

MARCELO RODRIGUES DOS SANTOS

**Efeito do treinamento físico isolado ou associado à reposição de testosterona em
pacientes com insuficiência cardíaca**

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

**Programa de Cardiologia
Orientadora: Dra. Maria Janieire de
Nazaré Nunes Alves**

São Paulo

2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Dos Santos, Marcelo Rodrigues

Efeito do treinamento físico isolado ou associado à reposição de testosterona em pacientes com insuficiência cardíaca / Marcelo Rodrigues dos Santos. -- São Paulo, 2013.

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

Orientadora: Maria Janieire de Nazaré Nunes Alves.

Descritores: 1.Insuficiência cardíaca 2.Exercício 3.Hipogonadismo 4.Sistema nervoso 5.Atrofia muscular 6.Fibras musculares esqueléticas 7.Composição corporal

USP/FM/DBD-268/13

DEDICATÓRIA

Dedico essa tese aos meus pais, **Esequiel Jorge dos Santos e Dalva Rodrigues dos Santos** que sempre me proporcionaram todo incentivo e apoio ao longo da minha vida.

Às minhas irmãs, **Saete Rodrigues dos Santos e Mariana Rodrigues dos Santos** pelo amor e companheirismo.

À minha amada esposa, **Thais Helena Peron Moura dos Santos** pelo apoio incondicional em todos os momentos. Sua força, dedicação e discussão científica foram essenciais para juntos passarmos por todas as fases. Esta tese é sua também!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos os **pacientes** que voluntariamente aceitaram participar de um estudo longo e complexo.

À minha orientadora, **Doutora Maria Janieire de Nazaré Nunes Alves** por todo o conhecimento e atenção que sempre me proporcionou ao longo dessa jornada. Muito obrigado pela sua incrível capacidade de ousar, pelo seu carinho com os pacientes, pelo incentivo, às vezes, até mesmo financeiro para que eu pudesse chegar até aqui. Você estará para sempre em meu coração.

Ao meu braço direito e “filha”, **Ana Luiza Sayegh** pela importante ajuda no estudo. Obrigado pelas idas e vindas ao Hospital Cotoxó, a USP, pelo cuidado com os pacientes e pelas risadas mesmo nos momentos difíceis.

Aos meus amigos e parte da equipe **Rafael Armani, Francis Ribeiro, Guilherme Fonseca e Kelly Correia** pela ajuda no estudo e por sempre estar ao meu lado.

As Professoras, **Dra. Maria Urbana Pinto Brandão Rondon, Dra. Ivani Credidio Trombetta e Me. Camila Paixão Jordão** da Unidade de Reabilitação Cardiovascular e Fisiologia do Exercício do InCor, pela ajuda, suporte científico e carinho que sempre tiveram comigo.

Ao **Prof. Dr. Carlos Eduardo Negrão** por abrir as portas da Unidade de Reabilitação Cardiovascular e Fisiologia do Exercício do InCor e pelo grande aprendizado científico.

Ao **Dr. Antônio Carlos Pereira Barreto** e a enfermeira **Kelly Vieira** do Hospital Auxiliar do Cotoxó (HC-FMUSP) pela ajuda para selecionar os pacientes.

À **Dra. Rosa Maria Rodrigues Pereira** e a técnica **Lilium Takayama** do Laboratório de Metabolismo Ósseo da Faculdade de Medicina de USP pela realização dos exames de densitometria.

Ao amigo, **Dr. Marco Antônio Arap** do Hospital das Clínicas (HC-FMUSP), pela ajuda e realização dos exames urológicos.

À **Profa. Dra. Patrícia Chakur Brum** e a doutoranda **Aline Villa Nova Bacurau** da Escola de Educação Física e Esporte da USP, pela realização dos estudos histológicos e apoio científico.

As médicas da Unidade de Reabilitação Cardiovascular e Fisiologia do Exercício do InCor, **Dra. Patrícia Oliveira e Dra. Ana Maria Braga** pelo apoio aos exames e ajuda com os pacientes.

Aos amigos de doutorado, **Cristiane Nunes, Daniel Martinez, Luciene Ferreira, Edgar Dias, Ligia Correa, Thais Simões, Igor dos Santos, Raphaela Groehs, Denise Lobo, Patrícia Trevizan, Adriana Sarmento** e aos mestrandos **Felipe Cepeda, Larissa dos Santos e Sara Rodrigues**. Com vocês passei muitas horas do meu dia que com certeza ficarão em minha memória para o resto da vida. Obrigado a todos pela oportunidade de compartilharmos nossas aflições e alegrias.

As secretárias da Unidade, **Monica Marques, Sandra Sino, Mari Santos e Fabiana Pereira** pelo carinho e ajuda institucional.

Aos meus segundos pais (sogros), **João Baptista e Maria Inês** pela ajuda e pela torcida ao longo dessa empreitada. Sei o quanto torcem por mim.

À toda **Equipe de Enfermagem** do Instituto do Coração (InCor) pela realização das aplicações de injeção hormonal nos voluntários do estudo.

Ao **Laboratório de Hormônios** do Hospital das Clínicas (HC-FMUSP) pela realização das análises de testosterona.

À todos **aprimorandos e estagiários** da Unidade de Reabilitação Cardiovascular e Fisiologia do Exercício do InCor pela dedicação durante o período de treinamento físico dos pacientes.

À toda a minha família, especialmente as minhas tias e avós pelo amor e incentivo.

Aos amigos **Renato de Piratininga e Rubia Bertolini; Miguel Ciola e Marcia Ciola** pela consideração e por sempre confiarem no meu trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (**CAPES**) pela bolsa de estudo e a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (**FAPESP**) pelo apoio financeiro à pesquisa (projeto temático nº 2010/50048-1).

À Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (**FM-USP**) e ao Instituto do Coração (**InCor**) pelo incrível aprimoramento que me proporcionou. À **Fundação Zerbini** pelo apoio financeiro em viagens para congressos internacionais, que com certeza me trouxeram grande conhecimento e contato com a pesquisa de ponta.

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

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

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

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

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

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

SUMMARY

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	8
3 CASUÍSTICA E MÉTODOS	9
3.1 Avaliação da composição corporal	12
3.2 Teste ergoespirométrico.....	14
3.3 Protocolo experimental para avaliação neurovascular	16
3.5.1 Avaliação da atividade nervosa simpática	16
3.5.2 Avaliação do fluxo sanguíneo muscular	17
3.5.3 Avaliação da pressão arterial	18
3.5.4 Avaliação da frequência cardíaca	18
3.4 Biópsia da musculatura esquelética de vasto-lateral	19

3.5	Avaliação imunohistoquímica	20
3.6	Avaliação da qualidade de vida	22
3.7	Reposição hormonal	22
3.8	Protocolo de Treinamento Físico.....	23
3.9	Análise estatística	23
3.10	Comissão de ética	24
4	RESULTADOS	24
4.1	Pré-intervenção	24
4.2	Efeito da reposição de testosterona.....	26
4.3	Efeito das intervenções sobre o nível hormonal de testosterona	28
4.4	Efeito das intervenções na atividade nervosa simpática muscular.	30
4.5	Efeito das intervenções no fluxo sanguíneo muscular	31
4.6	Efeito das intervenções na capacidade funcional.....	33
4.7	Efeito das intervenções na composição corporal (DEXA)	36
4.8	Efeito das intervenções na área de secção transversa das fibras musculares	41
4.9	Efeito das intervenções nos tipos de fibras musculares	43
4.10	Efeito das intervenções na qualidade de vida (Minnessota)	45
4.11	Sumário dos resultados	46
5	DISCUSSÃO	47
6	IMPLICAÇÕES CLÍNICAS	54

7 LIMITAÇÕES DO ESTUDO.....	55
8 CONCLUSÕES	56
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Classificação clínico-hemodinâmica.	4
Figura 2. Radomização dos pacientes no protocolo.....	12
Figura 3. Densitometria computadorizada por absormetria radiológica de dupla energia (DEXA).	13
Figura 4. Avaliação da capacidade cardiopulmonar em bicicleta (ergoespirometria).	15
Figura 5. Avaliação da atividade nervosa simpática muscular e sinal de disparo espontâneo do nervo fibular (microneurografia).....	17
Figura 6. Avaliação do fluxo sanguíneo do antebraço (pletismografia de oclusão venosa.....	18
Figura 7. Procedimento da biópsia do músculo vasto-lateral.	20
Figura 8. Efeito da reposição de testosterona no grupo Testosterona (T).....	27
Figura 9. Efeito da reposição de testosterona no grupo Treino+Testosterona (TRT)	27

Figura 10. Comparação da reposição de testosterona entre os grupos Testosterona (T) e Treino+Testosterona (TRT).	28
Figura 11. Efeito do tratamento pré e pós nos níveis hormonais de testosterona total	29
Figura 12. Efeito do tratamento pré e pós nos níveis hormonais de testosterona livre	29
Figura 13. Efeito do tratamento pré e pós na atividade nervosa simpática.....	30
Figura 14. Efeito do tratamento pré e pós na atividade nervosa simpática muscular/100 bpm.....	30
Figura 15. Efeito do tratamento pré e pós no VO ₂ absoluto	33
Figura 16. Efeito do tratamento pré e pós no VO ₂ relativo.....	34
Figura 17. Efeito do tratamento pré e pós na potência máxima em watts	34
Figura 18. Efeito do tratamento no delta da frequência cardíaca de recuperação de 1º minuto e 2º minuto	35
Figura 19. Efeito do tratamento pré e pós no peso corporal	36

Figura 20. Efeito do tratamento pré e pós na massa magra total	37
Figura 21. Efeito do tratamento pré e pós na massa magra de tronco	37
Figura 22. Efeito do tratamento pré e pós na massa magra da perna esquerda	38
Figura 23. Efeito do tratamento pré e pós na gordura corporal	39
Figura 24. Efeito do tratamento pré e pós nas fibras tipo I.....	41
Figura 25. Efeito do tratamento pré e pós nas fibras tipo híbridas/II.....	42
Figura 26. Efeito do tratamento pré e pós nas fibras tipo II.....	42
Figura 27. Imunohistoquímica pré e pós intervenção da área de secção transversa e tipos de fibra muscular do músculo vasto-lateral (perna esquerda) de um paciente por grupo	44
Figura 28. Efeito do tratamento pré e pós na qualidade de vida.....	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação funcional da New York Heart Association (NYHA).	4
Tabela 2. Características físicas e clínicas em homens com insuficiência cardíaca.	25
Tabela 3. Medicação utilizada em pacientes com insuficiência cardíaca durante o estudo.	26
Tabela 4. Fluxo sanguíneo do antebraço, condutância vascular do antebraço, pressão arterial e frequência cardíaca.	32
Tabela 5. Conteúdo Mineral Ósseo (CMO) em pacientes com insuficiência cardíaca pré e pós tratamento.	40
Tabela 6. Porcentagem dos tipos de fibras musculares após 4 meses.	43

LISTA DE ANEXOS

Anexo I. <i>Minnesota Living with Heart Failure Questionnaire</i> (Tradução para o Português)	57
------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

RESUMO

Dos Santos MR. Efeito do treinamento físico isolado ou associado à reposição de testosterona em pacientes com insuficiência cardíaca [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2013.

Introdução. A insuficiência cardíaca (IC) é caracterizada por exacerbação da atividade nervosa simpática muscular (ANSM), baixa tolerância ao esforço e dispneia. Além disso, é característico nessa população o desequilíbrio entre o anabolismo e catabolismo, favorecendo dessa maneira uma acentuada perda da massa magra muscular, o que agrava ainda mais a qualidade de vida nos pacientes com IC. Dentre as alterações anabólicas observadas na IC avançada destaca-se a diminuição dos hormônios GH, IGF-1 e testosterona. A testosterona, um importante hormônio para as características masculinizantes e na manutenção da massa muscular, apresenta acentuada redução com o avançar da doença. Esta perda da massa magra, leva ao processo de caquexia muscular e consequente atrofia, com diminuição da força e da capacidade funcional do paciente com IC. A reposição de testosterona nesses pacientes tem sido estudada e se mostra uma importante terapêutica para melhorar a capacidade funcional e força muscular. Porém, não se conhece claramente o papel deste tratamento medicamentoso sobre o processo anabólico muscular, bem como na melhora da composição corporal. O exercício físico como tratamento não medicamentoso tem sido amplamente recomendado na IC por reduzir a ANSM, melhorar o fluxo sanguíneo periférico, aumentar a força

muscular e melhorar a qualidade de vida. Entretanto, a combinação das estratégias do exercício físico associado à terapia de reposição de testosterona, não é conhecido em pacientes com IC. **Métodos.** 24 pacientes com IC foram randomizados em 3 grupos: Treinamento (TR, n=9), Testosterona (T, n=8) e Treino+Testosterona (TRT, n=7). A ANSM foi avaliada pela técnica de Microneurografia. O fluxo sanguíneo do antebraço foi avaliado pela pletismografia de oclusão venosa. A composição corporal foi avaliada pela densitometria (DEXA). A biópsia do músculo vasto-lateral foi feita para avaliarmos a área de secção transversa da fibra e a tipagem de fibras musculares. A qualidade de vida foi avaliada pelo questionário de Minnesota. O treinamento físico aeróbio em bicicleta foi realizado 3 vezes por semana, com 40 minutos de exercício por sessão, pelo período de 4 meses. A reposição de testosterona foi realizada pela administração intramuscular de undecilato de testosterona pelo período de 4 meses. **Resultados.** Após 4 meses de intervenção, observamos restauração dos níveis de testosterona em todos os grupos. A ANSM reduziu nos grupos TR e TRT. Não houve aumento do fluxo sanguíneo entre os grupos. O consumo de oxigênio aumentou em todos os grupos, porém apenas o grupo TRT aumentou a potência máxima ao exercício. A massa magra apresentou aumento significativo apenas no grupo TRT. Não observamos mudança no conteúdo mineral ósseo entre os grupos. Apenas o grupo TRT aumentou de maneira significativa a área de secção transversa das fibras tipo I (oxidativas). A qualidade de vida melhorou apenas nos grupos TR e TRT. **Conclusões.** O exercício físico associado à terapia de reposição de testosterona se mostrou mais eficaz em reduzir a ANSM, aumentar a capacidade funcional, a força muscular, a massa magra com um importante aumento das fibras do tipo I. Nossos resultados enfatizam a importância

do exercício físico em pacientes com IC e traz uma nova perspectiva com a associação da testosterona para pacientes com hipogonadismo.

Descritores: Insuficiência cardíaca; Exercício; Hipogonadismo; Sistema nervoso; Atrofia muscular; Fibras musculares esqueléticas; Composição corporal.

SUMMARY

Dos Santos MR. Effect of exercise training alone or associated with testosterone replacement in heart failure patients [Thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2013.

Introduction. Heart failure (HF) is characterized by exacerbation of muscle sympathetic nerve activity (MSNA), exercise intolerance and dyspnea. Furthermore, is characteristic in this population the imbalance between anabolism and catabolism which lead to loss of skeletal muscle mass worsening quality of life in HF patients. Prior studies have demonstrated decrease in anabolic hormones such as GH, IGF-1 and testosterone. Testosterone, an important hormone for masculinization feature and maintenance of muscle mass, shows sharp decline in advanced HF. Loss muscle mass leads to cachexia and atrophy which decrease strength and functional capacity in HF patients. Testosterone replacement in these patients has been studied and shows an important therapeutic to enhance functional capacity and muscle strength. However it is not known the role of this medical treatment on muscle anabolic process as well as on body composition. Physical exercise as a non-medication treatment has been widely recommended to reduce MSNA, enhance peripheral blood flow, increase muscle strength and improve quality of life. However, the combination of the strategies of physical exercise associated with testosterone replacement therapy is not known in HF patients. **Methods.** 24 HF patients were randomized in 3 groups: Training (TR, n=9), Testosterone (T, n=8) and

Training+Testosterone (TRT, n=7). MSNA was recorded by microneurography technic. Forearm blood flow was evaluated by venous occlusion plethysmography. Body composition was measured by densitometry (DEXA). Muscle biopsy was done in vastus lateralis to evaluate the cross-sectional area and type of fibers. Quality of life was assessed by Minnesota living with heart failure questionnaire. Aerobic exercise training on a bicycle was performed 3 times per week, with 40 minutes of exercise per session, for a period of 4 months. Testosterone replacement was performed by intramuscular administration of testosterone undecylate for a period of 4 months. **Results.** After 4 months testosterone levels were restored in all groups. MSNA decreased in TR and TRT groups. There was no increase in blood flow between groups. Oxygen consumption increased in all groups, but only the TRT group showed increase in maximum power to exercise. Lean body mass increased significantly only in the TRT group. We did not observe changes in bone mineral content between groups. Only TRT group significantly increased the cross-sectional area of type I fibers (oxidative). The quality of life improved only in TR and TRT groups. **Conclusions.** Exercise training associated with testosterone replacement therapy was more effective in reducing MSNA, increase functional capacity, muscle strength, lean mass with a significant increase in type I fibers. Our results emphasize the importance of physical exercise in patients with HF and bring a new perspective to association testosterone for patients with hypogonadism.

Keywords: Heart failure; Exercise; Hypogonadism; Nervous system, Muscle atrophy; Skeletal muscle fibers, Body Composition.

1 INTRODUÇÃO

Produção de testosterona endógena e sua ação

A testosterona, principal andrógeno da circulação, é responsável pelo desenvolvimento e manutenção das características sexuais no gênero masculino e responsável por manter o *status* anabólico de tecidos¹. Tal hormônio é sintetizado a partir do colesterol por uma sequência enzimática dentro das células de Leydig, situadas no interstício do testículo maduro. O colesterol utilizado para a síntese de testosterona pode ser obtido pelas células de Leydig por síntese "*de novo*", predominantemente, através de ésteres de colesterol armazenados na matriz intracelular ou a partir de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e colesterol extracelular. A secreção testicular de testosterona é modulada, principalmente, pelo hormônio luteinizante (LH) e, a conversão de colesterol em pregnolona na mitocôndria das células de Leydig é feita pelo complexo enzimático de clivagem da cadeia de colesterol pelo citocromo P450, localizado na membrana mitocondrial. A testosterona é secretada durante três épocas da vida: 1) no primeiro trimestre da vida intrauterina, transitoriamente; 2) na vida neonatal e 3) continuamente após a puberdade. O nível de testosterona produzido pode ser calculado pela depuração metabólica, por meio dos níveis médios de testosterona circulante, por diferença arteriovenosa testicular ou pela taxa de fluxo testicular. Uma pequena porcentagem da testosterona é convertida em metabólitos, biologicamente ativos, em determinados tecidos. Entretanto, a maioria é convertida em metabólitos inativos, excretados pelos rins e vias biliares. A maior quantidade de testosterona é convertida na próstata pela enzima 5-alfa-redutase em dihidroepiandrosterona (DHEA), e em menor extensão na

pele e no fígado. A DHEA é o mais ativo agonista dos receptores de testosterona que, por aromatização, é também convertida em estradiol em menor proporção. No cérebro, a aromatização da testosterona em estradiol tem um importante efeito na regulação da secreção de gonadotrofina e na função sexual e, nos demais tecidos, a importância da aromatização na mediação do efeito da testosterona ainda não está claro. A maior parte da testosterona sofre metabolização no fígado. A secreção testicular de testosterona é regulada, primariamente, pela secreção de hormônio LH pela pituitária anterior, a qual estimula a esteroidogênese nas células de Leydig, aumentando o substrato para sua formação e regulando o fluxo sanguíneo testicular. O hormônio que controla a secreção do LH é o hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), e a testosterona, por sua vez, exerce retro-alimentação (*feed-back*) negativa, inibindo a liberação do GnRH¹. A deficiência na produção de testosterona no homem é conhecida como hipogonadismo primário ou secundário². O hipogonadismo primário é caracterizado por anormalidades na produção de testosterona a partir dos testículos (falha nas células de Sertoli e/ou de Leydig), enquanto o hipogonadismo secundário se caracteriza por anormalidades no hipotálamo ou na hipófise².

A testosterona age em um receptor conhecido como Receptor Androgênico (RA) e exerce um papel importante no metabolismo celular androgênico (características masculinizantes) e anabólico (síntese proteica para manutenção e aumento da massa muscular esquelética)³. Além da testosterona, o hormônio do crescimento (GH) e o Fator do Crescimento semelhante à Insulina - tipo 1 (IGF-1) também colaboram com a síntese proteica e inibi a degradação muscular³. Por outro lado, alguns hormônios como o cortisol, são capazes de agir de forma antagônica ao crescimento muscular e promover o catabolismo proteico. Todo este balanço

anabólico/catabólico hormonal sofre alterações com o envelhecimento levando ao processo de sarcopenia (perda da massa muscular esquelética pelo envelhecimento natural)³. Porém, na síndrome da insuficiência cardíaca (IC) em fase avançada este desequilíbrio entre anabolismo/catabolismo parece ocorrer precocemente e seu papel ainda não é totalmente conhecido.

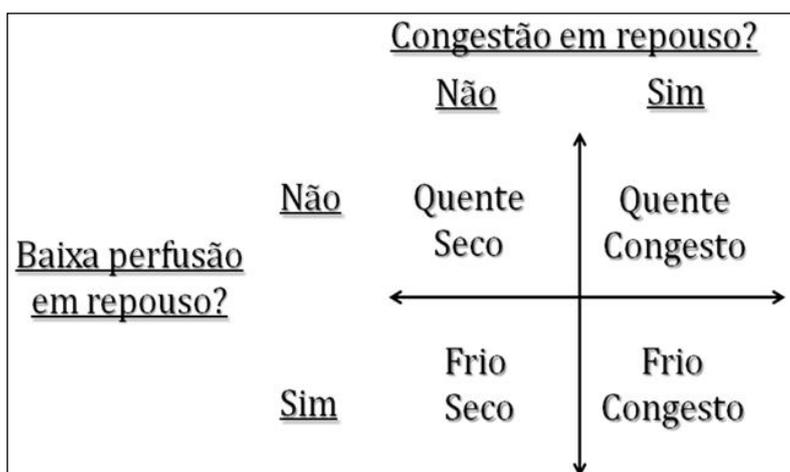
Insuficiência cardíaca

A insuficiência cardíaca (IC) é uma síndrome caracterizada por baixa tolerância ao exercício e dispnéia em decorrência ao baixo débito cardíaco⁴. O grau de disfunção ventricular é classificado pelas classes funcionais I, II, III e IV segundo o New York Heart Association (NYHA) (Tabela 1). Além da classe funcional, os pacientes com IC aguda descompensada podem ser avaliados através do perfil clínico-hemodinâmico na admissão hospitalar⁵ (Figura 1). O diagnóstico do perfil clínico-hemodinâmico tem como objetivo definir as condições de volemia e de perfusão nos pacientes com IC aguda. A condição hemodinâmica se faz por meio da avaliação de sinais e sintomas de hipervolemia ou hipovolemia e de baixa perfusão periférica à beira do leito, onde podemos observar a seguinte situação:

- a) Pacientes congestos sem baixo débito: quente-congesto;
- b) Pacientes congestos com baixo débito: frio-congesto;
- c) Pacientes sem sinais de congestão com baixo débito: frio-seco;
- d) Pacientes sem sinais de congestão ou de baixo débito: quente-seco.

Tabela 1. Classificação funcional da New York Heart Association (NYHA).

I	Sem sintomas e nenhuma limitação em atividades rotineiras.
II	Leves sintomas e limitações em atividades rotineiras. Confortáveis no repouso.
III	Com limitação importante na atividade física; atividades menores que as rotineiras produzem sintomas. Confortáveis somente no repouso.
IV	Severas limitações. Sintomas presentes mesmo em repouso.

**Figura 1.** Classificação clínico-hemodinâmica (adaptado da II Diretriz Brasileira de insuficiência Cardíaca Aguda⁵).

A ativação do sistema nervoso simpático proporcional à classe funcional já foi descrita nesses pacientes⁶. Esta predominância simpática ativa o sistema renina-angiotensina e acentua a vasoconstrição periférica. Portanto, o tratamento farmacológico atual da IC baseia-se na inibição do sistema renina-angiotensina-aldosterona e através do bloqueio da atividade nervosa simpática. Os mecanismos que explicam o aumento da atividade nervosa simpática na IC ainda não estão

totalmente elucidados. Entretanto, algumas explicações têm sido sugeridas, como a deterioração barorreflexa arterial, hiperativação quimiorreflexa⁷ e aumento na atividade e transmissão neural do sistema nervoso central⁶. Alguns estudos mostram que além da maior ativação simpática, a progressão da disfunção ventricular também leva à disfunção endotelial e aumento da ativação neuro-humoral, que contribui para a piora no quadro desses pacientes^{4, 8, 9}.

Anker et al., em 1997¹⁰, mostraram a importância das mudanças hormonais na caquexia cardíaca em portadores de IC, sugerindo que esta síndrome progride para caquexia cardíaca se o balanço entre o catabolismo e o anabolismo estiver alterado. Os portadores de caquexia cardíaca tinham baixos níveis séricos de DHEA. Este desequilíbrio entre fatores anabólicos e catabólicos faz aumentar os níveis de cortisol, adrenalina e noradrenalina, contribuindo dessa maneira para o desencadeamento de caquexia cardíaca e esquelética^{11, 12}, além da baixa concentração plasmática de testosterona^{4, 9, 12} completando o desequilíbrio hormonal. A perda de massa muscular leva ao agravamento da doença, reduzindo a força, a capacidade funcional e a qualidade de vida dos pacientes com IC¹³. Múltiplas deficiências anabólicas associadas (testosterona total, testosterona livre e DHEA) são frequentes na IC avançada (classe funcional III e IV) e está relacionado à intolerância ao exercício, com redução do consumo de oxigênio e pulso de oxigênio¹³, além de ser um fator independente de mortalidade¹⁴. A utilização de reposição de hormônios anabólicos está entre os artifícios terapêuticos para prevenção e melhora do músculo esquelético em idosos¹⁵. Em pacientes com IC, a reposição de testosterona (5 mg de adesivo a cada 24 horas) pode aumentar a capacidade física, observada por meio do teste de caminhada de 6 minutos e melhorar a classe funcional em cerca de 35% dos

pacientes tratados⁹. Entretanto, nesse estudo a reposição de testosterona foi realizada independente da evidencia inicial de rebaixamento hormonal, incluindo àqueles com nível sérico da testosterona normal, o que pode mascarar os bons resultados satisfatórios alcançados com a reposição transdérmica⁹. Outro benefício importante da reposição de testosterona (injeção intramuscular) em pacientes idosos com IC é o aumento da força muscular, a melhora da resistência à insulina e da sensibilidade baroreflexa¹⁶. Porém nesse estudo, alguns pacientes submetidos à terapia de reposição hormonal apresentavam níveis de testosterona normal, o que mais uma vez deixa dúvidas em relação aos resultados positivos encontrados.

A testosterona é um hormônio que parece ter benefícios terapêuticos em pacientes com IC por diversos fatores. Tal hormônio tem propriedade vasodilatadora e sua administração aguda acarreta diminuição da resistência vascular periférica, aumento no débito cardíaco (provavelmente por reduzir a pós-carga cardíaca) considerando a desativação da vasopressina¹⁷.

Adicionalmente, tem sido alvo de estudos¹² o aumento nos níveis de marcadores inflamatórios como fator de necrose tumoral (TNF α) e interleucinas (IL-1 e IL-6). A testosterona modula a resposta imune e sua reposição reduz as citocinas pró-inflamatórias, TNF α e interleucina-1 β ¹² enquanto aumenta a interleucina-10 que configura a ação anti-inflamatória⁹. Além disso, esse hormônio tem ação anabólica o que pode reduzir a caquexia cardíaca e músculo esquelético, melhorando a qualidade de vida nesses pacientes^{4, 9}. Porém, esses dados são controversos na literatura. Pugh et al., não observaram alteração nos níveis de TNF α com a terapia de testosterona em pacientes com IC, independentemente da via de administração (oral, transdérmica ou intramuscular) e do tempo de tratamento (agudo – 6 horas; ou crônico – 3 meses)¹⁸.

Estudo recente¹⁹ demonstrou que o uso suprafisiológico de testosterona em indivíduos jovens, praticantes de musculação, leva a uma ativação simpática exacerbada e vasoconstrição periférica em repouso e aumento na pressão arterial de 24 horas, quando comparados a indivíduos treinados sem o uso de esteróides anabolizantes, sugerindo dessa forma, que a reposição desse hormônio parece apresentar melhoras quando feita em condições fisiológicas.

Estudos comprovam o benefício do exercício físico em pacientes com IC, mostrando que o exercício crônico leva ao aumento do consumo de oxigênio de pico, possivelmente, pelo aumento do volume de mitocôndrias muscular e melhora da atividade específica de enzimas envolvidas na oxidação²⁰. O treinamento físico também provoca diminuição da atividade nervosa simpática, medida diretamente no nervo fibular, melhora a função endotelial, resultando em adicional aumento no fluxo sanguíneo muscular⁸. Apesar disso, poucos estudos relacionam o exercício com melhora no controle das alterações neuro-humorais, que como sabemos, faz parte da piora do quadro da IC.

Em estudos com pacientes com IC que realizaram treinamento físico em cicloergômetro a 50-60% do VO_{2pico} , foram observados diminuição em 19% na noradrenalina plasmática basal enquanto o cortisol permaneceu inalterado. Os níveis de hormônios anabólicos, tais como, GH, insulina, DHEA-sulfato e testosterona livre não sofreram alterações com o treinamento¹¹.

Outro foco de estudo que tem sido abordado, relaciona-se à melhora do sistema músculo esquelético na IC^{21, 22}, considerando que a caquexia muscular esquelética piora o quadro clínico dos pacientes, podendo levar a redução da força e da capacidade funcional. Estudo experimental demonstrou que ratos com IC

geneticamente modificados por hiperativação simpática, apresentam atrofia progressiva da massa muscular, mudança da composição de fibras musculares, rarefação capilar, aumento na atividade da hexoquinase e do estresse oxidativo a medida que piora a evolução da doença²³. Por outro lado, o treinamento físico reestabeleceu a atrofia muscular e a rarefação capilar associado com redução do estresse oxidativo nesses animais²³. Porém em humanos com IC, ainda não é bem conhecido o efeito do treinamento físico sobre a musculatura esquelética, bem como a ação do exercício físico em modular o tamanho da fibra muscular e do tipo de fibra, quando se normaliza os níveis hormonais de testosterona por meio de reposição hormonal exógena, no paciente com IC e hipogonadismo.

2 OBJETIVOS

Baseando-se nos relatos descritos na literatura, este estudo tem por objetivo verificar os efeitos do treinamento físico isolado ou associado à reposição de testosterona em pacientes com insuficiência cardíaca sobre:

1. A atividade nervosa simpática muscular basal;
2. O fluxo sanguíneo muscular basal do antebraço;
3. A composição corporal;
4. A capacidade funcional;
5. O tamanho da área de secção transversa das fibras do músculo esquelético;
6. A qualidade de vida.

3 CASUÍSTICA E MÉTODOS

Foram pré-selecionados 160 homens com IC avançada, provenientes do Hospital Auxiliar do Cotoxó do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e do Ambulatório de Cardiologia Esportiva e Reabilitação Cardíaca. Os pacientes se encontravam em classe funcional III e IV (NYHA), perfil clínico-hemodinâmico B ou C e fração de ejeção pela ecocardiografia bidimensional (Técnica de Teicholz) inferior a 40%.

Os critérios para inclusão foram:

- Idade: 18 a 65 anos;
- Classe Funcional III e IV;
- Etiologia: idiopática, isquêmica, hipertensiva e chagásica;
- Fração de ejeção ventricular menor que 40%;
- Clinicamente estável e sem alteração na medicação por pelo menos 1 mês;
- Níveis hormonais de testosterona total <350 ng/dL e testosterona livre <131 pmol/L.

Os critérios para exclusão foram:

- Síndrome coronária aguda ou revascularização coronária seis meses do estudo;
- Qualquer indisposição aguda ou crônica relacionada ao metabolismo hormonal;
- Qualquer tratamento hormonal no momento do estudo ou no passado;
- Presença de infarto do miocárdio antes de seis meses do estudo;
- Presença de angina instável;
- Presença de insuficiência cardíaca congestiva descompensada;

- Presença de neuropatia autonômica periférica (diabetes)
- Doença renal crônica.

Os pacientes realizaram inicialmente dosagens sanguíneas de testosterona total e livre, que foram coletadas no período matutino (entre 9h00 e 11h00) com o intuito de controlar a variação circadiana de liberação do hormônio e também para identificar os pacientes com hipogonadismo. A partir dos 160 pacientes pré-selecionados, foram triados 92 indivíduos que eram portadores de hipogonadismo. Destes 92 pacientes, 28 pacientes que após a alta hospitalar permaneciam estáveis clinicamente, em classe funcional II e III (NYHA) o qual aceitaram participar da pesquisa, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido concordando com a participação no estudo. Em sequência, os pacientes foram submetidos à avaliação urológica completa da próstata (a dosagem plasmática de antígeno específico prostático – PSA total e livre; e exame de toque retal), com o objetivo de se excluir a presença de tumor prostático maligno oculto. Foram excluídos do protocolo de reposição hormonal com testosterona exógena, aqueles indivíduos que apresentavam PSA >4 ng/mL e/ou alteração na próstata (nódulos), considerando o risco elevado de doença neoplásica. Os pacientes que estavam aptos para receberem a reposição hormonal foram randomizados entre os grupos. Os pacientes selecionados para realizarem reposição hormonal (Undecilato de testosterona - NEBIDO[®]) na dose única de 1000 mg, por via intramuscular (glúteo) foram submetidos mensalmente, no período de 4 meses à dosagem sanguínea de testosterona total e livre para controle do nível hormonal. Naqueles pacientes em que os níveis de testosterona total e/ou livre permanecessem novamente reduzidos, era administrada mais uma ampola para correção hormonal para manter os níveis séricos dentro da normalidade.

Os pacientes que aceitaram participar do estudo (28 indivíduos) foram randomizados em 3 grupos como segue:

Grupo 1 – Treinamento (TR) n = 11

Grupo 2 – Testosterona (T) n = 8

Grupo 3 – Treinamento + Testosterona (TRT) n = 9

No grupo TR (n = 11), 9 pacientes finalizaram o protocolo e 2 pacientes estão finalizando o protocolo. Foram excluídos nesse grupo, 2 pacientes que não estão na amostra acima, um paciente foi submetido a revascularização do miocárdio e um paciente foi internado devido a piora do quadro da IC na primeira quinzena, abandonando o protocolo (total de 13 pacientes).

No grupo T (n = 8), 8 pacientes finalizaram o protocolo. Nenhum paciente foi excluído desse grupo, após iniciarem o protocolo, no entanto, cinco pacientes iniciaram os exames prévios para esse grupo, um faleceu e quatro foram internados por piora do quadro da IC e foram excluídos do protocolo (total de 13 pacientes).

No grupo TRT (n = 9), 7 pacientes finalizaram o protocolo e 2 pacientes estão finalizando o estudo. Também foram excluídos 4 pacientes em CF III/IV, que faleceram subitamente na primeira quinzena de tratamento e 1 paciente que abandonou o protocolo, que não foram incluídos na amostra acima (total de 14 pacientes);

Quatro pacientes iniciaram os exames prévios, antes da randomização do grupo: um faleceu e três foram internados por piora do quadro da IC e foram excluídos do protocolo.

FLUXOGRAMA DE DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES NO ESTUDO

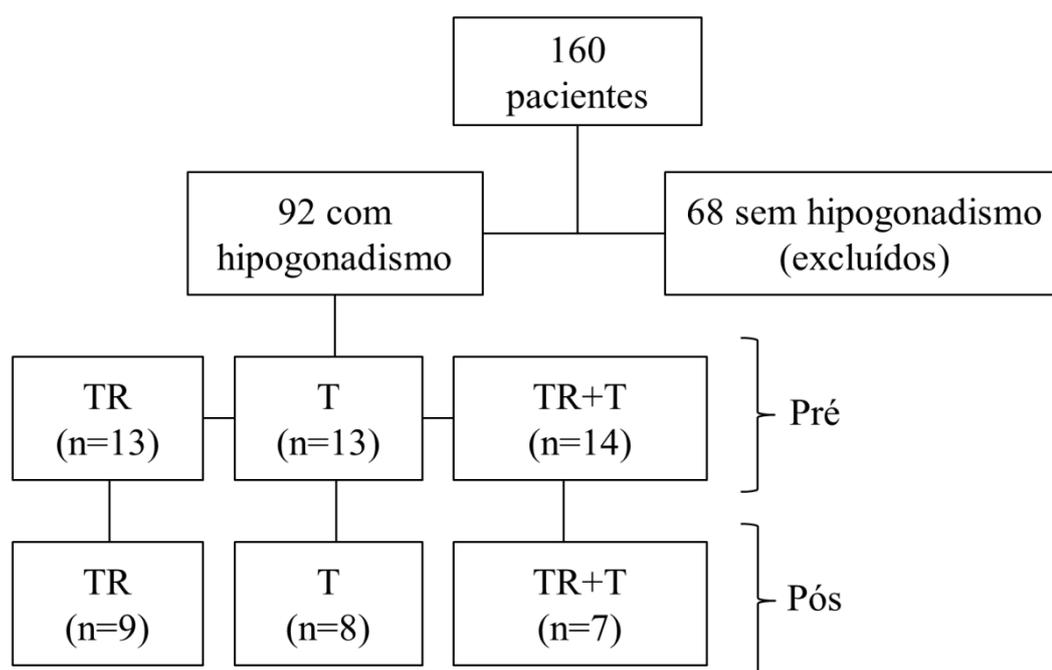


Figura 2. Radomização dos pacientes no protocolo. TR=treinamento; T=testosterona e TRT=Treinamento+Testosterona.

3.1 Avaliação da composição corporal

Utilizamos o método de densitometria computadorizada por absormetria radiológica de dupla energia (DEXA). Trata-se de um procedimento de imagem, de alta tecnologia, que permite a quantificação da gordura e do músculo, assim como, o conteúdo mineral ósseo e estruturas ósseas mais profundas do corpo. O princípio da DEXA baseia-se no fato de que as áreas de ossos e de tecidos moles podem ser penetradas até uma profundidade de aproximadamente 30 cm por dois picos distintos

de energia provenientes de uma fonte de isótopos de alta afinidade – gadolínio 153 (Gd). A penetração é analisada por um detector de cintilação. O exame foi realizado com o indivíduo deitado em decúbito dorsal sobre uma mesa, onde a fonte e o detector passam através do corpo com uma velocidade relativamente lenta de 1cm/s. O modelo utilizado neste estudo foi o equipamento Hologic (QDR 2000). Para permitir uma reconstrução da imagem dos tecidos subjacentes, permitindo a quantificação de conteúdo mineral ósseo, da massa gordurosa total e da massa corporal isenta de gordura, foi utilizado um *software* especializado para tal procedimento (Figura 3).



Figura 3. Densitometria computadorizada por absormetria radiológica de dupla energia (DEXA).

3.2 Teste ergoespirométrico

Foi realizado inicialmente um eletrocardiograma de repouso utilizando as doze derivações padrão (D1, D2, D3, aVR, aVL, aVF, V1, V2, V3, V4, V5, V6) em eletrocardiógrafo (Micromed – Cardio PC 13). A pressão arterial de repouso foi medida pelo método auscultatório, com o indivíduo na posição sentada. Em seguida, os indivíduos realizaram o teste em cicloergômetro eletromagnético (Ergoline – Via Sprint 150 P), seguindo protocolo de rampa com aumento constante de carga, mantendo a velocidade de 60 rotações por minuto até a exaustão, sendo os incrementos de carga calculados a partir da carga máxima predita.

A frequência cardíaca foi registrada em repouso com o indivíduo posicionado no cicloergômetro, ao final de cada minuto do teste de esforço e no 1^o, 2^o, 4^o e 6^o minuto do período de recuperação.

Simultaneamente ao teste de esforço, o indivíduo foi conectado a um ergoespirômetro computadorizado (SensorMedics – Vmax Analyzer Assembly modelo Encore 29S Pulmonary Function/Cardiopulmonary Exercise Testing Instrument), através de um sistema de sensor onde a ventilação pulmonar (VE) foi medida a cada expiração. Foram analisadas as concentrações de O₂ e CO₂, respectivamente a cada ciclo respiratório por meio de sensores de oxigênio (O₂) e de dióxido de carbono (CO₂). A partir das análises da VE e das concentrações dos gases expirados, foram computados o VO₂ e a produção de CO₂. Foi considerado como VO₂ pico o consumo de oxigênio obtido no pico do exercício, quando o indivíduo não conseguiu mais manter a velocidade do pedal da bicicleta em 60 rotações por minuto.

Além da determinação da capacidade funcional máxima do participante, foram determinados o limiar anaeróbio (LA) e o ponto de compensação respiratória (PCR)²⁴ que foram utilizados para a prescrição da intensidade de treinamento físico. O LA foi determinado no minuto em que o indivíduo apresentou valores mínimos de equivalente ventilatório de O₂ (VE/VO₂) e pressão parcial de oxigênio no final da expiração (PetO₂), antes que estes parâmetros iniciassem um aumento progressivo e incremento não linear do valor de razão de troca respiratória (RER).

O PCR foi determinado no minuto em que o indivíduo apresentou valor mínimo de equivalente ventilatório de CO₂ (VE/VCO₂), antes que este parâmetro iniciasse um aumento progressivo, e o valor máximo de pressão parcial de CO₂ no final da expiração (PetCO₂), antes de iniciar uma queda progressiva nesta resposta (Figura 4).

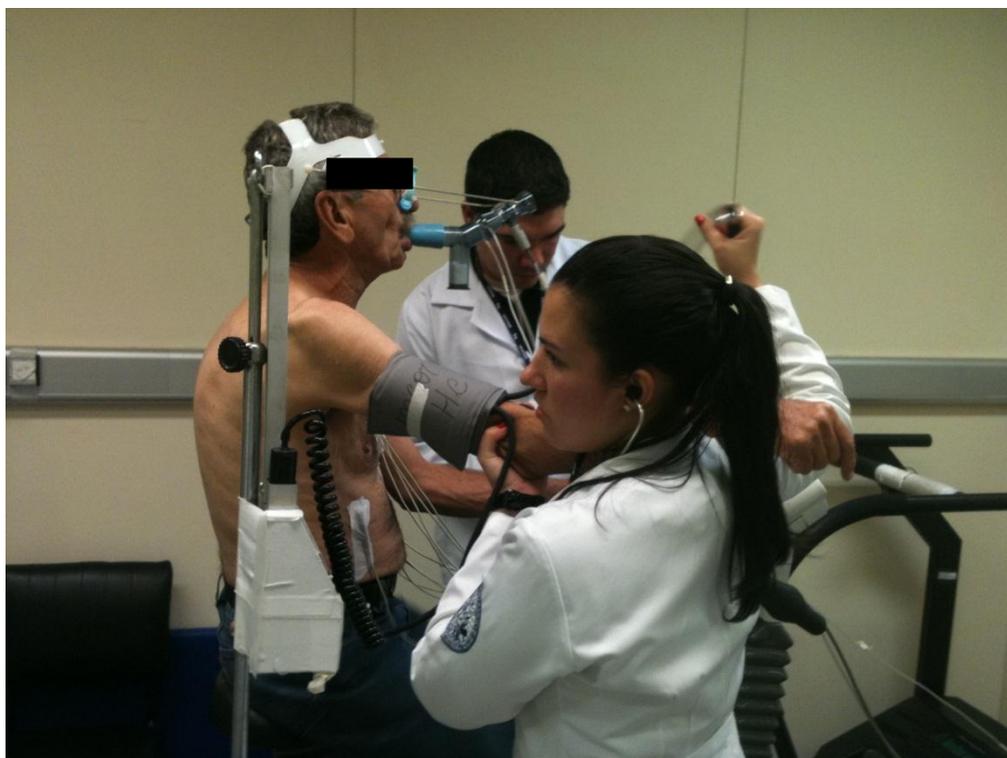


Figura 4. Avaliação da capacidade cardiopulmonar em bicicleta (ergoespirometria).

3.3 Protocolo experimental para avaliação neurovascular

3.5.1 Avaliação da atividade nervosa simpática

A atividade nervosa simpática muscular foi avaliada através da técnica direta de registro de multiunidade da via pós-gangliônica eferente, do fascículo nervoso muscular, no nervo fibular, imediatamente inferior à cabeça fibular, na perna direita. Essa técnica foi validada e empregada em estudos de laboratório em humanos²⁵. Os registros foram obtidos através da implantação de um microeletrodo no nervo fibular e de um microeletrodo referência a aproximadamente um centímetro de distância do primeiro. Os eletrodos foram conectados a um pré-amplificador e o sinal do nervo alimentado através de um filtro passa-banda e, em seguida, dirigido a um discriminador de amplitude para armazenagem em osciloscópio e em caixa de som. Para fins de registro e análise, o neurograma filtrado foi alimentado através de um integrador de capacitância-resistência para a obtenção da voltagem média da atividade neural.

A atividade nervosa simpática foi avaliada através de um registro contínuo da atividade simpática neuromuscular durante 10 minutos de período basal. O sinal do nervo foi analisado manualmente, através da contagem do número de disparos ocorridas por minuto por um mesmo observador para todos os participantes (Figura 5).

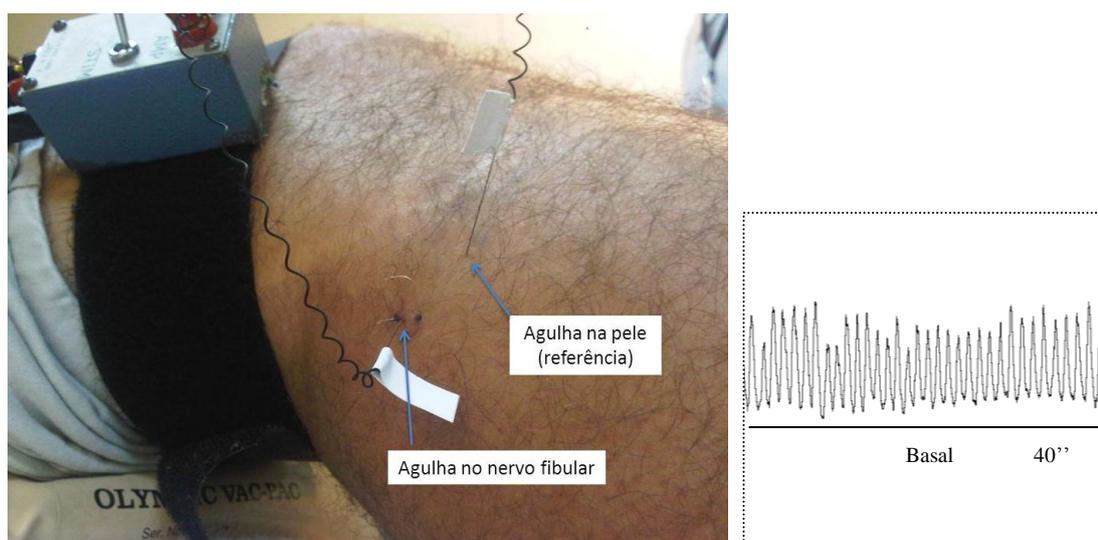


Figura 5. Avaliação da atividade nervosa simpática muscular e sinal de disparo espontâneo do nervo fibular (microneurografia).

3.5.2 Avaliação do fluxo sanguíneo muscular

O fluxo sanguíneo muscular foi avaliado pela técnica de pletismografia de oclusão venosa. O braço não dominante foi elevado acima do nível do coração para garantir uma adequada drenagem venosa. Um silástico preenchido com mercúrio, conectado a um transdutor de baixa pressão e a um pletismógrafo, foi colocado ao redor do antebraço, a cinco cm de distância da articulação úmero-radial e conectado a um pletismógrafo (Hokanson AI6). Um dos manguitos foi colocado ao redor do punho e outro na parte superior do braço. O manguito do punho foi inflado a uma pressão supra-arterial (200 mmHg) um minuto antes de se iniciar as medidas. Em intervalos de 10 segundos, o manguito do braço foi inflado acima da pressão supra-venosa (60 mmHg) por um período de 10 segundos. O aumento da tensão no silástico reflete o aumento de volume do antebraço (mL/min/100mL) e conseqüentemente, a medida da vasodilatação. O sinal da onda de fluxo muscular foi registrado em tempo real para um sistema computadorizado (Figura 6).

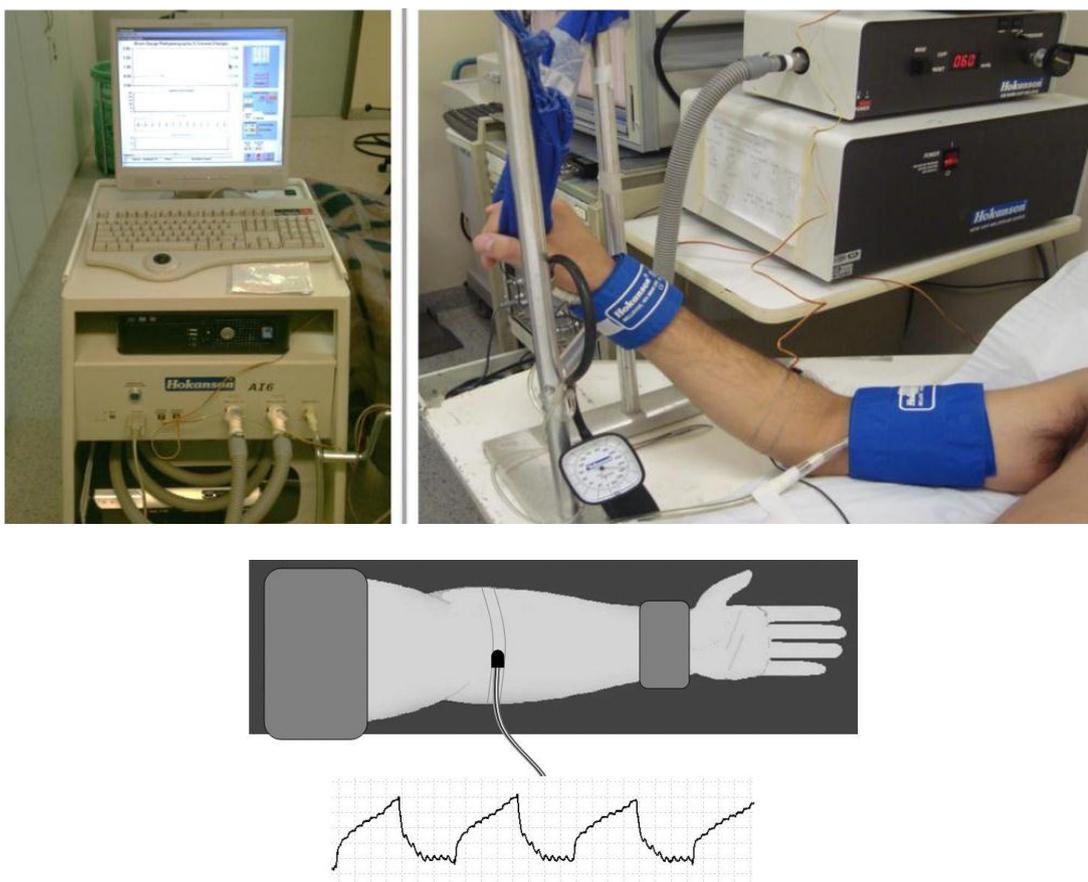


Figura 6. Avaliação do fluxo sanguíneo do antebraço (pletismografia de oclusão venosa. Ilustração adaptado de Casey, DP et al.²⁶).

3.5.3 Avaliação da pressão arterial

A pressão arterial foi avaliada pelo método não invasivo, batimento a batimento pelo Finometer[®] (Finapres Medical Systems).

3.5.4 Avaliação da frequência cardíaca

A frequência cardíaca foi obtida através do registro eletrocardiográfico. Foram colocados três eletrodos no tórax do indivíduo, na posição bipolar, para registro da derivação MC5. Após este sinal ser pré-amplificado (General Purpose Amplifier/Stemtech, Inc., GPA-4, modelo 2), ele foi convertido de analógico para

digital, e em seguida analisado em um programa de computador WINDAQ, numa frequência de 500 Hz.

3.4 Biópsia da musculatura esquelética de vasto-lateral

Foi coletado um fragmento muscular da região do vasto-lateral à aproximadamente 18 cm da região proximal da patela, em torno da linha média do grupo muscular do quadríceps. Após assepsia local com clorexidina 0,5%, foi realizada anestesia com lidocaína 1% e uma pequena incisão foi feita na pele com bisturi. As retiradas do fragmento muscular foram realizadas no mesmo membro inferior (perna esquerda) com diferença de 5 cm da primeira incisão cirúrgica. Uma agulha do modelo *Bergström* esterilizada, foi utilizada para a retirada do tecido muscular (Figura 7).

As amostras de tecido muscular foram dissecadas, a fim de se retirar todo o tecido conjuntivo e adiposo e em seguida foram montadas em blocos com *Tissue-Tek* para posterior análise histológica. Os blocos de tecido muscular foram rapidamente congelados no isopentano gelado e colocado em nitrogênio líquido. A amostra de tecido crio-protegida foi posteriormente estocada em nitrogênio líquido para futura análise histológica.

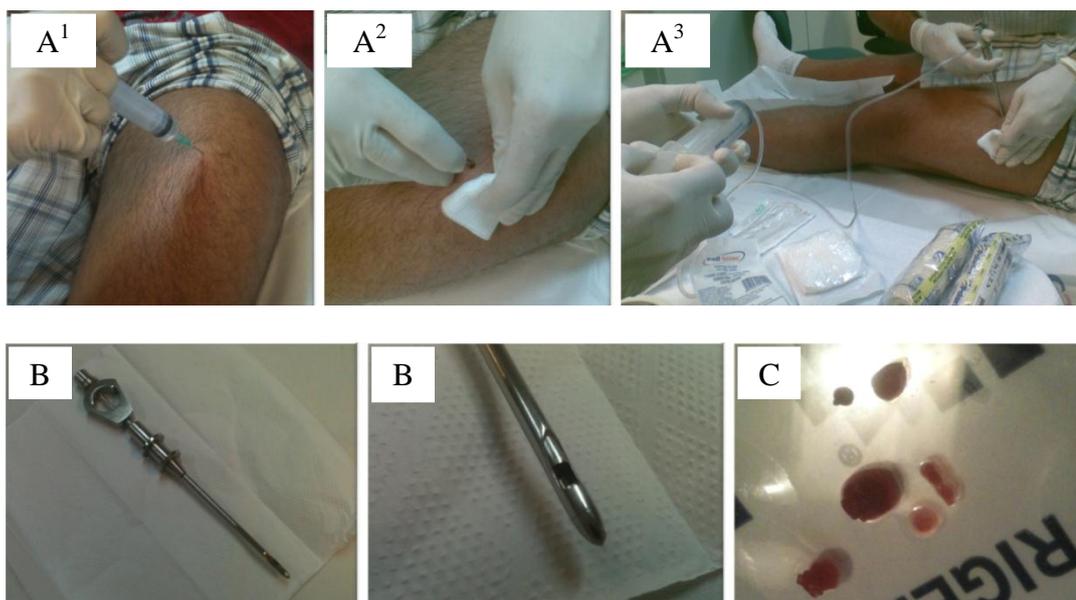


Figura 7. Procedimento da biópsia do músculo vasto-lateral. A) ¹anestesia, ²incisão e ³ corte; B) agulha modelo *Bergström* e C) amostra do tecido muscular.

3.5 Avaliação imunohistoquímica

Os fragmentos dos músculos destinados à imunohistoquímica foram pré-congelados em isopentano por 10 segundos e rapidamente imersos em nitrogênio líquido. Os músculos foram seccionados transversalmente em criostato (Leica CM1850, Leica Microsystems, Alemanha) (10 μ m de espessura).

Secções dos músculos fixadas foram submetidas à reação imunohistoquímica para MHCI (Myosin Heavy Chain I; Abcam, ab11083, EUA), Laminina (Abcam, ab7784, EUA) e Hoechst (Life Technologies, H3569, Brasil) para analisar a morfologia geral dos diferentes tipos de fibras musculares e determinar a área de secção transversal das mesmas.

As secções dos músculos foram fixadas com formalina (Sigma-Aldrich, HT501128, Brasil) 10% por 10 minutos em temperatura ambiente, permeabilizadas em 0,2% de Triton X-100 (Bio-rad, 01-0407, EUA) e 1% albumina sérica bovina (BSA; Amresco, E588, EUA) diluídos em PBS (Phosphate Buffer Saline; Tampão

Fosfato Salino; Sigma-Aldrich, P4417, Brasil) por 10 minutos. O bloqueio foi feito em 10% goat serum (Sigma-Aldrich, G9023, Brasil) em PBS por 45 minutos. As lâminas foram incubadas com solução contendo os anticorpos primários contra 1) MHCI (diluição 1:6000) para a diferenciação da fibra muscular do tipo I; e 2) Laminina (diluição 1:100) para a marcação das demais fibra musculares, negativas para tipo I, ou seja, fibras do tipo II; com 1,5% de goat serum em PBS por 1h e 30 minutos em temperatura ambiente. Após a lavagem com 0,2% de Triton X-100 em PBS (3 vezes de 10 minutos cada), os cortes foram incubados por 40 minutos em sala escura com uma solução PBS contendo 1,5% de goat sérum, os respectivos anticorpos secundários fluorescentes para MHCI (diluição 1:500; Alexa Fluor 568 goat anti-mouse, Life Technologies, A11004, EUA) e Laminina (diluição 1:500; Alexa Fluor 488 goat anti-rabbit, Life Technologies, A11008, EUA) e Hoechst (diluição 1:1000, para visualização dos núcleos). Após 30 minutos de lavagem em 0,2% de Triton X-100 em PBS as lâminas foram cobertas com lamínulas utilizando-se glicerol tamponado (60% Glicerol, 40% Tris-HCl 0.1M pH 9.3).

As imagens foram capturadas em computador acoplado a um microscópio fluorescente e conectado a um sistema fotográfico (magnificação de 200x) (Leica Qwin, Leica Microsystems, Alemanha).

O critério de escolha do campo para contagem foi a integridade das fibras. A área de secção transversa de cada fibra e os tipos de fibra muscular (tipo I e II) foram analisada pelo programa *ImageJ 1.46r*.

3.6 Avaliação da qualidade de vida

A qualidade de vida dos pacientes foi avaliada pelo *Minnesota Living with Heart Failure Questionnaire* (MLHFQ) validado para população brasileira²⁷. Esse questionário pode ser usado de forma única para acessar a qualidade de vida dos pacientes com IC ou para avaliar o efeito de uma intervenção.

O MLHFQ é composto por 21 questões relativas às limitações que frequentemente estão associadas com o quanto a doença impede os pacientes de viverem como gostariam. Para o momento pré-intervenção, foi considerado o último mês para responder aos questionamentos. No momento pós-intervenção, os pacientes responderam as mesmas perguntas. A escala de respostas para cada questão varia de 0 (não) a 5 (demais), onde o 0 representa sem limitações e o 5, limitação máxima. Essas questões envolvem uma dimensão física (questões de 1 a 7, 12 e 13) que estão altamente inter-relacionadas com dispnéia e fadiga, uma dimensão emocional (questões de 17 a 21) e outras questões (questões 8, 9, 10, 11, 14, 15 e 16) que, somadas às dimensões anteriores, formam a pontuação total²⁷. Quanto maior o número de pontos somados, pior a qualidade de vida do paciente (Anexo I).

3.7 Reposição hormonal

O grupo T e TRT receberam dose única de 1000 mg de análogo a testosterona injetável na região glútea (undecilato de testosterona - NEBIDO[®]), que produz níveis estáveis por um período de até 12 semanas. A avaliação dos níveis de testosterona total e livre foi realizada a cada mês, por 4 meses de intervenção. Nos casos em que o nível de testosterona total e/ou livre estivesse ainda reduzido em comparação aos

valores de referência, uma nova dose era administrada a fim de corrigir o nível fisiológico.

3.8 Protocolo de Treinamento Físico

Após as avaliações iniciais, os grupos TR e TRT foram submetidos a um período de 16 semanas de treinamento físico aeróbio supervisionado em cicloergometro, com uma frequência de 3 sessões semanais e duração de 70 minutos por sessão, sendo:

- 5 minutos de aquecimento;
- 40 minutos de exercício aeróbio, com intensidade entre o limiar anaeróbio (LA) e o ponto de compensação respiratório (PCR), que foi aferida pela frequência cardíaca;
- 20 minutos de exercício resistido;
- 5 minutos de relaxamento.

3.9 Análise estatística

Os dados estão apresentados como média \pm erro padrão da média.

O teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para testar a distribuição de normalidade das variáveis.

A distribuição da etiologia da insuficiência cardíaca e dos medicamentos utilizados foi avaliada pelo teste de Qui-quadrado (X^2).

As características físicas, fração de ejeção do ventrículo esquerdo e antígeno prostático específico (PSA) no momento pré-intervenção entre os grupos foram testadas por análise de variância de um fator (ANOVA). Análise de variância de um

fator, também foi utilizada para o delta da frequência cardíaca de recuperação (momento pós – momento pré).

O efeito das intervenções sobre o nível hormonal de testosterona, atividade nervosa simpática muscular, fluxo sanguíneo do antebraço, condutância vascular do antebraço, capacidade funcional, composição corporal, conteúdo mineral ósseo, qualidade de vida e área de secção transversa das fibras musculares foram testadas pela análise de variância de dois fatores (ANOVA) para medidas repetidas para avaliar diferenças inter e entre grupos. Em caso de diferença significativa, foi realizada a comparação de *Post-hoc* de *Scheffè*. Foi aceito como diferença significativa $P \leq 0,05$.

3.10 Comissão de ética

O presente estudo foi submetido à comissão de ética para análise de projetos de pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (CAPPesq), e aprovado sobre o registro nº 1508, projeto nº 0892/07.

4 RESULTADOS

4.1 Pré-intervenção

Não houve diferença significativa entre os grupos para as características físicas considerando idade, peso, altura, índice de massa corporal (IMC), fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE), antígeno prostático específico (PSA), classe funcional e etiologia da insuficiência cardíaca (Tabela 2). Todos os pacientes dos grupos T e TRT não apresentaram nenhuma alteração (nódulos) ao exame de próstata sendo liberados para o início da reposição hormonal.

Tabela 2. Características físicas e clínicas em homens com insuficiência cardíaca.

Variáveis	Treino (TR) (n=9)	Testosterona (T) (n=8)	Treino+Testosterona (TRT) (n=7)	P
Idade, anos	54±4	51±4	52±3	0,87
Peso, kg	73±4	69±7	83±7	0,25
Altura, m	1,67±0,02	1,65±0,03	1,68±0,03	0,76
IMC, kg/m ²	26±2	25±2	30±2	0,19
FEVE, %	28±2	28±4	22±2	0,24
PSA total, ng/mL	-	0,80±0,15	1,04±0,25	0,40
Classe funcional III	9	8	7	
<i>Etiologia</i>				0,72
Isquêmico	5	4	3	
Chagas	1	2	1	
Idiopático	1	2	1	
Alcoólica	1	0	0	
Hipertensiva	1	0	2	

IMC=índice de massa corporal; FEVE=fração de ejeção do ventrículo esquerdo; PSA=antígeno prostático específico.

Não observamos diferença significativa no uso dos medicamentos entre os grupos, exceto para a Hidralazina que foi maior no grupo TRT (Tabela 3). O tratamento medicamentoso antes e após o período de 4 meses não sofreu alteração.

Tabela 3. Medicação utilizada em pacientes com insuficiência cardíaca durante o estudo.

Tratamento	Treino (TR) (n=9)	Testosterona (T) (n=8)	Treino+Testosterona (TRT) (n=7)	P
β-bloqueador, N	9	8	7	-
Inibidor ECA, N	7	4	6	0,27
Inibidor AT1, N	1	3	2	0,44
Diurético, N	8	7	5	0,60
Digoxina, N	2	4	0	0,08
Espironolactona, N	6	3	4	0,48
Hidralazina, N	2	3	6	0,03

ECA=enzima conversora de angiotensina.

4.2 Efeito da reposição de testosterona

Após o início do tratamento com reposição de testosterona (undecilato de testosterona), os grupos T (Figura 8) e TRT (Figura 9) apresentaram significativo aumento da testosterona total e livre em comparação ao momento pré.

Não observamos diferença na resposta ao tratamento hormonal de testosterona entre os grupos T e TRT (Figura 10). Portanto, ambos os grupos apresentaram testosterona dentro dos valores de normalidade e semelhantes ao longo do período de 4 meses.

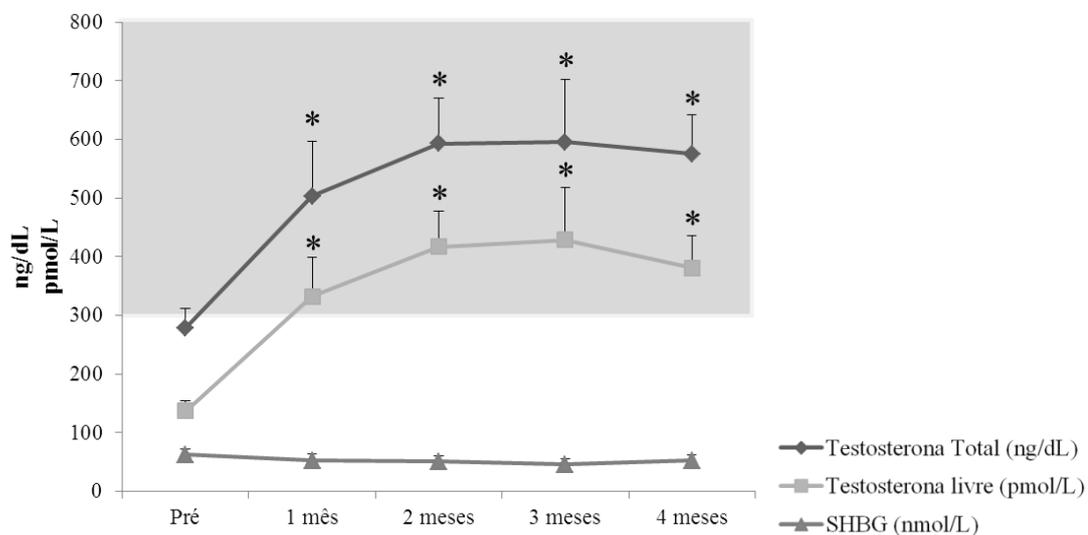


Figura 8. Efeito da reposição de testosterona no grupo Testosterona (T). Faixa cinza representa valor de normalidade. $*=p<0,05$ vs. pré

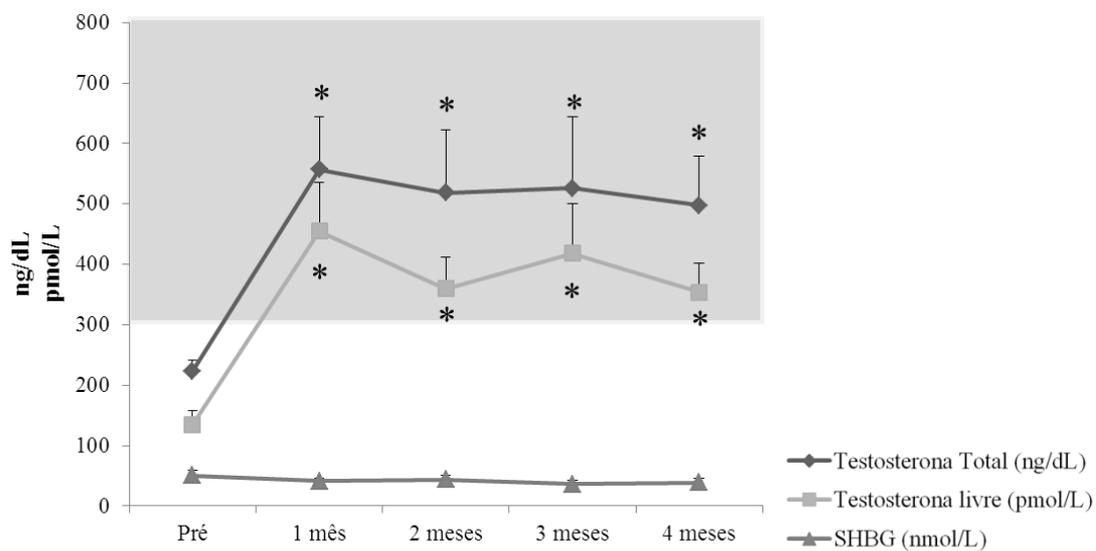


Figura 9. Efeito da reposição de testosterona no grupo Treino+Testosterona (TRT). Faixa cinza representa valor de normalidade. $*=p<0,05$ vs. pré

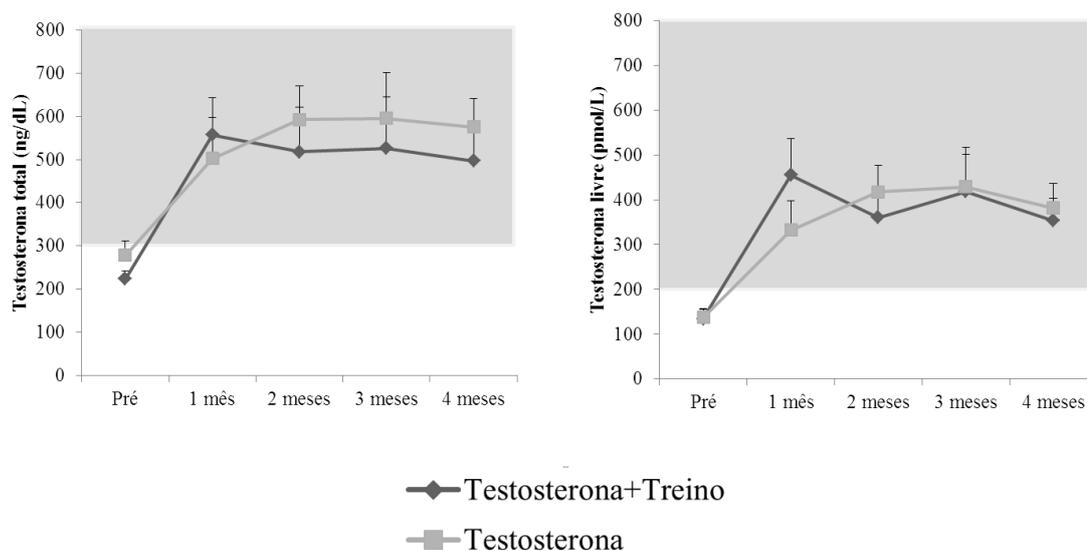


Figura 10. Comparação da reposição de testosterona entre os grupos Testosterona (T) e Treino+Testosterona (TRT). Faixa cinza representa valor de normalidade. Note que não houve diferença entre os grupos.

Nenhum paciente apresentou efeitos colaterais com a reposição de testosterona, o que nos mostra ser uma terapia eficiente e segura. Apenas dois pacientes relataram dor muscular no local da injeção que cedeu 2 ou 3 dias após a aplicação.

4.3 Efeito das intervenções sobre o nível hormonal de testosterona

Após 4 meses de protocolo, os níveis de testosterona total (Figura 11) e testosterona livre (Figura 12) foram restaurados em todos os grupos. Observe que o grupo TR, que não foi submetido à reposição exógena de testosterona, foi capaz de restaurar os níveis séricos de testosterona total e livre, mostrando o benefício do exercício isolado em restaurar a via fisiológica de produção anabólica de testosterona.

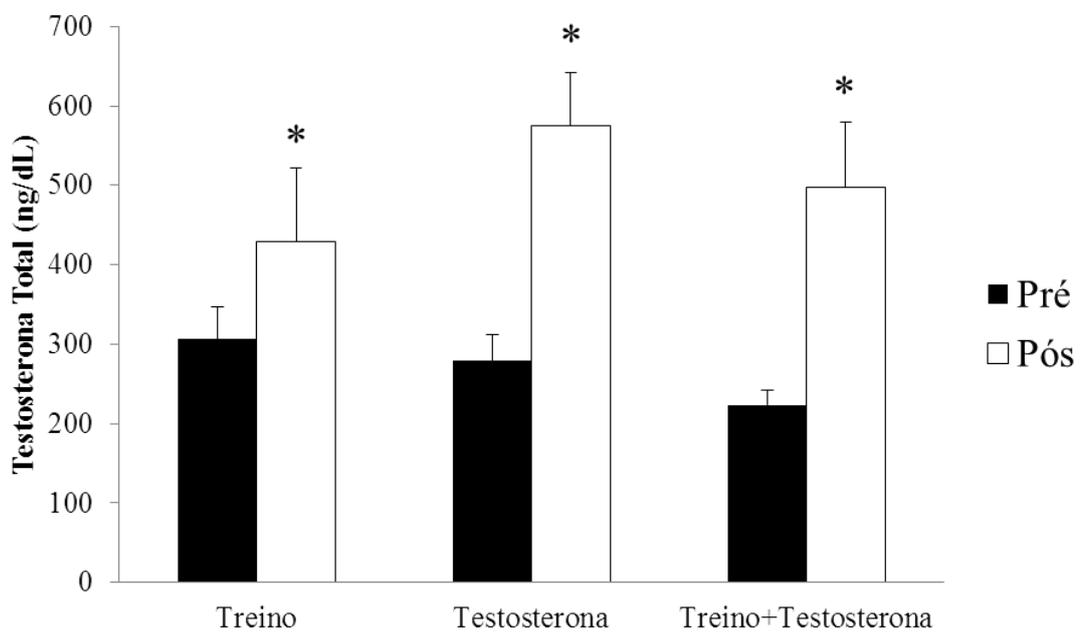


Figura 11. Efeito do tratamento pré e pós nos níveis hormonais de testosterona total. * vs. pré, $p=0,0001$.

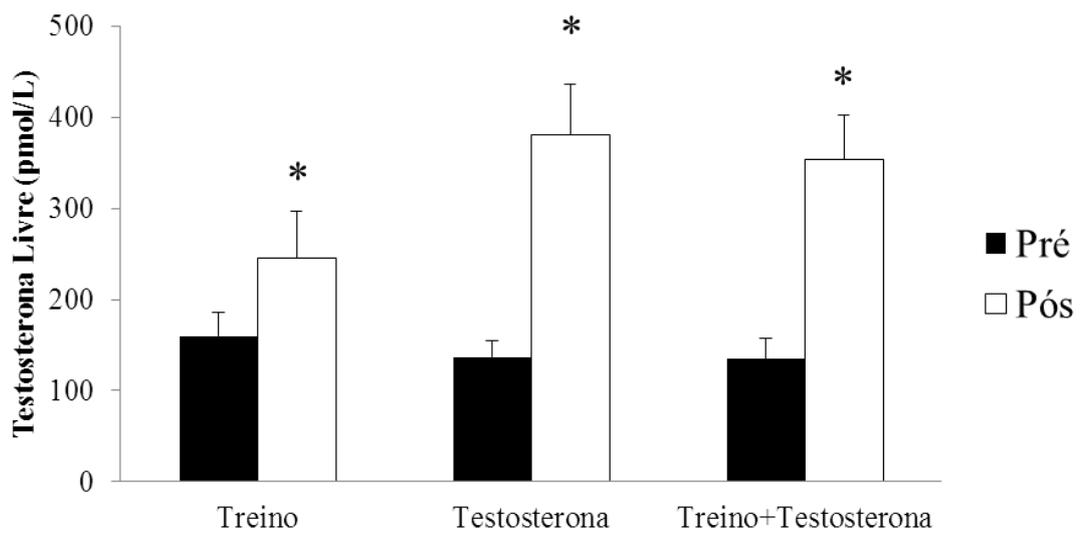


Figura 12. Efeito do tratamento pré e pós nos níveis hormonais de testosterona livre. * vs. pré, $p<0,0001$.

4.4 Efeito das intervenções na atividade nervosa simpática muscular.

Os níveis de atividade nervosa simpática muscular em disparos por minuto apresentou redução apenas nos grupos TR e TRT (Figura 13). Entretanto, quando a atividade nervosa simpática foi corrigida por 100 batimentos cardíacos, houve redução significativa apenas no grupo TRT (Figura 14).

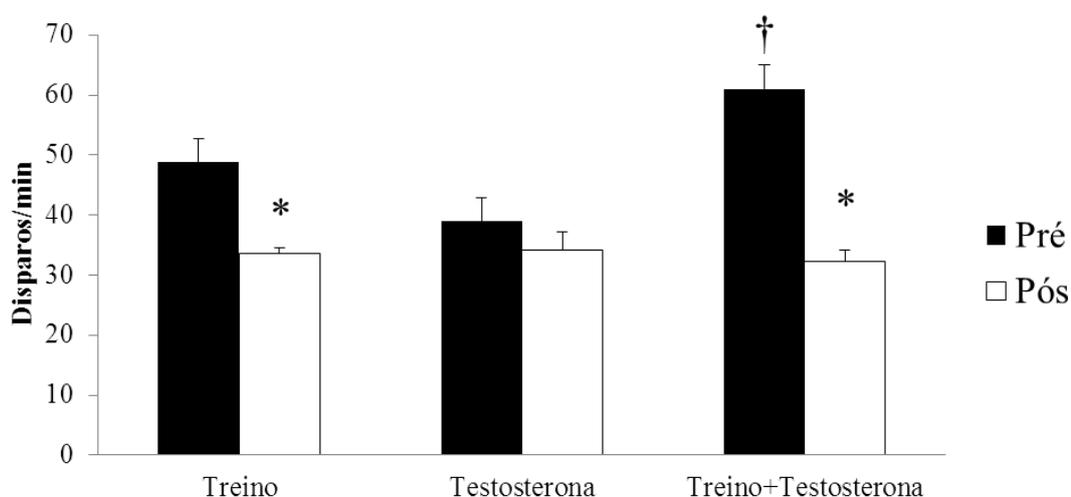


Figura 13. Efeito do tratamento pré e pós na atividade nervosa simpática. * vs. pré, $p < 0,05$; † vs. grupo testosterona pré, $p = 0,001$.

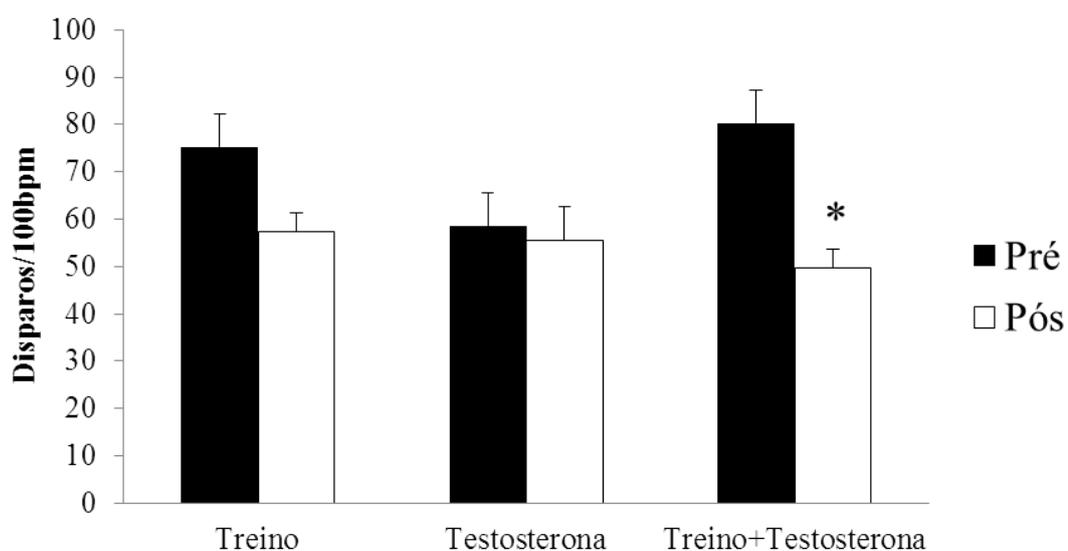


Figura 14. Efeito do tratamento pré e pós na atividade nervosa simpática muscular/100 bpm. * vs. pré, $p < 0,05$.

4.5 Efeito das intervenções no fluxo sanguíneo muscular.

Não observamos mudança inter e entre grupos no fluxo sanguíneo do antebraço, na condutância vascular do antebraço, na pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica e pressão arterial média para os grupos TR, T e TRT. Entretanto, a frequência cardíaca reduziu em todos os grupos após 4 meses de intervenção (Tabela 4).

Tabela 4. Fluxo sanguíneo do antebraço, condutância vascular do antebraço, pressão arterial e frequência cardíaca.

Variáveis		Treino	Testosterona	Treino+Testosterona
		(TR)	(T)	(TRT)
		(n=9)	(n=8)	(n=7)
FSA, mL/min/100mL	Pré	1,67±0,7	1,79±0,09	1,49±0,18
	Pós	1,86±0,19	1,63±0,25	1,47±0,18
CVA, unidades	Pré	2,06±0,24	2,23±0,15	1,82±0,20
	Pós	2,26±0,25	1,96±0,30	1,64±0,20
PAS, mmHg	Pré	112±4	115±6	115±4
	Pós	117±5	122±7	126±7
PAD, mmHg	Pré	68±3	65±3	65±5
	Pós	68±2	67±3	72±3
PAM, mmHG	Pré	82±3	82±4	83±6
	Pós	84±3	86±6	91±5
FC, bpm	Pré	67±5	69±4	78±6
	Pós	62±5*	62±3*	66±4*

FSA=fluxo sanguíneo do antebraço; CVA=condutância vascular do antebraço; PAS=pressão arterial sistólica; PAD=pressão arterial diastólica; PAM=pressão arterial média; FC=frequência cardíaca. * vs. pré, p=0,01

4.6 Efeito das intervenções na capacidade funcional

O consumo máximo de oxigênio absoluto (Figura 15) e relativo (Figura 16) apresentou aumento quando comparado ao momento pré em todos os grupos. Entretanto, apenas o grupo TRT apresentou melhora na potência máxima, avaliada em watts. A potência máxima foi significativamente maior no grupo TRT após 4 meses de tratamento e foi maior quando comparado aos grupo TR e T no momento pós (Figura 17).

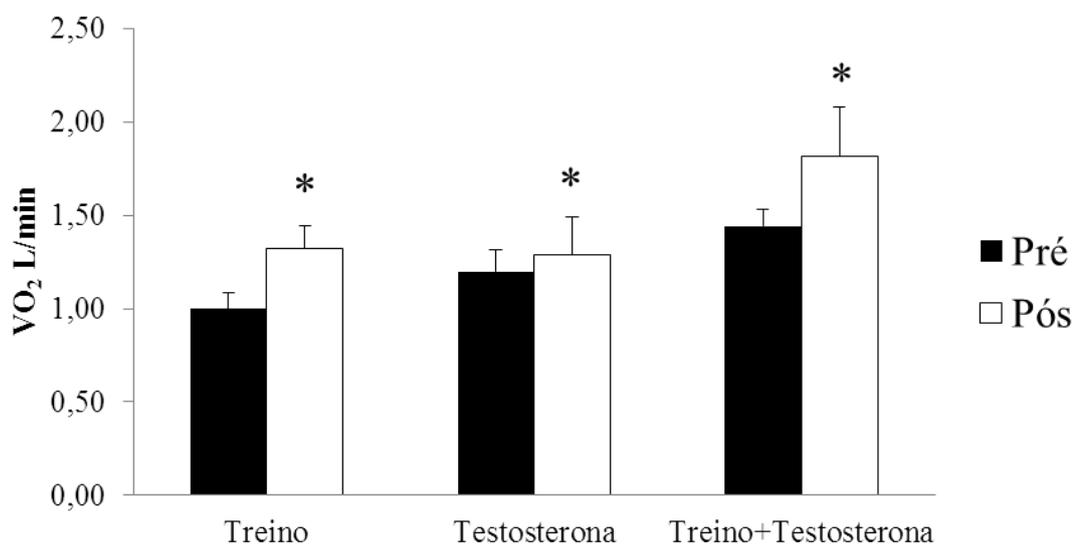


Figura 15. Efeito do tratamento pré e pós no VO₂ absoluto. * vs. pré, p<0,01.

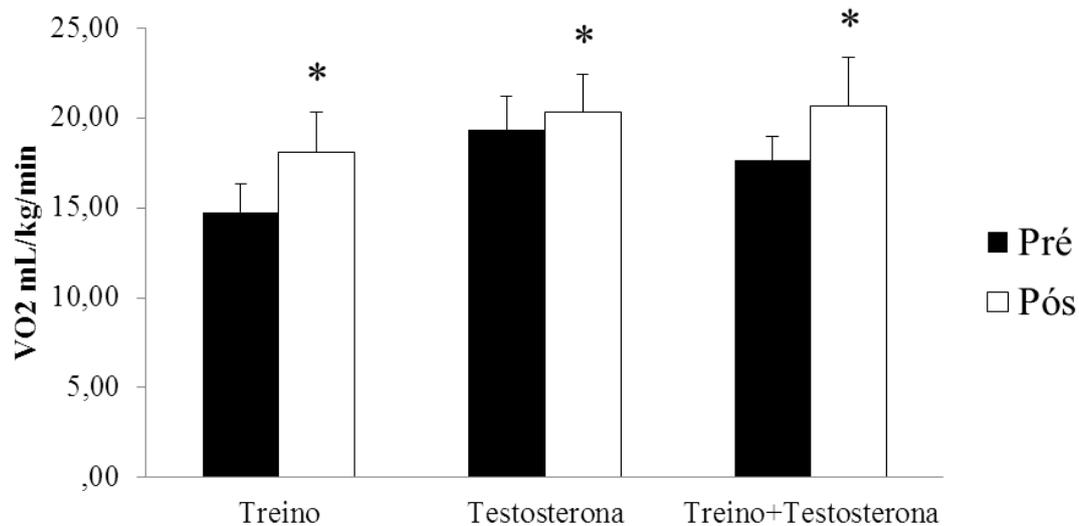


Figura 16. Efeito do tratamento pré e pós no VO_2 relativo. * vs. pré, $p < 0,01$.

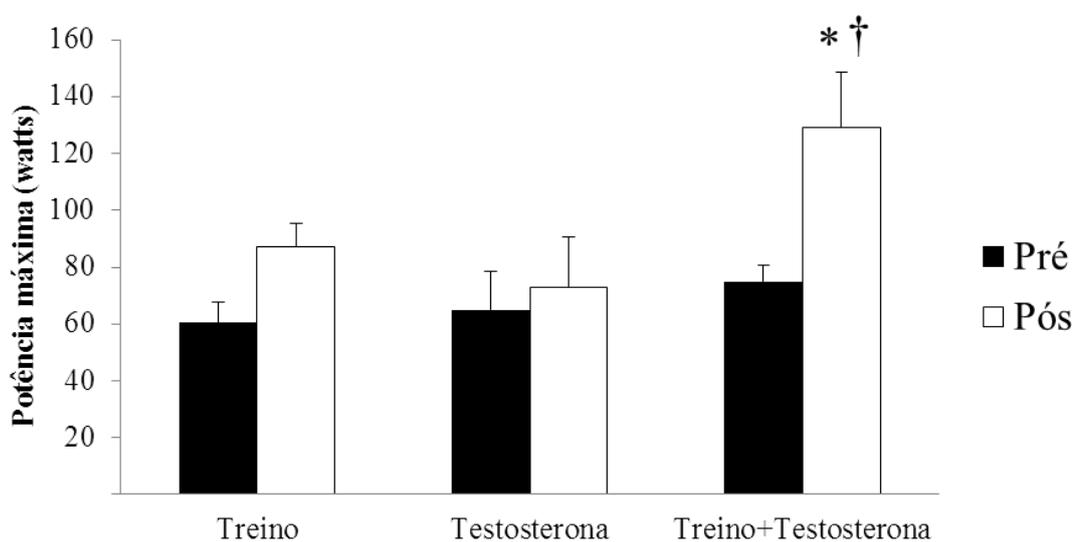


Figura 17. Efeito do tratamento pré e pós na potência máxima em watts. * vs. pré, $p = 0,001$; † vs. grupo treino e testosterona pós, $p < 0,001$.

Observamos também, que o delta da frequência cardíaca de recuperação (momento pós – momento pré) após o teste cardiopulmonar máximo – um importante marcador autonômico parassimpático – nos grupos TR e TRT, apresentou maior delta de queda após 4 meses quando comparado ao grupo T. O mesmo efeito não foi observado no grupo apenas com reposição hormonal (grupo T). Esse efeito nos grupos TR e TRT ocorreu tanto para o 1º minuto ($p<0,01$) quanto para o 2º minuto ($p<0,01$) de recuperação (Figura 18).

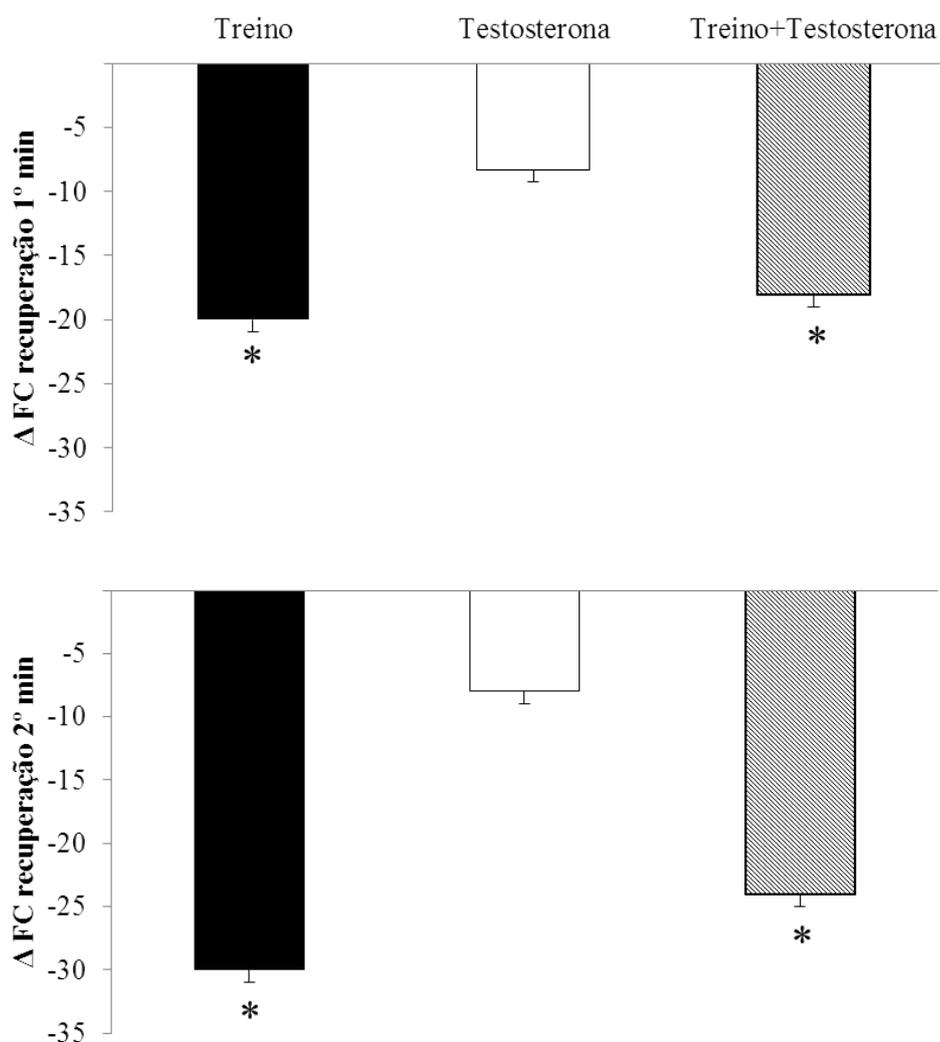


Figura 18. Efeito do tratamento no delta da frequência cardíaca de recuperação de 1º minuto e 2º minuto. * vs. grupo testosterona pós, $p<0,01$.

4.7 Efeito das intervenções na composição corporal (DEXA)

Houve diferença significativa no peso corporal entre os grupos TR e TRT quando comparado ao grupo T no momento pré e pós (Figura 19). Não observamos nenhuma mudança no peso corporal no grupo T após 4 meses.

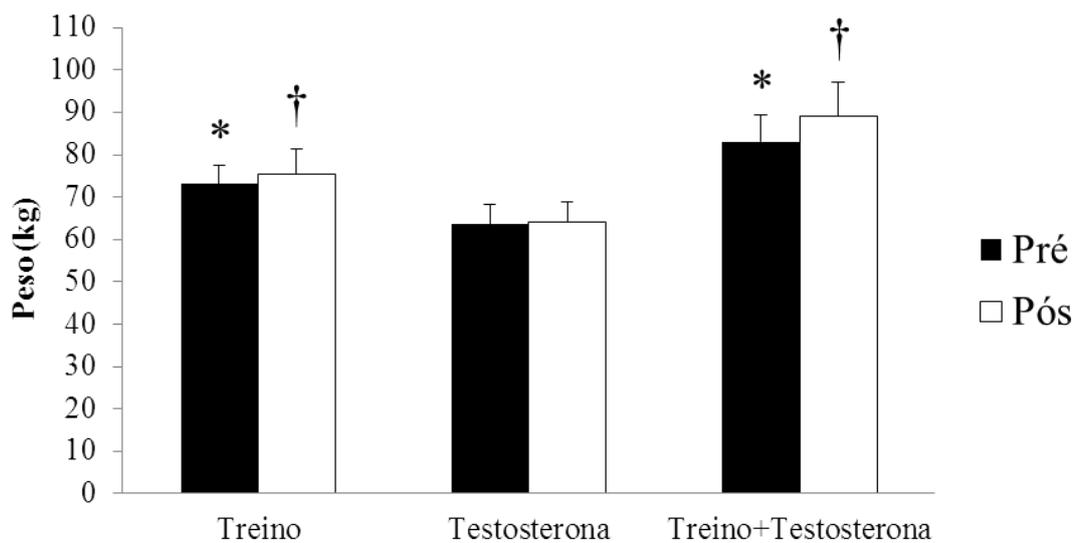


Figura 19. Efeito do tratamento pré e pós no peso corporal. * vs. grupo testosterona pré, $p < 0,007$; † vs. grupo testosterona pós, $p < 0,001$.

A massa magra total (kg) apresentou aumento nos grupos TR e TRT quando comparado ao grupo T no momento pré e pós. Apenas o grupo TRT apresentou aumento da massa magra após 4 meses (Figura 20).

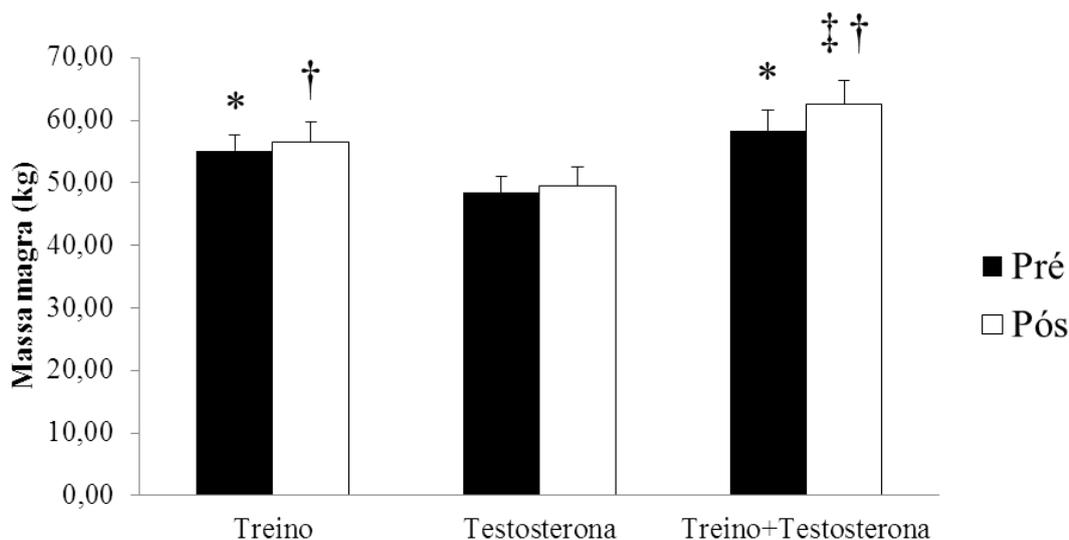


Figura 20. Efeito do tratamento pré e pós na massa magra total. * vs. grupo testosterona pré, $p < 0,001$; † vs. grupo testosterona pós, $p < 0,001$; ‡ vs. grupo treino+testosterona pré, $p = 0,02$.

Houve diferença significativa na massa magra de tronco (kg) entre os grupos TR e TRT quando comparado ao grupo T no momento pré e pós (Figura 21). Não observamos nenhuma mudança no peso corporal no grupo T após 4 meses.

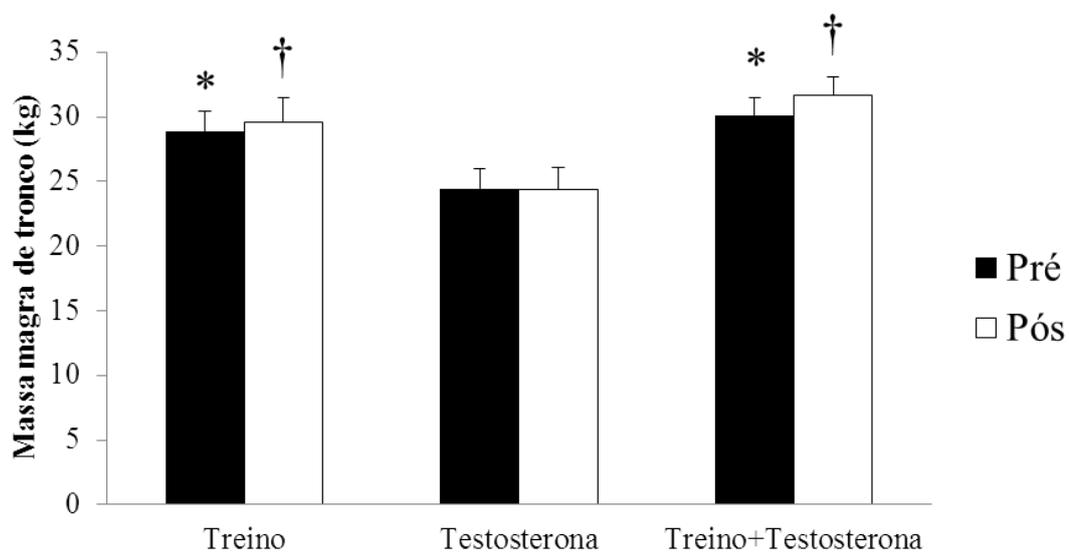


Figura 21. Efeito do tratamento pré e pós na massa magra de tronco. * vs. grupo testosterona pré, $p < 0,007$; † vs. grupo testosterona pós, $p < 0,001$.

A massa magra da perna esquerda (kg) apresentou aumento nos grupos TR e TRT quando comparado ao grupo T no momento pré e pós. Apenas o grupo TRT apresentou aumento da massa magra da perna esquerda após 4 meses (Figura 22).

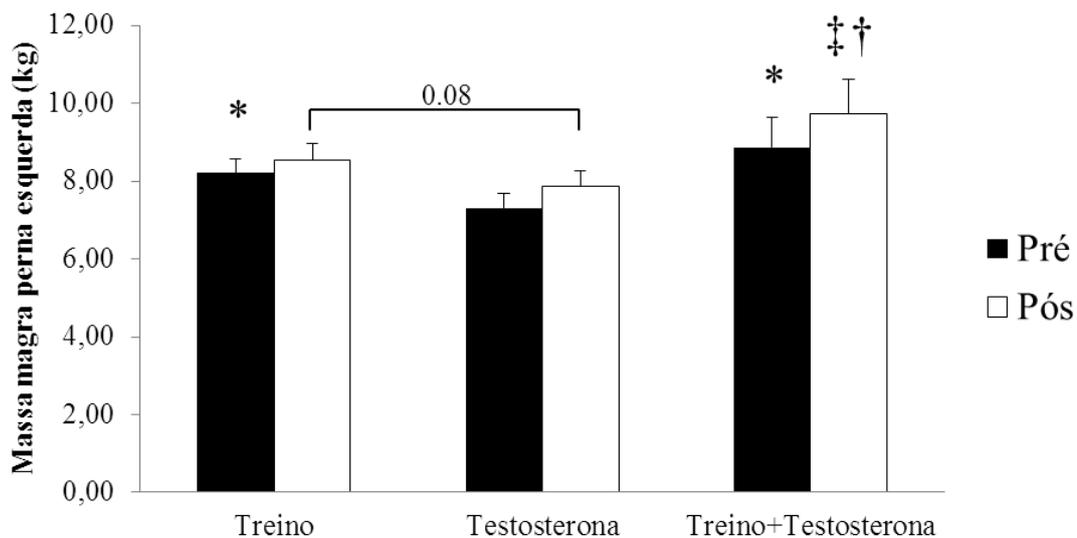


Figura 22. Efeito do tratamento pré e pós na massa magra da perna esquerda. * vs. grupo testosterona pré, $p < 0,001$; † vs. grupo testosterona pós, $p < 0,001$; ‡ vs. grupo treino+testosterona pré, $p < 0,01$.

A gordura corporal (kg) foi diferente no grupo TRT quando comparado ao grupo T no momento pré e pós. Não observamos mudança na gordura para os grupos TR e T (Figura 23).

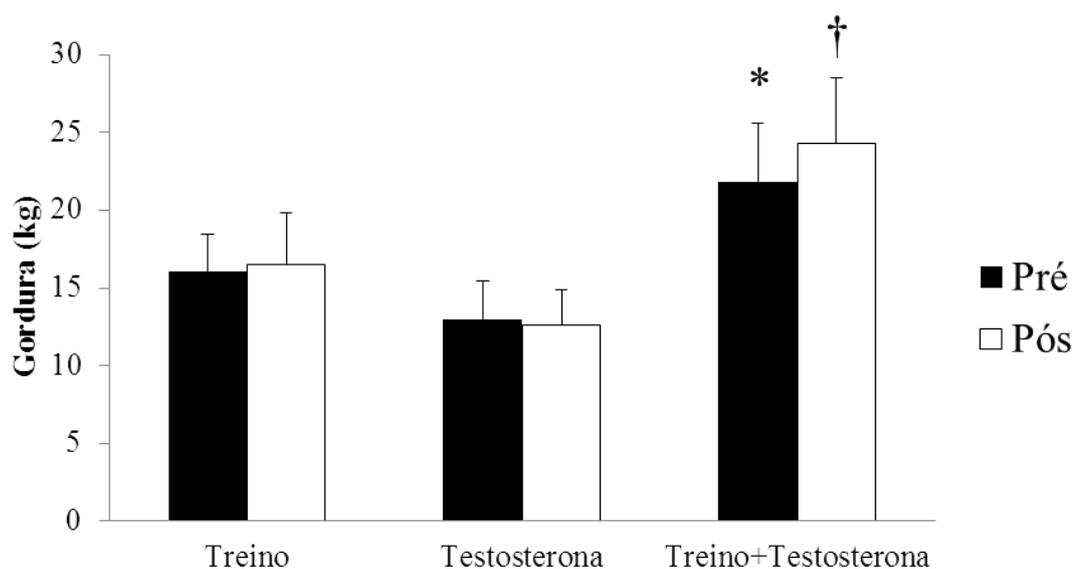


Figura 23. Efeito do tratamento pré e pós na gordura corporal. * vs. grupo testosterona pré, $p < 0,001$; † vs. grupo testosterona pós, $p < 0,001$.

Não houve diferença significativa inter grupos para o conteúdo mineral ósseo após 4 meses de tratamento. O grupo TRT apresentou maior conteúdo mineral ósseo quando comparado ao grupo T no momento pré e pós para o braço direito e perna esquerda (Tabela 5).

Tabela 5. Conteúdo Mineral Ósseo (CMO) em pacientes com insuficiência cardíaca pré e pós tratamento.

Variáveis		Treino	Testosterona	Treino+Testosterona
		(TR)	(T)	(TRT)
		(n=9)	(n=8)	(n=7)
CMO braço esquerdo, g	Pré	0,18±0,01	0,18±0,01	0,20±0,01
	Pós	0,18±0,01	0,17±0,01	0,20±0,01
CMO braço direito, g	Pré	0,18±0,01	0,18±0,01	0,21±0,01*
	Pós	0,18±0,01	0,17±0,01	0,21±0,01†
CMO tronco, g	Pré	0,55±0,03	0,54±0,07	0,62±0,06
	Pós	0,55±0,04	0,48±0,04	0,64±0,06
CMO perna esquerda, g	Pré	0,45±0,02	0,45±0,05	0,50±0,04*
	Pós	0,45±0,02	0,40±0,02	0,48±0,03†
CMO perna direita, g	Pré	0,44±0,02	0,45±0,04	0,48±0,04
	Pós	0,43±0,02	0,40±0,02	0,47±0,04

CMO=conteúdo mineral ósseo. * vs. grupo testosterona pré, p<0,01; † vs. grupo testosterona pós, p<0,01

4.8 Efeito das intervenções na área de secção transversa das fibras musculares

A média do número de fibras avaliadas foi de 297 fibras por paciente.

Após 4 meses, foi demonstrado um aumento na área de secção transversa (AST) das fibras tipo I (oxidativa) no grupo TRT. Além disso, o grupo TRT apresentou aumento significativo das fibras tipo I quando comparado aos grupos TR pós e T pós (Figura 24). Houve uma tendência de redução das fibras tipo I no grupo T ($p=0,06$).

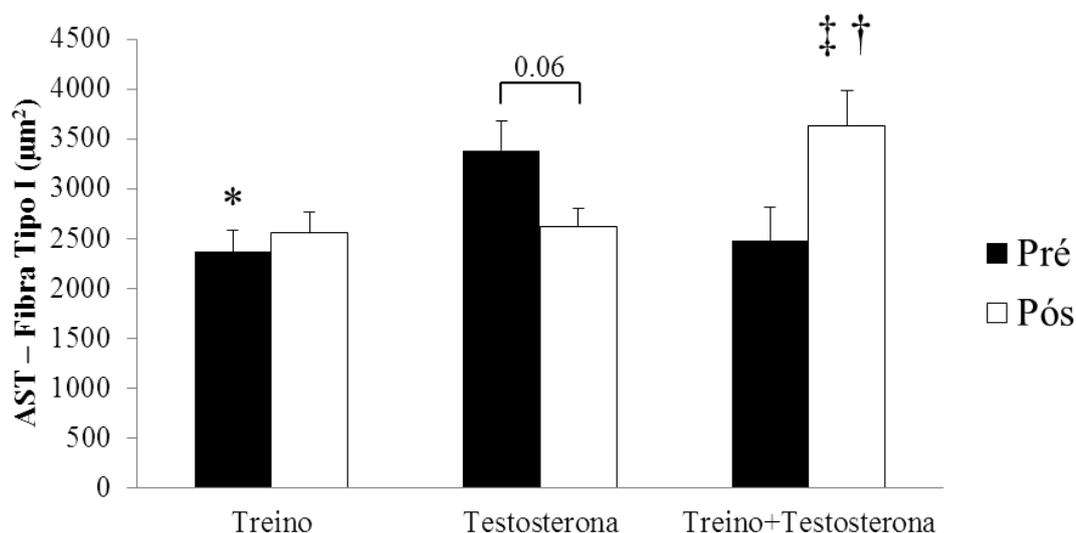


Figura 24. Efeito do tratamento pré e pós nas fibras tipo I. * vs. grupo testosterona pré, $p=0,04$; † vs. grupos treino e testosterona pós, $p<0,03$; ‡ vs. grupo treino+testosterona pré, $p<0,04$. AST=área de secção transversa. Treino ($n=7$), Testosterona ($n=6$) e Treino+Testosterona ($n=5$).

Não observamos mudança significativa nas fibras tipo híbridas/IIX (oxidativa-glicolítica) após 4 meses de intervenção. Houve apenas uma tendência de aumento da área de secção transversa das fibras híbridas/IIX no grupo TR e TRT (Figura 25).

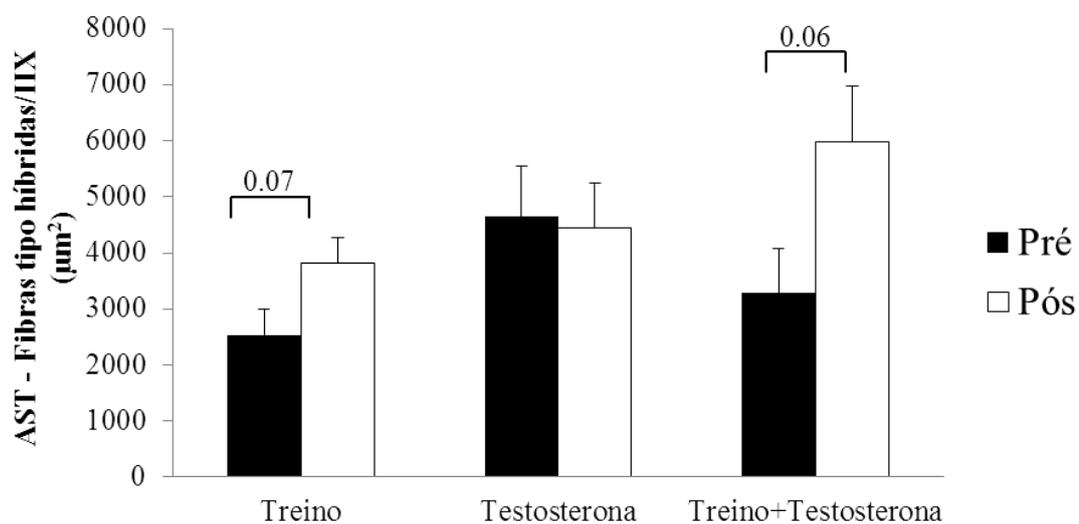


Figura 25. Efeito do tratamento pré e pós nas fibras tipo híbridas/IIX. Treino (n=7), Testosterona (n=6) e Treino+Testosterona (n=5).

Da mesma maneira, as fibras do tipo IIX (glicolítica) apresentaram uma tendência de aumento da área de secção transversa para o grupo TRT (Figura 26).

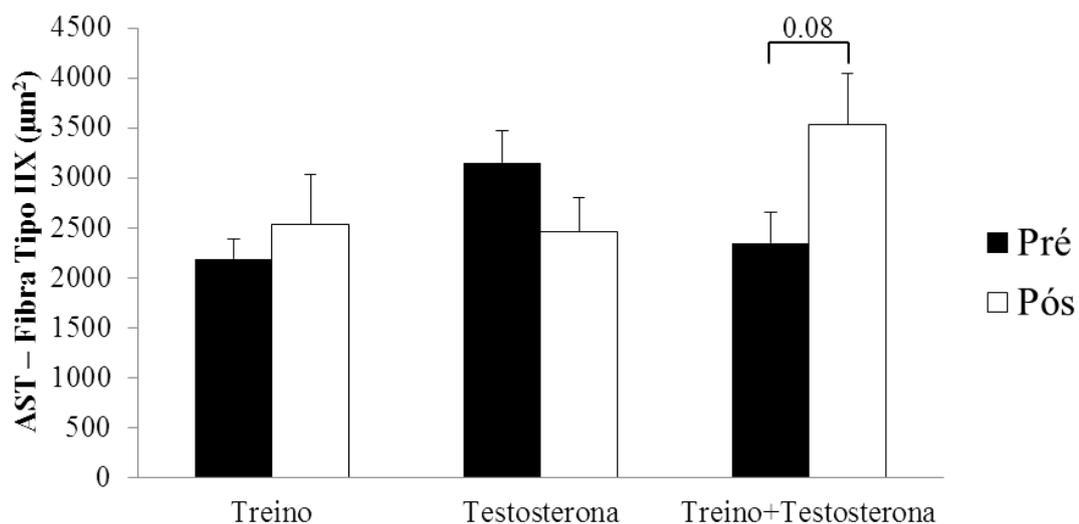


Figura 26. Efeito do tratamento pré e pós nas fibras tipo IIX. Treino (n=7), Testosterona (n=6) e Treino+Testosterona (n=5).

4.9 Efeito das intervenções nos tipos de fibras musculares

Não observamos diferença significativa para a distribuição (porcentagem) dos tipos de fibras musculares após 4 meses de tratamento entre os grupos (Tabela 6).

Tabela 6. Porcentagem dos tipos de fibras musculares após 4 meses.

Variáveis		Treino (TR) (n=7)	Testosterona (T) (n=6)	Treino+Testosterona (TRT) (n=5)
Tipo I, %	Pré	44±14	46±11	50±8
	Pós	46±9	47±4	49±10
Tipo híbrida/IIX, %	Pré	27±9	37±9	51±8
	Pós	40±9	53±4	52±10
Tipo IIX, %	Pré	26±9	34±9	49±8
	Pós	28±7	46±4	48±10

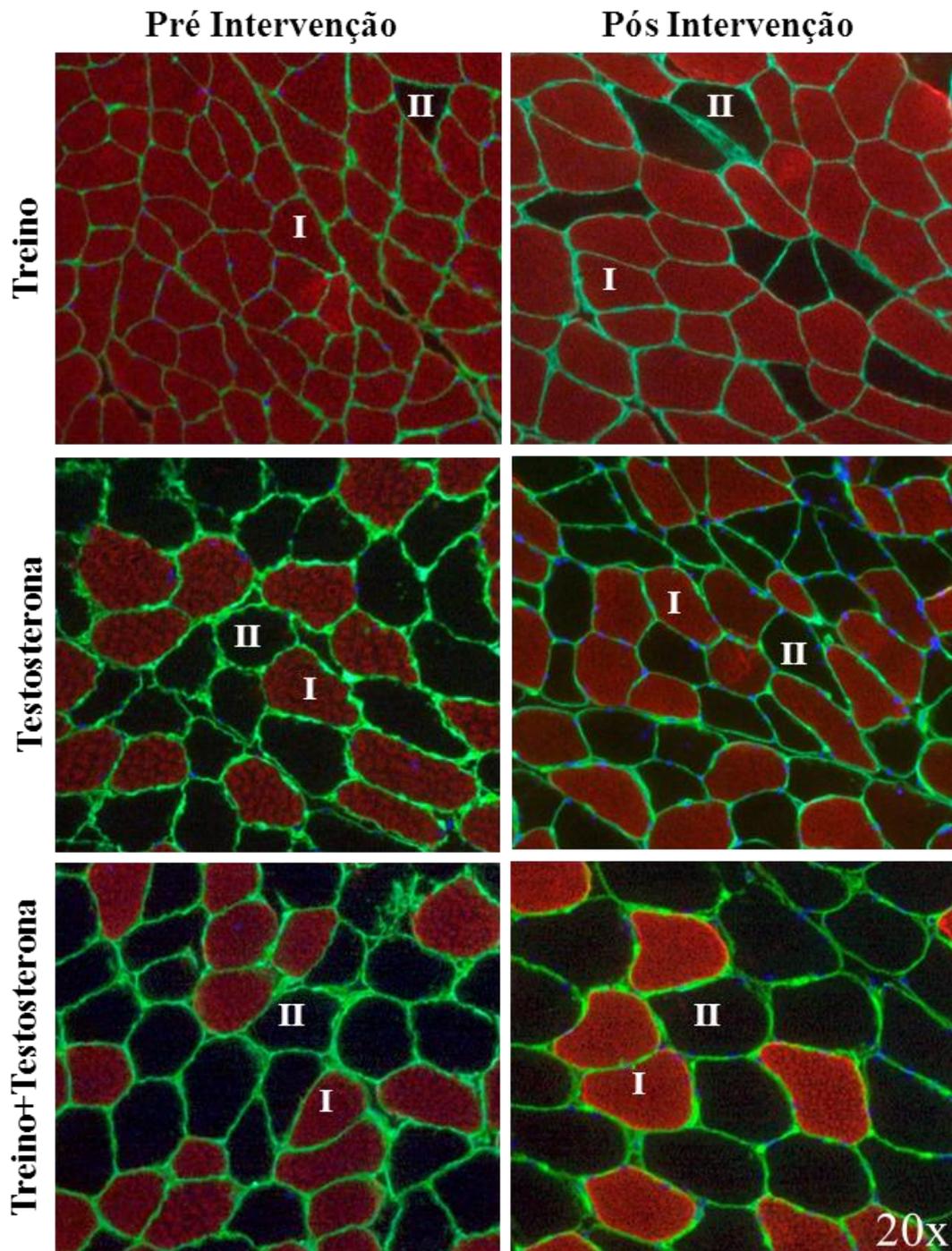


Figura 27. Imunohistoquímica pré e pós intervenção da área de secção transversa e tipos de fibra muscular do músculo vasto-lateral (perna esquerda) de um paciente por grupo. I=fibras tipo I (oxidativa) e II=fibras do tipo II (glicolítica)

4.10 Efeito das intervenções na qualidade de vida (Minnessota)

A avaliação pelo questionário de Minnessota, após 4 meses de tratamento, mostrou melhora na qualidade de vida nos grupos TR e TRT, o que não ocorreu para o grupo T (Figura 27).

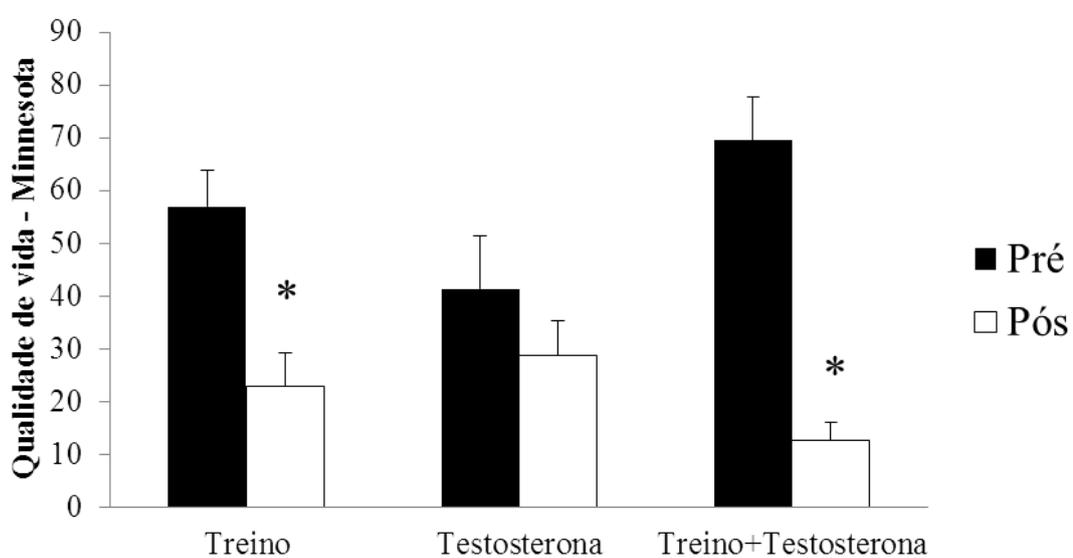


Figura 28. Efeito do tratamento pré e pós na qualidade de vida. * vs. pré, $p < 0,01$.

4.11 Sumário dos resultados

Nossos principais resultados pré e pós intervenção podem ser observados pelo resumo abaixo:

	<i>Treino</i>	<i>Testosterona</i>	<i>Treino+Testosterona</i>
<i>NHT</i>	↑	↑	↑
<i>ANSM</i>	↓	→	↓↓
<i>FSA</i>	→	→	→
<i>CVA</i>	→	→	→
<i>VO₂</i>	↑	↑	↑
<i>P(w)</i>	→	→	↑↑
<i>MMT</i>	→	→	↑↑
<i>FTI</i>	→	→	↑↑
<i>QLV</i>	↑	→	↑

NHT=nível hormonal de testosterona; ANSM=atividade nervosa simpática muscular; FSM=fluxo sanguíneo do antebraço; CVA=condutância vascular do antebraço; VO₂=consumo de oxigênio pico; P(w)=potência máxima em watts; MMT(kg)=massa magra total; FTI=fibra tipo I e QLV=qualidade de vida

↑ = aumento ↓ = diminuição → = semelhante

5 DISCUSSÃO

O principal resultado encontrado no presente estudo foi que o treinamento físico aeróbio isolado (grupo TR) foi capaz de restaurar os níveis hormonais anabólico de testosterona, reduzir a atividade nervosa simpática muscular (em disparos por minuto), melhorar a capacidade funcional e a massa magra muscular. Porém, isoladamente o exercício físico não foi capaz de aumentar a área de secção transversa das fibras musculares tipo I e IIX. Por outro lado, para as variáveis estudadas, apenas a reposição de testosterona, se mostrou menos eficiente. Observamos que esta intervenção foi capaz de melhorar apenas a capacidade funcional, porém em menor magnitude quando comparado aos grupos que foram submetidos ao treinamento físico. Outro achado importante foi que a composição corporal, avaliada pelo peso corporal e pela massa magra muscular total, apresentou redução no grupo Testosterona (T), tanto no momento pré, quanto no momento pós, quando comparado aos grupos TR e TRT. Além disso, o grupo T sofreu redução das fibras do tipo I (oxidativa) quando comparado ao grupo TRT. De fato, no grupo treinamento físico associado à terapia de testosterona (grupo TRT), observamos redução da atividade nervosa simpática e conseqüente aumento na capacidade funcional, na força muscular (watts), na massa magra, nas fibras musculares tipo I e melhora na qualidade de vida.

É bem conhecido na literatura que pacientes com insuficiência cardíaca e deficiência na produção de testosterona apresenta maior taxa de mortalidade no acompanhamento de 3 anos, quando comparado a pacientes sem deficiência hormonal anabólica¹⁴. A queda na produção de testosterona em homens com insuficiência cardíaca está diretamente relacionada à piora da classe funcional e

representa por volta de 25 a 30% desta população¹⁴. O desequilíbrio entre anabolismo e catabolismo, favorece a perda acentuada da massa magra muscular e isso traz implicações negativas no prognóstico clínico do paciente²⁸. Esta perda de massa magra, também conhecida como caquexia muscular (perda não intencional maior que 6 kg de massa magra nos últimos 6 meses²⁸) colabora para perda de força, redução da capacidade funcional, aumento do risco de fraturas e piora na qualidade de vida do paciente²⁹. Nos últimos anos, a terapia de reposição de testosterona em pacientes com insuficiência cardíaca tem se mostrado promissor^{4, 9, 16, 17}. Estudo aponta que a reposição de testosterona em homens com insuficiência cardíaca, parece ter benefícios somente naqueles indivíduos com redução dos níveis fisiológicos de produção endógena¹⁶. A melhora na capacidade funcional, na resistência à insulina e na sensibilidade baroreflex com a reposição intramuscular de testosterona, não foi eficiente nos pacientes com níveis de testosterona dentro da normalidade. Portanto, esta estratégia terapêutica se mostra importante, mas apenas em pacientes com hipogonadismo diagnosticado¹⁶. Um problema observado nos estudos com reposição de testosterona na população com insuficiência cardíaca é que eles não deixam claro qual foi o critério hormonal inicial, ou seja, se os pacientes apresentavam níveis abaixo da normalidade^{4, 17, 18}. Porém, esta terapêutica é eficiente para melhorar a tolerância ao exercício, avaliado pelo teste de caminhada de 6 minutos¹⁶ e pelo aumento da distância percorrida pelo *shuttle walk test*⁴, quando comparado ao grupo placebo. Esta melhora funcional é acompanhada pelo aumento do consumo de oxigênio e pelo aumento da força voluntária máxima em pacientes tratados com testosterona¹⁶. Em nosso estudo, também observamos aumento no consumo de oxigênio no grupo T (Testosterona). Este aumento da capacidade funcional é

independente da melhora da função cardíaca¹⁷. Os mecanismos que levam a esta melhora, talvez estejam mais relacionados as adaptações musculares periféricas³⁰. Porém, em nosso estudo não observamos melhora significativa na massa magra muscular avaliada pela DEXA no grupo T e também não houve aumento das fibras do tipo I para este grupo.

Uma grande preocupação da comunidade científica quanto à reposição de testosterona em homens é o risco de desenvolvimento de câncer de próstata. Em 1941 surgiu o primeiro relato na literatura apontando que a redução da testosterona, induzida por castração, reduzia o câncer de próstata, enquanto a administração de testosterona poderia levar ao aumento do risco de câncer neste órgão³¹. Contudo, até o momento não existe uma clara relação entre altos níveis séricos de testosterona e câncer³². Estudos recentes apontam que a relação entre hormônio androgênico e câncer de próstata está longe de ser uma realidade^{33, 34}. Uma metanálise com 18 estudos, envolvendo 3866 homens com incidência de câncer de próstata e 6438 controles, representou 95% de todos os estudos publicados até 2008³⁵. O principal achado desta metanálise foi que não houve associação entre câncer de próstata e os hormônios androgênicos estudados, como testosterona livre, testosterona total, dihidrotestosterona (DHT), androstenediona, sulfato de deidroepiandrosterona (DHEA-S) e estradiol. Na verdade, o risco aumentado de câncer de próstata em homens idosos, foi mais correlacionado com os baixos níveis séricos de testosterona³⁵. O efeito da terapia de reposição de testosterona sobre o antígeno prostático específico (PSA) também tem sido alvo de estudos³⁶. É esperado após o início do tratamento de reposição, um pequeno aumento do PSA^{36, 37}. Apesar disso, estes estudos apontam que o aumento é compatível com os níveis fisiológicos (<4

ng/ml). O tratamento de 30 meses com injeção de testosterona intramuscular em 54 homens com hipogonadismo e disfunção erétil, mostrou que apesar do nível hormonal médio ter atingido valores suprafisiológicos (>9,74 ng/ml), o PSA apresentou pequeno aumento e apenas um paciente foi diagnosticado com câncer de próstata. Os autores concluíram que a terapia com testosterona foi associada e pequena variação do PSA e não apresentou qualquer relação com o desenvolvimento de câncer prostático³⁸. Outras formas de administração da testosterona (com adesivo transdérmico) também se mostrou seguro no tratamento em pacientes com hipogonadismo, tanto em relação aos níveis de PSA, quanto ao risco de câncer de próstata³⁷. Em nosso estudo, nós medimos os níveis de PSA no início da intervenção, juntamente com a avaliação do exame de toque retal. Todos os pacientes apresentaram níveis de PSA dentro da normalidade e nenhuma alteração ao exame de próstata foi observada. Durante o protocolo de 4 meses, os níveis de testosterona total e livre permaneceram dentro da normalidade fisiológica e não houve nenhum efeito colateral da reposição intramuscular de testosterona. Para testar a segurança do nosso tratamento, no que diz respeito ao risco de câncer prostático, pretendemos acompanhar longitudinalmente àqueles pacientes que foram submetidos às injeções de testosterona.

O exercício físico tem sido amplamente estudado em pacientes com insuficiência cardíaca^{8, 39}. O exercício é uma terapia não medicamentosa, segura e que traz uma série de melhorias aos pacientes. A atividade nervosa simpática exacerbada é um importante marcador de pior prognóstico na insuficiência cardíaca e o exercício físico modula de forma importante este controle autonômico^{8, 39}. Principalmente o treinamento aeróbio é capaz de reduzir a atividade nervosa

simpática muscular periférica. Os mecanismos dessa redução podem ser explicados pela melhora da sensibilidade baroreflex arterial, melhora do mecanoreflexo e metaboreflexo, melhora da sensibilidade quimioreflexa e dos receptores cardiopulmonares⁴⁰. Assim como nos estudos anteriores, no presente estudo também observados uma importante redução da atividade nervosa simpática muscular, entretanto, essa redução foi significativa apenas nos grupos que foram submetidos ao treinamento físico quando comparado à reposição de testosterona isoladamente. A reposição de testosterona associada ao exercício, não mostrou benefício adicional para redução da atividade simpática. Diferente dos estudos anteriores, nós não observamos melhora no fluxo sanguíneo periférico. Acreditamos que nessa população estudada, por se tratar de pacientes com insuficiência cardíaca avançada, talvez seja necessário maior tempo de tratamento para a melhora do fluxo periférico. É conhecido que a testosterona age na vasodilatação coronariana⁴¹ e em arteríolas³⁰, todavia em nossos pacientes, possivelmente outras forças vasoconstritoras ainda se oponham ao efeito vasodilatador da testosterona.

Jankowska e colaboradores¹³ demonstraram que o nível circulatório de testosterona está diretamente relacionado ao consumo de oxigênio pico (VO_2 pico) e o pulso de oxigênio pico em pacientes com insuficiência cardíaca. De fato, a restauração do nível fisiológico de testosterona no presente estudo, confirma o aumento da capacidade funcional, por meio da avaliação direta do VO_2 pico em todos os grupos. Esse aumento do VO_2 pico também foi demonstrado em estudos anteriores com reposição de testosterona isoladamente¹⁶, assim como uma melhora na força voluntária máxima¹⁶ e na capacidade funcional avaliada por testes de caminhada⁴. Porém, em nosso estudo, o grupo TRT mostrou-se superior quando

comparado ao grupo TR e T em aumentar a máxima potência de força (watts) ao exercício cardiopulmonar máximo. Sabe-se que o consumo de oxigênio depende de fatores centrais e periféricos⁴² e em pacientes com insuficiência cardíaca, mesmo após um período de treinamento físico, a melhora da fração de ejeção do ventrículo esquerdo ainda é controversa⁴³, o que sugere possíveis mecanismos periféricos para explicar a melhora do VO₂ nesses pacientes. De fato, a testosterona induz hipertrofia em fibras do tipo I e tipo II, entretanto, as fibras do tipo I parecem ser mais sensíveis a hormônios anabólicos do que as fibras do tipo II⁴⁴. A administração de testosterona em baixas doses, leva ao aumento da área das fibras tipo I, enquanto altas doses deste hormônio, age também na hipertrofia das fibras tipo II⁴⁵. Estas pesquisas fortalecem nossos achados, uma vez que a maior resposta de hipertrofia observada em nosso estudo foi o aumento nas fibras do tipo I, especialmente no grupo TRT. No grupo T, houve uma tendência na redução das fibras tipo I e IIX, o que sugere que sem o estímulo do exercício físico, a reposição isoladamente não é capaz de manter ou aumentar a hipertrofia muscular esquelética. Todas essas respostas adaptativas de aumento do VO₂ e aumento das fibras tipo I, reforçam a importância das alterações periféricas para melhora da intolerância ao exercício em pacientes com insuficiência cardíaca.

A caquexia cardíaca, muito comum em pacientes com insuficiência cardíaca avançada, é uma síndrome que leva a piora clínica e mortalidade^{10, 28}. O processo natural de envelhecimento leva a uma perda de massa muscular, conhecido como sarcopenia^{46, 47}. No entanto, na insuficiência cardíaca avançada esse processo parece surgir precocemente, levando a um estado de caquexia^{10, 47}. A caquexia está relacionada à perda de massa muscular, bem como redução do tecido adiposo e da

massa óssea, fechando esse estado catabólico. Em um recente estudo com pacientes com insuficiência cardíaca, associando treinamento aeróbio com treinamento de força durante 12 semanas, não foi observado mudança na massa magra total, na massa magra de perna e na gordura corporal⁴⁸. A maior parte dos pacientes desse estudo estava em classe funcional II, o que pode sugerir, que as adaptações ao treinamento físico parece ser mais expressivas em pacientes com maior comprometimento muscular. Em nosso estudo, observamos aumento significativo tanto na massa magra total, quanto na massa magra da perna esquerda, o que colabora com nossos achados histológicos de aumento da área de secção transversa das fibras do tipo I no membro inferior.

É conhecido na literatura que a testosterona age diretamente no conteúdo mineral ósseo e sua diminuição leva ao processo de osteoporose e consequente aumento do risco de fraturas⁴⁹. Sabendo o papel da testosterona na manutenção do tecido ósseo, diversos estudos apontam que a reposição de testosterona pode reverter o quadro de osteoporose, tanto por administração intramuscular^{50, 51} quanto por administração via oral⁵¹. No entanto, para se observar o aumento do conteúdo mineral ósseo em homens é necessário que o tratamento seja superior a 6 meses^{50, 51}. Além do tratamento medicamentoso para se reverter o processo de osteoporose, o exercício físico tem sido amplamente recomendado como estratégia não medicamentosa para homens e mulheres⁵². Os tipos de exercícios podem variar desde caminhada associada ao treinamento de força ou treinamento de força isoladamente⁵². Os resultado variam muito entre os estudos, mas a estratégia entre exercícios de impacto e de força, parece trazer melhores respostas. Ficou demonstrado em uma revisão⁵³ que a duração maior que 12 meses de exercício é necessária para

uma resposta adequada no metabolismo ósseo. Em nosso estudo, o tempo de tratamento foi de 4 meses e não observamos mudanças significativas no conteúdo mineral ósseo. Talvez, aumentar o tempo de reposição de testosterona e do exercício seja necessário para se obter resultados positivos em pacientes com insuficiência cardíaca e hipogonadismo.

Tratamentos isolados na insuficiência cardíaca seja com reposição de testosterona ou somente exercício físico, nos mostra o benefício de ambos, mas a associação entre essas duas intervenções, ainda é pouco conhecida. O primeiro estudo com essa relação, publicado em 2012⁵⁴ selecionou 28 homens com idade média de 67 anos, em classe funcional II, os quais foram randomizados para os grupos treino+testosterona e treino+placebo. O protocolo consistiu em 12 semanas de tratamento e mostrou que 61% dos pacientes apresentavam deficiência hormonal no início do estudo. Os autores não observaram diferenças significativas entre os grupos para os marcadores inflamatórios, capacidade funcional (avaliada pelo teste de caminhada), força muscular e qualidade de vida. Uma possível explicação pode estar no fato de 39% dos pacientes não apresentarem deficiência de testosterona no início do protocolo, o que ficou demonstrado em estudo anterior, que a resposta ao tratamento com testosterona pode ser menor quando comparado a pacientes com hipogonadismo¹⁶.

6 IMPLICAÇÕES CLÍNICAS

A redução da testosterona em pacientes com insuficiência cardíaca leva a uma piora clínica importante. A testosterona é um marcador independente de mortalidade¹⁴ e sua abordagem pode trazer uma nova perspectiva no tratamento

destes pacientes. No presente estudo, ficou demonstrado que o treinamento físico, por si só, é capaz de restaurar os níveis séricos de testosterona, no entanto, a reposição hormonal em níveis fisiológicos, se mostrou segura e eficaz em intensificar as respostas benéficas autonômicas, musculares esqueléticas e de qualidade de vida em pacientes com IC avançada e hipogonadismo. Perspectiva futura sugere especular uma possível modificação na curva de morbi-mortalidade por meio da terapia de reposição hormonal, associada ao treinamento físico nesses pacientes em fase avançada de insuficiência cardíaca.

7 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Algumas limitações podem ser levantadas no presente estudo.

Durante a fase inicial no segmento clínico dos pacientes, ocorreu uma perda de 16 indivíduos devido, principalmente, à piora clínica o que culminou com reinternações frequentes e alguns óbitos. Esse fato ocorreu em consequência à gravidade da insuficiência cardíaca dos pacientes envolvidos nesse estudo e por se tratar de uma pesquisa com longo período de intervenção, com procedimentos invasivos, que dificultaram a inclusão de um grupo controle (sem intervenção), considerando que não seria oferecida nenhuma terapia para esses pacientes. No entanto, a hipótese desse estudo foi associar a reposição fisiológica de testosterona ao treinamento físico, o que ainda é pouco conhecida. Não acreditamos que a ausência de um grupo controle possa comprometer o impacto dos resultados inéditos encontrados nesse estudo.

8 CONCLUSÕES

1. O treinamento físico isolado restaurou os níveis de testosterona total e livre;
2. A atividade nervosa simpática muscular (ANSM) reduziu significativamente nos grupos TR e TRT, porém apenas o grupo TRT apresentou redução da ANSM quando corrigido por 100 batimentos cardíacos;
3. A composição corporal, principalmente a massa magra muscular aumentou de forma expressiva no grupo TRT;
4. A área de secção transversa das fibras do tipo I apresentou aumento significativo no grupo TRT; e houve uma forte tendência de aumento das fibras do tipo IIX para este grupo;
5. A qualidade de vida apresentou melhora apenas nos grupos TR e TRT.

Estes resultados fortalecem a compreensão dos mecanismos envolvidos no benefício do treinamento físico em pacientes com insuficiência cardíaca e possibilita uma nova abordagem na conduta terapêutica, com a reposição farmacológica de testosterona, bem como, à associação com a terapia não farmacológica, por meio do exercício físico regular aplicado àqueles pacientes portadores de deficiência anabólica de testosterona.

ANEXOS

Anexo I. *Minnesota Living with Heart Failure Questionnaire* (Tradução para o Português)

Durante o último mês seu problema cardíaco o impediu de viver como você queria por quê?

1. Causou inchaço em seus tornozelos e pernas;
2. Obrigando você a sentar ou deitar para descansar durante o dia;
3. Tornando sua caminhada e subida de escada difícil;
4. Tornando seu trabalho doméstico difícil;
5. Tornando suas saídas de casa difícil;
6. Tornando difícil dormir bem a noite;
7. Tornando seus relacionamentos ou atividades com familiares e amigos difíceis;
8. Tornando seu trabalho para ganhar a vida difícil;
9. Tornando seus passatempos, esportes e diversão difíceis;
10. Tornando sua atividade sexual difícil;
11. Fazendo você comer menos as comidas que você gosta;
12. Causando falta de ar;
13. Deixando você cansado, fatigado ou com pouca energia;
14. Obrigando você a ficar hospitalizado;
15. Fazendo você gastar dinheiro com cuidados médicos;
16. Causando a você efeitos colaterais das medicações;

17. Fazendo você sentir-se um peso para familiares e amigos;
18. Fazendo você sentir uma falta de auto controle na sua vida;
19. Fazendo você se preocupar;
20. Tornando difícil você concentrar-se ou lembrar-se das coisas;
21. Fazendo você sentir-se deprimido.

Respostas

Não=0

Muito pouco=1

Pouco=2

Mais ou Menos=3

Muito=4

Excessivo=5

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gebara OCE, Vieira NW, Meyer JW, Calich ALG, Tai EJ, Pierri H, Wajngarten M, Aldrighi JM. Efeitos Cardiovasculares da Testosterona. *Arq Bras Cardiol.* 2002;79:644-9.
2. Trussell JC. Male reproductive endocrinology: when to replace gonadotropins. *Semin Reprod Med.* 2013;31:237-44.
3. Marcell TJ, Harman SM, Urban RJ, Metz DD, Rodgers BD, Blackman MR. Comparison of GH, IGF-I, and testosterone with mRNA of receptors and myostatin in skeletal muscle in older men. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2001;281:E1159-64.
4. Pugh PJ, Jones RD, West JN, Jones TH, Channer KS. Testosterone treatment for men with chronic heart failure. *Heart.* 2004;90:446-7.
5. Montera MW AD, Tinoco EM, Rocha RM, Moura LAZ, Réa-Neto A, et al. II Diretriz Brasileira de Insuficiência Cardíaca Aguda. *Arq Bras Cardiol.* 2009;93:1-65.
6. Negrao CE, Rondon MU, Tinucci T, Alves MJ, Roveda F, Braga AM, Reis SF, Nastari L, Barretto AC, Krieger EM, Middlekauff HR. Abnormal neurovascular control during exercise is linked to heart failure severity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2001;280:H1286-92.
7. Narkiewicz K, Pesek CA, van de Borne PJ, Kato M, Somers VK. Enhanced sympathetic and ventilatory responses to central chemoreflex activation in heart failure. *Circulation.* 1999;100:262-7.

8. Roveda F, Middlekauff HR, Rondon MU, Reis SF, Souza M, Nastari L, Barretto AC, Krieger EM, Negrao CE. The effects of exercise training on sympathetic neural activation in advanced heart failure: a randomized controlled trial. *J Am Coll Cardiol*. 2003;42:854-60.
9. Malkin CJ, Pugh PJ, West JN, van Beek EJ, Jones TH, Channer KS. Testosterone therapy in men with moderate severity heart failure: a double-blind randomized placebo controlled trial. *Eur Heart J*. 2006;27:57-64.
10. Anker SD, Chua TP, Ponikowski P, Harrington D, Swan JW, Kox WJ, Poole-Wilson PA, Coats AJ. Hormonal changes and catabolic/anabolic imbalance in chronic heart failure and their importance for cardiac cachexia. *Circulation*. 1997;96:526-34.
11. Kiilavuori K, Naveri H, Leinonen H, Harkonen M. The effect of physical training on hormonal status and exertional hormonal response in patients with chronic congestive heart failure. *Eur Heart J*. 1999;20:456-64.
12. Saxton JM, Zwierska I, Mathur A, Channer KS. Study protocol to investigate the effects of testosterone therapy as an adjunct to exercise rehabilitation in hypogonadal males with chronic heart failure. *BMC Cardiovasc Disord*. 2006;6:46.
13. Jankowska EA, Filippatos G, Ponikowska B, Borodulin-Nadzieja L, Anker SD, Banasiak W, Poole-Wilson PA, Ponikowski P. Reduction in circulating testosterone relates to exercise capacity in men with chronic heart failure. *J Card Fail*. 2009;15:442-50.
14. Jankowska EA, Biel B, Majda J, Szklarska A, Lopuszanska M, Medras M, Anker SD, Banasiak W, Poole-Wilson PA, Ponikowski P. Anabolic

- deficiency in men with chronic heart failure: prevalence and detrimental impact on survival. *Circulation*. 2006;114:1829-37.
15. Kovacheva EL, Hikim AP, Shen R, Sinha I, Sinha-Hikim I. Testosterone supplementation reverses sarcopenia in aging through regulation of myostatin, c-Jun NH2-terminal kinase, Notch, and Akt signaling pathways. *Endocrinology*. 2010;151:628-38.
 16. Caminiti G, Volterrani M, Iellamo F, Marazzi G, Massaro R, Miceli M, Mammi C, Piepoli M, Fini M, Rosano GM. Effect of long-acting testosterone treatment on functional exercise capacity, skeletal muscle performance, insulin resistance, and baroreflex sensitivity in elderly patients with chronic heart failure a double-blind, placebo-controlled, randomized study. *J Am Coll Cardiol*. 2009;54:919-27.
 17. Pugh PJ, Jones TH, Channer KS. Acute haemodynamic effects of testosterone in men with chronic heart failure. *Eur Heart J*. 2003;24:909-15.
 18. Pugh PJ, Jones RD, Malkin CJ, Hall J, Nettleship JE, Kerry KE, Jones TH, Channer KS. Physiologic testosterone therapy has no effect on serum levels of tumour necrosis factor-alpha in men with chronic heart failure. *Endocr Res*. 2005;31:271-83.
 19. Alves MJ, Dos Santos MR, Dias RG, Akiho CA, Laterza MC, Rondon MU, Moreau RL, Negrao CE. Abnormal neurovascular control in anabolic androgenic steroids users. *Med Sci Sports Exerc*. 2010;42:865-71.
 20. Santoro C, Cosmas A, Forman D, Morghan A, Bairos L, Levesque S, Roubenoff R, Hennessey J, Lamont L, Manfredi T. Exercise training alters

- skeletal muscle mitochondrial morphometry in heart failure patients. *J Cardiovasc Risk*. 2002;9:377-81.
21. Conraads VM, Hoymans VY, Vrints CJ. Heart failure and cachexia: insights offered from molecular biology. *Front Biosci*. 2008;13:325-35.
 22. Strassburg S, Springer J, Anker SD. Muscle wasting in cardiac cachexia. *Int J Biochem Cell Biol*. 2005;37:1938-47.
 23. Bacurau AV, Jardim MA, Ferreira JC, Bechara LR, Bueno CR, Jr., Albaloureiro TC, Negrao CE, Casarini DE, Curi R, Ramires PR, Moriscot AS, Brum PC. Sympathetic hyperactivity differentially affects skeletal muscle mass in developing heart failure: role of exercise training. *J Appl Physiol*. 2009;106:1631-40.
 24. Skinner JS, McLellan TH. The transition from aerobic to anaerobic metabolism. *Res Q Exerc Sport*. 1980;51:234-48.
 25. Fagius J, Wallin BG. Long-term variability and reproducibility of resting human muscle nerve sympathetic activity at rest, as reassessed after a decade. *Clin Auton Res*. 1993;3:201-5.
 26. Casey DP, Curry TB, Joyner MJ. Measuring muscle blood flow: a key link between systemic and regional metabolism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2008;11:580-6.
 27. Carvalho VO, Guimaraes GV, Carrara D, Bacal F, Bocchi EA. Validation of the Portuguese version of the Minnesota Living with Heart Failure Questionnaire. *Arq Bras Cardiol*. 2009;93:39-44.
 28. Anker SD, Negassa A, Coats AJ, Afzal R, Poole-Wilson PA, Cohn JN, Yusuf S. Prognostic importance of weight loss in chronic heart failure and the effect

- of treatment with angiotensin-converting-enzyme inhibitors: an observational study. *Lancet*. 2003;361:1077-83.
29. Malkin CJ, Channer KS, Jones TH. Testosterone and heart failure. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2010;17:262-8.
 30. Toma M, McAlister FA, Coglianese EE, Vidi V, Vasaiwala S, Bakal JA, Armstrong PW, Ezekowitz JA. Testosterone supplementation in heart failure: a meta-analysis. *Circ Heart Fail*. 2012;5:315-21.
 31. Huggins C, Hodges CV. Studies on prostatic cancer: I. The effect of castration, of estrogen and of androgen injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate. 1941. *J Urol*. 2002;168:9-12.
 32. Ramasamy R, Fisher ES, Schlegel PN. Testosterone replacement and prostate cancer. *Indian J Urol*. 2012;28:123-8.
 33. Stattin P, Lumme S, Tenkanen L, Alfthan H, Jellum E, Hallmans G, Thoresen S, Hakulinen T, Luostarinen T, Lehtinen M, Dillner J, Stenman UH, Hakama M. High levels of circulating testosterone are not associated with increased prostate cancer risk: a pooled prospective study. *Int J Cancer*. 2004;108:418-24.
 34. Mohr BA, Feldman HA, Kalish LA, Longcope C, McKinlay JB. Are serum hormones associated with the risk of prostate cancer? Prospective results from the Massachusetts Male Aging Study. *Urology*. 2001;57:930-5.
 35. Roddam AW, Allen NE, Appleby P, Key TJ. Endogenous sex hormones and prostate cancer: a collaborative analysis of 18 prospective studies. *J Natl Cancer Inst*. 2008;100:170-83.

36. Cooper CS, MacIndoe JH, Perry PJ, Yates WR, Williams RD. The effect of exogenous testosterone on total and free prostate specific antigen levels in healthy young men. *J Urol*. 1996;156:438-41; discussion 41-2.
37. Raynaud JP, Gardette J, Rollet J, Legros JJ. Prostate-specific antigen (PSA) concentrations in hypogonadal men during 6 years of transdermal testosterone treatment. *BJU Int*. 2013;111:880-90.
38. Gerstenbluth RE, Maniam PN, Corty EW, Seftel AD. Prostate-specific antigen changes in hypogonadal men treated with testosterone replacement. *J Androl*. 2002;23:922-6.
39. Negrao CE, Middlekauff HR. Exercise training in heart failure: reduction in angiotensin II, sympathetic nerve activity, and baroreflex control. *J Appl Physiol*. 2008;104:577-8.
40. Negrao CE, Middlekauff HR. Adaptations in autonomic function during exercise training in heart failure. *Heart Fail Rev*. 2008;13:51-60.
41. Webb CM, McNeill JG, Hayward CS, de Zeigler D, Collins P. Effects of testosterone on coronary vasomotor regulation in men with coronary heart disease. *Circulation*. 1999;100:1690-6.
42. Esposito F, Mathieu-Costello O, Shabetai R, Wagner PD, Richardson RS. Limited maximal exercise capacity in patients with chronic heart failure: partitioning the contributors. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55:1945-54.
43. Chen YM, Li ZB, Zhu M, Cao YM. Effects of exercise training on left ventricular remodelling in heart failure patients: an updated meta-analysis of randomised controlled trials. *Int J Clin Pract*. 2012;66:782-91.

44. Hartgens F, Kuipers H, Wijnen JA, Keizer HA. Body composition, cardiovascular risk factors and liver function in long-term androgenic-anabolic steroids using bodybuilders three months after drug withdrawal. *Int J Sports Med.* 1996;17:429-33.
45. Sinha-Hikim I, Artaza J, Woodhouse L, Gonzalez-Cadavid N, Singh AB, Lee MI, Storer TW, Casaburi R, Shen R, Bhasin S. Testosterone-induced increase in muscle size in healthy young men is associated with muscle fiber hypertrophy. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002;283:E154-64.
46. Robinson S, Cooper C, Aihie Sayer A. Nutrition and sarcopenia: a review of the evidence and implications for preventive strategies. *J Aging Res.* 2012;2012:510801.
47. Sakuma K, Yamaguchi A. Sarcopenia and cachexia: the adaptations of negative regulators of skeletal muscle mass. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2012;3:77-94.
48. Bouchla A, Karatzanos E, Dimopoulos S, Tasoulis A, Agapitou V, Diakos N, Tseliou E, Terrovitis J, Nanas S. The addition of strength training to aerobic interval training: effects on muscle strength and body composition in CHF patients. *J Cardiopulm Rehabil Prev.* 2011;31:47-51.
49. Mosekilde L, Vestergaard P, Rejnmark L. The pathogenesis, treatment and prevention of osteoporosis in men. *Drugs.* 2013;73:15-29.
50. Rodriguez-Tolra J, Torremade J, di Gregorio S, Del Rio L, Franco E. Effects of testosterone treatment on bone mineral density in men with testosterone deficiency syndrome. *Andrology.* 2013;1:570-5.

51. Bouloux PM, Legros JJ, Elbers JM, Geurts TB, Kaspers MJ, Meehan AG, Meuleman EJ. Effects of oral testosterone undecanoate therapy on bone mineral density and body composition in 322 aging men with symptomatic testosterone deficiency: a 1-year, randomized, placebo-controlled, dose-ranging study. *Aging Male*. 2013;16:38-47.
52. Bolam KA, van Uffelen JG, Taaffe DR. The effect of physical exercise on bone density in middle-aged and older men: A systematic review. *Osteoporos Int*. 2013.
53. Gomez-Cabello A, Ara I, Gonzalez-Aguero A, Casajus JA, Vicente-Rodriguez G. Effects of training on bone mass in older adults: a systematic review. *Sports Med*. 2012;42:301-25.
54. Stout M, Tew GA, Doll H, Zwierska I, Woodroffe N, Channer KS, Saxton JM. Testosterone therapy during exercise rehabilitation in male patients with chronic heart failure who have low testosterone status: a double-blind randomized controlled feasibility study. *Am Heart J*. 2012;164:893-901.