

ALESSANDRA COVALLERO RENCK

Avaliação do impacto da redução significativa de peso pela dieta cetogênica de muito baixa caloria nos parâmetros metabólicos, inflamatórios, hormonais e seminais de homens obesos

Versão Original

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

Area de Concentração: Programa de Endocrinologia

Orientadora: Prof. Dra. Elaine M Frade Costa

São Paulo

2022

ALESSANDRA COVALLERO RENCK

Avaliação do impacto da redução significativa de peso pela dieta cetogênica de muito baixa caloria nos parâmetros metabólicos, inflamatórios, hormonais e seminais de homens obesos

Versão Original

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

Area de Concentração: Programa de Endocrinologia

Orientadora: Prof. Dra. Elaine M Frade Costa

São Paulo

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Renck, Alessandra Covallero

Avaliação do impacto da redução significativa de peso pela dieta cetogênica de muito baixa caloria nos parâmetros metabólicos, inflamatórios, hormonais e seminais de homens obesos / Alessandra Covallero Renck. -- São Paulo, 2022.

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

Programa de Endocrinologia.

Orientadora: Elaine Maria Frade Costa.

Descritores: 1.Obesidade 2.Inflamação 3.Síndrome metabólica 4.Hipogonadismo 5.Testosterona 6.Análise do sêmen 7.Dieta cetogênica

USP/FM/DBD-512/22

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Dedico esta obra aos meus grandes amores:

Ao meu marido Sergio Brasil, um exemplo de determinação e perseverança, meu companheiro há 23 anos. Graças a você, tive o privilégio de conceber minhas obras mais incríveis: João e Otto.

A vocês, meus filhos, dedico não apenas esta obra, mas também a minha vida. Que Deus me conceda a benção de estar ao seu lado, conduzindo-os com amor e sabedoria, enquanto minha presença for necessária.

À minha querida Tia Deda, aos queridos tio Paulo e tia Ester, e a tantos outros familiares e amigos que, cada um de sua forma, ampararam-me ao longo de minha trajetória.

Aos meus irmãos Nã e Ju, que me acompanharam em todas as fases do meu desenvolvimento; com carinho, zelo e paciência. Seus frutos: Edwin, Derek, Vito e Bento, me fizeram descobrir que eu podia amar ainda mais.

Aos meus pais Eduino e Ludmila, meus maiores exemplos de fortaleza, temperança, justiça e bondade. Graças a vocês, eu conheço o amor incondicional. Vocês me fazem sentir mais perto de Deus.

Que dEle seja a honra e a glória.

Amém

AGRADECIMENTOS

A todos os professores que me permitiram pensar além do óbvio

Às professoras Ana Claudia Latronico e Leticia Gontijo, por me receberem neste serviço que tanto admiro;

À professora Berenice Bilharinho de Mendonça, por me permitir fazer parte deste grupo seleteo;

À minha orientadora, professora Elaine Maria Frade Costa pelo acolhimento, pela oportunidade de realizar este estudo e aprofundar meu conhecimento neste tema que tanto me encanta. Estes anos em seu convívio foram enriquecedores e fundamentais para meu amadurecimento profissional e pessoal.

À toda equipe do ambulatório de desenvolvimento que me acolheu, em especial aos queridos professores Vinicius Nahime Brito e Rafael Loch, por compartilharem seu conhecimento e por me darem suporte, sempre que necessário.

À querida enfermeira Francisca por seu auxílio e zelo com os nossos pacientes, às queridas Roseli, Katia e Marilda, por sua assistência e suporte;

Aos colegas e amigos com quem tive o privilégio de conviver ao longo destes anos na “sala 9” Lorena, Carol, Maicon e em especial ao meu querido amigo Marcio, que me deu o suporte necessário nos dias mais difíceis;

À toda equipe do laboratório central, em especial à doutora Leila Antonangelo;

À todos nossos parceiros, que foram fundamentais para a realização deste estudo;

Aos professores Hermes Barbeiro, Heraldo Souza e toda equipe do LIM 51;

Ao professor Jorge Hallak e a toda equipe do laboratório Androscience;

Ao professor Marcilio Nichi e a toda equipe do laboratório de reprodução animal da FMVZ-USP. Aos queridos doutores Diego, Bobbie e Rapha que sempre me receberam tão bem e compartilharam comigo seus ricos conhecimentos;

Ao professor Mario Saad, e sua equipe Andrey, Dioze e Heloisa;

Ao grupo Pronokal, por proporcionar que nossos pacientes tivessem acesso a este protocolo de intervenção dietética gratuitamente, e com isso, tornar este estudo possível;

Aos queridos pacientes, fundamentais para que este estudo pudesse ser realizado. Agradeço muitíssimo por sua confiança, perseverança, seriedade e altruísmo. Me sinto muito honrada por ter tido o privilégio de acompanhá-los durante seu tratamento. Lhes serei eternamente grata.

A Cida e a Rosana por toda ajuda nos processos burocráticos relacionados a pós-graduação.

Aos profs. Marcio Mancini, Vinicius N Britto e João Diego A. Losano, membros da banca de qualificação, que com sua criteriosa avaliação, trouxeram valiosas contribuições para o aprimoramento dessa tese.

À querida professora Ericka B. Trarbach por todo seu suporte, o que tornou possível a realização desta obra. Sou muito grata por seus ensinamentos e conselhos, e certamente os levarei para toda a vida.

“Viva como se fosse morrer amanhã. Aprenda como se fosse viver para sempre.”

(Mahatma Gandhi)

RESUMO

Renck AC. Avaliação do impacto da redução significativa de peso pela dieta cetogênica de muito baixa caloria nos parâmetros metabólicos, inflamatórios, hormonais e seminais de homens obesos [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2022.

A prevalência de obesidade no mundo tem aumentado significativamente nos últimos anos. Além do impacto negativo da obesidade na saúde e qualidade de vida, a redução do potencial de fertilidade vem sendo demonstrada em diversos estudos. A perda rápida e significativa de peso determinada pela cirurgia bariátrica é a que exerce maior impacto na reversão do hipogonadismo masculino associado à obesidade, segundo dados da literatura do momento. Apesar deste bom resultado, o efeito dessa terapia na qualidade do sêmen ainda é controverso. Como alternativa, a dieta de muito baixa caloria (VLCKD) cetogênica tem sido utilizada com boa tolerabilidade e segurança com melhora da composição corporal e dos parâmetros metabólicos. Com base nisso, propusemos avaliar o impacto da VLCKD no perfil metabólico, hormonal, inflamatório e reprodutivo de 16 homens obesos em idade fértil com alteração de pelo menos um dos parâmetros de análise seminal convencional. Amostras de sangue, e também realização da avaliação clínica/antropométrica, foram coletadas nos tempos basal (T0), 30 dias (T1), 60 dias (T2), 90 dias (T3) e 180 dias (T4) após intervenção dietética. As amostras de sêmen foram coletadas nos tempos T0, T2 e T4. Amostras de soro foram separadas nestes três momentos para avaliação das citocinas inflamatórias. A perda de peso foi significativa em todos os pacientes já ao final do primeiro mês da dieta, o que levou a rápida melhora dos parâmetros clínicos e metabólicos: diminuição do IMC, circunferência abdominal e da gordura corporal e visceral ($P < 0.0001$), redução dos níveis de insulina, triglicérides, HbA1C, LDL, HOMA-IR ($P < 0.0001$) e das enzimas hepáticas AST, ALT e GGT; ($P < 0.01$). Foi observada ainda aumento nos níveis da testosterona total ($P < 0.0001$), da testosterona livre ($P = 0.002$) e do SHBG ($P = 0.001$). Os níveis de testosterona total e livre, ambos apresentaram correlação negativa com o peso ($\rho = -0.44; P = 0.005$ e $\rho = -0.39; P = 0.01$, respectivamente), o IMC ($\rho = -0.32; P = 0.048$ e $\rho = -0.33; P = 0.04$, respectivamente) e a área de gordura visceral ($\rho = -0.34; P = 0.03$ e $\rho = -0.36; P = 0.03$, respectivamente). O SHBG apresentou correlação negativa apenas com o peso ($\rho = -0.43; P = 0.008$). Em relação as citocinas inflamatórias (Interferon, IL1, IL6, IL10 e TNF-

α) não houve alteração em seus valores sorológicos. Quanto as análises seminais, apesar da melhora nos índices de POPE e Eosina, que medem respectivamente a integridade do acrossomo e da membrana espermáticos, essa diferença não foi significativa em termos estatísticos. Os valores de DABI-IV e o índice TBARS, que avaliam a atividade mitocondrial e o índice de peroxidação lipídica respectivamente, também não sofreram alteração. O único parâmetro que apresentou melhora significativa dentre as variáveis seminais foi a motilidade espermática ($P=0.03$), que se correlacionou positivamente com classe DABI ($\rho=0.5/ P=0.01$) que caracteriza células com 100% de atividade mitocondrial. Em conclusão, a perda de peso associada a dieta VLCK foi associada a melhora de, virtualmente, todas as variáveis metabólicas e hormonais avaliadas. Apesar de não ser evidenciada a melhora parâmetros nos espermáticos, não houve queda desses parâmetros o que já é bastante benéfico para pacientes em idade reprodutiva.

Palavras-chave: Obesidade. Inflamação. Síndrome metabólica. Hipogonadismo. Testosterona. Análise do sêmen. Dieta cetogênica

ABSTRACT

Renck AC. Impact of significant weight loss by very low ketogenic diet on metabolic, inflammatory, hormonal and seminal parameters of obese men [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2022.

The prevalence of obesity in the world has increased significantly in recent years. In addition to the negative impact of obesity on health and quality of life, a reduction in fertility potential has been demonstrated. Several studies show that rapid and significant weight loss determined by bariatric surgery has a greater impact on the reversal of male hypogonadism associated with obesity. Despite this result, the effect of this therapy on semen quality is still controversial. As an alternative, the ketogenic very low-calorie diet (VLCKD) has been used with good tolerability and safety with improvement in body composition and metabolic parameters. Based on this, we proposed to evaluate the impact of VLCKD on the metabolic, hormonal, inflammatory, and reproductive profile of 16 obese men of childbearing age with the alteration of at least one of the parameters of conventional seminal analysis. Blood samples, as well as clinical/anthropometric evaluation, were collected at baseline (T0), 30 days (T1), 60 days (T2), 90 days (T3), and 180 days (T4) after dietary intervention. The semen samples were collected at times T0, T2, and T4; serum samples were also separated for the evaluation of inflammatory cytokines. Weight loss was significant in all patients at the end of the diet's first month, which led to a rapid improvement in clinical and metabolic parameters: decrease in BMI, abdominal circumference, and body and visceral fat ($P < 0.0001$), reduced levels of insulin, triglycerides, HbA1C, LDL, HOMA-IR ($P < 0.0001$) and liver enzymes AST, ALT and GGT; ($P < 0.01$). There was also an increase in levels of total testosterone ($P < 0.0001$), free testosterone ($P = 0.002$), and SHBG ($P = 0.001$). Both total and free testosterone levels showed a negative correlation with weight ($\rho = -0.44; P = 0.005$ and $\rho = -0.39; P = 0.01$, respectively), BMI ($\rho = -0.32; P = 0.048$ and $\rho = -0.33; P = 0.04$, respectively) and visceral fat area ($\rho = -0.34; P = 0.03$ and $\rho = -0.36; P = 0.03$, respectively). SHBG was negatively correlated only with weight ($\rho = -0.43; P = 0.008$). There was no change in serological measurement of inflammatory cytokines (Interferon, IL1, IL6, IL10 and TNF- α). Despite the improvement in the POPE and Eosin parameters, which quantify the integrity of the spermatic acrosome and membrane respectively, this difference was not statistically significant. DABI-IV classes and the TBARS index, which evaluate the

mitochondrial activity and the lipid peroxidation index, respectively, also did not change. The only parameter that showed significant improvement among the seminal variables was sperm motility ($P=0.03$), which correlated positively with the DABI class ($\rho=0.5/P=0.01$), which characterizes cells with full mitochondrial activity. In conclusion, weight loss associated with the VLCK diet was associated with improvement in virtually all metabolic and hormonal variables evaluated. Although the improvement in sperm parameters was not evidenced, there was no decrease in these parameters, which is already quite beneficial for patients of reproductive age.

Keywords: Obesity. Inflammation. Metabolic syndrome. Hypogonadism. Testosterone. Semen analysis. Diet ketogenic.

LISTAS

LISTA DE QUADROS E FIGURAS

Quadro 4.1 – Exames realizados em cada tempo do estudo.....	51
Figura 1.1 – Representação esquemática simplificada dos fatores e processos envolvidos na disfunção do tecido adiposo.....	27
Figura 1.2 – EROs formados pela oxirredução de O ₂ em H ₂ O e sua inativação pelos sistemas antioxidantes.....	29
Figura 1.3 – Efeitos da obesidade sobre o sistema reprodutor masculino e seu mecanismo fisiopatológico.....	32
Figura 1.4 – Efeitos do estresse oxidativo sobre o espermatozoide.....	34
Figura 1.5 – Efeitos da obesidade na fertilidade masculina.....	36
Figura 1.6 – Efeitos da redução de progressiva de peso sobre as funções metabólicas e a biologia do tecido adiposo em humanos obesos.....	37
Figura 4.1 – Fluxograma de seleção e inclusão dos pacientes.....	48
Figura 4.2 – Fluxograma apresentando o protocolo de estudo e as técnicas utilizadas em cada análise.....	50
Figura 4.3 – Coloração do sêmen com eosina/nigrosina.....	56
Figura 4.4 – Exemplo da coloração de sêmen pela técnica <i>Fast Green/Rose Bengal</i>	57
Figura 4.5 – Coloração e exemplo de classificação de atividade mitocondrial em semem usando DAB.....	58

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 5.1** – Gráficos mostrando melhora ao longo do estudo nos parâmetros antropométricos após intervenção dietética.....66
- Gráfico 5.2** – Gráficos mostrando melhora ao longo do estudo nos parâmetros bioquímicos e metabólicos após intervenção dietética.....67
- Gráfico 5.3** – Gráficos mostrando melhora ao longo do estudo nos níveis de enzimas hepáticas após intervenção dietética.....68
- Gráfico 5.4** – Matriz de correlação entre as variáveis antropométricas, bioquímicas e metabólicas analisadas no estudo.....69
- Gráfico 5.5** – Gráficos mostrando melhora ao longo do estudo nos parâmetros hormonais após intervenção dietética.....70
- Gráfico 5.6** – Matriz de correlação entre as variáveis antropométricas e os níveis de hormônios sexuais analisados no estudo.....71
- Gráfico 5.7** – Box-plots mostrando os resultados do padrão de movimento dos espermatozoides74
- Gráfico 5.8** – Gráfico de dispersão mostrando a correlação entre a motilidade progressiva e DAB classe 175

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1 - Principais moléculas antioxidantes e suas funções.....	29
Tabela 1.2 - Valores de referência da análise seminal de acordo com as consecutivas publicações OMS.....	35
Tabela 4.1 – Exames bioquímicos, hormonais e inflamatórios e seus respectivos métodos de análise realizados no sangue dos pacientes.....	54
Tabela 5.1 – Dados antropométricos e bioquímicos da população estudada.....	62
Tabela 5.2 – Dados hormonais, testiculares e espermáticos basais da população estudada.....	63
Tabela 5.3 – Comparação dos parâmetros clínicos e antropométricos e metabólicos.....	64
Tabela 5.4 – Valores de citocinas e do biomarcador de peroxidação lipídica (TBARS) em diferentes tempos do estudo.....	72
Tabela 5.5 – Resultados dos espermogramas convencional, funcional e pelo método CASA nos diferentes tempos do estudo.	73

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

25oHvitD	25 hidroxí vitamina D
4-HNE	4-hidroxinonenal
8-OHdG	8-hidroxí-deoxiguanosina
ADP	Adenosina di-fosfato
ALH	Amplitude de deslocamento lateral da cabeça
ALT	Alanina aminotransferase
AMP	Adenosina mono-fosfato
AST	Aspartato amino transferase
ATP	Adenosina trifosfato
B12	vitamina B12
BCF	Frequencia de batimento cruzado
BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro
CA	Circunferência abdominal
Ca+	Cálcio
CAPPesq	Comissao de Etica para Analise de Projetos de Pesquisa
CASA	Análise da motilidade espermática computadorizada
CAT	Catalase
Cu+	Cobre
CuZnSOD	Cobre zinco superóxido dismutase
DAB	3,3'-diaminobenzidina
DEXA	Densitometria de corpo inteiro
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2
DNA	Ácido desoxirribonucleico
E2	Estradiol
ECT	Cadeia de transporte de eletrons
ER	Receptor de estrogênio
EROS	Especies reativas de oxigênio
ERR	Receptores relacionados ao estrogênio
FA	Fosfatase alcalina
Fe+	Ferro
FFM	massa livre de gordura

FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
FMVZ	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
FOXO3A	Forkhead box O3 A
FSH	Hormônio foliculoestimulante
GDH	Glutamato desidrogenase
GGT	Gama amino transferase
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofinas
GPx	Glutathione peroxidase
GR	Glutathione reductase
GSH.	Glutathione reduzida
GSSG	Glutathione oxidase
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HAC	Hipertensão arterial sistêmica
HbA1C	Hemoglobina glicada
HC	Hospital das Clínicas
HDAC	Desacetilase de histonas
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HNF-4	Fator nuclear hepático 4
HO ₂ .	Hidroperóxido
HOCl-	Ácido hipocloroso
HOMA-IR	Índice de resistência insulínica
IGF1	Fator de crescimento semelhante a insulina tipo 1
IL1RA	Antagonista do receptor de interleucina 1
IL1 β	Interleucina 1 β
IL4/6/10	Interleucinas 4, 6 e 10
IMC	Índice de massa corporal
K	Potássio
Kcal	Quilocalorias
Kg	Quilogramas
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LH	Hormônio luteinizante
LIM	Laboratório de Investigação Médica

LPO	Peroxidação lipídica
MDA	Malondialdeído
Mg	Magnésio
MME	Massa musculo esqueletica
MnSOD	Manganês superóxido dismutase
mRNA	RNA mensageiro
mt DNA	DNA mitocondrial
Na	Sódio
NAD+	Dinucleótido de nicotinamida e adenina
NEMP	mitocondriais núcleo-codificadas
Nf-k β	Fator nuclear kappa β
O1 2	Oxigenio singlete
O2.-	Superóxido
O3	Ozônio
OH	Hidroxil
OMS	Organizacao Mundial de Saude
ONOO-	Peroxinitrito
PA	Pressão arterial
PBS	Tampao salino-fosfato
PGC-1a	Receptor alfa ativado por proliferadores de peroxima tipo gama
pH	Potencia de hidrogenio
POP	Poluentes organicos persistentes
POPE	Metodo <i>Fast/Green</i> Rose Bengal modificado por Pope
PRL	Prolactina
RCQ	Relação cintura-quadril
RHOX.	Genes homeobox reprodutivos no cromossomo X
RM	Ressonancia magnetica
RNA	Ácido Ribonucléico
RO.	Alcoxil
RO2.	Peroxil
SHBG	Globulina carreadora de hormônios esteroidais

SM	Síndrome metabólica
SOD	Superoxido dismutase
T0-T4	Tempos 0-4
T4L	Tiroxina livre
TA	Tecido adiposo
TAB	Tecido adiposo branco
TAM	Tecido adiposo marrom
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TBW	Água corporal total
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TL	Testosterona livre
TNF- α	Fator de necrose tumoral- α
TSH	Hormônio Tireoestimulante
TT	Testosterona total
UCP1	Proteína desacopladora-1
USG	Ultrassonografia
USP	Universidade de São Paulo
VAP	Velocidade média da trajetória
VCL	Velocidade curvilínea
VLCD	Dieta de muito baixa caloria
VLCKD	Dieta cetogênica de muito baixa caloria
VSL	Velocidade em linha reta
β OHB	ácido beta-hidroxibutírico

LISTA DE SÍMBOLOS

cm	Centímetro
dL	decilitros
min	Minutos
kcal	Quilo calorías
Kg	Quilogramas
ml	Mililitros
mg	Micrograma
mmHg	Milímetros de mercúrio
nmol	nanomol
ng	Nanograma
pmol	Pico mol
μl	Microlitro
μm	Micrómetro
s	segundos
°C	Graus Celsius
®	Marca Registrada
α	Alfa
β	Beta
<	Menor
>	Maior
%	Porcentagem

SUMÁRIO

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	24
1.1 Obesidade: definição e mecanismos fisiopatológicos.....	24
1.2 Tecido adiposo: classificação, distribuição e função	24
1.3 Disfunção do tecido adiposo e inflamação	26
1.4 Obesidade e o estresse oxidativo	28
1.5 Função sexual e saúde reprodutiva em homens obesos.....	30
1.5.1 Obesidade masculina e a redução dos níveis de testosterona.....	30
1.5.2 Mecanismos fisiopatológicos.....	30
1.5.3 O hipogonadismo no homem obeso	32
1.5.4. Obesidade masculina e a subfertilidade	33
1.5.5 Parâmetros para avaliação da fertilidade masculina	35
1.6 Redução de peso e seu impacto na saúde sexual e na fertilidade masculina	36
1.6.1 Efeito da redução do peso sobre os parâmetros seminais	38
1.7 Dieta cetogênica de muito baixa caloria (“Very Low Calory Diet”)	39
1.7.1 Dieta cetogênica e o estresse oxidativo	40
2. OBJETIVOS.....	43
2.1 Objetivos primários	43
2.2Objetivos secundários.....	43
3. JUSTIFICATIVA.....	45
4. PACIENTES E METODOS	47
4.1 Considerações éticas	47
4.2 Desenho do estudo	47
4.3 Sujeitos de análise	47
4.3.1 Critérios de inclusão	47
4.3.2 Critérios de exclusão	48
4.4 Protocolo do estudo	49
4.5 Intervenção dietética	52
4.6 Exame físico	52
4.7 Cetonemia capilar	53
4.8 Exames laboratoriais (avaliações metabólicas, hormonal e inflamatória)	53
4.9 Avaliação da composição corporal.....	53
4.10 Análise seminal	54
4.10.1 Análise seminal convencional	55

4.10.2 Análise de motilidade espermática computadorizada (CASA, do inglês “Computer-Aided Sperm Analysis”).....	55
4.10.3 Análise da integridade da membrana plasmática	55
4.10.4 Análise da integridade acrossômica	56
4.10.5 Avaliação da atividade mitocondrial	57
4.10.6 Avaliação da resistência ao estresse oxidativo	58
4.11 Análise estatística	59
5. RESULTADOS	61
5.1 Seleção e caracterização inicial dos pacientes	61
5.2 Efeito da intervenção dietética sobre os parâmetros antropométricos, metabólicos e hormonais	63
5.3 Efeito da intervenção dietética sobre os níveis de hormônios sexuais	70
5.4 Efeito da intervenção dietética sobre as citocinas pro-inflamatórias séricas e o biomarcador de peroxidação lipídica (TBARS).....	72
5.5 Efeito da intervenção dietética sobre a função espermática	73
6. DISCUSSÃO	77
7. CONCLUSÕES	85
REFERÊNCIAS	87
APÊNDICES	102
ANEXOS	112

1 INTRODUÇÃO

A prevalência de obesidade no mundo tem aumentado significativamente nos últimos anos, sendo reconhecida como um dos principais problemas de saúde pública da atualidade estimando-se que mais de 603 milhões de adultos e 107 milhões de crianças sejam obesas ¹. Esse aumento pronunciado da prevalência pode ser explicado em parte pelas mudanças no padrão alimentar, consumo excessivo de calorias e sedentarismo. Contudo, sabe-se que a fisiopatologia da obesidade é complexa, envolvendo interações entre fatores genéticos, biológicos, ambientais e socioculturais. Mais recentemente, a composição da microbiota intestinal foi implicada à etiopatogenia da obesidade ². A obesidade é causa de diversas complicações metabólicas, como resistência à insulina, diabetes, hipertensão arterial, dislipidemia, doenças cardiovasculares, aumento do risco de cânceres e aumento da mortalidade por todas as causas³. Além desses efeitos deletérios, a obesidade também afeta a saúde sexual e reprodutiva dos indivíduos, podendo impactar negativamente na saúde da prole^{4 5}. Curiosamente, em paralelo ao crescimento pandêmico da obesidade, observam-se o aumento de prevalência de infertilidade de casais em idade reprodutiva e um declínio drástico, superior a 50%, na contagem de espermatozoides nos últimos 50 anos ⁶.

1.1 Obesidade: definição e mecanismos fisiopatológicos

A obesidade é definida por um excesso de gordura corporal. Na prática clínica, tem sido comumente avaliada pela expressão do peso corporal em função da altura, sendo o índice mais utilizado o índice de massa corporal (IMC) calculado como peso em quilogramas dividido pela altura em metros ao quadrado. Indivíduos com peso e porcentagem de gordura semelhantes, apresentam diferentes ações metabólicas, dependendo de como a gordura está distribuída. A gordura intra-abdominal (obesidade visceral) é especialmente associada a alterações fisiopatológicas que predispõe às complicações metabólicas da obesidade, independente do IMC^{7: 8}. A circunferência abdominal é um importante indicador antropométrico de gordura visceral e melhor preditor de síndrome metabólica do que o IMC.

1.2 Tecido adiposo: classificação, distribuição e função

O tecido adiposo (TA) é um tipo especial de tecido conjuntivo que se caracteriza pela presença de células especializadas em armazenamento de energia e termorregulação, com grande capacidade de plasticidade. Composto por diferentes

tipos celulares, com morfologia, distribuição, expressão gênica e função distintas, são conhecidos principalmente como tecido adiposo branco (TAB) comum ou unilocular e tecido adiposo marrom (TAM) rico em mitocôndrias, capilares, neurônios simpáticos e uma única proteína desacopladora “Uncoupling Protein 1” (UCP1)⁹. O TAM se localiza predominantemente em depósitos tireoidianos, supraclaviculares, mediastinais e paratorácicos, e sua presença difere substancialmente entre indivíduos, sendo mais abundante na infância e reduzindo com o avanço da idade e o aumento do peso corporal. O TAB se distribui periféricamente na região subcutânea ou internamente, como gordura visceral. Além de sua função de reserva de energia, atua como isolante térmico e acolchoamento para os órgãos internos.

O TA é um órgão endócrino metabolicamente ativo, responsável pela regulação do gasto energético e do apetite, juntamente com funções reprodutivas e endócrinas, inflamação, imunidade. Estas células produzem e secretam várias moléculas metabolicamente ativas que desempenham importante papel no balanço energético, através de seus múltiplos efeitos nos centros de fome e saciedade à nível de hipotálamo, tronco cerebral e córtex. Entre elas, destacam-se a leptina e a adiponectina, expressas seletivamente pelo tecido adiposo e com ação hormonal bem estabelecida em órgãos alvos. A leptina é expressa predominantemente no TAB subcutâneo e em condições fisiológicas, seus níveis séricos se correlacionam positivamente com a quantidade de tecido adiposo. Tem papel importante na homeostase energética e sobre o eixo hormonal gonadotrófico, conectando o ‘status’ nutricional aos sistemas imunológico e reprodutivo¹⁰. A adiponectina, um hormônio específico do adipócito tem seus níveis séricos regulados negativamente pelo excesso de tecido adiposo. Tem atividade anti-inflamatória sistêmica e de sensibilização à insulina, promovendo diminuição da gliconeogênese hepática e aumento da oxidação de ácidos graxos no fígado e músculo esquelético¹¹.

O fator de crescimento de fibroblastos 21 é um regulador metabólico secretado predominantemente pelo fígado, também é secretado pelo TAM após estimulação adequada (exposição ao frio ou estímulo adrenérgico). Mediado por pelo receptor alfa ativado por proliferadores de peroxissoma tipo gama (PGC-1 α), eleva a expressão e a atividade da UCP1. Além do seu importante papel como mediador da produção de calor, o TAM também é reconhecido como o principal regulador da integridade, função e biogênese mitocondrial, assim como outros importantes eventos celulares

relacionados à defesa antioxidante. Este tecido participa de praticamente todos os aspectos das funções mitocondriais incluindo a seleção do combustível energético, transcrição de genes nucleares, importação de proteínas mitocondriais núcleo-codificadas (NEMP) e replicação do DNA mitocondrial (mtDNA)¹². O PGC-1 α parece regular a expressão de proteínas antioxidantes endógenos, como a Superóxido Dismutase (SOD) e a glutatona peroxidase (GPx). Ao induzir enzimas antioxidantes e inibir o fator nuclear kappa β (NF κ B), o PGC-1 α reduz a produção mitocondrial de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a inflamação, que são os principais reguladores negativos da homeostase mitocondrial¹³. PGC-1 α interage com diversos fatores de transcrição nuclear, incluindo a família de receptores ativados por proliferador de peroxissoma, fator nuclear respiratório -1 e -2, e receptores relacionados ao estrogênio (ERR)- α , assim como fator potenciador de miócitos-2, proteína “forkhead box” 1, proteína de ligação ao elemento regulador de esteroide 1.¹⁴

Entre as diversas funções do tecido adiposo, vale ressaltar sua função toxicológica e protetora¹⁵. O armazenamento de substâncias lipofílicas como os poluentes orgânicos persistentes (POPs) e outros xenobióticos no tecido adiposo reduz a disponibilidade destas substâncias para outras células e tecidos, limitando sua toxicidade sistêmica¹⁶. POPs são uma classe de xenobióticos químicos biologicamente persistentes, resistentes ao metabolismo, que são bioacumulados e magnificados na cadeia alimentar. Gorduras de origem animal, incluindo carnes, peixes e lácteos, são importantes vetores de diversas classes de POPs, incluindo dioxinas e bisfenilos policlorados.

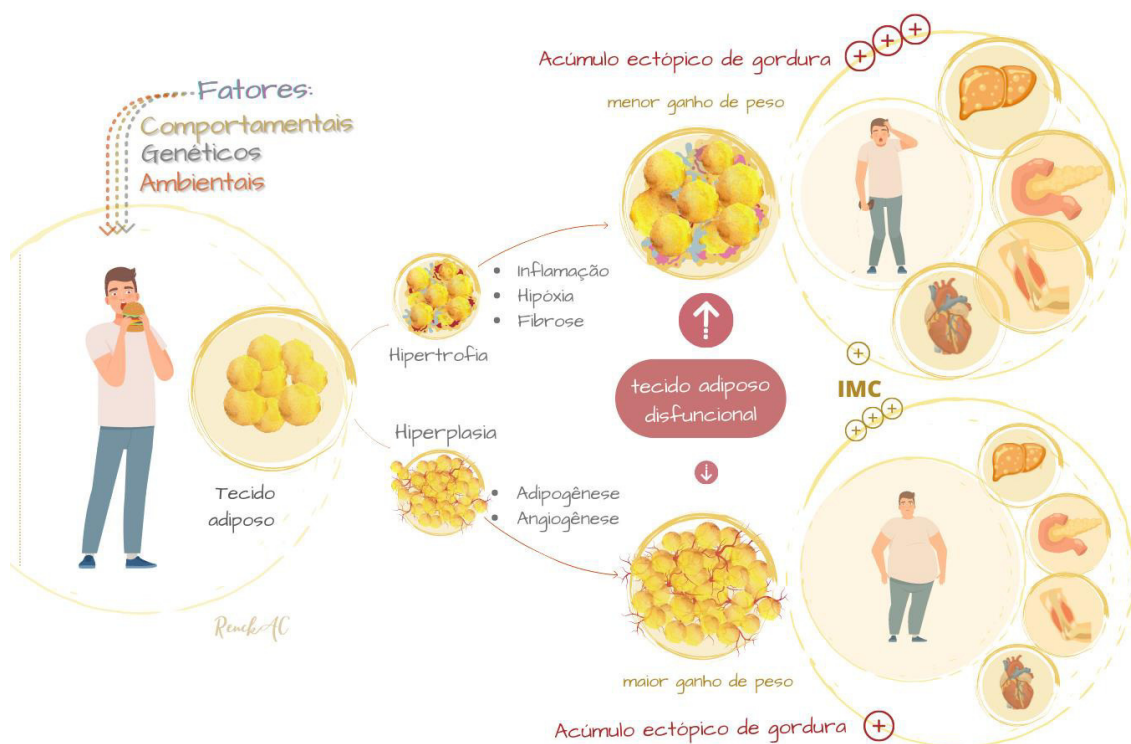
1.3 Disfunção do tecido adiposo e inflamação

Como já mencionado, o TA se comporta de forma distinta em suas ações endócrinas, metabólicas e de sinalização celular a depender da região corporal em que se encontra depositado, como subcutânea, visceral, intramuscular. Portanto, a distribuição de gordura e o tamanho do adipócito são determinantes da secreção de adipocinas e citocinas inflamatórias^{17; 18; 19}.

Com papel fundamental de balanço energético, o TAB absorve os ácidos graxos circulantes no período pós prandial e os armazena em forma de triglicérides em uma grande gota lipídica intracelular, para posteriormente através da lipólise,

liberá-los na circulação para serem utilizados por outros tecidos como fonte de energia durante o jejum ou em outros períodos catabólicos. Quando o aporte calórico é excessivo, o TAB se expande em tamanho (hipertrofia) e em número de adipócitos (hiperplasia). Cronicamente, o acúmulo excessivo de gordura se torna patológico e é acompanhado por mudanças celulares que levam à inflamação, hipoxia e fibrose do adipócito (Figura 1.1).

Figura 1.1 – Representação esquemática simplificada dos fatores e processos envolvidos na disfunção do tecido adiposo. Sob estímulo de ingesta calórica excessiva, fatores genéticos, ambientais e comportamentais são determinantes para a hipertrofia ou hiperplasia do TA, bem como o padrão de deposição de gordura (subcutânea *versus* ectópica). A expansão patológica de gordura é a associada à disfunção do TA induzido a deposição de gordura em tecidos, como fígado, músculo esquelético, pâncreas e coração e aos efeitos deletérios que caracterizam a lipotoxicidade: inflamação, hipóxia, fibrose, alteração de secreção de adipocinas e disfunção mitocondrial



Fonte: autoria própria

O estresse celular decorrente da hipertrofia do adipócito induz produção de fatores quimiotáticos, como a proteína quimioatrativa de monócitos-1, a polarização pró-inflamatória de monócitos/macrófagos, aumento de citocinas de atividade pro

inflamatória, como o fator de necrose tumoral alfa -TNF- α , Interleucina 6 (IL-6), antagonista do receptor de interleucina 1 (IL-1RA) ^{20; 21} e EROS²². O aumento da produção de citocinas inflamatórias e adipocinas, a diminuição da produção de adiponectina, e a incapacidade do tecido adiposo para armazenar o excesso de ácidos graxos livres, caracterizam a disfunção do TA, levando ao extravasamento de ácidos graxos e deposição lipídica em outros órgãos e tecidos ^{11; 23}. A deposição de gordura ectópica é definida como o acúmulo de triglicerídeos em tecidos não previamente determinados para armazenamento de tecido adiposo.

Em conclusão, a inflamação crônica de baixo grau leva à disfunção do tecido adiposo, prejudicando adipogênese e sensibilidade à insulina local e sistêmica⁷.

1.4 Obesidade e o estresse oxidativo

As EROs são subprodutos obtidos do metabolismo do oxigênio, que podem exercer efeitos benéficos através da regulação de cascatas sinalizadoras celulares vitais ou ter efeito tóxico. São classificados como “Radicais” [Superóxido (O₂⁻), Hidroxil (.OH) Peroxil (RO₂.) Alcoxil (RO.) Hidroperoxil (HO₂.)] e “Não Radicais” [Peróxido de hidrogênio (H₂O₂) Ácido hipocloroso (HOCl-), Ozônio (O₃), oxigênio singlete (O¹2) e peroxinitrito (ONOO-)]. A produção excessiva de EROs ou resposta antioxidante insuficiente resultam em estresse oxidativo, promovendo disfunção mitocondrial e afetando a viabilidade da célula pelo dano aos ácidos nucleicos, proteínas e lipídeos ²⁴. Assim, o estresse oxidativo refere-se ao desequilíbrio entre a produção de EROS e a defesa antioxidante, acarretando sérios danos às biomoléculas. Os sistemas defensivos conhecidos como antioxidantes podem ser de natureza não enzimática e enzimática, ajudando direta ou indiretamente na defesa contra a EROs (Tabela 1.1 e Figura 1.2). As membranas lipídicas promovem a formação de radicais lipídicos quando expostas aos radicais livres, promovendo o efeito mais devastador do estresse oxidativo que é a peroxidação lipídica e alteração da permeabilidade e estabilidade de membrana, comprometendo a compartimentalização celular, bem como sua função ²⁵. O estresse oxidativo induz à piora da inflamação crônica de baixo grau presente na obesidade, podendo predispor a maior adipogênese ²⁶.

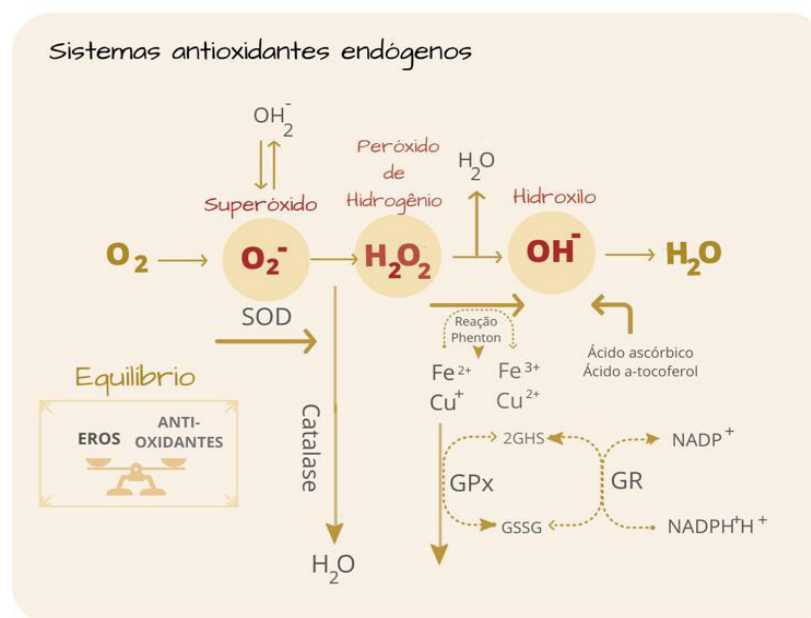
Tabela 1.1 - Principais moléculas antioxidantes e suas funções

Antioxidante	Função
Enzimáticos	
Superóxido dismutase (SOD)*	remove superóxido, acelerando sua conversão em peróxido de hidrogênio (H_2O_2)
Catalase (Cat)	catalisa a decomposição do H_2O_2 em água e oxigênio
Glutationa peroxidase (GPx)	enzima de remoção de H_2O_2 mais importante que requer selênio para sua ação
Glutationa redutase (GR)	é uma enzima flavoproteína regenerada glutaciona reduzida a partir de glutaciona oxidada e tioredoxina
GSH-Px	removem H_2O_2 usando-a para oxidar glutaciona reduzida em glutaciona oxidada
Não enzimáticos (“scavengers”)	
Vitamina E	Inibe oxidação de lipídios eliminando radicais intermediários radicais de Peroxyl
Vitaminas A e C	reagem com EROs formando dissulfeto.

* na mitocôndria a superóxido dismutase contém manganês (MnSOD) e no citoplasma cobre e zinco (CuZnSOD).

Fonte: autoria própria

Figura 1.2 – EROs formados pela oxirredução de O_2 em H_2O e sua inativação pelos sistemas antioxidantes. A desmutação de duas moléculas de O_2 (oxigênio) pela superóxido desmutase (SOD) forma O_2 e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). O H_2O_2 pode ser destruído pelas enzimas catalase ou glutaciona peroxidase (GPx). Se estes falham, o H_2O_2 reage com ferro (Fe^{2+}) ou cobre (Cu^+) na formação de radical hidroxil ($OH\cdot$), que podem ser destruídos por antioxidantes não enzimáticos como o ácido ascórbico (Vitamina C) e alfa-tocoferol (vitamina E). GSSG (glutaciona oxidada); GR: glutaciona redutase; NADP/H: fosfato de dinucleotídeo de adenina e nicotinamida



Fonte: autoria própria

1.5 Função sexual e saúde reprodutiva em homens obesos

1.5.1 Obesidade masculina e a redução dos níveis de testosterona

A redução dos níveis séricos de testosterona total (TT) é um achado comum em pacientes com excesso de peso. Entretanto, é comum que os níveis de testosterona livre (TL) se encontrem dentro de um valor de referência normal devido a redução dos níveis da globulina carreadora de esteroides sexuais (SHBG)²⁷. No entanto, a medida que este processo evolui, a obesidade mais acentuada está associada a uma redução progressiva dos níveis de TL, com níveis de gonadotrofinas inapropriadamente normais, sugerindo que a supressão dominante ocorre a nível hipotalâmico-hipofisário ²⁸.

1.5.2 Mecanismos fisiopatológicos

O mecanismo fisiopatológico do hipogonadismo associado a obesidade está principalmente relacionado à quantidade excessiva de gordura visceral e hepática, levando a um estado inflamatório crônico de baixo grau. O estado de inflamação crônica por si só tem o potencial de inibir o eixo gonadotrópico em todos os níveis, reduzindo a produção de testosterona nos testículos. Contudo, a combinação de outros fatores como o excesso de leptina, a redução da produção hepática de SHBG, e o aumento da aromatização de testosterona em estradiol, tornam este processo ainda mais complexo. ^{2; 29; 30; 31}

Em condições fisiológicas, a leptina atua estimulando a liberação de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) e hormônio luteinizante (LH) através dos neurônios de kisspeptina, apontado como o principal regulador dos neurônios secretores de GnRH. A obesidade interfere nesse mecanismo reduzindo a liberação pulsátil de LH e os níveis de testosterona, conseqüentemente levando a diminuição do potencial reprodutivo³². A hiperleptinemia e a resistência de sua ação em nível hipotalâmico-hipofisário decorrentes da obesidade, interferem nesse mecanismo reduzindo a expressão gênica da kisspeptina e levando à subsequente redução na secreção de GnRH, LH e testosterona. A leptina também é capaz de inibir o efeito estimulante das gonadotrofinas sobre as células de Leydig reduzindo a secreção de testosterona via resistência periférica³³. De forma semelhante, a hiperinsulinemia, resultante da resistência insulínica da obesidade, também reduz a sinalização dos

neurônios de kisspeptina, levando a efeito inibitórios na liberação de GnRH e LH via neurônios de GnRH³⁴.

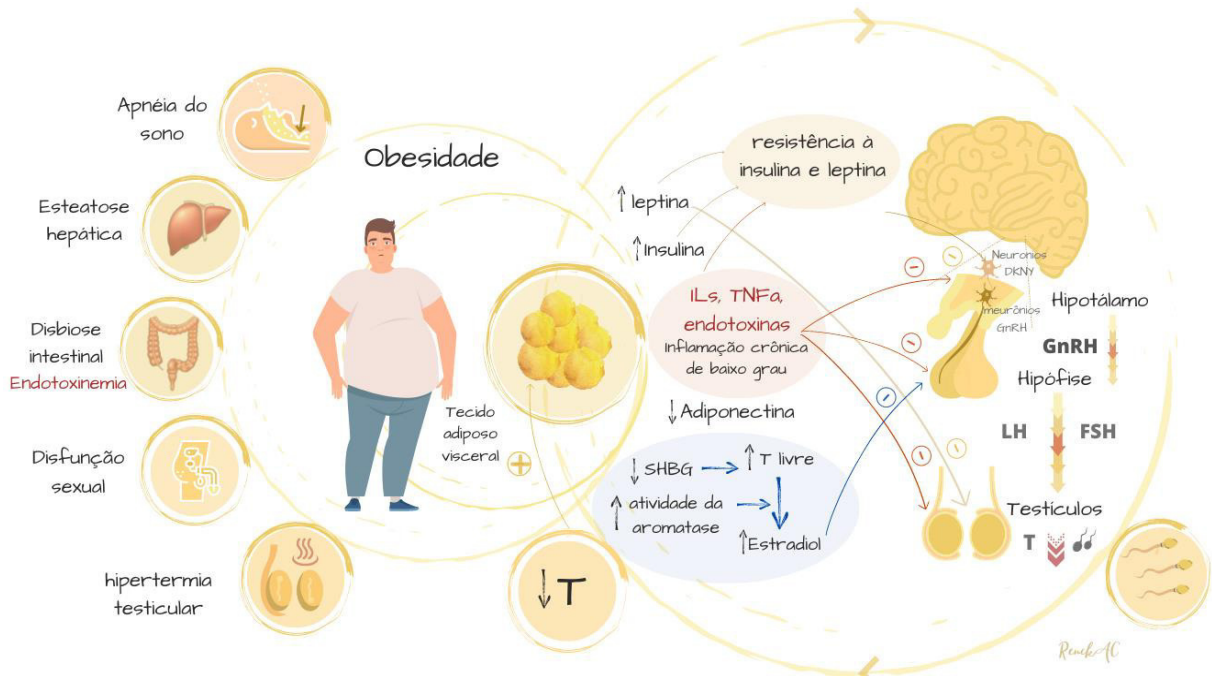
Homens obesos costumam apresentar hiperestrogenismo relativo devido ao aumento de conversão periférica de testosterona em estradiol (E2) pela enzima aromatase no tecido adiposo. Baixos níveis de SHBG, e o conseqüente aumento da fração de TL, predispõe o aumento dessa conversão. O E2, por sua vez, inibe a liberação de LH e hormônio folículo estimulante (FSH) hipofisários através de retroalimentação negativa hipotalâmica, reduzindo ainda mais a produção de testosterona e a relação testosterona/estradiol²⁹.

O SHBG exerce papel primário de transporte de hormônios sexuais, mas também parece desempenhar efeitos antiinflamatórios²⁷. O SHBG é produzido principalmente no fígado onde é regulado pelo fator nuclear hepático 4 (HNF-4) sob a influência de fatores hormonais, metabólicos e nutricionais³⁵. Os níveis reduzidos de SHBG em pacientes obesos parecem ser resultado de resistência insulínica, esteatose hepática, redução da adiponectina e a presença de citocinas inflamatórias³⁶. Especula-se que tais níveis tenham o potencial de aumentar a captação de testosterona, sua glicuronidação e seu efluxo, exacerbando ainda mais sua deficiência³⁷. Uma meta-análise de estudos genômicos de associação ampla, apontou que variantes genéticas no SHBG seriam o principal determinante dos níveis séricos totais de testosterona em homens adultos³⁸.

Uma teoria mais recente, sugere que endotoxinas derivadas do trato gastrointestinal também poderiam ser causa do hipogonadismo masculino associado à obesidade. A dieta hipercalórica e a obesidade levam à alteração da microbiota e ao aumento da permeabilidade do endotélio intestinal liberando endotoxinas derivadas de bactérias gram-negativas da luz intestinal para a circulação (endotoxemia metabólica), iniciando uma inflamação sistêmica de baixo grau. A endotoxemia reduziria produção de testosterona por inibição da secreção de LH pela hipófise e das vias esteroidogênicas das células de Leydig, impactando negativamente também na espermatogênese².

Em conjunto, alterações que predispõe à inflamação crônica de baixo grau e ao estresse oxidativo, podem interferir negativamente na função do eixo hipotâmico-hipofisário-gonadal em todos os níveis³⁹, afetando tanto a esteroidogênese, quanto a espermatogênese (Figura 1.3)^{29; 31; 40; 41; 42; 43}.

Figura 1.3 – Efeitos da obesidade sobre o sistema reprodutor masculino e seu mecanismo fisiopatológico. A redução do SHBG libera maior fração de TL; O aumento da atividade da aromatase dos adipócitos aumenta a conversão de T em E2; A redução dos níveis de T predispõe ao acúmulo de triglicérides estimulando a maior formação de adipócitos; O aumento do tecido adiposo predispõe à resistência insulínica e a elevação de leptina; Com isso, ocorre a inibição do eixo gonadotrófico e a redução da esteroidogênese e da espermatogênese.



IL: interleucinas; TL: testosterona livre; SHBG: globulina ligadora de hormônios sexuais; T: testosterona; LH: hormônio luteizante; FSH: hormônio folículo estimulante; GnRH: hormônio liberador de gonadotrofinas; TNFα: fator de necrose tumoral alfa.

Fonte: autoria própria

1.5.3 O hipogonadismo no homem obeso

A presença de concentrações séricas de testosterona repetidamente reduzidas, medidas adequadamente em jejum no período da manhã, associado à evidência clínica de deficiência androgênica são indicativas de hipogonadismo em homens obesos. Quando descartadas outras causas de hipogonadismo e esses achados se atribuírem especificamente à obesidade, se estabelece o diagnóstico de hipogonadismo masculino associado a obesidade ⁴⁴. Esta condição é muito prevalente e se caracteriza por disfunção do eixo gonadotrófico (hipogonadismo funcional) demonstrado laboratorialmente por baixa concentração sérica de testosterona, associada a níveis baixos ou inapropriadamente normais de hormônios gonadotróficos FSH e LH ^{45; 46}. Os principais sintomas causados pelo hipogonadismo são redução de

libido, disfunção sexual, redução de pelos corporais, ginecomastia e sudorese excessiva. Sintomas menos específicos incluem redução de energia, humor depressivo, distúrbios do sono e aumento de gordura corporal. Finalmente, níveis baixos de testosterona sérica levam a mudanças na composição corporal e promovem aumento de tecido adiposo predominantemente visceral. Este processo se perpetua como um círculo vicioso, levando à piora da obesidade.^{42; 47}.

1.5.4. Obesidade masculina e a subfertilidade

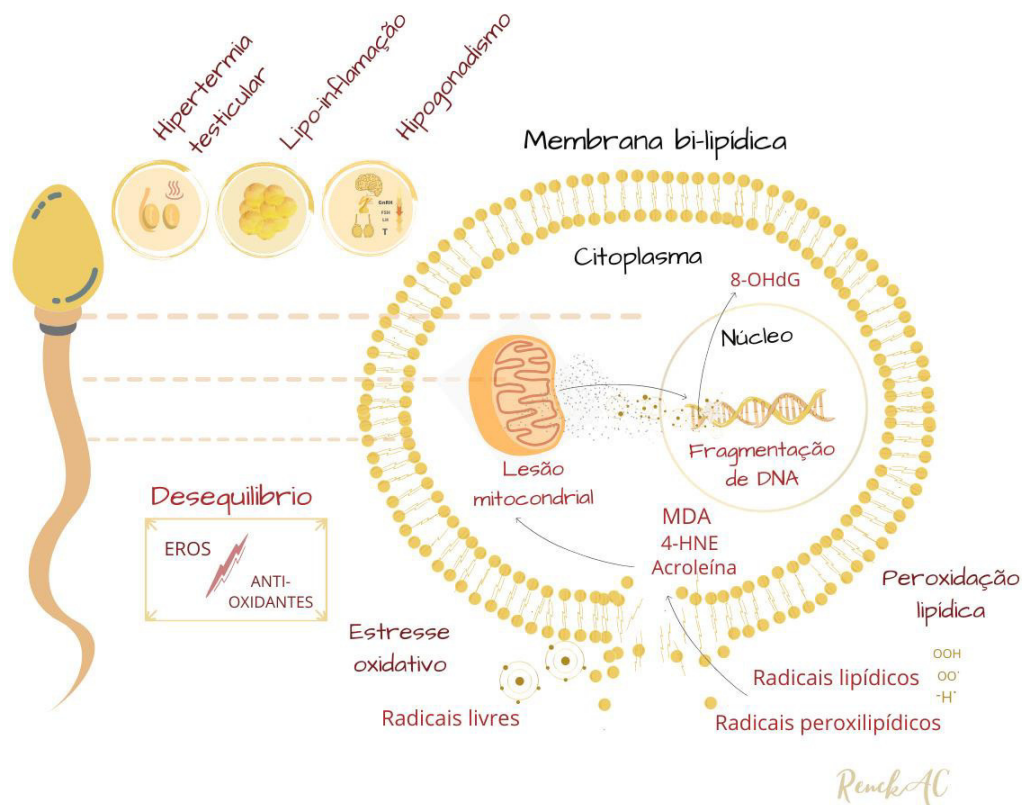
A relação entre a obesidade paterna e a alteração dos parâmetros seminais que predispõe à subfertilidade foi estabelecida em 2013 por Sermondade e colaboradores⁴⁸. Neste trabalho foram avaliados 21 estudos que incluíam mais de 13 mil pacientes, onde foi demonstrada a correlação entre o grau de obesidade e o maior risco de oligo ou azoospermia⁴⁸. Além de reduzir o potencial de fertilidade, a obesidade paterna pode alterar o desenvolvimento do embrião pré-implantação^{49; 50}, predispor ao maior risco de abortamentos em gestações espontâneas e a taxa reduzida de nascidos vivos por ciclo em terapia de reprodução assistida⁵¹.

As implicações da obesidade no potencial de fertilidade masculina ocorrem, desde a espermatogênese. Em homens obesos, o aumento de temperatura da região escrotal decorrente do excesso de tecido adiposo torna o ambiente pouco propício à maturação adequada dos espermatozoides e mais susceptível ao estresse oxidativo^{52; 53; 54}. A função do espermatozoide está associada ao alto consumo de oxigênio resultando em abundante produção de EROS pelas mitocôndrias, que modulam funções essenciais do espermatozoide incluindo capacitação, hiperativação e reação acrossômica⁵⁵.

Embora os espermatozoides tenham seus próprios mecanismos de defesa para reparar possíveis danos causados pelos radicais livres, seu núcleo condensado e espaço citoplasmático limitado restringe a disponibilidade de enzimas antioxidantes. Além disso, sua membrana bi lipídica rica em ácidos graxos poli-insaturados, o torna especialmente suscetível ao efeito deletério das EROS. O desequilíbrio entre os EROS e o sistema antioxidante resulta em ataque direto de radicais livres à estas moléculas, perpetuando o processo de forma mais devastadora pela oxidação das membranas lipídicas espermáticas (peroxidação lipídica)^{56; 57; 58; 59}. Altos níveis de

estresse oxidativo predispõe a morte celular apoptótica. Entretanto, níveis mais baixos ou intermediários de estresse oxidativo resultam em alterações da permeabilidade e da estabilidade de membrana, comprometendo a compartimentalização celular e levando à fragmentação do DNA nuclear e mitocondrial ^{25; 60}. Os aldeídos lipídicos liberados neste processo, como a acroleína, o 4-hidroxi-nonenal (4-HNE), 8-hidroxi-deoxiguanosina (8-OHdG) e malondialdeído (MDA), que podem ser utilizados como biomarcadores do estresse oxidativo^{61; 62}, são altamente tóxicos e capazes de induzir à alterações epigenéticas ^{63; 64; 65 66; 67}. A Figura 1.4 apresenta uma representação esquemática desses mecanismos.

Figura 1.4 – Efeitos do estresse oxidativo sobre o espermatozoide. A peroxidação lipídica induzida pelas EROs gera peroxidases e aldeídos lipídicos (MDA, HNE e acroleína) alimentando a reação em cadeia e geração de EROs mitocondrial, o que leva a perda do potencial de membrana, baixa geração de ATP, perda da motilidade espermática e dano oxidativo ao DNA. MDA: malondialdeído HNE: hidroxinonenal



Fonte: autoria própria

1.5.5 Parâmetros para avaliação da fertilidade masculina

Tradicionalmente, a avaliação da fertilidade masculina é baseada na análise seminal convencional, que analisa parâmetros básicos como o volume seminal, contagem total, concentração, motilidade e morfologia do espermatozoide (Tabela 2). A interpretação destes resultados se baseia nos valores de referência para análise de sêmen propostos na 5ª edição do Manual de Laboratório da OMS para Exame e Processamento de Sêmen Humano, de 2010⁶⁸, que considera como adequados resultados superiores ao percentil 5 da normalidade^{69 70; 71}.

Tabela 1.2 - Valores de referência da análise seminal de acordo com as consecutivas publicações da Organização Mundial de Saúde (OMS)

<i>Parâmetro seminal</i>	<i>Manual da OMS (Ano)</i>				
	<i>1980</i>	<i>1987</i>	<i>1992</i>	<i>1999</i>	<i>2010*</i>
<i>Volume (ml)</i>	ND	≥ 2	≥ 2	≥ 2	1.5
<i>Contagem (10^6)</i>	20-200	≥ 20	≥ 20	≥ 20	15
<i>Concentração (10^6/mL)</i>	ND	≥ 40	≥ 40	≥ 40	39
<i>Motilidade* (%)</i>					
<i>total</i>	≥ 60	≥ 50	≥ 50	≥ 50	40
<i>progressiva†</i>	≥ 2	≥ 25	≥ 25 (a)	≥ 25 (a)	32(a+b)
<i>Vitalidade (%)</i>	≥ 2	≥ 50	≥ 75	≥ 75	58
<i>Morfologia (%)</i>	ND	≥ 50	≥ 30	14	4
<i>Contagem de leucócitos(10^6/mL)</i>	<4.7	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0

ND= Não definido; *percentual de células com motilidade normal; †Grau a (motilidade rápida e progressiva $>25\mu\text{m/s}$); grau b (motilidade lenta e progressiva $5-25\mu\text{m/s}$).

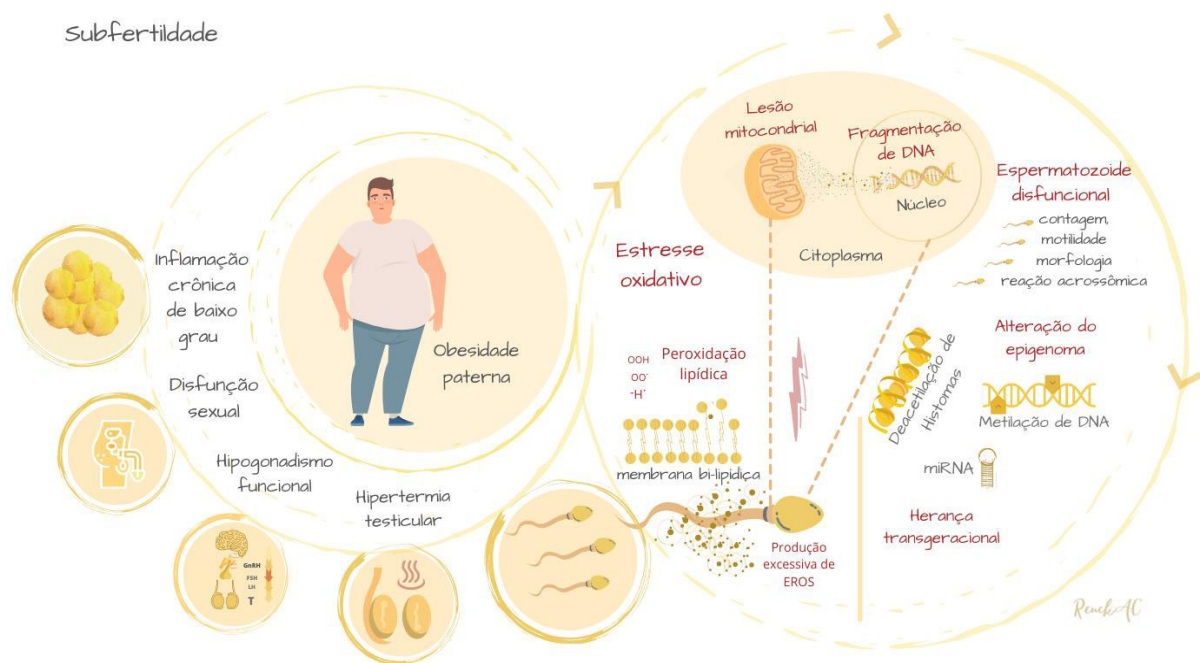
Fonte: Esteves *et al* (76)

Entretanto, não é raro que espermatozoides com forma e motilidade normais possam ter altos níveis de fragmentação do DNA, o que poderia explicar, em grande parte, os casos de infertilidade em casais com exames aparentemente normais^{72, 73; 74}. Vários estudos demonstram que a fragmentação do DNA é um indicador robusto do potencial de fertilidade, superior aos parâmetros convencionais de sêmen^{75; 76 77}. A obesidade, o estresse oxidativo e o dano ao DNA do espermatozoide são atualmente considerados as causas mais importantes de seus defeitos e são associados ao potencial reduzido de fertilidade^{74; 78; 79}. Um incremento nos níveis seminais de EROs de 25% já é capaz de um aumento de 10% na fragmentação do DNA do espermatozoide^{80; 81}.

Além disso, a obesidade masculina também pode modificar parâmetros moleculares dos gametas por alterações epigenéticas^{82; 83; 84; 85}, o que pode afetar as taxas de sucesso da gestação⁸¹, o desenvolvimento do futuro embrião⁸⁶ e a saúde da prole^{87 88 86 89}. Tanto que a obesidade dos progenitores é apontada como um forte preditor de risco para obesidade infantil⁹⁰

A Figura 1.5 mostra uma representação esquemática dos efeitos da obesidade sobre a fertilidade masculina em níveis sistêmico, tecidual e molecular e também transgeracional.

Figura 1.5 – Efeitos da obesidade na fertilidade masculina. A obesidade altera o ambiente essencial para espermatogênese, o que inclui um desbalanço hormonal do eixo hipotálamo-hipófise, induzindo inflamação crônica e estresse oxidativo tecidual e sistêmico; assim são formadas células de baixa qualidade com diversas alterações (motilidade reduzida, composição lipídica inapropriada, aumento de EROS, dano ao DNA e modificações epigenéticas)



DNA: ácido desoxiribunucleico; mRNA: ácido ribonucleico mensageiro

Fonte: autoria própria

1.6 Redução de peso e seu impacto na saúde sexual e na fertilidade masculina

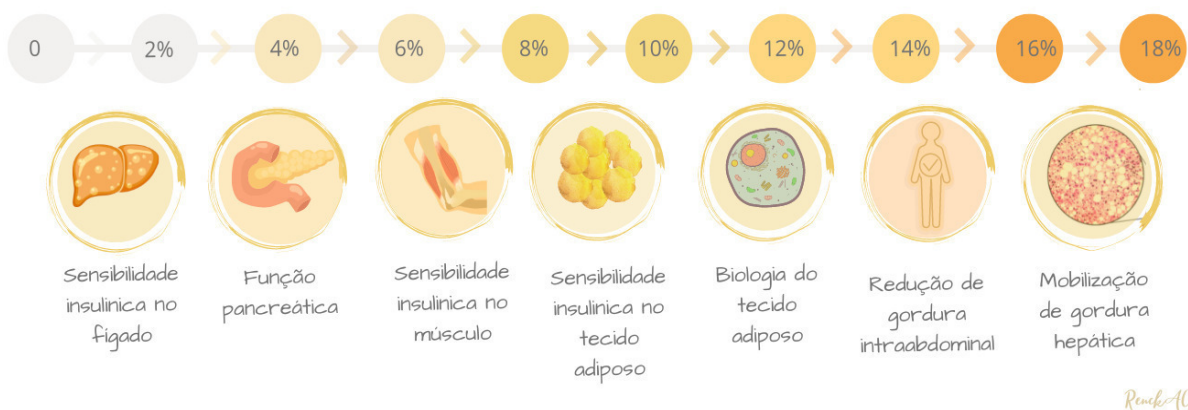
Diversos estudos relacionam a reversão do hipogonadismo associado à obesidade após medidas para perda de peso e mudança de estilo de vida, incluindo

dieta e/ou cirurgia bariátrica. No entanto, a elevação da testosterona induzida por intervenções no estilo de vida foi apenas modesta, provavelmente refletindo os resultados relativamente singelos da dieta hipocalórica associada à atividade física na perda de peso corporal quando comparada à cirurgia bariátrica⁹¹.

Perdas de peso mais significativas como as observadas após cirurgia bariátrica tiveram melhores repostas no aumento de níveis séricos de testosterona ⁹². Esses dados sugerem que, embora os níveis de testosterona permaneçam relativamente estáveis com pequenas reduções de peso, a reativação genuína do eixo hipotálamo-hipófise-gônadas requer perda de peso mais substancial, o que pode ser difícil de alcançar apenas com mudanças no estilo de vida.

Embora perdas de peso de 5 a 10% já possam trazer benefícios consideráveis à saúde do indivíduo obeso reduzindo a resistência insulínica e o risco cardiovascular, apenas as perdas de peso progressivas e superiores a 11 % são as que de fato reduzem a inflamação do tecido adiposo subcutâneo e sistêmico (Figura 1.6). Além disso, reduções de peso superiores a 15% tem efeito progressivo na expressão gênica do tecido adiposo, promovendo remodelamento da matriz extracelular e finalmente reduzindo o estresse oxidativo (Figura 1.6) ⁹³

Figura 1.6 Efeitos da redução de progressiva de peso sobre as funções metabólicas e a biologia do tecido adiposo em humanos obesos.



Fonte: autoria própria

Assim, as evidências atuais apoiam a associação entre a perda de peso rápida e a reversão do hipogonadismo relacionado à obesidade. Quanto maior perda de peso, como observado após cirurgia bariátrica, melhor a resposta nos níveis séricos de testosterona e mais rápida e a melhora da atividade sexual global ⁹². Com base nisso, alguns autores sugerem que a cirurgia bariátrica seria o tratamento mais eficaz e sustentado do hipogonadismo masculino relacionado à obesidade, e esta opção terapêutica deveria ser oferecida aos pacientes com obesidade grave com disfunção gonadal associada à obesidade ⁹⁴. Entretanto, é importante destacar que grande parte dos homens obesos se encontram em idade reprodutiva e embora amplamente estudada a melhora ou reversão do hipogonadismo masculino com a redução de peso, poucos estudos avaliaram os a resposta de reduções de peso após cirurgia bariátrica e a qualidade do sêmen.

1.6.1 Efeito da redução do peso sobre os parâmetros seminais

Alguns estudos demonstram que, diferente do encontrado no perfil hormonal sexual masculino, reduções massivas de peso demonstraram resultados controversos sobre a fertilidade masculina, e, de acordo com meta-análise recentemente publicada, esses resultados ainda são inconclusivos ⁹⁵. Um estudo prospectivo de El Bardisi *et al.* demonstrou que a fertilidade masculina não foi afetada pela redução de peso por gastroplastia redutora, exceto em grupos que anteriormente apresentavam azoospermia ou oligospermia⁹⁶. Resultados semelhantes foram obtidos por Reis *et al.* num estudo em que foi observado uma significativa elevação dos níveis de testosterona total e livre com efeito neutro sobre a qualidade do espermatozoide após cirurgia bariátrica⁹⁷.

De fato, alguns artigos demonstraram um efeito negativo da cirurgia bariátrica sobre os parâmetros seminais, com relatos de piora significativa da fertilidade e azoospermia por período de até 2 anos após o procedimento ^{98; 99 100}. Estes achados foram corroborados em um estudo prospectivo chamado de BARIASPERM, em que Carrete *et al.* demonstraram uma piora progressiva dos parâmetros seminais após 6 e 12 meses da intervenção cirúrgica ¹⁰¹. Embora não se compreenda completamente este fenômeno, uma explicação plausível seriam a deficiência nutricional, o estado

catabólico e o possível acúmulo de metabolitos tóxicos a que estes pacientes estão sujeitos após perda expressiva de peso.

1.7 Dieta cetogênica de muito baixa caloria (“*Very Low Calory Diet*”)

Como alternativa à redução significativa de peso por método invasivo, as dietas de muito baixa caloria (VLCD) vêm sendo estudadas de forma consistente nos últimos anos e são atualmente propostas como opção de tratamento onde é requerida a perda de peso rápida e efetiva^{102; 103}. Essas dietas são consideradas opções terapêuticas válidas em diversas situações clínicas, incluindo obesidade grave ou associada a comorbidades, como esteatose hepática, síndrome dos ovários policísticos, epilepsia refratária, enxaqueca, e no manejo pré-operatório de cirurgia bariátrica¹⁰³.

A dieta cetogênica de muito baixa caloria (VLCKD) é uma intervenção nutricional caracterizada por um baixíssimo teor de carboidratos (inferior a 50 g de carboidratos por dia, equivalente a 5-10% da ingestão calórica diária total), baixo teor de gordura e alto teor de proteína valor biológico (0,8 a 1,2 g/kg do peso corporal ideal). A VLCKD altera e otimiza o metabolismo energético ao simular os efeitos do jejum, estimulando a produção de corpos cetônicos pelo fígado a partir da lise de gordura¹⁰⁴. Desta forma, os corpos cetônicos, em especial o ácido betahidroxibutírico (BOHB), passam a ser utilizados como principal fonte de energia, em um estado conhecido como cetose nutricional. Eventos adversos transitórios como astenia, dor de cabeça, náusea, fraqueza muscular e fadiga podem ocorrer nos primeiros dias da dieta¹⁰⁵.

Estudos recentes têm demonstrado vantagens da VLCK, quando comparado a outras dietas e à tratamentos tradicionais de obesidade, por preservar massa magra e força e reduzir predominantemente a gordura visceral, além da boa tolerabilidade e da segurança^{106; 107}. A restrição de energia severa intermitente, presumivelmente cetogênica, parece ser mais efetiva que a restrição energética diária em promover a perda de peso, melhorar a sensibilidade à insulina e controle glicêmico. Além disso, a redução significativa de triglicérides, lipoproteína de baixa densidade (LDL), colesterol, resistina, TNF alfa, leptina, insulina e Índice de resistência insulínica (HOMA-IR) foi demonstrada. Deste modo, os efeitos da dieta cetogênica vão muito além da redução de peso e apresentam resultados promissores no manejo de diversas outras

patologias, incluindo distúrbios neurológicos, obesidade, diabetes e síndrome metabólica^{102; 108}.

Alguns benefícios da dieta cetogênica sobre a redução de peso e o metabolismo glicêmico parecem ser mediados pela microbiota intestinal e pelo aumento de bactérias benéficas produtoras de ácidos graxos de cadeia curta como *Akkermansia muciniphila* e *Lactobacillus*¹⁰⁹. Por outro lado, alguns estudos reportam efeitos negativos da dieta cetogênica sobre a saúde intestinal, como redução de diversidade e aumento de bactérias pró-inflamatórias. Os efeitos deletérios parecem estar associados ao excesso de gordura saturada e proteína de origem animal, normalmente utilizados neste tipo de intervenção dietética. A fonte proteica de origem vegetal parece trazer mais benefícios para a microbiota intestinal do que a animal¹¹⁰.

1.7.1 Dieta cetogênica e o estresse oxidativo

O efeito da dieta cetogênica sobre a redução do estresse oxidativo vem sendo descrito de forma crescente nos últimos anos. Diversos autores sugerem que a cetose teria efeito na mitocôndriogênese, na melhora da função mitocondrial e dos sistemas antioxidantes endógenos^{111; 112}. Além disso, a dieta cetogênica pode propiciar a expressão de genes como o FOXO3A (*forkhead* box O3A), que tem como alvo a MnSOD e a catalase, que teria um efeito protetor contra a agressão das EROs¹¹³. O β OHB e um dos corpos cetônicos produzidos durante a cetose, inibe as acetilases de histonas (HDACs) de classe I, uma família de proteínas que suprimem a expressão gênica pela desacetilação de resíduos de lisina em proteínas histonas e não-histônicas^{114; 115}. Assim, embora esse mecanismo ainda não seja completamente conhecido, as funções reguladoras do β OHB parecem relacionar o ambiente externo à função celular e expressão gênica, com implicações importantes para a patogênese e tratamento de doenças metabólicas associadas ao estresse oxidativo^{116; 117; 118}

Outros efeitos, em nível molecular promovidos pela dieta cetogenia são a modulação da NAD⁺ e a redução de 8-OHdG, que sugere uma redução de dano ao DNA¹¹⁹ pela EROs. Estes parecem ser os mecanismos pelo qual este tipo de intervenção dietética exerce seus efeitos benéficos no tratamento de diversas

doenças neurológicas e na proteção contra sequelas degenerativas de transtornos epiléticos^{120; 121}.

2 OBJETIVOS

2.1 Primário

Avaliar o impacto da perda de peso no estresse oxidativo e nos parâmetros metabólicos, inflamatórios, hormonais e seminais de homens obesos após intervenção dietética para perda de peso por dieta cetogênica de muito baixa caloria (método Pronokal®).

2.2 Secundários

- Avaliar a composição corporal (peso, IMC, circunferência abdominal, RCQ, MME, gordura total e visceral) pré e pós-intervenção dietética;
- Avaliar os marcadores metabólicos (Triglicerídeos, HDL, LDL, hemoglobina glicada, glicemia, insulina, HOMA-IR, AST, ALT, GGT e ferritina) pré e pós-intervenção dietética,
- Avaliar os parâmetros seminais pré e pós-intervenção dietética, incluindo análises convencionais (morfologia, motilidade e concentração) e funcionais (atividade mitocondrial, integridade acrossomal e de membrana, resistência ao estresse oxidativo)
- Avaliar os níveis dos hormônios sexuais (TT, TL, SHBG e E2) pré e pós-intervenção dietética,
- Avaliar se houve variação de citocinas anti-inflamatorias (TNF- α , interferon- β , IL-1 β , IL-4 e IL-10) no soro dos pacientes, pré e pós-intervenção dietética,
- Avaliar se houve variação no índice de marcador de peroxidacao lipídica (TBARS) no soro e sêmen dos pacientes, pré e pós-intervenção dietética,
- Avaliar a correlação entre todas essas variáveis.

3 JUSTIFICATIVA

Considerando-se a alta prevalência do hipogonadismo associado a obesidade em homens em idade reprodutiva, faz-se necessário buscar opções de tratamentos conservadores capazes de promover redução de peso significativa e o restabelecimento do eixo gonadotrófico, sem interferir de forma negativa na fertilidade masculina. Até o momento, pouco se conhece sobre o impacto da redução de peso e a fertilidade masculina. Uma melhor compreensão de como a intervenção dietética cetogênica interfere no metabolismo e sua possível relação com a qualidade seminal de pacientes obesos, poderá auxiliar na definição de estratégias mais eficientes, e com potencial de interromper o ciclo vicioso da transmissão transgeracional de doenças.

4 PACIENTES E MÉTODOS

4.1 Considerações éticas

O presente trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas (CAPPesq CAAE: 86158918.4.0000.0068). Todos os participantes foram informados dos objetivos e possíveis riscos de participarem do projeto e voluntariamente assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo A).

4.2 Desenho do estudo

Este estudo representa um ensaio clínico, intervencionista, não-randomizado e prospectivo. Os pacientes foram avaliados pré e pós intervenção dietética, seguindo protocolo descrito mais adiante.

4.3 Sujeitos de análise

Foram avaliados 23 pacientes do sexo masculino em idade fértil com obesidade associada à Síndrome Metabólica, acompanhados no ambulatório de Endocrinologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP - São Paulo (HC-FMUSP) ou em clínicas privadas. Destes, três indivíduos foram excluídos por não se encaixarem nos requisitos da pesquisa e 20 pacientes deram início ao estudo. Contudo, quatro abandonaram o protocolo em diferentes momentos do estudo e foram excluídos da análise (Figura 4.1).

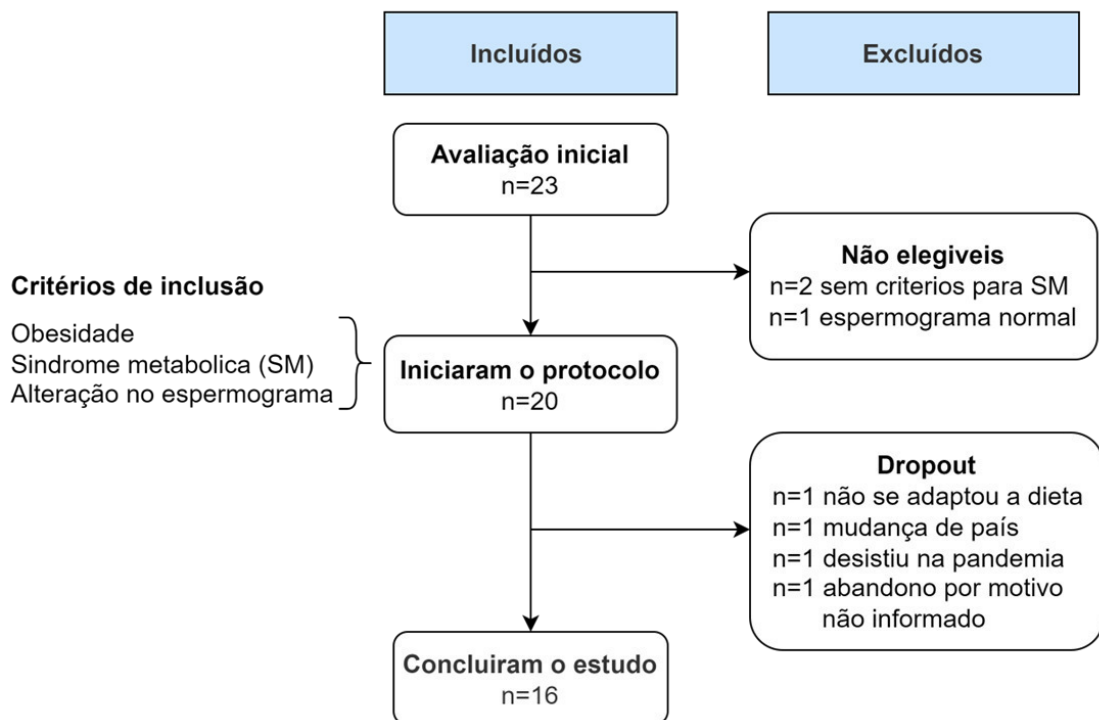
4.3.1 Critérios de inclusão

- Obesidade em pacientes do sexo masculino;
- Síndrome metabólica, de acordo com os critérios da “*International Diabetes Federation Consensus Worldwide Definition of the Metabolic Syndrome*” (disponível em <https://idf.org/our-activities/advocacy-awareness/resources-and-tools/60:idfconsensus-worldwide-definitionof-the-metabolic-syndrome.html>). Tais critérios incluem circunferência abdominal aumentada (>94 cm) e mais dois descritos a seguir: glicose ≥ 100 mg/dL ou diagnóstico prévio de Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2), triglicerídeos ≥ 150 mg/dL, lipoproteína de alta densidade (HDL) <40mg/dL, pressão

arterial sistólica ≥ 130 mmHg ou diastólica ≥ 85 mmHg ou tratamento para hipertensão [129].

- Alteração de algum dos parâmetros seminais avaliados em espermograma convencional.

Figura 4.1 – Fluxograma de seleção e inclusão dos pacientes



Fonte: autoria própria

4.3.2 Critérios de exclusão

- Hipogonadismo hipogonadotrófico congênito.
- Hiperprolactinemia.
- Outras causas de hipogonadismo hipogonadotrófico que não sejam secundários à obesidade.
- Hipogonadismo hipergonadotrófico.
- Contraindicações para realização de dieta cetogênica. Para tal, são realizados os exames necessários para descartar causas no eixo hipotalâmico-hipofisário de hipogonadismo (prolactina, fator de crescimento semelhante a insulina tipo 1-IGF1,

hormônio tireoestimulante-TSH, tiroxina livre-T4L, cortisol, incluindo ressonância magnética de hipófise se TT \leq 150 ng/dl).

- Contraindicações para realização da dieta Pronokal® (exames gerais como hemograma, eletrólitos, ácido úrico, transaminases, função renal, incluindo ultrassonografia – USG, abdominal alterados).

4.4 Protocolo de estudo

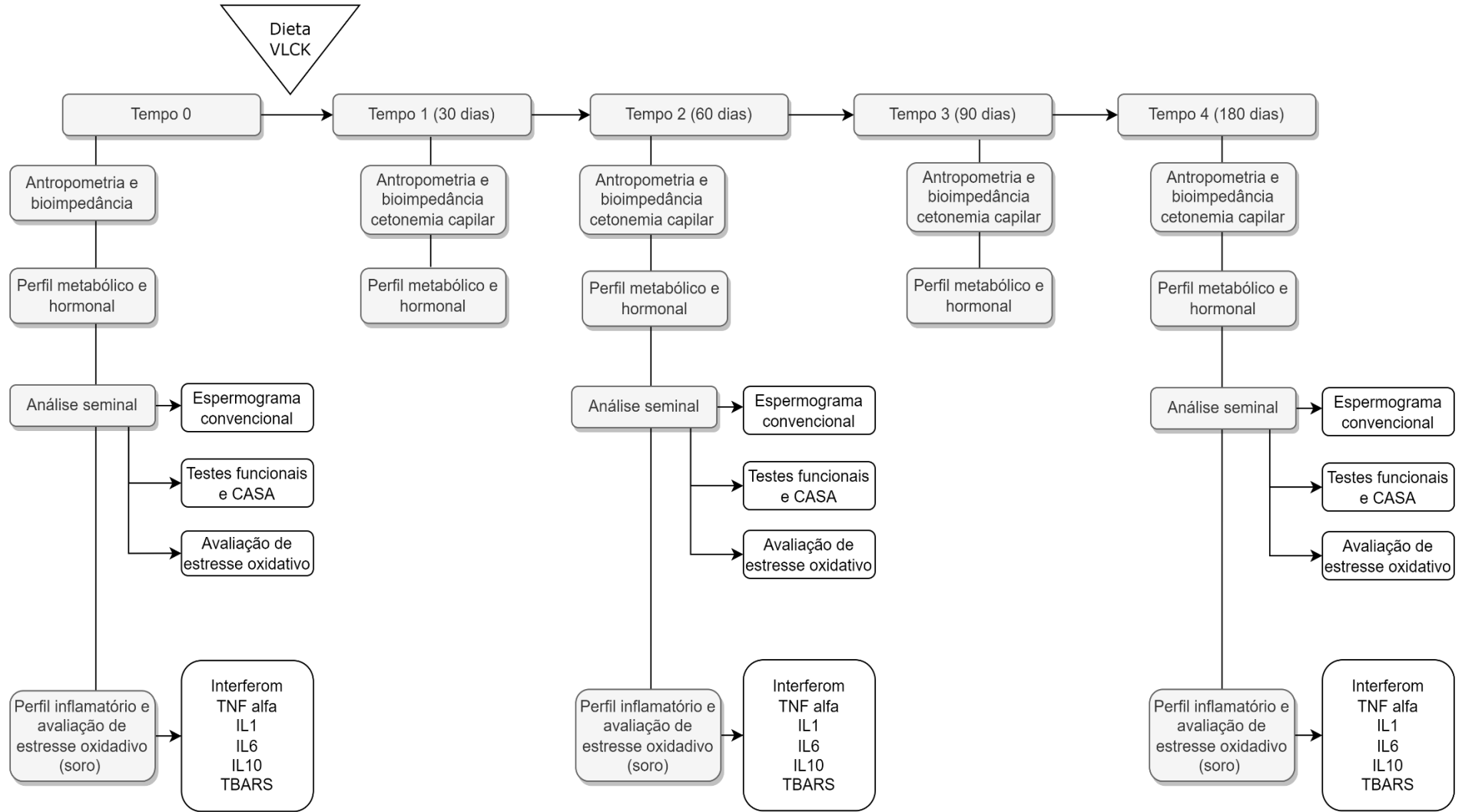
Antes da intervenção dietética, os pacientes passaram por uma avaliação inicial que consiste em exames clínicos, realizada por uma única médica endocrinologista, laboratoriais e coleta de amostras para análises seminais e de microbiota intestinal.

Os detalhes de cada exame realizado nos pacientes serão apresentados em tópicos posteriores, assim como os da análise comparativa entre as diferentes variáveis e o tempo de intervenção.

Durante o primeiro trimestre da intervenção dietética os pacientes foram avaliados no tempo basal (T0) e mensalmente (tempos T1, T2 e T3), e passados seis meses (tempo T4) foi feita sua avaliação final.

A Figura 4.2 apresenta o fluxograma do estudo e o Quadro 4.1 apresenta mais detalhes dos procedimentos e as coletas de amostras realizados em cada tempo do estudo.

Figura 4.2 – Fluxograma apresentando o protocolo de estudo e as técnicas utilizadas em cada análise



Fonte: autoria própria

Quadro 4.1 – Exames realizados em cada tempo do estudo

T0 (basal)	T1 (30 dias)	T2 (60 dias)	T3 (90 dias)	T4 (180 dias)
Avaliação clínica				
exame físico	exame físico cetonemia capilar	exame físico cetonemia capilar	exame físico cetonemia capilar	exame físico
Exames laboratoriais				
hemograma, B12, 25oHvitD cálcio, magnésio, glicose, Hemoglobina glicada, insulina, perfil lipídico, ácido úrico, ALT, AST, GGT, FA, Ferritina, ureia, creatinina, TSH, T4L, prolactina, testosterona total e livre, SHBG, LH, FSH	hemograma, cálcio, magnésio, ácido úrico, ALT, AST, ureia, creatinina, testosterona total e livre, SHBG, LH, FSH	hemograma, cálcio, glicose, hemoglobina glicada, insulina, perfil lipídico, ácido úrico, ALT, AST, creatinina, testosterona total e livre, SHBG, LH, FSH	hemograma, B12, cálcio, glicose, hemoglobina glicada, insulina, perfil lipídico, ácido úrico, ALT, AST, creatinina, testosterona total e livre, SHBG, LH, FSH	hemograma, B12, 25OHvitD, cálcio, magnésio, glicose, hemoglobina glicada, insulina, perfil lipídico, ácido úrico, ALT, AST, GGT, FA, Ferritina, ureia, creatinina, TSH, T4L, prolactina, testosterona total e livre, SHBG, LH, FSH
Outros exames laboratoriais				
Interferon γ , TNF α , IL1 β , IL4 IL10 TBARS		Interferon- γ , TNF α , IL1 β , IL4, IL10 TBARS		Interferon γ , TNF α , IL1 β , IL4 IL10 TBARS
Exames de imagem				
RM de hipófise/ função hipofisária*				
Avaliação da composição corporal				
bioimpedância	bioimpedância	bioimpedância	bioimpedância	bioimpedância
Avaliação seminal				
convencional e testes funcionais		convencional e testes funcionais		convencional e testes funcionais

B12: vitamina B12; 25oHvitD: 25 hidroxí vitamina D; AST: aspartato aminotransferase; ALT: alanine aminotransferase; GGT: gama glutamil transferase; FA: fosfatase alcalina; TSH: hormônio tireoestimulante; T4L: hormônio tiroxina; SHBG: globulina ligadora de hormônios sexuais; LH: hormônio luteinizante; FSH: hormônio folículo estimulante; TNF: fator de necrose tumoral; IL: interleucina; TBARS: substância reativa ao ácido tiobarbitúrico; RM: ressonância magnética.

* se testosterona total \leq 150 ng/dl

4.5 Intervenção dietética

Todos os pacientes foram submetidos à intervenção preconizada pelo método Pronokal® pelo período de 6 meses. Todos os produtos/suplementos proteicos utilizados nesse estudo foram disponibilizados, sob a coordenação de Ignacio Sajoux, pela empresa Pronokal® *Division of Protein Supplies SL* no período de abril de 2019 a julho de 2020.

O método Pronokal® é um programa comercial para perda de peso, que consiste em dieta VLCKD e tem como base produtos alimentares constituídos por proteínas de alto valor biológico obtidas de diferentes fontes animais e vegetais como o leite de vaca, soja, ovos, ervilhas e cereais. Cada sachê de produto contém 15 gramas de proteína, 4 gramas de carboidrato, 3 gramas de gordura, provendo entre 90 a 100 Kcal. O programa de perda de peso é constituído por cinco etapas, divididas entre fases cetogênicas (ativas) e não cetogênicas. A etapa cetogênica (fases 1-3) consiste em dieta de muito baixa caloria (600–800 kcal/d), com baixo aporte de carboidratos (50g) e lipídeos (apenas 10g de azeite de oliva ao dia).

A quantidade de proteínas de alto valor biológico varia entre 0,8 e 1,2 g /kg de peso/dia. Durante a fase cetogênica, é realizada a suplementação de vitaminas e minerais como K, Na, Mg, Ca, e ômega-3, de acordo com o protocolo do programa, baseado em recomendações internacionais. Esta primeira etapa (cetogênica) se mantém até que o paciente alcance o objetivo de redução de 80% do alvo de peso a ser reduzido, sendo variável em tempo, de acordo com a resposta de cada paciente. Após este período, evolui-se para etapa não cetogênica, dando início a dieta hipocalórica (800 a 1500 Kcal), com introdução progressiva de outros grupos alimentares, reduzindo peso de forma mais lenta. A etapa de manutenção consiste em dieta balanceada, variando entre 1500 a 2000 Kcal. As recomendações deste programa incluem orientações de estilo de vida e atividade física.

4.6 Exame físico

Todas as avaliações clínicas foram realizadas por uma única médica endocrinologista, onde foram obtidas as medidas antropométricas de altura e peso, circunferência abdominal e de quadril e de pressão arterial. A partir desses dados foram calculados o índice de massa corporal (IMC) e a relação cintura/quadril (RCQ).

4.7 Cetonemia capilar

Este é um teste realizado para determinação da cetose pela medida dos corpos cetônicos. Especificamente, o β -OHB é medido no sangue capilar usando um equipamento portátil, o Optium Xceed Diabetes Monitoring System (Abbott Laboratories, Ca, USA). Este exame foi realizado pelo médico responsável no momento da consulta.

4.8 Exames laboratoriais (avaliações metabólica, hormonal e inflamatória)

A Tabela 4.1 apresenta os métodos utilizados na realização dos exames de sangue dos pacientes. Análises realizadas para descartar causas no eixo hipotalâmico-hipofisário de hipogonadismo hipogonadotrófico (Prolactina, IGF1, TSH, T4L, Cortisol e ressonância magnética de hipófise se TT \leq 150 ng/dl) e os exames gerais (hemograma, eletrólitos, ácido úrico, transaminases, função renal), necessários para indicação da dieta Pronokal®, foram também realizados e indicados na tabela.

Os exames que avaliam os perfis glicêmico, lipídico, e gonadotrófico são de rotina e foram realizados pela Divisão de Laboratório Central do HC-FMUSP. A avaliação dos marcadores de processo inflamatório foi realizada no Laboratório de Emergências Clínicas (LIM 51) do HC-FMUSP a partir de amostras de soro dos pacientes armazenadas à -80 C.

4.9 Avaliação da composição corporal

A composição corporal dos pacientes foi avaliada pelo teste de bioimpedância utilizando o aparelho InBody 720 (Biospace, Inc.,Tokyo, Japan). Para tal, foram realizadas a leitura de 8 pontos através de eletrodo táctil e estimados a água corporal total (TBW) pela área, volume, comprimento, impedância e uma constante de proporção; a massa livre de gordura (FFM) e a área de gordura visceral ao nível umbilical. Todas essas análises foram feitas pelo software InBody (Biospace, Inc.,Tokyo, Japan).

Tabela 4.1 – Exames bioquímicos, hormonais e inflamatórios e seus respectivos métodos de análise realizados no sangue dos pacientes

Tipo de exame	Método	Valores de referência
<i>Perfil glicêmico</i>		
Glicemia	Enzimático colorimétrico	70 a 99 mg/dL
Insulina	Eletroquimioluminescência	2,6 - 24,9 μ U/mL
HbA1C	Cromatografia líquida de alta performance por troca iônica	4,1 a 6,0 %
HOMA-IR	Índice calculado pelas dosagens de insulina e glicemia	<2.7
<i>Perfil lipídico</i>		
HDL	Enzimático colorimétrico	Desejável: maior que 40 mg/dL
LDL	Enzimático colorimétrico	Desejável: de 100 a 129 mg/dL
<i>Perfil hormonal</i>		
TT	Eletroquimioluminométrico	249-836 ng/dL
TL	Eletroquimioluminométrico	131 a 640 pmol/L
E2	Eletroquimioensaio	25,8 a 60,7 pg/mL
SHBG	Eletroquimioluminométrico	18,3 a 54,1 nmol/L
<i>Perfil inflamatório</i>		
Interferon γ	Imunoensaio	ND
TNF- α	Imunoensaio	ND
IL1 β	Imunoensaio	ND
IL-4	Imunoensaio	ND
IL-10	Imunoensaio	ND
Ferritina	Eletroquimioluminométrico	30 - 400 ng/mL

HbA1C (hemoglobina glicada); TT (testosterona total); TL (testosterona livre), E2 (estradiol); SHBG (globulina de ligação de hormônios sexuais); TNF α (fator de necrose tumoral alfa) IL (interleucina)/ ND: não determinado

4.10 Análise seminal

Os pacientes foram convocados para coleta de material seminal após período de abstinência sexual de 3 a 5 dias. A coleta foi realizada no Laboratório Androscience pelo próprio paciente por masturbação, sem uso de lubrificantes, em recipiente estéril de polipropileno. Parte do material seguiu para realização das análises à fresco e 500 μ L da amostra foram separados e congelados a -20°C para análises funcionais posteriores.

4.10.1 Análise seminal convencional

Este exame foi realizado com sêmen à fresco, após liquefação, em período inferior a 60 minutos da coleta. O método manual foi o manual e foram avaliados (a) parâmetros macroscópicos: volume, cor, viscosidade, potencial de hidrogênio - pH,

liquefação e (b) microscópicos: concentração, motilidade (progressivamente móveis, não progressivamente móveis e imóveis) e morfologia espermática (defeitos do segmento cefálico: presença de gota de inclusão citoplasmática, peça intermediária defeituosa; defeitos de cauda).

Os valores do “*The World Health Organization Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen*”, 5ª edição, foram utilizados como referência na interpretação dessa análise [28].

4.10.2 Análise de motilidade espermática computadorizada (CASA, do inglês “*Computer-Aided Sperm Analysis*”)

Na realização deste experimento uma lâmina foi pré-aquecida a 37 °C, sobre a qual foram colocados 5 µL de amostra seminal fresca. A lâmina foi coberta com uma lamínula e levada para leitura computadorizada no equipamento IVOS v. 12.2L (Hamilton Thorn Research, Beverly, MA). Os parâmetros de motilidade foram avaliados de acordo com as recomendações do fabricante num mínimo de seis campos, sendo consideradas as VAP (velocidade média da trajetória), VCL (velocidade curvilínea), VSL (velocidade em linha reta), BCF (frequência de batimento cruzado), ALH (amplitude do deslocamento lateral da cabeça), motilidade total e progressiva e a porcentagem de células com movimento rápido, médio, lento e estático.

O método CASA (análise da motilidade espermática computadorizada) assim como os demais testes funcionais descritos a seguir foram realizados no Laboratório de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da USP.

4.10.3 Análise da integridade da membrana plasmática

A coloração de eosina/nigrosina foi utilizada para avaliação da integridade da membrana plasmática. Os espermatozoides com membrana íntegra são impermeáveis à eosina e aparecem com coloração branca devido ao contraste com o fundo escuro corado pela nigrosina, enquanto os com membrana danificada são corados de rosa devido a penetração da eosina. Em resumo, a técnica consiste em mistura 5 µl de sêmen fresco e 5 µl de corante eosina/nigrosina previamente

preparado na proporção de 1:1, em uma lâmina de vidro pré-aquecida. O esfregaço foi realizado e 200 células foram contadas em microscópio óptico com aumento de 1000 vezes e sob imersão (Nikon®, Eclipse E200, Japan) (Lagergren, 1953) [153] (Figura 4.3). Os resultados foram expressos em percentual (%).

Figura 4.3 – Coloração do sêmen com eosina/nigrosina exemplificando a presença de espermatozoides com lesão de membrana (cabeça corada em rosa) e sem lesão (cabeça com aparência branca)

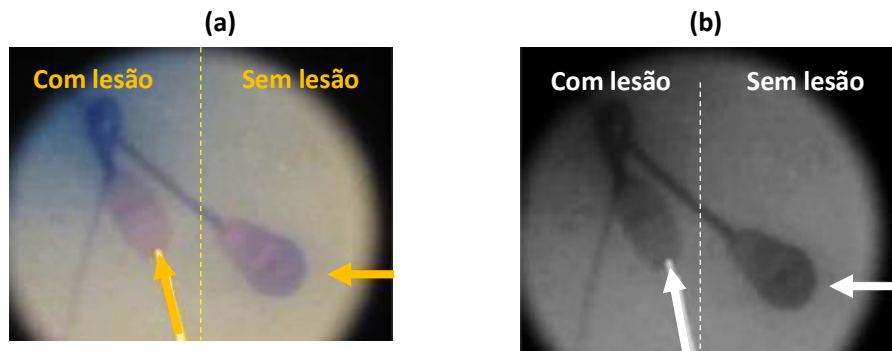


Fonte: Fotografia cedida por João Diego de Agostini Losano

4.10.4 Análise da integridade acrossômica

A integridade do acrossoma espermático foi avaliada utilizando o protocolo modificado da coloração “*Fast Green/Rose Bengal*”, descrito por Pope e ajustado para outras espécies [154]. Para tal, misturou-se 5 µl de sêmen fresco com 5 µl do corante em uma lâmina de vidro pré-aquecida, incubando-se por 70 segundos. Após, foi feito um esfregaço e 200 espermatozóides foram contados e avaliados em microscópio óptico sob imersão e magnificação de 1000 (Nikon®, Eclipse E200, Japan). O acrossoma foi considerado íntegro se a região acrossomal apresentou coloração roxa ou se torna mais escura que a área pós-acrossomal, e não íntegro se esta região apresentou coloração rosa ou mais brilhante que a área pós-acrossomal (Figura 4.4). Os resultados são expressos em percentual (%).

Figura 4.4 – Exemplo da coloração de sêmen pela técnica *Fast Green / Rose Bengal*., mostrando e espermatozóide com lesão e sem lesão do acrossoma; (a) foto original; (b) foto em escala de cinza. Setas apontam a região acrossômica

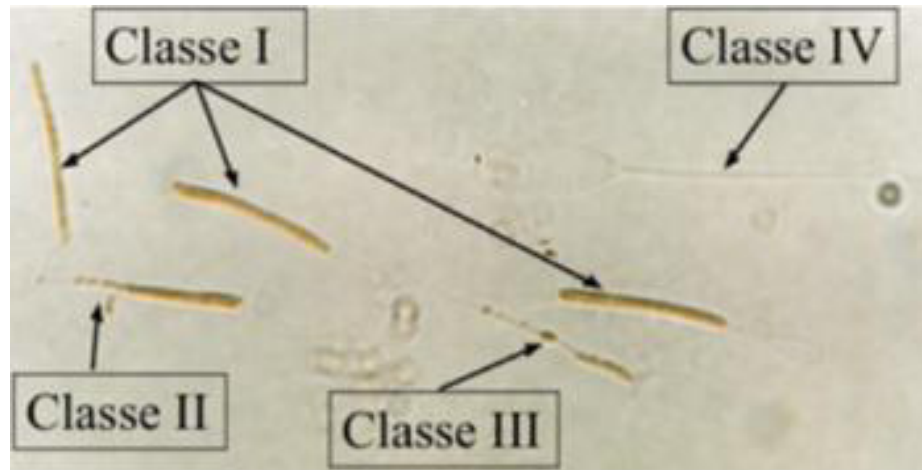


Fonte: Fotografia cedida por João Diego de Agostini Losano

4.10.5 Avaliação da atividade mitocondrial

Na avaliação da atividade mitocondrial foi utilizada a técnica citoquímica da solução de 3,3'-diaminobenzidina (DAB). Este método é baseado na oxidação da DAB pelas enzimas do complexo citocromo C que é então polimerizada e depositada nas mitocôndrias, podendo assim ser identificadas pela coloração marrom. Esta reação foi feita incubando-se uma alíquota de 25 μ L de sêmen fresco com 25 μ L de DAB (1mg/mL em tampão fosfato-PBS) a 37 °C/1 h. Passado esse período, foi feito o esfregão em lâminas de vidro com fixação subsequente em formol a 10% por 15 min. A avaliação da atividade mitocondrial espermática foi realizada em microscópio de luz sob aumento de 1000 vezes em óleo de imersão (Nikon®, Eclipse E200, Japão). Cerca de 200 espermatozoides foram contados e classificados pela quantidade de coloração mitocondrial visualizada em sua peça intermediária em: DAB classe I (100% da mitocôndria), DAB classe II (>50% da mitocôndria), DAB classe III (<50% da mitocôndria) e DAB classe IV (mitocôndria não corada) (Figura 4.5) [56].

Figura 4.5 – Coloração e exemplo de classificação de atividade mitocondrial em semem usando DAB. DAB classe I, II, III e IV esperma mostrando 100%, >50%, <50% e 0% de atividade mitocondrial, respectivamente



Fonte: Imagem cedida por João Diego de Agostini Losano

4.10.6 Avaliação da resistência ao estresse oxidativo

O teste das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS, do inglês “*Thiobarbituric Acid Reactive Substances*”) é um método colorimétrico empregado na análise da peroxidação lipídica e mede os produtos gerados durante o processo oxidativo. Este método baseia-se na reação de duas moléculas de ácido tiobarbitúrico com uma molécula de malondialdeído (MDA), à altas temperaturas e pH baixo, o que resulta em um cromogênio rosa que pode ser quantificado com um espectrofotômetro. De início, 100 µl de sulfato ferroso (4 mM) e 100 µl ascorbato de sódio (20 mM) foram adicionados a uma suspensão de 0,4 ml de plasma seminal, incubando-se esta mistura a 37 °C/2h. Após este período, as TBARS foram analisadas de acordo com o protocolo descrito originalmente por Ohkawa et al. [155].

Resumidamente, 1000 µl de uma solução de ácido tricloroacético 10% foi misturada a 500 µl da mistura de incubação e centrifugada a 18.000 g/15 ° C/15 min para precipitação das proteínas. Em seguida, misturam-se 500 µl do sobrenadante com 500 µl de ácido tiobarbitúrico 1% (diluído em hidróxido de sódio 0,05 N) em um tubo de vidro. Este tudo foi colocado em banho-maria fervente (100 ° C) por 20 min e imediatamente resfriado em gelo (0° C) para interromper a reação. Os TBARS foram quantificados usando em espectrofotômetro U-2001 (Hitachi High Technologies America, Inc., San Jose, CA, EUA) no comprimento de onda de 532 nm. Os resultados

foram comparados aos de uma curva padrão, previamente preparada com uma solução padrão de MDA. A concentração de TBARS foi determinada usando o valor de $1,56 \times 10^5 \times M/ml$ como coeficiente de extinção do MDA (Buege & Aust, 1978). Os resultados, o índice de peroxidação lipídica, foram expressos em ng de TBARS/ 10^6 espermatozoides, sendo que quanto maior a quantidade de TBARS maior é a susceptibilidade da amostra ao estresse oxidativo.

4.11 Análise estatística

Todas as análises foram realizadas utilizando o software STATA SE 17 (Stata Corp LLC, Texas USA). As variáveis categóricas foram descritas utilizando-se frequências absolutas e porcentagens, enquanto as numéricas como média e desvio-padrão ou mediana e diferença interquartis, conforme distribuição paramétrica ou não paramétrica, respectivamente, avaliada pelo teste de Shapiro Wilk. Os testes inferenciais visaram verificar a influência da perda de peso sobre os diversos parâmetros investigados, comparando-se a diferença desses valores antes e após a intervenção dietética nos tempos do estudo T0, T1, T2, T3 e T4 (parâmetros antropométricos e metabólicos) ou T0, T2 e T4 (perfil inflamatório e análises seminais).

Estes testes foram realizados utilizando-se o teste Anova para medidas repetidas ou um teste não paramétrico equivalente (teste Friedman), caso os pressupostos de igualdade das variâncias (homocedasticidade), normalidade e independência dos resíduos e esfericidade não fossem atendidos. O teste post hoc de Bonferroni foi empregado para comparações par-a-par a fim de se identificar a diferença significativa entre os tempos do estudo. Quando necessário, os dados foram transformados para uma escala padrão (Z-score) antes de serem analisados. O teste de correlação de Pearson, ou de Spearman, foi utilizado para analisar a relação entre as variáveis.

O nível de significância considerado em todas as análises foi de 5% ($\alpha = 0.05$).

5. RESULTADOS

5.1 Seleção e caracterização inicial dos pacientes

Os pacientes apresentavam diferentes graus de obesidade, sendo cinco deles classificados com grau 1 (IMC entre 30 e 34,9 kg/m²), três com grau 2 (IMC entre 35 e 39,9 kg/m²) e oito com grau 3 de obesidade (IMC entre 35 e 39,9 kg/m²). Dos critérios de síndrome metabólica, todos apresentam circunferência abdominal (CA) elevada > 94cm, 4 deles tinham glicemia de jejum >100mg/dl, 11 pacientes apresentavam níveis de triglicérides >150mg/dl, 7 tinham HDL <40mg/dl, 9 tinham pressão arterial >130x85mmHg. As Tabelas 5.1 e 5.2 apresentam o sumário das características basais dos pacientes avaliados. Nos apêndices A-F são mostrados os valores individuais de todas as variáveis analisadas em cada paciente nos diferentes tempos do estudo.

Entre as comorbidades prévias, quatro pacientes tinham diagnóstico de hipertensão arterial sistêmica (HAS), um tinha diagnóstico de DM2 há 4 anos e quatro casos fizeram uso prévio de Metformina para tratamento de glicemia alterada de jejum. Um paciente recebia tratamento medicamentoso para dislipidemia. Doze pacientes tinham níveis sanguíneos de TT inferior a 300 ng/dl e três TT inferior a 150ng/dl, que foram então submetidos à análise estrutural hipofisária por exame de imagem.

Quanto ao critério de seleção pelos parâmetros um paciente apresentava oligospermia (contagem total de espermatozoides <15 milhões), um paciente apresentava contagem total inferior ao percentil 5, a motilidade total estava alterada em cinco casos e em três indivíduos foi detectada alteração da motilidade progressiva. Pela avaliação morfológica, dezessete pacientes apresentavam espermatozoides com morfologia abaixo do percentil 5 pelos critérios da OMS.

Dos 16 pacientes que completaram o protocolo, três tiveram macrosomia ao nascer (P4, P6 e P16) e dois indivíduos (P2 e P4) eram irmãos. Três pacientes eram fumantes (P1, P2 e P11) e dois foram diagnosticados com SARS-CoV-2 (P9 e P16.) ao final do estudo.

Tabela 5.1 – Dados antropométricos e bioquímicos basais da população estudada

Características basais	População de estudo (n=16)
<i>Idade (anos)</i>	36.7 ± 6.6
<i>Análise clínica</i>	
Peso (kg)	128.6 ± 20
Índice de massa corporal - IMC	39.7 ± 5.6
Circunferência umbilical (cm)	129.6 ± 11
Circunferência do quadril (cm)	128 ± 9
RCQ - Relação cintura e quadril	1±0.06
MME - Massa musculo-esquelética	42.1 ± 4
Gordura corporal (%)	41.6 ± 6.3
Gordura visceral (área)	223.8 ± 51
<i>Parâmetros metabólicos</i>	
Glicemia (mg/dL)	94 ± 10
Insulina (uU/ml)	31.1 ± 15
HOMA-IR	7.2 ± 3
Triglicerídeos (mg/dL)	195 ± 80
HDL – lipoproteína de alta densidade (mg/dL)	40 ± 6
LDL – lipoproteína de baixa densidade (mg/dL)	130 ± 26
Hemoglobina glicada - HBA1C (%)	5.6 ± 0.3
AST – aspartato aminotransferase (U/L)	36.3 ± 16
ALT – alanina aminotransferase (U/L)	52 ± 39
GGT – gama glutamiltransferase (U/L)	60 ± 41
Ferritina (µg/L)	448 ± 318
<i>Citocinas e marcador de peroxidação lipídica</i>	
Interferon γ	1 ± 0.1
Interleucina 1β	0.5 ± 0.05
Interleucina 4	3.5 ± 1.5
Interleucina 10	3.1 ± 1
TBARS soro (ng/mL)	41 ± 10

TBARS: substância reativa ao ácido tiobarbitúrico.

Fonte: autoria própria

Tabela 5.2 – Dados hormonais, testiculares e espermáticos basais da população estudada

Características basais	População de estudo (n=16)
<i>Análise hormonal</i>	
Testosterona Total (ng/dL)	292.4 ±150
Testosterona Livre (pmol/L)	216 ±57
TT/E2	11 ±7
Estrogênio (pg/mL)	28 ±10
SHBG (nmol/L)	21 (13-37)
<i>Volume testicular (cm³)</i>	
Testículo direito	18 ± 6
Testículo esquerdo	15.6 ± 6
<i>Espermograma convencional</i>	
Volume (ml)	2 (1.5-3.8)
Contagem (milhões)	141 (107-264)
Concentração (milhões/mL)	62 (23-133)
Motilidade total (µm/s)	58 (47-65)
Motilidade progressiva (µm/s)	39 (26-45)
<i>Classificação OMS</i>	1.5 (1-3)
<i>Espermograma funcional</i>	
TBARS (ng/10 ⁶ células)	1444(1251-1829)
POPE (%)	78 (68-85)
Eosina (%)	76 (74-82)
DABI: II: III: IV	60(54-68): 14(11-20):6(3-10):13(11-19)

SHBG: globulina ligadora de hormônios sexuais globulina ligadora de hormônios sexuais; TT/E2: razão testosterona total estrogênio; Eosina (percentual de células com membrana íntegra); POPE: percentual de células com integridade acrossômica; DAB (diaminobenzidina) I-IV: classe I – 100%, II > 50%; III <50% e IV e ausência de atividade mitocondrial, respectivamente.

Fonte: autoria própria

5.2 Efeito da intervenção dietética sobre os parâmetros antropométricos, metabólicos e hormonais

A perda de peso foi bastante pronunciada durante os tempos de estudo. Passados 30 dias (T1) a média percentual de perda de peso foi de 8.6±2.4, seguido por 15.4±1.6, 20±2.3 e 20.8±6.6 nos tempos T2, T3 e T4, respectivamente.

A Tabela 5.3 mostra o efeito da intervenção dietética sobre os dados antropométricos, metabólicos e hormonais. Houve uma melhora progressiva de todos os parâmetros avaliados, com exceção dos níveis de estrogênio e da razão TT/E2, cujos valores não sofreram alterações significativas.

Tabela 5.3 – Comparação dos parâmetros clínicos e antropométricos e dos perfis glicêmico, lipídico e hormonal dos pacientes nos diferentes tempos de estudo

Parâmetros	T0 - Basal (n=16)	T1 - 30 dias (n=15)	T2 - 60 dias (n=14)	T3 - 90 dias (n=10)	T4 - 180 dias (n=16)	dF	F	P
Peso (kg)	129 ±20.2	117.4 ±21	106.3 ±15.9	101.7 ±16.8	101.2 ±13.8	4,51	67	<0.0001
IMC (kg/m²)	39.7 ±5.6	36.3 ±5.9	33.0 ±4.5	32.8 ±5.7	31.2±4.2	4,52	74	<0.0001
Circ. Abdominal (cm)	129.6±10.9	118.5±4.6	114.9±10.1	107.9±13.6	107.3±10.4	4,36	40	<0.0001
RCQ	1.0±0.06	0.99±0.06	0.97±0.06	0.96±0.07	0.96±0.07	4,47	8	<0.001
MME (kg)	42.2±4.1	39.5±4.3	39.5±4.6	38.8±4.9	38.7±4.7	4,49	9	0.006
Gordura total (kg)	41.6 ±6.4	38.7 ±7.9	33.9 ±6.9	33.4 ±8.9	30.3±7	4,49	106	<0.0001
Gordura visceral	224 ±50.9	188.1 ±44.5	162 ±38.8	152.3 ±47	136.3±38.1	4,44	91	<0.0001
Glicemia (mg/dL)	94.1 ±10.1	83.5 ±5.2	85.4 ±6.0	84.9 ±10	87.8±6.5	4,54	5	0.006
HBA1C (%)	5.6±0.3	5.2±0.3	5.0±0.1	5.1±0.2	5.1±0.2	4,49	20	<0.0001
Insulina (µU/mL)	31.1±15.4	10.3±4.6	12.7±5.6	10.5±3.8	16.4±11.4	4,51	12	<0.001
HOMA IR	7.2±3.6	2.1±1	2.5±1.1	2.2±0.8	3.5±2.5	4,50	14	<0.001
Triglicerídeos (mg/dL)	195.5±80.1	96.7±24.7	97.2±30.8	95.2±31.9	98.2±39.5	4,54	24	<0.0001
HDL (mg/dL)	40.2±6.3	32.7±5.2	36.1±7.2	38.2±7.4	46.2±6.9	4,54	24	<0.0001
LDL (mg/dL)	128.7±21.7	88.8±21.2	102.3±29.3	101.2±23.5	108.8±31.9	4,53	16	<0.0001
TT (ng/dL)	281±122.6	437.6±172.5	445.7±257.8	357.4±145	424.4±175.7	4,54	14	<0.0001
TL (pmol/L)	216.1±57	248.4±38.7	273.7±112.5	227±44.7	296.7±67	4,49	6	0.002
SHBG (nmol/L)	26.3±13.8	40.4±15.8	38.5±16.4	36.8±18.2	32.6±15.9	4,54	10	0.001
Estrogênio (pg/mL)	27.9±9.5	30.4±7.7	30.8±11.5	25.9±13	29±7.7	4,40	1	0.265
TT/E2	10.9±5.6	14.2±3.9	14.4±6.8	14.9±4.3	15.5±4.8	4,40	3	0.077
AST (U/L)	36.3±16.4	31.1±17.8	19.1±5.4	24.5±12.3	20.8±6.8	4,54	7	<0.001
ALT (U/L)	48.4±30.3	48.1±34.2	29.7±14.1	27.2±11.3	23.9±10.8	4,54	9	<0.001
GGT (U/L)	59.7±41.7	34.4±30.4	21.5±11.6	35±21.6	26.6±15.2	4,42	8	0.002
Ferritina (µg/L)	448±318.6	387.5±179.4	352.7±228.9	213.9±117.2	260.8±131.9	4,33	8	0.023

IMC: índice de massa corporal; Circ: circunferência; RCQ: relação cintura e quadril; MME: massa muscular esquelética; H/LDL: lipoproteína de alta/baixa densidade; HBA1C: hemoglobina glicada; SHBG: globulina ligadora de hormônios sexuais; TT: testosterona total; TL: testosterona livre TT/E2: razão testosterona total estrogênio. AST: aspartato aminotransferase; ALT: alanine aminotransferase; GGT: gama glutamil transferase

Fonte: autoria própria

Os Gráficos 5.1-5.4 também exibem a diferença entre as variáveis avaliadas, apresentando ainda a diferença entre os tempos de estudo em relação ao tempo basal.

Quase todos os parâmetros antropométricos e de bioimpedância avaliados (peso, IMC, circunferência da cintura, percentual de gordura corporal e gordura visceral) apresentaram melhora de seus valores já com um mês (tempo T1) de dieta (Gráfico 5.1 a, b, c, d, f, g, h). Os valores de RCQ tiveram melhora expressiva a partir do segundo mês (T2). Contudo, houve redução significativa nos valores de MME, o que é bastante comum nas dietas de perda de peso (Gráfico 5.1 e, f).

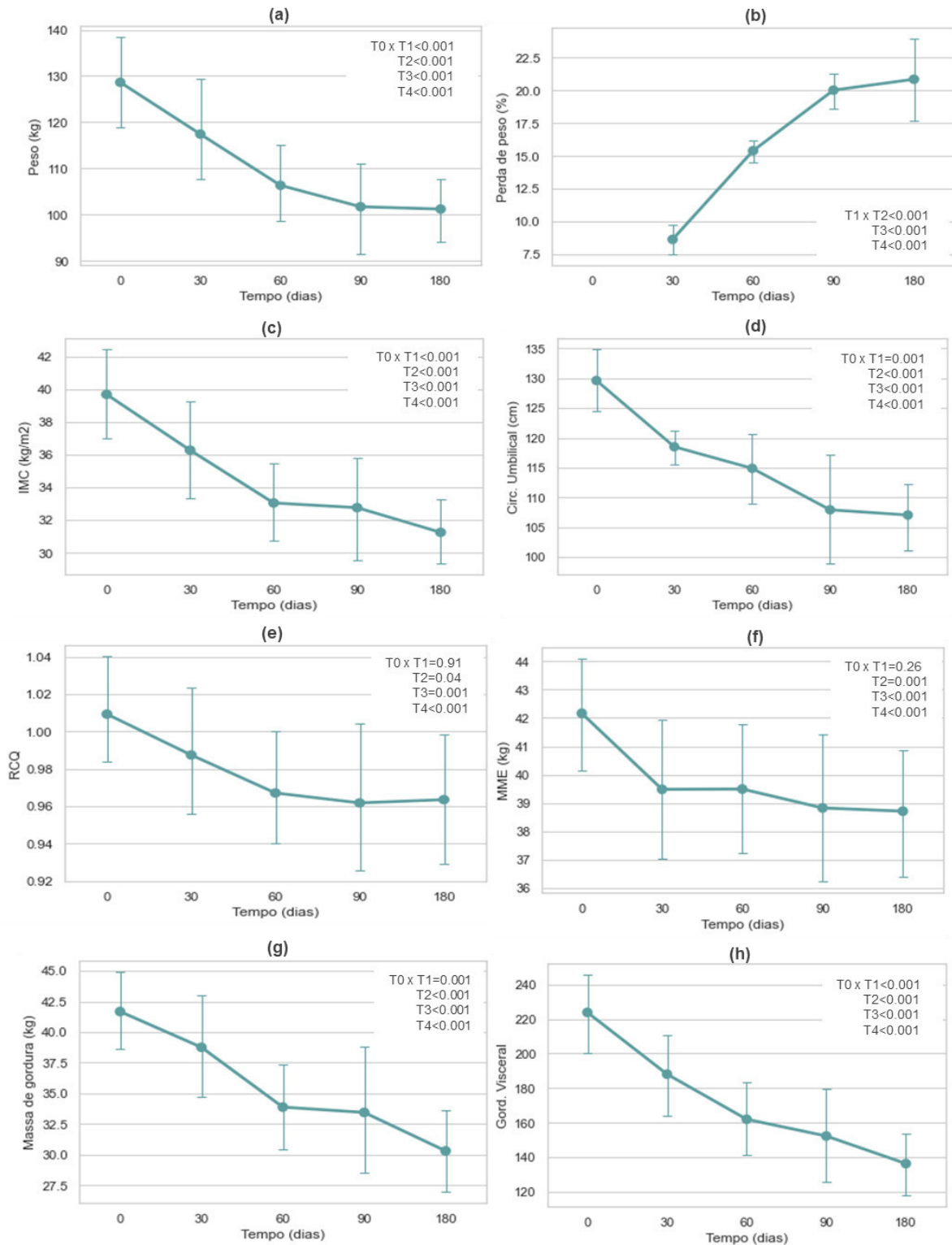
Em relação aos parâmetros metabólicos, os valores glicêmicos baixaram significativamente já no primeiro mês. A glicemia subiu nos tempos posteriores e, apesar da melhora em relação ao tempo basal, a diferença ao final do estudo (tempo T4) não foi estatisticamente significante (Gráfico 5.2 a). Contudo, com a redução da resistência insulínica, esses valores ficaram estáveis e abaixo de 90 mg/dL.

Os valores de insulina, HBA1C, HOMA-IR, triglicerídeos e, LDL e baixaram significativamente já no tempo T1 e essa melhora foi mantida até o final do protocolo (Gráfico 5.2 b, c, d, e, g). Apesar da queda nos níveis de HDL nos tempos T1, T2 e T3, ao final do estudo (tempo T4) esses valores se elevaram de forma significante em relação ao tempo basal (T0; Gráfico 5.2 f).

Houve redução significativa nos níveis séricos das enzimas hepáticas AST, ALT e GGT já no tempo T1 (Gráfico 5.3a, b, c).

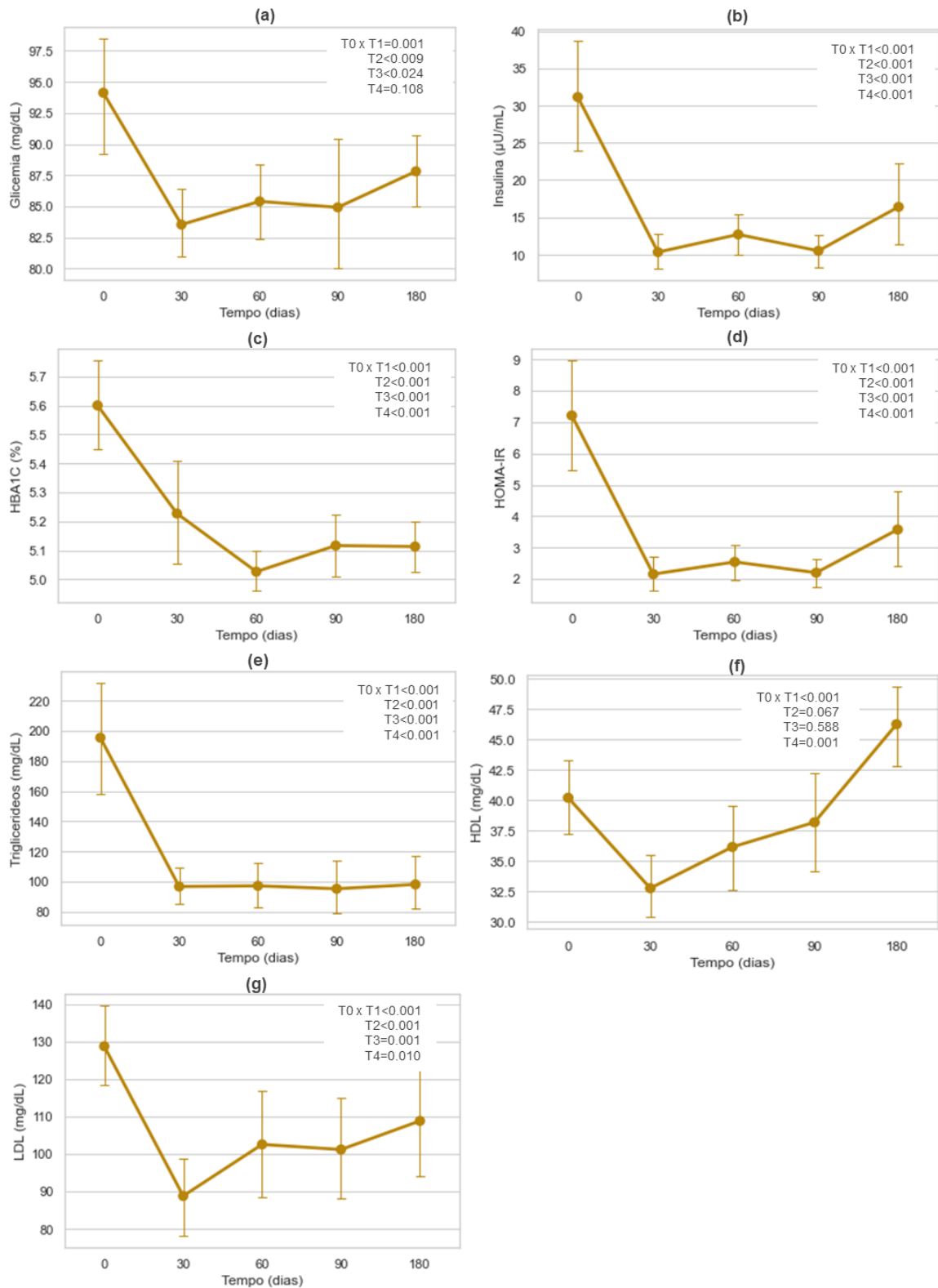
A redução no nível de ferritina foi importante já partir do tempo T1, ficando este valor abaixo do limite máximo da referência (<400ng/mL), e esta diferença passa a ser estatisticamente significante no tempo T4 (Gráfico 5.3 d).

Gráfico 5.1 – Gráficos mostrando melhora ao longo do estudo nos parâmetros antropométricos após intervenção dietética. (a) peso; (b) perda de peso; (c) índice de massa corpórea -IMC; (d) circunferência umbilical; (e) relação cintura quadril - RCQ; (f) massa musculoesquelética -MME; (g) percentual de gordura total; (h) área de gordura visceral. T0, T1, T2, T3 e T4, tempos basal, 30 dias, 60 dias, 90 dias e 180 dias, respectivamente



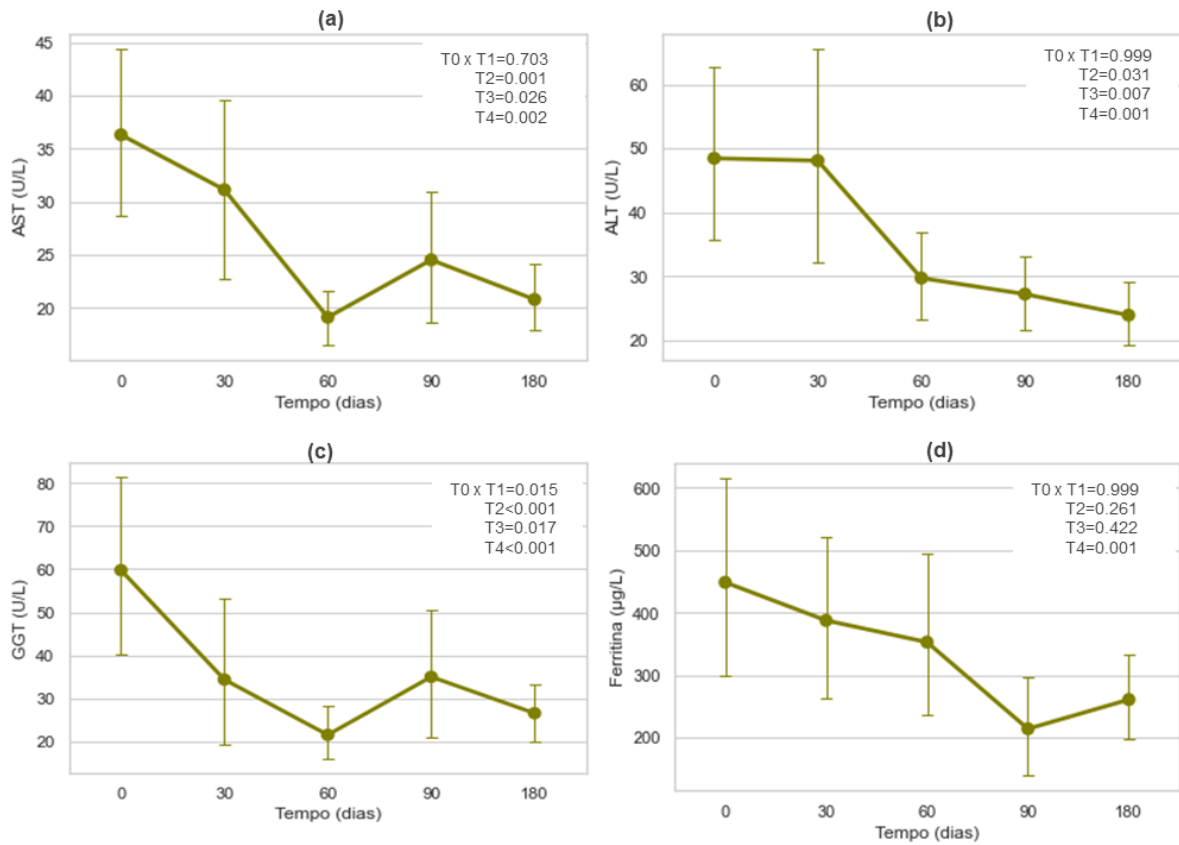
Fonte: autoria própria

Gráfico 5.2 – Gráficos mostrando melhora ao longo do estudo nos parâmetros bioquímicos e metabólicos após intervenção dietética. (a) glicemia; (b) insulina; (c) hemoglobina glicada-HBA1C; (d) HOMA-IR; (e) Triglicerídeos; (f) lipoproteína de alta densidade - HDL; (g) lipoproteína de baixa densidade – LDL. 0, T1, T2, T3 e T4, tempos basal, 30 dias, 60 dias, 90 dias e 180 dias, respectivamente



Fonte: autoria própria

Gráfico 5.3 – Gráficos mostrando melhora ao longo do estudo nos níveis de enzimas hepáticas após intervenção dietética. (a) aspartato aminotransferase -AST; (b) alanina aminotransferase-ALT; (c) gama glutamil transferase-GGT; (d) ferritina



T0, T1, T2, T3 e T4, tempos basal, 30 dias, 60 dias, 90 dias e 180 dias, respectivamente.

Fonte: autoria própria

O Gráfico 5.4 apresenta a análise de correlação entre as principais variáveis metabólicas e os dados antropométricos.

Gráfico 5.4 – Matriz de correlação entre as variáveis antropométricas, bioquímicas e metabólicas analisadas no estudo



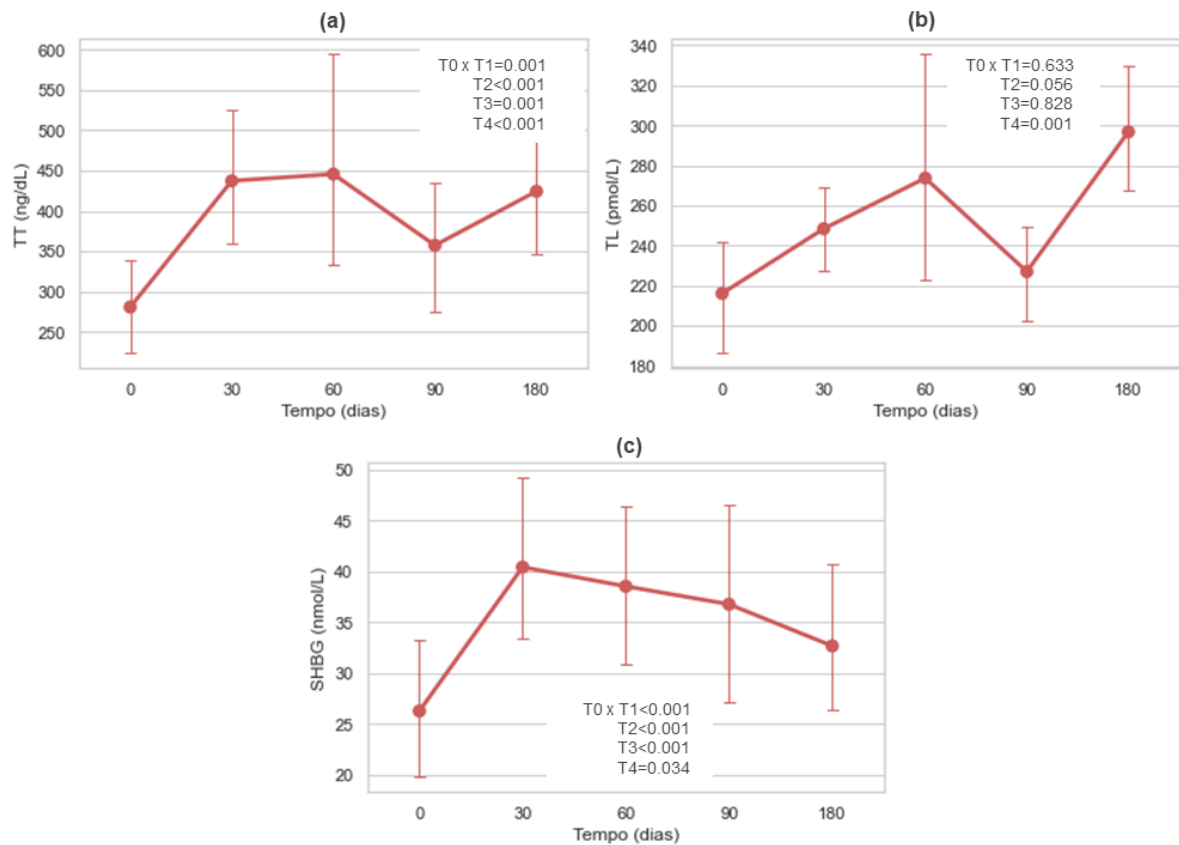
Fonte: autoria própria

5.3 Efeito da intervenção dietética sobre os níveis de hormônios sexuais

Em relação aos hormônios sexuais, os níveis de testosterona total aumentaram significativamente no T1 e essa melhora manteve-se constante em relação ao tempo T0 até o final do estudo (Gráfico 5.5 a). Já o aumento da testosterona livre só ocorreu de forma pronunciada no tempo T4 (Gráfico 5.5 b).

Houve um aumento bastante expressivo do nível de SHBG no T1, que apesar de sofrer uma queda progressiva nos tempos T2 e T3, a melhora permaneceu significativa ao final do protocolo (Gráfico 5.5 c).

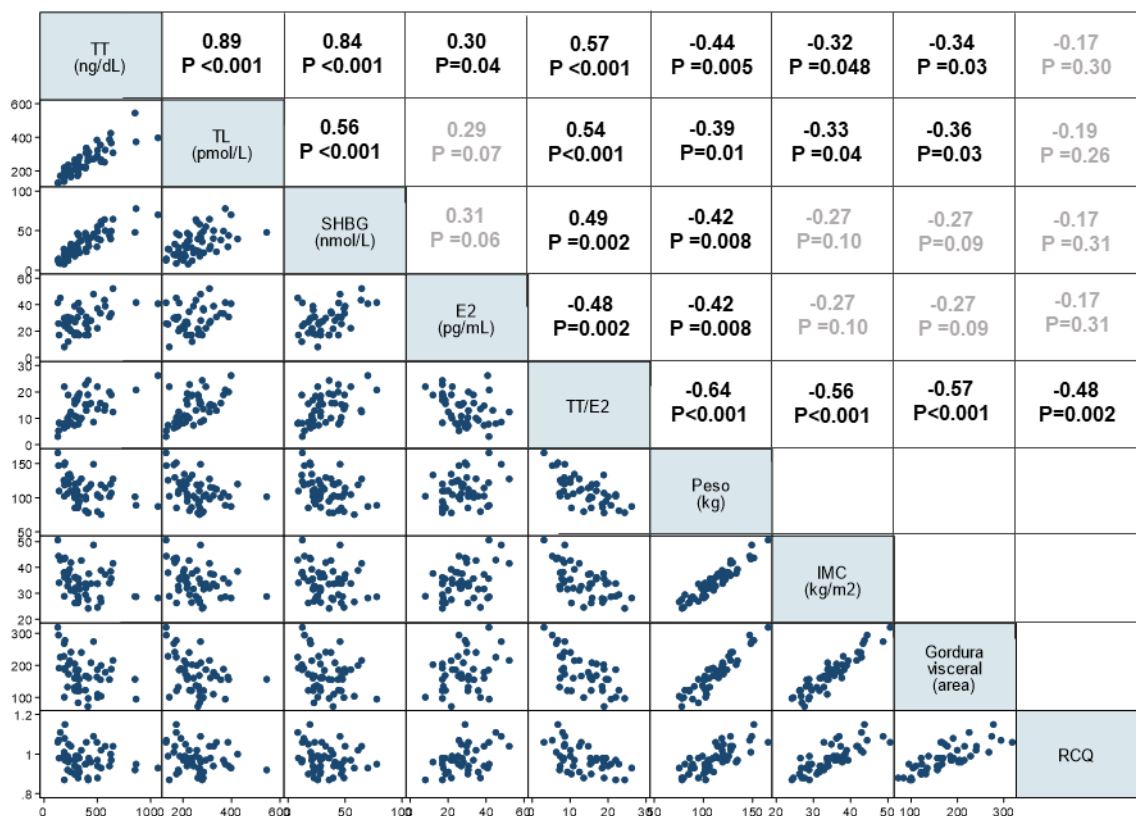
Gráfico 5.5 – Gráficos mostrando melhora ao longo do estudo nos parâmetros hormonais após intervenção dietética. (a) testosterona total -TT; (b) testosterona livre-TL; (c) globulina ligadora de hormônios sexuais-SHBG. T0, T1, T2, T3 e T4, tempos basal, 30 dias, 60 dias, 90 dias e 180 dias, respectivamente



Fonte: autoria própria

Quando foram avaliadas as correlações entre os hormônios sexuais e dados antropométricos selecionados, foi observada uma correlação negativa entre os níveis de TT e TL e o peso, o IMC e a área de gordura visceral (Gráfico 5.6). O SHBG e o estrogênio se correlacionaram apenas ao peso, entre os dados antropométricos (Gráfico 5.6).

Gráfico 5.6 – Matriz de correlação entre as variáveis antropométricas e os níveis de hormônios sexuais analisados no estudo. TT: testosterona total; TL: testosterona livre; SHBG: globulina ligadora dos hormônios sexuais; E2: estrogênio; IMC: índice e massa corporal; RCQ: relação cintura e quadril



Fonte: autoria própria

5.4 Efeito da intervenção dietética sobre as citocinas pro-inflamatórias séricas e o biomarcador de peroxidação lipídica (TBARS)

Houve uma discreta elevação nos valores de TNF-alfa e da IL-10 no tempo T2, que praticamente voltaram aos valores basais no tempo T4 (Tabela 5.4). Contudo, essas diferenças não foram estatisticamente significantes. Também não foram

observadas alterações para os marcadores interferon e interleucinas IL-1 e IL-4 nos diferentes tempos de estudo (Tabela 5.4).

Tabela 5.4 – Valores de citocinas e do biomarcador de peroxidação lipídica (TBARS) em diferentes tempos do estudo

Variáveis	T0 - Basal (n=16)	T2 - 60 dias (n=15)	T4 - 180 dias (n=16)	Q2	P
TNF-alfa	4.6 (3.4-6.3)	5.3 (3.6-8)	4.7 (3.6-6.4)	1.7	0.429
Interferon γ	1 (0.8-1)	1.1 (0.8-1.3)	1 (0.8-1))	3.1	0.215
IL-1β	0.5 (0.5-0.5)	0.5 (0.4-0.6)	0.5 (0.4-0.5)	1.4	0.483
IL-4	3.3 (2.6-3.3)	3.3 (2.4-4.3)	3.3 (2.4-3.3)	0.7	0.689
IL-10	2.4 (2.5-3.4)	2.9 (2.3-3.5)	2.3 (2-3.2)	2.2	0.329
TBARS	39.9 (36-48)	39.6 (34-48)	42.1 (34-48)	0.5	0.765

TNF: fator de necrose tumoral; IL-interleucina; TBARS: substancia reativa ao ácido tiobarbitúrico

Fonte: autoria própria

5.5 Efeito da intervenção dietética sobre a função espermática

Não houve diferença significativa em relação a contagem e padrão morfológico segundo os critérios da OMS (Tabela 5.5). No entanto, de forma interessante, a contagem espermática do paciente com maior peso do estudo (P15), oligospermico ao início, subiu de 10 para 52 milhões no tempo T6. O segundo paciente com maior peso (P7) subiu a contagem de 16 para 34.6 milhões e o percentual de espermatozoides com morfologia normal de 1% para 9%. Este era o paciente com maior idade do estudo e tinha varicocele. Os pacientes P4, P10 e P14 de 0% de espermatozoides com morfologia normal, evoluíram para 3%, 6% e 6%, respectivamente.

Os pacientes P1, P7 e P15 apresentavam astenozoospermia (motilidade progressiva <32%). Apesar de nenhum deles normalizarem esse parâmetro ao final do estudo, houve um incremento nesse valor de 2% para 28% (P15) e de 12% para 17% (P14). Os pacientes P7 e P15 também apresentavam valores baixos de motilidade total que ficou dentro dos limites normais no tempo T6 (>40). Comparando-se esses a mediana desses parâmetros entres os tempos, houve um aumento significativo da motilidade total, avaliada pelo espermograma convencional, e da

motilidade progressiva, avaliada pelo método CASA. Ainda, o número de espermatozoides estáticos foi expressivamente menor ao final do T6 (Gráfico 5.7; Tabela 5.5).

Tabela 5.5 – Resultados dos espermogramas convencional e funcional e das análises de motilidade pelo método CASA nos diferentes tempos do estudo

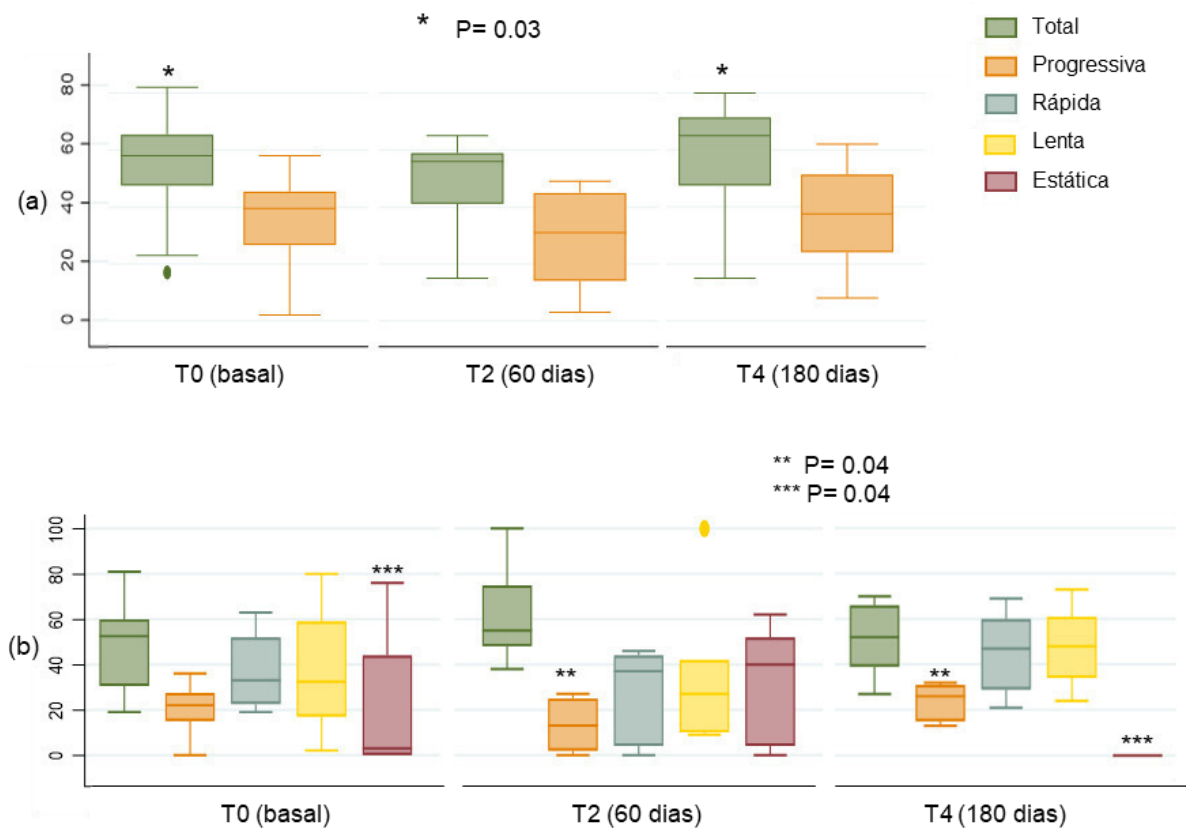
Variáveis	T0 - Basal (n=16)	T2 - 60 dias (n=15)	T4 - 180 dias (n=16)	Q2	P
<i>Espermograma convencional</i>					
Volume (mL)	2 (1.5-3.8)	2.2 (1.7-3)	2.3 (1.9-3.5)	0.6	0.76
Contagem (milhões)	141 (107-264)	196 (142-340)	177 (97-217)	3.2	0.58
Concentração (milhões/mL)	62.5 (23-134)	100 (60-117)	59.5 (29-111)	2.6	0.27
Motilidade (%)*					
Total	58 (47-65)	56 (41-59)	65 (47-71)	6.8	0.03
Progressiva	39.5 (26-45)	31 (14-45)	37.5 (24-51)	4.5	0.11
Classificação OMS					
OMS	1.5 (1-3)	2 (2-3)	3 (1-5.5)	0.6	0.73
<i>Espermograma funcional</i>					
Eosina (%)	76 (74-82)	79 (61-84)	85 (75-89)	0.2	0.92
POPE (%)	78 (68-85)	81 (72-91)	87 (77-93)		
DABI (%)	60 (54-68)	54 (30-71)	58 (56-68)	1.0	0.71
DABII (%)	14 (11-20)	21 (9-23)	17 (11-20)	1.8	0.40
DABIII (%)	6 (3-10)	4 (1-11)	8 (5-11)	0.7	0.71
DABIV (%)	13 (11-19)	19 (13-26)	10 (9-24)	1.0	0.64
TBARS (ng/ml)	1444(1251-1829)	2051(1791-2408)	2350(1502-2542)	5.5	0.03
<i>Método CASA - "Computer-Aided Sperm Analysis"</i>					
VAP (µm/s)	47 (36-57)	48 (27-57)	45 (40-50)	1.9	0.38
VCL(µm/s)	72 (59-91)	77 (53-91)	68 (61-71)	3.0	0.22
VSL (µm/s)	37 (28-47)	32 (22-48)	35 (31-40)	0.6	0.75
ALH (µm)	5 (3-7)	5 (3-6)	7 (7-8)	2.0	0.39
BCF (Hz)	28 (25-32)	27 (20-33)	29 (26-34)	2.0	039
Motilidade (%)					
Total	52 (30-60)	55 (48-75)	52 (39-72)	1.9	0.39
Progressiva	22 (15-37)	13 (2-25)	26 (15-31)	6.6	0.04
Rápida	33 (22-53)	37 (4-44)	47 (29-60)	2.0	0.38
Lenta	32 (17-59)	27 (10-42)	48 (34-61)	0.5	0.78
Estático	3 (0-44)	40 (4-52)	0 (0-0)	6.2	0.04

OMS: organização mundial de saúde; VAP (velocidade média da trajetória), VCL (velocidade curvilínea), VSL (velocidade em linha reta), ALH (amplitude do deslocamento lateral da cabeça); BCF (frequência de batimento cruzado); Eosina (percentual de células com membrana íntegra); POPE: método *fast green/rose* bengal (percentual de células com integridade acrossômica); DAB (diaminobenzidina) I-IV: classe I – 100%, II > 50%; II <50% e IV e ausência de atividade mitocondrial, respectivamente.; TBARS: substância reativa ao ácido tiobarbitúrico (mede peroxidação lipídica). * percentual de espermatozoides com motilidade normal.

Fonte: autoria própria

Em relação as variáveis funcionais, houve um aumento no percentual de células apresentando integridade membranal e acrossômica (Tabela 5.5). No entanto, essa diferença não foi estatisticamente significativa (Tabela 5.5). Não foi observada diferença na proporção entre os padrões de classe de atividade mitocondrial (Tabela 5.5). Curiosamente, houve um aumento, significativo, na concentração de TBARS ($P=0.03$), indicando um maior índice de peroxidação lipídica (Tabela 5.5).

Gráfico 5.7 – Box-plots mostrando os resultados do padrão de movimento dos espermatozoides avaliados pelo (a) espermograma convencional e (b) pelo método CASA nos diferentes tempos de estudo. T0, T2 e T4, tempos basal, 60 dias e 180 dias, respectivamente

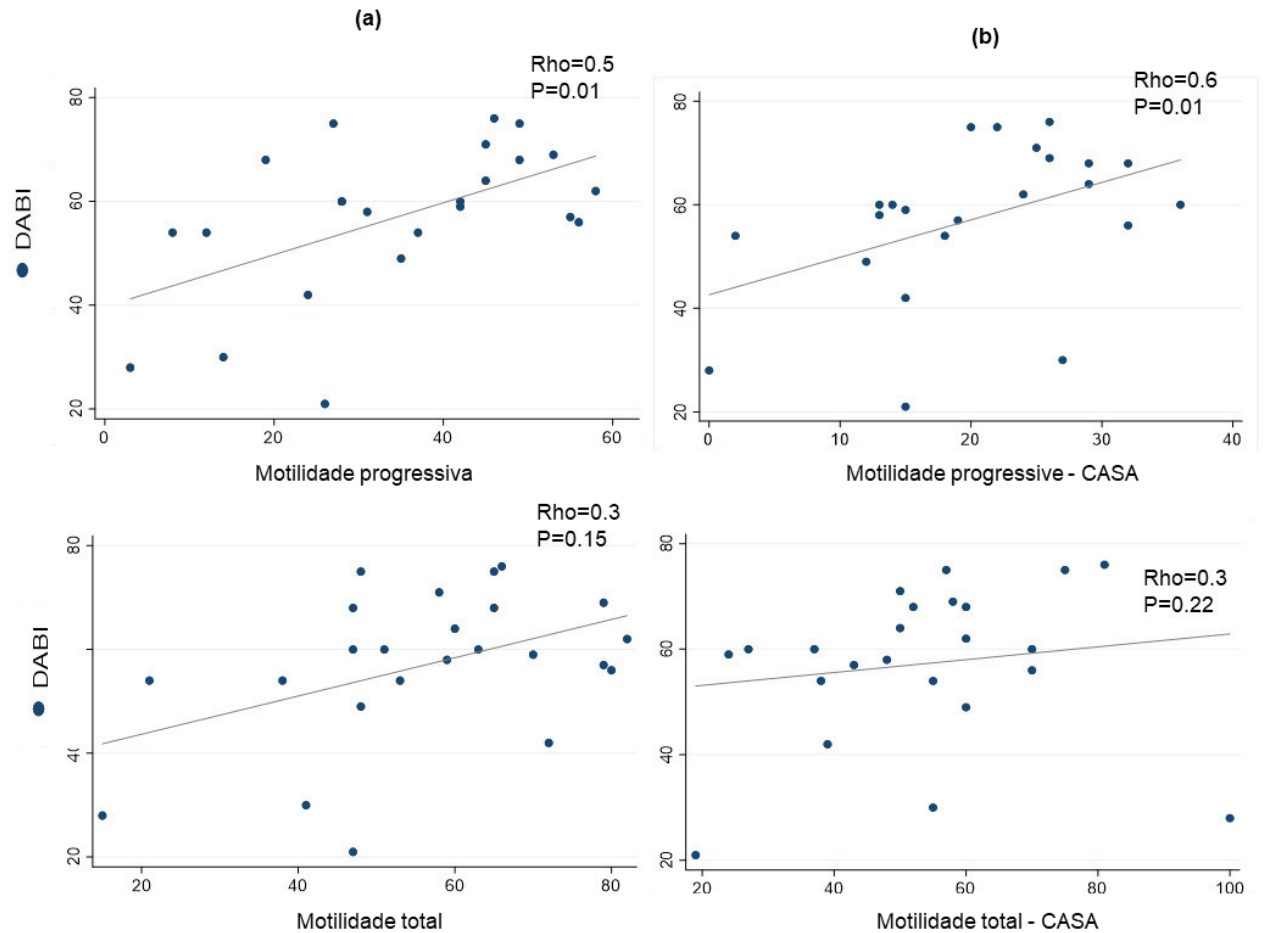


Fonte: autoria própria

Com esse resultado, foi avaliada a motilidade e outros parâmetros funcionais e dos espermatozoides. Interessantemente, foi observada uma correlação positiva entre a motilidade progressiva e o DAB1, avaliada tanto pelo espermograma convencional

quanto pelo método CASA ($\rho=0.5/ P=0.01$ e $\rho=0.6/ P=0.01$, respectivamente; Gráfico 5.8). Nenhuma outra correlação foi encontrada entre essas variáveis.

Gráfico 5.8 – Gráfico de dispersão mostrando a correlação entre a motilidade progressiva, e não total, e DAB classe 1 tanto pelo (a) espermograma convencional quanto pelo (b) método CASA



Fonte: autoria própria

6. DISCUSSÃO

Com um método dietético e não invasivo, os pacientes alcançaram excelente resultado de perda de peso (superior a 15%), o que dificilmente se alcança com intervenções dietéticas hipocalóricas convencionais¹²² e/ou tratamentos medicamentosos¹²³. A melhora significativa dos parâmetros antropométricos, hormonais e metabólicos é semelhante ao que observamos nos diversos estudos em que os pacientes apresentaram perda de peso significativa após procedimento cirúrgico bariátrico¹²⁴.

Além da redução significativa de gordura total e visceral, observou-se uma redução de massa livre de gordura predominantemente no primeiro mês do tratamento, período em que os pacientes se encontram em cetose. Nos meses subsequentes, o MME se manteve estável até o final do estudo, correspondendo a uma redução de aproximadamente 2,6% do peso total. Estes resultados foram muito semelhantes ao que já havia sido descrito¹²⁵ e demonstram uma importante manutenção de massa magra, diferente do que ocorre em outras intervenções de redução de peso¹²⁶.

A redução menos expressiva do RCQ no primeiro mês, poderia ser explicada pela redução do MME, que costuma reduzir a circunferência de quadril. Entretanto, embora a RCQ seja um parâmetro inversamente relacionado à síndrome metabólica, risco de diabetes e doença coronariana¹²⁷, é possível que neste grupo de pacientes com redução crônica dos níveis de testosterona, a deposição de gordura periférica com padrão ginecoide aumente a circunferência de quadril dando uma falsa impressão de RCQ pouco inadequada. Com a redução de peso e elevação dos níveis de testosterona, observamos uma melhor adequação de estrutura corporal que poderia ser mais bem demonstrada pela relação da cintura escapular/pélvica, do que pela RCQ.

Os resultados observados nos parâmetros hormonais após a intervenção, são semelhantes aos observados em estudos prévios^{91; 92}. Entretanto, de acordo o *European Male Aging Study*, reduções de peso inferiores a 15% tiveram incremento pouco expressivo de testosterona, com elevação média de 58 ng/dL⁹¹. Em nosso estudo, é notável que a elevação significativa de testosterona ocorre logo no primeiro

mês, aumentando de 281 ± 122.6 (T0), para 437.6 ± 172.5 (T1), momento em que a média de perda de peso ainda era inferior a 10% ($8.6 \pm 2.4\%$) do peso total. Observamos que concomitantemente (entre os períodos T0 e T1) ocorreu redução importante de resistência insulínica representada por HOMA IR (de 7.2 ± 3.6 , para 2.1 ± 1), elevação significativa do SHBG (de 26.3 ± 13.8 , para 40.4 ± 15.8) e redução abrupta dos níveis de triglicérides (de 195.5 ± 80.1 , para 96.7 ± 24.7).

Interessantemente, a variação máxima entre os níveis séricos destes parâmetros mencionados ocorre justamente no primeiro mês, sugerindo que uma intensa mobilização de gordura hepática favoreça a produção de SHBG pelo fígado, com consequente adequação da regulação entre as frações de TL e da ligada à sua globulina carreadora. Como aparente resultado deste processo, a TL apresenta elevação significativa apenas no final do estudo, semelhante ao que já se demonstrou também com cirurgia bariátrica¹²⁸. Este resultado parece bem interessante, uma vez que se sugere que o SHBG tenha efeitos metabólicos que vão além do simples ajuste da testosterona biodisponível²⁷. Bhasin *et al.* demonstraram que os níveis de SHBG, foram independentemente associados com diabetes e SM após ajustes para idade, adiposidade e comorbidades¹²⁹. Do ponto de vista de proteção metabólica, a elevação do SHBG parece ter efeito protetor tão ou mais importante do que a própria testosterona^{130; 131}.

Ao contrario do que se espera quando se pensa em hipogonadismo hiperestrogênico associado a obesidade, nossos pacientes tinham níveis de E2 dentro dos valores de referência laboratorial, e apresentaram discreta elevação dos níveis de E2 após a redução de peso. Isso também já havia sido mencionado em outros estudos, uma vez que, quanto maior o grau de obesidade e menor o nível de TT, os níveis de E2 reduzem, independente do aumento da aromatização de testosterona em E2 pelo tecido adiposo¹³². Quando fazemos uma relação entre o nível de TT e E2 (TT/E2), observamos que este mecanismo de aromatização excessiva foi atenuado ou corrigido, subindo de 10.9 ± 5.6 , para 15.5 ± 4.8 em T0 e T4, respectivamente.

Embora nem todos os pacientes do estudo tivessem diagnóstico de hipogonadismo, fica evidente que todos apresentavam alguma disfunção do eixo gonadotrófico, uma vez que todos apresentaram elevação significativa dos níveis de testosterona superior a 50%, mesmo com o nível basal considerado ótimo. Isso seria esperado, uma vez que sabemos que os pacientes obesos se encontram em um

estado de inflamação crônica de baixo grau e a redução de peso poderia reverter este processo¹³³. Entretanto, em nossa análise de citocinas inflamatórias não foi possível confirmar esta hipótese. Ao contrário, observamos um discreto aumento, não significativo estatisticamente, dos níveis de TNF alfa entre os tempos T0 e T1 e discreta redução em T4, entretanto se mantendo um pouco acima do nível basal. Por outro lado, a IL-10 que poderia ser considerada como citocina de efeito antiinflamatório¹³⁴, apresentou o mesmo padrão de variação ao longo do estudo, com discreta elevação dos seus níveis entre os tempos T0 e T1 e redução em T4, se mantendo um pouco acima de valor de referência. Não encontramos variação entre as outras citocinas dosadas (IL-4, INF gama, IL-1beta) e não foi possível realizar a dosagem de IL-6.

Outro fator que poderia nos ajudar a entender o efeito da redução de peso sobre a melhora tão significativa dos parâmetros hormonais e metabólicos seria a dosagem de adipocinas, uma vez que se espera a resolução da disfunção do tecido adiposo com a redução significativa de peso. Entretanto, não foi possível realizar estas análises neste momento. Além do ajuste dos níveis de adiponectina e leptina, poderíamos esperar que outros fatores de transcrição do tecido adiposo poderiam apresentar alteração após a redução de peso, estimulando a biogênese mitocondrial e reduzindo estresse oxidativo¹³⁵. Desta forma poderíamos verificar se a redução do estresse oxidativo é a chave para a adequação dos parâmetros metabólicos e hormonais observada em nosso estudo^{93; 136}. Realizamos a análise de peroxidação lipídica estresse induzido (TBARS) com a dosagem de MDA no soro dos pacientes. Contudo, não observamos a melhora esperada. Ao contrário, observamos tendência à elevação do TBARS ao longo do estudo, mas sem relevância estatisticamente significativa.

Embora seja difícil entender estes resultados, é possível que a mobilização dos POPs do tecido adiposo para a circulação possa ser responsável por esta alteração, uma vez que o TA tem efeito protetor em relação a estas substâncias, conhecidamente lipofílicas, visando mantê-las longe de órgãos alvo¹⁶. Contudo, após grande redução de peso, observa-se um importante incremento de concentrações de poluentes no plasma¹³⁷. Em um estudo de Kim *et al.*, todos os indivíduos submetidos à perda de peso apresentaram melhores parâmetros metabólicos. Entretanto, aqueles que apresentaram os maiores níveis séricos de POP apresentaram um atraso na melhora

desses parâmetros, sugerindo que os POPs podem neutralizar os efeitos positivos da perda de peso ¹³⁸.

Em relação à análise seminal encontramos vários resultados interessantes. Houve uma tendência à piora dos parâmetros seminais entre os tempos T0 e T2, o que poderia ser esperado, uma vez que os pacientes se encontravam em etapa ativa da dieta, em cetose. Posteriormente, observamos uma tendência à melhora dos parâmetros seminais, com resultados muito próximos ao que encontrávamos no início do nosso estudo. Foi possível ainda observar uma discreta, mas significativa, melhora nos parâmetros de motilidade total e progressiva, e uma redução expressiva de espermatozoides estáticos ao final do estudo.

Diferente do esperado, a dosagem de MDA evidenciou piora progressiva da peroxidação lipídica nas amostras seminais. Por não termos um resultado da análise de antioxidantes nessas amostras, não é possível concluir se estes sistemas eram insuficientes ou se algum outro motivo levou ao aumento do estresse oxidativo. Entretanto, vale mencionar que entre T0 e T1 a quantidade de espermatozoides imóveis aumentou muito e reduziu significativamente no T4. É possível que esse aumento na produção de EROs esteja relacionado a melhora significativa no percentual de espermatozoides móveis, uma vez que estes são subprodutos do processo fisiológico de motilidade espermática como mencionado anteriormente⁵⁵. Por fim, não sabemos se a piora dos índices de TBARS induziu de lesão ao DNA, pois não foi possível realizar a pesquisa de fragmentação de DNA.

Analisando os casos individualmente, os resultados mais expressivos foram demonstrados nos pacientes que tinham o maior peso ao início do estudo e com pior análise seminal inicial (P7 e 15). O P15 apresentava oligospermia e astenozoospermia no início do estudo. Aos 6 meses, havia reduzido 46 kg e apresentava melhora progressiva da contagem e concentração de espermatozoides com reversão da oligospermia, normalização da motilidade total (>40%) e com melhora importante da motilidade progressiva de 2% em T0 para 28% em T4, mas sem alcançar o padrão considerado normal (VR>32%). Em relação à morfologia, o P15 manteve morfologia abaixo do percentil 5 da normalidade durante todo o estudo.

Resultado semelhante foi observado com o P7, que iniciou o estudo com contagem total de 16 milhões de espermatozoides, valor muito próximo à oligospermia (<15 milhões), e ao final do estudo apresentava 32 milhões. Ao longo do estudo, esse

paciente normalizou os parâmetros de motilidade total e apresentou melhora da motilidade progressiva; porém ainda longe do padrão considerado normal (T0: 12%; T4: 17%). Contudo, o paciente P7 obteve melhora significativa da morfologia, evoluindo de 1 para 9% (VR<4%). Vale ressaltar que a principal diferença entre os pacientes P7 e P15 é a faixa etária, sendo o P15 o paciente mais jovem e o P7 o paciente mais velho do estudo (24 e 48 anos, respectivamente).

Dois pacientes (P9 e 16) tiveram diagnóstico estabelecido de infecção pelo SARS-CoV-2 ao final do estudo. Embora tenham tido quadros leves da doença, nos chamou a atenção o fato de que ambos apresentaram piora da análise seminal final (T4), diferente do que foi observado nos outros pacientes. O paciente P9 reduziu principalmente a contagem total de espermatozoides (de 194 para 108 milhões), e teve discreta redução da motilidade progressiva, mas ainda dentro do parâmetro considerado normal. Já o P16, apresentou uma redução importante da motilidade progressiva, evoluindo de um basal normal (55%) para 24%, sendo este resultado considerado anormal para motilidade progressiva (VR>32%). Não sabemos se o quadro infeccioso pode ter sido a causa das alterações encontradas, entretanto, resultados semelhantes foram demonstrados recentemente¹³⁹.

Quando comparamos nossos achados seminais relacionados à redução significativa de peso, aos descritos na literatura observamos que, embora pouco expressivo, é um resultado animador. Um estudo recente realizado na mesma instituição, e portanto com uma população semelhante à nossa do ponto de vista demográfico, demonstrou uma piora significativa em vários dos parâmetros seminais avaliados após 6 meses da intervenção cirúrgica para perda de peso¹⁴⁰. Neste estudo, 17 pacientes foram submetidos à cirurgia bariátrica. Entre as análises realizadas, os autores observaram aumento do número de pacientes oligospermicos (de 2 para 7) e astenozoospermicos (de 0 para 2). Além disso, observou-se piora significativa de contagem total e concentração de espermatozoides, e piora, porém, sem significância estatística, das motilidades total e progressiva. Resultados semelhantes foram descritos por um outro grupo, que avaliou prospectivamente 40 pacientes no estudo BARIASPERM¹⁰¹. Neste estudo, eles mantiveram o acompanhamento além dos 6 meses, e observaram piora ainda mais evidente ao final de 12 meses. Estes resultados chamam a atenção e nos remetem aos relatos de caso publicados em 2005¹⁰⁰ e 2012⁹⁸, em que os pacientes submetidos à cirurgia bariátrica recebessem

orientação para armazenamento de material seminal, caso evoluíssem para infertilidade após o procedimento cirúrgico. Esta abordagem não parece pertinente, dado que este material armazenado provavelmente será portador de diversas anomalias, como demonstrado por Donkin e col¹⁴¹. Estes autores avaliaram o metiloma de espermatozoides de humanos e encontraram mais de 9 mil genes diferencialmente metilados entre homens magros e obesos. Os autores identificaram alterações profundas no perfil de metilação de genes implicados no controle central do apetite, além de outros genes relacionados ao metabolismo e a obesidade.

Ao longo dos últimos 5 anos, algumas revisões sistemáticas e meta-análises avaliando relação da redução de peso por cirurgia bariátrica e os parâmetros seminais foram publicadas. Em 2018, Wei e *et al.* concluem que os efeitos da cirurgia bariátrica em relação aos parâmetros seminais ainda são incertos⁹⁵, e Lee *et al.*¹⁴² em 2019 concluem que não houve melhora na qualidade e na função dos espermatozoides nos estudos incluídos em sua meta-análise^{96; 143; 144}. Em 2021, um novo estudo de revisão sistemática e metanálise avaliou a fertilidade de homens e mulheres após cirurgia bariátrica, onde os autores concluíram que tal procedimento efetivamente melhora os resultados de fertilidade¹²⁴. Contudo, nesta análise foram incluídos 3 estudos^{101; 144; 145} que avaliaram os parâmetros seminais, onde foi encontrado apenas melhora da morfologia espermática após 12 meses da cirurgia bariátrica. Não houve evolução nos outros parâmetros avaliados como volume, contagem total, concentração e motilidade dos espermatozoides. Nesta mesma meta-análise de 2021 foi excluído o estudo BARIASPERM com a finalidade de reduzir a heterogeneidade amostral. Com isso as análises envolvendo o volume e motilidade espermática também mostraram um resultado com melhora significativa dessas variáveis¹²⁴. Um dos estudos que permaneceu na meta-análise foi o de Fariello¹⁴⁵ *et al.* que avaliaram 15 homens obesos submetidos à cirurgia bariátrica na cidade de São Paulo, onde foi observada melhora significativa de praticamente todos os parâmetros avaliados. Além da análise seminal convencional, este estudo também avaliou marcadores de função mitocondrial por DAB, peroxidação lipídica estresse induzido com dosagem de MDA e fragmentação de DNA pelo método do COMETA. A melhora observada foi prospectiva entre os tempos 0, 3 meses, 6 meses e 1 ano, sendo evidente já aos 3 meses do estudo¹⁴⁵. Esses resultados são diferentes do observado por Legro *et al.*

em 2015¹⁴⁴ que observou tendência à piora dos parâmetros após 3 meses da intervenção.

Um estudo espanhol publicado em agosto deste ano, avalia 12 pacientes submetidos a cirurgia bariátrica e observa uma tendência à piora de todos os parâmetros de análise seminal convencional, que é significativa apenas em relação a morfologia. Os autores concluem que os efeitos da cirurgia bariátrica sobre a fertilidade masculina são limitados, ou possivelmente deletérios, ao menos a curto e médio prazo ¹⁴⁶. Muito recentemente, Gao *et al.* conseguiram agregar um maior número de estudos em sua meta-análise, onde foram incluídos nove estudos com um total de 218 pacientes, em um seguimento mais prolongado que variou de 6 a 24 meses. Os autores não observaram melhora em nenhum dos parâmetros seminais convencionais¹⁴⁷.

Frente a resultados tão variados como os descritos acima, o que parece evidente é que existam uma série de fatores individuais, e ainda pouco conhecidos, que possam estar relacionados a boa resposta dos parâmetros seminais após a redução significativa de peso. Entre estes fatores, podemos destacar o estilo de vida, o uso ou o abuso de substâncias^{72; 148}, o aporte nutricional¹⁴⁹ e a exposição aos tóxicos disruptores¹⁵⁰, bem como as variações genéticas ^{151 152 153}

7. CONCLUSÕES

Em conclusão, o tratamento não invasivo à base de dieta cetogênica de muito baixa caloria promoveu redução de peso com ajustes hormonais e metabólicos similares ao tratamento cirúrgico bariátrico.

Referente a parâmetros seminais a redução de peso conservadora, promovida pela dieta VLCK, trouxe benefícios como incremento da motilidade total e motilidade progressiva, sugerindo que esta abordagem pode ser promissora também no âmbito da fertilidade masculina.

REFERÊNCIAS

- 1 AFSHIN, A. et al. Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. **N Engl J Med**, v. 377, n. 1, p. 13-27, 07 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28604169>>.
- 2 TREMELLEN, K. Gut Endotoxin Leading to a Decline IN Gonadal function (GELDING) - a novel theory for the development of late onset hypogonadism in obese men. **Basic Clin Androl**, v. 26, p. 7, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27340554>>.
- 3 BERRINGTON DE GONZALEZ, A. et al. Body-mass index and mortality among 1.46 million white adults. **N Engl J Med**, v. 363, n. 23, p. 2211-9, Dec 02 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21121834>>.
- 4 NOOR, N. et al. Association of Periconception Paternal Body Mass Index With Persistent Changes in DNA Methylation of Offspring in Childhood. **JAMA Netw Open**, v. 2, n. 12, p. e1916777, Dec 2 2019. Disponível: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31880793>>.
- 5 ESCOBAR-MORREALE, H. F. et al. The striking similarities in the metabolic associations of female androgen excess and male androgen deficiency. **Hum Reprod**, v. 29, n. 10, p. 2083-91, Oct 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25104855>>.
- 6 LEVINE, H. et al. Temporal trends in sperm count: a systematic review and meta-regression analysis. **Hum Reprod Update**, v. 23, n. 6, p. 646-659, 11 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28981654>>.
- 7 LONGO, M. et al. Adipose Tissue Dysfunction as Determinant of Obesity-Associated Metabolic Complications. **Int J Mol Sci**, v. 20, n. 9, May 13 2019. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31085992>>.
- 8 ZHANG, M. et al. Associations of Different Adipose Tissue Depots with Insulin Resistance: A Systematic Review and Meta-analysis of Observational Studies. **Sci Rep**, v. 5, p. 18495, Dec 21 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26686961>>.
- 9 CYPESS, A. M. et al. Anatomical localization, gene expression profiling and functional characterization of adult human neck brown fat. **Nat Med**, v. 19, n. 5, p. 635-9, May 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23603815>>.
- 10 KÖNNER, A. C.; BRÜNING, J. C. Selective insulin and leptin resistance in metabolic disorders. **Cell Metab**, v. 16, n. 2, p. 144-52, Aug 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22883229>>.
- 11 BALSAN, G. A. et al. Relationship between adiponectin, obesity and insulin resistance. **Rev Assoc Med Bras (1992)**, v. 61, n. 1, p. 72-80, 2015 Jan-Feb 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25909213>>.

- 12 WU, Z. et al. Mechanisms controlling mitochondrial biogenesis and respiration through the thermogenic coactivator PGC-1. **Cell**, v. 98, n. 1, p. 115-24, Jul 1999. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10412986> >.
- 13 ST-PIERRE, J. et al. Suppression of reactive oxygen species and neurodegeneration by the PGC-1 transcriptional coactivators. **Cell**, v. 127, n. 2, p. 397-408, Oct 2006. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17055439> >.
- 14 KNUTTI, D.; KRALLI, A. PGC-1, a versatile coactivator. **Trends Endocrinol Metab**, v. 12, n. 8, p. 360-5, Oct 2001. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11551810> >.
- 15 JACKSON, E. et al. Adipose Tissue as a Site of Toxin Accumulation. **Compr Physiol**, v. 7, n. 4, p. 1085-1135, 09 2017. Disponível: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28915320> >.
- 16 LA MERRILL, M. et al. Toxicological function of adipose tissue: focus on persistent organic pollutants. **Environ Health Perspect**, v. 121, n. 2, p. 162-9, Feb 2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23221922> >.
- 17 TCHERNOF, A.; DESPRÉS, J. P. Pathophysiology of human visceral obesity: an update. **Physiol Rev**, v. 93, n. 1, p. 359-404, Jan 2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23303913> >.
- 18 ARNER, P. Differences in lipolysis between human subcutaneous and omental adipose tissues. **Ann Med**, v. 27, n. 4, p. 435-8, Aug 1995. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8519504> >.
- 19 SKURK, T. et al. Relationship between adipocyte size and adipokine expression and secretion. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 92, n. 3, p. 1023-33, Mar 2007. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17164304> >.
- 20 FERRANTE, A. W. Obesity-induced inflammation: a metabolic dialogue in the language of inflammation. **J Intern Med**, v. 262, n. 4, p. 408-14, Oct 2007. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17875176> >.
- 21 FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, A. et al. Inflammation, oxidative stress, and obesity. **Int J Mol Sci**, v. 12, n. 5, p. 3117-32, 2011. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21686173> >.
- 22 MANNA, P.; JAIN, S. K. Obesity, Oxidative Stress, Adipose Tissue Dysfunction, and the Associated Health Risks: Causes and Therapeutic Strategies. **Metab Syndr Relat Disord**, v. 13, n. 10, p. 423-44, Dec 2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26569333> >.

- ²³ RAMÍREZ, S.; CLARET, M. Hypothalamic ER stress: A bridge between leptin resistance and obesity. **FEBS Lett**, v. 589, n. 14, p. 1678-87, Jun 2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25913783> >.
- ²⁴ JENA, N. R. DNA damage by reactive species: Mechanisms, mutation and repair. **J Biosci**, v. 37, n. 3, p. 503-17, Jul 2012. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22750987> >.
- ²⁵ CLINE, S. D. Mitochondrial DNA damage and its consequences for mitochondrial gene expression. **Biochim Biophys Acta**, v. 1819, n. 9-10, p. 979-91, 2012 Sep-Oct 2012. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22728831> >.
- ²⁶ CRUJEIRAS, A. B. et al. Oxidative stress associated to dysfunctional adipose tissue: a potential link between obesity, type 2 diabetes mellitus and breast cancer. **Free Radic Res**, v. 47, n. 4, p. 243-56, Apr 2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23409968> >.
- ²⁷ SIMONS, P. I. H. G. et al. Sex hormone-binding globulin: biomarker and hepatokine? **Trends Endocrinol Metab**, v. 32, n. 8, p. 544-553, 08 2021. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34052096> >.
- ²⁸ FUI, M. N.; DUPUIS, P.; GROSSMANN, M. Lowered testosterone in male obesity: mechanisms, morbidity and management. **Asian J Androl**, v. 16, n. 2, p. 223-31, 2014 Mar-Apr 2014. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24407187> >.
- ²⁹ SCHNEIDER, G. et al. Increased estrogen production in obese men. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 48, n.4, p. 633-8, Apr 1979. Disponível < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/429508> >.
- ³⁰ GROSSMANN, M. Low testosterone in men with type 2 diabetes: significance and treatment. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 96, n. 8, p. 2341-53, Aug 2011. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21646372> >.
- ³¹ BEKAERT, M. et al. Determinants of testosterone levels in human male obesity. **Endocrine**, v. 50, n.1, p.202-11, Sep2015.Disponível:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25771885>>.
- ³² LAINEZ, N. M.; COSS, D. Obesity, Neuroinflammation, and Reproductive Function. **Endocrinology**, v. 160, n. 11, p. 2719-2736, Nov 1 2019. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31513269> >.
- ³³ HARTER, C. J. L.; KAVANAGH, G. S.; SMITH, J. T. The role of kisspeptin neurons in reproduction and metabolism. **J Endocrinol**, v. 238, n. 3, p. R173-R183, Sep 2018. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30042117> >.

- 34 SANCHEZ-GARRIDO, M. A. et al. Obesity-induced hypogonadism in the male: premature reproductive neuroendocrine senescence and contribution of Kiss1-mediated mechanisms. **Endocrinology**, v. 155, n. 3, p. 1067-79, Mar 2014. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24424048> >.
- 35 ANDERSON, D. C. Sex-hormone-binding globulin. **Clin Endocrinol (Oxf)**, v. 3, n. 1, p. 69-96, Jan 1974. ISSN 0300-0664. Disponível: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4134992> >.
- 36 YAMAZAKI, H. et al. Protective Effect of Sex Hormone-Binding Globulin against Metabolic Syndrome: In Vitro Evidence Showing Anti-Inflammatory and Lipolytic Effects on Adipocytes and Macrophages. **Mediators Inflamm**, v. 2018, p. 3062319, 2018. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30046278> >.
- 37 LI, H. et al. Sex Hormone Binding Globulin Modifies Testosterone Action and Metabolism in Prostate Cancer Cells. **Int J Endocrinol**, v. 2016, p. 6437585, 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27990161> >.
- 38 OHLSSON, C. et al. Genetic determinants of serum testosterone concentrations in men. **PLoS Genet**, v. 7, n. 10, p. e1002313, Oct 2011. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21998597> >.
- 39 FRIEDMAN, J. M.; HALAAS, J. L. Leptin and the regulation of body weight in mammals. **Nature**, v. 395, n. 6704, p. 763-70, Oct 1998. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9796811> >.
- 40 COMNINOS, A. N.; JAYASENA, C. N.; DHILLO, W. S. The relationship between gut and adipose hormones, and reproduction. **Hum Reprod Update**, v. 20, n. 2, p. 153-74, Mar-Apr 2014. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24173881> >.
- 41 TSATSANIS, C. et al. The impact of adipose tissue-derived factors on the hypothalamic-pituitary-gonadal (HPG) axis. **Hormones (Athens)**, v. 14, n. 4, p. 549-62, 2015 Oct-Dec 2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26859602> >.
- 42 LAMM, S.; CHIDAKEL, A.; BANSAL, R. Obesity and Hypogonadism. **Urol Clin North Am**, v. 43, n. 2, p. 239-45, May 2016. Disponível: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27132582> >.
- 43 MIHALCA, R.; FICA, S. The impact of obesity on the male reproductive axis. **J Med Life**, v. 7, n. 2, p. 296-300, Jun 2014. Disponível: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25408743> >.
- 44 BHASIN, S. et al. Testosterone Therapy in Men With Hypogonadism: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 103, n. 5, p. 1715-1744, 05 01 2018.. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29562364> >.

- 45 SABOOR AFTAB, S.A.; KUMAR, S.; BARBER, T. M. The role of obesity and type 2 diabetes mellitus in the development of male obesity-associated secondary hypogonadism. **Clin Endocrinol (Oxf)**, v.78, n.3, p.330-7, Mar 2013. Disponível: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23121123> >.
- 46 CORONA, G. et al. Obesity and late-onset hypogonadism. **Mol Cell Endocrinol**, v. 418 Pt 2, p. 120-33, Dec 2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26143633> >.
- 47 RASTRELLI, G. et al. Metabolic Syndrome in Male Hypogonadism. **Front Horm Res**, v. 49, p. 131-155, 2018. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29895018> >.
- 48 SERMONDADE, N. et al. BMI in relation to sperm count: an updated systematic review and collaborative meta-analysis. **Hum Reprod Update**, v. 19, n. 3, p. 221-31, May-Jun 2013.. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23242914> >.
- 49 BAKOS, H. W. et al. Paternal body mass index is associated with decreased blastocyst development and reduced live birth rates following assisted reproductive technology. **Fertil Steril**, v. 95, n. 5, p. 1700-4, Apr 2011. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21145051> >.
- 50 SCHLIEP, K. C. et al. Effect of male and female body mass index on pregnancy and live birth success after in vitro fertilization. **Fertil Steril**, v. 103, n. 2, p. 388-95, Feb 2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25497445> >.
- 51 CAMPBELL, J.M. et al. Paternal obesity negatively affects male fertility and assisted reproduction outcomes: a systematic review and meta-analysis. **Reprod Biomed Online**, v. 31,n.,p.593-604, Nov 2015. Disponível: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26380863> >.
- 52 HAMMOUD, A. O. et al. Male obesity and alteration in sperm parameters. **Fertil Steril**, v. 90, n. 6, p. 2222-5, Dec 2008. Disponível: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18178190> >.
- 53 DU PLESSIS,S. et al. The effect of obesity on sperm disorders and male infertility. **Nat Rev Urol**,n.3,p.153-61,Mar2010.Disponível:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20157305> >.
- 54 BAKOS, H. W. et al. The effect of paternal diet-induced obesity on sperm function and fertilization in a mouse model. **Int J Androl**, v. 34, n. 5 Pt 1, p. 402-10, Oct 2011. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20649934> >.
- 55 LOSANO, J. D. A. et al. Spermatid mitochondria: role in oxidative homeostasis, sperm function and possible tools for their assessment. **Zygote**, v. 26, n. 4, p. 251-260, Aug 2018. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30223916> >.
- 56 AITKEN, R. J. Oxidative stress and the etiology of male infertility. **J Assist Reprod Genet**, n. 12, p. 1691-1692, Dec 2016. Disponível:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27544275> >.

- 57 AITKEN, R. J. et al. Relative impact of oxidative stress on the functional competence and genomic integrity of human spermatozoa. **Biol Reprod**, v. 59, n. 5, p. 1037-46, Nov 1998. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9780307> >.
- 58 _____. Oxidative stress and male reproductive health. **Asian J Androl**, v. 16, n. 1, p. 31-8, 2014 Jan-Feb 2014. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24369131> >.
- 59 OLIVEIRA, P. F. et al. Obesity, energy balance and spermatogenesis. **Reproduction**, v. 153, n. 6, p. R173-R185, Jun 2017. Disponível: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28283671> >.
- 60 GAVRILIOUK, D.; AITKEN, R. J. Damage to Sperm DNA Mediated by Reactive Oxygen Species: Its Impact on Human Reproduction and the Health Trajectory of Offspring. **Adv Exp Med Biol**, v. 868, p. 23-47, 2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26178844> >.
- 61 POLI, G. et al. 4-hydroxynonenal: a membrane lipid oxidation product of medicinal interest. **Med Res Rev**, v. 28, n. 4, p.569-631, Jul 2008. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18058921> >.
- 62 VALAVANIDIS, A.; VLACHOGIANNI, T.; FIOTAKIS, C. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): A critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. **J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev**, v. 27, n. 2, p. 120-39, Apr 2009. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19412858> >.
- 63 GRUNE, T.; DAVIES, K. J. The proteasomal system and HNE-modified proteins. **Mol Aspects Med**, v. 24, n. 4-5, p. 195-204, 2003 Aug-Oct 2003. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12892997> >.
- 64 NIXON, B. et al. The role of the molecular chaperone heat shock protein A2 (HSPA2) in regulating human sperm-egg recognition. **Asian J Androl**, v. 17, n. 4, p. 568-73, 2015 Jul-Aug 2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25865850> >.
- 65 BROMFIELD, E. G. et al. Proteolytic degradation of heat shock protein A2 occurs in response to oxidative stress in male germ cells of the mouse. **Mol Hum Reprod**, v. 23, n. 2, p. 91-105, 02 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27932549> >.
- 66 KREUZ, S.; FISCHLE, W. Oxidative stress signaling to chromatin in health and disease. **Epigenomics**, v. 8, n. 6, p. 843-62, 06 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27319358> >.
- 67 AITKEN, R. J. DNA damage in human spermatozoa; important contributor to mutagenesis in the offspring. **Transl Androl Urol**, v. 6, n. Suppl 4, p. S761-S764, Sep 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29082208> >.

- 68 COOPER, T. G. et al. World Health Organization reference values for human semen characteristics. **Hum Reprod Update**, v. 16, n. 3, p. 231-45, 2010 May-Jun 2010. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19934213> >.
- 69 MURRAY, K. S. et al. The effect of the new 2010 World Health Organization criteria for semen analyses on male infertility. **Fertil Steril**, v. 98, n. 6, p. 1428-31, Dec 2012. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22921910> >.
- 70 GUZICK, D. S. et al. Sperm morphology, motility, and concentration in fertile and infertile men. **N Engl J Med**, v. 345, n. 19, p. 1388-93, Nov 2001. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11794171> >.
- 71 ESTEVES, S et al. Critical appraisal of World Health Organization's new reference values for human semen characteristics and effect on diagnosis and treatment of subfertile men. **Urology**, n1,p16-22,Jan2012.Disponível:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22070891>>.
- 72 AGARWAL, A.; SALEH, R. A.; BEDAIWY, M. A. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. **Fertil Steril**, v. 79, n. 4, p. 829-43, Apr 2003. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12749418> >.
- 73 PATEL, A. S.; LEONG, J. Y.; RAMASAMY, R. Prediction of male infertility by the World Health Organization laboratory manual for assessment of semen analysis: A systematic review. **Arab J Urol**, v. 16, n. 1, p. 96-102, Mar 2018. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29713540> >.
- 74 CHO, C. L.; AGARWAL, A. Role of sperm DNA fragmentation in male factor infertility: A systematic review. **Arab J Urol**, v. 16, n. 1, p. 21-34, Mar 2018. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29713533> >.
- 75 CISEN, M. et al. Measuring Sperm DNA Fragmentation and Clinical Outcomes of Medically Assisted Reproduction: A Systematic Review and Meta-Analysis. **PLoS One**, v. 11, n. 11, p. e0165125, 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27832085> >.
- 76 AGARWAL, A.; CHO, C. L.; ESTEVES, S. C. Should we evaluate and treat sperm DNA fragmentation? **Curr Opin Obstet Gynecol**, v. 28, n. 3, p. 164-71, Jun 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27054510> >.
- 77 ZHANG, Y. S. et al. [Influence of the reference values for semen analysis proposed in the 5th edition of WHO laboratory manual on the indication spectrum for intrauterine insemination]. **Zhonghua Nan Ke Xue**, v. 20, n. 3, p. 253-6, Mar 2014. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24738464> >.
- 78 WRIGHT, C.; MILNE, S.; LEESON, H. Sperm DNA damage caused by oxidative stress: modifiable clinical, lifestyle and nutritional factors in male infertility. **Reprod Biomed Online**, v. 28, n. 6, p. 684-703, Jun 2014. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24745838> >.

- 79 BISHT, S. et al. Oxidative stress and male infertility. **Nat Rev Urol**, v. 14, n. 8, p. 470-485, Aug 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28508879> >.
- 80 MAHFOUZ, R. et al. Semen characteristics and sperm DNA fragmentation in infertile men with low and high levels of seminal reactive oxygen species. **Fertil Steril**, v. 94, n. 6, p. 2141-6, Nov 2010. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20117780> >.
- 81 ZHANG, Z. et al. Sperm DNA fragmentation index and pregnancy outcome after IVF or ICSI: a meta-analysis. **J Assist Reprod Genet**, v. 32, n. 1, p. 17-26, Jan 2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25392073> >.
- 82 YOUNGSON, N. A.; WHITELAW, E. The effects of acquired paternal obesity on the next generation. **Asian J Androl**, v. 13, n. 2, p. 195-6, Mar 2011. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21186371> >.
- 83 LANE, M. et al. Oxidative stress in mouse sperm impairs embryo development, fetal growth and alters adiposity and glucose regulation in female offspring. **PLoS One**, v. 9, n. 7, p. e100832, 2014. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25006800> >.
- 84 SOUBRY, A. et al. Paternal obesity is associated with IGF2 hypomethylation in newborns: results from a Newborn Epigenetics Study (NEST) cohort. **BMC Med**, v. 11, p. 29, Feb 2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23388414> >.
- 85 DONKIN, I.; BARRÈS, R. Sperm epigenetics and influence of environmental factors. **Mol Metab**, Feb 2018. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29525406> >.
- 86 SOUBRY, A. et al. A paternal environmental legacy: evidence for epigenetic inheritance through the male germ line. **Bioessays**, v. 36, n. 4, p. 359-71, Apr 2014. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24431278> >.
- 87 EBERLE, C. et al. Paternal metabolic and cardiovascular programming of their offspring: A systematic scoping review. **PLoS One**, v. 15, n. 12, p. e0244826, 2020. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33382823> >.
- 88 NG, S. F. et al. Chronic high-fat diet in fathers programs β -cell dysfunction in female rat offspring. **Nature**, v. 467, n. 7318, p. 963-6, Oct 2010. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20962845> >.
- 89 FONTELLES, C. C. et al. Paternal overweight is associated with increased breast cancer risk in daughters in a mouse model. **Sci Rep**, v. 6, p. 28602, 06 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27339599> >.
- 90 KANMIKI, E. W.; FATIMA, Y.; MAMUN, A. A. Multigenerational transmission of obesity: A systematic review and meta-analysis. **Obes Rev**, v. 23, n. 3, p. e13405, Mar 2022. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34970828> >.

- 91 CAMACHO, E. M. et al. Age-associated changes in hypothalamic-pituitary-testicular function in middle-aged and older men are modified by weight change and lifestyle factors: longitudinal results from the European Male Ageing Study. **Eur J Endocrinol**, v. 168, n. 3, p. 445-55, Mar 2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23425925> >.
- 92 CORONA, G. et al. Body weight loss reverts obesity-associated hypogonadotropic hypogonadism: a systematic review and meta-analysis. **Eur J Endocrinol**, v. 168, n. 6, p. 829-43, Jun 2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23482592> >.
- 93 MAGKOS, F. et al. Effects of Moderate and Subsequent Progressive Weight Loss on Metabolic Function and Adipose Tissue Biology in Humans with Obesity. **Cell Metab**, v. 23, n. 4, p. 591-601, Apr 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26916363> >.
- 94 DI VINCENZO, A. et al. Obesity, Male Reproductive Function and Bariatric Surgery. **Front Endocrinol (Lausanne)**, v. 9, p. 769, 2018. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30619096> >.
- 95 WEI, Y.; CHEN, Q.; QIAN, W. Effect of Bariatric Surgery on Semen Parameters: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Med Sci Monit Basic Res**, v. 24, p. 188-197, Nov 2018. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30416195> >.
- 96 EL BARDISI, H. et al. Effect of bariatric surgery on semen parameters and sex hormone concentrations: a prospective study. **Reprod Biomed Online**, v. 33, n. 5, p. 606-611, Nov 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27569703> >.
- 97 REIS, L. O. et al. Bariatric surgery does not interfere with sperm quality--a preliminary long-term study. **Reprod Sci**, v. 19, n. 10, p. 1057-62, Oct 2012. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22534335> >.
- 98 LAZAROS, L. et al. Dramatic reduction in sperm parameters following bariatric surgery: report of two cases. **Andrologia**, v. 44, n. 6, p. 428-32, Dec 2012. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22540334> >.
- 99 REIS, L. O.; DIAS, F. G. Male fertility, obesity, and bariatric surgery. **Reprod Sci**, v. 19, n. 8, p. 778-85, Aug 2012. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22534334> >.
- 100 DI FREGA, A. S. et al. Secondary male factor infertility after Roux-en-Y gastric bypass for morbid obesity: case report. **Hum Reprod**, v. 20, n. 4, p. 997-8, Apr 2005. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15618249> >.
- 101 CARETTE, C. et al. Changes in total sperm count after gastric bypass and sleeve gastrectomy: the BARIASPERM prospective study. **Surg Obes Relat Dis**, v. 15, n. 8, p. 1271-1279, Aug 2019. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31147284> >.

- 102 GUPTA, L. et al. Ketogenic diet in endocrine disorders: Current perspectives. **J Postgrad Med**, v. 63, n. 4, p. 242-251, 2017 Oct-Dec 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29022562> >.
- 103 CAPRIO, M. et al. Very-low-calorie ketogenic diet (VLCKD) in the management of metabolic diseases: systematic review and consensus statement from the Italian Society of Endocrinology (SIE). **J Endocrinol Invest**, v. 42, n. 11, p. 1365-1386, Nov 2019. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31111407> >.
- 104 MUSCOGIURI, G. et al. The management of very low-calorie ketogenic diet in obesity outpatient clinic: a practical guide. **J Transl Med**, v. 17, n. 1, p. 356, Oct 2019. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31665015> >.
- 105 YANNAKOULIA, M. et al. Dietary modifications for weight loss and weight loss maintenance. **Metabolism**, v. 92, p. 153-162, Mar 2019. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30625301> >.
- 106 WYCHERLEY, T. P. et al. Effects of energy-restricted high-protein, low-fat compared with standard-protein, low-fat diets: a meta-analysis of randomized controlled trials. **Am J Clin Nutr**, v. 96, n. 6, p. 1281-98, Dec 2012. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23097268> >.
- 107 AL AAMRI, K. S. et al. The effect of low-carbohydrate ketogenic diet in the management of obesity compared with low caloric, low-fat diet. **Clin Nutr ESPEN**, v. 49, p. 522-528, Jun 2022. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35623861> >.
- 108 PAOLI, A. et al. Beyond weight loss: a review of the therapeutic uses of very-low-carbohydrate (ketogenic) diets. **Eur J Clin Nutr**, v. 67, n. 8, p. 789-96, Aug 2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23801097> >.
- 109 GENTILE, C. L.; WEIR, T. L. The gut microbiota at the intersection of diet and human health. **Science**, v. 362, n. 6416, p. 776-780, Nov 2018. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30442802> >.
- 110 PAOLI, A. et al. Ketogenic Diet and Microbiota: Friends or Enemies? **Genes (Basel)**, v. 10, n. 7, 07 2019. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31311141> >.
- 111 KIM, D. Y.; VALLEJO, J.; RHO, J. M. Ketones prevent synaptic dysfunction induced by mitochondrial respiratory complex inhibitors. **J Neurochem**, v. 114, n. 1, p. 130-41, Jul 2010. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20374433> >.
- 112 SRIVASTAVA, S. et al. Mitochondrial biogenesis and increased uncoupling protein 1 in brown adipose tissue of mice fed a ketone ester diet. **FASEB J**, v. 26, n. 6, p. 2351-62, Jun 2012. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22362892> >.

- 113 SHIMAZU, T. et al. Suppression of oxidative stress by beta-hydroxybutyrate, an endogenous histone deacetylase inhibitor. **Science**, v. 339, n. 6116, p. 211-4, Jan 11 2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23223453> >.
- 114 NEWMAN, J. C.; VERDIN, E. Ketone bodies as signaling metabolites. **Trends Endocrinol Metab**, v. 25, n. 1, p. 42-52, Jan 2014. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24140022> >.
- 115 SANSONE, M. et al. Effects of Ketone Bodies on Endurance Exercise. **Curr Sports Med Rep**, v. 17, n. 12, p. 444-453, Dec 2018. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30531462> >.
- 116 NEWMAN, J. C.; VERDIN, E. beta-Hydroxybutyrate: A Signaling Metabolite. **Annu Rev Nutr**, v. 37, p. 51-76, Aug 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28826372> >.
- 117 _____. β -hydroxybutyrate: much more than a metabolite. **Diabetes Res Clin Pract**, v. 106, n. 2, p. 173-81, Nov 2014. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25193333> >.
- 118 KULAK, D.; POLOTSKY, A. J. Should the ketogenic diet be considered for enhancing fertility? **Maturitas**, v. 74, n. 1, p. 10-3, Jan 2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23122539> >.
- 119 ELAMIN, M. et al. Ketogenic Diet Modulates NAD. **Front Cell Neurosci**, v. 12, p. 263, 2018. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30214397> >.
- 120 ZIEGLER, D. R. et al. Ketogenic diet increases glutathione peroxidase activity in rat hippocampus. **Neurochem Res**, v. 28, n. 12, p. 1793-7, Dec 2003. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14649719> >.
- 121 GRECO, T. et al. Ketogenic diet decreases oxidative stress and improves mitochondrial respiratory complex activity. **J Cereb Blood Flow Metab**, v. 36, n. 9, p. 1603-13, 09 2016.. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26661201> >.
- 122 SHAI, I. et al. Weight loss with a low-carbohydrate, Mediterranean, or low-fat diet. **N Engl J Med**, 3, 229-41, Jul 08. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18635428> >.
- 123 LUNDGREN, J. R. et al. Healthy Weight Loss Maintenance with Exercise, Liraglutide, or Both Combined. **N Engl J Med**, v. 384, n. 18, p. 1719-1730, May 2021. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33951361> >.
- 124 AL QURASHI, A. A. et al. The effects of bariatric surgery on male and female fertility: A systematic review and meta-analysis. **Ann Med Surg (Lond)**, v. 80, p. 103881, Aug 2022. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/36045779> >.

- 125 GOMEZ-ARBELAEZ, D. et al. Body Composition Changes After Very-Low-Calorie Ketogenic Diet in Obesity Evaluated by 3 Standardized Methods. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 102, n. 2, p. 488-498, 02 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27754807> >.
- 126 MORENO, B. et al. Comparison of a very low-calorie-ketogenic diet with a standard low-calorie diet in the treatment of obesity. **Endocrine**, v. 47, n. 3, p. 793-805, Dec 2014. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24584583> >.
- 127 ALMEIDA, R. T. et al. Association between body adiposity index and coronary risk in the Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil). **Clin Nutr**, v. 39, n. 5, p. 1423-1431, May 2020. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31280886> >.
- 128 BOONCHAYA-ANANT, P. et al. Changes in Testosterone Levels and Sex Hormone-Binding Globulin Levels in Extremely Obese Men after Bariatric Surgery. **Int J Endocrinol**, v. 2016, p. 1416503, 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27725831> >.
- 129 BHASIN, S. et al. Sex hormone-binding globulin, but not testosterone, is associated prospectively and independently with incident metabolic syndrome in men: the framingham heart study. **Diabetes Care**, v. 34, n. 11, p. 2464-70, Nov 2011. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21926281> >.
- 130 ARIAS-SANTIAGO, S. et al. Sex hormone-binding globulin and risk of hyperglycemia in patients with androgenetic alopecia. **J Am Acad Dermatol**, v. 65, n. 1, p. 48-53, Jul 2011. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21511365> >.
- 131 BRAND, J. S. et al. Testosterone, sex hormone-binding globulin and the metabolic syndrome in men: an individual participant data meta-analysis of observational studies. **PLoS One**, v. 9, n. 7, p. e100409, 2014. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25019163> >.
- 132 DHINDSA, S. et al. Oestradiol concentrations are not elevated in obesity-associated hypogonadotropic hypogonadism. **Clin Endocrinol (Oxf)**, v. 80, n. 3, p. 464, Mar 2014. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23647503> >.
- 133 BIOBAKU, F. et al. Bariatric Surgery: Remission of Inflammation, Cardiometabolic Benefits, and Common Adverse Effects. **J Endocr Soc**, v. 4, n. 9, p. bvaa049, Sep 2020. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32775937> >.
- 134 JANKORD, R.; JEMIOLO, B. Influence of physical activity on serum IL-6 and IL-10 levels in healthy older men. **Med Sci Sports Exerc**, v. 36, n. 6, p. 960-4, Jun 2004. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15179165> >.
- 135 HASAN-OLIVE, M. M. et al. A Ketogenic Diet Improves Mitochondrial Biogenesis and Bioenergetics via the PGC1 α -SIRT3-UCP2 Axis. **Neurochem Res**, v. 44, n. 1, p. 22-37, Jan 2019. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30027365> >.

- 136 TUMOVA, E. et al. The impact of rapid weight loss on oxidative stress markers and the expression of the metabolic syndrome in obese individuals. **J Obes**, v. 2013, p. 729515, 2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24455214> >.
- 137 HUE, O. et al. Increased plasma levels of toxic pollutants accompanying weight loss induced by hypocaloric diet or by bariatric surgery. **Obes Surg**, v. 16, n. 9, p. 1145-54, Sep 2006. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16989697> >.
- 138 KIM, M. J. et al. Fate and complex pathogenic effects of dioxins and polychlorinated biphenyls in obese subjects before and after drastic weight loss. **Environ Health Perspect**, v. 119, n. 3, p. 377-83, Mar 2011. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21156398> >.
- 139 TUFVESSON, K.; CATALINI, L.; FEDDER, J. Semen parameters after SARS-CoV-2 infection: A literature review. **Health Sci Rep**, v. 5, n. 5, p. e745, Sep 2022. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35957971> >.
- 140 WOOD, G. J. A. et al. Bariatric Surgery Impact on Reproductive Hormones, Semen Analysis, and Sperm DNA Fragmentation in Men with Severe Obesity: Prospective Study. **Obes Surg**, Jul 2020. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32700180> >.
- 141 DONKIN, I. et al. Obesity and Bariatric Surgery Drive Epigenetic Variation of Spermatozoa in Humans. **Cell Metab**, v. 23, n. 2, p. 369-78, Feb 9 2016.
- 142 LEE, Y. et al. Impact of Bariatric Surgery on Male Sex Hormones and Sperm Quality: a Systematic Review and Meta-Analysis. **Obes Surg**, v. 29, n. 1, p. 334-346, Jan 2019. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30382463> >.
- 143 SAMAVAT, J. et al. Massive Weight Loss Obtained by Bariatric Surgery Affects Semen Quality in Morbid Male Obesity: a Preliminary Prospective Double-Armed Study. **Obes Surg**, v. 28, n. 1, p. 69-76, Jan 2018. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28702741> >.
- 144 LEGRO, R. S. et al. Time-related increase in urinary testosterone levels and stable semen analysis parameters after bariatric surgery in men. **Reprod Biomed Online**, v. 30, n. 2, p. 150-6, Feb 2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25498592> >.
- 145 FARIELLO, R. M. et al. Analysis of the Functional Aspects of Sperm and Testicular Oxidative Stress in Individuals Undergoing Metabolic Surgery. **Obes Surg**, v. 31, n. 7, p. 2887-2895, Jul 2021. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33768432> >.
- 146 MIÑAMBRES, I. et al. Obesity Surgery Improves Hypogonadism and Sexual Function in Men without Effects in Sperm Quality. **J Clin Med**, v. 11, n. 17, Aug 31 2022. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/36079056> >.

- 147 GAO, Z. et al. Bariatric Surgery Does Not Improve Semen Quality: Evidence from a Meta-analysis. **Obes Surg**, v. 32, n. 4, p. 1341-1350, Apr 2022. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35143010> >.
- 148 SABETI, P. et al. Etiologies of sperm oxidative stress. **Int J Reprod Biomed (Yazd)**, v. 14, n. 4, p. 231-40, Apr 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27351024> >.
- 149 SALAS-HUETOS, A. et al. Male adiposity, sperm parameters and reproductive hormones: An updated systematic review and collaborative meta-analysis. **Obes Rev**, v. 22, n. 1, p. e13082, Jan 2021. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32705766> >.
- 150 MAGALHAES, D. P.; MAHALINGAIAH, S.; PERRY, M. J. Exploring the causes of semen quality changes post-bariatric surgery: a focus on endocrine-disrupting chemicals. **Hum Reprod**, v. 37, n. 5, p.902-921, May 2022. Disponível: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35355065> >.
- 151 CASTELLANO-CASTILLO, D. et al. Effects of SHBG rs1799941 Polymorphism on Free Testosterone Levels and Hypogonadism Risk in Young Non-Diabetic Obese Males. **J Clin Med**, v. 8, n. 8, Jul 31 2019. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31370189> >.
- 152 AKKALIYEV, M. et al. Effect of SHBG Polymorphism on the Levels of Bioavailable Testosterone and Lipid Metabolism in Older Men of the Kazakh Population. **Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences**, v. 10, n. A, p. 1315-1320, 07/22 2022. Disponível em: < <https://oamjms.eu/index.php/mjms/article/view/8145> >. Acesso em: 2022/12/04.
- 153 CUI, Y. R. et al. Correlation between SHBG gene polymorphism and male infertility in Han population of Henan province of China: A STROBE-compliant article. **Medicine (Baltimore)**, v. 96, n. 32, p. e7753, Aug 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28796064> >.

APENDICES

APÊNDICE A – Características clínicas e antropométricas dos pacientes nos diferentes tempos do estudo.

ID	Idade (anos)	Altura (cm)	Peso* (g)	Tempo (dias)	Peso (kg)	IMC	Circ. Umbil	Circ. Quadril	RCQ	MME	Gord. Corporal	Gord. Visceral
1	32	180	3600	basal	123,9	38,2	124	127	0,97	46,1	35,5	186,3
1				30	110,4	34,1	118	122	0,93	45	29,2	148,3
1				60	106,4	32,8	114	116,5	0,92	44,2	27,4	132,6
1				90	100,2	30,9			0,9	43,1	25,4	131,6
1				180	102,3	31,6	109	114,5	0,91	44,6	24,5	121,3
2	32	173	3800	basal	127,8	42,7	135,5	125,5	1,02	43,1	41,9	240,2
2				30	117,4	38,1			1	42,2	38,1	214,3
2				60	106,9	35,7	126,5	118,5	0,97	39,8	35,3	188,2
2				90	101,4	33,8			0,95	39	33,1	166,7
2				180	101,8	34	117	114	0,94	31,7	29,2	156
3	42	180	2700	basal	102,6	31,7	122	120	0,94	39	32,6	160,4
3				30	91,9	28			0,92	36,5	29,6	142,1
3				60	85,2	26,3	104,5	108	0,9	35,5	25,8	121
3				90	79,9	24,6			0,88	34,7	22,2	99,8
3				180	78,3	24,2	88	105	0,87	35,4	19,6	97,3
4	35	182	5000	basal	147,1	44,4	146	140	1,07	41,2	50,9	294,2
4				30	136,2	41,1	134	136	1,03	40,1	48,1	249,5
4				60	125,7	38	122	130	0,99	39,2	44,7	228,3
4				90	120	36,2	119,5	127	0,97	39,3	41,7	204,4
4				180	106	32	109	121	0,94	38,7	34,8	160,3
5	44	180	3200	basal	110	34,1	115	120	0,98	36,6	41	191,6
5				30	97	30,1			0,95	35,3	35,5	151,5
5				60	90,7	28			0,93	34,5	31,7	134,5
5				90	86	26,5	100		0,98	33,8	29,3	121,5
5				180	85,3	26,3	100	110,5	0,9	34,8	27,2	121,9
6	40	175	4750	basal	115,3	37,6	117	117	0,98	44,6	33	161,1
6				30	106,6	34,8	114,5	116				
6				60	103,2	33,7	110,5	115,5	0,94	44,6	24,6	110,1
6				90								
6				180	98	32	109,5	113,5				
7	48	175	2900	basal	149,1	48,7	146	142,5	1,09	41,6	50,2	274,1
7				30	134,3	43,9			1,09	38,5	48,8	253,3
7				60	127,5	41,6	129,5	132	1,04	38,2	46	215,4
7				90	119	38,9			1,02	38	42,5	199,7
7				180	114,3	37,3	115	125	1,04	38	39,9	178,2
8	44	176	3900	basal	129,7	41,9	137	132	1,04	40,6	45,2	241,1
8				30	123	39,7	121	124				
8				60	112,6	36,3	116		0,99	39,2	38,7	184,6
8				90	110,2	35,6	113	119	0,98	40,8	34,9	168,7
8				180	120	38,5	118	117	1	45,8	34,3	

IMC: índice de massa corpórea; Circ: circunferência; RCQ: relação cintura e quadril; MME: massa muscular esquelética; Gord: gordura.

APÊNDICE A – Continuação.

ID	Idade (anos)	Altura (cm)	Peso* (g)	Tempo (dias)	Peso (kg)	IMC	Circ. Umbil	Circ. Quadril	RCQ	MME	Gord. Corporal	Gord. Visceral
9	40	188	3150	basal	119,5	33,8	124	116,7	0,96	39,4	40,9	208,1
9				30	108,8	30,8			0,93	37,6	37,8	180,4
9				60	101,6	28,8	110,5	109,5	0,92	36,9	34,6	156,7
9				90								
9				180	100,5	28,2				38,2	31,8	155,3
10	36	168	3120	basal	94,9	33,6	113	116	0,98	32,7	39,3	156,6
10				30	87,6	31	116	116	0,97	31,3	36,9	140,7
10				60	81,2	29,5	97,7	110,5	0,95	29,5	35,3	122,8
10				90	75,4	26,7	89	107	0,93	29,2	30,8	103,9
10				180	78	27,6	86	103,5	0,88	29,6	25,5	72
11	41	176	3700	basal	104,7	33,8	122	120	0,97	39,4	34,9	186,7
11				30	91,7	29,6	111	110	0,93	36,2	31,1	151,8
11				60	87,3	28,2			0,93	36,8	25,9	
11				90			101	103				
11				180	89	28,7			0,95	38,3	25,2	94,9
12	33	185	3190	basal	148,2	43,3	139	136	1,01	45,6	46,1	267,9
12				30	136,1	39,8	133	133,5	0,99	42,3	45	231
12				60	122,1	35,7	125,5	126		40,3	41,2	185,5
12				90			125	126				
12				180	99	28,9	104	112,5	0,99	37,9	32	137,4
13	29	185	3200	basal	134,6	39,3	129,5	131	0,97	45,1	40,8	214,6
13				30								
13				60					1,06	41	34	163,9
13				90								
13				180	112,4	32,8	114	121	1,06	42,1	33,4	166,8
14	39	188	3200	basal	133,3	37,7	124	126	0,96	48,1	36,2	202,3
14				30	119,7	33,9	118	126	1	45,3	32,8	162,3
14				60	110,4	31,2	107	119,7	0,91	46	26,1	
14				90	102,3	28,9			0,87	44,8	22,1	101,1
14				180	94,9	26,9	98,5	106,5	0,88	43,6	18,5	83,4
15	24	181	3950	basal	165,8	50,6	140	136	1,06	44	52,8	318,4
15				30	159,7	48,7	118	126	1,16	43,5	52,2	231,8
15				60								
15				90		42,9			1,16	39	50,6	225,3
15				180	118,7	36,2	114	121	1,08	37,7	43,3	190,6
16	29	186	4900	basal	151,3	43,7	140	137	1,15	47,5	45,5	277,8
16				30	140,5	40,6						
16				60	127,5	36,9			1,09	46,7	36,9	
16				90	122,4	35,4			0,99	45,4	35,3	
16				180	120,3	34,8	116,5	122	1,05	44,3	35,4	172,8

IMC: índice de massa corpórea; Circ: circunferência; RCQ: relação cintura e quadril; MME: massa muscular esquelética; Gord: gordura.

APÊNDICE B – Dados bioquímicos dos pacientes nos diferentes tempos do estudo.

ID	Tempo (dias)	Glicemia (mg/dL)	Insulina (μ U/mL)	HOMA	Triglic. (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	HBA1C (%)	AST (U/L)	ALT (U/L)	GGT (U/L)	Ferritina (μ g/L)
1	basal	98	29,3	7,1	280	39	152	5,7	39	22	36	228
1	30	79	6	1,2	138	29	102		25	37		
1	60	88	8,4	1,8	123	33	145	5,1	19	40		147
1	90	85	13	2,7	113	32	104	5,1	13	17	13	173
1	180	84	19,7	4,1	110	45		4,8	17	16	16	157
2	basal	106	44,3	11,6	286	34	126	5,9	70	36	105	829
2	30	84			187	27	128		30	62		
2	60	92	13,1	3	209	22	131	4,8	20	33	34	519
2	90	97	12,1	2,9	157	32	126	5,1	42	21	36	
2	180	80	22,4	4,4	177	43	144	4,9	19	26	47	392
3	basal	86	22,1	4,7	260	43	163	5,6	49	26	30	167
3	30	80	5	1	113	26	93	5,6	17	16	13	291
3	60	78	3,9	0,7	98	43	101	5,3	18	16	10	288
3	90	89	6	1,3	98	47	139	5,1	14	16		
3	180	87	8,5	1,8	86	52	161	5,3	17	16	11	218
4	basal	98	36	8,7	378	34	110	5,4	36	25		120
4	30	85	20	4,2	123	28	84	4,8	27	40	35	145
4	60	74	11,6	2,1	115	28	79	4,9	22	29	29	89
4	90	81	12	2,4	91	31	81	4,9	23	27		68
4	180	86	11,7	2,5	210	36	81	5,1	14	20	50	90
5	basal	104	17	4,4	240	42	200	5,7	42	59	131	370
5	30	80	5,4	1,1	86	33	84	5,2	21	25	18	348
5	60	93	4,3	1	66	33	97	5,1	20	24	17	307
5	90	83	4,6	0,9	68	38	120	5,4	17	26		
5	180	99	6,5	1,6	64	50	140	5,1	19	27	34	257
6	basal	101	26,6	6,6	171	42	142	5,4	32	67	28	821
6	30	88	13	2,8	87	37	108	5,5	15	22		534
6	60	80	14,6	2,9	73	37	106	5	13	16	11	504
6	90											
6	180	91	69,4	15,6	98	54	119	4,9	33	29	18	613
7	basal	78	21,9	4,2	135	32	91	5,4	33	45	18	129
7	30	81	10,9	2,2	64	32	55	5	35	49	11	
7	60	82	13,1	2,6	42	36	51	4,9	23	24	10	61
7	90	64	9,9	1,6	72	38	72	4,8	41	37		69
7	180	88	7,7	1,7	58	43	65		22	16	8	63
8	basal	84	19,4	4	228	54	106	6,1	22	26	73	423
8	30	92	12	2,7	92	36	105	5,5	21	42	24	
8	60	82	6,9	1,4	70	41	101	5,3	16	28		
8	90	92	11,2	2,5	98	40	90	5,2	14	16		394
8	180	88	30,9	6,7	105	58	88	5,2	17	16	32	

Triglic: triglicerídeos; HDL/LDL: lipoproteína de alta/baixa densidade; AST: aspartato aminotransferase; ALT: alanina aminotransferase; GGT: gama glutamil transferase; HBA1C: hemoglobina glicada.

APÊNDICE B – Continuação.

ID	Tempo (dias)	Glicemia (mg/dL)	Insulina (μ U/mL)	HOMA	Triglic. (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	HBA1C (%)	AST (U/L)	ALT (U/L)	GGT (U/L)	Ferritina (μ g/L)
9	basal	90	18	4	162	31	126	5,5	18	23	44	499
9	30	89			91	30	106	5,1	12	12	14	
9	60	91	16	3,6	115	36	101	5	12	18	15	465
9	90											
9	180	94	30,9	7,2	114	42	104	5,4	19	19	15	321
10	basal	99	43,6	10,6	112	50	130	5,9	67	172	46	657
10	30	80	11,4	2,3	99	38	83	5,2	52	107	24	
10	60	88	18,8	2,5	95	42	97	5,1	26	42	19	
10	90	76			88	42	103	4,9	18	23		
10	180	93	21,2	4,8	64	49	86	5	15	18	12	185
11	basal	101	49,9	12,4	146	40	134	5,7	35	79	36	345
11	30	73	5,8	1	56	46	95	4,8				
11	60	90	17,4	3,9	78	52	155	4,8	23	49	30	
11	90	88	6,8	1,5	57	52	134	5	23	29	28	223
11	180	85	8,9	1,9	110	49	133	5,1	26	25	22	
12	basal	87	64,1	13,7	231	35	145	5,7	47	98	114	1247
12	30	90	12,8	2,8	90	34	101	5,1	140	159	56	
12	60	84	14	2,9	104	36	125	5	31	64	67	858
12	90								60	96	72	
12	180	98	8,9	2,2	58	42	148	5,2	20	47	41	773
13	basal	83	15,3	3,2	113	40	127	5,2	23	43	36	321
13	30	89	15,7	3,5	101	30	69		66	85	106	1054
13	60	80	10,3		85	36	117	5	12	23	20	310
13	90											
13	180	91	11,7	2,6	113	39	130	5,2	19	37	28	284
14	basal	115	9	2,5	77	46	112	6,2	13	12	18	165
14	30	83	6	1,2	75	35	51	5,7	16	13	9	357
14	60	94	25,1	5,8	91	39	65	5,1	14	11	7	332
14	90	108	8	2,1	59	45	80	5,5	14	13	8	221
14	180	84	5,2	1,1	61	56	81	5,4	11	10	10	198
15	basal	87	32,8	7	148	39	106	5,2	17	34	42	
15	30											
15	60	85	12,9	2,7	143	28	67	5	18	29	33	
15	90	77	16,9	3,2	149	27	77	5,2	21	40	41	209
15	180	74	5,4	1	94	34	70	5,1	35	16	26	
16	basal	89	48,8	10,7	161	42	119	5	38	60	139	407
16	30	80	10,2	2	91	30	68		35	43	68	
16	60											
16	90	85	15	3,1	93	34	88	5,2	29	39	47	354
16	180	83	17,7	3,6	68	48	82	5	30	46	55	265

Triglic: triglicerídeos; HDL/LDL: lipoproteína de alta/baixa densidade; AST: aspartato aminotransferase; ALT: alanina aminotransferase; GGT: gama glutamil transferase; HBA1C: hemoglobina glicada.

APÊNDICE C – Parâmetros testiculares e hormonais dos pacientes nos diferentes tempos do estudo.

ID	Tempo (dias)	Volume_TD (cm3)	Volume_TE (cm3)	TT (ng/dL)	TL (pmol/L)	TT/E2	SHBG (nmol/L)	E2 (pg/mL)
1	basal	20,1	18,1	195	201	8	12,4	23,9
1	30			349		11	28	33
1	60			221	180	7	22,7	30,6
1	90			286			28	
1	180			333	285	9	22,1	35,9
2	basal	13,9	13,9	350	225	10	37,6	34,7
2	30			623	366	16	48,8	39,3
2	60			630	367	19	49,5	33,3
2	90			388	218	15	46,8	25,4
2	180			614	388	20	43,8	30,7
3	basal	23,4	23	286	243	7	21,8	38,9
3	30			374	218,2	12	44	30
3	60			314	173	10	46,6	30,4
3	90			502	283	14	49	37
3	180			414	279	24	36	17
4	basal	15,3	11	136	131	5	14,4	25,7
4	30			285	235,7	12	23	24
4	60			186	138	7	26,8	25,2
4	90			288	214	17	28,3	17
4	180			291	216	11	28,5	26,9
5	basal	22	8,3	141		8	9	17
5	30			307	229	14	28,4	21,2
5	60			322	264	18	24	17,5
5	90			315	235	19	28,6	17
5	180			289	269	16	17,7	18,6
6	basal	25,8	29,5	420	313	15	30,4	27,4
6	30			420	293,6	14	34	31
6	60			502	325		40	
6	90							
6	180			392	309	15	27	26,3
7	basal	20,1	19,6	464	272	9	45,6	54
7	30			530	299	13	49,5	41,7
7	60			647	309	12	64,5	52,2
7	90			534	257		61,4	
7	180			574	326	15	50	38,9
8	basal	10,2	10,2	252	166	8	33	29,8
8	30			324	223,4		33	
8	60			296	207		31,8	
8	90			311	267	17	21,6	18,4
8	180			625	425		39,5	

TD/E: testículos Direito/esquerdo; TT: testosterona total; TL: testosterona livre; SHBG: globulina ligadora dos hormônios sexuais; E2: estrogênio.

APÊNDICE C – Continuação.

ID	Tempo (dias)	Volume_TD (cm3)	Volume_TE (cm3)	TT (ng/dL)	TL (pmol/L)	TT/E2	SHBG (nmol/L)	E2 (pg/mL)
9	basal	12,2	11	440	273	16	41,1	28
9	30			725		28	52	26
9	60			853	545		47,8	
9	90							
9	180			529	356	16	38,2	33,5
10	basal	27,4	16,7	330	217	19	35,8	17
10	30			522	264	17	57,1	30,6
10	60			388	227	23	44,1	17
10	90			535	268		58,1	
10	180			411	261	19	39,5	21,7
11	basal			685	294	31	75,4	22,2
11	30			818	235		120,5	
11	60			1069	398	26	97,7	40,8
11	90			567	253	13	68,2	43,5
11	180			863	374	21	77,8	41,6
12	basal	13	13,1	189	162	6	19,8	29,8
12	30			273	186	6	32,6	47,7
12	60			322	184	8	44,4	41,3
12	90							
12	180			317	253		25,2	
13	basal	20,8	17,7	240	205	11	20,8	21,6
13	30			439	246	16	48	28,3
13	60			496	385		29,6	
13	90							
13	180			397	338	13	23,3	30,7
14	basal			226	237,3	19	12	12
14	30			301	230,6	30	27	10
14	60			250	182	12	28,6	20,1
14	90			190	143	24	26	8
14	180			319	268		22,7	
15	basal	5,9	7	129	130	3	12,5	41,5
15	30							
15	60			189	221		7,7	
15	90			152	172	3	8,5	45,1
15	180			192	191		13,8	
16	basal	17,8	19,1	196	172	7	19,1	28,9
16	30			270,2		9	21	28,6
16	60							
16	90			221	186,8	10	21	22
16	180			230	210	9	17,7	26,9

TD/E: testículos Direito/esquerdo; TT: testosterona total; TL: testosterona livre; SHBG: globulina ligadora dos hormônios sexuais; E2: estrogênio.

APÊNDICE D – Valores dos marcadores de inflamação e de peroxidação lipídica (TBARS) dos pacientes nos diferentes tempos do estudo.

ID	Tempo (dias)	TNF-a (pg/dL)	Interferon (pg/dL)	Interleucina-1 (pg/dL)	Interleucina-4 (pg/dL)	Interleucina-10 (pg/dL)	TBARS (ng/10 ⁶ cels)
1	basal	4,27	0,83	0,5	3,29	7,69	46,59
1	60	3,5	0,98	0,45	3,29	4,27	43,96
1	180	2,61	0,98	0,5	3,29	3,09	48,7
2	basal	9,03	0,83	0,5	2,38	2,48	62,86
2	60	5,34	0,83	0,45	2,38	2,28	46,18
2	180	3,13	0,83	0,45	2,38	1,55	42,96
3	basal	4,82	1,13	0,5	3,29	2,28	44,52
3	60	4,82	1,13	0,45	3,29	3,29	41,67
3	180	3,39	0,98	0,45	2,38	1,72	49,47
4	basal	2,94	0,98	0,5	3,29	2,48	50,18
4	60	8,27	1,13	0,58	3,29	3,5	39,14
4	180	3,76	1,13	0,54	3,29	3,29	44,64
5	basal	6,12	1,13	0,5	3,29	2,48	41,92
5	60	10,92	1,13	0,5	2,38	2,68	31,66
5	180	4,7	0,83	0,45	1,72	1,55	42,11
6	basal	4,48	0,83	0,45	3,29	2,48	61,155
6	60	3,5	0,83	0,5	2,38	2,28	39,57
6	180	6,12	0,83	0,45	1,19	4,27	34,21
7	basal	8,77	1,29	0,54	9,17	3,29	37,53
7	60	6,47	1,29	0,63	7,26	3,76	30,37
7	180	6,29	1,46	0,63	9,17	3,76	21,25
8	basal	2,94	0,98	0,45	2,77	2,48	37,25
8	60	2,94	0,83	0,45	4,27	1,9	35,33
8	180	6,47	0,98	0,54	4,27	2,28	43,06
9	basal	4,48	1,21	0,56	3,29	4,48	27,6
9	60	6,47	1,63	0,72	7,26	4	34,05
9	180	6,66	8,15	0,5	3,29	6,29	38,31
10	basal	3,29	0,83	0,54	2,38	2,48	33,58
10	60	3,62	1,13	0,54	3,29	2,09	36,84
10	180	5,2	1,13	0,58	4,27	2,48	31,53
11	basal	5,13	0,83	0,45	2,38	2,48	37,15
11	60	9,72	0,83	0,5	2,38	2,68	58,4
11	180	6,47	0,98	0,54	3,29	2,68	125,4
12	basal	5,63	1,13	0,58	4,27	3,5	34,1
12	60	4,18	1,46	0,5	3,29	2,88	48,16
12	180	3,69	1,46	0,5	2,38	2,28	36,47
13	basal	2,48	1,13	0,45	3,29	2,09	42,25
13	60	5,79	1,13	0,5	1,72	2,88	28,19
13	180	6,56	0,83	0,45	1,72	2,09	30,25
14	basal	3,5	0,9	0,54	2,38	3,76	34,1
14	60	4,09	1,46	0,63	5,79	2,88	50,83
14	180	4	0,98	0,5	3,29	2,09	50,6
15	basal	6,47	0,98	0,5	3,29	2,48	37,87
15	60	8,03	0,98	0,5	2,38	2,48	174,9
15	180	4,7	0,83	0,45	3,29	2,09	38,89
16	basal	6,56	0,83	0,63	4,27	2,48	56,33
16	60						
16	180	3,62	0,83	0,45	2,38	1,9	

TNFa: fator de necrose tumoral alfa; TBARS: substancia reativa ao ácido tiobarbitúrico.

APÊNDICE E – Espermograma convencional e funcional dos pacientes nos diferentes tempos do estudo.

ID	Tempo (dias)	Mot. T (%)	Mot. P (%)	Cont. (10 ⁶)	Conc. (10 ⁶ /mL)	OMS	TBARS (ng/10 ⁶ cels)	Eosina (%)	POPE (%)	DAB I (%)	DAB II (%)	DAB III (%)	DAB IV (%)
1	basal	23	12	110	73	1							
1	60	21	8	107	63	2	2581,47	54		54	21	11	14
1	180	15	8	188	75	1							
2	basal	56	32	158	79	5							
2	60	65	49	130	65	7	1791,32	84	97	75	11	1	13
2	180	80	56	210	139,9	4	1502,24	85	84	56	17	16	11
3	basal	62	45	408	204	5							
3	60	58	45	415	166	2	2311,66	79	86	71	9	1	19
3	180	62	37	414	207	1							
4	basal	53	37	85,5	19	0	1251,70	88	87	54	20	10	16
4	60	59	31	31,8	10,6	2	1791,32	89	76	58	28	4	10
4	180	79	55	190	44,2	3	1444,42	81	49	57	8	11	24
5	basal	60	45	332	221	1	1405,88	82	82	64	20	3	13
5	60	48	35			0		84	68	49	21	4	26
5	180	70	50	225	150	4	2350,21	73	77				
6	basal	70	42	125	50	3	1193,89	74	87	59	23	5	13
6	60	60	45			2							
6	180	67	50	540	90	4							
7	basal	38	12	16	16	1	1791,32	71	96	54	21	4	21
7	60	15	3	6	6	0	2408,02	67	96	28	23	27	22
7	180	42,2	17,4	34,5	23	9							
8	basal	48	27	107	71	3	1232,43	75		75	9	3	13
8	60	41	14			3	1136,07	61		30	6	9	55
8	180	58	34	86,4	43,2	3							
9	basal	66	46	194	97	2	943,35	75	84	76	19	2	3
9	60												
9	180	65	38	108	60	1							
10	basal	47	26	231	42	0	1829,86	56	70	21	10	6	63
10	60												
10	180	72	24	75	25	6	2812,73	91	93	42	11	9	38
11	basal	63	42	297	198	4	1964,77	82	66	60	14	16	10
11	60												
11	180	65	41	130	59	5							
12	basal	51	28	109	16,2	1	1444,42	80	79	60	11	15	14
12	60												
12	180	47	19	168	21	0	2774,19	75	87	68	17	6	9
13	basal	82	58	200	54	3	2080,40	76	30	62	12	7	19
13	60	56	32			0							
13	180	79	53	186	62	1	2581,47	85	93	69	20	2	9
14	basal	65	49	631	170,6	0	1367,33	83	47	68	14	7	11
14	60	56	24,2	580	193,4	6							
14	180	71	62	264	132	6							
15	basal	15	2	10,6	5,3	2	2215,30	74	74				
15	60	52	35			1							
15	180	47	28	52,5	21	2	2176,76	89	93	60	28	5	7
16	basal	77	55	108	27	1	1772,05	82	78				
16	60												
16	180	48	24	132	33	3							

Mot T/P: motilidade total/progressiva; Cont. contagem; Conc: concentração; OMS: classificação segundo Organização Mundial de Saúde; TBARS: substância reativa ao ácido tiobarbitúrico.

APÊNDICE F – Espermograma avaliada pelo método “*Computer Aided Sperm Analysis*” – CASA dos pacientes nos diferentes tempos do estudo.

ID	Tempo (dias)	VAP ($\mu\text{m/s}$)	VSL ($\mu\text{m/s}$)	VCL ($\mu\text{m/s}$)	ALH (μm)	BCF (Hz)	Mot. T (%)	Mot. P (%)	Rapido (%)	Medio (%)	Lento (%)	Estatico (%)
1	basal											
1	60	27,5	22	55,8	5,9	35,6	38	2	4	5	29	62
1	180											
2	basal											
2	60	70,2	52,1	124,5	5,8	29,8	75	20	44	7	24	25
2	180	68,3	50,7	108	6,9	29,2	70	32	69	7	24	0
3	basal											
3	60	52,4	43,8	76,8	3,4	26,3	50	25	37	4	9	50
3	180											
4	basal											
4	60	57,2	48	90,9	5,2	26,6	48	13	19	3	27	52
4	180	39,9	31,2	61,3	8,4	35,3	43	19	33	9	57	0
5	basal	54,9	46	75,4	3	26,9	50	29	41	4	5	50
5	60	48,3	32	83,8	4,2	20,1	60	12	46	5	10	40
5	180	45,6	34	68,3	6,6	22,7	66	31	60	6	34	0
6	basal	60,9	49,3	94,1	4,2	22,8	24	15	22	1	2	76
6	60											
6	180											
7	basal	55,7	48	82,2	3,7	28,3	55	18	24	4	27	45
7	60	0	0	0	0	0	100	0	0	0	100	0
7	180											
8	basal	33,5	27,8	51,8	2,5	30,1	57	22	31	11	14	43
8	60	36,5	29,5	53,1	5,8	33,6	55	27	43	12	42	4
8	180											
9	basal	58,7	43,8	90,9	4,1	24,2	81	26	54	7	20	19
9	60											
9	180											
10	basal	43,6	36,9	66,5	9,6	38,2	19	15	19	0	80	1
10	60											
10	180	35,2	27,2	53,6	9,5	34,6	39	15	29	10	61	0
11	basal	61,1	48,2	92,3	6,5	28,5	70	36	63	7	30	0
11	60											
11	180											
12	basal	30,3	25,1	42,5	9,4	34,3	37	14	23	14	63	0
12	60											
12	180	49,6	40,1	66,3	5	26,3	52	29	47	6	48	0
13	basal	48	35,6	69,6	6,6	25,9	60	24	52	8	40	0
13	60											
13	180	47,4	35,2	70,8	6,9	27,2	58	26	51	7	42	0
14	basal	46,1	36,3	68	6	28,8	60	32	52	8	35	5
14	60											
14	180											
15	basal	35,1	17,6	110,4	0	40	22	0	22	0	78	0
15	60											
15	180	44,1	36,2	67,8	8,3	33,5	27	13	21	6	73	0
16	basal	36,6	29,3	51,5	5,9	22,9	45	22	35	10	55	0
16	60											
16	180											

Mot T/P: motilidade total/progressiva; VAP (velocidade média da trajetória), VCL (velocidade curvilínea), VSL (velocidade em linha reta), BCF (frequência de batimento cruzado), ALH (amplitude do deslocamento lateral da cabeça).

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



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DA PESQUISA

Título da pesquisa: “SUBFERTILIDADE MASCULINA ASSOCIADA À OBESIDADE”

Pesquisador responsável: Dra Elaine Frade Costa

Instituição: Serviço de Clínica Geral da Divisão de Clínica Médica I do Instituto Central – ICHC

Convidamos o (a) Sr(a) para participar da pesquisa: “SUBFERTILIDADE MASCULINA ASSOCIADA À OBESIDADE”, com a finalidade de avaliar a melhora da qualidade do espermatozoide após seu emagrecimento com Dieta de muito baixa caloria cetogênica (VLCK) do método PronoKal®. Além disso, esperamos observar elevação das taxas do hormônio testosterona, que se encontra abaixo da média esperada para sua idade. Avaliaremos também sua composição corporal pelos métodos de bioimpedância e densitometria de corpo inteiro (DEXA).

Para isso, serão necessários alguns procedimentos como retirada de sangue para realização de exames laboratoriais e coleta de espermograma, antes e durante o seu tratamento.

Durante seu tratamento, você receberá uma dieta de baixa caloria constituída por produtos à base de proteína em sachês para elaboração de diversos alimentos, que podem ser líquidos, sólidos, doces e salgados. Além destes produtos, você deverá consumir legumes e verduras em quantidades pré estabelecidas pelo programa PronoKal®, em duas, de suas cinco refeições ao dia.

Para seu tratamento, não será necessário uso de medicamentos para a redução de peso, porém como parte do programa, se recomenda a suplementação de eletrólitos e vitaminas em cápsulas por via oral.

Além disso, você deverá seguir as recomendações para realização de atividade física leve, que se intensificará gradativamente e de acordo com a sua tolerância e com as fases do programa, chegando a ser moderada quando você estiver apto.

É possível que você sinta algum desconforto nos primeiros dias do seu tratamento, mas eles costumam ser bem toleráveis. Os principais sintomas relatados e descritos são: cansaço, indisposição, dores de cabeça, dor de estômago, enjôos e prisão de ventre. Seguindo atentamente as instruções, o mais provável é que estes sintomas sejam mínimos, e com a adequada suplementação das vitaminas e dos eletrólitos, não haverá riscos para sua saúde.

Você receberá acompanhamento médico além do suporte nutricional e físico preconizado pelo programa PronoKal®. O acompanhamento médico se dará no ambulatório de endocrinologia do hospital das clínicas da Universidade de São Paulo. Suas consultas serão quinzenais nos primeiros dois meses, e posteriormente a cada 30 dias aproximadamente. Caso sinta algum desconforto ou tenha dúvidas durante este processo, terá fácil acesso a uma central de atendimento, e se necessário for, sua consulta médica poderá ser antecipada. Após completar os 6 meses do programa, concluiremos a pesquisa e você manterá acompanhamento médico em seu ambulatório de origem.

Esperamos que com esta pesquisa você obtenha os benefícios gerais do emagrecimento, com redução dos diversos riscos associados à obesidade e melhora de sua qualidade de vida. Além disso, participando desta pesquisa estará contribuindo para a descoberta de novas possibilidades e para o avanço da medicina.

Você tem garantia de plena liberdade caso desista de participar deste estudo ou opte por retirar o seu consentimento em qualquer fase da pesquisa sem penalização alguma, além de segurança de sigilo e privacidade.

A pesquisa não lhe acarretará nenhum custo e seus exames serão coletados gratuitamente. Não haverá compensação financeira relacionada à sua participação.

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de dúvidas. O principal investigador é a Dra Elaine Frade Costa, que pode ser encontrado no endereço: Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 155 - Cerqueira César, São Paulo - SP, 05403-000. Telefone (11) 2661-6000 e-mail alerenck@usp.br.

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: (11) 2661-7585, (11) 2661-1548, (11) 2661-1549; e-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Fui suficientemente informado a respeito do estudo “Subfertilidade masculina associada à obesidade”.

Você receberá uma via deste termo de consentimento livre e esclarecido, que será assinada por você e pelo médico responsável pelo estudo.

Eu, _____ discuti as informações acima com o Pesquisador Responsável: Dra. Elaine Frade Costa ou pessoa por ele delegada Dra. Alessandra Covallero Renck sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim os objetivos, os procedimentos, os potenciais desconfortos e riscos e as garantias. Concordo voluntariamente em participar deste estudo, assino este termo de consentimento e recebo uma via rubricada pelo pesquisador.

Assinatura do participante /representante legal

Data / /

Assinatura do responsável pelo estudo

Data / /

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO (OU ETIQUETA INSTITUCIONAL DE IDENTIFICAÇÃO) DO PARTICIPANTE DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME: :.....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE No:

SEXO : .M F DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO.....NoBAIRRO:

..... CIDADE

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

2.RESPONSÁVEL LEGAL

NOME.....

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

DOCUMENTO DE IDENTIDADE No.....

.SEXO: M F DATA NASCIMENTO.:/...../.....

ENDEREÇO: No

BAIRRO:CIDADE.....

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