±212 ng/dL. No entanto, não há descrição sobre a inclusão de pacientes com obesidade, e a dose de CC no período foi menor (titulação de 25 mg em dias alternados para 50 mg em dias alternados), que a do presente estudo.

O estudo de Pelusi *et al.*²⁸³, recentemente publicado, incluiu 24 pacientes obesos recém diagnosticados com diabetes ou intolerância à glicemia. Os pacientes foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos, a fim de receber CC na dose de 25 mg/dia ou placebo no período de 3 meses. Depois, após 6 meses sem tratamento (*wash-out*), mudaram para o outro tratamento por mais 3 meses. Ambos os grupos receberam metformina na dose de 2 g/dia. Observou-se elevação significativa ($p<0,001$) na testosterona total, livre, LH, FSH, E₂. Da Ros *et al.*²²⁷ também observaram resposta hormonal semelhante em homens com média de idade de 62 anos, não obesos em 3 meses de seguimento.

Um ponto importante a ser considerado é a capacidade do CC em induzir resposta nos pacientes com HG de origem central ou mista. Nos diferentes trabalhos em que seu uso foi avaliado (Quadro 10) foi possível definir resposta (elevação de testosterona) nos pacientes com células de Leydig capazes de reagir ao estímulo central restaurado pelo CC.

Mazzola *et al.*²⁸⁴ ao estudarem 76 homens com HG diagnosticado por duas medidas de testosterona total abaixo de 300 ng/dL, avaliaram como preditores de resposta ao tratamento com CC: o volume testicular e o nível de LH. A definição de resposta se baseou em um aumento de 200 ng/dL na testosterona total basal e o CC foi utilizado em 25 mg em dias alternados. O volume testicular proposto como preditor foi ≥ 14 mL e o nível de LH ≤ 6 IU/mL. No presente estudo verificou-se no grupo Ativo: nível de LH de 4,3 IU/mL $\pm 1,8$ IU/L e volume testicular direito de $23,1 \text{ cm}^3 \pm 3,6 \text{ cm}^3$ e volume testicular esquerdo de $23,2 \text{ cm}^3 \pm 3,5 \text{ cm}^3$.

Ainda sobre a definição de resposta, Guay *et al.*¹⁴ indicam que o estímulo com 50 mg de CC três vezes na semana pode ser tanto diagnóstico como terapêutico. Se o paciente não responder com incremento de 75% na testosterona e 100% de aumento no LH, indica-se avaliação do eixo hipotalâmico. No presente estudo observou-se no grupo ativo: testosterona total média de 255,54 ng/dL com elevação para 687,94 ng/dL (elevação de 205%) e com relação ao LH observou-se elevação média de 4,25 IU/L para 9,75 IU/L (elevação de 129%).

Sabe-se que o E_2 tem papel central na regulação do eixo hormonal reprodutivo⁹⁶. O desbalanço da relação T: E_2 é implicado diretamente na

fisiopatologia do HG associado à obesidade, conforme previamente descrito no presente trabalho.

Shabsigh *et al.*²⁸⁵ ao estudarem o uso de 25 mg de CC diários em 36 homens com diagnóstico de HG estabelecido por nível de testosterona total sérica abaixo de 300 ng/dL (com idade média de 39 anos e três pacientes obesos) observaram no período entre 4 a 6 semanas elevação nos níveis de testosterona total, E₂ e elevação na relação T:E₂. A proposta dos autores é que o aumento na relação T:E₂ seria mais importante do que o aumento na testosterona total no acompanhamento do tratamento.

No presente estudo não se observou diferença significativa na relação T:E₂ entre os momentos estudados e entre os grupos. A diferença entre os resultados encontrados na literatura e o presente estudo pode ser explicada pela expansão do tecido adiposo abdominal no paciente obeso. Quando foram avaliados os dados das comparações múltiplas de E₂ na semana 0 (32,48 pg/mL±12,59 pg/mL) e no seguimento semana 12 (89,44 pg/mL±47,85 pg/mL) a elevação é semelhante à da testosterona total - pois, manteve-se inalterado o processo de conversão em E₂ proporcional à elevação de testosterona total, via atividade da aromatase. Como na análise de IMC os pacientes ativos não apresentaram perda de peso comparados aos placebos, nem obtiveram mudanças com relação à redução circunferência abdominal, gordura visceral e massa de gordura o mecanismo fisiopatológico se manteve.

Por fim, ao observar-se elevação significativa de LH e FSH durante o período de tratamento com CC, verifica-se seu potencial em restaurar o eixo

HHT em pacientes com obesidade e com função testicular normal. Conforme mencionado anteriormente, a obesidade é uma das causas de HG secundário^{39,40}, apresentando perfil hormonal descrito como “hipogonadismo hipogonadotrófico hiperestrogênico”^{37,39,41}. A ausência de um defeito orgânico, mas sim de uma situação funcional causada pelo hiperestrogenismo poderia indicar o uso do CC como um potencial aliado na abordagem do paciente obeso.

6.2.3 Considerações sobre a dose utilizada de CC no perfil hormonal

Apesar dos benefícios potenciais do CC para o tratamento de homens hipogonádicos descritos em diversos estudos^{14,227,266-268}, ainda não há consenso sobre sua dosagem ótima e seu impacto sobre o sistema cardiovascular. Além disso, destaca-se que a eficácia da CC no alívio dos sintomas do hipogonadismo é frequentemente relatada como sendo inferior à terapia exógena, afirmação feita sem o apoio de estudos randomizados duplo cegos²⁷.

Na literatura, a partir do estudo de Tenover *et al.*²²³ em 10 pacientes hipogonádicos que receberam 100 mg de CC ao dia por 8 semanas resultando em elevação da testosterona total, vários estudos se seguiram para identificar a melhor dosagem, indicação e avaliação dos efeitos do seu uso, conforme Quadro 10.

Quadro 10 - -Estudos com CC

Ano	Autor	Metodologia	Resultados/ Conclusões
1995	Guay <i>et al.</i> ²²⁴	17 homens com HG secundário em estudo duplo cego, randomizado, placebo controlado receberam CC por 2 meses, na dose de 50 mg segundas, quartas e sextas	Elevação nos níveis de LH e testosterona total após estimulação com CC
2003	Guay <i>et al.</i> ¹⁴	Avaliação retrospectiva de 178 homens com HG secundário e DE que receberam CC por 4 meses, na dose de 50 mg segundas, quartas e sextas	A estimulação com CC não elevou o nível de testosterona para níveis supranormais, mantendo-o dentro do intervalo normal
2005	Shabsigh <i>et al.</i> ²⁸⁵	Dose diária de 25 mg de CC, em estudo prospectivo, aberto, braço único	A baixa dose de CC é efetiva em elevar a testosterona sérica e melhorar a relação T:E ₂ em homens hipogonádicos
2005	Whitten ²⁸⁶	Estudo retrospectivo com 11 homens com diagnóstico de HG hipogonadotrófico, sem descrição de dose de CC	A melhora no sêmen e parâmetros endócrinos é vista com 3 meses de tratamento
2006	Ioannidou-Kadis <i>et al.</i> ²³⁷	Relato de caso de paciente com HG hipogonadotrófico idiopático após administração de 50 mg de CC 3 vezes ao dia por 7 dias seguidos de uma fase de manutenção de 25 a 50 mg por dia por 4 meses, com um intervalo sem medicação de 2 meses em a primeira fase e a manutenção	Normalização de testosterona, função sexual e secreção de gonadotrofinas
2009	Ribeiro e Abucham ²⁸²	14 homens com HG secundário ao tratamento com agonista dopaminérgico para prolactinoma receberam CC 50 mg/dia por 12 semanas, avaliados em estudo prospectivo, aberto e de braço único	CC restaura os níveis normais de testosterona, melhora a motilidade de espermatozoides, e recupera a função gonadal independente dos níveis de prolactina
2009	Taylor <i>et al.</i> ²⁶⁶	Estudo comparativo entre uso de testosterona gel e CC em homens com testosterona total < 300 ng/dL	CC é opção para homens com HG com menor custo se comparado à TRT em gel
2012	Moskovic <i>et al.</i> ¹⁵	Estudo prospectivo, aberto e de braço único com 46 pacientes seguidos por 3 anos, receberam 25 mg de CC em dias alternados titulados para 50 mg dias alternados conforme nível de testosterona. O alvo de testosterona total foi arbitrariamente ajustado para 550±50 ng/dL	A eficácia e segurança do CC quando utilizado à longo prazo para estimulação central nos pacientes com HG. Também neste estudo foi visto ganho na densidade mineral óssea nos pacientes tratados, o que poderia ser mais um benefício no tratamento com CC
2012	Katz <i>et al.</i> ⁶	Estudo prospectivo, aberto e de braço único com 86 homens com testosterona total <300 ng/dL que receberam CC em dias alternados, dose inicial de 25 mg titulada para 50 mg, seguimento médio de 19 meses	Todos os homens apresentaram resposta hormonal, sem intolerância e maiores efeitos colaterais
2015	Bendre <i>et al.</i> ²³⁴	Análise retrospectiva de 18 homens jovens obesos ou com sobrepeso com HG 25 mg CC diário por 3 meses	CC associa-se ao aumento nos níveis de FSH, LH e testosterona em homens obesos com HG, no entanto sem alteração no IMC durante os 3 meses de tratamento avaliado
2017	Pelusi <i>et al.</i> ²⁸³	Estudo cruzado, duplo cego, randomizado placebo controlado com 24 homens com obesidade e diabetes ou intolerância à glicose, recém diagnosticados, recebendo 25 mg de CC diário por 3 meses, período de wash-out de 6 meses e nova intervenção	CC associa-se a aumento de testosterona total e FSH. Houve melhora dos parâmetros de glicemia de jejum e HOMA-IR no período observado

CC Citrato de clomifeno; DE: Disfunção erétil; E₂: Estradiol; FSH: Foliculo estimulante; HG: Hipogonadismo; HOMA-IR: Homeostasis model assesment; IMC: Índice de massa corporal; LH: Hormônio luteinizante; T: Testosterona; TRT: Terapia de reposição com testosterona

Dessa forma, além da dosagem ótima e duração do tratamento não serem consenso na maior parte dos trabalhos, não se evidencia avaliação do risco cardiovascular nos pacientes em uso de CC. O mesmo questionamento para o CC deve ser feito na medida em que a TRT - que é tratamento padrão - tem seu perfil de segurança avaliado em diversos estudos e metanálises com relação ao risco cardiovascular.

6.3 Considerações Sobre os Parâmetros de Composição Corporal

Recentemente, o conceito de que a TRT possa ser considerada uma nova arma terapêutica contra a obesidade tem sido proposto. Segundo Bhasin *et al.*²⁸⁷, a administração de andrógenos causa uma mudança na expressão de genes de síntese muscular no musculoesquelético, levando ao anabolismo. Em metanálise de 2016, Corona *et al.*¹² identificaram que a TRT determina redução da gordura e aumento da massa muscular em diferentes desfechos metabólicos, além de redução da RI.

No presente estudo não foi identificada diferença significativa entre grupos para o IMC e CA. Os resultados significativos no sentido de melhora da composição corporal incluem aumento de massa magra e massa livre de gordura no grupo Ativo verificadas na semana 12 e aumento de massa de musculoesquelético a partir da semana 8. No entanto sem significância na redução de massa de gordura e gordura visceral.

Como não há, até o presente momento, um estudo com CC que tenha avaliado o comportamento de parâmetros de composição corporal, a comparação com o encontrado na TRT poderia oferecer uma explicação

para que no presente estudo mudanças de composição corporal mais impactantes não tenham sido verificadas.

Bhasin *et al.*²⁸⁷ avaliaram administração semanal de 100 mg de enantato de testosterona por 10 semanas e verificaram ganho em massa magra porém sem alteração em massa de gordura. Já na metanálise de Corona *et al.*¹² é possível verificar o que foi descrito como um efeito dual: aumento de massa magra e redução de massa de gordura, o que gera em efeito nulo da TRT sobre o IMC e peso corporal. Os autores indicam que mesmo em homens com HG tardio, a TRT não deva ser considerada como tratamento de curto prazo para a obesidade, o que converge com as observações de Saad *et al.*²⁷⁹. A consideração neste ponto é que a janela de observação dos estudos clínicos randomizados controlados (ECRC) é mais curta que a dos estudos observacionais, e isso poderia explicar a ausência de uma resposta mais significativa no IMC.

Em outro estudo, Saad *et al.*¹ avaliaram os efeitos de longo prazo da TRT em parâmetros antropométricos de homens com HG e vários graus de obesidade, que receberam injeções de undecanoato de testosterona a cada 3 meses, em seguimento médio de 8 anos. Foi observada significativa perda de peso e redução da CA que já ocorriam a partir do primeiro ano de tratamento se comparado ao início do tratamento (*baseline*). Na análise dos dados, verificou-se que a cada ano havia redução significativa da CA se comparada ao ano anterior e aos dados iniciais. Os autores também avaliaram o peso dos pacientes nos primeiros 3 e 6 meses de TRT e relataram um fenômeno transitório de retenção hídrica.

Dessa forma, com relação à literatura atual, verifica-se que os efeitos metabólicos da TRT são tempo-dependentes. Griggs *et al.*²⁸⁸ estudaram o efeito da administração de enantato de testosterona na massa muscular em homens sem comorbidades, verificando aumento de síntese proteica no período de 12 semanas. Outros estudos com TRT e avaliação da composição corporal, alterações em massa livre de gordura foram vistas entre 6 meses a 36 meses de tratamento^{5,289,290}. A identificação, no presente estudo, que alterações no perfil de composição corporal, já possam ser vistas ao longo das primeiras 12 semanas de tratamento reforçam que o CC seja considerado um potencial aliado na abordagem do paciente obeso ou com síndrome metabólica.

6.4 Considerações Sobre os Parâmetros Metabólicos

Com relação aos parâmetros metabólicos, observou-se redução do HDL colesterol no grupo Ativo no período de 12 semanas. O resultado é divergente do encontrado por Lee *et al.*²⁹¹, em estudo com 99 homens com diagnóstico de HG com idade média de 39 anos, que não observaram alterações nos níveis de LDL, HDL, colesterol total e triglicérides durante a média de 13 meses de tratamento com 25 ou 50 mg diários de CC. Da Ros *et al.*²²⁷ também obtiveram resultados semelhantes a outro estudo de Lee *et al.*²⁸, com uso diário de 25 mg CC em 3 meses de tratamento.

No entanto ainda são poucos estudos até o momento que avaliaram os efeitos do uso do CC no perfil lipídico. Já quando são consideradas as evidências sobre os efeitos TRT na lipemia, os resultados são bem mais

robustos. Estudos associam o uso exógeno da testosterona ao aumento da atividade da lipoproteína lipase, envolvida no catabolismo do HDL^{219,292}.

Isidori *et al.*¹⁰⁷ em metanálise realizada com o objetivo de avaliar os efeitos da TRT na composição corporal e densidade óssea em homens hipogonádicos e eugonádicos, reuniram diversos estudos com diferentes tipos de reposição de testosterona e duração do tratamento proposto. Segundo os autores, o efeito da TRT no perfil lipídico é ainda muito controverso. Quando a TRT era feita com ésteres de testosterona havia menor redução do HDL colesterol se comparada à outras formulações, como undecanoato de testosterona oral, cipionato de testosterona e testosterona transdérmica. Uma possível explicação seria a de que a aromatização da testosterona exógena para E₂ teria clara importância na manutenção da concentração de HDL colesterol¹⁰⁷.

Na situação hormonal oposta, observa-se que o hipoandrogenismo é associado com redução de HDL colesterol, elevação de LDL colesterol, colesterol total e triglicérides. Também há piora do perfil lipídico quando a TRT é realizada em altas doses²⁹³.

No presente estudo, quando foi avaliado o combinado de achados há uma redução significativa do HDL colesterol a partir da quarta semana, que coincide com a maior parte das alterações hormonais verificadas, como elevação de testosterona total, livre e E₂. No entanto, conforme visto anteriormente, não houve alteração na relação T:E₂ no período de seguimento. Dessa forma, cabe salientar que apesar da elevação de E₂ ter ocorrido, a relação T:E₂ manteve-se inalterada, possivelmente não sendo efetiva em evitar a redução de HDL.

Com relação ao CC, o maior estudo realizado até o momento¹⁵ não teve como objetivos a avaliação do perfil lipídico e metabólico. Dessa forma, os dados mais próximos ao comportamento dos pacientes seriam novamente traçando um paralelo com estudos de TRT.

Quando foi avaliada a TRT a longo prazo²¹, os pacientes em uso de undecanoato de testosterona por um período de no mínimo 8 anos apresentam melhora no perfil lipídico com reduções expressivas de colesterol total, LDL colesterol e triglicérides. Houve também um aumento do HDL no grupo tratado e uma redução na relação colesterol total: HDL, preditiva de risco cardiovascular.

O estudo *Testosterone replacement in hypogonadal men with either Metabolic Syndrome or type 2 diabetes* (TIMES2), com 12 meses de seguimento médio, demonstrou melhora no perfil de RI, perfil lipídico e disfunção sexual em homens com DM2 com ou sem SM em uso de testosterona exógena. Os eventos cardiovasculares ocorreram menos comumente no grupo testosterona comparados ao grupo placebo (4,6% vs 10,7%; $p = 0,095$); porém com efeito protetor de curta duração e sem significância estatística. Quanto ao perfil lipídico, homens com SM apresentaram 7% de redução em colesterol total e colesterol LDL. De forma contrária, houve redução em 6% das concentrações de HDL colesterol nos grupos SM e diabetes tipo 2 e não foi observado efeito em triglicérides²⁹⁴.

Para os outros parâmetros metabólicos, não se observou, no presente estudo, alterações no colesterol total, LDL colesterol, triglicérides, hemoglobina glicada e insulinemia, além de não ter sido verificada alteração

na pressão arterial. Uma possibilidade seria devido ao curto tempo da intervenção. O estudo crossover de Gopal *et al.*²⁶⁹ com 22 homens diabéticos com HG que receberam T injetável ou placebo por 3 meses igualmente não verificou alterações na sensibilidade à insulina, hemoglobina glicada, lípidos e parâmetros biométricos. A revisão do Consenso da Sociedade Americana de Endocrinologia¹⁶ indica que o grau de evidência clínica para a melhora nos níveis de sensibilidade à insulina permanece inconclusiva em homens hipogonádicos com DM2. Já em homens com SM, benefícios potenciais são vistos em novos estudos e aguardam nova revisão. Um deles é a recente metanálise de Corona *et al.*¹² que reuniu estudos com pacientes hipogonádicos idosos, com ou sem diabetes e com ou sem SM e relatou perfil glicêmico e metabólico favorável após administração de testosterona, além de melhora na composição corporal.

Observa-se na literatura um ponto em comum: a melhora na sensibilidade insulínica é mais tardia e ocorre com longos períodos de tratamento. Haider *et al.*²² em seguimento por mais de 8 anos com pacientes recebendo TRT verificaram melhora em todos os parâmetros de SM. Durante o seguimento observou-se redução sustentada de hemoglobina glicada em cerca de 2% ($p < 0,0001$). Com 6 meses de TRT, Jones *et al.*²⁹⁴ demonstraram redução de 15,2% no índice HOMA-IR comparado ao placebo.

Já dados do estudo TriUS²⁹⁵ indicam que a melhora dos parâmetros metabólicos ocorre a depender o quartil de testosterona que o paciente alcança durante o tratamento (quanto mais alto o quartil, verifica-se

melhora), e durante 1 ano de tratamento não se observou alterações em triglicérides e HDL colesterol, independente do nível de testosterona.

No presente estudo, não foi observada elevação de Pas e Pad no grupo tratado. Haider *et al.*²² em estudo observacional com 77 homens (idade de 61 anos $\pm$ 5 anos) com diagnóstico prévio de doença arterial coronariana e/ou acidente vascular cerebral isquêmico que receberam undecanoato de testosterona a cada 3 meses por 8 anos, observaram redução significativa de Pas e Pad, sendo gradual nos primeiros por 6 anos. Pela literatura, a testosterona modularia a pressão arterial através de uma série de mecanismos bioquímicos e fisiológicos e baixos níveis de testosterona estariam associados à hipertensão arterial sistêmica^{1,296}.

6.5 Resultados Parâmetros de Resposta Cardiovascular

Sabe-se, pela literatura, que a deficiência androgênica pode levar à disfunção endotelial^{139,201,202,297}. Dessa forma, é possível aventar a hipótese que a elevação da testosterona sérica, seja de forma exógena através da TRT ou endógena através do CC, possa ser benéfica no contexto de redução do risco cardiovascular.

Com relação aos dados de risco cardiovascular, Aversa *et al.*²⁹⁸ analisaram os componentes de SM durante TRT e realizaram avaliação da medida da íntima média carotídea e dosagem sérica de proteína C reativa ultrasensível (PCRus). Nesse estudo as principais alterações resultantes da TRT foram a redução da CA, redução da massa de gordura, melhora do parâmetro HOMA-IR, íntima media carotídea e redução da PCRus, sem

alteração no IMC dos pacientes estudados. Kapoor *et al.*¹⁴², em um grupo de 24 pacientes hipogonádicos com critérios para SM, demonstraram que a TRT reduziu a hemoglobina glicada, a glicemia de jejum, índice HOMA-IR e CA.

O relevante estudo *Testosterone Replacement in Older Men and Atherosclerosis Progression* (TEEAM)³⁰ recrutou 308 homens acima dos 60 anos, divididos em dois braços paralelos: placebo e TRT com gel, ajustando dose de T total entre 500 ng/dL e 900 ng/dL, e se pode verificar, ao longo de 3 anos de seguimento, que não houve alteração na espessura da íntima média carotídea e na contagem (*score*) de cálcio coronariano nos dois grupos estudados.

Apesar das perspectivas promissoras quanto ao uso da TRT, Fernandez-Balsells²¹² em artigo de revisão e metanálise, analisaram 51 estudos e não observaram diferença significativa nas taxas de óbitos, infarto, procedimentos de revascularização ou arritmias cardíacas entre os grupos testosterona e placebo/não intervenção.

Na literatura, diversos estudos avaliam os riscos e benefícios da TRT quanto ao seu potencial uso no contexto do HG associado à obesidade e SM³¹. Os artigos mais relevantes estão enumerados no Quadro 11.

Quadro 11 - Estudos avaliando hipogonadismo e risco cardiovascular

Ano	Autor	Conclusões	Observação
2013	Vigen <i>et al.</i> ²⁹⁹	Após análise retrospectiva de uma coorte de homens hipogonádicos (TT <300 ng/dL) do VA <i>system</i> Americano (Sistema de Assuntos de Veteranos), os autores, ao avaliarem os dados de mortalidade geral, infarto agudo do miocárdio e acidente vascular isquêmico, associaram o uso da TRT ao aumento de risco de eventos adversos na ordem de 25,7% na curva cumulativa de risco de Kaplan Meyer durante o seguimento de 3 anos	Foram observados múltiplos erros na metodologia e 26 sociedades médicas solicitaram revisão dos dados ³¹
2014	Finkle <i>et al.</i> ³⁰⁰	Análise retrospectiva de uma coorte de seguro saúde avaliando as taxas de infarto agudo do miocárdio não fatal 90 dias após a prescrição de TRT, comparado aos 12 meses anteriores. O risco relativo pré/pós prescrição foi de 1,36. No grupo de homens acima de 65 anos foi de 2,19	A confiabilidade dos dados foi questionada por se tratar de uma base de seguro saúde, sujeita, em tese, a mais erros. Também questionou-se a validade da comparação, pois verificou-se que as taxas de prescrição de TRT eram significativamente menores, o que prejudicaria a análise ³¹
2010	Basaria <i>et al.</i> ³⁰¹	Estudo prospectivo randomizado, chamado de <i>TOM trial</i> (T em homens idosos com Limitação da Mobilidade), com objetivo de avaliar benefício muscular e funcional em homens idosos. Foi interrompido devido ao aumento nos efeitos adversos cardiovasculares	A avaliação cardiovascular não consistia objetivo primário ou secundário para este estudo, e os eventos cardiovasculares reportados poderiam não apresentar importância clínica ou ser de relatos subjetivos ³¹
2013	Xu <i>et al.</i> ³⁰²	Metanálise de 27 estudos placebo controlados com 12 ou mais semanas de duração. A TRT aumentou o risco de eventos cardiovasculares	A observação importante é que dos 27 estudos incluídos, 2 deles contam por 35% dos eventos cardiovasculares descritos. Um dos estudos é o ensaio <i>TOM trial</i> , cujo objetivo não foi a avaliação cardiovascular. O segundo é o estudo Copenhagen 1986 ³⁰³ que utilizou uma formulação oral de TRT resultando em TT acima de 4000 ng/dL em média
2014	Corona <i>et al.</i> ¹⁰	Metanálise de 75 estudos clínicos placebo controlados avaliando efeitos da TRT e desfechos cardiovasculares. Os autores não observam que a TRT esteja relacionada com aumento no risco cardiovascular, seja com risco simples ou composto. Nos pacientes com risco metabólico, a TRT apresentou papel protetor com relação ao risco cardiovascular	

T: Testosterona; TOM: *Testosterone in Older Men with Mobility Limitation*; TRT Terapia de reposição com testosterona; TT: Testosterona total; VA- *Veterans Affairs*

Sharma *et al.*⁹ em estudo observacional realizado entre dezembro de 1999 e maio de 2014, em homens que fizeram uso de TRT, indicaram que a normalização dos níveis de testosterona após a TRT está associada com redução na mortalidade total. Anos antes, Shores *et al.*⁸ também em estudo observacional apresentaram resultados semelhantes quanto à mortalidade.

Para estimar o risco cardiovascular, é possível lançar mão da DFMA, como instrumento para identificação mais precoce deste risco, conforme previamente descrito.

No presente estudo, as análises de DFMA não apresentaram diferença entre o grupo Ativo e o grupo Placebo após a intervenção. Este resultado difere do encontrado por Kang *et al.*¹⁴¹, no acompanhamento de TRT por 12 semanas em homens hipogonádicos não obesos, obtendo melhora os parâmetros de reatividade vascular de forma endotélio dependente e independente.

Quando a DFMA foi comparada entre homens hipogonádicos que receberam tratamento com enantato de testosterona (250 mg em 1 mL de solução oleosa) e controles eugonádicos, observou-se que a DFMA apresentava-se elevada nos homens hipogonádicos tratados comparados com eugonádicos e que a elevação terapêutica da testosterona nos homens hipogonádicos reduz a reatividade endotélio mediada para os níveis dos homens eugonádicos³⁰⁴. No entanto, os resultados têm se mostrado controversos a depender da dosagem e forma de testosterona reposta. No estudo de Kenny *et al.*¹⁶⁴ foi verificado que, quando a reposição de testosterona era transdérmica, homens acima dos 65 anos não apresentaram alteração na vasodilatação endotélio dependente.

Estudos verificaram adicionalmente que tanto a reposição aguda³⁰⁵ quanto a crônica¹⁴¹ de testosterona elevaram a porcentagem de DFMA determinando um potencial efeito vasodilatador endotelial da testosterona. Akishita *et al.*¹³⁹ avaliaram que quando a porcentagem da DFMA da artéria

braquial com testosterona era ajustada com a porcentagem da DFM com nitroglicerina, indicativa do percentual máximo de modificação do diâmetro do vaso, ainda havia comprovação da ação da testosterona sobre o endotélio.

No presente estudo, pode-se observar efeito neutro do CC sobre a dilatação endotelial. Ambos os grupos apresentam na semana 0 níveis semelhantes de resposta à DFMAB, que se mantem na semana 12 do tratamento. O número pequeno de pacientes incluídos no estudo, as perdas durante o seguimento e o curto tempo de intervenção podem ter propiciado a resposta de neutralidade. São escassos os estudos que avaliam os efeitos da DFMAB em homens obesos e/ou em obesidade com perda de peso^{145,306,307}, e não há, até o presente momento, estudo que tenha avaliado o efeito do CC sobre a DFMAB. Dessa forma, os modelos possíveis de comparação são os de homens hipogonádicos que receberam TRT com e sem eventos cardiovasculares prévios.

No tocante ao comportamento das moléculas de adesão endotelial, os dados de literatura indicam papel da testosterona na redução da expressão das adesinas e fatores inflamatórios. O estudo de Jones *et al.*¹⁸⁵ demonstra que a terapia com reposição de testosterona é efetiva em reduzir os níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias como IL- β , TNF- α , bem como a expressão de VCAM-1 nas células endoteliais aórticas. Um estudo experimental demonstrou redução da expressão de mRNA de ICAM-1, VCAM-1 e P-selectina em células endoteliais pré-tratadas com estrona, progesterona ou testosterona¹⁸⁶.

No presente estudo, no entanto, não foi constatada redução de adesinas no período de tratamento. Assim como a DFMAb, houve efeito nulo nesses parâmetros.

Segundo as evidências, existe correlação inversa entre os níveis de testosterona livre e VCAM-1 em pacientes com doença coronariana¹⁴⁴. Partindo desse achado, o passo seguinte seria avaliar se a TRT em pacientes com HG tardio poderia reduzir a expressão das adesinas, dado ainda não disponível na literatura até o presente momento. O estudo mais semelhante²⁹³ em pacientes HG verificou o efeito do anastrozol, um inibidor de aromatase, no comportamento de marcadores inflamatórios e do perfil lipídico em homens idosos com baixos níveis de testosterona por 12 semanas. Quarenta e um indivíduos foram recrutados e divididos em três grupos: anastrozol 1 mg/dia, anastrozol 1 mg duas vezes na semana e grupo placebo. Durante o período de observação houve aumento significativo do nível de testosterona e redução de E₂ mas sem alteração significativa no perfil lipídico e marcadores de risco cardiovascular: IL-6, sVCAM-1, sICAM-1 e no HOMA-IR.

Em relação às CEPs não se verificou mudanças ao longo do seguimento no presente estudo. Com relação à resposta sobre o comportamento das CEPs com o uso do CC no HG masculino não foram encontrados dados na literatura. O que se conhece é o efeito de redução das CEPs no ambiente de hipoandrogenemia²⁰², em que foi vista associação entre o baixo nível sérico de testosterona em pacientes hipogonádicos e os níveis circulantes de células progenitoras. Quando não tratados, estes pacientes apresentavam níveis baixos dessas células, o que sugere um

papel da testosterona na sua maturação e proliferação, uma vez que a TRT induzia aumento significativo das CEPs.

Liao *et al.*²⁰⁰ avaliando a TRT (gel transdérmico 1% 5 g/dia) em homens com diagnóstico de HG tardio observaram aumento do número de células progenitoras após 3, 6 e 12 meses de tratamento. Mas, em contrapartida, concluíram que o nível de testosterona total antes da TRT não é significativamente associado com o número de CEPs circulantes em homens com diagnóstico de HG tardio.

Ainda analisando esse estudo²⁰⁰, quando se verifica em qual momento existe diferença significativa do número médio de CEPs comparados a linha de base, observa-se uma diferença a partir do terceiro mês de tratamento. No entanto, o grupo de pacientes tem características diferentes do presente estudo: são homens com idade média de 57,9 anos $\pm$ 9,7 anos, ponto de corte de testosterona total utilizado foi de 350 ng/dL e o IMC médio era de 28,1 kg/m² $\pm$ 5,3 kg/m².

Na busca de estudos que poderiam explicar o comportamento das CEPs em obesos, encontrou-se o estudo de Kelly *et al.*³⁰⁸ com 107 crianças obesas com idade média de 13,1 anos $\pm$ 3,8 anos, sendo 68 meninos. Embora os níveis médios de CEC ativada tenham sido maiores nos grupos com sobrepeso e obesidade em comparação com os controles de peso normais, observou-se um nível significativamente maior no grupo com obesidade grave. Ainda avaliando obesidade em crianças, o estudo de Pires *et al.*²⁰⁷ identificou aumento de CEPs relacionado ao maior IMC dos pacientes estudados.

Na obesidade em adultos verificou-se aumento de CEPs em pacientes obesos e redução de CEPs em pacientes após perda de peso³⁰⁹. Com IMC basal médio entre 47 kg/m² e 49 kg/m² o estudo incluiu homens e mulheres com o perfil de CEPs de CD34+/KDR+/CD45-. No presente estudo considerou-se células endoteliais circulantes (CD3-CD19-CD14- e CD31+VERGFR2+) e células progenitoras endoteliais circulantes (CD3-CD19-CD14- e CD34+CD31+VERGFR2+) com e sem o CD146.

Cabe salientar que no contexto da identificação das CEPs, não há descrição na literatura de marcador específico para identificar essas células, o que torna seu isolamento controverso, pois sua identificação é baseada em marcadores de superfície celular compartilhados por outras linhas celulares hematológicas³¹⁰. Dessa forma, vários métodos foram usados para identificar as CEPs. A fim de minimizar falsos positivos, vários marcadores de CD foram integrados para identificar essas células como os ligadas a linhas celulares imaturos (por exemplo, CD34) e com comprometimento endotelial (por exemplo, receptor de domínio de inserção de quinase, KDR)²⁰⁷.

Conforme previamente descrito, a contagem e a função do CEPs se correlacionam inversamente com os fatores de risco cardiovascular, e podem prever a ocorrência de eventos cardiovasculares, particularmente na população adulta²⁰⁷. O estudo de Hill *et al.*¹⁹¹ foi essencial em relacionar a DFMAB com o número de CEPs. Quanto maior o grau de reatividade vascular maior o número de colônias de CEPs. Pacientes com maior número de colônias de CEPs apresentavam a DFMAB preservada, aqueles com baixa contagem de CEPs apresentavam DFMAB deprimida, independente da pontuação de Framingham³¹¹.

A presença de níveis reduzidos de CEPs nos pacientes de maior risco cardiovascular está associada ao aumento do estresse oxidativo gerando um dano contínuo que leva à perda da capacidade da medula óssea em suprir as CEPs como sistema de reparo¹⁹¹. No HG, que apresenta redução das CEPs²⁰², a elevação da testosterona seria proposta para elevar o nível de CEPs circulantes. Segundo Foresta *et al.*²⁰¹ os andrógenos estão envolvidos na indução da proliferação, migração e formação de colônias de CEPs em uma via mediada pelo receptor androgênico.

No presente estudo, para melhor identificar se a amostra apresentava alterações iniciais de CEPs ou CECs, realizou-se a análise de correlação na semana 0 entre testosterona total e DFMAB. Como não encontrou-se correlação, entende-se que a amostra dos pacientes selecionados não apresentava redução de CEPs ou CECs apesar dos baixos níveis de testosterona, o que é compatível com o estudo de Liao *et al.*²⁰⁰ Ainda a partir desse achado, é possível que alterações nos parâmetros cardiovasculares não tenham sido verificadas devido ao curto período estudado, se comparado ao estudo de Foresta *et al.*²⁰² com 6 meses de duração e população jovem incluída entre 23,7 anos e 32,5 anos.

O efeito nulo do CC nas CEPs, CECs, DFMAB e nas moléculas de adesão endotelial pode indicar que o restauro da testosterona total mantida dentro da faixa média da normalidade nos pacientes estudados não determinou piora do padrão de função endotelial, como ocorre nos estudos de TRT com doses mais altas de testosterona³¹².

6.6 Resultados dos Parâmetros Efeitos de Segurança

Para o uso de medicamentos que elevem a testosterona sérica no ambiente do homem obeso com hipogonadismo, estudos^{1,279} traçam o seguinte paralelo com os agentes anti-obesidade disponíveis: o uso de um agente farmacoterápico para a obesidade deve considerar manutenção e perda de peso, ser bem tolerado e verificar-se aderência do paciente ao tratamento. Além disso, conforme observações descritas por Cercato *et al.*³¹³, a obesidade é uma doença que vai requerer tratamento à longo prazo e de forma crônica, sendo o controle dos aspectos de segurança fundamental.

No presente estudo, não se observou elevação de hematócrito no grupo Ativo, apesar da elevação de testosterona total observada. Willets *et al.*²⁶³ avaliam que devido ao curto tempo de duração dos estudos com CC (3 a 6 meses) é pouco provável que se observem efeitos adversos, devido à curta duração dos protocolos. Com relação à TRT, Fernandez-Balsells *et al.*²¹² relatam que a elevação de hematócrito ocorre nos grupos de pacientes tratados. A aplicação intramuscular de testosterona estaria mais associada à incidência de eritrocitose, elevação de PSA total e incrementos em pressão sistólica e diastólica. O *status* da testosterona basal influenciaria no hematócrito, na medida que quanto mais baixo inicialmente, maior é a elevação do hematócrito.

Nos estudos com CC com maior duração^{15,264} e menor duração²⁸⁵, também não foram relatados eventos adversos. No presente estudo verificou-se elevação de PSA total (de cerca de 0,3 ng/mL), descrita com o uso da TRT²³, porém nesses estudos não houve evidência de aumento de câncer prostático^{4,16}.

É importante analisar o aumento de PSA em conjunto com a não piora dos sintomas urinários durante o seguimento, avaliada através do IPSS. Segundo do Consenso de HG de 2010² os sintomas de trato urinário inferior considerados através da avaliação do IPSS acima de 19 pontos, seriam uma contraindicação relativa para o uso da TRT. No entanto, a atualização do Consenso de 2015¹⁶ indica que essa recomendação necessita de revisão, devido aos novos estudos³¹⁴ não terem encontrado diferenças de sintomas entre grupos de pacientes tratados e não tratados.

Com relação aos efeitos colaterais autorreferidos não se observou diferença entre os dois grupos. Os efeitos adversos estão mais detalhadamente descritos nos estudos com enclomifeno, o isômero trans do CC. Relata-se fogachos, dores de cabeça, náuseas e vômitos com o uso²⁷.

7 CONCLUSÕES

O tratamento com citrato de clomifeno em homens obesos jovens foi associado à melhora do sintoma perda de vigor nas ereções (questão 7 do questionário ADAM “Percebe se as ereções são menos vigorosas?”). Não houve diferença em relação do grupo Placebo com relação ao questionário ADAM, sintoma de perda de libido, número de intercursos sexuais e satisfação com a vida sexual ao longo do período observado.

O tratamento com CC foi bastante efetivo em restaurar o eixo HHT, elevando testosterona total, livre, LH, FSH, estradiol e SHBG no período observado. Não se observou alteração na relação T:E2.

A composição corporal foi influenciada de forma positiva. Os parâmetros de massa magra, massa livre de gordura, massa de músculo esquelético apresentaram elevação de forma significativa no grupo Ativo. Contudo, não se observou alterações em índice de massa corporal, cintura abdominal, percentual de gordura corporal e massa de gordura entre os dois grupos.

Não foi observada melhora nos indicadores metabólicos durante as 12 semanas de intervenção. Os parâmetros de pressão arterial sistólica, diastólica, parâmetros glicêmicos (glicemia, hemoglobina glicada, insulinemia e índice HOMA-IR), colesterol total, LDL colesterol e triglicérides não apresentaram diferenças entre os grupos no período do protocolo. Pelo

contrário, observou-se piora do HDL colesterol durante o seguimento nos pacientes que receberam CC.

O CC teve efeito neutro na função endotelial pelos parâmetros de DFMAB, dosagens séricas de sICAM-1, sVCAM-1 e selectina-sE e quantificação de CEPs em citometria de fluxo. No período avaliado não houve piora da função endotelial mesmo com a elevação da testosterona decorrente do tratamento.

O uso do CC se mostrou seguro com relação às variáveis de segurança analisadas.

Anexo A - Questionário ADAM**Questionário ADAM Tradução para Português**

	SIM	Não
1) Tem observado diminuição do libido?		
2) Tem observado falta de energia?		
3) Percebe redução da força muscular?		
4) Perdeu altura?		
5) Notou se vem perdendo a alegria de viver?		
6) Fica triste ou rabugento com frequência?		
7) Percebe se as ereções são menos vigorosas?		
8) Tem diminuído as atividades esportivas?		
9) Sente sonolência após o jantar?		
10) Tem percebido uma piora no desempenho profissional?		

Anexo B - Termo de Consentimento livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO 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 No : SEXO : .M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO No
APTO: BAIRRO:
CIDADE
CEP:
TELEFONE: DDD (.....)

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA
HIPOGONADISMO SECUNDÁRIO À OBESIDADE: EFEITOS DO TRATAMENTO COM CITRATO DE CLOMIFENO
2. PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Cintia Cercato
CARGO/FUNÇÃO: Médico Assistente
INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL CREMESP No: 84722
UNIDADE DO HC-FMUSP: Endocrinologia

3. PESQUISADOR EXECUTANTE: Andressa Heimbecher Soares

CARGO/FUNÇÃO: Médico

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL CREMESP No: 123579

UNIDADE DO HC-FMUSP: Endocrinologia

4. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO X RISCO MÉDIO ☐RISCO BAIXO ☐ RISCO MAIOR ☐

5. DURAÇÃO DA PESQUISA : 60 meses

JUSTIFICATIVA, OBJETIVOS E PROCEDIMENTOS

Estudos têm mostrado que o ganho de peso no homem está associado a uma diminuição dos níveis de testosterona no organismo. Quando a testosterona - principal hormônio masculino - está presente no organismo em níveis abaixo do normal, o paciente pode apresentar diversos sintomas, como, por exemplo, perda da fertilidade, ganho de gordura corporal e aumento do risco de problemas cardíacos. Para contornar estes sintomas, um dos tratamentos utilizados é a reposição de testosterona, que pode reduzir a quantidade de gordura no corpo e diminuir as dosagens de colesterol. Porém o tratamento baseado na reposição de testosterona além de não atuar na recuperação da fertilidade, faz com que o paciente fique infértil.

O objetivo deste projeto é utilizar outro tratamento na tentativa de corrigir os baixos níveis de testosterona causados pelo aumento do peso sem o efeito colateral da perda da fertilidade. Tal tratamento será baseado na medicação chamada Citrato de Clomifeno. Além de buscar a correção dos níveis de testosterona, o projeto verificará se a utilização do Citrato de Clomifeno ajudará no controle das taxas de açúcar no sangue e de colesterol, e também se a utilização da medicação terá impacto sobre os riscos de problemas cardíacos.

Caso você concorde em participar deste projeto, serão usadas suas informações como idade atual, etnia, escolaridade, atividade profissional e procedência obtidas a partir de dados do prontuário. Poderão ainda ser utilizadas outras informações que se mostrem importantes ao longo do projeto. Você será acompanhado no período de 12 semanas, com visitas programadas ao ambulatório de Endocrinologia do Hospital das Clínicas da FMUSP conforme descrito abaixo:

1) Antes da inclusão (visitas 1 e 2): você terá sua história clínica completa coletada pelo pesquisador executante, e será submetido a exame físico para avaliar seu peso e sua altura. Você responderá a um questionário para saber se está apto a participar do estudo, e caso não tenha os exames necessários para ser incluído no estudo, serão fornecidas as guias de solicitação para a coleta dos seguintes exames:

- Dosagem de Testosterona no sangue: As dosagens serão realizadas em 2 dias diferentes com no mínimo 1 semana de intervalo, entre as 8:00 e 11:00 da manhã.
- Outras dosagens no sangue: LH, FSH, Estradiol, SHBG, prolactina, ferro e ferritina, glicose, HBA1c, colesterol total e frações, triglicérides, insulina, PSA total e livre, alanina amino transferase, aspartato amino transferase, uréia, creatinina e hemograma.

- 2) Visita 3: Na visita 3 você entregará o resultado dos exames pedidos na Visita 1 e 2. É neste momento que você poderá ser considerado apto ou não a continuar no estudo. Se você for considerado apto para continuar, o pesquisador executante fará uma anamnese e exame físico, para avaliar os seguintes dados: sua pressão arterial, seu peso, sua altura, a medida das circunferências da cintura abdominal, quadril e do pescoço e também a medida do tamanho do testículo. Você responderá um questionário para a avaliação da sua vida sexual, com idade de início das relações sexuais, frequência das relações sexuais no último mês, manifestação de desejo e excitação sexual, manifestação de insatisfação com a vida sexual e sintomas relativos à próstata.

Na Visita 3 você receberá os comprimidos, que poderá conter o medicamento ativo (Citrato de Clomifeno) ou placebo.

Espera-se que o projeto abranja em torno de 70 pacientes, divididos em dois grupos de aproximadamente 35 pacientes, um dos grupos receberá o medicamento ativo (Citrato de Clomifeno) e o outro placebo, sendo os pacientes distribuídos nos grupos por sorteio.

Serão realizados os seguintes procedimentos na Visita 3:

- a. Coleta de sangue para dosagem de ICAM, VCAM, E-selectina e células progenitoras endoteliais; estes 3 exames servem para informar sobre a saúde do coração e vasos sanguíneos.
 - b. Dilatação fluxo mediada da artéria braquial realizada em duas fases: hiperemia relativa e nitroglicerina. Este exame mede como funciona a artéria braquial (no braço) e também serve para informar sobre a saúde do coração e vasos sanguíneos.
 - c. Realização de bioimpedanciometria. Este exame informa a quantidade de gordura e músculos no corpo.
 - d. Orientação para o início da medicação e fornecimento da medicação/placebo.
 - e. Fornecimento de guia da para colher os exames de sangue no dia da próxima visita (Visita 4): LH, FSH, Estradiol, SHBG, testosterona total, glicose, HBA1c, colesterol total e frações, triglicérides, insulina, PSA total e livre, alanina amino transferase, aspartato amino transferase, uréia e creatinina.
- 3) Visitas 4 e 5: Quatro semanas após a Visita 3 ocorrerá a Visita 4, quando você será reavaliado para saber informações sobre o uso do medicamento. Depois da Visita 4, a próxima visita (Visita 5) também será com 4 semanas de intervalo. O pesquisador executante fará o exame físico para avaliar os seguintes dados: seu peso e sua pressão arterial. Você responderá ao questionário de avaliação dos sintomas da próstata e a atividade sexual no último mês. Na Visita 4 serão fornecidas guias da para colher os exames de sangue no dia da próxima visita (Visita 5). E na Visita 5 serão fornecidas guias da para colher os exames de sangue no dia da próxima visita (Visita 6). São os seguintes exames: LH, FSH, Estradiol, SHBG, testosterona total, glicose, HBA1c, colesterol total e frações, triglicérides, insulina, PSA total e livre, alanina amino transferase, aspartato amino transferase, uréia, creatinina e hemograma.
- 4) Visita 6: Você será reavaliado quatro semanas depois da Visita 5 para colher informações sobre o uso do medicamento. O pesquisador fará uma anamnese e exame físico, para avaliar os seguintes dados: seu peso, a medida das circunferências da cintura abdominal, quadril e pescoço. Você responderá ao questionário de avaliação dos sintomas da próstata e a atividade sexual no último mês.

Serão realizados os seguintes procedimentos:

- a. Coleta de sangue para dosagem de ICAM, VCAM e E-selectina e células progenitoras endoteliais.
- b. Dilatação fluxo mediada da artéria braquial realizada em duas fases: hiperemia relativa e nitroglicerina.
- c. Realização de bioimpedanciometria.
- d. Recolhimento dos frascos da medicação fornecida.
- e. Informações adicionais relativas ao encerramento da participação no estudo e coleta de email para seguimento com envio dos dados coletados para você.

DESCONFORTOS E RISCOS E BENEFÍCIOS:

Durante os procedimentos de coleta de sangue: Você poderá sentir um pouco de dor no local da picada, podendo aparecer um pequeno hematoma (mancha arroxeadas) que desaparecerá em pouco menos de uma semana.

Durante o exame de dilatação fluxo mediada da artéria do braço: Neste exame você ficará deitado em uma maca de forma confortável, durante cerca de 45 minutos. Primeiro será colocado no seu braço um manguito de pressão e um aparelho para medir a dilatação da artéria. O manguito vai apertar levemente o seu braço por 5 minutos. Neste tempo você poderá sentir um formigamento no braço. Quando o manguito for retirado a sensação de formigamento desaparecerá por completo. Em seguida será aplicado um spray de nitroglicerina (dose de 0,3 mg) em baixo da sua língua e novamente será repetido o procedimento, o manguito apertará levemente o seu braço por 5 minutos. Quando spray for aplicado, você poderá sentir uma leve dor de cabeça e um pouco de gosto amargo na boca.

Durante a realização de bioimpedanciometria: Não existe nenhum risco médico envolvido no uso de corrente elétrica de baixa intensidade de bioimpedanciometria, e o procedimento é indolor.

Durante o uso do Citrato de Clomifeno: Nos estudos prévios com homens que apresentavam baixos níveis de testosterona, não foram constatados efeitos colaterais com o uso do Citrato de Clomifeno. É muito importante que qualquer evento que venha a ocorrer durante o estudo seja anotado num diário e prontamente relatado ao médico.

Os benefícios previstos no estudo são resultado de aumentar os níveis de testosterona no sangue. Pode ocorrer melhora da composição corporal (redução da massa de gordura e aumento da massa muscular) e também das taxas de glicose e colesterol. Porém, não existem garantias de que os benefícios esperados serão obtidos com a participação do paciente no estudo. De qualquer forma, a sua participação pode contribuir para o desenvolvimento de um tratamento alternativo para pacientes obesos que tenham redução dos níveis de testosterona no sangue.

FORMA DE ACOMPANHAMENTO E ASSISTÊNCIA:

Caso você apresente algum problema em seus exames durante o acompanhamento, você será encaminhado para tratamento adequado no ambulatório de Endocrinologia e Metabologia do HC-FMUSP.

GARANTIA DE ESCLARECIMENTO, LIBERDADE DE RECUSA E GARANTIA DE SIGILO:

Você será esclarecido sobre a pesquisa em qualquer aspecto que desejar. Você é livre para recusar-se a participar, retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não irá acarretar qualquer penalidade ou perda de benefícios.

Os pesquisadores irão tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Os resultados do estudo serão enviados para você e permanecerão confidenciais. Seu nome ou o material que indique a sua participação não será liberado sem a sua permissão. Você não será identificado em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo.

Durante o decorrer deste estudo, novos achados, positivos ou negativos, podem surgir. Neste caso você será informado. Se estes novos achados tornarem necessário reavaliar a sua situação individual ou interromper a sua participação no estudo, seu médico irá explicar isto você. Consultas adicionais com o médico ou exames laboratoriais de seguimento podem ser necessários, se houver alterações em seus resultados de exames laboratoriais ou se seu estado clínico se alterar.

Pode haver circunstâncias em que você será afastado do estudo. Estas incluem piora marcante da sua condição, não adesão à medicação em estudo, se o pesquisador considerar que é de seu melhor interesse ou se o estudo for interrompido. Você poderá ser afastado sem a necessidade de seu consentimento.

Uma cópia deste consentimento informado será arquivada no Curso de Endocrinologia e Metabologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e outra será fornecida a você.

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, 18 - e-mail: cappelq@hcnet.usp.br.

CUSTOS DA PARTICIPAÇÃO, RESSARCIMENTO E INDENIZAÇÃO POR EVENTUAIS DANOS:

A participação no estudo não acarretará custos diretos para você. Não serão disponibilizadas quaisquer compensações financeiras para o caso gastos com transporte, tempo disponível para realização dos exames e das visitas, creche, alimentação, etc. Todos os medicamentos, procedimentos e consultas para este estudo serão fornecidos gratuitamente. A assistência médica não relacionada a este estudo como, por exemplo, qualquer outro exame ou tratamento ao qual você esteja se submetendo, será de sua exclusiva responsabilidade.

DECLARAÇÃO DA PARTICIPANTE OU DO RESPONSÁVEL PELA PARTICIPANTE:

Eu, _____, na qualidade de paciente, fui informado dos objetivos da pesquisa acima de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Eu concordei voluntariamente em participar deste estudo e com a compreensão de que nem todos os riscos de tal tratamento podem ser completamente conhecidos. Compreendo que a recusa em participar deste estudo não irá envolver qualquer sanção e nem perda de benefícios. Também compreendo que posso retirar meu consentimento e interromper o tratamento a qualquer momento sem penalidade e sem prejuízo para tratamento futuro ou alternativo nesta Clínica. Se qualquer problema ou questão aparecer durante o estudo em relação aos meus direitos, enquanto participante do estudo de pesquisa clínica, ou com relação à condição clínica relacionada à pesquisa, compreendo que devo entrar em contato com:

Dra. Cintia Cercato ou Dra. Andressa Heimbecher Soares

Telefone: (11) 26617516

Endereço: Rua Dr Éneas de Carvalho Aguiar, 155, 5o andar Bloco 4B Sala 11-A

Assinatura do paciente: _____

Assinatura da testemunha: _____

Assinatura do pesquisador: _____

Data ____/____/____

Anexo C - Divulgação em imprensa leiga

Disponível em: <<http://www.diabetes.org.br/colunistas/88-dra-andressa-heimbecher-soares/1272-voluntarios-para-estudos-clinicos-sobre-obesidade-e-deficiencia-de-testosterona>>

Disponível em: <<http://www5.usp.br/93984/hc-busca-voluntarios-obesos-para-pesquisa-sobre-testosterona-e-fertilidade/>>

Disponível em: <<http://saopaulo.sp.gov.br/spnoticias/lenoticia2.php?id=242136>>

SBEM Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia Regional São Paulo

Login

[Início](#) [Sobre a SBEM SP](#) [Para Associados](#) [Para o Público](#) [Eventos Médicos](#) [Contato](#)

HC seleciona homens obesos para pesquisa

Data de criação 23/06/2015

A Clínica de Endocrinologia e Metabologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP seleciona homens obesos saudáveis para pesquisa clínica com novo medicamento. Pode participar quem tiver entre 18 e 50 anos e não for fumante. A pesquisa avaliará melhora nos níveis de testosterona.

Os pacientes serão avaliados em consulta de triagem e terão os níveis de testosterona no sangue dosados. Os que apresentarem baixo nível participarão do protocolo de pesquisa, que envolverá 70 voluntários. Segundo a pesquisadora Andressa Heimbecher Soares, o objetivo do estudo é buscar a correção dos níveis de testosterona causados pelo aumento do peso sem o efeito colateral da perda da

Veja também:

Disponível em: < <http://sbemsp.org.br/hc-seleciona-homens-obesos-para-pesquisa/> >

minhavida saúde alimentação beleza fitness família bem-estar

HOME > SAÚDE > NOTÍCIA

USP busca homens com obesidade para serem voluntários em pesquisa

Objetivo é melhorar os níveis de testosterona sem efeito colateral da perda de fertilidade

POR REDAÇÃO - ATUALIZADO EM 16/03/2016

[f](#) COMPARTILHE [p](#)

A Clínica de Endocrinologia e Metabologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP) está selecionando homens obesos saudáveis para pesquisa clínica com novo medicamento. Pode participar quem tiver entre 18 e 50 anos e não for fumante. A pesquisa avaliará melhora nos níveis de **testosterona**.

Como será o processo?

Disponível em: <<http://www.minhavida.com.br/saude/noticias/20407-usp-busca-homens-com-obesidade-para-serem-voluntarios-em-pesquisa>>

Anexo D - Questionário de avaliação de sintomas sexuais

Questionário atividade sexual

Início atividade sexual: _____

Frequência das relações sexuais no último mês por semana: _____

Tem desejo e vontade sexual? () sim () não

Sente-se insatisfeito com a vida sexual? () sim () não

Anexo E - Técnica de congelamento das amostras para obtenção de células progenitoras endoteliais

Inicia-se com a transferência da amostra dos tubos contendo anticoagulante EDTA K2 para um tubo tipo *falcon* de 15 mL. Neste primeiro tubo adiciona-se volume de Dimetil Etilenodiamina 95% (DMEN, Sigma-Aldrich®) até a alíquota atingir 10 mL e o material é cuidadosamente homogeneizado por inversão de 5 a 8 vezes, (Fotos 2 e 3). Em seguida, adiciona-se em um tubo tipo *falcon* novo 5 mL de ficoll (ficoll®-paque plus testado para endotoxinas, GE® Healthcare Life Sciences). Com auxílio de pipeta *pasteur* de vidro de (2 mL), adiciona-se a este segundo tubo cuidadosamente o conteúdo do primeiro tubo até atingir 15ml do tubo *falcon*, Fotos 4,5 e 6.

O material é centrifugado (Centrífuga Sorval® RT7 Benchtop) por 30 minutos a 2.200 rotações por minuto (rpm) à temperatura de $\pm 15^{\circ}\text{C}$. Dessa forma, é realizado um gradiente de separação por densidade para obtenção da porção de células circulantes. Após a centrifugação forma-se um halo esbranquiçado (rico em células mononucleadas incluindo as células progenitoras endoteliais) entre a porção com eritrócitos com *ficoll* (camada inferior, Foto 7) e a porção contendo plasma (camada superior). O excesso de sobrenadante (plasma) é retirado - Foto 8 - e então o halo é aspirado através de pipeta *pasteur* de vidro para novo tubo tipo *falcon*, onde se completa o volume até 10 mL com PBS (Tampão fosfato-salino, Gibco®), fazendo-se nova diluição (ressuspende-se o centrifugado celular), Fotos 9 e 10.

Novamente o material é centrifugado por 5 minutos a 2.200 rpm. Esse procedimento é realizado afim de se retirar totalmente o *ficoll* da amostra. Ao término da centrifugação, despreza-se o sobrenadante (Fotos 11 e 12) e ressuspende-se o halo com 5 mL de Dimetiletilenodiamina 95% (Sigma-Aldrich®), Foto 13.

Os 5 mL são novamente centrifugados por 5 minutos a 2.200 rpm. O sobrenadante é desprezado (Foto 14) e o halo é ressuspenso em 2 mL no meio de congelamento preparado previamente, descrito a seguir (Foto15). Na sequência coloca-se com auxílio de micropipeta 1 mL em cada criotubo estéril (tubos CryoPure® Sarstedt®, Nümbrecht, Alemanha), obtendo-se 2 criotubos contendo 1 mL de cada amostra, colocados em um contêiner de congelamento (StrataCooler, Genomics®) e armazenados a -80°C.

O meio de congelamento é composto de 90% de Dimetiletilenodiamina 95% (Sigma-Aldrich®), suplementado com 10% com soro fetal bovino e adicionado a 10% de Dimetil sulfóxido (Sigma-Aldrich®).

Anexo F - Escore internacional de avaliação dos Sintomas Prostáticos

		Nenhuma vez	Menos de uma vez em cada 5	Menos que a metade das vezes	Cerca da metade das vezes	Mais que a metade das vezes	Quase sempre
1	No último mês, quantas vezes você teve a sensação de não esvaziar completamente a bexiga após terminar de urinar?	0	1	2	3	4	5
2	No último mês, quantas vezes você teve de urinar novamente menos de 2 horas após ter urinado?	0	1	2	3	4	5
3	No último mês, quantas vezes você observou que, ao urinar, parou e recomeçou várias vezes?	0	1	2	3	4	5
4	No último mês, quantas vezes você observou que foi difícil conter a urina?	0	1	2	3	4	5
5	No último mês, quantas vezes você observou que seu jato urinário estava fraco?	0	1	2	3	4	5
6	No último mês, quantas vezes você teve que fazer força para urinar?	0	1	2	3	4	5
7	No último mês, quantas vezes em média você teve que se levantar à noite para urinar?	Nenhuma	1 vez	2 vezes	3 vezes	4 vezes	5 vezes
8	Qualidade de vida	1 (Excelente)	2	3	4	5	6 (Péssima)

Anexo G - Tabelas completas sem edições - HC-FMUSP 2013 a 2016

Características iniciais da amostra quanto à idade, dados antropométricos e características clínicas segundo grupo de intervenção

		Grupo		teste t-Student (p)
		Ativo	Placebo	
Idade em anos	Média	35,5	35,6	0,951
	desvio-padrão	7,8	7,8	
	n	39	39	
Peso em kg	Média	140,9	145,5	0,502
	desvio-padrão	27,9	32,2	
	n	39	39	
IMC em kg/m ²	Média	45,5	47,2	0,470
	desvio-padrão	11,3	9,6	
	n	39	39	
Testículo direito em cm ³ *	Média	23,1	21,9	0,257
	desvio-padrão	3,6	5,0	
	n	39	38	
Testículo esquerdo em cm ³	Média	23,2	21,1	0,055
	desvio-padrão	3,5	5,8	
	n	39	39	
CA em cm	Média	137,5	139,7	0,611
	desvio-padrão	17,9	19,6	
	n	39	38	
CQ em cm	Média	120,3	122,9	0,450
	desvio-padrão	14,0	15,8	
	n	39	39	
CC em cm	Média	43,3	43,9	0,424
	desvio-padrão	3,5	3,1	
	n	39	39	
Questionário ADAM em número de questões positivas	Média	5,2	5,0	0,777
	desvio-padrão	2,6	2,1	
	n	39	39	
Número de relações sexuais por semana no último mês	Média	1,6	1,6	0,941
	desvio-padrão	1,4	1,7	
	n	39	39	
Questionário IPSS	Média	8,2	10,0	0,153
	desvio-padrão	5,1	6,0	
	n	39	39	
Testosterona total em ng/dL	Média	225,8	216,0	0,543
	desvio-padrão	70,0	72,1	
	n	39	39	
Testosterona livre em pmol/L**	Média	192,6	186,4	0,676
	desvio-padrão	57,1	66,6	
	n	35	36	
Hormônio Luteinizante (LH) em IU/L	Média	4,3	5,2	0,089
	desvio-padrão	1,8	2,9	
	n	39	39	
Hormônio Folículo-Estimulante (FSH) em IU/L	Média	4,1	4,7	0,301
	desvio-padrão	2,6	2,5	
	n	39	39	
Globulina Ligadora dos Hormônios Sexuais (SHBG) em nmol/L	Média	21,2	22,9	0,413
	desvio-padrão	7,9	9,6	
	n	39	39	

Continua

				Conclusão
		Grupo		teste t-Student (p)
		Ativo	Placebo	
Estradiol (E ₂) pg/mL	Média	31,4	35,9	0,169
	desvio-padrão	12,4	16,0	
	n	39	39	
Relação testosterona total em ng/dL : Estradiol (E ₂) ng/dL	Média	8,2	7,0	0,142
	desvio-padrão	3,9	3,4	
	n	39	39	
Massa magra em kg***	Média	70,3	72,9	0,431
	desvio-padrão	9,9	12,3	
	n	39	39	
Massa livre de gordura em kg***	Média	74,7	76,4	0,500
	desvio-padrão	9,8	13,0	
	n	39	38	
Massa de musculoesquelético em kg***	Média	42,5	43,5	0,524
	desvio-padrão	5,6	7,5	
	n	39	38	
Massa de gordura em kg***	Média	66,3	69,4	0,526
	desvio-padrão	20,6	22,8	
	n	39	39	
Percentual de gordura corporal***	Média	46,1	46,4	0,875
	desvio-padrão	6,1	6,6	
	n	39	38	
Glicemia em mg/dL	Média	95,5	100,4	0,372
	desvio-padrão	24,4	23,7	
	n	39	39	
Insulinemia em µU/mL	Média	33,0	31,6	0,667
	desvio-padrão	15,7	13,1	
	n	39	39	
HbA1c	Média	5,8	5,9	0,715
	desvio-padrão	0,8	1,1	
	n	39	39	
Pressão arterial sistólica em mmHg	Média	126,2	123,8	0,450
	desvio-padrão	13,9	13,5	
	n	39	39	
Pressão arterial diastólica em mmHg	Média	81,6	80,0	0,410
	desvio-padrão	9,2	8,3	
	n	39	39	
Colesterol total em mg/dL	Média	197,6	190,3	0,367
	desvio-padrão	35,8	35,8	
	n	39	39	
HDL - colesterol em mg/dL	Média	41,5	38,9	0,203
	desvio-padrão	9,1	8,3	
	n	39	39	
LDL - colesterol em mg/dL	Média	126,7	122,1	0,520
	desvio-padrão	31,6	31,2	
	n	39	39	
Triglicérides em mg/dL	Média	152,4	152,4	0,999
	desvio-padrão	70,2	84,4	
	n	39	39	

teste t-student de duas amostras. *Paciente 10 (placebo) com testículo direito ausente. ** Em 4 pacientes ativos e 3 pacientes placebo a dosagem de testosterona livre não foi realizada, por problemas de hemólise na coleta. *** Paciente 26 não realizou bioimpedanciometria no aparelho InBody 720, e sim pela bioimpedância tetrapolar

Características iniciais da amostra quanto a variáveis categóricas à randomização: hipertensão arterial segundo grupo de intervenção

		Ativo		Placebo		Total		(p) ¹
		N	%	N	%	N	%	
Hipertensão arterial sistêmica	não	25	64,1%	24	61,5%	49	62,8%	1,000
	sim	14	35,9%	15	38,5%	29	37,2%	
Total		39	100,0%	39	100,0%	78	100,0%	

*teste de Qui-quadrado

Características iniciais da amostra quanto a variáveis categóricas à randomização: diabetes segundo grupo de intervenção

		Ativo		Placebo		Total		(p) ¹
		N	%	N	%	N	%	
Diabetes	não	37	94,9%	32	82,1%	69	88,5%	0,156
	sim	2	5,1%	7	17,9%	9	11,5%	
Total		39	100,0%	39	100,0%	78	100,0%	

*teste de Qui-quadrado

Características iniciais da amostra quanto a variáveis categóricas à randomização: dislipidemia segundo grupo de intervenção

		Ativo		Placebo		Total		(p) ¹
		N	%	N	%	N	%	
Dislipidemia	não	35	89,7%	33	84,6%	68	87,2%	0,735
	sim	4	10,3%	6	15,4%	10	12,8%	
Total		39	100,0%	39	100,0%	78	100,0%	

*teste de Qui-quadrado

Características iniciais da amostra quanto a variáveis categóricas à randomização: uso de estatina segundo grupo de intervenção

		Ativo		Placebo		Total		(p) ¹
		N	%	N	%	N	%	
Uso de Estatina	não	35	89,7%	36	92,3%	71	91,0%	1,000
	sim	4	10,3%	3	7,7%	7	9,0%	
Total		39	100,0%	39	100,0%	78	100,0%	

*teste de Qui-quadrado

Características iniciais da amostra quanto a variáveis categóricas à randomização: Síndrome Metabólica* segundo grupo de intervenção

		Ativo		Placebo		Total		(p) ¹
		N	%	N	%	N	%	
Síndrome Metabólica*	não	17	43,6%	16	41,0%	33	42,3%	1,000
	sim	22	56,4%	23	59,0%	45	57,7%	
Total		39	100,0%	39	100,0%	78	100,0%	

*teste de Qui-quadrado. *Síndrome Metabólica pelos critérios ATPIII

Respostas positivas ao Questionário ADAM* com início e variação após 4, 8 e 12 semanas segundo grupo de intervenção

Randomização		Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Grupo Ativo	Média	5,26	3,82	2,88	3,38
	desvio-padrão	2,67	2,61	2,43	2,74
	n	34	34	34	34
Grupo Placebo	Média	5,00	2,82	2,94	3,12
	desvio-padrão	2,15	2,31	2,46	2,63
	n	33	33	33	33
Comparativos entre grupos (p ²)		0,997	0,126	1,000	0,997
Resultado		A = P	A = P	A = P	A = P

*questionário ADAM totaliza 10 questões. ² análise de comparações múltiplas. A para Grupo Ativo e P para Grupo Placebo

Análise de comparações múltiplas para respostas positivas ao Questionário ADAM com início e variação após 4, 8 e 12 semanas segundo grupo de intervenção

Momentos	Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Randomização Placebo (p)³				
Semana 4	<0,001			
Semana 8	<0,001	1,000		
Semana 12	<0,001	0,993	1,000	
Randomização Ativo (p)³				
Semana 4	0,003			
Semana 8	<0,001	0,180		
Semana 12	<0,001	0,935	0,881	

³comparações múltiplas de Tukey

Respostas positivas à Questão 1 do Questionário ADAM com início e variação após variação após 4, 8 e 12 semanas segundo grupo de intervenção

Randomização	Momento								Teste de Cochran (p)
	Semana 0		Semana 4		Semana 8		Semana 12		
	N	%	N	%	N	%	N	%	
Grupo Ativo	11	32,4%	22	64,7%	27	79,4%	25	73,5%	<0,001*
	23	67,6%	12	35,3%	7	20,6%	9	26,5%	
	34	100,0%	34	100,0%	34	100,0%	34	100,0%	
Grupo Placebo	16	48,5%	23	69,7%	22	66,7%	26	78,8%	0,016*
	17	51,5%	10	30,3%	11	33,3%	7	21,2%	
	33	100,0%	33	100,0%	33	100,0%	33	100,0%	
Teste de Qui-quadrado (p)	0,273		0,861		0,368		0,827		
Resultado	A = P		A = P		A = P		A = P		

Q1: questão 1 do questionário ADAM ("Tem observado diminuição do libido?"). ²Teste de Cochran. A para Grupo Ativo e P para Grupo Placebo

Respostas positivas à Questão 7 do Questionário ADAM com início e variação após 12 semanas segundo grupo de intervenção

Randomização			Semana 0		Semana 12		Teste de McNemar
			N	%	N	%	(p)
Grupo Ativo	Q7	Não	13	38,2%	26	76,5%	0,001
		Sim	21	61,8%	8	23,5%	
Grupo Placebo	Q7	Não	17	51,5%	23	69,7%	0,070
		Sim	16	48,5%	10	30,3%	
Teste de Qui-quadrado (p)			0,397		0,727		

Q7: questão 7 do questionário ADAM ("Percebe se as ereções são menos vigorosas?")

Número de intercurso sexuais em média e desvio padrão com início e variação após 4, 8 e 12 semanas segundo grupo de intervenção

Randomização		Relações sexuais			
		Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	1,68±1,42	1,79±1,08	1,95±1,19	1,94±1,12
	n	33	33	33	33
Grupo Placebo	Média±DP	1,41±1,26	1,47±1,32	1,53±1,26	1,80±1,65
	n	33	33	33	33
Comparativos entre grupos (p)		A = P	A = P	A = P	A = P

A para Grupo Ativo e P para Grupo Placebo

Respostas positivas à queixa de insatisfação com a vida sexual com início e variação após 12 semanas segundo grupo de intervenção

Randomização			Semana 0		Semana 12		Teste de McNemar
			N	%	N	%	(p)
Grupo Ativo	Insatisfeito	Não	14	41,2%	16	47,1%	0,774
		Sim	20	58,8%	18	52,9%	
Grupo Placebo	Insatisfeito	Não	15	46,9%	14	43,8%	1,000
		Sim	17	53,1%	18	56,3%	
Teste de Qui-quadrado (p)			0,827		0,982		

Resultados das comparações múltiplas de testosterona total segundo grupo de intervenção

Randomização		Testosterona total (ng/dL)			
		Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	225,54±72,49	665,49±275,61	708,09±267,14	687,94±276,66
Grupo Placebo	Média±DP	220,28±69,30	225,64±62,67	224,61±62,43	220,19±48,46
Comparativos entre grupos (p)		1,000	<0,001	<0,001	<0,001

Análise de comparações múltiplas de Tukey para testosterona total (ng/dL) segundo grupo de intervenção

Momentos	Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Randomização Placebo (p)²				
Semana 4	1,000			
Semana 8	1,000	1,000		
Semana 12	1,000	1,000	1,000	
Randomização Ativo (p)²				
Semana 4	<0,001			
Semana 8	<0,001	0,621		
Semana 12	<0,001	0,981	0,990	

²comparações múltiplas de Tukey
Resultados das comparações múltiplas de testosterona livre segundo grupo de intervenção

Randomização		Testosterona livre (pmol/L)			
		Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	191,47±60,08	573,30±214,43	610,73±219,73	565,97±217,93
Grupo Placebo	Média±DP	193,61±67,28	195,61±54,97	198,87±59,37	184,52±41,12
Comparativos entre grupos (p)		1,000	<0,001	<0,001	<0,001

Análise de comparações múltiplas de Tukey para testosterona livre (pmol/L) segundo grupo de intervenção

Momentos	Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Randomização Placebo (p)²				
Semana 0				
Semana 4	1,000			
Semana 8	1,000	1,000		
Semana 12	1,000	1,000	0,998	
Randomização Ativo (p)²				
Semana 0				
Semana 4	<0,001*			
Semana 8	<0,001*	0,704		
Semana 12	<0,001*	1,000	0,480	

²comparações múltiplas de Tukey
Resultados das comparações múltiplas para estradiol segundo grupo de intervenção

Randomização		Estradiol (pg/mL)			
		Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	32,48±12,59	83,35±43,69	89,91±45,87	89,44±47,85
Grupo Placebo	Média±DP	33,45±12,57	34,34±13,14	35,89±12,23	35,77±11,51
Comparativos entre grupos (p)		1,000	<0,001*	<0,001*	<0,001*

Análise de comparações múltiplas para estradiol (pg/mL) segundo grupo de intervenção

Momentos	Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Randomização Placebo (p)²				
Semana 4	1,000			
Semana 8	0,998	1,000		
Semana 12	1,000	1,000	1,000	
Randomização Ativo (p)²				
Semana 4	<0,001*			
Semana 8	<0,001*	0,675		
Semana 12	<0,001*	0,753	1,000	

²comparações múltiplas de Tukey**Resultados das comparações múltiplas para LH segundo grupo de intervenção**

Randomização		LH (IU/L)			
		Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	4,25±1,81	10,70±4,55	9,82±4,54	9,75±4,75
Grupo Placebo	Média±DP	5,10±2,88	4,76±2,10	5,15±2,87	5,00±2,77
Comparativos entre grupos (p)		0,733	<0,001	<0,001	<0,001

Análise de comparações múltiplas para LH (IU/L) segundo grupo de intervenção

Momentos	Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Randomização Placebo (p)²				
Semana 4	0,998			
Semana 8	1,000	0,995		
Semana 12	1,000	1,000	1,000	
Randomização Ativo (p)²				
Semana 4	<0,001			
Semana 8	<0,001	0,702		
Semana 12	<0,001	0,604	1,000	

²comparações múltiplas de Tukey**Resultados das comparações múltiplas para FSH segundo grupo de intervenção**

Randomização		FSH (IU/L)			
		Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	4,13±2,77	9,61±6,18	9,59±5,90	9,36±5,81
Grupo Placebo	Média±DP	4,56±2,41	4,59±2,57	4,60±2,61	4,53±2,66
Comparativos entre grupos (p)		0,949	<0,001	<0,001	<0,001

Análise de comparações múltiplas para FSH (IU/L) segundo grupo de intervenção

Momentos	Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Randomização Placebo (p)²				
Semana 4	1,000			
Semana 8	1,000	1,000		
Semana 12	1,000	1,000	1,000	
Randomização Ativo (p)²				
Semana 4	<0,001*			
Semana 8	<0,001*	1,000		
Semana 12	<0,001*	0,998	0,999	

²comparações múltiplas de Tukey**Resultados das comparações múltiplas para SHBG segundo grupo de intervenção**

Randomização		SHBG (nmol/L)			
		Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	21,55±7,86	26,48±10,69	27,06±8,88	29,48±9,79
Grupo Placebo	Média±DP	22,26±9,09	21,97±8,48	22,30±8,86	23,14±9,60
Comparativos entre grupos (p)		0,979	<0,001	<0,001	<0,001

Análise de comparações múltiplas para SHBG (nmol/L) segundo grupo de intervenção

Momentos	Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Randomização Placebo (p)²				
Semana 4	1,000			
Semana 8	1,000	1,000		
Semana 12	0,928	0,746	0,943	
Randomização Ativo (p)²				
Semana 4	<0,001			
Semana 8	<0,001	0,994		
Semana 12	<0,001	0,001	0,024	

²comparações múltiplas de Tukey**Resultados das comparações múltiplas para relação T: E₂ segundo grupo de intervenção**

Randomização		Relação T: E ₂			
		Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Grupo Ativo	Média	7,88	8,67	8,56	8,54
	desvio-padrão	3,94	3,38	2,83	3,44
Grupo Placebo	Média	7,31	7,64	7,01	6,86
	desvio-padrão	3,38	3,90	3,47	3,17
Comparativos entre grupos (p)		A = P	A = P	A = P	A = P

Resultados das comparações múltiplas para índice de massa corporal (IMC) segundo grupo de intervenção

Randomização		IMC (kg/m ²)			
		Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	45,80±11,51	46,1±11,18	47,45±8,9	47,71±8,97
Grupo Placebo	Média±DP	46,26±8,54	46,28±8,62	46,26±8,64	46,21±8,79
Comparativos entre grupos (p)		A = P	A = P	A = P	A = P

Resultados das comparações múltiplas para circunferência abdominal (CA) segundo grupo de intervenção

Randomização		CA (cm)			
		Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	138,14±18,18	137,96±18,86	137,82±18,85	138,23±19,11
Grupo Placebo	Média±DP	137,83±18,36	138,04±18,54	137,73±18,88	137,29±18,29
Comparativos entre grupos (p)		A = P	A = P	A = P	A = P

Resultados das comparações múltiplas para massa magra segundo grupo de intervenção

Randomização		Massa magra (kg)			
		Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	70,11±10,11	71,29±9,53	71,82±9,44	72,32±9,66
Grupo Placebo	Média±DP	71,00±11,98	71,02±12,12	71,07±12,40	70,89±12,05
Comparativos entre grupos (p)		0,144	0,993	0,346	0,001

Análise de comparações múltiplas para massa magra (kg) segundo grupo de intervenção

Momentos	Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Randomização Placebo (p)²				
Semana 4	1,000			
Semana 8	1,000	1,000		
Semana 12	1,000	1,000	1,000	
Randomização Ativo (p)²				
Semana 4	0,009			
Semana 8	<0,001	0,762		
Semana 12	<0,001	0,040	0,795	

²comparações múltiplas de Tukey

Resultados das comparações múltiplas para massa livre de gordura segundo grupo de intervenção

Randomização		Massa livre de gordura (kg)			
		Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	74,45±10,04	74,52±11,73	75,81±9,90	76,33±10,12
Grupo Placebo	Média±DP	75,09±12,69	75,11±12,80	75,16±13,11	74,96±12,73
Comparativos entre grupos (p)		0,870	0,907	0,860	0,062

Análise de comparações múltiplas para massa livre de gordura (kg) segundo grupo de intervenção

Momentos	Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Randomização Placebo (p)²				
Semana 4	1,000			
Semana 8	1,000	1,000		
Semana 12	1,000	1,000	1,000	
Randomização Ativo (p)²				
Semana 4	1,000			
Semana 8	0,056	0,087		
Semana 12	<0,001*	0,002*	0,944	

²comparações múltiplas de Tukey

Resultados das comparações múltiplas para musculoesquelético (MME) segundo grupo de intervenção

Randomização		MME (kg)			
		Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	42,39±5,73	42,82±5,72	43,17±5,65	43,43±5,74
Grupo Placebo	Média±DP	42,68±7,32	42,70±7,43	42,70±7,52	42,63±7,35
Comparativos entre grupos (p)		0,504	0,989	0,025	<0,001

Análise de comparações múltiplas para musculoesquelético (MME) (kg) segundo grupo de intervenção

Momentos	Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Randomização Placebo (p)²				
Semana 4	1,000			
Semana 8	1,000	1,000		
Semana 12	1,000	1,000	1,000	
Randomização Ativo (p)²				
Semana 4	0,048*			
Semana 8	<0,001*	0,222		
Semana 12	<0,001*	<0,001*	0,622	

²comparações múltiplas de Tukey

Resultados das comparações múltiplas para percentual de gordura corporal (PGC) segundo grupo de intervenção

Randomização		PGC			
		Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	46,54±5,97	46,21±6,02	46,09±6,13	46,05±6,20
Grupo Placebo	Média±DP	45,93±6,70	46,05±6,58	46,00±6,44	46,02±6,57
Comparativos entre grupos (p)		A = P	A = P	A = P	A = P

A para Grupo Ativo e P para Grupo Placebo

Resultados das comparações múltiplas para área de gordura visceral (GV) segundo grupo de intervenção

Randomização		GV (cm ²)			
		Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	266,08±75,25	262,70±75,15	263,96±76,17	263,62±77,20
Grupo Placebo	Média±DP	264,31±72,32	265,60±72,11	264,41±70,77	264,61±73,48
Comparativos entre grupos (p)		A = P	A = P	A = P	A = P

Resultados das comparações múltiplas para massa de gordura segundo grupo de intervenção

Randomização		Massa de gordura (kg)			
		Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	67,15±20,70	66,72±20,91	67,55±21,41	68,43±21,39
Grupo Placebo	Média±DP	67,09±22,14	66,54±22,30	66,25±21,68	67,26±22,40
Comparativos entre grupos (p)		A = P	A = P	A = P	A = P

Resultados das comparações múltiplas para Pressão sistólica (Pas) segundo grupo de intervenção

Randomização		Pas (mmHg)			
		Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	126,54±14,24	126,32±13,33	124,24±12,04	127,24±10,86
Grupo Placebo	Média±DP	123,89±13,79	124,50±12,42	125,47±11,90	124,83±11,42
Comparativos entre grupos (p)		A = P	A = P	A = P	A = P

Resultados das comparações múltiplas para pressão diastólica(Pad) segundo grupo de intervenção

Randomização		Pad (mmHg)			
		Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	81,73±9,43	81,89±7,76	80,46±7,34	82,97±7,77
Grupo Placebo	Média±DP	79,44±8,26	81,03±8,37	81,81±7,56	82,00±8,33
Comparativos entre grupos (p)		A = P	A = P	A = P	A = P

Resultados das comparações múltiplas para glicemia segundo grupo de intervenção

Randomização		Glicemia (mg/dL)			
		Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	95,19±25,31	97,08±40,75	92,83±19,10	97,67±35,74
Grupo Placebo	Média±DP	100,29±24,31	99,54±27,42	97,17±20,75	98,11±20,69
Comparativos entre grupos (p)		A = P	A = P	A = P	A = P

Resultados das comparações múltiplas para HbA1c segundo grupo de intervenção

Randomização		HbA1c			
		Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	5,79±0,83	5,89±0,91	5,95±1,04	5,88±0,84
Grupo Placebo	Média±DP	5,73±0,70	5,80±0,73	5,79±0,74	5,75±0,69
Comparativos entre grupos (p)		A = P	A = P	A = P	A = P

Resultados das comparações múltiplas para insulinemia segundo grupo de intervenção

Randomização		Insulinemia (μU/mL)			
		Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	32,74±15,63	29,19 ±13,85	31,60±15,84	31,73±13,42
Grupo Placebo	Média±DP	30,83±12,87	31,79±18,74	30,97±13,65	31,36±19,60
Comparativos entre grupos (p)		A = P	A = P	A = P	A = P

Resultados das comparações múltiplas para HOMA-IR segundo grupo de intervenção

Randomização		HOMA-IR			
		Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	12,87±10,82	12,33±13,29	11,04±8,84	12,21±9,28
Grupo Placebo	Média±DP	11,49±6,99	10,81±8,27	11,16±8,28	10,57±8,68
Comparativos entre grupos (p)		A = P	A = P	A = P	A = P

Resultados das comparações múltiplas para colesterol total segundo grupo de intervenção

Randomização		Colesterol total (mg/dL)			
		Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	199,86±35,59	192,80±32,83	194,03±27,49	189,77±28,85
Grupo Placebo	Média±DP	190,50±36,11	188,03±37,64	188,00±36,74	191,00±39,53
Comparativos entre grupos (p)		A = P	A = P	A = P	A = P

Resultados das comparações múltiplas para colesterol HDL segundo grupo de intervenção

Randomização		Colesterol total (mg/dL)			
		Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	126,31±32,51	123,89±30,70	126,83±25,66	122,53±30,35
	n	36	36	36	36
Grupo Placebo	Média±DP	121,56	123,81	120,42	123,19
	n	36	36	36	36
Comparativos entre grupos (p)		A = P	A = P	A = P	A = P

Resultados das comparações múltiplas para colesterol HDL segundo grupo de intervenção

Randomização		HDL (mg/dL)			
		Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	41,65±9,34	34,32±8,03	34,03±9,10	33,24±8,52
Grupo Placebo	Média±DP	38,78±8,43	39,58±11,49	38,83±7,51	38,61±6,35
Comparativos entre grupos (p)		0,166	<0,001	<0,001	<0,001

Análise de comparações múltiplas para HDL (mg/dL) segundo grupo de intervenção

Momentos	Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Randomização Placebo (p)²				
Semana 4	0,996			
Semana 8	1,000	0,997		
Semana 12	1,000	0,989	1,000	
Randomização Ativo (p)²				
Semana 4	<0,001			
Semana 8	<0,001	1,000		
Semana 12	<0,001	0,978	0,997	

²comparações múltiplas de Tukey**Resultados das comparações múltiplas para TGL (mg/dL) segundo grupo de intervenção**

Randomização		TGL (mg/dL)			
		Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	150,89±71,39	178,11±157,27	171,38±104,71	176,30±97,31
Grupo Placebo	Média±DP	157,72±85,82	161,08±87,91	158,92±76,87	148,25±59,86
Comparativos entre grupos (p)		A = P	A = P	A = P	A = P

Resultados das comparações múltiplas do número de pacientes com SM segundo grupo de intervenção

Randomização			Semana 0		Semana 12		Teste de McNemar (p)
			N	%	N	%	
Grupo Ativo	SM	Não	16	43,2%	10	27,0%	0,109
		Sim	21	56,8%	27	73,0%	
Grupo Placebo	SM	Não	15	41,7%	17	47,2%	0,754
		Sim	21	58,3%	19	52,8%	
Teste de Qui-quadrado (p)			1,000		0,122		

Resultados das comparações múltiplas para diâmetro basal (mm) segundo grupo de intervenção

Randomização		Diâmetro basal (mm)	
		Semana 0	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	4,56±0,53	4,60±0,52
Grupo Placebo	Média±DP	4,55±0,48	4,52±0,46
Comparativos entre grupos (p)		A = P	A = P

Resultados das comparações múltiplas para diâmetro basal (mm) segundo grupo de intervenção

Randomização		Diâmetro HR40-60 (mm)	
		Semana 0	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	4,67±0,51	4,79±0,52
Grupo Placebo	Média±DP	4,63±0,54	4,61±0,45
Comparativos entre grupos (p)		A = P	A = P

Resultados das comparações múltiplas para porcentagem de dilatação (%DFM) segundo grupo de intervenção

Randomização		Porcentagem HR	
		Semana 0	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	2,65±3,94	4,07±3,93
Grupo Placebo	Média±DP	1,70±5,82	2,10±4,07
Comparativos entre grupos (p)		A = P	A = P

Resultados das comparações múltiplas para CEPs. em 1 x 10⁴ PBMC* segundo grupo de intervenção

Randomização		CEPs	
		Semana 0	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	0,185±0,247	0,163±0,214
Grupo Placebo	Média±DP	0,212±0,267	0,272±0,257
Comparativos entre grupos (p)		A = P	A = P

A para Grupo Ativo e P para Grupo Placebo. * *Peripheral Blood Mononuclear Cells* (PBMC); Células mononucleares de sangue periférico

Resultados das comparações múltiplas para CEP CD146+ em 1 x 10⁴ BMC* segundo grupo de intervenção

Randomização		CPEC 146+	
		Semana 0	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	0,050±0,094	0,027±0,030
Grupo Placebo	Média±DP	0,048±0,073	0,076±0,097
Comparativos entre grupos (p)		A = P	A = P

A para Grupo Ativo e P para Grupo Placebo. * *Peripheral Blood Mononuclear Cells* (PBMC); Células mononucleares de sangue periférico

Resultados das comparações múltiplas para CECs em 1 x 10⁴ em 1 x 10⁴ PBMC* segundo grupo de intervenção

Randomização		CEC	
		Semana 0	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	0,370±0,243	0,291±0,212
Grupo Placebo	Média±DP	0,321±0,223	0,350±0,226
Comparativos entre grupos (p)		A = P	A = P

A para Grupo Ativo e P para Grupo Placebo. * *Peripheral Blood Mononuclear Cells* (PBMC); Células mononucleares de sangue periférico

Resultados das comparações múltiplas para CEC CD 146+ em 1 x 10⁴ em 1 x 10⁴ PBMC* segundo grupo de intervenção

Randomização		CEC 146+	
		Semana 0	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	0,059±0,069	0,034±0,025
Grupo Placebo	Média±DP	0,033±0,026	0,042±0,031
Comparativos entre grupos (p)		A = P	A = P

A para Grupo Ativo e P para Grupo Placebo. * *Peripheral Blood Mononuclear Cells* (PBMC); Células mononucleares de sangue periférico

Análise de correlação de Pearson na semana 0 entre testosterona total; CPEC, CPEC 146+, CEC, CEC 146+ e %HR

		testosterona total	%HR	CPEC	CPEC 146+	CEC	CEC 146+
		Semana 0					
%HR	Coefic. de Correlação	0,037					
	Sig. (p)	0,762					
	n	69					
CPEC_pré	Coefic. de Correlação	-0,072	-0,149				
	Sig. (p)	0,564	0,232				
	n	66	66				
CPEC 146+ semana 0	Coefic. de Correlação	-0,136	-0,082	0,838			
	Sig. (p)	0,358	0,578	0,000			
	n	48	48	47			
CEC semana 0	Coefic. de Correlação	-0,209	0,042	0,503	0,385		
	Sig. (p)	0,101	0,745	0,000	0,008		
	n	63	63	62	47		
CEC 146+ semana 0	Coefic. de Correlação	-0,190	-0,209	0,399	0,704	0,718	
	Sig. (p)	0,182	0,142	0,004	0,000	0,000	
	n	51	51	50	48	49	

Resultados das comparações múltiplas para hematócrito (%) segundo grupo de intervenção

Randomização		Hematócrito (%)			
		Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	43,93±2,35	44,29±2,52	45,28±2,61	44,89±5,66
Grupo Placebo	Média±DP	43,86±2,59	43,80±2,56	44,00±2,68	44,06±2,70
Comparativos entre grupos (p)		A = P	A = P	A = P	A = P

A para Grupo Ativo e P para Grupo Placebo

Resultados das comparações múltiplas para PSA total segundo grupo de intervenção

Randomização		PSA total (ng/mL)			
		Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	0,62±0,41	0,77±0,50	0,75±0,51	0,76±0,48
Grupo Placebo	Média±DP	0,58±0,50	0,56±0,39	0,55±0,40	0,55±0,40
Comparativos entre grupos (p)		0,995	<0,001	0,001	<0,001

Análise de comparações múltiplas para PSA total (ng/mL) segundo grupo de intervenção

Momentos	Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Randomização Placebo (p)²				
Semana 4	0,999			
Semana 8	0,997	1,000		
Semana 12	0,997	1,000	1,000	
Randomização Ativo (p)²				
Semana 4	0,046			
Semana 8	0,093	1,000		
Semana 12	0,059	1,000	1,000	

²comparações múltiplas de Tukey**Resultados das comparações múltiplas para pontuação de IPSS segundo grupo de intervenção**

Randomização		IPSS			
		Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	8,39±5,19	8,14±4,52	7,86±4,67	8,58±5,23
Grupo Placebo	Média±DP	9,86±5,98	8,11±5,41	8,89±5,30	8,50±5,75
Comparativos entre grupos (p)		A = P	A = P	A = P	A = P

Resultados das comparações múltiplas para TGP (U/L) segundo grupo de intervenção

Randomização		TGP			
		Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	35,41±19,12	29,73±14,21	27,30±11,91	27,95±13,20
Grupo Placebo	Média±DP	38,50±19,12	37,56±18,62	35,85±15,63	37,21±17,04
Comparativos entre grupos (p)		0,759	0,002	<0,001	<0,001

Análise de comparações múltiplas para PSA total (ng/mL) segundo grupo de intervenção

Momentos	Semana 0	Semana +4	Semana +8	Semana +12
Randomização Placebo (p)²				
Semana +4	1,000			
Semana +8	0,888	0,989		
Semana +12	0,998	1,000	0,998	
Randomização Ativo (p)²				
Semana +4	0,059			
Semana +8	0,001	0,908		
Semana +12	0,002	0,983	1,000	

²comparações múltiplas de Tukey

Resultados das comparações múltiplas para TGO (U/L) segundo grupo de intervenção

Randomização		TGO			
		Semana 0	Semana 4	Semana 8	Semana 12
Grupo Ativo	Média±DP	22,54±6,84	20,92±6,75	22,08±9,56	22,89±11,30
Grupo Placebo	Média±DP	22,03±8,73	21,40±8,65	21,46±8,51	22,74±8,60
Comparativos entre grupos (p)		A = P	A = P	A = P	A = P

9 REFERÊNCIAS

1. Saad F, Yassin A, Doros G, Haider A. Effects of long-term treatment with testosterone on weight and waist size in 411 hypogonadal men with obesity classes I-III: observational data from two registry studies. *Int J Obes (Lond)*. 2016;40(1):162-70.
2. Bhasin S, Cunningham GR, Hayes FJ, Matsumoto AM, Snyder PJ, Swerdloff RS, Montori VM; Task Force, Endocrine Society. Testosterone therapy in men with androgen deficiency syndromes: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(6):2536-59.
3. Guay AT, Spark RF, Bansal S, Cunningham GR, Goodman NF, Nankin HR, Petak SM, Perez JB; American Association of Clinical Endocrinologists Male Sexual Dysfunction Task Force. American Association of Clinical Endocrinologists medical guidelines for clinical practice for the evaluation and treatment of male sexual dysfunction: a couple's problem--2003 update. *Endocr Pract*. 2003;9(1):77-95.

4. Morgentaler A, Zitzmann M, Traish AM, Fox AW, Jones TH, Maggi M, Arver S, Aversa A, Chan JC, Dobs AS, Hackett GI, Hellstrom WJ, Lim P, Lunenfeld B, Mskhalaya G, Schulman CC, Torres LO. Fundamental Concepts Regarding Testosterone Deficiency and Treatment: International Expert Consensus Resolutions. *Mayo Clin Proc.* 2016;91(7):881-96.
5. Snyder PJ, Peachey H, Berlin JA, Hannoush P, Haddad G, Dlewati A, Santanna J, Loh L, Lenrow DA, Holmes JH, Kapoor SC, Atkinson LE, Strom BL. Effects of testosterone replacement in hypogonadal men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85(8):2670-7.
6. Katz DJ, Nabulsi O, Tal R, Mulhall JP. Outcomes of clomiphene citrate treatment in young hypogonadal men. *BJU Int.* 2012;110(4):573-8.
7. Rhoden EL, Morgentaler A. Risks of testosterone-replacement therapy and recommendations for monitoring. *N Engl J Med.* 2004;350(5):482-92.
8. Shores MM, Smith NL, Forsberg CW, Anawalt BD, Matsumoto AM. Testosterone treatment and mortality in men with low testosterone levels. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(6):2050-8.
9. Sharma R, Oni OA, Gupta K, Chen GQ, Sharma M, Dawn B, Sharma R, Parashara D, Savin VJ, Ambrose JA, Barua RS. Normalization of testosterone level is associated with reduced incidence of myocardial infarction and mortality in men. *Eur Heart J.* 2015;36(40):2706-15.

10. Corona G, Maseroli E, Rastrelli G, Isidori AM, Sforza A, Mannucci E, Maggi M. Cardiovascular risk associated with testosterone-boosting medications: a systematic review and meta-analysis. *Expert Opin Drug Saf.* 2014;13(10):1327-51.
11. Traish AM. Testosterone and weight loss: the evidence. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2014;21(5):313-22.
12. Corona G, Giagulli VA, Maseroli E, Vignozzi L, Aversa A, Zitzmann M, Saad F, Mannucci E, Maggi M. Therapy of endocrine disease: testosterone supplementation and body composition: results from a meta-analysis study. *Eur J Endocrinol.* 2016;174(3):R99-116.
13. Haider A, Yassin A, Doros G, Saad F. Effects of long-term testosterone therapy on patients with "diabesity": results of observational studies of pooled analyses in obese hypogonadal men with type 2 diabetes. *Int J Endocrinol.* 2014;2014:683515.
14. Guay AT, Jacobson J, Perez JB, Hodge MB, Velasquez E. Clomiphene increases free testosterone levels in men with both secondary hypogonadism and erectile dysfunction: who does and does not benefit? *Int J Impot Res.* 2003;15(3):156-65.
15. Moskovic DJ, Katz DJ, Akhavan A, Park K, Mulhall JP. Clomiphene citrate is safe and effective for long-term management of hypogonadism. *BJU Int.* 2012;110(10):1524-8.

16. Seftel AD, Kathrins M, Niederberger C. Critical Update of the 2010 Endocrine Society Clinical Practice Guidelines for Male Hypogonadism: A Systematic Analysis. *Mayo Clin Proc.* 2015;90(8):1104-15.
17. Giagulli VA, Triggiani V, Carbone MD, Corona G, Tafaro E, Licchelli B, Guastamacchia E. The role of long-acting parenteral testosterone undecanoate compound in the induction of secondary sexual characteristics in males with hypogonadotropic hypogonadism. *J Sex Med.* 2011;8(12):3471-8.
18. Giagulli VA, Triggiani V, Corona G, Carbone D, Licchelli B, Tafaro E, Resta F, Sabbà C, Maggi M, Guastamacchia E. Evidence-based medicine update on testosterone replacement therapy (TRT) in male hypogonadism: focus on new formulations. *Curr Pharm Des.* 2011;17(15):1500-11.
19. Hackett G, Cole N, Bhartia M, Kennedy D, Raju J, Wilkinson P, BLAST Study Group. Testosterone replacement therapy improves metabolic parameters in hypogonadal men with type 2 diabetes but not in men with coexisting depression: the BLAST study. *J Sex Med.* 2014;11(3):840-56.
20. Saad F, Yassin A, Almeahadi Y, Doros G, Gooren L. Effects of long-term testosterone replacement therapy, with a temporary intermission, on glycemic control of nine hypogonadal men with type 1 diabetes mellitus - a series of case reports. *Aging Male.* 2015;18(3):164-8.

21. Traish AM, Haider A, Haider KS, Doros G, Saad F. Long-Term Testosterone Therapy Improves Cardiometabolic Function and Reduces Risk of Cardiovascular Disease in Men with Hypogonadism: A Real-Life Observational Registry Study Setting Comparing Treated and Untreated (Control) Groups. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2017;22(5):414-33.
22. Haider A, Yassin A, Haider KS, Doros G, Saad F, Rosano GM. Men with testosterone deficiency and a history of cardiovascular diseases benefit from long-term testosterone therapy: observational, real-life data from a registry study. *Vasc Health Risk Manag.* 2016;12:251-61.
23. Kloner RA. Testosterone Replacement Therapy: New Data on Efficacy and Cardiovascular Safety. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2016.
24. Kloner RA, Carson C, Dobs A, Kopecky S, Mohler ER. Testosterone and Cardiovascular Disease. *J Am Coll Cardiol.* 2016;67(5):545-57.
25. Cheetham TC, An J, Jacobsen SJ, Niu F, Sidney S, Quesenberry CP, VanDenEeden SK. Association of Testosterone Replacement With Cardiovascular Outcomes Among Men With Androgen Deficiency. *JAMA Intern Med.* 2017;177(4):491-9.
26. Corona GG, Rastrelli G, Maseroli E, Sforza A, Maggi M. Testosterone Replacement Therapy and Cardiovascular Risk: A Review. *World J Mens Health.* 2015;33(3):130-42.
27. McCullough A. Alternatives to testosterone replacement: testosterone restoration. *Asian J Androl.* 2015;17(2):201-5.

28. Lee D, Bernstein A, Sarkisian A, Wosnitzer M, Winter A, Paduch D. Comparison of clomiphene citrate and transdermal testosterone replacement therapy in their influence on hormonal and metabolic changes in the treatment of hypogonadism. *J Urology*. 2015;193(4):E904-E5.
29. Wilken N, Scovell J, Ramasamy R, Lamb D, Lipshultz L. Comparison of the Efficacy of clomiphene citrate versus testosterone supplementation in treating symptoms of hypogonadism. *J Urology*. 2015;193(4):E902-E3.
30. Basaria S, Harman M, Travison TG, Hodis H, Tsitouras P, Budoff M, Pencina KM, Vita J, Dzekov C, Mazer NA, Coviello AD, Knapp PE, Hally K, Pinjic E, Yan M, Storer TW, Bhasin S. Effects of Testosterone Administration for 3 Years on Subclinical Atherosclerosis Progression in Older Men With Low or Low-Normal Testosterone Levels A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2015;314(6):570-81.
31. Morgentaler A, Miner MM, Caliber M, Guay AT, Khera M, Traish AM. Testosterone therapy and cardiovascular risk: advances and controversies. *Mayo Clin Proc*. 2015;90(2):224-51.
32. Rosano GM, Vitale C, Fini M. Testosterone in men with hypogonadism and high cardiovascular risk, Pros. *Endocrine*. 2015;50(2):320-5.
33. Dandona P, Rosenberg MT. A practical guide to male hypogonadism in the primary care setting. *Int J Clin Pract*. 2010;64(6):682-96.

-
34. Kronenberg H, Williams RH. *Williams textbook of endocrinology*. 11^a Ed.. Philadelphia: Saunders/Elsevier; 2008. xix. p. 1911.
 35. Petak SM, Nankin HR, Spark RF, Swerdloff RS, Rodriguez-Rigau LJ, American Association of Clinical E. American Association of Clinical Endocrinologists Medical Guidelines for clinical practice for the evaluation and treatment of hypogonadism in adult male patients--2002 update. *Endocr Pract*. 2002;8(6):440-56.
 36. Glass AR, Swerdloff RS, Bray GA, Dahms WT, Atkinson RL. Low serum testosterone and sex-hormone-binding-globulin in massively obese men. *J Clin Endocrinol Metab*. 1977;45(6):1211-9.
 37. Glass AR. Endocrine aspects of obesity. *Med Clin North Am*. 1989;73(1):139-60.
 38. Vermeulen A. Decreased androgen levels and obesity in men. *Ann Med*. 1996;28(1):13-5.
 39. Hammoud AO, Gibson M, Peterson CM, Hamilton BD, Carrell DT. Obesity and male reproductive potential. *J Androl*. 2006;27(5):619-26.
 40. Roth MY, Amory JK, Page ST. Treatment of male infertility secondary to morbid obesity. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*. 2008;4(7):415-9.
 41. Alboni S, Riva P, Bellini M, Bonati ME, Sacchetti C, Calzolari G, Grandi M. Obesity: relationships with the endocrine system. *Recenti Prog Med*. 1991;82(2):104-9.

42. Jensen TK, Andersson AM, Jorgensen N, Andersen AG, Carlsen E, Petersen JH, Skakkebaek NE. Body mass index in relation to semen quality and reproductive hormones among 1,558 Danish men. *Fertil Steril*. 2004;82(4):863-70.
43. Sallmen M, Sandler DP, Hoppin JA, Blair A, Baird DD. Reduced fertility among overweight and obese men. *Epidemiology*. 2006;17(5):520-3.
44. Kort HI, Massey JB, Elsner CW, Mitchell-Leef D, Shapiro DB, Witt MA, Roudebush WE. Impact of body mass index values on sperm quantity and quality. *J Androl*. 2006;27(3):450-2.
45. Fejes I, Koloszar S, Szollosi J, Zavaczki Z, Pal A. Is semen quality affected by male body fat distribution? *Andrologia*. 2005;37(5):155-9.
46. O'Donnell AB, Araujo AB, McKinlay JB. The health of normally aging men: The Massachusetts Male Aging Study (1987-2004). *Exp Gerontol*. 2004;39(7):975-84.
47. Travison TG, Araujo AB, Kupelian V, O'Donnell AB, McKinlay JB. The relative contributions of aging, health, and lifestyle factors to serum testosterone decline in men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(2):549-55.
48. Lee JM, Kaciroti N, Appugliese D, Corwyn RF, Bradley RH, Lumeng JC. Body mass index and timing of pubertal initiation in boys. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2010;164(2):139-44.

49. Moriarty-Kelsey M, Harwood JE, Travers SH, Zeitler PS, Nadeau KJ. Testosterone, obesity and insulin resistance in young males: evidence for an association between gonadal dysfunction and insulin resistance during puberty. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2010;23(12):1281-7.
50. Yeap BB, Chubb SA, Hyde Z, Jamrozik K, Hankey GJ, Flicker L, Norman PE. Lower serum testosterone is independently associated with insulin resistance in non-diabetic older men: the Health In Men Study. *Eur J Endocrinol.* 2009;161(4):591-8.
51. Kaplan SA, Meehan AG, Shah A. The age related decrease in testosterone is significantly exacerbated in obese men with the metabolic syndrome. What are the implications for the relatively high incidence of erectile dysfunction observed in these men? *J Urol.* 2006;176(4 Pt 1):1524-7.
52. National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection E, Treatment of High Blood Cholesterol in A. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation.* 2002;106(25):3143-421.
53. Chrysohoou C, Panagiotakos D, Pitsavos C, Siasos G, Oikonomou E, Varlas J, Varlas J, Patialiakas A, Lazaros G, Psaltopoulou T, Zaromitidou M, Kourkouti P, Tousoulis D, Stefanadis C. Low total testosterone levels are associated with the metabolic syndrome in elderly men: the role of body weight, lipids, insulin resistance, and inflammation; the Ikaria study. *Rev Diabet Stud.* 2013;10(1):27-38.

-
54. Makhsida N, Shah J, Yan G, Fisch H, Shabsigh R. Hypogonadism and metabolic syndrome: implications for testosterone therapy. *J Urol*. 2005;174(3):827-34.
 55. Traish AM, Guay A, Feeley R, Saad F. The dark side of testosterone deficiency: I. Metabolic syndrome and erectile dysfunction. *J Androl*. 2009;30(1):10-22.
 56. Saad F, Gooren L. The role of testosterone in the metabolic syndrome: a review. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2009;114(1-2):40-3.
 57. Blouin K, Despres JP, Couillard C, Tremblay A, Prud'homme D, Bouchard C, Tchernof A. Contribution of age and declining androgen levels to features of the metabolic syndrome in men. *Metabolism*. 2005;54(8):1034-40.
 58. Mederos MA, Bernie AM, Scovell JM, Ramasamy R. Can Serum Testosterone Be Used as a Marker of Overall Health? *Rev Urol*. 2015;17(4):226-30.
 59. Ogden CL, Carroll MD, Kit BK, Flegal KM. Prevalence of childhood and adult obesity in the United States, 2011-2012. *JAMA*. 2014;311(8):806-14.
 60. Collaboration NCDRF. Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: a pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19.2 million participants. *Lancet*. 2016;387(10026):1377-96.

-
61. Brasil. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Saúde Suplementar. Vigitel Brazil 2015 Private Health Insurance and Plans Beneficiaries: protective and risk factors for chronic diseases by telephone survey. Brasília: Ministério da Saúde, 2017.
 62. Lee RK, Chughtai B, Te AE, Kaplan SA. Sexual function in men with metabolic syndrome. *Urol Clin North Am*. 2012;39(1):53-62.
 63. Denver RJ, Bonett RM, Boorse GC. Evolution of leptin structure and function. *Neuroendocrinology*. 2011;94(1):21-38.
 64. Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M, Cohen SL, Chait BT, Rabinowitz D, Lallone RL, Burley SK, Friedman JM. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science*. 1995;269(5223):543-6.
 65. Du Plessis SS, Cabler S, McAlister DA, Sabanegh E, Agarwal A. The effect of obesity on sperm disorders and male infertility. *Nat Rev Urol*. 2010;7(3):153-61.
 66. Mammi C, Calanchini M, Antelmi A, Cinti F, Rosano GM, Lenzi A, Caprio M, Fabbri A. Androgens and adipose tissue in males: a complex and reciprocal interplay. *Int J Endocrinol*. 2012;2012:789653.
 67. Barash IA, Cheung CC, Weigle DS, Ren H, Kabigting EB, Kuijper JL, Clifton DK, Steiner RA. Leptin is a metabolic signal to the reproductive system. *Endocrinology*. 1996;137(7):3144-7.

68. Mounzih K, Lu R, Chehab FF. Leptin treatment rescues the sterility of genetically obese ob/ob males. *Endocrinology*. 1997;138(3):1190-3.
69. Vettor R, De Pergola G, Pagano C, Englaro P, Laudadio E, Giorgino F, Federspil G. Gender differences in serum leptin in obese people: relationships with testosterone, body fat distribution and insulin sensitivity. *Eur J Clin Invest.* 1997;27(12):1016-24.
70. Luukkaa V, Pesonen U, Huhtaniemi I, Lehtonen A, Tilvis R, Tuomilehto J, Koulou M, Huupponen R. Inverse correlation between serum testosterone and leptin in men. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83(9):3243-6.
71. Caprio M, Isidori AM, Carta AR, Moretti C, Dufau ML, Fabbri A. Expression of functional leptin receptors in rodent Leydig cells. *Endocrinology*. 1999;140(11):4939-47.
72. Teerds KJ, de Rooij DG, Keijer J. Functional relationship between obesity and male reproduction: from humans to animal models. *Hum Reprod Update*. 2011;17(5):667-83.
73. Finn PD, Cunningham MJ, Pau KY, Spies HG, Clifton DK, Steiner RA. The stimulatory effect of leptin on the neuroendocrine reproductive axis of the monkey. *Endocrinology*. 1998;139(11):4652-62.
74. Isidori AM, Caprio M, Strollo F, Moretti C, Frajese G, Isidori A, Fabbri A. Leptin and androgens in male obesity: evidence for leptin contribution to reduced androgen levels. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84(10):3673-80.

-
75. Roseweir AK, Millar RP. The role of kisspeptin in the control of gonadotrophin secretion. *Hum Reprod Update*. 2009;15(2):203-12.
 76. Hoffmann A, Manjowk GM, Wagner IV, Kloting N, Ebert T, Jessnitzer B, Lössner U, Stukenborg JB, Blüher M, Stumvoll M, Söder O, Svechnikov K, Fasshauer M, Kralisch S. Leptin within the subphysiological to physiological range dose dependently improves male reproductive function in an obesity mouse model. *Endocrinology*. 2016;157(6):2461-8.
 77. Saad F, Gooren LJ. The role of testosterone in the etiology and treatment of obesity, the metabolic syndrome, and diabetes mellitus type 2. *J Obes*. 2011;2011.
 78. Schmidt FM, Weschenfelder J, Sander C, Minkwitz J, Thormann J, Chittka T, Mergl R, Kirkby KC, Faßhauer M, Stumvoll M, Holdt LM, Teupser D, Hegerl U, Himmerich H. Inflammatory cytokines in general and central obesity and modulating effects of physical activity. *Plos One*. 2015;10(3):e0121971.
 79. Kelly DM, Jones TH. Testosterone and obesity. *Obes Rev*. 2015;16(7):581-606.
 80. Patel C, Ghanim H, Ravishankar S, Sia CL, Viswanathan P, Mohanty P, Dandona P. Prolonged reactive oxygen species generation and nuclear factor-kappaB activation after a high-fat, high-carbohydrate meal in the obese. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(11):4476-9.

81. Festa A, D'Agostino R, Jr., Williams K, Karter AJ, Mayer-Davis EJ, Tracy RP, Haffner SM. The relation of body fat mass and distribution to markers of chronic inflammation. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2001;25(10):1407-15.
82. Benoit M, Desnues B, Mege JL. Macrophage polarization in bacterial infections. *J Immunol*. 2008;181(6):3733-9.
83. Lumeng CN, Bodzin JL, Saltiel AR. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J Clin Invest*. 2007;117(1):175-84.
84. Kalyani RR, Dobs AS. Androgen deficiency, diabetes, and the metabolic syndrome in men. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2007;14(3):226-34.
85. Xiong Y, Hales DB. The role of tumor necrosis factor-alpha in the regulation of mouse Leydig cell steroidogenesis. *Endocrinology*. 1993;132(6):2438-44.
86. Wang C, Catlin DH, Demers LM, Starcevic B, Swerdloff RS. Measurement of total serum testosterone in adult men: comparison of current laboratory methods versus liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(2):534-43.
87. Hong CY, Park JH, Ahn RS, Im SY, Choi HS, Soh J, Mellon SH, Lee K. Molecular mechanism of suppression of testicular steroidogenesis by proinflammatory cytokine tumor necrosis factor alpha. *Mol Cell Biol*. 2004;24(7):2593-604.

-
88. Mauduit C, Gasnier F, Rey C, Chauvin MA, Stocco DM, Louisot P, Benahmed M. Tumor necrosis factor- α inhibits leydig cell steroidogenesis through a decrease in steroidogenic acute regulatory protein expression. *Endocrinology*. 1998;139(6):2863-8.
 89. Dandona P, Dhindsa S. Update: Hypogonadotropic hypogonadism in type 2 diabetes and obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(9):2643-51.
 90. Wu L, Xu B, Fan W, Zhu X, Wang G, Zhang A. Adiponectin protects Leydig cells against proinflammatory cytokines by suppressing the nuclear factor-kappaB signaling pathway. *FEBS J*. 2013;280(16):3920-7.
 91. Longcope C, Feldman HA, McKinlay JB, Araujo AB. Diet and sex hormone-binding globulin. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85(1):293-6.
 92. Haffner SM, Valdez RA, Stern MP, Katz MS. Obesity, body fat distribution and sex hormones in men. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1993;17(11):643-9.
 93. Mohr BA, Bhasin S, Link CL, O'Donnell AB, McKinlay JB. The effect of changes in adiposity on testosterone levels in older men: longitudinal results from the Massachusetts Male Aging Study. *Eur J Endocrinol*. 2006;155(3):443-52.
 94. Michalakis K, Mintziori G, Kaprara A, Tarlatzis BC, Goulis DG. The complex interaction between obesity, metabolic syndrome and reproductive axis: a narrative review. *Metabolism*. 2013;62(4):457-78.

95. Pasquali R, Vicennati V, Scopinaro N, Marinari G, Simonelli A, Flaminia R, Casimirri F, Gagliardi L. Achievement of near-normal body weight as the prerequisite to normalize sex hormone-binding globulin concentrations in massively obese men. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1997;21(1):1-5.
96. Cohen PG. The hypogonadal-obesity cycle: role of aromatase in modulating the testosterone-estradiol shunt--a major factor in the genesis of morbid obesity. *Med Hypotheses*. 1999;52(1):49-51.
97. Belanger A, Candas B, Dupont A, Cusan L, Diamond P, Gomez JL, Labrie F. Changes in serum concentrations of conjugated and unconjugated steroids in 40- to 80-year-old men. *J Clin Endocrinol Metab*. 1994;79(4):1086-90.
98. Fejes I, Koloszar S, Zavaczki Z, Daru J, Szollosi J, Pal A. Effect of body weight on testosterone/estradiol ratio in oligozoospermic patients. *Arch Androl*. 2006;52(2):97-102.
99. Raven G, de Jong FH, Kaufman JM, de Ronde W. In men, peripheral estradiol levels directly reflect the action of estrogens at the hypothalamo-pituitary level to inhibit gonadotropin secretion. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(9):3324-8.
100. Vermeulen A. Androgen replacement therapy in the aging male--a critical evaluation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(6):2380-90.

101. Wang C, Jackson G, Jones TH, Matsumoto AM, Nehra A, Perelman MA, Swerdloff RS, Traish A, Zitzmann M, Cunningham G. Low testosterone associated with obesity and the metabolic syndrome contributes to sexual dysfunction and cardiovascular disease risk in men with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2011;34(7):1669-75.
102. Schneider G, Kirschner MA, Berkowitz R, Ertel NH. Increased estrogen production in obese men. *J Clin Endocrinol Metab*. 1979;48(4):633-8.
103. Lakshman KM, Kaplan B, Travison TG, Basaria S, Knapp PE, Singh AB, LaValley MP, Mazer NA, Bhasin S. The effects of injected testosterone dose and age on the conversion of testosterone to estradiol and dihydrotestosterone in young and older men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(8):3955-64.
104. Cohen PG. Aromatase, adiposity, aging and disease. The hypogonadal-metabolic-atherogenic-disease and aging connection. *Med Hypotheses*. 2001;56(6):702-8.
105. Feingold KR, Grunfeld C, Pang M, Doerrler W, Krauss RM. LDL subclass phenotypes and triglyceride metabolism in non-insulin-dependent diabetes. *Arterioscler Thromb*. 1992;12(12):1496-502.
106. Rizzo M, Kotur-Stevuljevic J, Berneis K, Spinass G, Rini GB, Jelic-Ivanovic Z, Spasojevic-Kalimanovska V, Vekic J. Atherogenic dyslipidemia and oxidative stress: a new look. *Transl Res*. 2009;153(5):217-23.

107. Isidori AM, Giannetta E, Greco EA, Gianfrilli D, Bonifacio V, Isidori A, Lenzi A, Fabbri A. Effects of testosterone on body composition, bone metabolism and serum lipid profile in middle-aged men: a meta-analysis. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2005;63(3):280-93.
108. Aggerholm AS, Thulstrup AM, Toft G, Ramlau-Hansen CH, Bonde JP. Is overweight a risk factor for reduced semen quality and altered serum sex hormone profile? *Fertil Steril*. 2008;90(3):619-26.
109. Winters SJ, Wang C, Abdelrahman E, Hadeed V, Dyky MA, Brufsky A. Inhibin-B levels in healthy young adult men and prepubertal boys: is obesity the cause for the contemporary decline in sperm count because of fewer Sertoli cells? *J Androl*. 2006;27(4):560-4.
110. Zorn B, Osredkar J, Meden-Vrtovec H, Majdic G. Leptin levels in infertile male patients are correlated with inhibin B, testosterone and SHBG but not with sperm characteristics. *Int J Androl*. 2007;30(5):439-44.
111. Jungwirth A, Giwercman A, Tournaye H, Diemer T, Kopa Z, Dohle G, Krausz C; European Association of Urology Working Group on Male Infertility. European Association of Urology guidelines on Male Infertility: the 2012 update. *Eur Urol*. 2012;62(2):324-32.
112. Seftel A. Male hypogonadism. Part II: etiology, pathophysiology, and diagnosis. *Int J Impot Res*. 2006;18(3):223-8.

-
113. Dohle GR, Colpi GM, Hargreave TB, Papp GK, Jungwirth A, Weidner W, EAU Working Group on Male Infertility. EAU guidelines on male infertility. *Eur Urol*. 2005;48(5):703-11.
114. Wang C, Nieschlag E, Swerdloff R, Behre HM, Hellstrom WJ, Gooren LJ, Kaufman JM, Legros JJ, Lunenfeld B, Morales A, Morley JE, Schulman C, Thompson IM, Weidner W, Wu FC. Investigation, treatment and monitoring of late-onset hypogonadism in males. *Int J Androl*. 2009;32(1):1-10.
115. Mohamed O, Freundlich RE, Dakik HK, Grober ED, Najari B, Lipshultz LI, Khera M. The quantitative ADAM questionnaire: a new tool in quantifying the severity of hypogonadism. *Int J Impot Res*. 2010;22(1):20-4.
116. Morley JE, Charlton E, Patrick P, Kaiser FE, Cadeau P, McCreedy D, Perry HM. Validation of a screening questionnaire for androgen deficiency in aging males. *Metabolism*. 2000;49(9):1239-42.
117. Tancredi A, Reginster JY, Schleich F, Pire G, Maassen P, Luyckx F, Legros JJ. Interest of the androgen deficiency in aging males (ADAM) questionnaire for the identification of hypogonadism in elderly community-dwelling male volunteers. *Eur J Endocrinol*. 2004;151(3):355-60.
118. O'Leary M P. Development of an index to evaluate symptoms in men with androgen deficiency. *Rev Urol*. 2003;5 Suppl 1:S11-5.

-
119. Kelleher S, Conway AJ, Handelsman DJ. Blood testosterone threshold for androgen deficiency symptoms. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(8):3813-7.
120. Mulligan T, Frick MF, Zuraw QC, Stemhagen A, Mcwhirter C. Prevalence of hypogonadism in males aged at least 45 years: the HIM study. *Int J Clin Pract.* 2006;60(7):762-9.
121. Wu FC, Tajar A, Beynon JM, Pye SR, Silman AJ, Finn JD, O'Neill TW, Bartfai G, Casanueva FF, Forti G, Giwercman A, Han TS, Kula K, Lean ME, Pendleton N, Punab M, Boonen S, Vanderschueren D, Labrie F, Huhtaniemi IT; EMAS Group. Identification of late-onset hypogonadism in middle-aged and elderly men. *N Engl J Med.* 2010;363(2):123-35.
122. Paduch DA, Brannigan RE, Fuchs EF, Kim ED, Marmar JL, Sandlow JL. The laboratory diagnosis of testosterone deficiency. *Urology.* 2014;83(5):980-8.
123. Sterling J, Bernie AM, Ramasamy R. Hypogonadism: Easy to define, hard to diagnose, and controversial to treat. *Can Urol Assoc J.* 2015;9(1-2):65-8.
124. Lue TF, Giuliano F, Montorsi F, Rosen RC, Andersson KE, Althof S, Christ G, Hatzichristou D, Hirsch M, Kimoto Y, Lewis R, McKenna K, MacMahon C, Morales A, Mulcahy J, Padma-Nathan H, Pryor J, de Tejada IS, Shabsigh R, Wagner G. Summary of the recommendations on sexual dysfunctions in men. *J Sex Med.* 2004;1(1):6-23.

125. Dunn JF, Nisula BC, Rodbard D. Transport of steroid hormones: binding of 21 endogenous steroids to both testosterone-binding globulin and corticosteroid-binding globulin in human plasma. *J Clin Endocrinol Metab.* 1981;53(1):58-68.
126. Raff H, Sluss PM. Pre-analytical issues for testosterone and estradiol assays. *Steroids.* 2008;73(13):1297-304.
127. Vermeulen A, Verdonck L, Kaufman JM. A critical evaluation of simple methods for the estimation of free testosterone in serum. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(10):3666-72.
128. Purifoy FE, Koopmans LH, Mayes DM. Age differences in serum androgen levels in normal adult males. *Hum Biol.* 1981;53(4):499-511.
129. Saboor Aftab SA, Kumar S, Barber TM. The role of obesity and type 2 diabetes mellitus in the development of male obesity-associated secondary hypogonadism. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2013;78(3):330-7.
130. Vermeulen A, Kaufman JM, Deslypere JP, Thomas G. Attenuated luteinizing hormone (LH) pulse amplitude but normal LH pulse frequency, and its relation to plasma androgens in hypogonadism of obese men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993;76(5):1140-6.
131. Shabsigh R, Katz M, Yan G, Makhsida N. Cardiovascular issues in hypogonadism and testosterone therapy. *Am J Cardiol.* 2005;96(12B):67M-72M.

-
132. Laaksonen DE, Niskanen L, Punnonen K, Nyyssonen K, Tuomainen TP, Salonen R, et al. Sex hormones, inflammation and the metabolic syndrome: a population-based study. *Eur J Endocrinol.* 2003;149(6):601-8.
133. Traish AM, Saad F, Feeley RJ, Guay A. The dark side of testosterone deficiency: III. Cardiovascular disease. *J Androl.* 2009;30(5):477-94.
134. Corona G, Rastrelli G, Monami M, Guay A, Buvat J, Sforza A, Forti G, Mannucci E, Maggi M. Hypogonadism as a risk factor for cardiovascular mortality in men: a meta-analytic study. *Eur J Endocrinol.* 2011;165(5):687-701.
135. Fahed AC, Gholmieh JM, Azar ST. Connecting the Lines between Hypogonadism and Atherosclerosis. *Int J Endocrinol.* 2012;2012:793953.
136. Hak AE, Witteman JC, de Jong FH, Geerlings MI, Hofman A, Pols HA. Low levels of endogenous androgens increase the risk of atherosclerosis in elderly men: the Rotterdam study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(8):3632-9.
137. Jones TH, Saad F. The effects of testosterone on risk factors for, and the mediators of, the atherosclerotic process. *Atherosclerosis.* 2009;207(2):318-27.
138. Traish AM, Abdou R, Kypreos KE. Androgen deficiency and atherosclerosis: The lipid link. *Vascul Pharmacol.* 2009;51(5-6):303-13.

139. Akishita M, Hashimoto M, Ohike Y, Ogawa S, Iijima K, Eto M, Ouchi Y. Low testosterone level is an independent determinant of endothelial dysfunction in men. *Hypertens Res.* 2007;30(11):1029-34.
140. Feldman HA, Johannes CB, McKinlay JB, Longcope C. Low dehydroepiandrosterone sulfate and heart disease in middle-aged men: cross-sectional results from the Massachusetts Male Aging Study. *Ann Epidemiol.* 1998;8(4):217-28.
141. Kang SM, Jang Y, Kim J, Chung N, Cho SY, Chae JS, Lee JH. Effect of oral administration of testosterone on brachial arterial vasoreactivity in men with coronary artery disease. *Am J Cardiol.* 2002;89(7):862-4.
142. Kapoor D, Goodwin E, Channer KS, Jones TH. Testosterone replacement therapy improves insulin resistance, glycaemic control, visceral adiposity and hypercholesterolaemia in hypogonadal men with type 2 diabetes. *Eur J Endocrinol.* 2006;154(6):899-906.
143. Szmitko PE, Wang CH, Weisel RD, Jeffries GA, Anderson TJ, Verma S. Biomarkers of vascular disease linking inflammation to endothelial activation: Part II. *Circulation.* 2003;108(17):2041-8.
144. Fu L, Gao QP, Shen JX. Relationship between testosterone and indexes indicating endothelial function in male coronary heart disease patients. *Asian J Androl.* 2008;10(2):214-8.

145. Hashimoto M, Akishita M, Eto M, Kozaki K, Ako J, Sugimoto N, Yoshizumi M, Toba K, Ouchi Y. The impairment of flow-mediated vasodilatation in obese men with visceral fat accumulation. *Int J Obesity*. 1998;22(5):477-84.
146. Fadini GP, Sartore S, Agostini C, Avogaro A. Significance of endothelial progenitor cells in subjects with diabetes. *Diabetes Care*. 2007;30(5):1305-13.
147. Blankenberg S, Barbaux S, Tiret L. Adhesion molecules and atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2003;170(2):191-203.
148. Egashira K. Clinical importance of endothelial function in arteriosclerosis and ischemic heart disease. *Circ J*. 2002;66(6):529-33.
149. Kasprzak JD, Klosinska M, Drozdz J. Clinical aspects of assessment of endothelial function. *Pharmacol Rep*. 2006;58 Suppl:33-40.
150. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, Deanfield J, Drexler H, Gerhard-Herman M, Herrington D, Vallance P, Vita J, Vogel R; International Brachial Artery Reactivity Task Force. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39(2):257-65.
151. Forstermann U, Munzel T. Endothelial nitric oxide synthase in vascular disease: from marvel to menace. *Circulation*. 2006;113(13):1708-14.

-
152. Govers R, Rabelink TJ. Cellular regulation of endothelial nitric oxide synthase. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2001;280(2):F193-206.
153. Sansbury BE, Hill BG. Regulation of obesity and insulin resistance by nitric oxide. *Free Radic Biol Med*. 2014;73:383-99.
154. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation*. 2007;115(10):1285-95.
155. Joannides R, Haefeli WE, Linder L, Richard V, Bakkali EH, Thuillez C, Lüscher TF. Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. *Circulation*. 1995;91(5):1314-9.
156. Deanfield J, Donald A, Ferri C, Giannattasio C, Halcox J, Halligan S, Lerman A, Mancia G, Oliver JJ, Pessina AC, Rizzoni D, Rossi GP, Salvetti A, Schiffrin EL, Taddei S, Webb DJ; Working Group on Endothelin and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. Endothelial function and dysfunction. Part I: Methodological issues for assessment in the different vascular beds: a statement by the Working Group on Endothelin and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens*. 2005;23(1):7-17.
157. Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD, Meredith IT, Knab S, Delagrangé D, Lieberman EH, Ganz P, Creager MA, Yeung A, et al. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol*. 1995;26(5):1235-41.

158. Gokce N, Keaney JF, Jr., Hunter LM, Watkins MT, Nedeljkovic ZS, Menzoian JO, Vita JA. Predictive value of noninvasively determined endothelial dysfunction for long-term cardiovascular events in patients with peripheral vascular disease. *J Am Coll Cardiol.* 2003;41(10):1769-75.
159. Bai Q, Lai X, Zhang AH, Lu XH, Tian SL, Fan MH, Wang Y, Wang T. Metabolic syndrome and its components associated with endothelial dysfunction in chronic kidney disease patients. *Vasc Health Risk Manag.* 2012;8:15-21.
160. Webb CM, McNeill JG, Hayward CS, de Zeigler D, Collins P. Effects of testosterone on coronary vasomotor regulation in men with coronary heart disease. *Circulation.* 1999;100(16):1690-6.
161. Jones RD, Pugh PJ, Jones TH, Channer KS. The vasodilatory action of testosterone: a potassium-channel opening or a calcium antagonistic action? *Br J Pharmacol.* 2003;138(5):733-44.
162. Maggio M, Basaria S. Welcoming low testosterone as a cardiovascular risk factor. *Int J Impot Res.* 2009;21(4):261-4.
163. Hougaku H, Fleg JL, Najjar SS, Lakatta EG, Harman SM, Blackman MR, Metter EJ. Relationship between androgenic hormones and arterial stiffness, based on longitudinal hormone measurements. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006;290(2):E234-42.

-
164. Kenny AM, Prestwood KM, Gruman CA, Fabregas G, Biskup B, Mansoor G. Effects of transdermal testosterone on lipids and vascular reactivity in older men with low bioavailable testosterone levels. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2002;57(7):M460-5.
165. Pearson LJ, Yandle TG, Nicholls MG, Evans JJ. Regulation of endothelin-1 release from human endothelial cells by sex steroids and angiotensin-II. *Peptides*. 2008;29(6):1057-61.
166. Kumanov P, Tomova A, Kirilov G, Dakovska L, Schinkov A. Increased plasma endothelin levels in patients with male hypogonadism. *Andrologia*. 2002;34(1):29-33.
167. Kumanov P, Tomova A, Kirilov G. Testosterone replacement therapy in male hypogonadism is not associated with increase of endothelin-1 levels. *Int J Androl*. 2007;30(1):41-7.
168. Widlansky ME, Gokce N, Keaney JF, Jr., Vita JA. The clinical implications of endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol*. 2003;42(7):1149-60.
169. Pearson JD. Endothelial cell function and thrombosis. *Baillieres Best Pract Res Clin Haematol*. 1999;12(3):329-41.
170. Ribeiro F, Alves AJ, Teixeira M, Ribeiro V, Duarte JA, Oliveira J. Endothelial function and atherosclerosis: circulatory markers with clinical usefulness. *Rev Port Cardiol*. 2009;28(10):1121-51.

171. Springer TA. Traffic signals on endothelium for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration. *Annu Rev Physiol.* 1995;57:827-72.
172. Read MA, Whitley MZ, Williams AJ, Collins T. Nf-Kappa-B and I-Kappa-B-Alpha - an Inducible Regulatory System in Endothelial Activation. *J Exp Med.* 1994;179(2):503-12.
173. Elangbam CS, Qualls CW, Jr., Dahlgren RR. Cell adhesion molecules--update. *Vet Pathol.* 1997;34(1):61-73.
174. Saadeddin SM, Habbab MA, Ferns GA. Markers of inflammation and coronary artery disease. *Med Sci Monit.* 2002;8(1):RA5-12.
175. Bevilacqua MP. Endothelial-leukocyte adhesion molecules. *Annu Rev Immunol.* 1993;11:767-804.
176. Demerath E, Towne B, Blangero J, Siervogel RM. The relationship of soluble ICAM-1, VCAM-1, P-selectin and E-selectin to cardiovascular disease risk factors in healthy men and women. *Ann Hum Biol.* 2001;28(6):664-78.
177. Zimmerman GA, Prescott SM, McIntyre TM. Endothelial cell interactions with granulocytes: tethering and signaling molecules. *Immunol Today.* 1992;13(3):93-100.

-
178. Silvestro A, Brevetti G, Schiano V, Scopacasa F, Chiariello M. Adhesion molecules and cardiovascular risk in peripheral arterial disease. Soluble vascular cell adhesion molecule-1 improves risk stratification. *Thromb Haemost.* 2005;93(3):559-63.
179. Hwang SJ, Ballantyne CM, Sharrett AR, Smith LC, Davis CE, Gotto AM, Jr., Boerwinkle E. Circulating adhesion molecules VCAM-1, ICAM-1, and E-selectin in carotid atherosclerosis and incident coronary heart disease cases: the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. *Circulation.* 1997;96(12):4219-25.
180. Rohde LE, Hennekens CH, Ridker PM. Cross-sectional study of soluble intercellular adhesion molecule-1 and cardiovascular risk factors in apparently healthy men. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology.* 1999;19(7):1595-9.
181. 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.
182. Neish AS, Williams AJ, Palmer HJ, Whitley MZ, Collins T. Functional-Analysis of the Human Vascular Cell-Adhesion Molecule-1 Promoter. *J Exp Med.* 1992;176(6):1583-93.

-
183. Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, Peetz D, Hafner G, Tiret L, Meyer J. Circulating cell adhesion molecules and death in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 2001;104(12):1336-42.
184. Ng MK, Liu PY, Williams AJ, Nakhla S, Ly LP, Handelsman DJ, Celermajer DS. Prospective study of effect of androgens on serum inflammatory markers in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22(7):1136-41.
185. Jones RD, Nettleship JE, Kapoor D, Jones HT, Channer KS. Testosterone and atherosclerosis in aging men: purported association and clinical implications. *Am J Cardiovasc Drugs*. 2005;5(3):141-54.
186. Cutini PH, Campelo AE, Agriello E, Sandoval MJ, Rauschemberger MB, Massheimer VL. The role of sex steroids on cellular events involved in vascular disease. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2012;132(3-5):322-30.
187. Zhang X, Wang LY, Jiang TY, Zhang HP, Dou Y, Zhao JH, Qiao ZD, Qiao JT. Effects of testosterone and 17-beta-estradiol on TNF-alpha-induced E-selectin and VCAM-1 expression in endothelial cells - Analysis of the underlying receptor pathways. *Life Sci*. 2002;71(1):15-29.
188. Dignat-George F, Sampol J. Circulating endothelial cells in vascular disorders: new insights into an old concept. *Eur J Haematol*. 2000;65(4):215-20.
189. Higashi Y. Assessment of endothelial function. History, methodological aspects, and clinical perspectives. *Int Heart J*. 2015;56(2):125-34.

-
190. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T, Witztenbichler B, Schatteman G, Isner JM. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science*. 1997;275(5302):964-7.
191. Hill JM, Zalos G, Halcox JP, Schenke WH, Waclawiw MA, Quyyumi AA, Finkel T. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N Engl J Med*. 2003;348(7):593-600.
192. Wannamethee SG, Shaper AG, Lennon L, Morris RW. Metabolic syndrome vs Framingham Risk Score for prediction of coronary heart disease, stroke, and type 2 diabetes mellitus. *Arch Intern Med*. 2005;165(22):2644-50.
193. Murayama T, Tepper OM, Silver M, Ma H, Losordo DW, Isner JM, Asahara T, Kalka C. Determination of bone marrow-derived endothelial progenitor cell significance in angiogenic growth factor-induced neovascularization in vivo. *Exp Hematol*. 2002;30(8):967-72.
194. Werner N, Kosiol S, Schiegl T, Ahlers P, Walenta K, Link A, Böhm M, Nickenig G. Circulating endothelial progenitor cells and cardiovascular outcomes. *N Engl J Med*. 2005;353(10):999-1007.
195. Fadini GP, Miorin M, Facco M, Bonamico S, Baesso I, Grego F, Menegolo M, de Kreutzenberg SV, Tiengo A, Agostini C, Avogaro A. Circulating endothelial progenitor cells are reduced in peripheral vascular complications of type 2 diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol*. 2005;45(9):1449-57.

-
196. Tepper OM, Galiano RD, Capla JM, Kalka C, Gagne PJ, Jacobowitz GR, Levine JP, Gurtner GC. Human endothelial progenitor cells from type II diabetics exhibit impaired proliferation, adhesion, and incorporation into vascular structures. *Circulation*. 2002;106(22):2781-6.
197. Pirro M, Schillaci G, Menecali C, Bagaglia F, Paltriccia R, Vaudo G, Mannarino MR, Mannarino E. Reduced number of circulating endothelial progenitors and HOXA9 expression in CD34+ cells of hypertensive patients. *J Hypertens*. 2007;25(10):2093-9.
198. Choi JH, Kim KL, Huh W, Kim B, Byun J, Suh W, Sung J, Jeon ES, Oh HY, Kim DK. Decreased number and impaired angiogenic function of endothelial progenitor cells in patients with chronic renal failure. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24(7):1246-52.
199. Shintani S, Murohara T, Ikeda H, Ueno T, Honma T, Katoh A, Sasaki K, Shimada T, Oike Y, Imaizumi T. Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction. *Circulation*. 2001;103(23):2776-9.
200. Liao CH, Wu YN, Lin FY, Tsai WK, Liu SP, Chiang HS. Testosterone replacement therapy can increase circulating endothelial progenitor cell number in men with late onset hypogonadism. *Andrology*. 2013;1(4):563-9.
201. Foresta C, Zuccarello D, De Toni L, Garolla A, Caretta N, Ferlin A. Androgens stimulate endothelial progenitor cells through an androgen receptor-mediated pathway. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2008;68(2):284-9.

-
202. Foresta C, Caretta N, Lana A, De Toni L, Biagioli A, Ferlin A, Garolla A . Reduced number of circulating endothelial progenitor cells in hypogonadal men. *J Clin Endocr Metab*. 2006;91(11):4599-602.
203. Hwang I, Lee HS, Yu HS, Kim ME, Lee JS, Park K. Testosterone modulates endothelial progenitor cells in rat corpus cavernosum. *BJU Int*. 2016;117(6):976-81.
204. Lin Y, Weisdorf DJ, Solovey A, Hebbel RP. Origins of circulating endothelial cells and endothelial outgrowth from blood. *J Clin Invest*. 2000;105(1):71-7.
205. Flores-Nascimento MC, Alessio AM, de Andrade Orsi FL, Annichino-Bizzacchi JM. CD144, CD146 and VEGFR-2 properly identify circulating endothelial cell. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2015;37(2):98-102.
206. Kasper C, Griensven M, Pörtner R, SpringerLink. *Bioreactor Systems for tissue engineering ii strategies for the expansion and directed differentiation of stem cells [text]*. Berlin,: Springer; 2010.
207. Pires A, Martins P, Paiva A, Pereira AM, Marques M, Castela E, Sena C, Seíça R.. Circulating endothelial progenitor cells in obese children and adolescents. *J Pediatr (Rio J)*. 2015;91(6):560-6.
208. Delorme B, Basire A, Gentile C, Sabatier F, Monsonis F, Desouches C, Blot-Chabaud M, Uzan G, Sampol J, Dignat-George F. Presence of endothelial progenitor cells, distinct from mature endothelial cells, within human CD146+ blood cells. *Thromb Haemost*. 2005;94(6):1270-9.

-
209. Schubert M, Minnemann T, Hubler D, Rouskova D, Christoph A, Oettel M, Ernst M, Mellinger U, Krone W, Jockenhövel F. Intramuscular testosterone undecanoate: pharmacokinetic aspects of a novel testosterone formulation during long-term treatment of men with hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(11):5429-34.
210. Aversa A, Bruzziches R, Francomano D, Spera G, Lenzi A. Efficacy and safety of two different testosterone undecanoate formulations in hypogonadal men with metabolic syndrome. *J Endocrinol Invest.* 2010;33(11):776-83.
211. Francomano D, Ilacqua A, Bruzziches R, Lenzi A, Aversa A. Effects of 5-Year Treatment With Testosterone Undecanoate on Lower Urinary Tract Symptoms in Obese Men With Hypogonadism and Metabolic Syndrome. *Urology.* 2014;83(1):167-73.
212. Fernández-Balsells MM, Murad MH, Lane M, Lampropulos JF, Albuquerque F, Mullan RJ, Agrwal N, Elamin MB, Gallegos-Orozco JF, Wang AT, Erwin PJ, Bhasin S, Montori VM. Clinical review 1: Adverse effects of testosterone therapy in adult men: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(6):2560-75.
213. Jenkins LC, Mulhall JP. How Dangerous is Testosterone Supplementation? *Int Braz J Urol.* 2015;41(2):195-8.

214. Canada H. Information Update - Possible cardiovascular problems associated with testosterone products Canada: Health Canada; 2014 Health Canada is advising patients and healthcare professionals of new safety information regarding testosterone hormone replacement products and a risk of serious and possibly life-threatening cardiovascular (heart and blood vessel) problems. Disponível em: <<http://healthy Canadians.gc.ca/recall-alert-rappel-avis/hc-sc/2014/40587a-eng.php>>. Acesso em 18 set 2017.
215. Anderson JL, May HT, Lappe DL, Bair T, Le V, Carlquist JF, Muhlestein JB. Impact of Testosterone Replacement Therapy on Myocardial Infarction, Stroke, and Death in Men With Low Testosterone Concentrations in an Integrated Health Care System. *Am J Cardiol*. 2016;117(5):794-9.
216. Alexander GC, Iyer G, Lucas E, Lin D, Singh S. Cardiovascular Risks of Exogenous Testosterone Use Among Men: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Am J Med*. 2017;130(3):293-305.
217. Hackett G, Cole N, Bhartia M, Kennedy D, Raju J, Wilkinson P, Saghir A; Blast Study Group. The response to testosterone undecanoate in men with type 2 diabetes is dependent on achieving threshold serum levels (the BLAST study). *Int J Clin Pract*. 2014;68(2):203-15.
218. Seftel AD. Re: Therapy of Endocrine Disease: Testosterone Supplementation and Body Composition: Results from a Meta-Analysis Study Editorial Comment. *J Urology*. 2016;195(6):1856-.

-
219. Zmuda JM, Fahrenbach MC, Younkin BT, Bausserman LL, Terry RB, Catlin DH, Thompson PD. The effect of testosterone aromatization on high-density lipoprotein cholesterol level and postheparin lipolytic activity. *Metabolism*. 1993;42(4):446-50.
220. Chua ME, Escusa KG, Luna S, Tapia LC, Dofitas B, Morales M. Revisiting oestrogen antagonists (clomiphene or tamoxifen) as medical empiric therapy for idiopathic male infertility: a meta-analysis. *Andrology*. 2013;1(5):749-57.
221. Anderson DC, Marshall JC, Young JL, Fraser TR. Human chorionic gonadotrophin and clomiphene in the diagnosis and treatment of male hypogonadotrophic hypogonadism. *J Endocrinol*. 1970;48(4):xl-xli.
222. Ramasamy R, Scovell JM, Kovac JR, Lipshultz LI. Testosterone supplementation versus clomiphene citrate for hypogonadism: an age matched comparison of satisfaction and efficacy. *J Urology*. 2014;192(3):875-9.
223. Tenover JS, Bremner WJ. The Effects of normal aging on the response of the pituitary-gonadal axis to chronic clomiphene administration in men. *J Androl*. 1991;12(4):258-63.
224. Guay AT, Bansal S, Heatley GJ. Effect of Raising endogenous testosterone levels in impotent men with secondary hypogonadism - Double-blind placebo-controlled trial with clomiphene citrate. *J Clin Endocr Metab*. 1995;80(12):3546-52.

-
225. Wiehle R, Cunningham GR, Pitteloud N, Wike J, Hsu K, Fontenot GK, Rosner M, Dwyer A, Podolski J. Testosterone Restoration by enclomiphene citrate in men with secondary hypogonadism: pharmacodynamics and pharmacokinetics. *BJU Int*. 2013.
226. Helo S, Mahon J, Ellen J, Wiehle R, Fontenot G, Hsu K, Feustel P, Welliver C, McCullough A. Serum levels of enclomiphene and zuclomiphene in men with hypogonadism on long-term clomiphene citrate treatment. *BJU Int*. 2017;119(1):171-6.
227. Da Ros CT, Averbek MA. Twenty-five milligrams of clomiphene citrate presents positive effect on treatment of male testosterone deficiency - a prospective study. *Int Braz J Urol*. 2012;38(4):512-8.
228. Delitala G, Masala A, Alagna S. Clomiphene Citrate, L-Dopa and Synthetic Gn-Rh in Evaluation of Hypothalamic-Pituitary Function - Their Effects on Plasma Lh and Fsh in Hypogonadotropic and Hypergonadotropic Hypogonadism. *Panminerva Med*. 1977;19(1):15-26.
229. Deveci S, Mazzola C, Logmanieh N, Mulhall J. Biochemical Clomiphene Citrate Response in Men with Hypogonadism Based on Baseline Lh Level. *J Sex Med*. 2015;12:55-.
230. Kaminetsky J, Hemani ML. Clomiphene citrate and enclomiphene for the treatment of hypogonadal androgen deficiency. *Expert Opin Investig Drugs*. 2009;18(12):1947-55.

-
231. Lujan S, Vendryes C, Niederberger C. Is Clomiphene Citrate a Safe Drug to Use in Patients with Infertility and Hypogonadism? *Fertil Steril*. 2014;102(3):E189-E.
232. Shabsigh A, Kang Y, Fromer D, Fisch H. Chronic clomiphene citrate administration for the treatment of progressive hypogonadism of the aging male (PRAM). *J Urology*. 2003;169(4):377-8.
233. Tai T, Nagao K, Nakajima Y, Aoki H, Ozaki Y, Kobayashi H, et al. The potentialities of clomiphene citrate therapy for Late-Onset Hypogonadism (Loh). *J Sex Med*. 2013;10:270.
234. Bendre SV, Murray PJ, Basaria S. Clomiphene Citrate Effectively Increases Testosterone in Obese, Young, Hypogonadal Men. *Reprod Syst Sex Disord*. 2015;4(4).
235. Bricaire H, Franchimont P, Luton JP, Valcke JC, Charbonnel B. Effect of Clomiphene Citrate on Plasmatic Fsh and Lh Levels in 4 Cases of Hypogonadism with Hyposmia or Anosmia. *Ann Endocrinol-Paris*. 1972;33(6):622-8.
236. Burge MR, Lanzi RA, Skarda ST, Eaton RP. Idiopathic hypogonadotropic hypogonadism in a male runner is reversed by clomiphene citrate. *Fertil Steril*. 1997;67(4):783-5.
237. Ioannidou-Kadis S, Wright PJ, Neely RD, Quinton R. Complete reversal of adult-onset isolated hypogonadotropic hypogonadism with clomiphene citrate. *Fertil Steril*. 2006;86(5).

-
238. Katlowitz Y, Desroches B, Mack D, Katlowitz N. Subjective side effects and hormonal profiles in men with hypogonadism on anastrozole and clomiphene therapy. *J Sex Med*. 2014;11:199-200.
239. Landefeld CS, Schambelan M, Kaplan SL, Embury SH. Clomiphene-responsive hypogonadism in sickle cell anemia. *Ann Intern Med*. 1983;99(4):480-3.
240. Novoa PCR. What changes in Research Ethics in Brazil: Resolution no. 466/12 of the National Health Council. *Einstein (São Paulo)*. 2014;12(1):vii-vix.
241. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. The metabolic syndrome--a new worldwide definition. *Lancet*. 2005;366(9491):1059-62.
242. Jankowska EA, Tkaczyszyn M, Wegrzynowska-Teodorczyk K, Majda J, von Haehling S, Doehner W, Banasiak W, Anker SD, Ponikowski P. Late-onset hypogonadism in men with systolic heart failure: prevalence, clinical associates, and impact on long-term survival. *ESC Heart Fail*. 2014;1(1):41-51.
243. Rosenfield RL. Clinical review 6: Diagnosis and management of delayed puberty. *J Clin Endocrinol Metab*. 1990;70(3):559-62.
244. Stack AG, Mutwali AI, Nguyen HT, Cronin CJ, Casserly LF, Ferguson J. Transferrin saturation ratio and risk of total and cardiovascular mortality in the general population. *QJM*. 2014;107(8):623-33.

-
245. Naka KK, Papathanassiou K, Bechlioulis A, Kazakos N, Pappas K, Tigas S, Makriyiannis D, Tsatsoulis A, Michalis LK. Determinants of vascular function in patients with type 2 diabetes. *Cardiovasc Diabetol*. 2012;11:127.
246. GraphPad Software. *Graphpad software*. Disponível em: <<http://www.graphpad.com/quickcalcs/%C3%ADndex.cfm>>. Acesso em 29 mar 2017.
247. IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Manual de Antropometria*. 2013.
248. Ben-Noun LL, Laor A. Relationship between changes in neck circumference and cardiovascular risk factors. *Exp Clin Cardiol*. 2006;11(1):14-20.
249. Gibson AL, Holmes JC, Desautels RL, Edmonds LB, Nuudi L. Ability of new octapolar bioimpedance spectroscopy analyzers to predict 4-component-model percentage body fat in Hispanic, black, and white adults. *Am J Clin Nutr*. 2008;87(2):332-8.
250. Faria SL, Faria OP, Cardeal MD, Ito MK. Validation study of multi-frequency bioelectrical impedance with dual-energy X-ray absorptiometry among obese patients. *Obes Surg*. 2014;24(9):1476-80.

251. Thijssen DH, Black MA, Pyke KE, Padilla J, Atkinson G, Harris RA, Parker B, Widlansky ME, Tschakovsky ME, Green DJ. Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011;300(1):H2-12.
252. Montero D, Walther G, Perez-Martin A, Roche E, Vinet A. Endothelial dysfunction, inflammation, and oxidative stress in obese children and adolescents: markers and effect of lifestyle intervention. *Obes Rev*. 2012 May;13(5):441-55.
253. Gutierrez MA, Pilon PE, Lage SG, Kopel L, Carvalho RT, Furuie SS. Assessment of carotid diameter and wall thickness in ultrasound images using active contours improved by a multiresolution technique. *P Soc Photo-Opt Ins*. 2002;4683:248-55.
254. Calderaro D. *Análise funcional do endotélio no perioperatório de operações vasculares* [tese]. Tese de Doutorado em Emergências Clínicas. 2008. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5159/tde-24062008-120747/>>. Acesso em **dia mês ano**.
255. Harris RA, Nishiyama SK, Wray DW, Richardson RS. Ultrasound assessment of flow-mediated dilation. *Hypertension*. 2010;55(5):1075-85.
256. Dalli E, Segarra L, Ruvira J, Esteban E, Cabrera A, Liso R, López E, Llopis E, Sotillo JF. Brachial artery flow-mediated dilation in healthy men, men with risk factors, and men with acute myocardial infarction. Importance of occlusion-cuff position. *Rev Esp Cardiol*. 2002;55(9):928-35.

257. McDougal WS, Wein AJ, Kavoussi LR, Partin AW, Peters C. *Campbell-Walsh urology eleventh edition review*. 2^a ed. Philadelphia: Elsevier; 2016. xxvi. 595 p.
258. Maxwell DL, Satake E. *Research and statistical methods in communication disorders*. Baltimore: Williams & Wilkins; 1997. xv. 333p.
259. IBMC. *IBM SPSS Statistics for Windows*. 19.0. ed. Armonk, NY: International Business Machines Corp (IBM) 2010.
260. Luc G, Arveiler D, Evans A, Amouyel P, Ferrieres J, Bard JM, Elkhailil L, Fruchart JC, Ducimetiere P; PRIME Study Group. Circulating soluble adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1 and incident coronary heart disease: the PRIME Study. *Atherosclerosis*. 2003;170(1):169-76.
261. Organization WH. *Obesity and overweight Fact Sheet N°311*. 2016.
262. Vulliemmoz N, Primi MP, Pitteloud N, Vaucher L. Use of clomiphene citrate for male infertility caused by idiopathic secondary hypogonadism. *Human Reproduction*. 2015;30:177-.
263. Willets AE, Corbo JM, Brown JN. Clomiphene for the Treatment of Male Infertility. *Reprod Sci*. 2013;20(7):739-44.
264. Niederberger C. Re: Outcomes of Clomiphene Citrate Treatment in Young Hypogonadal Men Editorial Comment. *J Urology*. 2013;189(3):1039-.

-
265. Ring JD, Lwin AA, Kohler TS. Current medical management of endocrine-related male infertility. *Asian J Androl*. 2016;18(3):357-63.
266. Taylor FL, Levine LA. Clomiphene Citrate versus testosterone gel replacement therapy for hypogonadism: biochemical and clinical efficacy and treatment cost. *J Urology*. 2009;181(4):488-9.
267. Toth G. Clomiphene Citrate Treatment for Idiopathic Adult Onset Hypogonadotropic Hypogonadism over One Year. *J Androl*. 2010:74-.
268. Stokes VJ, Anderson RA, George JT. How does obesity affect fertility in men - and what are the treatment options? *Clin Endocrinol (Oxf)* 2015;82(5):633-8.
269. Gopal RA, Bothra N, Acharya SV, Ganesh HK, Bandgar TR, Menon PS, Shah NS. Treatment of hypogonadism with testosterone in patients with type 2 diabetes mellitus. *Endocr Pract*. 2010;16(4):570-6.
270. Martinez-Jabaloyas JM, Queipo-Zaragoza A, Rodriguez-Navarro R, Queipo-Zaragoza JA, Gil-Salom M, Chuan-Nuez P. Relationship between the Saint Louis University ADAM questionnaire and sexual hormonal levels in a male outpatient population over 50 years of age. *European urology*. 2007;52(6):1760-7.
271. Chu LW, Tam S, Kung AW, Lam TP, Lee A, Wong RL, Lo S, Fan S, Chung CP, Morley JE, Lam KS. A short version of the ADAM Questionnaire for androgen deficiency in Chinese men. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2008;63(4):426-31.

272. Scovell JM, Ramasamy R, Wilken N, Kovac JR, Lipshultz LI. Hypogonadal symptoms in young men are associated with a serum total testosterone threshold of 400 ng/dL. *BJU Int.* 2015;116(1):142-6.
273. Miller KK. Androgen deficiency: effects on body composition. *Pituitary.* 2009;12(2):116-24.
274. Traish AM, Saad F, Guay A. The dark side of testosterone deficiency: II. Type 2 diabetes and insulin resistance. *J Androl.* 2009;30(1):23-32.
275. Corona G, Mannucci E, Forti G, Maggi M. Following the common association between testosterone deficiency and diabetes mellitus, can testosterone be regarded as a new therapy for diabetes? *int J Androl.* 2009;32(5):431-41.
276. Expert Panel on Detection E, Treatment of High Blood Cholesterol in A. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA.* 2001;285(19):2486-97.
277. Hamidi Madani A, Heidarzadeh A, Akbari Parsa N, Khosravi Darestani F, Hamidi Madani Z. A survey on relative frequency of metabolic syndrome and testosterone deficiency in men with erectile dysfunction. *Int Urol Nephrol.* 2012;44(3):667-72.

278. Loves S, Ruinemans-Koerts J, de Boer H. Letrozole once a week normalizes serum testosterone in obesity-related male hypogonadism. *Eur J Endocrinol*. 2008;158(5):741-7.
279. Saad F, Aversa A, Isidori AM, Gooren LJ. Testosterone as potential effective therapy in treatment of obesity in men with testosterone deficiency: a review. *Curr Diabetes Rev*. 2012;8(2):131-43.
280. Saad F, Haider A, Yassin A, Zitzmann M, Nieschlag E. Favourable Changes in Body Composition and Components of the Metabolic Syndrome in 410 Hypogonadal Men Receiving Testosterone over 48 Months. *J Sex Med*. 2012;9:15-.
281. Tajar A, Huhtaniemi IT, O'Neill TW, Finn JD, Pye SR, Lee DM, Bartfai G, Boonen S, Casanueva FF, Forti G, Giwercman A, Han TS, Kula K, Labrie F, Lean ME, Pendleton N, Punab M, Vanderschueren D, Wu FC; EMAS Group. Characteristics of androgen deficiency in late-onset hypogonadism: results from the European Male Aging Study (EMAS). *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(5):1508-16.
282. Ribeiro RS, Abucham J. Recovery of persistent hypogonadism by clomiphene in males with prolactinomas under dopamine agonist treatment. *Eur J Endocrinol*. 2009;161(1):163-9.

-
283. Pelusi C, Giagulli VA, Baccini M, Fanelli F, Mezzullo M, Fazzini A, Bianchi N, Carbone MD, De Pergola G, Mastroroberto M, Morselli Labate AM, Pasquali R. Clomiphene citrate effect in obese men with low serum testosterone treated with metformin due to dysmetabolic disorders: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Plos One*. 2017;12(9):e0183369.
284. Mazzola CR, Katz DJ, Loghmanieh N, Nelson CJ, Mulhall JP. Predicting Biochemical Response to Clomiphene Citrate in Men with Hypogonadism. *J Sex Med*. 2014;11(9):2302-7.
285. Shabsigh A, Kang Y, Shabsigh R, Gonzalez M, Liberson G, Fisch H, Goluboff E. Clomiphene citrate effects on testosterone/estrogen ratio in male hypogonadism. *J Sex Med*. 2005;2(5):716-21.
286. Whitten SJ, Nangia AK, Kolettis PN. Is there a special subgroup of males with adult-onset idiopathic hypogonadotrophic hypogonadism who may respond with increases in sperm concentration after clomiphene citrate? Reply. *Fertil Steril*. 2007;88(1):249-50.
287. Bhasin S, Storer TW, Berman N, Yarasheski KE, Clevenger B, Phillips J, Lee WP, Bunnell TJ, Casaburi R. Testosterone replacement increases fat-free mass and muscle size in hypogonadal men. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82(2):407-13.

288. Griggs RC, Kingston W, Jozefowicz RF, Herr BE, Forbes G, Halliday D. Effect of testosterone on muscle mass and muscle protein synthesis. *J Appl Physiol* (1985). 1989;66(1):498-503.
289. Wang C, Swerdloff RS, Iranmanesh A, Dobs A, Snyder PJ, Cunningham G, Matsumoto AM, Weber T, Berman N; Testosterone Gel Study Group. Transdermal testosterone gel improves sexual function, mood, muscle strength, and body composition parameters in hypogonadal men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85(8):2839-53.
290. Wang C, Eyre DR, Clark R, Kleinberg D, Newman C, Iranmanesh A, Veldhuis J, Dudley RE, Berman N, Davidson T, Barstow TJ, Sinow R, Alexander G, Swerdloff RS. Sublingual testosterone replacement improves muscle mass and strength, decreases bone resorption, and increases bone formation markers in hypogonadal men--a clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81(10):3654-62.
291. Lee D, Wosnitzer M, Winter A, Paduch D. Influence of clomiphene citrate on bmi and cholesterol levels in the treatment of hypogonadism. *Fertil Steril*. 2014;102(3):E269-E70.
292. Sorva R, Kuusi T, Taskinen MR, Perheentupa J, Nikkila EA. Testosterone substitution increases the activity of lipoprotein lipase and hepatic lipase in hypogonadal males. *Atherosclerosis*. 1988;69(2-3):191-7.

-
293. Dougherty RH, Rohrer JL, Hayden D, Rubin SD, Leder BZ. Effect of aromatase inhibition on lipids and inflammatory markers of cardiovascular disease in elderly men with low testosterone levels. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005;62(2):228-35.
294. Jones TH, Arver S, Behre HM, Buvat J, Meuleman E, Moncada I, Morales AM, Volterrani M, Yellowlees A, Howell JD, Channer KS; TIMES2 Investigators. Testosterone replacement in hypogonadal men with type 2 diabetes and/or metabolic syndrome (the TIMES2 study). *Diabetes Care*. 2011;34(4):828-37.
295. Bhattacharya RK, Khera M, Blick G, Kushner H, Nguyen D, Miner MM. Effect of 12 months of testosterone replacement therapy on metabolic syndrome components in hypogonadal men: data from the Testim Registry in the US (TRiUS). *BMC Endocr Disord*. 2011;11:18.
296. Svartberg J, von Muhlen D, Schirmer H, Barrett-Connor E, Sundfjord J, Jorde R. Association of endogenous testosterone with blood pressure and left ventricular mass in men. The Tromso Study. *Eur J Endocrinol*. 2004;150(1):65-71.
297. Miller VM, Mulvagh SL. Sex steroids and endothelial function: translating basic science to clinical practice. *Trends Pharmacol Sci*. 2007;28(6):263-70.

298. Aversa A, Bruzziches R, Francomano D, Rosano G, Isidori AM, Lenzi A, Spera G. Effects of testosterone undecanoate on cardiovascular risk factors and atherosclerosis in middle-aged men with late-onset hypogonadism and metabolic syndrome: results from a 24-month, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Sex Med.* 2010;7(10):3495-503.
299. Vigen R, O'Donnell CI, Baron AE, Grunwald GK, Maddox TM, Bradley SM, Barqawi A, Woning G, Wierman ME, Plomondon ME, Rumsfeld JS, Ho PM. Association of testosterone therapy with mortality, myocardial infarction, and stroke in men with low testosterone levels. *JAMA.* 2013;310(17):1829-36.
300. Finkle WD, Greenland S, Ridgeway GK, Adams JL, Frasco MA, Cook MB, Fraumeni JF Jr, Hoover RN. Increased risk of non-fatal myocardial infarction following testosterone therapy prescription in men. *Plos One.* 2014;9(1).
301. Basaria S, Coviello AD, Travison TG, Storer TW, Farwell WR, Jette AM, Eder R, Tennstedt S, Ulloor J, Zhang A, Choong K, Lakshman KM, Mazer NA, Miciek R, Krasnoff J, Elmi A, Knapp PE, Brooks B, Appleman E, Aggarwal S, Bhasin G, Hede-Brierley L, Bhatia A, Collins L, LeBrasseur N, Fiore LD, Bhasin S. Adverse events associated with testosterone administration. *New Engl J Med.* 2010;363(2):109-22.

-
302. Xu L, Freeman G, Cowling BJ, Schooling CM. Testosterone therapy and cardiovascular events among men: a systematic review and meta-analysis of placebo-controlled randomized trials. *BMC Med.* 2013;11.
303. Gluud C. Testosterone Treatment of Men with Alcoholic Cirrhosis - a Double-Blind-Study. *Hepatology.* 1986;6(5):807-13.
304. Zitzmann M, Brune M, Nieschlag E. Vascular reactivity in hypogonadal men is reduced by androgen substitution. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(11):5030-7.
305. Ong PJ, Patrizi G, Chong WC, Webb CM, Hayward CS, Collins P. Testosterone enhances flow-mediated brachial artery reactivity in men with coronary artery disease. *Am J Cardiol.* 2000;85(2):269-72.
306. Williams IL, Chowienczyk PJ, Wheatcroft SB, Patel AG, Sherwood RA, Momin A, Shah AM, Kearney MT. Endothelial function and weight loss in obese humans. *Obes Surg.* 2005;15(7):1055-60.
307. Hamdy O, Ledbury S, Mullooly C, Jarema C, Porter S, Ovalle K, Moussa A, Caselli A, Caballero AE, Economides PA, Veves A, Horton ES. Lifestyle modification improves endothelial function in obese subjects with the insulin resistance syndrome. *Diabetes Care.* 2003;26(7):2119-25.

-
308. Kelly AS, Hebbel RP, Solovey AN, Schwarzenberg SJ, Metzigg AM, Moran A, Sinaiko AR, Jacobs DR Jr, Steinberger J. Circulating activated endothelial cells in pediatric obesity. *J Pediatr*. 2010;157(4):547-51.
309. Graziani F, Leone AM, Basile E, Cialdella P, Tritarelli A, Bona RD, Liuzzo G, Nanni G, Iaconelli A, Iaconelli A, Mingrone G, Biasucci LM, Crea F. Endothelial progenitor cells in morbid obesity. *Circ J*. 2014;78(4):977-85.
310. Yoder MC. Human endothelial progenitor cells. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012;2(7):a006692.
311. D'Agostino RB, Sr., Vasan RS, Pencina MJ, Wolf PA, Cobain M, Massaro JM, Kannel WB. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2008;117(6):743-53.
312. Haddad RM, Kennedy CC, Caples SM, Tracz MJ, Bolona ER, Sideras K, Uraga MV, Erwin PJ, Montori VM. Testosterone and cardiovascular risk in men: a systematic review and meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. *Mayo Clin Proc*. 2007;82(1):29-39.
313. Cercato C, Roizenblatt VA, Leanca CC, Segal A, Lopes Filho AP, Mancini MC, Halpern A. A randomized double-blind placebo-controlled study of the long-term efficacy and safety of diethylpropion in the treatment of obese subjects. *Int J Obes (Lond)*. 2009;33(8):857-65.

314. Kalinchenko SY, Tishova YA, Mskhalaya GJ, Gooren LJ, Giltay EJ, Saad F. Effects of testosterone supplementation on markers of the metabolic syndrome and inflammation in hypogonadal men with the metabolic syndrome: the double-blinded placebo-controlled Moscow study. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2010;73(5):602-12.