

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA  
FACULDADE DE MEDICINA  
DOUTORADO EM SAÚDE

ELISABETH CAMPOS DE ANDRADE

Avaliação ecocardiográfica do índice de massa ventricular esquerda em crianças  
com hipospádia após estimulação hormonal com testosterona tópica –  
Um ensaio clínico controlado randomizado

Juiz de Fora  
2017

ELISABETH CAMPOS DE ANDRADE

**Avaliação ecocardiográfica do índice de massa ventricular esquerda em crianças com hipospádia após estimulação hormonal com testosterona tópica  
- Um ensaio clínico controlado randomizado**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Saúde.

Orientador: Prof. Dr. José Murillo Bastos Netto

Juiz de Fora

2017

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Andrade, Elisabeth Campos de.

Avaliação ecocardiográfica do índice de massa ventricular esquerda em crianças com hipospádia após estimulação hormonal com testosterona tópica : Um ensaio clínico controlado randomizado / Elisabeth Campos de Andrade. -- 2017.

103 f. : il.

Orientador: José Murillo Bastos Netto

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Saúde Brasileira, 2017.

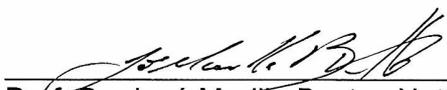
1. Hipospádia. 2. Testosterona. 3. Hipertrofia ventricular esquerda. 4. Segurança de medicamentos. 5. Crianças. I. Netto, José Murillo Bastos, orient. II. Título.

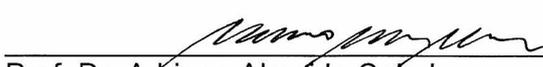
**ELISABETH CAMPOS DE ANDRADE**

**AVALIAÇÃO ECOCARDIOGRÁFICA DO ÍNDICE DE MASSA VENTRICULAR  
ESQUERDA EM CRIANÇAS COM HIPOSPÁDIA APÓS ESTIMULAÇÃO  
HORMONAL COM TESTOSTERONA TÓPICA - UM ENSAIO CLÍNICO  
CONTROLADO RANDOMIZADO**

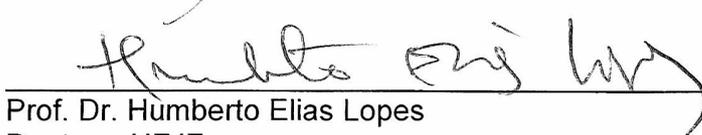
Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Saúde.

Aprovada em 31/07/2017, pela Banca Examinadora composta por:

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. José Murillo Bastos Netto (Orientador)  
Doutor – UFJF

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Adriano Almeida Caetano  
Doutor – UPE

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Julio César Moraes Lovisi  
Doutor – SUPREMA

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Humberto Elias Lopes  
Doutor – UFJF

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dr. Patrícia Cristina Gomes Pinto  
Doutora – UFJF

*Dedico este trabalho a Deus,  
por ter me dado forças  
para caminhar até aqui,  
por ter concedido a mim,  
perseverança, fé e saúde  
para viver este dia.*

*E aos meus pais, meu esposo e  
minhas filhas,  
por me aceitarem como eu sou, por  
confiarem em minhas escolhas  
e por me ajudarem em todos os  
momentos de dificuldade.*

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais, Edenir e Josephina, pela sua fé inabalável, pelo seu amor e por terem dedicado suas vidas à minha educação, ao meu bem-estar e à minha felicidade. Um “muito obrigado” é muito pouco para agradecer a tudo isso.

Ao meu esposo Ismael, pelo seu amor infinito, pela sua compreensão e pela sua enorme força que me contagia e não me deixa desistir nunca. A você, todo meu amor e gratidão.

Às minhas filhas Isabella e Laura, que são a luz do meu viver. Perdão por todos os momentos em que não pude me dedicar a vocês. Obrigada por estarem comigo nesta jornada de vida, sempre compartilhando os meus sonhos e dividindo comigo os meus desafios. Amo vocês do tamanho do mundo inteiro, com o céu e as estrelas.

Ao meu irmão Emerson e à minha cunhada Simone, por serem sempre o meu porto seguro. Sem vocês, esta caminhada não teria sido possível.

Aos meus afilhados, Arthur, José Eduardo e Rafael, obrigada por todos os sorrisos e abraços apertados. Vocês são preciosos presentes na minha vida.

Aos meus pais do coração Manoel e Hellen, obrigada pelo seu amor incondicional, pelo carinho e incentivo em todos os momentos. Esta conquista também é de vocês.

Ao meu orientador Professor José Murillo Bastos Netto, por todos os ensinamentos durante estes quatro anos de execução desta pesquisa. Obrigada pela sua disponibilidade em ensinar e ajudar sempre, pela sua tranquilidade em conduzir este projeto e pela confiança. Sua determinação tranquila foi um alento diante de todas as dificuldades enfrentadas. Obrigada por tudo.

À Professora Kelly Christina de Castro Paiva, cirurgiã pediátrica, companheira neste longo projeto e companheira no Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa em Urologia (NIPU). Obrigada pela convivência durante estes longos anos e pela sua dedicação ao projeto.

À Dra. Sarah da Silva Guedes, cardiologista pediátrica, pela extrema competência, profissionalismo, paciência e carinho com que atendeu e examinou todas as crianças. Sua dedicação e comprometimento durante toda a pesquisa e no dia-a-dia de nosso convívio foram imprescindíveis para o sucesso deste projeto. Minha gratidão será eterna! Que o amor e alegria com que se dedica ao atendimento de seus pacientes, sirva de exemplo para muitos.

Ao Professor André Avarese, do Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa em Urologia (NIPU), por todos os ensinamentos em pesquisa científica.

Ao Professor José de Bessa Júnior, pela sua disponibilidade em transmitir os ensinamentos em estatística.

A todas as estagiárias e bolsistas da UFJF e da SUPREMA, por toda dedicação com que participaram ativamente na coleta de dados e execução do projeto. Sem vocês, nada seria possível.

A todos os funcionários dos serviços de Cardiologia, Urologia Pediátrica e Pediatria, pela ajuda em todos os momentos do projeto e pelo carinho no atendimento aos pacientes.

A todas as mães das crianças atendidas no projeto, pela confiança na equipe.

Aos colegas pós-graduandos do NIPU, obrigada pela troca de experiências e pelo companheirismo.

À Professora Ana Lúcia de Lima Guedes, amiga de todas as horas, grande incentivadora, com quem aprendo a cada dia a ser uma pessoa melhor. Obrigada por acreditar em mim e por me incentivar sempre a seguir em frente.

À Professora Alice Belleigoli Rezende, amiga de todas as horas, parceira na luta da educação médica. Obrigada pelo dinamismo e apoio.

Aos amigos docentes do Departamento Materno-infantil da UFJF, obrigada pelo apoio, compreensão e amizade.

Aos meus alunos do curso de Medicina da UFJF, obrigada por serem a inspiração em transformar e inovar a cada dia, de estudar, de buscar conhecimento e de ser melhor enquanto docente.

Ao Instituto FAIMER-Brasil, obrigada por terem me ensinado a ser educadora e a me nutrirem da energia necessária para continuar nesta missão.

À FAPEMIG, financiadora deste projeto.

A todos os meus amigos e familiares que dividiram comigo este sonho, muito obrigada!

A todas as crianças, nosso agradecimento especial, pela participação neste estudo. Esperamos que os resultados obtidos possam contribuir, futuramente, no aprimoramento do tratamento da hipospádia.

Obrigada!

*“A lei da mente é implacável.  
O que você pensa, você cria;  
O que você sente, você atrai;  
O que você acredita,  
torna-se realidade.”*

*Buda*

ANDRADE, E. C. **Avaliação ecocardiográfica do índice de massa ventricular esquerda em crianças com hipospádia após estimulação hormonal com testosterona tópica – Um ensaio clínico controlado randomizado.** Juiz de Fora (MG) 2017. 103 f. Tese (Pós-Graduação *Stricto Sensu* – Doutorado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Medicina – Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa em Urologia.

## RESUMO

A testosterona é frequentemente utilizada no período pré-operatório da cirurgia nos casos de hipospádia grave. Estudos anteriores demonstraram a presença de receptores androgênicos em miócitos cardíacos que podem modular o fenótipo. O uso de doses suprafisiológicas de andrógenos pode levar à toxicidade no músculo cardíaco e, em alguns casos, à hipertrofia ventricular esquerda. Este ensaio clínico randomizado duplo-cego controlado visa avaliar o efeito do uso de testosterona tópica sobre o pênis no índice de massa ventricular esquerda em meninos com hipospádia. Foram incluídos meninos com hipospádia de 6 meses a 9 anos. Os meninos foram divididos em dois grupos: G1 - meninos que receberam creme de propionato de testosterona 1%, duas vezes ao dia, durante 30 dias e G2 - meninos que receberam creme placebo na mesma posologia. Todos os meninos foram submetidos à avaliação ecocardiográfica bidimensional para medir o índice de massa ventricular esquerda e a exame físico para avaliação da pressão arterial e do índice de massa corporal antes do tratamento, ao seu término e 60 dias após. Foram determinados os níveis de testosterona sérica, LH e FSH. Trinta e cinco meninos foram analisados, sendo 17 no G1 e 18 no G2. Não foram encontradas diferenças no índice de massa do ventrículo esquerdo (massa ventricular esquerda indexada pela área de superfície corporal) antes do tratamento. O índice de massa do ventrículo esquerdo foi de  $59,21 \pm 11,91$  g/m<sup>2</sup> em G1 e  $55,12 \pm 8,29$  g/m<sup>2</sup> em G2 ( $p=0,244$ ) ao final do tratamento e  $61,13 \pm 11,69$  g/m<sup>2</sup> em G1 e  $62,84 \pm 35,99$  g/m<sup>2</sup> em G2 ( $p=0,852$ ) 60 dias após. Os níveis séricos de testosterona foram 12 [7-80] ng/dL em G1 e 5 [5-7] ng/dL em G2 ( $p=0,018$ ) ao final do tratamento e 10 [5-11] ng/dL em G1 e 5 (4-5) ng/dL em G2 ( $p=0,155$ ), 60 dias após. Houve um pequeno aumento na pressão arterial sistólica (PAS) ao final do tratamento ( $83,82 \pm 7,18$  mmHg) no grupo que recebeu testosterona (G1) comparado

com o grupo que recebeu placebo (G2),  $77,5 \pm 6,69$  mmHg ( $p=0,010$ ). Após 60 dias, os níveis de PAS retornaram aos níveis basais em G1 ( $82,35 \pm 5,62$  mmHg) e em G2 ( $81,38 \pm 4,79$  mmHg) ( $p=0,588$ ). A testosterona tópica pode ser considerada segura no período pré-operatório de meninos com hipospádias sem risco de hipertrofia ventricular esquerda. Houve um aumento dos níveis de PAS durante o uso da testosterona, que foi transitório, retornando a níveis normais 60 dias após a suspensão da droga.

Palavras-chave: Hipospádia. Testosterona. Hipertrofia Ventricular Esquerda. Segurança de Medicamentos. Crianças.

ANDRADE, E. C. ***Echocardiographic evaluation of left ventricular mass index in children with hypospadias after hormonal stimulation with topical testosterone: a randomized controlled trial.*** Juiz de Fora (MG) 2017. 103 f. Tese (Pós-Graduação *Stricto Sensu* – Doutorado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Medicina – Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa em Urologia.

## ABSTRACT

*Testosterone is often used in the preoperative period of surgery in cases of severe hypospadias. Previous studies have demonstrated the presence of androgen receptors in cardiac myocytes that can modulate the phenotype. The use of supraphysiological doses of androgens can lead to toxicity on the heart muscle and, in some cases, to left ventricular hypertrophy. This randomized double blind controlled clinical trial aims to evaluate the effect of topical testosterone on left ventricular mass index in boys with hypospadias. Boys with hypospadias aged 6 months to 9 years were included. Boys were divided into two groups: G1 - boys who received testosterone propionate 1% ointment twice a day for 30 days, and G2 - boys receiving placebo ointment in the same regimen. All boys were submitted to bidimensional echocardiographic evaluation to compare the left ventricular mass index, blood pressure, and body mass index before treatment, at its ending and 60 days later. Levels of serum testosterone, LH, and FSH were measured. Thirty-five boys were analyzed: 17 in G1 and 18 in G2. No differences were found in left ventricular mass index (left ventricular mass indexed by body surface area) prior to treatment. Left ventricular mass index was  $59.21 \pm 11.91$  g/m<sup>2</sup> in G1 and  $55.12 \pm 8.29$  g/m<sup>2</sup> in G2 ( $p=0.244$ ) at the end of the treatment and  $61.13 \pm 11.69$  g/m<sup>2</sup> in G1 and  $62.84 \pm 35.99$  g/m<sup>2</sup> in G2 ( $p=0.852$ ) 60 days later. Serum testosterone levels were 12[7-80] ng/dL in G1 and 5[5-7] ng/dL in G2 ( $p=0.018$ ) at the end of the treatment of treatment and 10[5-11] ng/dL in G1 and 5[4-5] ng/dL in G2 ( $p=0.155$ ), 60 days later. There was a small increase in systolic blood pressure (SBP) at the end of the treatment ( $83.82 \pm 7.18$  mmHg) in the group who receive testosterone (G1) compared with controls (G2),  $77.5 \pm 6.69$  mmHg ( $p=0.010$ ). Passing 60 days, SBP levels returned to basal levels in G1 ( $82.35 \pm 5.62$  mmHg) and in G2 ( $81.38 \pm 4.79$  mmHg) ( $p=0.588$ ). Topical testosterone can be considered safe in the preoperative period of boys with hypospadias with no*

*risk of left ventricular hypertrophy. An increase in systolic blood pressure occurs while using testosterone but it is transitory, returning to normal levels 60 days after the discontinuation of the drug.*

*Keywords: Hypospadias. Testosterone Left Ventricular Hypertrophy. Drug Safety. Children.*

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Cascata hormonal que leva à diferenciação sexual masculina .....	19
Figura 2 – Desenvolvimento da genitália interna a partir das estruturas genitais comuns.....	20
Figura 3 – Embriologia da uretra peniana .....	22
Figura 4 – Anatomia do pênis hipospádico .....	23
Figura 5 – Classificação de hipospádias baseada na posição pré-operatória do meato .....	26
Figura 6 – Principais vias da biossíntese da testosterona.....	30
Figura 7 – Principais indicações da testosterona no pré-operatório da cirurgia de hipospádia.....	32
Figura 8 – Principais efeitos do uso da testosterona no pré-operatório da cirurgia de hipospádia.....	34
Figura 9 – Medidas ecocardiográficas para cálculo da massa ventricular esquerda.	52
Figura 10 – Tempos de Avaliação.....	53
Figura 11 – Desenho do Estudo.....	56
Figura 12 – Níveis de testosterona sérica total por grupo (medianas), antes do uso de creme de propionato de testosterona a 1% ou creme placebo, 30 dias após (ao término do uso) e 60 dias após .....	60
Figura 13 – Gráfico de dispersão entre as variáveis diferença da Pressão arterial sistólica e a diferença dos níveis de testosterona total (no tempo pós-intervenção e inicial) no grupo tratamento.....	61
Figura 14 – Gráfico de dispersão entre as variáveis diferença da Pressão arterial sistólica e a diferença dos níveis de testosterona total (no tempo pós-intervenção e inicial) no grupo controle .....	61

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores de referência das dosagens hormonais .....	54
Tabela 2 – Média de idade e frequência por cor nos grupos experimental e controle .....	57
Tabela 3 – Medidas ecocardiográficas no pré-tratamento, ao término do tratamento (30 dias após) e aos 60 dias após.....	57
Tabela 4 – Dosagens hormonais no pré-tratamento, ao término do tratamento (30 dias após) e aos 60 dias após .....	58
Tabela 5 – Medidas de pressão arterial e IMC no pré-tratamento, ao término do tratamento (30 dias após) e aos 60 dias após.....	58

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

5- $\alpha$ -DHT	5-alfa-dihidrotestosterona
AMPc	Adenosina 3',5'-monofosfato cíclico
ANP	Peptídeo natriurético atrial
ASE	<i>American Society of Echocardiography</i>
DP	Desvio padrão
DHEA	Deidroepiandrosterona
DHT	Dihidrotestosterona
FAPEMIG	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais
FSH	Hormônio folículo estimulante
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofina
HCG	Gonadotrofina coriônica humana
HSD17 $\beta$ 3	17- $\beta$ -Hydroxiesteroide-desidrogenase-3
HSD3 $\beta$	$\beta$ -Hydroxiesteroide-desidrogenase
IMC	Índice de massa corporal
LH	Hormônio luteinizante
LVIDd	Diâmetro interno do ventrículo esquerdo na diástole
LVPWd	Medida da parede posterior do ventrículo esquerdo na diástole
MAPK	Proteína-quinases ativadas por mitógenos
NIPU	Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa em Urologia
PKA	Proteína quinase A
PKC	Proteína quinase C
PP	Parede posterior do ventrículo esquerdo
PSA	Antígeno prostático específico
RNA	Ácido ribonucleico
SIV	Septo interventricular
SRY	<i>Sex-determining region Y</i>
TCLE	Termo de Consentimento Livre Esclarecido
TRT	Terapia de reposição com testosterona
UFJF	Universidade Federal de Juiz de Fora
$\beta$ -HCG	Beta-gonadotrofina coriônica humana

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	17
2.	REVISÃO DA LITERATURA.....	19
2.1.	DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA GENITURINÁRIO E DA GENITÁLIA EXTERNA.....	19
2.2.	HIPOSPÁDIA.....	22
2.2.1.	Causas das hipospádias .....	23
2.2.2.	Tipos de hipospádia .....	25
2.2.3.	Tratamento da hipospádia.....	26
2.3.	TESTOSTERONA .....	27
2.3.1.	Uso da testosterona no pré-operatório da cirurgia corretiva de hipospádia.....	32
2.3.2.	Uso da gonadotrofina coriônica no pré-operatório da cirurgia corretiva de hipospádia.....	34
2.3.3.	Receptores de testosterona no coração.....	35
2.3.4.	Demais usos da testosterona .....	36
2.4.	IMPORTÂNCIA DA ECOCARDIOGRAFIA NO CÁLCULO DA MASSA VENTRICULAR ESQUERDA EM MENINOS.....	40
2.4.1.	Critérios de normalidade x critérios de hipertrofia ventricular esquerda.....	44
3.	PROPOSIÇÃO.....	45
4.	HIPÓTESE NULA .....	46
5.	OBJETIVOS.....	47
5.1.	OBJETIVO GERAL.....	47
5.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	47
6.	PACIENTES E MÉTODO .....	48
6.1.	DELINEAMENTO DO ESTUDO E A POPULAÇÃO ALVO .....	48

6.2.	CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE .....	48
6.2.1.	Crériterios de inclusão .....	48
6.2.2.	Crériterios de não-inclusão .....	48
6.3.	CÁLCULO DO TAMANHO DA AMOSTRA.....	48
6.4.	RANDOMIZAÇÃO .....	49
6.5.	CEGAMENTO .....	49
6.6.	PROTOCOLO.....	50
6.6.1.	Administração das drogas .....	50
6.6.2.	Avaliação ecocardiográfica.....	50
6.6.3.	Avaliação clínica e laboratorial .....	52
6.7.	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	54
6.8.	CONSIDERAES TICAS .....	55
6.9.	CONSIDERAES FINAIS .....	55
7.	RESULTADOS.....	56
8.	DISCUSSÃO.....	62
9.	CONCLUSÃO .....	68
	REFERÊNCIAS.....	69
	ANEXOS .....	76
	ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	77
	ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO .....	80
	ANEXO C – FORMULÁRIO DE COLETA DE DADOS .....	83

## 1. INTRODUÇÃO

A hipospádia é um defeito envolvendo o desenvolvimento ventral do pênis, com formação incompleta da uretra, que leva à disposição do meato uretral numa posição mais proximal no pênis (BASKIN; EBBERS, 2006). Pode ser acompanhada de uma distribuição anormal do prepúcio e de uma curvatura ventral anormal do pênis (*chordee*) (BASKIN; EBBERS, 2006). Esta curvatura ocorre devido à presença de tecido fibroso, resquício do corpo esponjoso hipoplásico, na face ventral do pênis ou decorrência da desproporção dos corpos cavernosos (MACEDO JR; SROUGI, 1998).

É uma das anomalias congênitas mais comuns do pênis, sendo a segunda mais frequente em recém-nascidos masculinos, perdendo apenas para a criptorquidia (VAN DER HORST; DE WALL, 2017). Sua incidência, na América Latina, é de 5,2 para 10.000 nascidos vivos (SPRINGER; VAN DEN HEIJKANT; BAUMANN, 2015).

A hipospádia é um importante problema de saúde, devido à sua frequência e às possíveis complicações. Muitas vezes, nos casos mais graves, são necessárias cirurgias adicionais, representando um alto custo para o sistema de saúde (BOUTY et al., 2015).

A correção da hipospádia é cirúrgica, podendo ser utilizadas várias técnicas operatórias (BASKIN; EBBERS, 2006). Com o objetivo de aumentar o prepúcio, o comprimento do pênis e a circunferência da glândula, a testosterona tem sido usada no pré-operatório, com resultados nem sempre satisfatórios, mas podendo proporcionar melhores condições cirúrgicas e, conseqüentemente, diminuição das complicações e melhora dos resultados (NETTO et al., 2013). Entretanto, esses resultados não têm sido consistentes e a absorção da testosterona parece ser variável (LUO et al., 2003).

Na década de 1970, a presença de receptores androgênicos foi observada em miócitos de ratos (KRIEG; SMITH; BARTSCH, 1978). Mais tarde, na década de 1990, eles foram encontrados em miócitos de várias espécies, incluindo seres humanos (crianças e adultos de ambos os sexos). A testosterona e a dihidrotestosterona (DHT), atuando sobre estes receptores, produzem uma resposta hipertrófica demonstrada por síntese proteica e secreção de hormônio natriurético (MARSH et al., 1998).

Observou-se um comprometimento no remodelamento cardíaco em ratos com infarto agudo do miocárdio após o uso de doses supra fisiológicas de testosterona, com instalação de cardiomiopatia hipertrófica, dilatação ventricular esquerda e aumento da pressão arterial (FRANTZ et al., 2007).

A testosterona é o principal androgênio que se liga aos receptores do miocárdio sendo capaz de alterar a função cardíaca adaptativa frente ao exercício físico (SULLIVAN et al., 1998). Sullivan e colaboradores observaram aumento da massa ventricular esquerda e da espessura do septo interventricular (SIV) em halterofilistas usuários de esteroides exógenos. Além disso, verificou-se um aumento da frequência cardíaca, pressão arterial, espessura da parede ventricular esquerda, volumes diastólicos finais e diminuição da relação diâmetro ventricular para a massa corporal (SULLIVAN et al., 1998).

Interrogou-se, a partir daí, o efeito da testosterona, aplicada na forma tópica, sobre o músculo cardíaco e a possibilidade de aumento da massa ventricular. O ecocardiograma tem sido um importante método para aferição da massa ventricular com as vantagens do seu baixo custo, de ser mais acessível e de sua boa tolerabilidade (ARMSTRONG, A; GIDDING, S; GJESDAL, O; WU, C; BLUEMKE, D; LIMA, 2012). No entanto, há várias formas de aferição da massa ventricular através da ecocardiografia (KATZ et al., 2010). No caso de crianças, outro fator a ser considerado, é a necessidade de correção para o tamanho corporal, pois a massa ventricular varia com o mesmo (KATZ et al., 2010). O cálculo mais frequentemente utilizado e recomendado pela *American Society of Echocardiography* (ASE) é o índice de massa ventricular esquerda indexada pela superfície corpórea (LOPEZ et al., 2010).

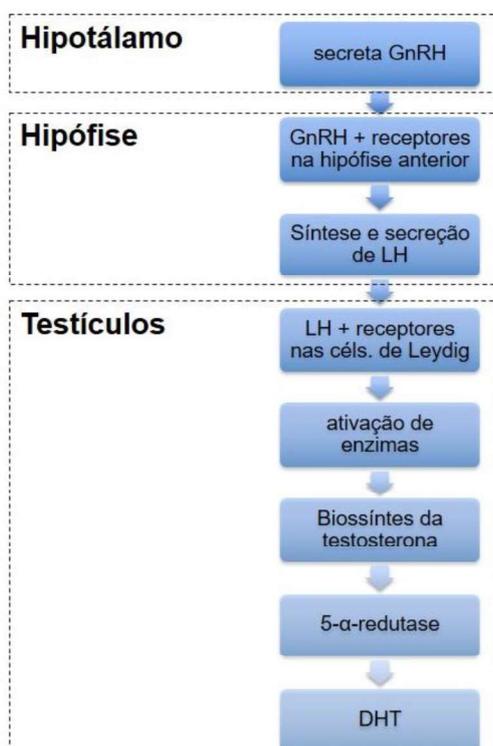
Diante da escassez de estudos que avaliem o efeito da testosterona na faixa etária pediátrica, o objetivo principal deste ensaio clínico foi avaliar o efeito da testosterona tópica sobre o índice de massa ventricular esquerda em meninos com hipospádia.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA GENITURINÁRIO E DA GENITÁLIA EXTERNA

A formação do sistema geniturinário e das glândulas adrenais está ligada a mecanismos hormonais e genéticos complexos que irão resultar na diferenciação sexual masculina. A primeira fase do desenvolvimento gonadal compreende a formação de uma gônada indiferenciada que é igual em indivíduos do sexo masculino e feminino. Na fase subsequente, ocorre a formação dos testículos ou ovários dependendo da expressão do gene SRY (*sex-determining region Y*), presente no cromossomo Y. A distinção morfológica entre um testículo e um ovário começa a ocorrer com o início da formação do cordão sexual sob efeito do gene SRY que contém o gene 9 (SOX9). Estes genes são necessários à diferenciação das células de Sertoli e ao desenvolvimento dos testículos (NISTAL et al., 2015). A Figura 1 descreve as etapas até a diferenciação sexual masculina.

Figura 1 – Cascata hormonal que leva à diferenciação sexual masculina



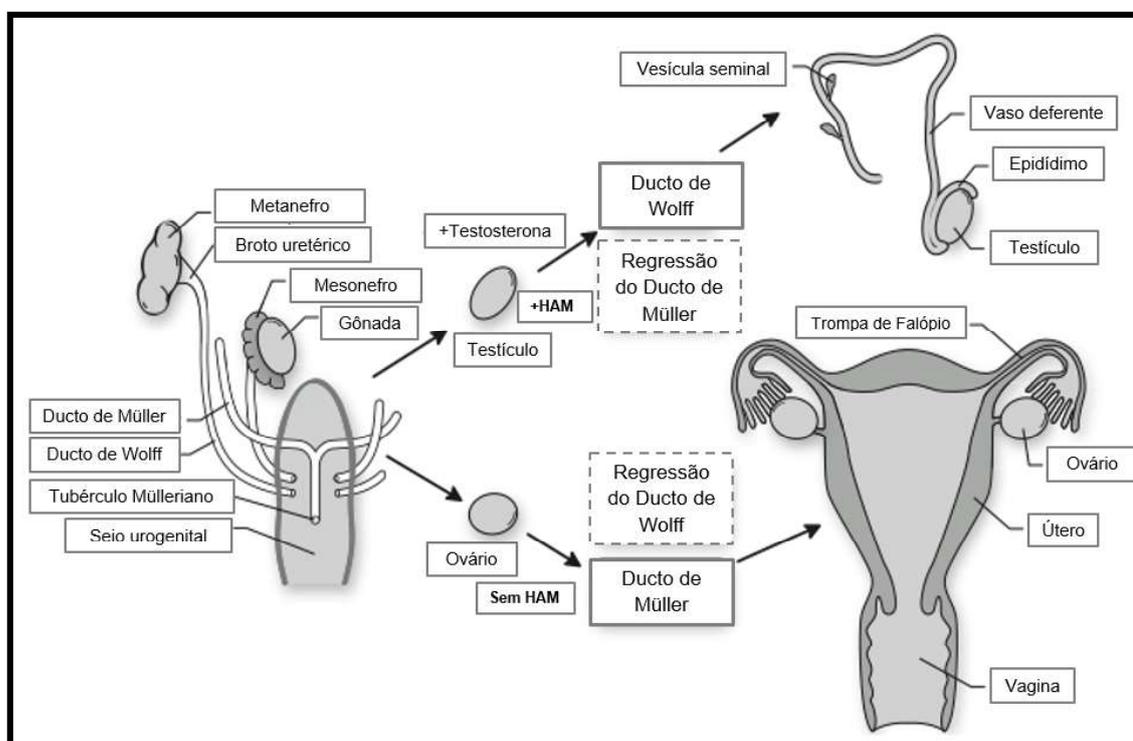
Fonte: A autora.

O terceiro estágio consiste na diferenciação da genitália externa e interna a partir das estruturas genitais comuns. No estágio indiferenciado de desenvolvimento do trato urogenital, há dois pares de ductos: os ductos de Wolf e os ductos de Muller. Os ductos de Wolf são de origem mesonéfrica. Esta origem denota a estreita relação entre o sistema reprodutor e urinário (NISTAL et al., 2015).

A expressão do gene SRY no cromossomo Y leva a gônada indiferenciada a se desenvolver como um testículo. A partir daí, os testículos começam a secretar hormônio anti-mulleriano e testosterona. O hormônio anti-mulleriano leva à regressão dos ductos paramesonéfricos (ductos de Muller) e a testosterona converte os ductos mesonéfricos (ductos de Wolf) em estruturas masculinas (epidídimo, vasos deferentes e vesículas seminais) (OSTRER, 2014).

Portanto, na ausência do cromossomo Y, o testículo não se desenvolve e o ducto de Wolf regride. Além disto, os ductos de Muller desenvolvem-se como trompas de Falópio, útero e dois terços superiores da vagina como visto na Figura 2 (OSTRER, 2014).

Figura 2 – Desenvolvimento da genitália interna a partir das estruturas genitais comuns



HAM: Hormônio anti-Mülleriano.

Fonte: Adaptado de Ostrer, 2014.

Para que ocorra diferenciação para fenótipo masculino, é necessária a presença da testosterona, da 5-alfa-dihidrotestosterona (5- $\alpha$ -DHT) e da substância inibidora de Mueller (*Mueller inhibiting substance*) (MACEDO JR; SROUGI, 1998). A testosterona é produzida pelas células de Leydig, nos testículos fetais, através da ação de enzimas esteroidogênicas, a partir do colesterol. Os principais reguladores da estabilização celular das células de Leydig são a beta-gonadotrofina coriônica humana ( $\beta$ -HCG) placentária e o hormônio luteinizante (LH) pituitário fetal (REY; GRINSPON, 2011).

Durante o primeiro trimestre de gestação, a ação do eixo hipotálamo-pituitário fetal ainda não ocorre e, portanto, a ação do HCG é essencial. A testosterona é convertida em DHT pela ação da 5-alfa redutase. A DHT possui maior afinidade de ligação ao receptor androgênico do que a testosterona nos órgãos alvo, sendo a DHT, o principal hormônio responsável pela virilização (diferenciação) do seio urogenital e da genitália externa (REY; GRINSPON, 2011).

O seio urogenital dará origem à bexiga, uretra e próstata no sexo masculino. Os brotos prostáticos crescem em cordões formando a glândula prostática. Parte do seio urogenital cercado por tecido prostático dará origem à uretra prostática. A porção pélvica e fálica do seio urogenital formará a uretra membranosa e a porção proximal da uretra peniana (REY; GRINSPON, 2011).

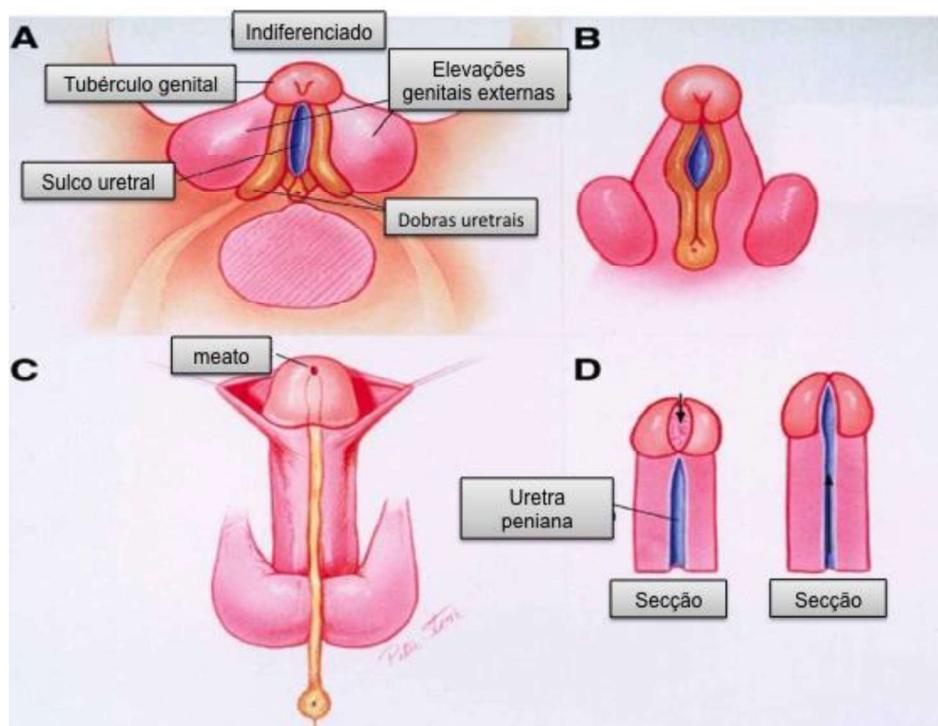
Por volta de seis semanas de gestação, o tubérculo genital se desenvolve anteriormente ao seio urogenital. A membrana urogenital está limitada lateralmente pelas elevações genitais externas e interiormente pelas dobras uretrais (STOKOWSKI, 2004). O primeiro sinal de virilização a ocorrer é o alongamento da distância anogenital (REY; GRINSPON, 2011). A seguir, ocorre alongamento do falo, formação da uretra peniana e desenvolvimento do prepúcio (BASKIN; EBBERS, 2006).

Através da fusão dos bordos medianos das pregas uretrais endodérmicas, ocorre a formação da uretra peniana. Esta fusão ocorre primeiro da região proximal indo depois em direção a região distal. Para formar o prepúcio, as bordas ectodérmicas então se fundem sobre a uretra (LEUNG; ROBSON, 2007). Anteriormente, considerava-se que a uretra glandar era formada a partir da invaginação de tecido ectodérmico que migrava através da glândula para alcançar a uretra proximal. Estudos recentes sugerem que toda a uretra é formada pela extensão e fusão do sulco uretral endodérmico (STOKOWSKI, 2004), ou seja, o epitélio de toda

uretra é originado do seio urogenital (BASKIN; EBBERS, 2006) (Figura 3). Quando não ocorre a fusão das pregas uretrais endodérmicas, há o aparecimento da hipospádia (LEUNG; ROBSON, 2007).

Quando a hipófise fetal passa a assumir o controle da produção de LH, os níveis de testosterona começam a diminuir (REY; GRINSPON, 2011).

Figura 3 – Embriologia da uretra peniana



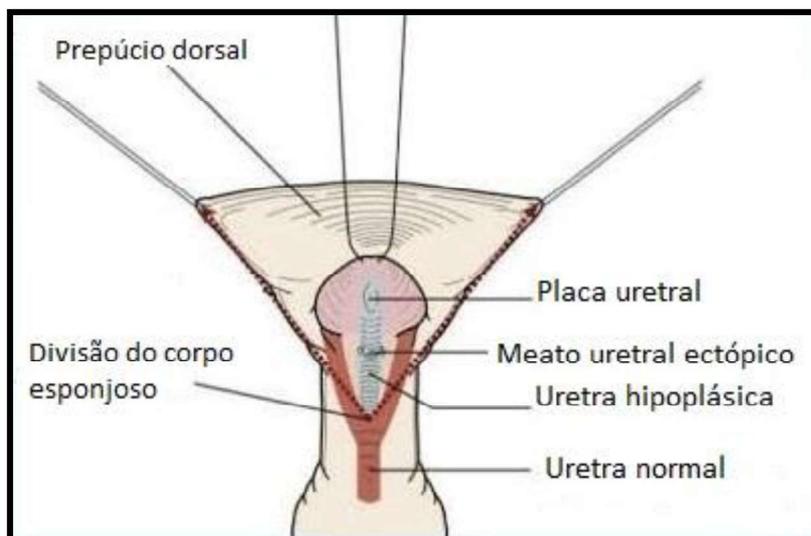
A - Estágio indiferenciado; B - Fusão das pregas genitais da porção posterior para anterior; C - Fechamento da pele do eixo peniano, deixando para trás a rafe mediana do pênis; D - Visão seccional da uretra peniana, sugerindo dois possíveis mecanismos de desenvolvimento da uretra.

Fonte: Adaptado de Stokowski, 2004.

## 2.2. HIPOSPÁDIA

Na hipospádia, ocorre uma hipoplasia dos tecidos da porção ventral do pênis, que se apresenta como uma formação triangular, em que a divisão do corpo esponjoso localiza-se no topo do triângulo, os lados são representados pelos dois pilares atróficos do próprio corpo esponjoso e cuja base é a própria glândula. No centro do triângulo, está a glândula aberta, a placa uretral ectópica encontra-se entre o meato uretral e o ápice da glândula, além do meato uretral ectópico e um segmento de uretra atrésica (MOURIQUAND; MURE, 2004) (Figura 4).

Figura 4 – Anatomia do pênis hipospádico



Fonte: Mouriquand e Mure (2004) modificado por Paiva (2017).

As taxas de prevalência de hipospádia variam muito, nas mais diversas regiões do mundo, e muitos dados são contraditórios, principalmente porque não há uma padronização no cálculo destas taxas (SPRINGER; VAN DEN HEIJKANT; BAUMANN, 2015). Dados publicados, a partir do ano 2000, mostram taxas de 0,7 a 42 por 10.000 nascidos vivos (SPRINGER; VAN DEN HEIJKANT; BAUMANN, 2015). Estudo de coorte, realizado na província de Nova Escócia (Canadá), mostrou que, por um período de 26 anos (1988-2013), a prevalência de hipospádia foi estável, em uma área de população geneticamente estável, e com baixas taxas de migração, revelando resultados diferentes de outros estudos que encontraram um aumento da prevalência de anomalias congênitas genito-urinárias mediadas por hormônios (LANE et al., 2017).

A observação do aumento da prevalência de casos de hipospádia tende a estar localizada em determinadas regiões e limitada a períodos de tempo. Portanto, não devemos afirmar que este aumento seja generalizado (CARMICHAEL; SHAW; LAMMER, 2012).

### 2.2.1. Causas das hipospádias

A maioria dos casos de hipospádia são de causa idiopática, sendo que menos de 5% do total de casos de hipospádia podem ser explicados por alguma anormalidade no metabolismo de andrógenos (deficiência tipo II da 5-alfa-redutase),

defeitos nos receptores de andrógenos ou defeitos genéticos. A maioria dos casos não tem uma causa definida (BASKIN; EBBERS, 2006).

A hipospádia, na maioria das vezes, é uma alteração isolada devido ao fato de as necessidades de androgênios para a formação da genitália externa serem maiores do que para a formação da genitália interna (MACEDO JR; SROUGI, 1998).

A causa da hipospádia é geralmente multifatorial (Boudaoud *et al.*, 2016). Estudos em meninos com hipospádia proximal mostraram uma alta incidência de deficiência de 3-beta-hidroxiesteróide-desidrogenase e 17, 20-liase (AARONSON; CAKMAK; KEY, 1997).

Durante a vida intra-uterina, para que ocorra o correto fechamento da uretra, é necessária a conversão da testosterona em DHT pela enzima 5-alfa-redutase tipo II, além da ligação da DHT ao receptor de androgênio nuclear e, posteriormente, a ação do receptor de andrógenos (AR) (CARMICHAEL; SHAW; LAMMER, 2012). O fechamento incompleto da uretra, durante a embriogênese leva ao posicionamento da abertura da uretra na face ventral do pênis (VAN DER HORST; DE WALL, 2017).

Uma deficiência de testosterona, durante a fase de formação da uretra, entre a nona e a décima terceira semana de gestação, leva ao aparecimento da hipospádia (MACEDO JR; SROUGI, 1998).

Exposições que interferem na síntese de andrógenos e estrogênios e nas vias de sinalização, durante a diferenciação sexual, induzem experimentalmente a ocorrência de hipospádia. Estes agentes indutores podem ser antagonistas de receptores de andrógenos, inibidores da 5-alfa-redutase e inibidores de enzimas envolvidos na síntese de hormônios esteroides (CARMICHAEL; SHAW; LAMMER, 2012).

A interferência de produtos químicos na gênese da hipospádia tem sido amplamente divulgada. Estudos experimentais sugerem que a exposição a agentes disruptores endócrinos contribuem para sua etiologia. No entanto, estudos observacionais não esclarecem sobre quais agentes ambientais contribuem verdadeiramente. Os disruptores endócrinos são substâncias exógenas que interferem nos hormônios (CARMICHAEL; SHAW; LAMMER, 2012).

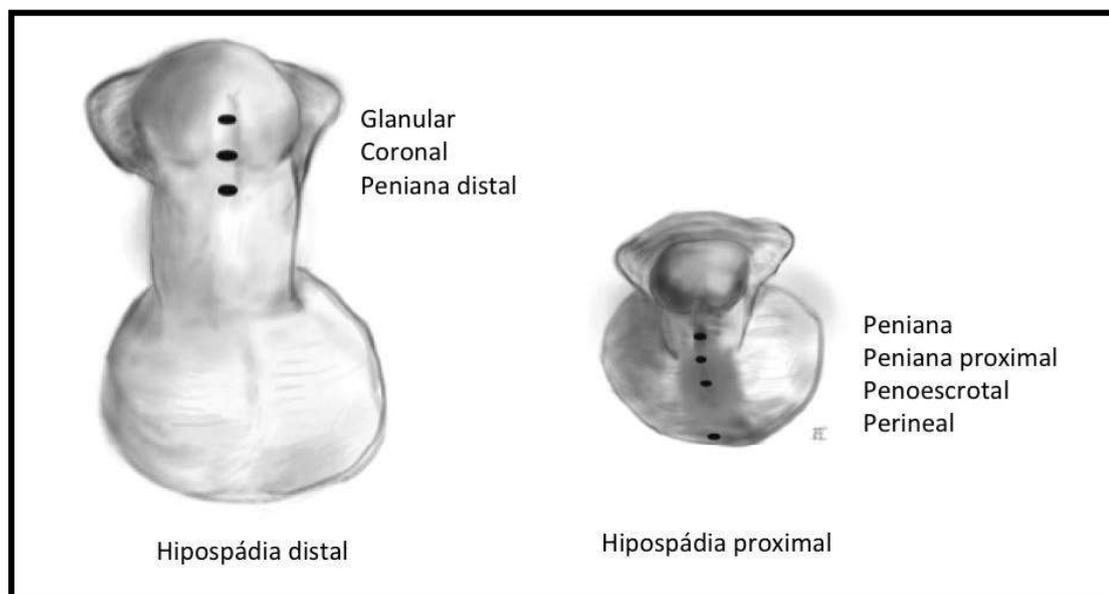
### 2.2.2. Tipos de hipospádia

A abertura ectópica da uretra pode ser glandar (localizada próxima à extremidade da glândula), coronal, subcoronal, peniana, escrotal ou perineal (BASKIN; EBBERS, 2006). Classifica-se a hipospádia baseada na posição do meato uretral. Quando este é glandar, coronal ou peniano anterior, classificamos como hipospádia anterior, que ocorre em 70% dos casos; quando está localizado na porção média do pênis, hipospádia média (10%) e quando na região peniana posterior, penoescrotal e perineal, hipospádia posterior (20%) (MACEDO JR; SROUGI, 1998) (Figura 5).

A classificação da hipospádia, baseada apenas na localização do meato uretral, apesar de ser a mais utilizada, não é suficiente para avaliar a gravidade da hipospádia, pois não leva em consideração a quantidade de displasia tecidual. Devemos levar em conta o tamanho do pênis, da glândula, da placa uretral, o nível da divisão do corpo esponjoso, a presença de uma curvatura, a posição do escroto e a presença de outras anomalias que irão repercutir no resultado da correção cirúrgica (VAN DER HORST; DE WALL, 2017).

As formas proximais de hipospádia são consideradas mais complexas e devem ser avaliadas a fim de excluir distúrbios de diferenciação sexual principalmente na presença de criptorquidia concomitante, unilateral ou bilateral (VAN DER HORST; DE WALL, 2017).

Figura 5 – Classificação de hipospádias baseada na posição pré-operatória do meato



Fonte: Adaptado de Van Der Horst e De Wall (2017).

### 2.2.3. Tratamento da hipospádia

A hipospádia deve ser tratada unicamente através de procedimento cirúrgico. Existem mais de 300 técnicas descritas (BASKIN; EBBERS, 2006). O resultado cirúrgico depende principalmente da habilidade do cirurgião e da disponibilidade de tecido apropriado (VAN DER HORST; DE WALL, 2017). A escolha da técnica depende da qualidade da pele, do tecido esponjoso do meato uretral anormal (BASKIN; EBBERS, 2006) e do grau de curvatura peniana ventral.

O tratamento cirúrgico tem por objetivos: a reconstrução do pênis, colocação do mesmo em linha reta com o meato uretral, na parte terminal da glândula, e possibilidade de um coito normal (BASKIN; EBBERS, 2006).

Atualmente, a cirurgia corretiva de hipospádia deve ser realizada, preferencialmente, entre 6 e 12 meses de idade, com o objetivo de atingir melhor resultado estético e funcional, mas pode ser realizada em qualquer idade (KASS; KOGAN, 1996). O resultado pós-cirúrgico é bom em relação à estética e à função sexual. Nos casos mais graves, às vezes, são necessárias cirurgias adicionais (BOUTY et al., 2015). As complicações mais frequentes são: fístulas e estenoses (AULAGNE et al., 2010). Podem ocorrer ainda resultados não satisfatórios em relação

aos aspectos funcionais e estéticos que irão afetar a função urinária e sexual (BOUTY et al., 2015).

### 2.3. TESTOSTERONA

A testosterona é o mais importante hormônio sexual masculino, sendo um esteroide androgênio que desempenha um papel importante no desenvolvimento dos tecidos reprodutivos masculinos (AYAZ; HOWLETT, 2015).

O termo androgênio é utilizado para definir qualquer composto que influencia, primariamente, o crescimento e desenvolvimento do sistema reprodutor masculino, seja ele natural ou sintético (TOSTES et al., 2016). Vários são os exemplos de androgênios: androstenediona, 5- $\alpha$ -DHT, deidroepiandrosterona (DHEA) e sulfato de deidroepiandrosterona. Entre os androgênios sintéticos podemos citar: cipionato de testosterona, decanoato, undecanoato, enantato, propionato, heptalato, caproato, fenilpropionato, isocaproato e acetato (TOSTES et al., 2016).

A testosterona desempenha múltiplos papéis desde a vida intrauterina até a idade adulta (BAIN, 2007). Seu principal papel é o de desenvolvimento de tecidos reprodutivos masculinos, sendo encontrado em mamíferos, répteis, pássaros e outros vertebrados. Em homens, a testosterona também é responsável pelo desenvolvimento das características sexuais secundárias e pelo crescimento de pelos corporais (TOSTES et al., 2016).

A maior parte da testosterona é produzida nos testículos (cerca de 95%) e secretada pelas células de Leydig, após uma série de reações enzimáticas, utilizando moléculas de colesterol (TOSTES et al., 2016). A testosterona também pode ser produzida pelo tecido adiposo e ósseo (AYAZ; HOWLETT, 2015). O restante é secretado pela zona reticular das glândulas adrenais (TOSTES et al., 2016).

Os homens produzem cerca de 10 vezes mais testosterona que as mulheres da mesma idade (TOSTES et al., 2016). No entanto, os níveis séricos diminuem, a partir de 40 anos, cerca de 1,6 % ao ano (AYAZ; HOWLETT, 2015). Isto é causado pela diminuição da capacidade das células de Leydig em responder ao estímulo de LH para produzir testosterona (AYAZ; HOWLETT, 2015). Com o passar dos anos, ocorre uma atenuação da via adenosina 3',5'-monofosfato cíclico/proteinoquinase A (AMPC/PKA) levando a um menor transporte de colesterol para o interior da mitocôndria e uma redução da produção de enzimas esteroidogênicas (MIDZAK et al.,

2009). Como resultado deste processo, a quantidade de testosterona disponível, para interagir com os receptores androgênicos, fica diminuída (AYAZ; HOWLETT, 2015).

Outro hormônio importante no desenvolvimento sexual masculino é a DHT. Durante o desenvolvimento embrionário, ele é responsável pela diferenciação do pênis, escroto e próstata; durante a puberdade, pela sua maturação e na idade adulta, pela sua manutenção (TOSTES et al., 2016).

A biossíntese da testosterona é controlada pelo eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal (BORST; MULLIGAN, 2007) (Figura 6).

Inicialmente, o hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), que é secretado pelos neurônios hipotalâmicos (HERBISON et al., 2008), liga-se a receptores na hipófise anterior e estimula a síntese e secreção do LH para a circulação (BORST; MULLIGAN, 2007). A seguir, o LH se liga a receptores de LH nos testículos, mais especificamente nas células de Leydig, e estimula a proteína G a ativar a via AMPc/PKA. Isto permite o transporte do colesterol para a mitocôndria e eleva a ativação da transcrição de enzimas de codificação de genes que estão envolvidas na biossíntese da testosterona (AYAZ; HOWLETT, 2015).

A proteína G é um fator importante neste processo, pois, intermedia a sinalização, através da ativação de seu receptor, que leva a uma resposta por intermédio de moléculas efetoras (neste caso, a enzima adenil ciclase) resultando no surgimento de um segundo mensageiro (AMPc). Devemos ressaltar o importante papel da proteína G como intermediadora em vários processos e também sua importância no surgimento de diversas doenças, tais como endocrinopatias, quando na presença de mutações em seus receptores (HAUACHE, 2001).

Os níveis de testosterona sofrem uma regulação hormonal rigorosa. Na presença de níveis altos de testosterona no sangue, ocorre um *feedback* negativo, que impede a liberação de GnRH e LH. Inversamente, nas células de Leydig, o colesterol é transportado para o interior da membrana mitocondrial quando os níveis de testosterona estão baixos (AYAZ; HOWLETT, 2015). A conversão de colesterol em pregnenolona é a reação limitante na produção de hormônios esteroides (AYAZ; HOWLETT, 2015).

Quando a pregnenolona é formada, ela se difunde para o retículo endoplasmático, no qual a biossíntese da testosterona irá seguir duas vias ( $4 \Delta$  e  $5 \Delta$ )

que terão como produtos finais a DHT e o androstenediol, respectivamente nas vias  $4\Delta$  e  $5\Delta$  (AYAZ; HOWLETT, 2015).

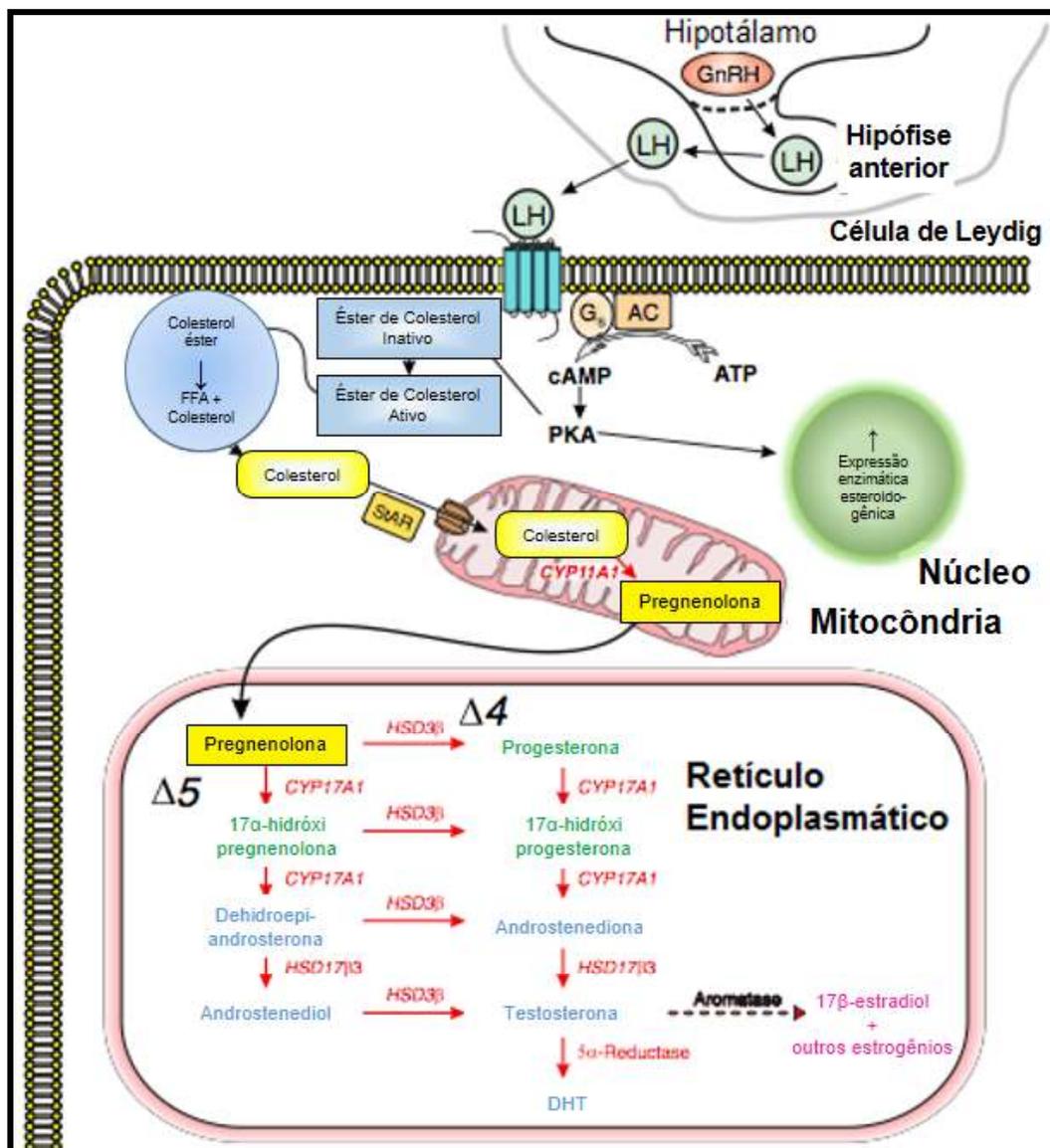
Na via  $4\Delta$ , a  $3\beta$ -hydroxiesteroide-desidrogenase (HSD3 $\beta$ ) converte a pregnenolona em progesterona. Esta será convertida em  $17\alpha$ -hidroxiprogesterona pela enzima CYP17A1, através de uma reação de hidroxilação e a seguir para androstenediona por uma reação de lise. Posteriormente, a androstenediona será convertida em testosterona pela  $17\beta$ -hydroxiesteroide-desidrogenase-3 (HSD17 $\beta$ 3) (AYAZ; HOWLETT, 2015).

Na via  $5\Delta$ , a pregnenolona é convertida em  $17\alpha$ -hidroxi-pregnenolona pela enzima CYP17A1, através de uma reação de hidroxilação, seguida de uma reação de lise que faz surgir a DHEA (MILLER; AUCHUS, 2011).

A DHEA é então convertida em androstenediona pela  $3\beta$ -hydroxiesteroide-desidrogenase (HSD3 $\beta$ ). Ao final, a HSD17 $\beta$ 3 converte a androstenediona em testosterona. A HSD17 $\beta$ 3 também converte a DHEA em androstenediol que depois é convertido em testosterona pela HSD3 $\beta$  (MILLER; AUCHUS, 2011).

Cerca de 7% da testosterona, através da ação da enzima  $5\alpha$ -redutase, é reduzida a DHT, nos órgãos sexuais e folículos pilosos. Cerca de 0,5% é convertido em estradiol pela enzima aromatase (CYP19A1) no cérebro, fígado, tecidos adiposo e cardiovascular (TOSTES et al., 2016).

Figura 6 – Principais vias da biossíntese da testosterona



FFA – ácidos graxos livres; GnRH – hormônio liberador de gonadotrofina; LH – hormônio luteinizante; AC – enzima adenil ciclase;  $G_s$  – proteína G; cAMP – adenosina monofosfato ciclíco; ATP – adenosina trifosfato ciclíco; PKA – proteinoquinase A; StAR – proteína reguladora aguda esteroidogênica; CYP11A1 – enzima CYP11A1; CYP17A1 – enzima CYP17A1; HSD3 $\beta$  – enzima 3- $\beta$ -hidroxiesteroide-desidrogenase; HSD17 $\beta$ 3 – enzima 17- $\beta$ -hidroxiesteroide-desidrogenase-3; DHT – dihidrotestosterona.

Fonte: Adaptado de Ayaz e Howlett (2015).

A DHT é considerada mais potente que a testosterona devido ao fato do seu receptor androgênico ter uma afinidade de ligação 15 vezes maior que o da testosterona. Apesar de ser biologicamente mais ativa, a DHT circula com níveis séricos relativamente mais baixos, sendo a testosterona o esteroide sexual mais comum na circulação em homens (TOSTES et al., 2016).

Os principais androgênios (testosterona e DHT) deixam as células de Leydig por transporte passivo para cair na circulação, na qual a maior parte se liga à globulina ligadora de hormônios sexuais e/ou à albumina, mas pequena parte irá circular como androgênio livre (AYAZ; HOWLETT, 2015).

Nas células de Leydig, uma pequena parte da testosterona é convertida em estrogênio primário, 17- $\beta$ -estradiol, pela aromatase (AYAZ; HOWLETT, 2015). Esta enzima está presente também em outros locais como no fígado e nos tecidos adiposo, ósseo e cerebral em homens e mulheres (TOSTES et al., 2016).

A expressão especificamente cardíaca da aromatase foi demonstrada nas células cardíacas de ratos masculinos adultos (BELL et al., 2011).

Na presença de obesidade, a conversão da testosterona circulante em 17- $\beta$ -estradiol pela via da aromatase, pode elevar os níveis de estradiol. Além disso, alguns esteroides anabolizantes (decanoato de nandrolone, fenpropionato de nandrolone) podem ser aromatizados para estradiol (AYAZ; HOWLETT, 2015). Portanto, os efeitos da suplementação da testosterona, com derivados que podem ser aromatizados, podem ser realmente resultantes em parte da ação do estradiol ao invés do androgênio (BROUILLETTE et al., 2005; BROUILLETTE; TRÉPANIER-BOULAY; FISET, 2003; PHAM et al., 2002). Devido a este fato, alguns estudos idealizados para avaliar a ação dos androgênios no sistema cardiovascular usam DHT não aromatizável ao invés de testosterona e seus derivados (AYAZ; HOWLETT, 2015).

A testosterona exerce seus efeitos fisiológicos através de uma via genômica que é mediada por receptores androgênicos citosólicos clássicos (MAGEE et al., 2006). Entretanto, uma via não genômica também tem sido estudada (MENDELSON; KARAS, 2005). Os efeitos não genômicos tem sido considerados mais rápidos em relação aos efeitos genômicos (PAPAMITSOU et al., 2011). A testosterona utiliza receptores de membrana para induzir seus efeitos não genômicos (TOSTES et al., 2016).

Os efeitos genômicos ou clássicos modulam a transcrição gênica e a síntese proteica e dependem da ligação com receptores androgênicos citosólicos. Os efeitos não genômicos podem ocorrer mesmo quando os androgênios estão impedidos de entrar na célula. Não requerem a associação com receptores androgênicos citosólicos e são insensíveis à inibição da síntese de ácido ribonucleico (RNA) e proteína. Os efeitos não genômicos envolvem a ativação de várias vias sinalizadoras, incluindo

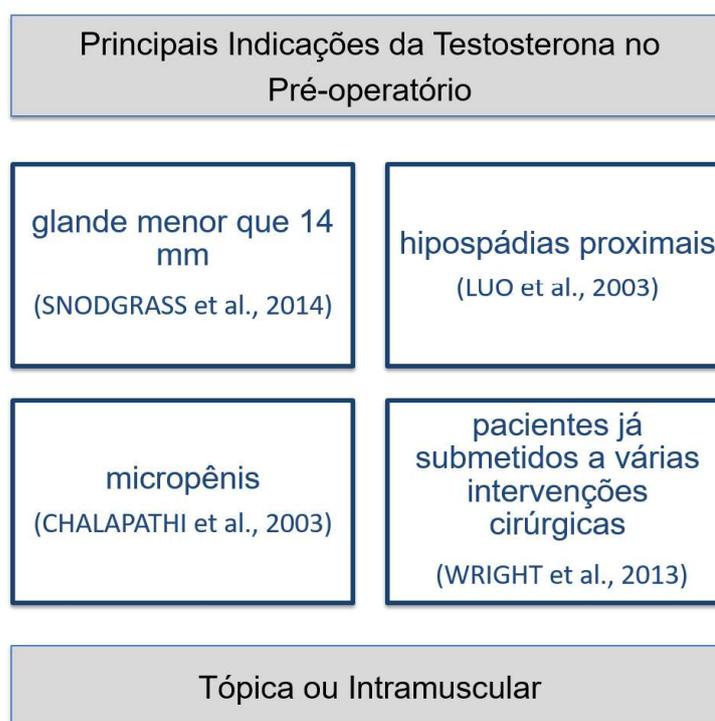
cálcio, óxido nítrico, PKA, proteína quinase C (PKC) e proteíno-quinases ativadas por mitógenos (MAPK) (TOSTES 2016).

### 2.3.1. Uso da testosterona no pré-operatório da cirurgia corretiva de hipospádia

A ação da testosterona no pré-operatório da hipospádia foi estudada por vários autores (BASTOS et al., 2011; CHALAPATHI et al., 2003; GORDUZA et al., 2011; NERLI et al., 2009). Com a finalidade de obter melhores resultados cirúrgicos, pode ser indicado o uso pré-operatório da testosterona (CHALAPATHI et al., 2003), devido à capacidade de atuar no aumento do tamanho do pênis (NERLI et al., 2009), da circunferência da glândula e à melhora da vascularização do prepúcio (SNODGRASS et al., 2011).

Tem indicação na presença de glândula menor que 14 mm (SNODGRASS et al., 2014), nas hipospádias proximais (LUO et al., 2003), na presença de micropênis (CHALAPATHI et al., 2003) e nos casos de pacientes já submetidos a várias intervenções cirúrgicas (WRIGHT et al., 2013). A Figura 7 mostra algumas das indicações do uso de testosterona no pré-operatório da cirurgia de hipospádia.

Figura 7 – Principais indicações da testosterona no pré-operatório da cirurgia de hipospádia



Fonte: A autora.

Pode ser aplicada de forma tópica ou intramuscular (CHALAPATHI et al., 2003). No entanto, não há um consenso em relação à dose, ao tempo de uso, à via de administração e, por fim, de que seu uso melhore realmente os resultados cirúrgicos (MALIK; LIU, 2014).

Um estudo histológico avaliou, através de marcação para o Fator de Von Willebrand, o número e a densidade de volume dos vasos sanguíneos em prepúcios tratados com aplicação tópica de propionato de testosterona a 1% antes da cirurgia de hipospádia. O grupo tratado com testosterona apresentou aumento do número absoluto de vasos sanguíneos e aumento da densidade volêmica comparado com o grupo que não recebeu hormônio, concluindo que houve neovascularização em números absolutos e em densidade volumétrica, melhorando as condições dos tecidos e as condições cirúrgicas. O aumento da vascularização diminui a formação de tecido fibroso e de inflamação e melhora a cicatrização (BASTOS et al., 2011).

No entanto, também foram observados alguns efeitos prejudiciais como uma maior taxa de complicações, aumento do risco de sangramento intra-operatório, efeitos transitórios no humor, aumento das ereções, crescimento de pelos pubianos (GORDUZA et al., 2011; MALIK; LIU, 2014) e escurecimento da pele (PAIVA et al., 2016). Na

Figura 8 observamos os principais efeitos positivos e negativos do uso da testosterona no pré-operatório da cirurgia de hipospádia.

Figura 8 – Principais efeitos do uso da testosterona no pré-operatório da cirurgia de hipospádia



Fonte: A autora.

Diante da necessidade de mais estudos para verificar a eficácia do uso da testosterona tópica na biometria do pênis hipospádico, Paiva e colaboradores (2016) realizaram um ensaio clínico randomizado e verificaram o aumento do tamanho do pênis, tanto no seu comprimento quanto no diâmetro e, também, no diâmetro da glândula. Além disso, observaram que os efeitos adversos, tais como, aumento dos pelos pubianos, escurecimento da pele da região genital, foram transitórios, comprovando a eficácia do uso da testosterona no pré-operatório da hipospádia (PAIVA et al., 2016).

### 2.3.2. Uso da gonadotrofina coriônica no pré-operatório da cirurgia corretiva de hipospádia

A HCG tem sido utilizada como uma alternativa de terapia hormonal com a finalidade de melhoria das condições cirúrgicas na correção das hipospádias (MALIK; LIU, 2014), além de estimular a descida dos testículos nos casos de criptorquidia (PIRGON et al., 2009).

Um ensaio clínico com meninos portadores de criptorquidia, que fizeram uso de HCG, mostrou um aumento da massa ventricular esquerda em relação ao grupo controle. A HCG age de forma semelhante ao LH e estimula as células de Leydig a produzir androgênios (PIRGON et al., 2009).

### 2.3.3. Receptores de testosterona no coração

Em 1978, estudos em ratos demonstraram a presença de receptores androgênicos específicos no citosol do tecido cardíaco, além de uma alta atividade da enzima 3-alfa-hidroxiesteroide-desidrogenase e uma atividade da 5-alfa-redutase ausente. Esses dados resultaram na observação de uma alta concentração de testosterona no tecido muscular cardíaco (KRIEG; SMITH; BARTSCH, 1978).

Na tentativa de confrontar o grau de responsividade do tecido muscular cardíaco aos androgênios em relação a outros órgãos alvo comparou-se as quantidades de receptores citosólicos para androgênios e os diferentes níveis de atividade da 5-alfa-redutase. A próstata, no topo da hierarquia androgênica, possui uma grande quantidade de receptores disponíveis e uma alta atividade da 5-alfa-redutase, permitindo a conversão da testosterona em DHT, que possui uma maior afinidade pelo receptor. O músculo cardíaco do rato possui uma menor quantidade de receptores androgênicos, quando comparado ao tecido muscular esquelético, além da ausência da 5-alfa-redutase, resultando na maior concentração de testosterona e não da DHT. Enquanto na próstata, a maior concentração de DHT, pode ser explicada pela presença de receptores androgênicos e pela alta concentração de 5-alfa-redutase. Desta forma, o músculo cardíaco pode estar localizado próximo ao tecido muscular esquelético na hierarquia androgênica, mas parece estar ainda mais protegido da ação da DHT, por apresentar uma maior atividade da 3-alfa-hidroxiesteroide-desidrogenase, levando a maior concentração da 3-alfa-diol no coração (KRIEG; SMITH; BARTSCH, 1978).

Marsh e colaboradores demonstraram que tecidos cardíacos de mamíferos de várias espécies, incluindo humanos, expressam o gene codificador do receptor androgênico e que estes podem mediar uma resposta hipertrófica significativa, diretamente nos miócitos cardíacos (MARSH et al., 1998). Demonstraram, pela primeira vez, que tanto a testosterona quanto a DHT produzem uma resposta hipertrófica por ação direta nas células musculares cardíacas, através do aumento da

incorporação de aminoácido à proteína. As células musculares cardíacas permitem a modulação direta pelos androgênios de forma independente de condições hemodinâmicas, da pré e pós-carga ventricular ou de outras alterações neuro-hormonais. A secreção de peptídeo natriurético atrial (ANP) esteve aumentada na presença de DHT, mas não na presença de testosterona. Isto sugere que possam existir formas de receptores para DHT e testosterona distintas no coração com funções compartilhadas e outras específicas na transcrição de genes (MARSH et al., 1998).

#### 2.3.4. Demais usos da testosterona

A testosterona e seus andrógenos relacionados possuem efeitos anabólicos e androgênicos significativos. A testosterona tem sido usada com a finalidade de terapia de reposição hormonal, tratamento de infertilidade e disfunção da libido e ainda como um agente anti-envelhecimento desde sua descoberta (HEUTLING; LEHNERT, 2008; PAYNE; KOTWINSKI; MONTGOMERY, 2004).

No hipogonadismo clássico, a produção de testosterona está, geralmente, abaixo do limite inferior da normalidade e os pacientes são altamente sintomáticos. Ocorrem sintomas relacionados aos diversos sistemas, nos quais a ação da testosterona é importante (BAIN, 2007). Os sintomas mais frequentes são fraqueza, fadiga, letargia, alterações de humor (distímia, depressão, irritabilidade), diminuição da libido, diminuição da função erétil, diminuição de pelos pubianos, axilares e faciais, insônia, dentre outros (BAIN, 2007).

O hipogonadismo pode ser primário ou secundário. O hipogonadismo primário decorre devido a causas testiculares e cursa com níveis de LH e hormônio folículo estimulante (FSH) elevados. Pode ser devido a castração, trauma testicular, orquite, quimioterapia, radioterapia nos testículos (BAIN, 2007). O hipogonadismo secundário é devido a causas hipotalâmicas e/ou hipofisárias e cursa com LH e FSH baixos. Pode ocorrer, secundariamente, a uma insuficiência de GnRH (idiopática ou Síndrome de Kallmann, tumor de hipófise ou de hipotálamo, hiperprolactinemia, cirurgia na hipófise) (BAIN, 2007).

Em homens idosos, os níveis baixos de testosterona resultam em comprometimento de funções fisiológicas, tais como, metabolismo ósseo, massa muscular, função cognitiva, libido, função erétil. Além de estar associado com

alterações fisiopatológicas como síndromes metabólicas, diabetes, obesidade, resistência insulínica e doença autoimune (BAIN, 2007).

A deficiência de testosterona também está ligada ao aumento da mortalidade devido a todas as causas e/ou a doença cardiovascular em diferentes grupos de pacientes com infarto do miocárdio, doença coronariana, diabetes, doença renal e a pacientes referenciados para a realização de angiografia coronariana. Além da associação entre níveis baixos de testosterona e doença arterial coronariana, há evidência de que níveis baixos de testosterona também estão associados com a severidade da doença coronariana (TOSTES et al., 2016).

Vários pequenos estudos clínicos com a testosterona indicaram melhora dos sintomas de hipogonadismo com a terapia de reposição hormonal com testosterona em homens idosos. Foi observado ganho de massa muscular, densidade óssea, libido, função erétil, humor, motivação e senso geral de bem estar, além de melhora da resistência insulínica e da capacidade de exercer atividade física (BAIN, 2007; BORST et al., 2014).

No entanto, existem preocupações quanto ao uso da testosterona a longo prazo, principalmente em relação ao sistema cardiovascular e ao potencial para estimular o desenvolvimento de câncer de próstata (BAIN, 2007).

Metanálise, realizada em 2010, demonstrou a ocorrência de três eventos adversos relacionados à terapia de reposição com testosterona (TRT): policitemia, aumento do número de eventos relacionados à próstata e pequena redução dos níveis de HDL-colesterol (FERNANDEZ-BALSELLS et al., 2010). Foram considerados, como eventos relacionados à próstata, a incidência combinada de aumento do antígeno prostático específico (PSA), necessidade de biópsia prostática após realização de toque retal, aumento de sintomas urinários e de câncer de próstata (CALOF et al., 2005). Nenhuma evidência de que a TRT aumenta a incidência de câncer de próstata, quando considerada como desfecho independente, foi observada nesta metanálise (CALOF et al., 2005). Entretanto, o risco cardiovascular com a TRT é inconclusivo (BORST et al., 2014; FERNANDEZ-BALSELLS et al., 2010; HADDAD et al., 2007).

Foi observada uma elevada incidência de eventos cardiovasculares em pacientes que receberam TRT (21%) comparados com placebo (5%), em um ensaio clínico controlado, utilizando testosterona gel, por 6 meses, em comparação com placebo (BASARIA et al., 2010).

Uma metanálise, realizada em 2012, mostrou um número significativamente maior de eventos cardiovasculares no grupo que recebeu testosterona, em comparação com o grupo que recebeu placebo. Além disso, foi relatada uma subnotificação de eventos cardiovasculares em estudos financiados pela indústria farmacêutica (XU et al., 2013). No entanto, este estudo foi criticado por Shuster, Guo e Skyler (2012) por não ter utilizado métodos estatísticos adequados (SHUSTER; GUO; SKYLER, 2012).

Corona e colaboradores (2014) não observaram nenhuma evidência de risco cardiovascular, mas os critérios de inclusão utilizados foram menos rigorosos (CORONA et al., 2014).

Contrariamente aos estudos citados acima, que indicam que a TRT possa estar associada (FINKLE et al., 2014; VIGEN et al., 2013) ao aumento de eventos cardiovasculares ou que possa causar tais eventos (BASARIA et al., 2010; XU et al., 2013), um grande número de estudos relatam efeitos cardiovasculares benéficos com níveis séricos adequados de testosterona e TRT (BORST et al., 2014).

Estas observações, aparentemente divergentes, talvez possam ser explicadas pela variação do risco/benefício cardiovascular encontrado com as diferentes vias de administração da TRT (BORST et al., 2014).

A testosterona pode ser administrada por injeção intramuscular de ésteres de longa duração; por via transdérmica, através de gel ou adesivo e, por via oral, como undecanoato de testosterona. As diversas vias de administração estão associadas com diferentes doses, diferenças no ciclo de elevação do androgênio na circulação e nos diferentes níveis relativos de DHT em relação à testosterona (BORST et al., 2014).

Quando administrada por via oral e transdérmica, a testosterona é exposta a um elevado grau de atividade da enzima  $5\alpha$ -redutase presente na pele e no fígado (INUI; ITAMI, 2013; THIGPEN et al., 1993), o que resulta em um aumento da DHT sérica em relação à testosterona e que pode influenciar no risco cardiovascular (BORST et al., 2014).

Estudos demonstraram que a DHT sérica está associada a alguns eventos, tais como, incidência de doença cardiovascular, incidência de acidente vascular encefálico e mortalidade por todas as causas de forma independente e positiva (SHORES et al., 2014a, 2014b).

Resultados opostos foram observados em uma coorte com 1032 homens idosos seguidos por uma mediana de 9 a 10 anos, nos quais não foram encontradas associações entre os eventos citados anteriormente (BORST et al., 2014).

Foi conduzida por Borst e colaboradores, uma metanálise com os objetivos de avaliar se a incidência de eventos cardiovasculares é afetada pela via de administração e se existe um aumento diferencial entre os níveis séricos de testosterona e DHT baseado na via de administração (BORST et al., 2014). Os autores observaram que o aumento dos níveis séricos de DHT foi significativamente afetado pela via de administração. Mas, isto não foi observado com os níveis de testosterona sérica. Quando utilizada a via intramuscular, houve elevação semelhante nos níveis séricos de testosterona e DHT. Houve aumento dos níveis séricos de DHT significativamente maior (5,4 vezes) quando utilizada a via transdérmica em comparação com a via intramuscular (aumento de 2,2 vezes) (BORST et al., 2014).

Nesta metanálise, foram encontrados apenas 4 estudos que utilizaram TRT por via oral e os dados foram insuficientes para análise estatística. Níveis de testosterona sérica pós-tratamento por via oral foi semelhante a outras vias de administração, mas os níveis de DHT foram mais altos quando utilizada a via oral (BORST et al., 2014).

Esta metanálise foi baseada em 35 estudos elegíveis e mais de 3700 pacientes que fizeram uso de TRT. Não foi observado aumento significativo de risco para eventos cardiovasculares quando analisados conjuntamente todos os estudos com várias vias de administração. Ao se analisar o risco com base na via de administração, somente a TRT por via oral esteve associada com risco elevado de eventos cardiovasculares quando comparada ao placebo (BORST et al., 2014).

Foi observado um aumento no risco cardiovascular quando utilizada a via transdérmica e uma diminuição do risco quando utilizada a via intramuscular, no entanto as diferenças não foram estatisticamente significativas (BORST et al., 2014).

Outro achado importante foi que a administração por via oral e transdérmica da TRT estiveram associadas com maiores elevações de DHT se comparadas com a via intramuscular (BORST et al., 2014).

Devido ao surgimento de estudos demonstrando a associação entre DHT (ao invés de testosterona) e eventos cardiovasculares adversos, os resultados desta metanálise têm implicações importantes na compreensão atual dos mecanismos de risco cardiovascular em homens submetidos à TRT (BORST et al., 2014).

Nos estudos de Shores e colaboradores, houve associação significativa entre concentração sérica de DHT e taxa de incidência de acidente vascular encefálico (AVE) isquêmico em 10 anos e taxa de incidência de doenças cardiovasculares em 9 anos, além da associação com a mortalidade por todas as causas (SHORES et al., 2012, 2014a).

Associações semelhantes não foram observadas com a testosterona total sérica ou testosterona livre, o que levou os autores a sugerir que o risco cardiovascular associado à TRT pode resultar da ação da 5  $\alpha$ -redutase, transformando a testosterona em DHT (SHORES et al., 2014b).

Em ambos os estudos de Shores e colaboradores, o menor risco foi observado quando a concentração sérica de DHT era de aproximadamente 60ng/dL, enquanto o maior risco estava associado tanto com valores acima quanto abaixo de 60 ng/dL (SHORES et al., 2014b).

O fato da DHT ter sido avaliada por diferentes métodos, nos vários estudos incluídos nesta metanálise de Borst, sugere uma limitação na interpretação dos dados de elevação dos níveis séricos de testosterona e DHT após TRT (BORST et al., 2014).

Interessante o achado de que a testosterona, aplicada por via intramuscular, possa ser mais segura que a via transdérmica, apesar de as doses de TRT por via intramuscular serem quase sempre mais altas que as doses transdérmicas (BORST et al., 2014).

Novos estudos deverão ser realizados, no futuro, para corroborar estes achados.

#### 2.4. IMPORTÂNCIA DA ECOCARDIOGRAFIA NO CÁLCULO DA MASSA VENTRICULAR ESQUERDA EM MENINOS

O ecocardiograma tem sido considerado um importante instrumento para avaliação da massa ventricular esquerda (KATZ et al., 2010). Possui elevada acurácia, custo relativamente baixo, com mínimos riscos e, além disso, é um método não invasivo (DANIELS et al., 1988). Devido aos inúmeros atributos, a ecocardiografia é habitualmente utilizada para avaliação da massa ventricular esquerda (KATZ et al., 2010).

Inicialmente, as medidas para o cálculo da massa ventricular esquerda foram feitas no modo M, com base na espessura do SIV e da parede posterior e dimensão

interna do ventrículo esquerdo, considerando que este tenha o formato de uma elipsóide de revolução. Esta fórmula foi proposta por Troy e colaboradores e ficou conhecida como “fórmula do cubo” (KATZ et al., 2010; TROY; POMBO; RACKLEY, 1972) conforme mostra a equação 1.

$$massa_{VE}(Troy) = 1,04 \times [(SIV + PP + DIVE)^3 - (DIVE)^3] \quad (1)$$

Sendo:

1,04: gravidade específica do miocárdio;

Massa VE: massa ventricular esquerda;

SIV: septo interventricular;

PP: parede posterior do ventrículo esquerdo;

DIVE: dimensão interna do ventrículo esquerdo.

Posteriormente, estudo propôs a combinação da equação de Troy com a convenção de Penn, que levou à modificação da fórmula através do acréscimo de um fator de correção, subtraindo 13,6 g (DEVEREUX; REICHEK, 1977) conforme mostra a equação 2.

$$massa_{VE}(Penn) = 1,04 \times [(SIV + PP + DIVE)^3] - 13,6g \quad (2)$$

Sendo:

1,04: gravidade específica do miocárdio;

Massa VE: massa ventricular esquerda;

SIV: septo interventricular;

PP: parede posterior do ventrículo esquerdo;

DIVE: dimensão interna do ventrículo esquerdo.

A partir de um estudo de Devereux e colaboradores, em que 52 pacientes foram avaliados através de ecos realizados dentro de 6 meses antes do óbito e através de necrópsia, medidas das massas e dimensões ventriculares foram realizadas para avaliação da presença de hipertrofia ventricular esquerda e quantificação. Concluiu-se que existia uma superestimação com as fórmulas anteriores (TROY; POMBO; RACKLEY, 1972). Mas, tanto a fórmula de Troy quanto a de Penn levavam a uma

variabilidade acima de 20% (KATZ et al., 2010). Foi proposto, então, um cálculo para correção da massa ventricular esquerda (DEVEREUX; REICHEK, 1977), que é validada pela ASE, podendo ser utilizada para medidas tomadas no modo M ou bidimensional (KATZ et al., 2010; LANG et al., 2005; LOPEZ et al., 2010) conforme mostra a equação 3.

$$\text{massa VE (ASE)} = 0,8 \times 1,04 \times [(SIV + PP + DIVE)^3] - [(DIVE)^3] + 0,6g \quad (3)$$

Sendo:

Massa VE: massa ventricular esquerda;

SIV: septo interventricular;

PP: parede posterior do ventrículo esquerdo;

DIVE: dimensão interna do ventrículo esquerdo.

A maioria dos estudos ecocardiográficos na faixa etária pediátrica utilizam imagens em modo M. Existe uma alta correlação entre as medidas tomadas no modo M e no modo bidimensional (FOSTER et al., 2013).

No entanto, é sabido que o cálculo da massa ventricular esquerda a partir do modo M pode levar a uma superestimação em pacientes portadores de insuficiência cardíaca congestiva, de cardiopatia hipertensiva e até em pacientes normais (KATZ et al., 2010). Ao contrário, as medidas a partir do modo bidimensional podem subestimar o valor real da massa ventricular, como foi mostrado através de estudo com ressonâncias nuclear magnética (CHUANG et al., 2000).

A recomendação da ASE para crianças é a utilização do plano de eixo curto, pois facilita a visualização do diâmetro com a melhor interface entre o endocárdio e o sangue. Outro ponto importante é a disponibilização de valores de referência para medidas no modo M no eixo curto para pacientes pediátricos (LOPEZ et al., 2010).

As medidas tomadas no eixo longo no modo M podem superestimar o diâmetro do eixo curto em relação às medidas no modo bidimensional (LOPEZ et al., 2010).

Seguidas as recomendações da ASE, para o cálculo da massa ventricular esquerda podem ser realizadas medidas lineares no modo M guiadas pelo 2D ou, a partir de medidas lineares diretamente no modo bidimensional (LANG et al., 2005, 2015; LOPEZ et al., 2010).

A fórmula normalmente utilizada para o cálculo da massa ventricular é a indicada pela ASE (LANG et al., 2005) conforme descrita na equação 3.

Esta fórmula é mais acurada em ventrículos com forma e funções normais. Quando utilizada em pacientes com grandes distorções da geometria do ventrículo esquerdo, mesmo pequenos erros das medidas lineares são elevadas ao cubo e com isto levam a um resultado equivocado do valor da massa do ventrículo esquerdo. Portanto, este cálculo deve ser corrigido indexando seu valor pela superfície corporal em metros quadrados (LANG et al., 2005).

Outro ponto importante é que a massa ventricular deveria ser proporcional ao tamanho corporal. Desta forma, também por esta razão, as medidas de VE deveriam ser normalizadas/corrigidas para o tamanho corporal (DANIELS et al., 1988; KATZ et al., 2010).

Existe uma grande controvérsia em relação a qual o melhor método (ou mais adequado) para normalizar a massa ventricular (Katz, 2010). A utilização de uma medida fidedigna da massa ventricular esquerda é muito importante para a determinação da presença de hipertrofia ventricular esquerda e de sua adequada quantificação (DEVEREUX et al., 1986; KATZ et al., 2010).

O fato do crescimento do coração e do crescimento corporal não terem uma relação direta faz com que a indexação seja difícil em crianças menores. Vários métodos para indexação da massa ventricular esquerda em crianças têm sido propostos. A finalidade da indexação é obter um cálculo da massa ventricular esquerda para tamanhos corporais diferentes levando em consideração os efeitos da obesidade ou do sobrepeso (KHOURY et al., 2009).

O cálculo do índice de massa ventricular esquerda indexada pela altura ou pela altura elevada a potências exponenciais específicas ou indexada pela superfície corporal é capaz de permitir a comparação entre indivíduos de diferentes tamanhos corporais (KHOURY et al., 2009).

A indexação pela massa corporal magra seria o cálculo mais preciso, contudo exige técnicas sofisticadas (KHOURY et al., 2009). Na população adulta, o uso da massa ventricular esquerda indexada pela altura elevada a 2,7 pode ser um cálculo bastante semelhante à indexação pela massa corporal magra (KHOURY et al., 2009). Devido à variação no índice em crianças mais jovens, seu uso foi questionado, pois este cálculo não teria a acurácia desejada em crianças (FOSTER et al., 2008).

Khoury e colaboradores (2009) estudaram 2273 indivíduos, de 0 a 18 anos, com o objetivo de construir curvas de percentuais (5, 10, 25, 50, 75, 90 e 95) baseadas na massa ventricular indexada pela altura<sup>2,7</sup>. Embora o cálculo da massa ventricular esquerda/altura<sup>2,7</sup> seja um método popular na faixa etária pediátrica, este possui limitações (KHOURY et al., 2009).

A relação entre altura e massa do ventrículo esquerdo difere em diferentes fases do crescimento. A variabilidade da massa do ventrículo esquerdo aumenta com o tamanho corporal. Quando o índice de massa corporal (IMC) é alto, ocorre uma superestimação da relação massa ventricular esquerda/altura e quando o IMC é baixo ocorre uma subestimação (FOSTER et al., 2013).

A relação massa ventricular esquerda/superfície corpórea corresponde mais fortemente com a relação massa ventricular esquerda/massa corporal magra do que massa ventricular/altura em crianças normotensas (FOSTER et al., 2013). Na presença de obesidade, ocorre uma superestimação da massa ventricular ao utilizarmos a relação massa ventricular/altura.

A fórmula mais utilizada é a indexação pela superfície corpórea. As indicações e as limitações do uso de cada indexação devem ser levadas em consideração em relação à geometria ventricular para adequada avaliação (KATZ et al., 2010). A ASE considera que a área da superfície corpórea é um melhor parâmetro de crescimento somático para crianças normais do que a altura ou peso isoladamente (LOPEZ et al., 2010).

#### 2.4.1. Critérios de normalidade x critérios de hipertrofia ventricular esquerda

Em adultos, o índice de massa ventricular esquerda indexada pela superfície corpórea é considerado normal quando é menor ou igual a 95 g/m<sup>2</sup> em mulheres e menor ou igual a 115 g/m<sup>2</sup> em homens. Valores maiores são considerados como hipertrofia ventricular (LANG et al., 2005; MATHIAS, 2013).

Considera-se como percentil 90, 79,2 g/m<sup>2</sup> para meninas e 95,1 g/m<sup>2</sup> para meninos. Considera-se como percentil 95, 84,2 g/m<sup>2</sup> para meninas e 103,0 g/m<sup>2</sup> para meninos (DANIELS et al., 1988).

Estudo de Voguel, avaliando crianças menores, encontrou para recém-nascidos e lactentes 48,7 ± 10 g/m<sup>2</sup>, enquanto que, em crianças de um a 17 anos, 63 ± 10 g/m<sup>2</sup> (VOGEL; STALLER; BÜHLMAYER, 1991).

### **3. PROPOSIÇÃO**

A testosterona tópica, aplicada ao pênis, no pré-operatório de meninos com hipospádia, está associada ao aumento da massa ventricular esquerda.

#### **4. HIPÓTESE NULA**

H<sub>0</sub>: A testosterona tópica, aplicada ao pênis, no pré-operatório de meninos com hipospádia, apresenta taxa de ocorrência de hipertrofia ventricular esquerda semelhante ao placebo.

H<sub>1</sub>: A testosterona tópica, aplicada ao pênis, no pré-operatório de meninos com hipospádia, apresenta taxa de ocorrência de hipertrofia ventricular esquerda maior que a do placebo.

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1. OBJETIVO GERAL**

Avaliar o índice de massa ventricular esquerda após o uso de testosterona tópica, em meninos, no pré-operatório da cirurgia corretiva de hipospádia.

### **5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Comparar o valor da massa ventricular esquerda indexada pela superfície corpórea, em meninos portadores de hipospádia, antes e após 30 dias do uso de testosterona tópica e de placebo.

Avaliar possíveis alterações clínicas, tais como, variação do índice de massa corpórea e da pressão arterial, ao final do tratamento e 60 dias após sua suspensão e comparar com as alterações da massa ventricular esquerda e com os níveis séricos de testosterona.

## **6. PACIENTES E MÉTODO**

### **6.1. DELINEAMENTO DO ESTUDO E A POPULAÇÃO ALVO**

Trata-se de um estudo experimental, ensaio clínico, controlado, duplo cego, randomizado, no qual foi avaliado o risco de hipertrofia ventricular esquerda, em meninos, utilizando testosterona tópica no período pré-operatório da cirurgia corretiva de hipospádia.

Foram incluídos 41 meninos, atendidos no ambulatório de Urologia Pediátrica do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora, Minas Gerais, acompanhados no período de agosto de 2013 a dezembro de 2016.

### **6.2. CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE**

#### **6.2.1. Critérios de inclusão**

Meninos de 6 meses a 9 anos, 11 meses e 29 dias de idade, identificados como portadores de hipospádias distal, médio-peniana e proximal, atendidos nos ambulatórios de Urologia Pediátrica do Hospital Universitário de Juiz de Fora/HU-CAS, durante o período de 2013 a 2016.

Todos os pacientes eram usuários do SUS e os responsáveis consentiram em assinar o TCLE (Anexo B), após informação sobre todas as etapas do estudo.

#### **6.2.2. Critérios de não-inclusão**

Não foram incluídos, no estudo, pacientes em uso de testosterona ou gonadotrofina coriônica ou com histórico de tratamento recente com um destes fármacos, nos seis meses anteriores ao início do protocolo do estudo.

### **6.3. CÁLCULO DO TAMANHO DA AMOSTRA**

Foi estabelecido que uma amostra de 18 sujeitos em cada grupo seria adequada para detectar uma diferença de 20% no índice de massa do ventrículo esquerdo, indexado pela superfície corporal ( $\text{g/m}^2$ ), com o uso de testosterona tópica

em relação ao uso de creme placebo, com um poder de 80% e nível de significância de 0,05.

Dados retrospectivos de meninos da mesma faixa etária demonstraram que um desvio padrão de  $\pm 10$  (aumento de 20%) na massa ventricular esquerda indexada pela área de superfície corporal ( $\text{g}/\text{m}^2$ ) seria considerada uma diferença de importância clínica. Dessa forma, dada a ausência de estudos para a ocorrência de hipertrofia ventricular esquerda, em meninos que utilizaram testosterona tópica, essa diferença foi definida, por um grupo de especialistas (membros da Sociedade Brasileira de Ecocardiografia), como significativa.

#### 6.4. RANDOMIZAÇÃO

Os meninos foram divididos aleatoriamente em dois grupos usando o programa Research Randomizer Form 4.0 (<http://www.randomizer.org/form.htm>).

- Grupo 1: composto de meninos que usaram propionato de testosterona tópica a 1%, em todo o pênis, duas vezes ao dia, durante 30 dias, antes da correção cirúrgica.
- Grupo 2: composto de meninos que usaram creme placebo tópico, em todo o pênis, duas vezes ao dia, durante 30 dias, antes da correção cirúrgica.

#### 6.5. CEGAMENTO

Tanto o responsável pelo paciente, quanto a médica que orientou o uso do creme não tiveram conhecimento sobre qual droga foi administrada. Apenas um membro da equipe da pesquisa teve conhecimento dos códigos da randomização, cuja listagem foi arquivada em local seguro. Toda a análise foi realizada sem o conhecimento de qual dos tratamentos (1 e 2) correspondia à testosterona creme ou ao creme-base (placebo). Os responsáveis pela realização dos exames laboratoriais e a médica responsável pela avaliação clínica não tiveram conhecimento sobre qual tratamento cada paciente recebeu. A médica responsável pela realização dos exames ecocardiográficos também não teve conhecimento sobre qual tratamento cada paciente recebeu.

O sigilo foi mantido, inclusive durante a digitação dos formulários no banco de dados, especialmente construído para esta finalidade.

Somente após o término da análise é que o sigilo foi definitivamente quebrado e os grupos identificados.

## 6.6. PROTOCOLO

### 6.6.1. Administração das drogas

As embalagens, contendo os medicamentos, foram rotuladas em Tratamento 1 e Tratamento 2, aleatoriamente.

Os cremes foram confeccionados na farmácia da UFJF e disponibilizados sem qualquer custo para os pacientes.

Os pacientes foram randomizados para receber propionato de testosterona a 1% creme ou creme-base (placebo). Os responsáveis receberam todas as explicações sobre a pesquisa e, mediante concordância em participar, assinaram o termo de consentimento livre esclarecido (TCLE) em duas vias.

Todos os responsáveis foram orientados a aplicar o creme em toda a superfície dorsal e ventral do pênis e da glândula duas vezes ao dia, durante 30 dias, antes da cirurgia, na quantidade de 1 colher de chá (aproximadamente 5g). Foi orientado o uso de luvas durante a aplicação.

A escolha do uso de creme, no grupo controle e experimental, foi de acordo com outros estudos na literatura e a experiência de nosso serviço, com a finalidade de manter a mesma via de administração em ambos os grupos, reduzindo o viés de aplicação.

### 6.6.2. Avaliação ecocardiográfica

Todos os meninos foram submetidos à avaliação ecocardiográfica uni e bidimensional para comparar o índice de massa ventricular esquerda. Os ecocardiogramas, em todas as etapas do estudo, foram realizados por uma mesma cardiologista infantil, que era cega quanto ao grupo a que cada menino pertencia e quanto aos níveis séricos de testosterona.

Durante a realização dos ecocardiogramas, os meninos foram examinados na posição supina, utilizando o dispositivo Vivid-i GE, sonda de 3,5 MHz, no Ambulatório

de Cardiologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF).

Optou-se por utilizar, no presente estudo, o cálculo da massa ventricular indexada pela superfície corpórea.

Utilizou-se, para o cálculo da superfície corpórea, a fórmula de Haycock (HAYCOCK; SCHWARTZ; WISOTSKY, 1978) conforme descrito na equação 4.

$$SC = 0,024265 \times alt^{0,3964} \times peso^{0,5378} \quad (4)$$

Sendo:

SC: superfície corpórea (m<sup>2</sup>)

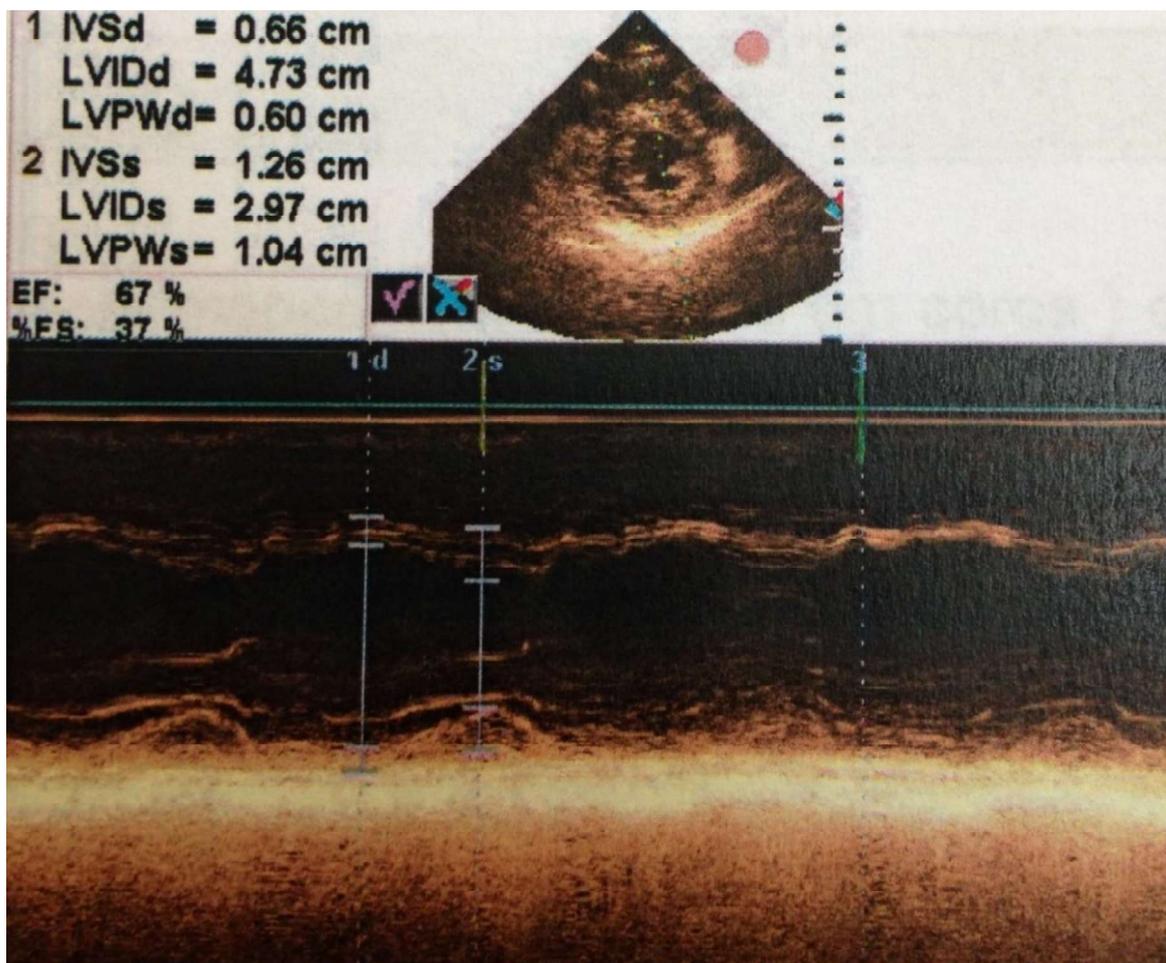
alt: altura (cm)

peso: peso (kg)

A fórmula de Haycock parece ter uma melhor correlação entre a superfície corporal e outras estruturas cardiovasculares (LOPEZ et al., 2010). A ASE também recomenda seu uso, pois ela demonstra melhor correlação com o tamanho das estruturas cardiovasculares (LOPEZ et al., 2010).

A massa ventricular esquerda (g/m<sup>2</sup>) foi calculada através da janela para-esternal transversal (eixo curto), ao nível dos músculos papilares, e medida no Modo M, traçado através das paredes anterior e posterior e indexado pela superfície corporal (DEVEREUX et al., 1986). Outros parâmetros determinantes no diagnóstico de aumento da massa ventricular, tais como, SIV e parede posterior do ventrículo esquerdo também foram avaliados (Figura 9).

Figura 9 – Medidas ecocardiográficas para cálculo da massa ventricular esquerda



IVSd: *interventricular septum diastole* (medida do septo interventricular na diástole); LVIDd: *left ventricular internal diameter diastole* (diâmetro interno do ventrículo esquerdo na diástole); LVPWd: *left ventricular posterior wall diastole* (medida da parede posterior do ventrículo esquerdo na diástole).

Fonte: A autora.

### 6.6.3. Avaliação clínica e laboratorial

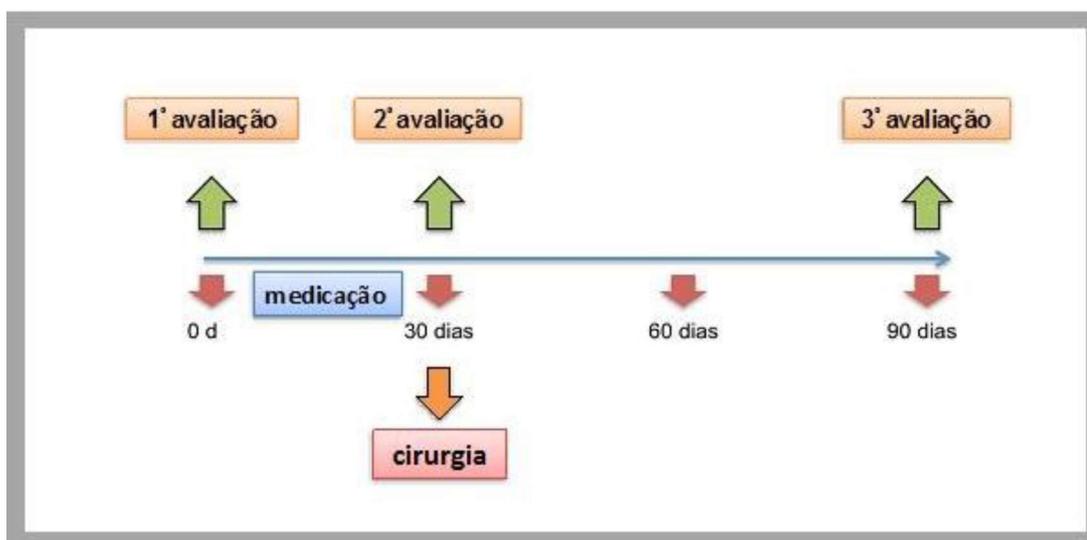
Todos os meninos foram submetidos à avaliação antropométrica clínica, IMC e medida da pressão arterial.

A medida da pressão arterial foi tomada no membro superior direito por ausculta com manguito apropriado ao tamanho do mesmo, após 5 minutos de repouso em posição sentada. Nos meninos com idade igual ou maior que 3 anos, as medidas foram tomadas em posição sentada e, nos meninos menores de 3 anos, em decúbito dorsal com o braço apoiado no nível do precórdio. Foram considerados como normais, os valores de pressão arterial sistólica e diastólica, até percentil 90 (NIH, 2005).

Amostras de sangue foram colhidas para dosagens séricas de testosterona total, testosterona livre calculada, FSH, LH e estradiol.

As avaliações clínica e laboratorial foram realizadas em três momentos, inicialmente, imediatamente antes de iniciar a medicação; a seguir, 30 dias após, quando a medicação foi suspensa e, por último, 60 dias após a suspensão da medicação (Figura 10).

Figura 10 – Tempos de Avaliação



Fonte: A autora.

As dosagens hormonais foram todas realizadas no Laboratório Cortes Vilela na Unidade Rio Branco em Juiz de Fora/MG. Os métodos e valores de referência estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1 – Valores de referência das dosagens hormonais

Dosagem hormonal	Método	Valor de referência para crianças
<b>Testosterona Total</b> (LABORATÓRIO CÔRTEZ VILLELA, c2013)	Quimioluminescência	3,0 a 30,0 ng/dL
<b>Testosterona Livre</b> <b>Calculada</b> (VERMEULEN; VERDONCK; KAUFMAN, 1999)	Quimioluminescência	0,03 a 0,97 ng/dL
<b>Estradiol</b> (LABORATÓRIO CÔRTEZ VILLELA, c2013)	Quimioluminescência	menor que 18,0 pg/mL
<b>FSH</b> (LABORATÓRIO CÔRTEZ VILLELA, c2013)	Quimioluminescência	0,02 a 3,0 mUI/mL
<b>LH</b> (LABORATÓRIO CÔRTEZ VILLELA, c2013)	Quimioluminescência	< 0,1 a 6,0 mUI/mL

Fonte: A autora.

## 6.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Toda a análise foi realizada sem o conhecimento de qual dos grupos de tratamento (1 e 2) correspondiam à testosterona creme ou ao creme-base (placebo). Somente após o término da análise, é que o sigilo foi definitivamente quebrado e os grupos identificados.

As variáveis quantitativas foram expressas como médias  $\pm$  DP ou medianas e intervalos interquartis, enquanto as variáveis nominais ou qualitativas por seus valores absolutos, porcentagens ou proporções. O teste Student t ou Mann-Whitney U (FAY; PROSCHAN, 2010) foi utilizado para comparar as variáveis contínuas, enquanto as variáveis categóricas foram comparadas utilizando o qui-quadrado ou o teste exato de Fisher (MCDONALD, 2009). Todos os testes foram bicaudais com  $p < 0,05$

considerados estatisticamente significativos e foram realizados usando GraphPad Prism ® versão 6.03 para Windows.

#### 6.8. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Este estudo atendeu às requisições da Declaração de Helsinque e às recomendações da Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde, tendo sido o estudo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas em Seres Humanos da Propesq/UFJF em 25 de fevereiro de 2010, sob parecer nº. 027/2010 e parecer nº. 983.247 de 19/03/2015 (Anexo A).

Os responsáveis por todos os meninos, concordantes em participar do estudo, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo B) em duas vias e receberam todas as explicações sobre o estudo.

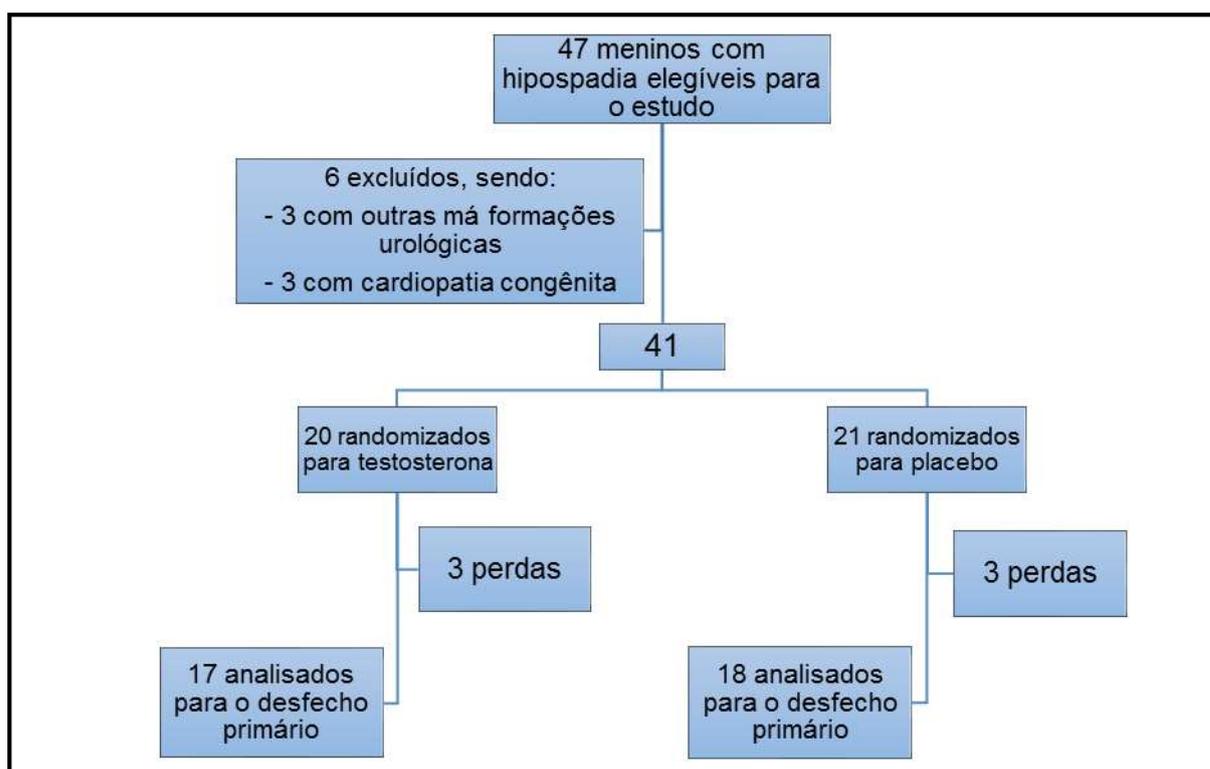
#### 6.9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esse projeto está ligado à linha de pesquisa: “Avaliação biométrica e morfológica do pênis, prepúcio e miocárdio de crianças portadoras de hipospádia antes e após estímulo hormonal”. Foi financiado pelo Projeto de Demanda Universal da FAPEMIG - Edital 01/2012 com o título “Uso de estímulo hormonal (testosterona, estrógeno e gonadotrofina coriônica) no pré-operatório da correção de hipospádia - avaliação dos efeitos sobre o pênis, prepúcio e miocárdio”.

## 7. RESULTADOS

Dos 47 meninos com hipospádia elegíveis para o estudo, seis foram excluídos do protocolo, três deles devido a outras malformações urológicas e três por defeitos cardíacos graves. Quarenta e um meninos foram randomizados, 20 para G1 (grupo experimental) e 21 para G2 (grupo controle). Houve três perdas de seguimento em cada grupo, sendo dois meninos por dificuldade de transporte (menino residente em outra cidade), três por retorno fora da data agendada e um por doença da mãe. Assim, foram analisados 17 meninos em G1 (grupo experimental) e 18 em G2 (grupo controle) para o desfecho primário (massa ventricular esquerda indexada pela superfície corporal) como descrito na Figura 11.

Figura 11 – Desenho do Estudo



Fonte: A autora.

A média de idade no grupo experimental foi de 37,71 meses e no grupo controle foi de 33,67 meses sem diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos ( $p = 0,724$ ) (Tabela 2).

Tabela 2 – Média de idade e frequência por cor nos grupos experimental e controle

Pré-tratamento	G 1 (Testosterona)	G 2 (Placebo)	p
N	17	18	
Idade (meses)	37,71 ± 34,52	33,67 ± 32,73	0,724
Branco	8/47,1%	9/50,0%	0,985
Pardos	6/35,3%	6/33,0%	
Pretos	3/17,6%	3/16,7%	

Média de idade em meses e desvio-padrão (DP) calculados pelo Teste T. Frequência por cor calculada pelo Qui-quadrado.

Fonte: A autora.

Não houve diferenças nos dois grupos antes do tratamento, em relação ao índice de massa do ventrículo esquerdo indexada pela superfície corpórea (Tabela 3), níveis séricos de testosterona total, testosterona livre calculada, FSH, LH, estradiol (Tabela 4) e IMC (Tabela 5). Todos os meninos tiveram níveis normais de pressão arterial sistólica e diastólica antes do tratamento e não houve diferenças entre os dois grupos conforme apresentado na Tabela 5.

Tabela 3 – Medidas ecocardiográficas no pré-tratamento, ao término do tratamento (30 dias após) e aos 60 dias após

		G 1 (Testosterona)	G 2 (Placebo)	p
SIV	Pré-tratamento	0,547 ± 0,07	0,533 ± 0,08	0,624
	Após 30 dias	0,553 ± 0,079	0,528 ± 0,07	0,344
	Após 60 dias	0,571 ± 0,09	0,628 ± 0,36	0,525
PPVE	Pré-tratamento	0,511 ± 0,08	0,529 ± 0,77	0,505
	Após 30 dias	0,535 ± 0,078	0,522 ± 0,073	0,614
	Após 60 dias	0,547 ± 0,08	0,522 ± 0,06	0,318
Índ. Massa VE	Pré-tratamento	56,64 ± 11,69	54,00 ± 9,17	0,461
	Após 30 dias	59,21 ± 11,91	55,12 ± 8,29	0,244
	Após 60 dias	61,13 ± 11,69	62,84 ± 35,99	0,852

SIV, septo interventricular (cm); PPVE, parede posterior do ventrículo esquerdo (cm); Índ. de massa VE, índice de massa ventricular esquerda (g/m<sup>2</sup>) apresentados como médias e desvio padrão comparados pelo Teste T.

Fonte: A autora.

Tabela 4 – Dosagens hormonais no pré-tratamento, ao término do tratamento (30 dias após) e aos 60 dias após

		G 1 (Testosterona)	G 2 (Placebo)	p
Testost. total	Pré-tratamento	5,0 [4-10]	5,6 [4-8]	0,64
	Após 30 dias	12 [7-80]	5 [5-7]	0,018
	Após 60 dias	10 [5-11]	5 [4-5]	0,155
Testost. livre	Pré-tratamento	0,001 [0,001-0,002]	0,001 [0,001-0,004]	0,193
	Após 30 dias	0,002 [0,0001-0,09]	0,0001 [0,0001-0,002]	0,07
	Após 60 dias	0,001 [0,001-0,004]	0,001 [0,001-0,0001]	0,257
FSH	Pré-tratamento	0,714 ± 0,546	0,581 ± 0,42	0,424
	Após 30 dias	0,21 [0,11 - 0,46]	0,34 [0,19-0,74]	0,234
	Após 60 dias	1,27 ± 3,546	0,57 ± 0,376	0,407
LH	Pré-tratamento	0,79 ± 0,640	0,1294 ± 0,085	0,194
	Após 30 dias	2,47 ± 7,52	0,141 ± 0,087	0,196
	Após 60 dias	0,093 ± 0,021	0,099 ± 0,002	0,259
Estradiol	Pré-tratamento	9,952 ± 0,150	10,144 ± 1,037	0,456
	Após 30 dias	16,19 ± 31,19	9,782 ± 2,612	0,39
	Após 60 dias	9,882 ± 0,101	9,90 ± 0,02	0,351

Testosterona total e livre (ng/dL); FSH, hormônio folículo estimulante (mUI/mL); LH, hormônio luteinizante (mUI/mL); estradiol (mUI/mL). Variáveis apresentadas como médias e desvio padrão. Testost. total, testosterona total e Testost. livre, testosterona livre apresentadas como medianas e intervalos interquartis. O Teste de Mann-Whitney foi usado para comparar as médias e medianas.

Fonte: A autora.

Tabela 5 – Medidas de pressão arterial e IMC no pré-tratamento, ao término do tratamento (30 dias após) e aos 60 dias após

		G 1 (Testosterona)	G 2 (Placebo)	p
PAS	Pré-tratamento	80,58 ± 8,45	80,55 ± 6,15	0,989
	Após 30 dias	83,82 ± 7,18	77,5 ± 6,69	0,01
	Após 60 dias	82,35 ± 5,62	81,38 ± 4,79	0,588
PAD	Pré-tratamento	43,23 ± 7,69	61,80 ± 4,58	0,933
	Após 30 dias	43,52 ± 6,06	41,11 ± 3,23	0,147
	Após 60 dias	43,52 ± 6,06	43,94 ± 4,73	0,822
IMC	Pré-tratamento	17,20 ± 2,19	16,85 ± 1,84	0,61
	Após 30 dias	16,69 ± 1,66	16,8 ± 2,72	0,889
	Após 60 dias	16,85 ± 1,76	16,77 ± 2,97	0,921

PAS, pressão arterial esquerda (mmHg); PAD, pressão arterial diastólica (mmHg); IMC, índice de massa corpórea apresentadas como médias e desvio padrão comparadas pelo Teste T.

Fonte: A autora.

Após 30 dias de tratamento, não houve diferença no índice de massa ventricular esquerda entre os dois grupos. Este índice, no grupo experimental (testosterona), foi de  $59,21 \pm 11,91$  g/m<sup>2</sup> e, no grupo controle,  $55,12 \pm 8,29$  g/m<sup>2</sup> ( $p =$

0,244). Na terceira etapa de avaliação, 60 dias após o término do tratamento, a medida foi de  $61,13 \pm 11,69$  g/m<sup>2</sup> no grupo experimental e  $62,84 \pm 35,99$  g/m<sup>2</sup> no grupo controle ( $p = 0,852$ ) (Tabela 3).

A medida do SIV ao final do tratamento no grupo que recebeu testosterona (G1) foi  $0,553 \pm 0,079$  cm e no grupo controle (G2) foi de  $0,528 \pm 0,07$  cm ( $p = 0,344$ ). E, 60 dias após o término do tratamento, foi de  $0,571 \pm 0,09$  cm em G1 e  $0,628 \pm 0,36$  cm em G2 ( $p = 0,525$ ) (Tabela 3). Em ambas as etapas, os valores foram normais e não mostraram diferenças.

A medida da parede posterior do ventrículo esquerdo (PPVE) também não mostrou diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos ao final do tratamento (G1 =  $0,535 \pm 0,078$  cm, G2 =  $0,522 \pm 0,073$  cm,  $p = 0,614$ ) (Tabela 3) e 60 dias após o término do tratamento (G1 =  $0,547 \pm 0,08$  cm, G2 =  $0,522 \pm 0,06$  cm,  $p = 0,318$ ) como visto na Tabela 3.

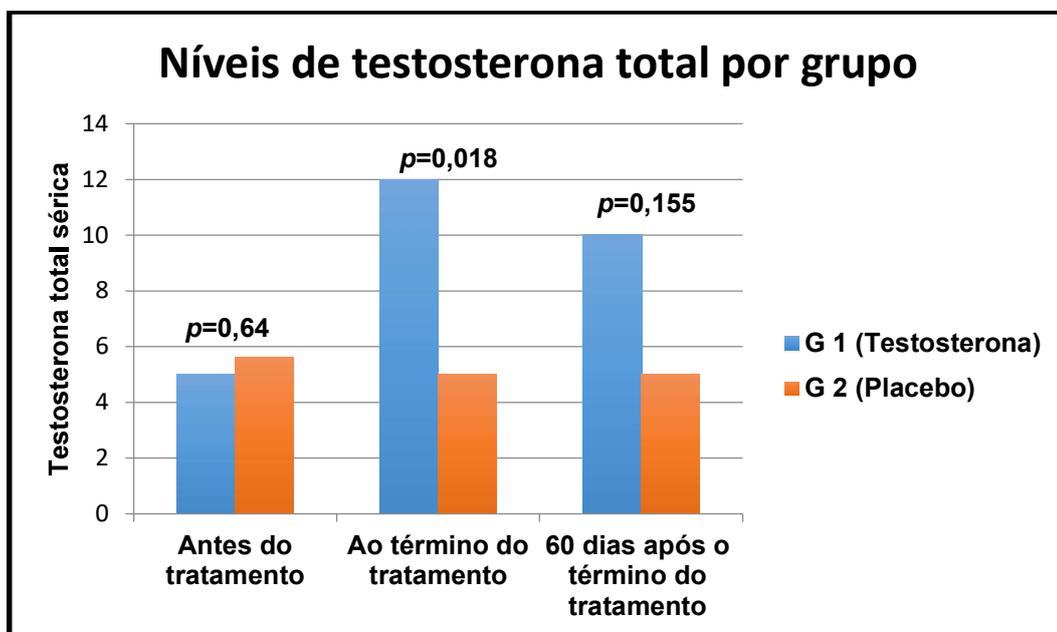
Foi observada uma discreta elevação na média da pressão arterial sistólica, no grupo experimental, no momento da suspensão da droga ( $83,82 \pm 7,18$  mmHg), quando comparada ao grupo placebo ( $77,5 \pm 6,69$  mmHg) ( $p=0,010$ ). Na etapa final de avaliação, 60 dias após o término do tratamento, não foram observadas diferenças nas médias dos dois grupos,  $82,35 \pm 5,62$  mmHg em G1 e  $81,38 \pm 4,79$  mmHg em G2 ( $p=0,588$ ) (Tabela 5).

Não houve diferença entre os índices de massa corporal entre os dois grupos após 30 dias de tratamento ( $p=0,889$ ). O IMC no grupo experimental (G1) foi  $16,69 \pm 1,66$  e no grupo controle (G2) foi  $16,8 \pm 2,72$  (Tabela 4). Após 60 dias do término do tratamento, o IMC em G1 foi  $16,85 \pm 1,76$  e em G2 foi  $16,77 \pm 2,97$  ( $p=0,921$ ) (Tabela 5).

Os níveis séricos de testosterona total foram maiores no grupo que recebeu o tratamento experimental (G1) ao final do uso tópico de testosterona ( $12 [7-80]$  ng/dL) do que no grupo placebo (G2) ( $5 [5-7]$  ng/dL) ( $p=0,018$ ) (Tabela 4). Após 60 dias do término do tratamento, o valor da mediana no grupo que recebeu testosterona tópica foi  $10 [5-11]$  ng/dL e, no grupo controle, foi  $5[4-5]$  ng/dL, sem diferença estatisticamente significativa ( $p=0,155$ ) (Tabela 4) como visto também na Figura 12. Nove pacientes do grupo experimental estavam acima do nível sérico normal de testosterona ao final do tratamento. Sete, destes nove pacientes, tiveram uma queda, a ponto dos níveis séricos se tornarem normais, 60 dias após o término do tratamento. Apenas um, desses nove meninos, apresentou valores de pressão arterial acima da

normalidade (pré-hipertensão) ao final do tratamento, mas apresentou valores normais após 60 dias.

Figura 12 – Níveis de testosterona sérica total por grupo (medianas), antes do uso de creme de propionato de testosterona a 1% ou creme placebo, 30 dias após (ao término do uso) e 60 dias após



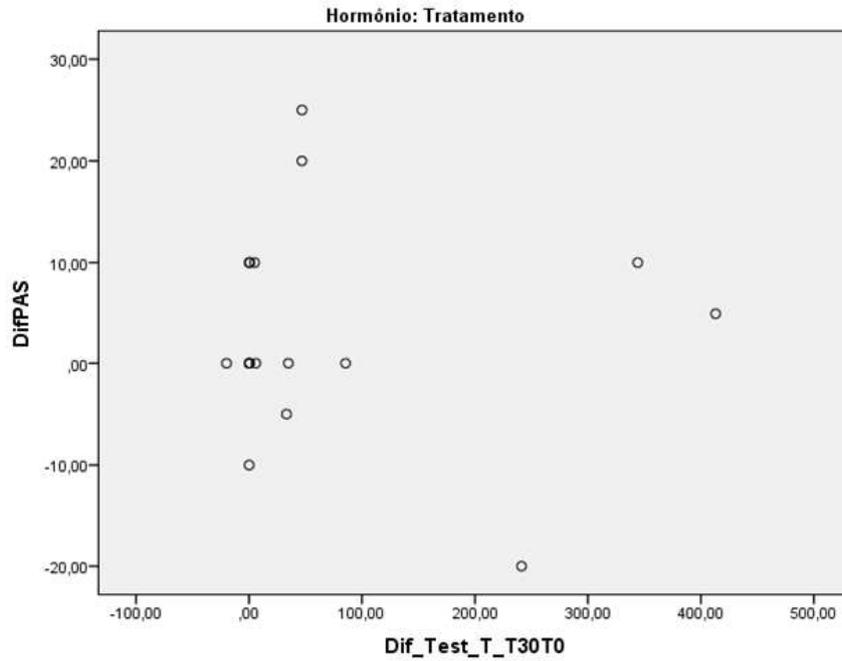
Testosterona total (ng/dL).

Fonte: A autora.

Nenhuma diferença foi encontrada, em relação aos níveis séricos de testosterona livre, FSH, LH e estradiol entre os dois grupos, em todas as etapas de avaliação (Tabela 4).

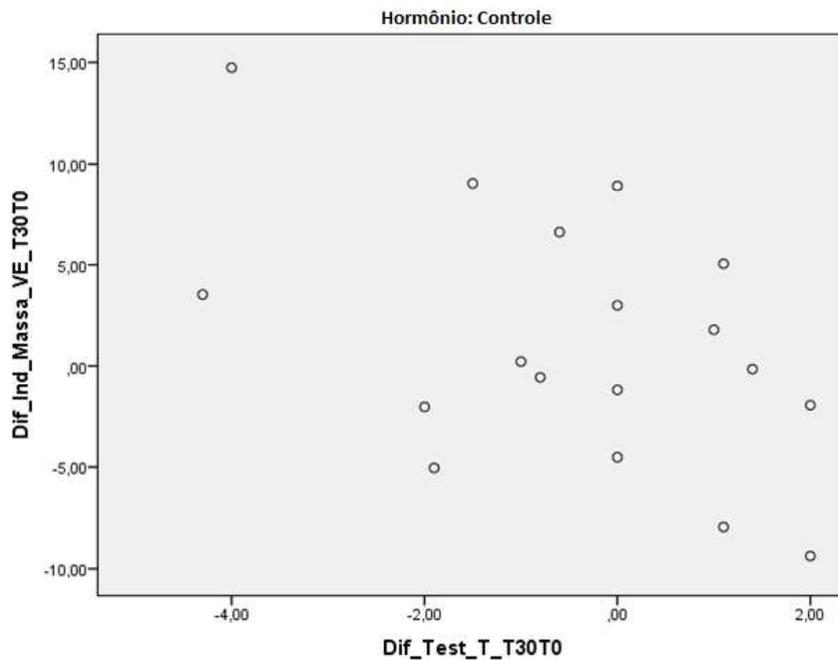
As correlações entre a diferença do índice de massa ventricular esquerda e a diferença dos níveis de testosterona total (no tempo pós-intervenção e inicial); entre a diferença do peso e a diferença dos níveis de testosterona total (no tempo pós-intervenção e inicial) e entre a diferença da Pressão arterial sistólica e a diferença dos níveis de testosterona total (no tempo pós-intervenção e inicial) (Figura 13 e Figura 14) foram testadas e não foram significativas em nenhum dos dois grupos (controle ou tratamento).

Figura 13 – Gráfico de dispersão entre as variáveis diferença da Pressão arterial sistólica e a diferença dos níveis de testosterona total (no tempo pós-intervenção e inicial) no grupo tratamento



Fonte: A autora.

Figura 14 – Gráfico de dispersão entre as variáveis diferença da Pressão arterial sistólica e a diferença dos níveis de testosterona total (no tempo pós-intervenção e inicial) no grupo controle



Fonte: A autora

## 8. DISCUSSÃO

A testosterona tópica tem sido utilizada no período pré-operatório da cirurgia de hipospádia com a finalidade de melhoria das condições cirúrgicas, e conseqüentemente, dos resultados, porém seu uso ainda é controverso (MALIK; LIU, 2014; NETTO et al., 2013).

Um estudo realizado com urologistas pediátricos nos Estados Unidos mostrou que 78% deles prescreviam testosterona antes da cirurgia (MALIK; LIU, 2014). A maioria dos estudos, sobre o uso de testosterona no período pré-operatório de hipospádias, refere-se aos seus efeitos na biometria peniana (ISHII et al., 2010; PAIVA et al., 2016), na escolha da via de administração, tópica ou parenteral (CHALAPATHI et al., 2003; NERLI et al., 2009), no efeito sobre o desfecho da cirurgia corretiva (ASGARI et al., 2015; GORDUZA et al., 2011; TSUR et al., 1983; WRIGHT et al., 2013), na alteração dos níveis séricos de testosterona (DAVITS et al., 1993) ou nas alterações histológicas (BASTOS et al., 2011). Vários efeitos colaterais foram observados com o uso de testosterona tópica, como aumento de pelos pubianos, pigmentação genital, irritação no local de aplicação e aumento transitório da testosterona sérica (NETTO et al., 2013; PAIVA et al., 2016). No entanto, não há estudos sobre o efeito da testosterona tópica sobre a massa cardíaca em crianças.

Estudos anteriores, utilizando a testosterona tópica, foram conduzidos no mesmo núcleo de pesquisa (NIPU). Bastos e colaboradores, em 2011, avaliaram o efeito da testosterona tópica a 1% sobre a vascularização prepucial (BASTOS et al., 2011). Paiva e colaboradores, em 2016, compararam os efeitos da testosterona com os do estradiol, aplicados topicamente, sobre a biometria do pênis (PAIVA et al., 2016). Além destes estudos, uma revisão sistemática, realizada por Netto e colaboradores, avaliou o uso da terapia hormonal no pré-operatório da cirurgia de hipospádia (NETTO et al., 2013).

Pirgon e colaboradores (2009) avaliaram os efeitos da gonadotrofina coriônica humana (HCG), usada como estímulo hormonal no criptorquidismo para promover a descida testicular, e encontraram aumento da massa ventricular esquerda em relação aos controles (PIRGON et al., 2009). Baseado nesse estudo, formulou-se a hipótese de que o estímulo da testosterona, antes da cirurgia corretiva de hipospádia, teria um efeito semelhante sobre as células miocárdicas.

O uso frequente de testosterona tópica, no período pré-operatório de cirurgias corretivas de hipospádia (MALIK; LIU, 2014; NETTO et al., 2013), associado a uma ausência de estudos sobre a segurança quanto aos efeitos sobre a massa ventricular foram as motivações para a realização deste estudo. Assim, o objetivo principal foi verificar a ocorrência ou não de hipertrofia ventricular esquerda com o uso de testosterona tópica.

A estimulação androgênica com testosterona e HCG é comumente utilizada no período pré-operatório da correção de hipospádia (NETTO et al., 2013). A HCG age de forma similar ao LH, estimulando a produção de andrógenos pelas células de Leydig (PIRGON et al., 2009). A administração de HCG aumenta os níveis séricos de testosterona em poucos dias (KNORR et al., 1979) e produz efeitos semelhantes aos observados com o uso de testosterona (pigmentação, aumento do crescimento de pelos pubianos e crescimento do pênis) sendo também transitórios (NETTO et al., 2013). Além disso foi demonstrado por Chalapathi e colaboradores (2003), efeitos semelhantes no pênis e nos níveis séricos de testosterona quando compararam testosterona tópica versus parenteral (CHALAPATHI et al., 2003).

No entanto, a presença da enzima 5- $\alpha$ -redutase na pele leva a um aumento relativamente maior da DHT em relação à testosterona (BORST et al., 2014), o que representaria um maior risco cardiovascular quando a administração é feita sobre a pele.

Estudos experimentais demonstraram a presença de receptores citoplasmáticos para andrógenos em miócitos de ratos (KRIEG; SMITH; BARTSCH, 1978), o que também tem sido demonstrado em outras espécies, incluindo humanos (adultos e crianças) (MARSH et al., 1998). O músculo cardíaco do rato tem uma baixa quantidade de receptores androgênicos e uma atividade enzimática da 5 $\alpha$ -redutase muito pequena (KRIEG; SMITH; BARTSCH, 1978). A baixa atividade da 5 $\alpha$ -redutase no coração resulta em uma baixa concentração de DHT e uma maior concentração de testosterona, que será o hormônio ativo no coração (KRIEG; SMITH; BARTSCH, 1978).

A testosterona nesses tecidos tem uma interação mais fraca com o receptor, demonstrada pela maior taxa de dissociação do receptor. A testosterona e a DHT, atuando sobre esses receptores, produziram uma resposta hipertrófica (MARSH et al., 1998), ambas interagindo com um único receptor de proteína em tecidos-alvo para andrógenos (GRINO; GRIFFIN; WILSON, 1990).

Estudos, em adultos, avaliaram o uso da testosterona ou seus derivados sintéticos (BAGGISH et al., 2010; BASARIA et al., 2010; HASSAN; SALEM; SAYED, 2009), que geralmente são utilizados em doses suprafisiológicas, visando melhorar o desempenho esportivo e aumentar a massa muscular (MEDEI et al., 2010). O aumento da massa ventricular esquerda e da espessura do SIV foram observados em levantadores de peso de usuários de esteroides exógenos (SULLIVAN et al., 1998), que são derivados sintéticos da testosterona (EVANS, 2004). Além disso, também foi encontrado aumento da frequência cardíaca, pressão arterial, espessura da parede ventricular esquerda, volumes diastólicos finais e diminuição da relação diâmetro ventricular para a massa corporal nesses atletas (SULLIVAN et al., 1998).

Em outro estudo em adultos, foi encontrada associação entre o uso prolongado de esteroides anabólicos e uma diminuição clinicamente relevante na fração de ejeção. Essas alterações podem aumentar o risco de insuficiência cardíaca e morte súbita (BAGGISH et al., 2010). Estudos imuno-histoquímicos demonstraram que o uso abusivo de testosterona leva à hipertrofia e fibrose miocárdica, além da ativação da apoptose, demonstrando a ação direta da testosterona sobre a lesão miocárdica (PAPAMITSOU et al., 2011).

Zwadlo (2012) já havia postulado que a diminuição na produção de DHT, causada por uma baixa concentração de 5-alfa-redutase, protege o coração, em alguma extensão, do remodelamento cardíaco patológico; enquanto que a DHT é capaz de mediar as respostas que levam à hipertrofia patológica do ventrículo esquerdo (ZWADLO; BORLAK, 2012).

Como observado em outros estudos (NETTO et al., 2013; SAKAKIBARA et al., 1991), notou-se um ligeiro aumento nos níveis séricos de testosterona total após o término do tratamento no grupo experimental. Após 60 dias, os níveis voltaram a valores considerados normais. Níveis séricos de testosterona total acima do intervalo normal (10 ng/dL) (CHALAPATHI et al., 2003) foram observados em nove dos 17 meninos do grupo experimental (52,94%), enquanto nenhum grupo controle (0/18) apresentou valores mais elevados. Sete dos nove pacientes que tinham níveis séricos elevados de testosterona ao término do tratamento tiveram uma queda ao ponto de serem normais 60 dias após. Desta forma, interroga-se a ocorrência de absorção da testosterona mesmo quando aplicada de forma tópica. O aumento do pênis foi observado em todos os pacientes e poucos tiveram crescimento de pelos púbicos e escurecimento da pele escrotal (PAIVA et al., 2016).

A testosterona tópica (gel transdérmico) tem sido utilizada no tratamento do hipogonadismo masculino em adultos, resultando em aumento dos níveis séricos de testosterona nas primeiras horas de aplicação (LAKSHMAN; BASARIA, 2009; WANG et al., 2000). Quando doses são utilizadas por via parenteral, os níveis séricos são mais instáveis do que com a administração de gel (LAKSHMAN; BASARIA, 2009). Outros estudos mostraram resultados diferentes com absorção imprevisível quando administrados topicamente (CHALAPATHI et al., 2003), o que pode ser evidenciado pela ampla variação nos níveis séricos nesses meninos (CHALAPATHI et al., 2003; MALIK; LIU, 2014). No entanto, observou-se aumento significativo do pênis tanto na administração tópica quanto parenteral (CHALAPATHI et al., 2003; MALIK; LIU, 2014; NERLI et al., 2009).

No presente estudo, não se observou aumento da massa ventricular, o que pode ser explicado pela baixa e irregular absorção de testosterona através da pele. Esta absorção imprevisível havia sido relatada em outro estudo que comparou os efeitos da testosterona tópica com a via intramuscular (CHALAPATHI et al., 2003). Além disso, a baixa dosagem utilizada e o curto período de tratamento poderiam explicar a ausência de efeitos sobre a massa ventricular. Contrariamente ao estudo de Pirgon e colaboradores (2009), que encontrou níveis muito elevados de testosterona em seus pacientes após tratamento com HCG (PIRGON et al., 2009), no presente estudo, os níveis de testosterona apresentaram apenas um ligeiro aumento ao final do tratamento, mas não alcançaram níveis suprafisiológicos, o que pode explicar os resultados diferentes, quanto à variável massa ventricular, em relação aos demais estudos.

Um ensaio clínico em homens com mais de 65 anos (média de idade de 74 anos), que utilizou testosterona como gel durante seis meses, mostrou uma maior incidência de eventos cardiológicos no grupo experimental, como síndrome coronariana aguda, dor torácica, infarto do miocárdio, pressão arterial elevada, fibrilação atrial, exacerbação da insuficiência cardíaca congestiva e morte, levando à necessidade de descontinuação do estudo. A massa ventricular esquerda não foi rotineiramente avaliada, no entanto, não houve relato de aumento. Os pacientes arrolados no estudo apresentavam doenças crônicas, tais como, hipertensão arterial, diabetes mellitus, hiperlipidemia e obesidade previamente à intervenção (BASARIA et al., 2010). Comparativamente, além dos pacientes já apresentarem doenças crônicas e idade avançada, foram utilizadas doses de testosterona por mais tempo (6 meses).

No presente estudo, os pacientes avaliados não apresentavam doenças concomitantes e o tempo de intervenção foi mais curto (1 mês), não tendo sido observada a ocorrência de eventos cardiovasculares.

A avaliação da pressão arterial sistólica mostrou um ligeiro aumento no grupo experimental, que retornou ao basal 60 dias após a suspensão da droga. Apesar desta variação, apenas um dos 17 meninos do grupo testosterona apresentou pressão arterial acima dos níveis normais para idade, altura e sexo, o que poderia ser classificado como pré-hipertensão, que retornou ao nível normal 60 dias após o término do tratamento. Nenhum outro estudo avaliou os efeitos da testosterona tópica sobre a pressão arterial em crianças. Interroga-se a possibilidade de que absorção da testosterona através da pele, mesmo que em pequena quantidade, seja suficiente para causar algum efeito sobre a pressão arterial, já que houve diferença nos níveis séricos de testosterona total entre os dois grupos ao final da intervenção.

Diferentemente do presente estudo, em que a variação da média da pressão arterial sistólica foi discreta e transitória, foi descrita anteriormente uma associação entre o aumento da pressão arterial sistólica e diastólica com o aumento da massa ventricular esquerda, que persistiu mesmo após a suspensão dos hormônios (ACHAR; ROSTAMIAN; NARAYAN, 2010).

Pequenas alterações dos níveis séricos de testosterona e dos níveis da pressão arterial sistólica foram observadas e estas alterações foram transitórias e retornaram aos níveis normais após a suspensão da testosterona tópica. Os índices de massa corporal não sofreram interferência com o uso da testosterona. Diante desses achados, considerou-se que houve absorção transdérmica do hormônio, mas sem nenhum efeito direto sobre a massa ventricular.

Provavelmente, o risco de ocorrência de efeitos cardiovasculares causados pela maior absorção de testosterona através da pele, que ocorre devido à maior concentração da enzima 5-alfa-redutase, seja suplantada pelo efeito protetor, que a baixa concentração da mesma enzima nos miócitos confere ao coração, levando à uma maior atividade da testosterona e não da DHT. O que torna a testosterona tópica uma droga segura em relação ao coração em pacientes que serão submetidos à correção de hipospádia.

O uso de testosterona tópica, na posologia que usamos rotineiramente em nosso serviço e que também foi a utilizada neste estudo, não mostrou diferença no índice de massa do ventrículo esquerdo em ecocardiogramas realizados, ao fim do

tratamento e 60 dias após, bem como nas medidas do SIV e parede posterior do ventrículo esquerdo, provando que é seguro em pacientes com hipospádia.

Considerou-se como um fator limitante desse estudo, a ausência de um parâmetro universalmente aceito para o cálculo da massa ventricular esquerda em crianças, além da ausência de valores de referência para a mesma, que sejam também amplamente aceitos.

Este fato implicou numa dificuldade de escolha de um valor de referência para a massa ventricular esquerda, a ser utilizado no cálculo do tamanho da amostra.

Outra limitação desse estudo foi o pequeno número da amostra e o número de perdas. Não sabemos se, caso o número de sujeitos fosse maior, haveria uma maior variabilidade nos níveis de pressão arterial ou, até mesmo, nos valores de massa ventricular indexada. Considera-se, desta forma, a necessidade de estudos futuros com um maior número de participantes.

Devido ao fato da obesidade poder ser um fator causal primário de hipertrofia ventricular, os obesos não foram incluídos do presente estudo (KIBAR et al., 2013).

O uso da testosterona tópica por 30 dias não causou aumento de massa corpórea nas avaliações realizadas logo após a medicação, nem 60 dias após sua interrupção.

Existe uma preocupação da comunidade científica, em relação a reprodutibilidade e confiabilidade dos estudos, que utilizam o ecocardiograma em seu método, devido à ausência de um padrão para avaliar a qualidade das medidas ecocardiográficas. O primeiro passo para a resolução deste problema seria a padronização da avaliação ecocardiográfica (CROWLEY et al., 2016). A ASE tem se posicionado quanto a isto e emitido recomendações quanto aos métodos de quantificação durante a avaliação ecocardiográfica de adultos e crianças (LANG et al., 2005; LOPEZ et al., 2010). No presente estudo, estas recomendações foram observadas e seguidas.

Nos países em desenvolvimento, principalmente no Brasil, onde os custos de procedimentos cirúrgicos e hospitalizações são altos, a possibilidade de diminuição das complicações da cirurgia corretiva de hipospádia, além da obtenção de melhores resultados funcionais e estéticos para estes meninos é muito bem-vinda.

Espera-se ter contribuído, dentro deste cenário, com a possibilidade de uso da testosterona tópica de forma segura.

## 9. CONCLUSÃO

A testosterona tópica pode ser considerada segura quando usada no período pré-operatório de meninos com hipospádia em relação ao risco de hipertrofia ventricular esquerda.

A testosterona tópica não leva a aumento de massa ventricular esquerda imediatamente após 30 dias de uso e nem tardiamente (60 dias após o término).

Um aumento da pressão arterial sistólica e dos níveis séricos de testosterona podem ocorrer durante o uso da testosterona, mas retornam aos níveis normais em até 60 dias após sua suspensão.

## REFERÊNCIAS

- AARONSON, I. A.; CAKMAK, M. A.; KEY, L. L. Defects of the Testosterone Biosynthetic Pathway in Boys With Hypospadias. **J Urol**, v. 157, n. 5, p. 1884–1888, 1997.
- ACHAR, S.; ROSTAMIAN, A.; NARAYAN, S. M. Cardiac and metabolic effects of anabolic-androgenic steroid abuse on lipids, blood pressure, left ventricular dimensions, and rhythm. **Am J Cardiol**, v. 106, n. 6, p. 893–901, 2010.
- ARMSTRONG, A; GIDDING, S; GJESDAL, O; WU, C; BLUEMKE, D; LIMA, J. LVM Assessed by Echocardiography and Cardiac Magnetic Resonance, Cardiovascular Outcomes, and Medical Practice. **JACC Cardiovascular Imaging**, v. 5, n. 8, p. 837–848, 2012.
- ASGARI, S. A. et al. The effect of parenteral testosterone administration prior to hypospadias surgery: A prospective, randomized and controlled study. **J Pediatr Urol**, v. 11, n. 3, p. 143.e1--143.e6, 2015.
- AULAGNE, M. B. et al. Long-term outcome of severe hypospadias. **J Pediatr Urol**, v. 6, n. 5, p. 469–472, 2010.
- AYAZ, O.; HOWLETT, S. E. Testosterone modulates cardiac contraction and calcium homeostasis: cellular and molecular mechanisms. **Biol Sex Differ**, v. 6, p. 9, 2015.
- BAGGISH, A. L. et al. Long Term Anabolic-Androgenic Steroid Use is Associated with Left Ventricular Dysfunction. **Circulation: Heart Failure**, 2010.
- BAIN, J. The many faces of testosterone. **Clin Interv Aging**, v. 2, n. 4, p. 567–576, 2007.
- BASARIA, S. et al. Adverse events associated with testosterone administration. **N Engl J Med**, v. 363, 2010.
- BASKIN, L. S.; EBBERS, M. B. Hypospadias: anatomy, etiology, and technique. **J Pediatr Surg**, v. 41, n. 3, p. 463–472, 2006.
- BASTOS, A. N. et al. Structural study of prepuce in hypospadias--does topical treatment with testosterone produce alterations in prepuce vascularization? **J Urol**, v. 185, n. 6 Suppl, p. 2474–2478, 2011.
- BELL, J. R. et al. Aromatase deficiency confers paradoxical postischemic cardioprotection. **Endocrinology**, v. 152, n. 12, p. 4937–4947, 2011.
- BORST, S. E. et al. Cardiovascular risks and elevation of serum DHT vary by route of testosterone administration: a systematic review and meta-analysis. **BMC Medicine**, v. 12, n. 1, p. 211, 2014.
- BORST, S. E.; MULLIGAN, T. Testosterone replacement therapy for older men. **Clin Interv Aging**, v. 2, n. 4, p. 561–566, 2007.

BOUTY, A. et al. The Genetic and Environmental Factors Underlying Hypospadias. **Sex Dev**, v. 9, n. 5, p. 239–259, 2015.

BROUILLETTE, J. et al. Sex and strain differences in adult mouse cardiac repolarization: importance of androgens. **Cardiovasc Res**, v. 65, n. 1, p. 148–157, 2005.

BROUILLETTE, J.; TRÉPANIÉ-BOULAY, V.; FISET, C. Effect of androgen deficiency on mouse ventricular repolarization. **The Journal of Physiology**, v. 546, n. 2, p. 403–413, 2003.

CALOF, O. M. et al. Adverse events associated with testosterone replacement in middle-aged and older men: a meta-analysis of randomized, placebo-controlled trials. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**, v. 60, n. 11, p. 1451–1457, 2005.

CARMICHAEL, S. L.; SHAW, G. M.; LAMMER, E. J. Environmental and genetic contributors to hypospadias: a review of the epidemiologic evidence. **Birth Defects Res A Clin Mol Teratol**, v. 94, n. 7, p. 499–510, 2012.

CHALAPATHI, G. et al. Testosterone therapy in microphallic hypospadias: Topical or parenteral? **J Pediatr Surg**, v. 38, n. 2, p. 221–223, 2003.

CHUANG, M. L. et al. Three-dimensional echocardiographic measurement of left ventricular mass: comparison with magnetic resonance imaging and two-dimensional echocardiographic determinations in man. **International journal of cardiac imaging**, v. 16, n. 5, p. 347–357, 2000.

CORONA, G. et al. Cardiovascular risk associated with testosterone-boosting medications: a systematic review and meta-analysis. **Expert Opin Drug Saf**, v. 13, 2014.

CROWLEY, A. L. et al. Critical Review of Current Approaches for Echocardiographic Reproducibility and Reliability Assessment in Clinical Research. **Journal of the American Society of Echocardiography**, v. 29, n. 12, p. 1144–1154.e7, 2016.

DANIELS, S. R. et al. Echocardiographically determined left ventricular mass index in normal children, adolescents and young adults. **J Am Coll Cardiol**, v. 12, n. 3, p. 703–708, 1988.

DAVITS, R. J. et al. Effect of parenteral testosterone therapy on penile development in boys with hypospadias. **Br J Urol**, v. 71, n. 5, p. 593–595, 1993.

DEVEREUX, R. B. et al. Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: Comparison to necropsy findings. **American Journal of Cardiology**, v. 57, n. 6, p. 450–458, 1986.

DEVEREUX, R. B.; REICHEK, N. Echocardiographic determination of left ventricular mass in man. Anatomic validation of the method. **Circulation**, v. 55, n. 4, p. 613–618, 1977.

EVANS, N. A. Current Concepts in Anabolic-Androgenic Steroids. **The American Journal of Sports Medicine**, v. 32, n. 2, p. 534–542, 2004.

FAY, M. P.; PROSCHAN, M. A. Wilcoxon-Mann-Whitney or t-test? On assumptions for hypothesis tests and multiple interpretations of decision rules. **NIH Public Access**, v. 4, p. 1–37, 2010.

FERNANDEZ-BALSELLS, M. M. et al. Clinical review 1: Adverse effects of testosterone therapy in adult men: a systematic review and meta-analysis. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 95, n. 6, p. 2560–2575, 2010.

FINKLE, W. D. et al. Increased risk of non-fatal myocardial infarction following testosterone therapy prescription in men. **PLoS One**, v. 9, 2014.

FOSTER, B. J. et al. A novel method of expressing left ventricular mass relative to body size in children. **Circulation**, v. 117, n. 21, p. 2769–2775, 2008.

FOSTER, B. J. et al. Limitations of expressing left ventricular mass relative to height and to body surface area in children. **Journal of the American Society of Echocardiography**, v. 26, n. 4, p. 410–418, 2013.

FRANTZ, S. et al. Detrimental effects of testosterone on post-myocardial infarction remodelling in female rats. **J Physiol Pharmacol**, v. 58, n. 4, p. 717–727, 2007.

GORDUZA, D. B. et al. Does androgen stimulation prior to hypospadias surgery increase the rate of healing complications? – A preliminary report. **J Pediatr Urol**, v. 7, n. 2, p. 158–161, 2011.

GRINO, P. B.; GRIFFIN, J. E.; WILSON, J. D. Testosterone at High Concentrations Interacts with the Human Androgen Receptor Similarly to Dihydrotestosterone. **Endocrinology**, v. 126, n. 2, p. 1165–1172, 1990.

HADDAD, R. M. et al. Testosterone and cardiovascular risk in men: a systematic review and meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. **Mayo Clin Proc**, v. 82, n. 1, p. 29–39, 2007.

HASSAN, N. A.; SALEM, M. F.; SAYED, M. A. Doping and effects of anabolic androgenic steroids on the heart: histological, ultrastructural, and echocardiographic assessment in strength athletes. **Hum Exp Toxicol**, v. 28, n. 5, p. 273–283, 2009.

HAUACHE, O. M. Receptores acoplados à Proteína G: Implicações para a Fisiologia e Doenças. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 45, n. 3, p. 228–239, 2001.

HAYCOCK, G. B.; SCHWARTZ, G. J.; WISOTSKY, D. H. Geometric method for measuring body surface area: a height-weight formula validated in infants, children, and adults. **J Pediatr**, v. 93, n. 1, p. 62–66, 1978.

HERBISON, A. E. et al. Gonadotropin-releasing hormone neuron requirements for puberty, ovulation, and fertility. **Endocrinology**, v. 149, n. 2, p. 597–604, 2008.

HEUTLING, D.; LEHNERT, H. Hormone therapy and anti-aging: is there an indication. **Internist (Berl)**, v. 49, n. 5, p. 570,572-576,578-579, 2008.

INUI, S.; ITAMI, S. Androgen actions on the human hair follicle: perspectives. **Exp Dermatol**, v. 22, 2013.

ISHII, T. et al. The effect of intramuscular testosterone enanthate treatment on stretched penile length in prepubertal boys with hypospadias. **Urology**, v. 76, n. 1, p. 97–100, 2010.

KASS, E.; KOGAN, S. Timing of elective surgery on the genitalia of male children with particular reference to the risks, benefits, and psychological effects of surgery and anesthesia. **Pediatrics**, v. 97, n. 4, p. 590–4, 1996.

KATZ, T. L. et al. Cálculo da Massa Ventricular à Ecocardiografia : Análise Crítica Critical Analysis of Echocardiographic Measurements of Left Ventricular Mass. **Rev bras ecocardiogr imagem cardiovasc**, v. 23, n. 4, p. 95–100, 2010.

KHOURY, P. R. et al. Age-Specific Reference Intervals for Indexed Left Ventricular Mass in Children. **Journal of the American Society of Echocardiography**, v. 22, n. 6, p. 709–714, 2009.

KIBAR, A. et al. Early Subclinical Left-Ventricular Dysfunction in Obese Nonhypertensive Children : A Tissue Doppler Imaging Study. **Pediatr Cardiol**, v. 34, p. 1482–1490, 2013.

KNORR, D. et al. Plasma testosterone in male puberty. II. hCG stimulation test in boys with hypospadias. **Acta Endocrinol (Copenh)**, v. 90, n. 2, p. 365–371, 1979.

KRIEG, M.; SMITH, K.; BARTSCH, W. Demonstration of a specific androgen receptor in rat heart muscle: relationship between binding, metabolism, and tissue levels of androgens. **Endocrinology**, v. 103, n. 5, p. 1686–1694, 1978.

LAKSHMAN, K. M.; BASARIA, S. Safety and efficacy of testosterone gel in the treatment of male hypogonadism. **Clin Interv Aging**, v. 4, p. 397–412, 2009.

LANE, C. et al. A population-based study of prevalence trends and geospatial analysis of hypospadias and cryptorchidism compared with non-endocrine mediated congenital anomalies. **J Pediatr Urol**, 2017.

LANG, R. M. et al. Recommendations for chamber quantification: A report from the American Society of Echocardiography's guidelines and standards committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiograph. **Journal of the American Society of Echocardiography**, v. 18, n. 12, p. 1440–1463, 2005.

LANG, R. M. et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. **J Am Soc Echocardiogr**, v. 28, n. 1, p. 1–39.e14, 2015.

LEUNG, A. K.; ROBSON, W. L. Hypospadias: an update. **Asian J Androl**, v. 9, n. 1, p. 16–22, 2007.

LOPEZ, L. et al. Recommendations for quantification methods during the performance of a pediatric echocardiogram: a report from the Pediatric Measurements Writing Group of the American Society of Echocardiography Pediatric and Congenital Heart Disease Council. **J Am Soc Echocardiogr**, v. 23, n. 5, p. 465–467, 2010.

LUO, C. C. et al. Use of parenteral testosterone prior to hypospadias surgery. **Pediatr Surg Int**, v. 19, n. 1–2, p. 82–84, 2003.

MACEDO JR, A.; SROUGI, M. Hiposp{á}dias. **Revista da Associacao Medica Brasileira**, v. 44, n. 2, p. 141–145, 1998.

MAGEE, J. A. et al. Direct, androgen receptor-mediated regulation of the FKBP5 gene via a distal enhancer element. **Endocrinology**, v. 147, n. 1, p. 590–598, 2006.

MALIK, R. D.; LIU, D. B. Survey of pediatric urologists on the preoperative use of testosterone in the surgical correction of hypospadias. **J Pediatr Urol**, v. 10, n. 5, p. 840–843, 2014.

MARSH, J. D. et al. Androgen receptors mediate hypertrophy in cardiac myocytes. **Circulation**, v. 98, n. 3, p. 256–261, 1998.

MATHIAS, W. **Manual de ecocardiografia**. 3<sup>{a}</sup> ed. Barueri: Editora Manole, 2013.

MCDONALD, J. H. **Handbook of biological statistics**. second ed. Baltimore, Maryland, U.S.A.: Sparky House Publishing, 2009.

MEDEI, E. et al. Chronic treatment with anabolic steroids induces ventricular repolarization disturbances: cellular, ionic and molecular mechanism. **J Mol Cell Cardiol**, v. 49, n. 2, p. 165–175, 2010.

MENDELSON, M. E.; KARAS, R. H. Molecular and cellular basis of cardiovascular gender differences. **Science**, v. 308, n. 5728, p. 1583–1587, 2005.

MIDZAK, A. S. et al. Leydig cell aging and the mechanisms of reduced testosterone synthesis. **Mol Cell Endocrinol**, v. 299, n. 1, p. 23–31, 2009.

MILLER, W. L.; AUCHUS, R. J. The molecular biology, biochemistry, and physiology of human steroidogenesis and its disorders. **Endocr Rev**, v. 32, n. 1, p. 81–151, 2011.

MOURIQUAND, P. D. E.; MURE, P.-Y. P.-Y. Current concepts in hypospadiology. **BJU International**, v. 93, n. 11, p. 1–23, 2004.

NERLI, R. B. et al. Comparison of topical versus parenteral testosterone in children with microphallic hypospadias. **Pediatr Surg Int**, v. 25, n. 1, p. 57–59, 2009.

NETTO, J. M. B. et al. Hormone therapy in hypospadias surgery: A systematic review. **J Pediatr Urol**, v. 9, n. 6, Part B, p. 971–979, 2013.

NIH. The Fourth Report on the Diagnosis, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure in Children and Adolescents. **National Institutes of Health**, v. 05–5267, p. 1–60, 2005.

NISTAL, M. et al. Perspectives in pediatric pathology, chapter 1. Normal development of testicular structures: from the bipotential gonad to the fetal testis. **Pediatr Dev Pathol**, v. 18, n. 2, p. 88–102, 2015.

OSTRER, H. Disorders of sex development (DSDs): an update. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 99, n. 5, p. 1503–1509, 2014.

PAIVA, K. C. DE C. et al. Biometry of the hypospadiac penis after hormone therapy (testosterone and estrogen): A randomized, double-blind controlled trial. **J Pediatr Urol**, v. 12, n. 4, p. 200.e1--200.e6, 2016.

PAPAMITSOU, T. et al. Testosterone-induced hypertrophy, fibrosis and apoptosis of cardiac cells--an ultrastructural and immunohistochemical study. **Med Sci Monit**, v. 17, n. 9, p. Br266--73, 2011.

PAYNE, J. R.; KOTWINSKI, P. J.; MONTGOMERY, H. E. Cardiac effects of anabolic steroids. **Heart**, v. 90, n. 5, p. 473–475, 2004.

PHAM, T. V et al. Effects of gonadal steroids on gender-related differences in transmural dispersion of L-type calcium current. **Cardiovasc Res**, v. 53, n. 3, p. 752–762, 2002.

PIRGON, O. et al. Treatment with human chorionic gonadotropin induces left ventricular mass in cryptorchid boys. **J Pediatr Endocrinol Metab**, v. 22, n. 5, p. 449–454, 2009.

REY, R. A.; GRINSPON, R. P. Normal male sexual differentiation and aetiology of disorders of sex development. **Best Pract Res Clin Endocrinol Metab**, v. 25, n. 2, p. 221–238, 2011.

SAKAKIBARA, N. et al. Use of testosterone ointment before hypospadias repair. **Urol Int**, v. 47, n. 1, p. 40–43, 1991.

SHORES, M. M. et al. Testosterone treatment and mortality in men with low testosterone levels. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 97, 2012.

SHORES, M. M. et al. Testosterone and dihydrotestosterone and incident ischaemic stroke in men in the Cardiovascular Health Study. **Clin Endocrinol (Oxf)**, v. 81, 2014a.

SHORES, M. M. et al. Testosterone, dihydrotestosterone and incident cardiovascular disease and mortality in the cardiovascular health study. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 99, 2014b.

SHUSTER, J. J.; GUO, J. D.; SKYLER, J. S. Meta-analysis of safety for low event-rate binomial trials. **Research Synthesis Methods**, v. 3, n. 1, p. 30–50, mar. 2012.

SNODGRASS, W. et al. Analysis of Risk Factors for Glans Dehiscence After Tubularized Incised Plate Hypospadias Repair. **The Journal of Urology**, v. 185, n. 5, p. 1845–1851, maio 2011.

SNODGRASS, W. T. et al. Objective use of testosterone reveals androgen insensitivity in patients with proximal hypospadias. **Journal of Pediatric Urology**, v. 10, n. 1, p. 118–122, fev. 2014.

SPRINGER, A.; VAN DEN HEIJKANT, M.; BAUMANN, S. Worldwide prevalence of hypospadias. **J Pediatr Urol**, 2015.

STOKOWSKI, L. A. Hypospadias in the neonate. **Adv Neonatal Care**, v. 4, n. 4, p. 206–215, 2004.

SULLIVAN, M. L. et al. The cardiac toxicity of anabolic steroids. **Prog Cardiovasc Dis**, v. 41, n. 1, p. 1–15, 1998.

THIGPEN, A. E. et al. Tissue distribution and ontogeny of steroid 5 alpha-reductase isozyme expression. **J Clin Invest**, v. 92, 1993.

TOSTES, R. C. et al. Reactive oxygen species: players in the cardiovascular effects of testosterone. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 310, n. 1, p. R1–14, 2016.

TROY, B. L.; POMBO, J.; RACKLEY, C. E. Measurement of left ventricular wall thickness and mass by echocardiography. **Circulation**, v. 45, n. 3, p. 602–611, 1972.

TSUR, H. et al. Microphallic hypospadias: testosterone therapy prior to surgical repair. **British Journal of Plastic Surgery**, v. 36, n. 3, p. 398–400, 1983.

VAN DER HORST, H. J.; DE WALL, L. L. Hypospadias, all there is to know. **Eur J Pediatr**, 2017.

VIGEN, R. et al. Association of testosterone therapy with mortality, myocardial infarction, and stroke in men with low testosterone levels. **JAMA**, v. 310, 2013.

VOGEL, M.; STALLER, W.; BÜHLMAYER, K. Left ventricular myocardial mass determined by cross-sectional echocardiography in normal newborns, infants, and children. **Pediatric cardiology**, v. 12, n. 3, p. 143–149, 1991.

WANG, C. et al. Pharmacokinetics of transdermal testosterone gel in hypogonadal men: application of gel at one site versus four sites: a General Clinical Research Center Study. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 85, 2000.

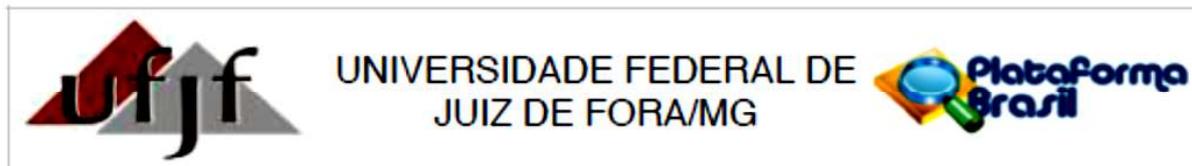
WRIGHT, I. et al. Effect of preoperative hormonal stimulation on postoperative complication rates after proximal hypospadias repair: a systematic review. **J Urol**, v. 190, n. 2, p. 652–659, 2013.

XU, L. et al. Testosterone therapy and cardiovascular events among men: a systematic review and meta-analysis of placebo-controlled randomized trials. **BMC Med**, v. 11, 2013.

ZWADLO, C.; BORLAK, J. Dihydrotestosterone--a culprit in left ventricular hypertrophy. **Int J Cardiol**, v. 155, n. 3, p. 452–456, 2012.

**ANEXOS**

## ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Avaliação biométrica e morfológica do pênis, prepúcio e miocárdio de crianças portadoras de hipospádia antes e após estímulo hormonal.

**Pesquisador:** José Murillo Bastos Netto

**Área Temática:**

**Versão:** 5

**CAAE:** 33295514.4.0000.5147

**Instituição Proponente:** FACULDADE DE MEDICINA - UFJF

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 983.247

**Data da Relatoria:** 19/03/2015

**Apresentação do Projeto:**

Apresentação do projeto esta clara e detalhada de forma objetiva. Descreve as bases científicas que justificam o estudo.

**Objetivo da Pesquisa:**

Apresenta clareza e compatibilidade com a proposta de estudo.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Identificação dos riscos e as possibilidades de desconfortos e benefícios esperados, estão adequadamente descritos.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

O projeto está bem estruturado, delineado e fundamentado, sustenta os objetivos do estudo em sua metodologia de forma clara e objetiva, e se apresenta em consonância com os princípios éticos norteadores da ética na pesquisa científica envolvendo seres humanos elencados na resolução 466/12 do CNS e com a Norma Operacional N° 001/2013 CNS.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

O projeto está em configuração adequada e há apresentação de declaração de infraestrutura e de concordância com a realização da pesquisa, assinada pelo responsável da instituição onde será realizada a pesquisa. Apresentou de forma adequada o termo de Consentimento Livre e

**Endereço:** JOSE LOURENCO KELMER S/N

**Bairro:** SAO PEDRO

**CEP:** 36.036-900

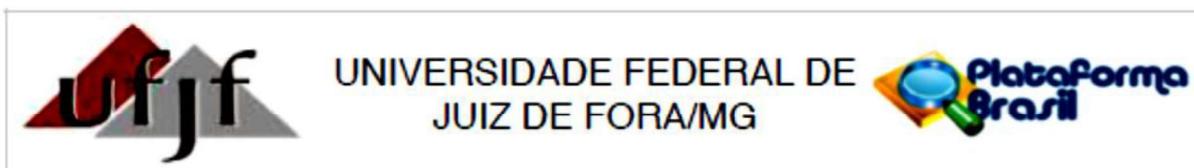
**UF:** MG

**Município:** JUIZ DE FORA

**Telefone:** (32)2102-3788

**Fax:** (32)1102-3788

**E-mail:** cep.propesq@ufjf.edu.br



Continuação do Parecer: 983.247

Esclarecido. O Pesquisador apresenta titulação e experiência compatível com o projeto de pesquisa.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Diante do exposto, a emenda ao projeto está aprovada, pois está de acordo com os princípios éticos norteadores da ética em pesquisa estabelecido na Res. 466/12 CNS e com a Norma Operacional Nº 001/2013 CNS. Data prevista para o término da pesquisa: Dezembro 2015.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa CEP/UFJF, de acordo com as atribuições definidas na Res. CNS 466/12 e com a Norma Operacional Nº001/2013 CNS, manifesta-se pela APROVAÇÃO a emenda solicitando alteração do título "Avaliação biométrica e morfológica do pênis e prepúcio de crianças portadoras de hipospádia antes e após estímulo hormonal" para "Avaliação biométrica e morfológica do pênis, prepúcio e miocárdio de crianças portadoras de hipospádia antes e após estímulo hormonal", inclusão da pesquisadora Elisabeth Campos de Andrade, como membro da equipe, e a continuação a linha de pesquisa, que irá comparar outros hormônios e vias de administração usados no pré-operatório da correção de hipospádia, a fim de verificarem qual o mais eficiente. Constatar a ação da testosterona tópica, estradiol tópico e da hCG no crescimento do pênis, e comparar qual dos hormônios e via de aplicação oferece melhores resultados na neoformação vascular e sobre as fibras colágenas e elásticas, ao protocolo de pesquisa proposto. Vale lembrar ao pesquisador responsável pelo projeto, o compromisso de envio ao CEP de relatórios parciais e/ou total de sua pesquisa informando o andamento da mesma, comunicando também eventos adversos e eventuais modificações no protocolo.

Endereço: JOSE LOURENCO KELMER S/N  
 Bairro: SAO PEDRO CEP: 36.036-900  
 UF: MG Município: JUIZ DE FORA  
 Telefone: (32)2102-3788 Fax: (32)1102-3788 E-mail: cep.propesq@ufjf.edu.br



Continuação do Parecer: 983.247

JUIZ DE FORA, 12 de Março de 2015

---

**Assinado por:**  
**Francis Ricardo dos Reis Justi**  
**(Coordenador)**

**Endereço:** JOSE LOURENCO KELMER S/N  
**Bairro:** SAO PEDRO **CEP:** 36.036-900  
**UF:** MG **Município:** JUIZ DE FORA  
**Telefone:** (32)2102-3788 **Fax:** (32)1102-3788 **E-mail:** cep.propesq@ufjf.edu.br

**ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS - CEP/UFJF  
36036-900 JUIZ DE FORA - MG – BRASIL

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

O menor \_\_\_\_\_, sob sua responsabilidade, está sendo convidado (a) como voluntário (a) a participar da pesquisa **“Avaliação biométrica e morfológica do pênis, prepúcio e miocárdio de crianças portadoras de hipospádia antes e após estímulo hormonal”**. Nesta pesquisa, pretendemos verificar as ações decorrentes do uso de testosterona tópica, estradiol tópico ou gonadotrofina coriônica humana (HCG) no pré-operatório da cirurgia de correção da hipospádia, a partir de amostras da pele que recobre o pênis, obtidas durante a cirurgia, e no coração (miocárdio) através de ecocardiograma bidimensional, antes e após o uso da medicação tópica. Os fragmentos da pele a serem usados no estudo são jogados fora rotineiramente ao final da cirurgia, não acarretando, portanto, danos ou prejuízos ao paciente. O uso de testosterona tópica, estradiol tópico ou gonadotrofina coriônica humana (HCG) no preparo da cirurgia de hipospádia são práticas já estabelecidas e de uso rotineiro em todo mundo. Os efeitos colaterais observados quando se usam esses hormônios são o aumento do pênis (efeito desejado e objetivo do uso de testosterona tópica, estradiol tópico ou gonadotrofina coriônica humana) e aparecimento de mínima quantidade de pelos próximo ao pênis, que desaparecem algum tempo após o uso. Os efeitos dos hormônios sobre o coração (miocárdio) serão avaliados através de ecocardiograma bidimensional. Uso de androgênios anabolizantes em altas doses pode levar no coração à hipertrofia ventricular esquerda. Pretendemos avaliar se as doses preconizadas no preparo para cirurgia de hipospádia são seguras como parece mostrar o senso comum. *Até o momento não há relatos de danos ao coração com o uso destas drogas em baixas doses*, como as habituais, usadas do preparo da cirurgia de hipospádia.

O motivo que nos leva a pesquisar esse assunto é verificar e garantir ao paciente submetido ao protocolo de preparo para a cirurgia de hipospádia a eficácia e segurança do uso dos hormônios (testosterona tópica, estradiol tópico ou gonadotrofina coriônica humana).

Para esta pesquisa adotaremos o(s) seguinte(s) procedimento(s):

Serão incluídas no estudo 60 crianças menores de 10 anos portadoras de hipospádia, a serem submetidas ao tratamento cirúrgico para correção da mesma, e que assinarem o TCLE. Os pacientes serão divididos em 4 grupos de forma aleatória, segundo a propedêutica adotada no pré-operatório. Em todas as crianças um fragmento de prepúcio e da placa uretral serão enviados para estudo histopatológico e imuno-histoquímicos. Todas as crianças serão submetidas a ecocardiograma bidimensional antes do uso do hormônio, 30 dias após o início e 90 dias após.

Para participar desta pesquisa, o menor sob sua responsabilidade não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Apesar disso, caso sejam identificados e comprovados danos provenientes desta pesquisa, ele tem assegurado o direito à indenização. Ele será esclarecido (a) em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar. O (A) Sr. (a), como responsável pelo menor, poderá retirar seu consentimento ou interromper a participação dele a qualquer momento. A participação dele é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido (a) pelo pesquisador que irá tratar a identidade do menor com padrões profissionais de sigilo. O menor não será identificado em nenhuma publicação. Os riscos envolvidos na pesquisa consistem em aumento do pênis (efeito desejado) e aparecimento (transitório) de pelos próximos ao pênis e riscos inerentes à cirurgia de correção de hipospádia que se trata de uma cirurgia de pequeno porte e de topografia superficial (pênis). Os riscos físicos decorrentes da cirurgia de correção de hipospádia são dor, desconforto, cicatrização inadequada. Estes riscos são leves e podem ser diminuídos pelas medidas preconizadas e empregadas de rotina neste tipo de cirurgia, tais como, equipe qualificada, supervisão técnica, acompanhamento clínico. Estes riscos são suplantados pelo benefício da correção cirúrgica da hipospádia que visa à correção estética e funcional da genitália masculina e benefício da condição psicológica da criança, uma vez que, muitas destas crianças são obrigadas a urinar sentadas. Durante o ecocardiograma, existe o risco mínimo de desconforto durante a realização do mesmo, que não é maior do que aquele que pode ser vivenciado no cotidiano da criança ou durante a realização de um exame físico.

O pesquisador irá tratar sua identidade e a da criança pelo qual é responsável com padrões profissionais de sigilo.

A pesquisa contribuirá para adquirirmos conhecimento sobre os efeitos do uso destes hormônios no pré-operatório de hipospádia.

Os resultados estarão à sua disposição quando finalizada. O nome ou o material que indique a participação do menor não será liberado sem a sua permissão. Os dados e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável, por um período de 5(cinco) anos, e após esse tempo serão destruídos. Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais, sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável, no **Hospital Universitário da UFJF** e a outra será fornecida ao Sr. (a).

Eu, \_\_\_\_\_, portador (a) do documento de Identidade \_\_\_\_\_, responsável pelo menor \_\_\_\_\_, fui informado (a) dos objetivos do presente estudo de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar a decisão do menor sob minha responsabilidade de participar, se assim o desejar. Recebi uma via original deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Juiz de Fora, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do (a) Responsável

\_\_\_\_\_  
Assinatura do (a) Pesquisador (a)

Em caso de dúvidas com respeito aos aspectos éticos desta pesquisa, você poderá consultar:

**CEP - Comitê de Ética em Pesquisa/UFJF**

Campus Universitário da UFJF

Pró-Reitoria de Pesquisa

CEP: 36036-900

Fone: (32) 2102- 3788 / E-mail: cep.propesq@ufjf.edu.br

**Nome do Pesquisador Responsável:** Prof. Dr. José Murillo Bastos Netto

Endereço: Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora

Av. Eugênio do Nascimento s/nº

Bairro: Dom Bosco – CEP.:36038-330 / Juiz de Fora – MG

Fone: (32) 4009-5199

e-mail: [jmbnetto@uopedjf.com.br](mailto:jmbnetto@uopedjf.com.br)

## ANEXO C – FORMULÁRIO DE COLETA DE DADOS

### PROTOCOLO HIPOSPÁDIA

Nome: ..... Idade (em meses): .....

Número do exame: ..... Registro: .....

DN: ...../...../..... Cor: ..... Telefone: .....

Endereço: .....

Médico responsável pelo Ecocardiograma:.....

	Tempo 0	Tempo 30 dias	Tempo 90 dias
Data:			
Peso (Kg)			
Alt (cm)			
IMC			
PAS/PAD (mmHg)			
Frequência cardíaca (bpm)			
Ritmo cardíaco			
Tamanho do VE na diástole (DDVE) (mm)			
Tamanho do VE na sístole (DSVE) (mm)			
Tamanho do septo interventricular (SIV) (mm)			
Tamanho da parede posterior do ventrículo esquerdo (PPVE) (mm)			
Tamanho do átrio esquerdo (AE)			
Fração de ejeção de ventrículo esquerdo (FEVE) (%)			
Fração de encurtamento do ventrículo esquerdo (%)			
Massa ventricular esq indexada pela SC (g/m <sup>2</sup> )			

Resultados das dosagens hormonais:

	Tempo 0	Tempo 30 dias	Tempo 90 dias
Data:			
Testosterona total (ng/dL)			
Testosterona livre (ng/dL)			
FSH (mUI/mL)			
LH (mUI/mL)			
Estradiol (mUI/mL)			

Data do início da medicação: .....

Data do término da medicação: .....

## ANEXO D – ARTIGO ACEITO

## Accepted Manuscript

Echocardiographic evaluation of left ventricular mass index in children with hypospadias after hormonal stimulation with topical testosterone: A randomized controlled trial

Elisabeth Campos de Andrade, Kelly Christina de Castro Paiva, Sarah da Silva Guedes, Mariana Lima C. Souza, Marina Novellino Pereira, Laura Pimenta Miana, André Avarese de Figueiredo, José de Bessa, Jr., José Murillo B. Netto

PII: S1477-5131(17)30154-7

DOI: [10.1016/j.jpuro.2017.03.019](https://doi.org/10.1016/j.jpuro.2017.03.019)

Reference: JPUROL 2509

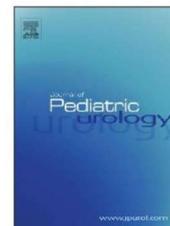
To appear in: *Journal of Pediatric Urology*

Received Date: 30 December 2016

Accepted Date: 6 March 2017

Please cite this article as: de Andrade EC, de Castro Paiva KC, da Silva Guedes S, Souza MLC, Pereira MN, Miana LP, de Figueiredo AA, de Bessa Jr. J, Netto JMB, Echocardiographic evaluation of left ventricular mass index in children with hypospadias after hormonal stimulation with topical testosterone: A randomized controlled trial, *Journal of Pediatric Urology* (2017), doi: 10.1016/j.jpuro.2017.03.019.

This is a PDF file of an unedited manuscript that has been accepted for publication. As a service to our customers we are providing this early version of the manuscript. The manuscript will undergo copyediting, typesetting, and review of the resulting proof before it is published in its final form. Please note that during the production process errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.



PU FALL CONGRESS DALLAS 2016

Echocardiographic evaluation of left ventricular mass index in children with hypospadias after hormonal stimulation with topical testosterone: a randomized controlled trial

Elisabeth Campos de Andrade<sup>a</sup>, Kelly Christina de Castro Paiva<sup>a</sup>, Sarah da Silva Guedes<sup>a</sup>, Mariana Lima C. Souza<sup>a</sup>, Marina Novellino Pereira<sup>a</sup>, Laura Pimenta Miana<sup>a</sup>, André Avarese de Figueiredo<sup>b</sup>, José de Bessa Jr.<sup>c</sup>, José Murillo B. Netto<sup>b,d,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Pediatrics, Federal University of Juiz de Fora, UFJF, Brazil

<sup>b</sup> Department of Surgery, Division of Urology, Federal University of Juiz de Fora, UFJF, Brazil

<sup>c</sup> Department of Surgery, Division of Urology, State University of Feira de Santana, UEFS, Brazil

<sup>d</sup> Department of Surgery, Division of Urology, Hospital e Maternidade Therezinha de Jesus da Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde de Juiz de Fora, SUPREMA, Brazil

\* Corresponding author. Av. Rio Branco, 2985 / sl. 605, Juiz de Fora, MG, Brazil.

*E-mail address:* jose.murillo@ufjf.edu.br

**Summary** *Introduction:* Testosterone is often used in the preoperative period of hypospadias surgery. Previous studies have demonstrated the presence of androgen receptors in cardiac myocytes that can modulate the phenotype. The use of supraphysiological doses of androgens can lead to toxicity on the heart muscle and, in some cases, to left ventricular hypertrophy. This randomized double blind controlled clinical trial aims to evaluate the effect of topical testosterone on left ventricular mass index in boys with hypospadias. *Materials and methods:* Boys with hypospadias aged 6 months to 9 years were included. Children were divided into two groups: G1 - boys who received testosterone propionate 1% ointment twice a day for 30 days, and G2 - boys receiving placebo ointment in the same regimen. All children were submitted

to bi-dimensional echocardiographic evaluation to compare the left ventricular mass index, blood pressure, and body mass index before and after treatment (30 and 90 days). Levels of serum testosterone, LH, and FSH were measured.

*Results:* Thirty-five children were analyzed: 17 in G1 and 18 in G2. No differences were found in left ventricular mass index (left ventricular mass indexed by body surface area) prior to treatment. Left ventricular mass index was  $59.21 \pm 11.91$  g/m<sup>2</sup> in G1 and  $55.12 \pm 8.29$  g/m<sup>2</sup> in G2 ( $p=0.244$ ) after 30 days of treatment, and  $61.13 \pm 11.69$  g/m<sup>2</sup> in G1 and  $62.84 \pm 35.99$  g/m<sup>2</sup> in G2 ( $p=0.852$ ) after 90 days. Serum testosterone levels were 12 (7–80) ng/dL in G1 and 5 (5–7) ng/dL in G2 ( $p=0.018$ ) after 30 days of treatment, and 10 (5–11) ng/dL in G1 and 5 (4–5) ng/dL in G2 ( $p=0.155$ ), after 90 days (Figure). There was a small increase in systolic blood pressure (SBP) after 30 days ( $83.82 \pm 7.18$  mmHg) in the group who receive testosterone (G1) compared with controls ( $77.5 \pm 6.69$  mmHg) ( $p=0.010$ ). After 90 days, SBP levels returned to basal levels in G1 ( $82.35 \pm 5.62$  mmHg) and in G2 ( $81.38 \pm 4.79$  mmHg) ( $p=0.588$ ).

*Conclusion:* Topical testosterone can be considered safe in the preoperative period of children with hypospadias with no risk of left ventricular hypertrophy. An increase in systolic blood pressure occurs while using testosterone but it is transitory, returning to normal levels after 90 days.

**Figure.** Testosterone levels prior to, 30, and 90 days after use of 1% testosterone propionate ointment treatment.

#### KEYWORDS

Hypospadias;  
Testosterone;  
Left Ventricular Hypertrophy;  
Drug Safety;  
Children.

#### Introduction

Hypospadias is one of the most common congenital anomalies [1,2], and

surgery is the treatment of choice in most cases. Testosterone has been used preoperatively to increase penile length and glans circumference [3], providing better surgical conditions and, consequently, decreasing complications and improving results [4], especially in the case of small penis, reduced glans, or proximal hypospadias.

In the 1970s, androgen receptors were observed in rat myocytes [5]. Later, in the 1980s, they were found in myocytes of various species, including humans (children and adults of both sexes). Testosterone and dihydrotestosterone (DHT) act on these receptors producing a hypertrophic response [6]. A compromise in cardiac remodeling has been observed in rats with acute myocardial infarction following the use of supraphysiological doses of testosterone, with the onset of hypertrophic cardiomyopathy, left ventricular dilatation and increased blood pressure [7].

Chorionic gonadotrophin (hCG) has been used in treatment of cryptorchidism. Pirgon *et al.* evaluating children treated with hCG observed an increase in left ventricular mass and also in serum levels of total and free testosterone [8].

Testosterone is the major androgen that binds to myocardial receptors and is capable of altering the adaptive cardiac function to exercise [9].

The present authors are not aware of any previous study evaluating the effect of topical testosterone on ventricular mass in boys using androgen stimulation before hypospadias surgery. Thus, this clinical trial aimed at evaluating the effect of topical testosterone on left ventricular mass index in boys with hypospadias.

#### **Material and methods**

This experimental, double-blind, randomized, controlled clinical trial was designed to assess the risk of left ventricular hypertrophy in male children using topical testosterone in the preoperative period of hypospadias surgery.

Forty-one boys with ages ranging from 6 months to 9 years, with distal, mid-penile and proximal hypospadias attending the pediatric urology outpatient clinics of our university hospital were followed during the study period.

The study was approved by the institutional ethics committee and those responsible for all children who agreed to participate signed an informed consent form.

Children were randomly divided into two groups using the Research Randomizer Form 4.0 program (<http://www.randomizer.org/form.htm>).

- **Group 1:** Boys who used 1% topical testosterone propionate on the entire penis twice a day for 30 days before surgical correction.
- **Group 2:** Boys who used topical placebo cream, twice a day for 30 days before surgical correction.

The decision to use ointment as the route of administration was made according to results from other studies, and the experience of our service, to have the same route of administration in both groups, reducing application bias. All parents were advised to use gloves when applying the ointments. After randomization, parents were given the appropriate ointment and instructed to apply it over the dorsal and ventral surface of the penis and glans twice a day for 30 days before surgery.

Patients were excluded from the study if they were using testosterone or chorionic gonadotropin or had a history of treatment with one of these drugs within 6 months, if they had a history of previous cardiovascular disease or obesity, if they were participating in competitive sports activities, using medications that may affect the cardiovascular system, if they had secondary sexual characteristics suggestive of puberty, if they had endocrine diseases, or if they had made inadequate use of the prescribed medication or abandoned the protocol.

It was established that a sample of 18 subjects in each group would be adequate to detect a difference of 20% in left ventricular mass index, indexed by body surface ( $\text{g}/\text{m}^2$ ), with the use of topical testosterone in relation to the use of placebo cream, with a power of 80% and level of significance of 0.05.

Retrospective data from children of the same age group demonstrated that a standard deviation of  $\pm 10$  (20% increase) in left ventricular mass indexed by body surface area ( $\text{g}/\text{m}^2$ ) would be considered a difference of clinical importance. Thus, given the absence of studies for occurrence of left ventricular hypertrophy in children who used topical testosterone, this

difference was defined by a group of experts to be significant.

All children underwent a bi-dimensional echocardiographic evaluation to compare left ventricular mass index. The left ventricular mass ( $\text{g}/\text{m}^2$ ) was calculated through the transverse parasternal window (short axis) at the level of the papillary muscles and measured in Mode M traced through the anterior and posterior walls and indexed by the body surface [10]. Other determinant parameters in the diagnosis of an increase in ventricular mass, interventricular septum, and posterior wall of the left ventricle were also evaluated. The Vivid-i GE device, 3.5 MHz probe, was used to perform the echocardiograms at our cardiology outpatient clinic (Fig. 1).

All children underwent clinical and anthropometric evaluation, and had measurements taken of body mass index, blood pressure, and serum levels of testosterone, LH, and FSH before starting the medication, and 30 and 90 days after.

The quantitative variables were expressed as means  $\pm$  SD or medians and interquartile ranges, while the nominal or qualitative variables were expressed as absolute values, percentages, or proportions. The Student *t* test or Mann-Whitney *U* test was used to compare continuous variables while categorical variables were compared using the chi-square test or Fisher's exact test. All tests were two-sided with  $p < 0.05$  considered to be statistically significant, and were performed using GraphPad Prism version 6.03 for Windows.

### Results

Of the 47 boys with hypospadias eligible for the study, six were excluded from the protocol, three because of other urological malformations and three because of severe cardiac defects. Forty-one boys were randomized, 20 to G1 (experimental group) and 21 to G2 (control group). There were three losses to follow-up in each group. Therefore, 17 boys in G1 (experimental group) and 18 in G2 (control group) were analyzed for the primary endpoint (left ventricular mass indexed by body surface) (Fig. 2).

There were no differences in the two groups before treatment in terms of left ventricular mass index indexed by body surface, age, total serum testosterone levels, calculated free testosterone, FSH, LH, estradiol, and body

mass index (BMI). All children had normal blood pressure levels before treatment, with no differences between the two groups (Table 1).

After 30 days of treatment the ventricular mass index in G1 was  $59.21 \pm 11.91$  g/m<sup>2</sup> and  $55.12 \pm 8.29$  g/m<sup>2</sup> in G2 ( $p=0.244$ ) (Table 2) and, after 90 days it was  $61.13 \pm 11.33$  g/m<sup>2</sup> in G1 and  $62.84 \pm 35.99$  g/m<sup>2</sup> in G2 ( $p=0.852$ ) (Table 3).

The measurement of the interventricular septum after 30 days in the group that received testosterone (G1) was  $0.553 \pm 0.079$  cm and in the control group (G2) was  $0.528 \pm 0.07$  cm ( $p=0.344$ ) (Table 2). After 90 days, it was  $0.571 \pm 0.09$  cm in G1 and  $0.628 \pm 0.36$  cm in G2 ( $p=0.525$ ) (Table 3). In both steps, the values were normal and showed no differences after 30 or 90 days. The measurement of the posterior wall of the left ventricle also showed no statistically significant difference between the two groups after 30 days of treatment (G1 =  $0.535 \pm 0.078$  cm, G2 =  $0.522 \pm 0.073$  cm,  $p=0.614$ ) and after 90 days (G1 =  $0.547 \pm 0.08$  cm, G2 =  $0.522 \pm 0.06$  cm,  $p=0.318$ ).

A slight increase in systolic blood pressure was observed after 30 days of testosterone usage ( $83.82 \pm 7.18$  mmHg) when compared with the placebo group (G2) ( $77.5 \pm 6.69$  mmHg) ( $p=0.010$ ). After 90 days, levels became similar in both groups again,  $82.35 \pm 5.62$  mmHg in G1 and  $81.38 \pm 4.79$  mmHg in G2 ( $p=0.588$ ).

Total serum testosterone levels were higher in G1 after 30 days of topical testosterone use ( $12$  (7–80) ng/dL) than in G2 ( $5$  (5–7) ng/dL) ( $p=0.018$ ). After 90 days, G1 levels started to decrease, being  $10$  (5–11) ng/dL in G1 and  $5$  (4–5) ng/dL in G2 ( $p=0.155$ ) (Figure in summary). Nine patients in the experimental group tested above the normal serum level of testosterone after 30 days of treatment. Seven of them had normal testosterone level at 90 days. Only one of these nine children had blood pressure values above normal values (pre-hypertension) at 30 days, which returned to normal after 90 days.

No difference was found in serum levels of free testosterone, FSH, LH, and estradiol between the two groups 30 and 90 days after starting treatment (Tables 1, 2, and 3).

## Discussion

Topical testosterone is often used before hypospadias surgery; however, such use is controversial [4,11]. A study conducted by pediatric urologists in the USA showed that 78% of them prescribed testosterone before surgery [11]. Most studies on use of testosterone in the preoperative period of hypospadias refer to its effects on penile biometry [3,12], on the choice of route of administration, whether topical or parenteral [13,14], on the effect on the outcome of corrective surgery [15–18], on the alteration in serum testosterone levels [19], or on histological changes [20]. Several side effects have been observed with the use of topical testosterone, such as increased pubic hair, genital pigmentation, irritation at the site of application, and transient increase of serum testosterone [3,4]. However, there are no studies on the effect of topical testosterone on heart mass in children, although its use is common in the preoperative period of corrective hypospadias surgeries.

Thus, the main objective of this study was to verify the occurrence or not of left ventricular hypertrophy with the use of topical testosterone, as the practice of testosterone prescription is common [4,11].

Pirgon *et al.* evaluated the effects of hCG used as a hormonal stimulus in cryptorchidism to promote testicular descent and found an increased left ventricular mass compared with controls [8]. Following on from that study, we hypothesized that testosterone stimulus before hypospadias surgery could have a similar effect on myocardial cells.

Androgen stimulation with testosterone and hCG is commonly used in preoperative hypospadias correction [4]. hCG acts similarly to luteinizing hormone, stimulating the production of androgens by Leydig cells [8]. Administration of hCG increases serum testosterone levels within a few days [21] and produces similar effects to those observed with the use of testosterone (pigmentation, enlargement of pubic hair, and penile growth) and are also transient [4]. Chalapathi *et al.* also demonstrated similar effects on the penis and serum testosterone levels when comparing topical versus parenteral testosterone [13].

Experimental studies in rats have demonstrated the presence of cytoplasmic receptors for androgens in rat myocytes [5], which has also been shown in other species, including humans (adults and children) [6]. Rat heart muscle has a low amount of androgen receptors and a very small 5 $\alpha$ -

reductase enzyme activity [5], which leads to a higher concentration of testosterone instead of DHT [5]. In the prostate, 5 $\alpha$ -reductase converts testosterone to DHT. The low activity of 5 $\alpha$ -reductase results in the low concentration of DHT and a higher concentration of testosterone, which ends up being an active heart hormone [5].

Testosterone in these tissues has a weaker interaction with the receptor, demonstrated by the higher dissociation rate of the receptor. Testosterone and DHT acting on these receptors produces a hypertrophic response [6], both interacting with a single protein receptor on target tissues for androgens [22].

There have been studies in adults evaluating the use of testosterone or its synthetic derivatives [23–25], generally used in supraphysiologic doses, aiming to improve sports performance and increase muscle mass [26].

Increased left ventricular mass and intraventricular septum thickness was observed in weightlifters users of exogenous steroids [9], which are synthetic derivatives of testosterone [27]. Also, increased heart rate, blood pressure, left ventricular wall thickness, and final diastolic volumes, and decreased ventricular diameter ratio for body mass have been found in these athletes [9].

In another study in adults, an association was found between the prolonged use of anabolic steroids and a clinically relevant decrease in ejection fraction. These changes may increase the risk of heart failure and sudden death [24]. Immunohistochemical studies have shown that the abusive use of testosterone leads to myocardial hypertrophy and fibrosis in addition to activation of apoptosis, demonstrating the direct action of testosterone on myocardial injury [28].

Zwadlo had already postulated that the decrease in DHT production caused by a low concentration of 5 $\alpha$ -reductase protects the heart to some extent from pathologic cardiac remodeling, whereas DHT is capable of mediating responses leading to pathological left ventricular hypertrophy [29].

The use of topical testosterone in the regimen we routinely use in our service showed no difference in the left ventricular mass index in echocardiograms performed 30 and 90 days after starting treatment, as well

as in the measurements of the interventricular septum and posterior wall of the left ventricle, proving that it is safe in hypospadias patients.

As observed in other studies [4,30], we found a slight increase in serum total testosterone levels 30 days after starting treatment in the experimental group. After 90 days of treatment, levels returned to the normal range. Serum levels of total testosterone above the normal range (10 ng/dL) [13] were observed in nine of the 17 boys in the experimental group (52.94%), with none of the control group (0/18) presenting higher values. Seven of the nine patients who had elevated serum testosterone levels at 30 days had a fall to the point that they were normal at 90 days. The penile increase was observed in all patients, and few had growth of pubic hair and darkening of the scrotal skin.

Topical testosterone (transdermal gel) has been used to treat male hypogonadism in adults, resulting in increased serum testosterone levels in the first few hours of application [31,32]. When parenteral doses were used, serum levels were more unstable than with gel administration [31]. Other studies have shown different results with unpredictable absorption when administered topically [13], which can be evidenced by the wide variation in serum levels in these children [11,13]. However, significant penile enlargement was observed both in topical and parenteral administration [11,13,14].

In our study, we did not observe an increase in ventricular mass, which could be explained by the low and irregular absorption of testosterone through the skin [13]. Also, the low dosage used and the short period of treatment could explain the absence of effects on ventricular mass. Contrary to the study by Pirgon *et al.*, who found very high levels of testosterone in their patients after hCG treatment [8], in the present study the levels of testosterone presented only a slight increase after 30 days, but not to supraphysiological levels, which may explain the different findings between the studies.

A clinical trial in men older than 65, who used testosterone as a gel for a longer period (6 months), showed a higher incidence of cardiological events in the experimental group, such as acute coronary syndrome, chest pain, myocardial infarction, elevated blood pressure, atrial fibrillation, exacerbation

of congestive heart failure, and death. However, there was no report of an increase in left ventricular mass [23].

The evaluation of systolic blood pressure showed a slight increase in the experimental group, which returned to basal after 90 days. Despite this variation, only one of the 17 children in testosterone group had elevated blood pressure that could be classified as prehypertension, which returned to normal level after 90 days. No other studies evaluated the effects of topical testosterone on blood pressure in children.

An association has been described between the increase in systolic and diastolic blood pressure with the increase in left ventricular mass, which persisted even after the hormones were suspended [33].

Small changes in serum testosterone and systolic blood pressure found in our patients were transient and returned to normal levels after suspension of topical testosterone. Given these small variations, we considered that there was a transdermal absorption of the hormone, but without any direct effect on the ventricular mass.

#### *Conclusion*

Topical testosterone can be considered safe in the preoperative period of children with hypospadias with no risk of hypertrophy of the left ventricle muscle. Increases in systolic blood pressure and serum testosterone levels occur while using testosterone but these are transitory, returning to normal levels after 90 days.

#### **Conflict of interest**

None.

#### **Funding**

The study received fund from the Foundation for Support of Research of the State of Minas Gerais (Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais) - FAPEMIG

#### **References**

- [1] Djakovic N, Nyarangi-Dix J, Turk A, Hohenfellner M. Hypospadias. *Adv Urol* 2008;2008:1–7.
- [2] Springer A, van den Heijkant M, Baumann S. Worldwide prevalence of hypospadias. *J Pediatric Urol* 2015; 12(3):152.e1–7.

- [3] Paiva KCC, Bastos AN, Miana LP, Barros Ede S, Ramos PS, Miranda LM, *et al.* Biometry of the hypospadiac penis after hormone therapy (testosterone and estrogen): A randomized, double-blind controlled trial. *J Ped Urol* 2016;12(4):200.e1–6.
- [4] Netto JMB, Ferrarez CEPF, Schindler Leal AA, Tucci Jr S, Gomes CA, Barroso Jr U. Hormone therapy in hypospadias surgery: A systematic review. *J Ped Urol* 2013;9:971–9.
- [5] Krieg M, Smith K, Bartsch W. Demonstration of a specific androgen receptor in rat heart muscle: relationship between binding, metabolism, and tissue levels of androgens. *Endocrinology* 1978;103:1686–94.
- [6] Marsh JD, Lehmann MH, Ritchie RH, Gwathmey JK, Green GE, Schiebinger RJ. Androgen receptors mediate hypertrophy in cardiac myocytes. *Circulation* 1998;98:256–61.
- [7] Frantz S, Hu K, Widder J, Weckler B, Scheuermann H, Bauersachs J, *et al.* Detrimental effects of testosterone on post-myocardial infarction remodelling in female rats. *J Physiol Pharmacol* 2007;58:717–27.
- [8] Pirgon O, Atabek ME, Oran B, Suleymanoglu S, Meral C. Treatment with human chorionic gonadotropin induces left ventricular mass in cryptorchid boys. *J Ped Endocrinol Metabol.* 2009;22:449–54.
- [9] Sullivan ML, Martinez CM, Gennis P, Gallagher EJ. The cardiac toxicity of anabolic steroids. *Prog Cardiovasc Dis* 1998;41:1–15.
- [10] Devereux RB, Alonso DR, Lutas EM, Gottlieb GJ, Campo E, Sachs I, *et al.* Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: comparison to necropsy findings. *Am J Cardiol* 1986;57:450–8.
- [11] Malik RD, Liu DB. Survey of pediatric urologists on the preoperative use of testosterone in the surgical correction of hypospadias. *J Ped Urol* 2014;10:840–3.
- [12] Ishii T, Hayashi M, Suwanai A, Amano N, Hasegawa T. The effect of intramuscular testosterone enanthate treatment on stretched penile length in prepubertal boys with hypospadias. *Urology* 2010;76:97–100.
- [13] Chalapathi G, Rao KLN, Chowdhary SK, Narasimhan KL, Samujh R, Mahajan JK. Testosterone therapy in microphallic hypospadias: Topical or parenteral? *J Ped Surg* 2003;38:221–3.

- [14] Nerli RB, Koura A, Prabha V, Reddy M. Comparison of topical versus parenteral testosterone in children with microphallic hypospadias. *Pediatr Surg Int* 2009;25:57–9.
- [15] Wright I, Cole E, Farrokhyar F, Pemberton J, Lorenzo AJ, Braga LH. Effect of preoperative hormonal stimulation on postoperative complication rates after proximal hypospadias repair: a systematic review. *J Urol* 2013;190:652–59.
- [16] Asgari SA, Safarinejad MR, Poorreza F, Safaei Asl A, Mansour Ghanaie M, Shahab E. The effect of parenteral testosterone administration prior to hypospadias surgery: A prospective, randomized and controlled study. *J Ped Urol* 2015;11:143.e1-.e6.
- [17] Gorduza DB, Gay C-L, de Mattos E Silva E, Demède D, Hameury F, Berthiller J, *et al.* Does androgen stimulation prior to hypospadias surgery increase the rate of healing complications? – A preliminary report. *J Ped Urol* 2011;7:158–61.
- [18] Tsur H, Shafir R, Shachar J, Eshkol A. Microphallic hypospadias: testosterone therapy prior to surgical repair. *Br J Plast Surg* 1983;36:398–400.
- [19] Davits RJ, van den Aker ES, Scholtmeijer RJ, de Muinck Keizer-Schrama SM, Nijman RJ. Effect of parenteral testosterone therapy on penile development in boys with hypospadias. *Br J Urol* 1993;71:593–5.
- [20] Bastos AN, Oliveira LR, Ferrarez CE, de Figueiredo AA, Favorito LA, Bastos Netto JM. Structural study of prepuce in hypospadias--does topical treatment with testosterone produce alterations in prepuce vascularization? *J Urol* 2011;185:2474–8.
- [21] Knorr D, Beckmann D, Bidlingmaier F, Helmig FJ, Sippell WG. Plasma testosterone in male puberty. II. hCG stimulation test in boys with hypospadias. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1979;90:365–71.
- [22] Grino PB, Griffin JE, Wilson JD. Testosterone at High Concentrations Interacts with the Human Androgen Receptor Similarly to Dihydrotestosterone. *Endocrinology* 1990;126:1165–72.
- [23] Basaria S, Coviello AD, Travison TG, Storer TW, Farwell WR, Jette AM, *et al.* Adverse events associated with testosterone administration. *N Engl J Med* 2010;363(2):109-22.

- [24] Baggish AL, Weiner RB, Kanayama G, Hudson JI, Picard MH, Hutter AM, *et al.* Long Term Anabolic-Androgenic Steroid Use is Associated with Left Ventricular Dysfunction. *Circ Heart Fail* 2010;3(4):472-6.
- [25] Hassan NA, Salem MF, Sayed MA. Doping and effects of anabolic androgenic steroids on the heart: histological, ultrastructural, and echocardiographic assessment in strength athletes. *Hum Exp Toxicol* 2009;28:273–83.
- [26] Medei E, Marocolo M, Rodrigues Dde C, Arantes PC, Takiya CM, Silva J, *et al.* Chronic treatment with anabolic steroids induces ventricular repolarization disturbances: cellular, ionic and molecular mechanism. *J Mol Cell Cardiol* 2010;49:165–75.
- [27] Evans NA. Current Concepts in Anabolic-Androgenic Steroids. *Am J Sports Med* 2004;32:534–42.
- [28] Papamitsou T, Barlagiannis D, Papaliagkas V, Kotanidou E, Dermentzopoulou-Theodoridou M. Testosterone-induced hypertrophy, fibrosis and apoptosis of cardiac cells--an ultrastructural and immunohistochemical study. *Med Sci Monit* 2011;17:Br266–73.
- [29] Zwadlo C, Borlak J. Dihydrotestosterone--a culprit in left ventricular hypertrophy. *Int J Cardiol* 2012;155:452–6.
- [30] Sakakibara N, Nonomura K, Koyanagi T, Imanaka K. Use of testosterone ointment before hypospadias repair. *Urol Int* 1991;47:40–3.
- [31] Lakshman KM, Basaria S. Safety and efficacy of testosterone gel in the treatment of male hypogonadism. *Clin Interv Aging* 2009;4:397–412.
- [32] Wang C, Berman N, Longstreth JA, Chuapoco B, Hull L, Steiner B, *et al.* Pharmacokinetics of transdermal testosterone gel in hypogonadal men: application of gel at one site versus four sites: a General Clinical Research Center Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85(3):964-9.
- [33] Achar S, Rostamian A, Narayan SM. Cardiac and metabolic effects of anabolic-androgenic steroid abuse on lipids, blood pressure, left ventricular dimensions, and rhythm. *Am J Cardiol* 2010;106:893–901.

**Figure 1.** Echocardiography of the left ventricle.

**Figure 2.** Study design.

**Table 1.** Pre-treatment values

Prior to treatment	G1 (Experimental)	G2 (Control)	<i>p</i>
<i>n</i>	17	18	
Age, months	37.71 ± 34.52	33.67 ± 32.73	0.724
Total testosterone	5 (4–10)	5.6 (4–8)	0.640
Free testosterone	0.001 (0.001–0.002)	0.001 (0.001–0.004)	0.193
FSH	0.714 ± 0.546	0.581 ± 0.42	0.424
LH	0.79 ± 0.640	0.1294 ± 0.085	0.194
Estradiol	9.952 ± 0.150	10.144 ± 1.037	0.456
IVS	0.547 ± 0.07	0.533 ± 0.08	0.624
LVPW	0.511 ± 0.08	0.529 ± 0.77	0.505
LV mass index	56.64 ± 11.69	54.00 ± 9.17	0.461
SBP	80.58 ± 8.45	80.55 ± 6.15	0.989
DBP	43.23 ± 7.69	61.80 ± 4.58	0.933
BMI	17.20 ± 2.19	16.85 ± 1.84	0.610

FSH, follicle stimulating hormone; LH, luteinizing hormone; IVS, intraventricular septum; LVPW, left ventricular posterior wall; LV mass index, left ventricular mass index; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; BMI, body mass index.

**Table 2.** Values after 30 days of testosterone use

After 30 days	G1 (Experimental)	G2 (Control)	<i>p</i>
Total testosterone	12 (7–80)	5 (5–7)	0.018
Free testosterone	0.002 (0.0001–0.09)	0.0001 (0.0001–0.002)	0.07
FSH	0.21 (0.11 - 0.46)	0.34 (0.19–0.74)	0.234
LH	2.47 ± 7.52	0.141 ± 0.087	0.196
Estradiol	16.19 ± 31.19	9.782 ± 2.612	0.390

## ACCEPTED MANUSCRIPT

IVS	0.553±0.079	0.528±0.07	0.344
LVPW	0.535±0.078	0.522±0.073	0.614
LV mass index	59.21 ± 11.91	55.12 ± 8.29	0.244
SBP	83.82 ± 7.18	77.5 ± 6.69	0.010
DBP	43.52 ± 6.06	41.11 ± 3.23	0.147
BMI	16.69 ± 1.66	16.8 ± 2.72	0.889

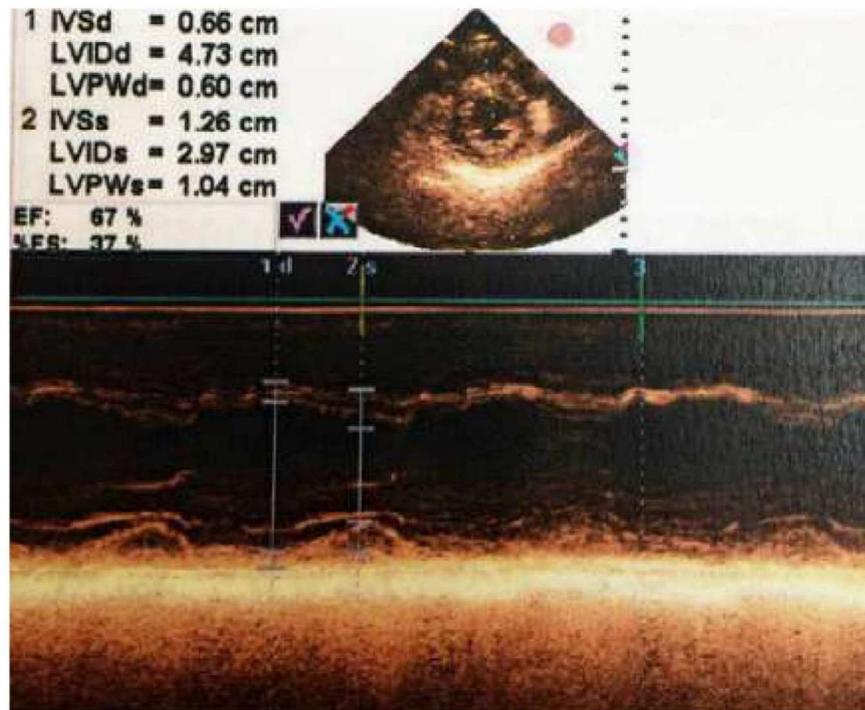
FSH, follicle stimulating hormone; LH, luteinizing hormone; IVS, intraventricular septum; LVPW, left ventricular posterior wall; LV mass index, left ventricular mass index; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; BMI, body mass index.

**Table 3.** Values after 90 days of testosterone use

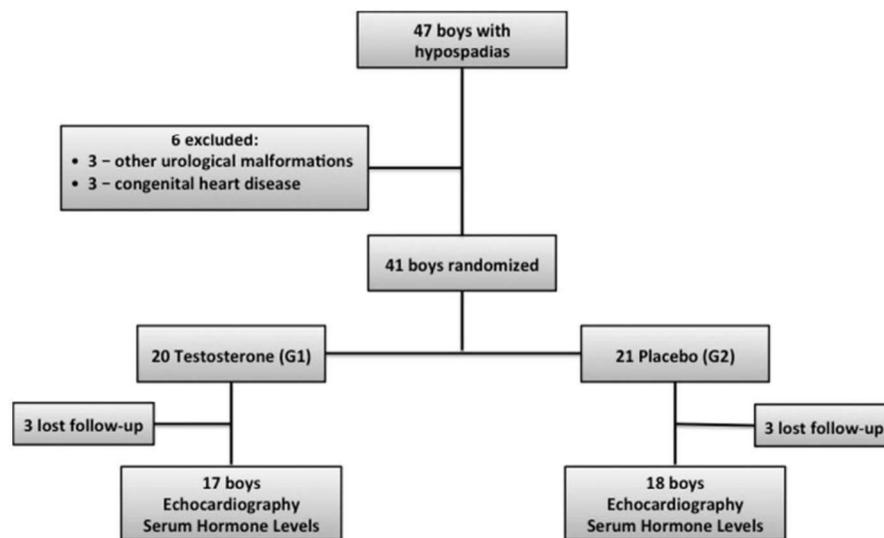
After 90 days	G1 (Experimental)	G2 (Control)	<i>p</i>
Total testosterone	10 (5–11)	5 (4–5)	0.155
Free testosterone	0.001 (0.001–0.004)	0.001 (0.001–0.0001)	0.257
FSH	1.27 ± 3.546	0.57 ± 0.376	0.407
LH	0.093 ± 0.021	0.099 ± 0.002	0.259
Estradiol	9.882 ± 0.101	9.90 ± 0.02	0.351
IVS	0.571±0.09	0.628±0.36	0.525
LVPW	0.547±0.08	0.522±0.06	0.318
LV mass index	61.13 ± 11.69	62.84 ± 35.99	0.852
SBP	82.35 ± 5.62	81.38 ± 4.79	0.588
DBP	43.52 ± 6.06	43.94 ± 4.73	0.822
BMI	16.85 ± 1.76	16.77 ± 2.97	0.921

FSH, follicle stimulating hormone; LH, luteinizing hormone; IVS, intraventricular septum; LVPW, left ventricular posterior wall; LV mass index, left ventricular mass index; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; BMI, body mass index.

ACCEPTED MANUSCRIPT



IVSd: interventricular septum diastole  
LVIDd: left ventricular internal diameter diastole  
LVPWd: left ventricular posterior wall diastole  
IVSs: interventricular septum systole  
LVIDs: left ventricular internal diameter systole  
LVPWs: left ventricular posterior wall systole  
EF: Ejection Fraction



ACCEPTED MANUSCRIPT

