



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Ciciliana Maíla Zilio Rech

Repercussões e diferenças da menopausa recente pós ooforectomia bilateral comparada à menopausa natural na composição corporal, perfil metabólico, reatividade vascular, sexualidade, cognição e humor

Rio de Janeiro

2015

Ciciliana Mafla Zilio Rech

Repercussões e diferenças da menopausa recente pós ooforectomia bilateral comparada à menopausa natural na composição corporal, perfil metabólico, reatividade vascular, sexualidade, cognição e humor

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof.^a Dra. Ruth Clapauch

Rio de Janeiro

2015

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

R296 Rech, Ciciliana Mafla Zilio.
Repercussões e diferenças da menopausa recente pós ooforectomia bilateral comparada à menopausa natural na composição corporal, perfil metabólico, reatividade vascular, sexualidade, cognição e humor / Ciciliana Mafla Zilio Rech. – 2015.
91 f.

Orientadora: Ruth Clapauch.

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental.

1. Ovariectomia - Teses. 2. Ovariectomia - Efeitos adversos. 3. Menopausa - Teses. 4. Menopausa - Fisiologia. 5. Testosterona - Teses. 6. Endotélio vascular - Teses. 7. Sexualidade - Fisiologia. I. Clapauch, Ruth. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

CDU 618.11-089.87

Autorizo apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Ciciliana Mafla Zilio Rech

Repercussões e diferenças da menopausa recente pós ooforectomia bilateral comparada à menopausa natural na composição corporal, perfil metabólico, reatividade vascular, sexualidade, cognição e humor

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 12 de março de 2015.

Orientadora: Prof.^a Dra. Ruth Clapauch
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Banca Examinadora: _____

Prof.^a Dra. Luciana Ribeiro Bahia
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof. Dr. Antonio Egídio Nardi
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof.^a Dra. Karen Opperman Lisboa
Universidade de Passo Fundo

Rio de Janeiro

2015

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, os sábios Neli e Osvaldo, pela vida, pela educação maravilhosa que sempre me proporcionaram, por serem meus maiores incentivadores, pela segurança diante das tantas incertezas deste mundo e, principalmente, pelo maior amor que eu já pude testemunhar até hoje.

Ao Cesar, o amor que eu ganhei de presente do Rio de Janeiro, pelo incentivo, pelo carinho, por compreender a minha ausência e às vezes, a minha quase exaustão, pelas idéias sempre tão criativas e por saber ser um companheiro de verdade.

À minha orientadora, Dra. Ruth Clapauch, que ousou definir em uma palavra: exemplo. Obrigada pelos conhecimentos, pelo incentivo, pela presença quase que terapêutica, pela preocupação, pelo comprometimento, pela doçura... pela valiosa amizade.

À Dra. Eliete Bouskela, por ter acreditado em mim e no meu trabalho, por me ensinar o que é dinamismo, inteligência, elegância e verdadeira dedicação à ciência.

À Dra. Rita Weiss, grande incentivadora e amiga (também minha segunda mãe-disputando, ou melhor, dividindo o posto com Dra. Ruth). Obrigada pelo carinho, pela atenção, pelo auxílio na coleta de dados nas agitadas manhãs do IEDE. Obrigada pelo caminho.

Ao Dr. Georges Sterblitch, por ter me recebido tão bem no Hospital Municipal Miguel Couto na minha busca por mulheres ooforectomizadas, por ter colaborado comigo em um momento crucial desta pesquisa e, principalmente, pela amizade maravilhosa que quero conservar para sempre.

À equipe do BIOVASC anterior e atual: à Dra. Maria das Graças Coelho de Souza, pela disponibilidade e agilidade na execução dos marcadores inflamatórios. À Dra. Priscila Alves Maranhão, pela tentativa - não tão bem-sucedida! - em me ensinar como fazer videocapilaroscopia. Ao Dr. Daniel Bottino e à Maria Aparecida Faria de Oliveira, pelos ensinamentos em pletismografia. Ao Dr. Luiz Guilherme Kraemer de Aguiar, pelas sempre bem vindas sugestões. Obrigada à Eliza, Waldicio, Edileuza, demais colegas e professores, pela convivência prazerosa e colaboração.

À equipe do Laboratório de Nutrição, obrigada pela realização dos DEXAs. Ao IEDE e Hospital Federal da Lagoa, pela realização dos exames laboratoriais.

Às pacientes que participaram desta pesquisa, que confiaram e, assim, compartilharam aspectos de sua vida pessoal, fundamentais para a realização deste trabalho.

Deus ao mar o perigo e o abismo deu
Mas nele é que espelhou o céu.

Fernando Pessoa

RESUMO

RECH, Ciciliana Maíla Zilio. *Repercussões e diferenças da menopausa recente pós ooforectomia bilateral comparada à menopausa natural na composição corporal, perfil metabólico, reatividade vascular, sexualidade, cognição e humor*. 2015. 91 f. Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia Clínica e Experimental) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

As reais funções dos ovários após a menopausa e as consequências dos baixos níveis de testosterona em mulheres submetidas à ooforectomia bilateral são ainda pouco conhecidas. Com o objetivo de avaliar se os baixos níveis de testosterona influenciam as funções vascular, sexual e metabólica, a composição corporal, além da cognição e do humor, desenhou-se um estudo observacional, do tipo caso-controle. Nele, 81 mulheres menopausadas, sendo 36 com ooforectomia bilateral (O) e 45 controles com os dois ovários (C), adequadamente compensadas dos sintomas climatéricos com gel de estradiol, foram avaliadas através de pletismografia de oclusão venosa, bioimpedância, densitometria por DEXA, perfil bioquímico, hormonal e inflamatório. A função sexual, a cognição e o humor foram avaliados, respectivamente, pelo Female Sexual Function Index (FSFI), Mini Mental e Inventário de Beck (BDI). Os níveis de testosterona total (TT) nas O foi de $13,8 \text{ ng/dl} \pm 14,4$ vs. $27 \text{ ng/dl} \pm 19,4$ nas C ($p = 0,001$). O fluxo da artéria braquial no antebraço, em ml/min/100 ml de tecido, foi menor nas O comparadas às C tanto na análise basal ($1,89 \pm 1,23$ vs. $2,20 \pm 0,92$, $p=0,036$), quanto após hiperemia reativa (dilatação endotélio-dependente, $3,74 \pm 1,87$ vs. $4,58 \pm 2,31$, $p=0,031$) e após uso de nitroglicerina (dilatação endotélio-independente, $1,53 \pm 0,89$ vs. $1,82 \pm 1,06$, $p=0,025$). Houve correlação positiva entre os níveis de TT e fluxos basais da pletismografia (FB1 e FB2), com $r = 0,235$ e $0,233$; $p = 0,034$ e $0,036$, respectivamente. A correlação positiva ocorreu também com fluxo pós-nitroglicerina (FPN), $r = 0,312$, $p = 0,004$, mas não foi estatisticamente significativa com o fluxo pós-hiperemia (FPH), $r = 0,184$, $p = 0,1$. Os níveis de sVCAM1 (*soluble Vascular Cell Adhesion Molecule-1*) apresentaram correlação negativa com os níveis de TT ($r = -0,320$, $p=0,005$) e os níveis de IGF1 (*Insulin-like Growth Factor-1*), correlação positiva ($r=0,290$, $p=0,013$). Os escores do FSFI foram maiores em O, representando uma melhor função sexual neste grupo ($p=0,003$). Os grupos não diferiram na composição corporal e nos questionários para depressão e cognição. Em conclusão, a ausência de produção ovariana de testosterona em mulheres O se associou com pior reatividade vascular ou disfunção endotelial quando comparado com mulheres C. Não foi observada pior função sexual em O comparadas às C, nem houve relação entre os níveis de TT e escores de função sexual, depressão ou cognição.

Palavras-chave: Menopausa. Ooforectomia. Testosterona. Disfunção endotelial. Sexualidade ou Função Sexual.

ABSTRACT

RECH, Ciciliana Maíla Zilio. *Effects and differences of recent postmenopausal bilateral oophorectomy compared to natural menopause on body composition, metabolic profile, vascular reactivity, sexuality, cognition and mood*. 2015. 91 f. Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia Clínica e Experimental) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

The actual ovarian role after menopause and consequences of low testosterone levels in women undergoing bilateral oophorectomy remains uncertain. In order to assess if low levels of testosterone produced by ovaries in recent postmenopausal women, excluded confounding factors, influence vascular, sexual and metabolic function, body composition, cognition and mood, an observational case-control study was designed. In it, 81 postmenopausal women, 36 with bilateral oophorectomy (O) and 45 controls (C) with both ovaries, adequately treated for climacteric symptoms with percutaneous estradiol, were evaluated by venous occlusion plethysmography, bioimpedance, DEXA densitometry, biochemical, hormonal and inflammatory profile. Sexual function, cognition and mood were assessed, respectively, by Female Sexual Function Index (FSFI), Mini Mental and Beck Depression Inventory (BDI). Total testosterone levels (TT) in O were 13.8 ± 14.4 vs. 27 ± 19.4 ng/dl in C ($p=0.001$). Brachial artery flow, in ml/min/100 ml tissue, was lower in O compared to C at baseline (1.89 ± 1.23 vs. 2.20 ± 0.92 , $p=0.036$), following the reactive hyperemia response (endothelium-dependent flow mediated dilatation, 3.74 ± 1.87 vs. 4.58 ± 2.31 , $p=0.031$) and following nitroglycerin (endothelium-independent dilation, 1.53 ± 0.89 vs. 1.82 ± 1.06 , $p=0.025$). There was a positive correlation between TT levels and plethysmography basal flows (FB1 and FB2), with $r = 0.235$ and 0.233 ; $p = 0.034$ and 0.036 , respectively. The positive correlation occurred also with post-nitroglycerin flow (FPN), $r = 0.312$, $p = 0.004$, but was not statistically significant with hyperemia post-flow (FPH), $r = 0.184$, $p = 0.1$. The levels of sVCAM1 (soluble Vascular Cell Adhesion Molecule-1) showed a negative correlation with the TT levels ($r = -0.320$, $p = 0.005$) and levels of IGF-1 (Insulin-like Growth Factor-1), a positive correlation ($r = 0.290$, $p = 0.013$). The FSFI scores were higher in O, representing a better sexual function in this group ($p = 0.003$). There were no differences in body composition and questionnaires for depression and cognition. In conclusion, the absence of ovarian production of testosterone in O women is associated to worst endothelial function, or vascular reactivity, compared to C. It was not observed worst sexual function in O compared to C and there was no relation between TT and sexual function, depression or cognition scores.

Keywords: Menopause. Oophorectomy. Testosterone. Endothelial Dysfunction. Sexual Function.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Resultados da pletismografia de oclusão venosa.....	60
Tabela 1 –	Correlação dos níveis de testosterona com os parâmetros da pletismografia de oclusão venosa.....	61
Tabela 2 –	Características clínicas, bioquímicas e hormonais das pacientes estudadas.....	62
Tabela 3 –	Distribuição da gordura e composição corporal (medidas antropométricas, bioimpedância, DEXA).....	64
Tabela 4 –	Biomarcadores inflamatórios.....	66
Tabela 5 –	Correlações dos níveis de testosterona com os níveis de IGF1 e sVCAM1.....	67
Figura 2 –	Pontuação total e por domínios do Female Sexual Function Index (FSFI)	69
Tabela 6 –	Função sexual, depressão e cognição.....	70

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
A/G	Tecido adiposo androide/ginóide
ANDR	Androstenediona
APOE	<i>Apolipoprotein E</i>
BDI	<i>Beck Depression Inventory</i>
B-PFSF	<i>Brief Version of the Profile of Female Sexual Function</i>
C	Controles
CA	Circunferência abdominal
CV (s)	Cardiovascular (es)
DCV	Doença cardiovascular
DE	Disfunção endotelial
DEXA	<i>Dual-Energy X-ray Absorptiometry</i>
DHEA	Dehidroepiandrosterona
DHEAS	Sulfato de dehidroepiandrosterona
DHT	Dihidrotestosterona
DP	Desvio Padrão
DSF	Disfunção sexual feminina
DSM-IV	<i>Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders- IV</i>
E	Estradiol
eNOS	Óxido nítrico sintetase
ESR1	<i>Estrogen Receptor 1</i>
FB	Fluxo basal
FBF	Fluxo sanguíneo no antebraço
FPH	Fluxo pós hiperemia
FPN	Fluxo pós nitroglicerina
FSFI	<i>Female Sexual Function Index</i>
FSH	Hormônio folículo estimulante
GDF15	<i>Growth Differentiation Factor 15</i>
GMPC	Guanosina monofosfato cíclico
HDL	<i>High density lipoprotein</i>

HERS	<i>Heart and Estrogen/progestin Replacement Study</i>
HOMA IR	<i>Homeostase model assessment insulin resistance</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IEDE	Instituto Estadual de Diabetes e Endocrinologia
IGF1	<i>Insulin-like Growth Factor-1</i>
IMC	Índice de massa corporal
LDL	<i>Low density lipoprotein</i>
LH	Hormônio luteinizante
MFSQ	<i>McCoy Female Sexuality Questionnaire</i>
MG	Massa gorda
MM	Massa magra
MPO	Mieloperoxidase
NHANES III	<i>National Health and Nutrition Examination Survey</i>
NO	Óxido nítrico
O	Ooforectomizadas
PAI1	<i>Plasminogen Activator Inhibitor-1</i>
PAS	Pressão arterial sistólica
PAD	Pressão arterial diastólica
PFSF	<i>Profile of Female Sexual Function</i>
P selectin	<i>Platelet selectin</i>
SHBG	<i>Sexual hormone binding globulin</i>
SNC	<i>Sistema Nervoso Central</i>
sVCAM1	<i>soluble Vascular Cell Adhesion Molecule-1</i>
T	Testosterona
TH	Terapia hormonal
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
WHI	<i>Women's Health Initiative</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
mmHg	Milímetros de mercúrio
µg	Microgramas
mrem	Milirem
mA	MiliAmpère
≤	Menor ou igual
ml	Mililitro
r_s	Correlação de Spearman
p	Nível de significância estatística
mg	Miligrama
ng	Nanograma
dl	Decilitro
Kg	Quilograma
m^2	Metro quadrado
cm	Centímetro
pg	Picograma
mUI	Miliunidades internacionais
nmol	Nanomol
vs	<i>Versus</i>
±	Mais ou menos
<	Menor que

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO.....	12
1	DESENHO DO ESTUDO.....	18
2	ARTIGO CIENTÍFICO SUBMETIDO.....	20
3	DISCUSSÃO.....	60
	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	73
	REFERÊNCIAS.....	74
	ANEXO A - Aprovação do Comitê de Ética.....	80
	ANEXO B - Female Sexual Function Index (FSFI)	81
	ANEXO C - Beck Depression Inventory (BDI)	86
	ANEXO D - Mini Mental.....	90

INTRODUÇÃO

A menopausa é definida pela Organização Mundial de Saúde como a cessação permanente das menstruações, como resultado da perda da função ovariana folicular, pós histerectomia simples ou por remoção cirúrgica dos ovários (WHO, 1996).

Estudos demográficos indicam que em 1990, 467 milhões de mulheres no mundo possuíam mais de 50 anos, idade média da ocorrência da menopausa. Para o ano de 2030, a estimativa é que este número ultrapassará 1 bilhão de mulheres (Hunter *et al*, 1990). Dessa maneira, o manejo da paciente menopausada tem gerado grandes preocupações em termos de saúde pública, uma vez que, devido à melhora da expectativa de vida populacional, mais de um terço da vida de uma mulher pode ocorrer após a menopausa.

As mudanças hormonais que acompanham a menopausa, particularmente a queda dos níveis de estrógenos, têm um forte impacto fisiológico. A deficiência estrogênica está associada a sintomas vasomotores, atrofia urogenital, prejuízo cognitivo e aumento do risco de doenças crônico-degenerativas como osteoporose, doença de Alzheimer e doença cardiovascular (DCV) (Maturana *et al*, 2007).

Evidências consistentes da associação entre produção reduzida de estrógenos em mulheres após a menopausa e risco cardiovascular (CV) foram descritas em vários estudos, entre eles o estudo de Framingham. Neste, as mulheres na pré-menopausa apresentavam 1/3 da incidência de DCV de homens de mesma idade; na pós-menopausa, a incidência aumentava progressivamente, até se igualar à masculina após a oitava década de vida. Além disso, a incidência de DCV era 4 vezes maior em pós-menopausadas comparadas a pré-menopausadas de mesma idade; na menopausa precoce (antes dos 40 anos) o risco CV era 7 vezes maior (Kannel *et al*, 1976).

A disfunção endotelial (DE) é o primeiro sinal e um reconhecido marcador de futura DCV, que é atualmente a maior causa de mortalidade feminina após os 50 anos de idade (Kalantaridou *et al*, 2004). O endotélio vascular pode ser considerado como um órgão heterogêneo e dinâmico que possui funções secretórias, sintéticas, metabólicas e imunológicas vitais para os seres humanos (Fishman, 1982). O endotélio exerce um papel central na regulação do tônus vascular e do fluxo sanguíneo, através da secreção e captação de substâncias vasoativas que agem de modo parácrino, contraindo ou dilatando leitos vasculares específicos em resposta a diversos estímulos. Entre as substâncias vasodilatadoras estão o óxido nítrico (NO), a prostaciclina e o fator hiperpolarizante derivado do endotélio; entre as

vasoconstritoras estão a endotelina-1 e o fator de ativação plaquetária (Caramori & Zago, 2000).

O NO pode ser considerado o principal modulador do tônus vasomotor em situações fisiológicas (Vanhoutte *et al*, 1986). É secretado continuamente pelas células endoteliais e através das interações com a guanosina monofosfato cíclico (GMPc), mantém o tônus arterial reduzido. Bioquimicamente, o NO é considerado um radical livre produzido pela oxidação da L-arginina para L-citrulina, através da óxido nítrico sintetase (eNOS) e sua isoforma do tipo III é estimulada por estrógenos e pela força de cisalhamento, relevantes neste estudo (Stamler *et al*, 1992).

Nesse sentido, o principal efeito cardioprotetor do estradiol (E) se deve a ação genômica não clássica do mesmo em receptores endoteliais estrogênicos do tipo α estimulando a eNOS e a produção de NO (Mendelsohn & Karas, 1999). Além da vasodilatação sustentada, através do aumento da síntese e da atividade do NO; os níveis de E são responsáveis pela modulação do tônus vascular, regulando, assim, a produção de prostaglandinas e expressão do gene da endotelina; inibe a vasoconstrição induzida pela endotelina, a atividade simpática e possui efeito antiproliferativo na musculatura lisa dos vasos.

Em situações fisiológicas o endotélio mantém o tônus vasomotor, previne a adesão de leucócitos e plaquetas e inibe a proliferação de células musculares lisas (Subbiah, 2002). Lesão ou ativação das células endoteliais, em resposta a diversos fatores patológicos, como diabetes mellitus, tabagismo, hipertensão arterial e hiperinsulinemia, leva a modificações nas suas funções regulatórias. O endotélio passa a ser incapaz de manter a homeostase vascular, caracterizando-se então a DE. Esta pode ser definida, assim, como um desequilíbrio entre os fatores relaxantes e constritores, entre os mediadores pró-coagulantes e anticoagulantes, ou entre substâncias estimuladoras e inibidoras do crescimento e proliferação celular (Rubanyi, 1993).

Entretanto, a partir de grandes estudos de intervenção, como o WHI (Women's Health Initiative) em que foi pesquisado se a reposição hormonal (com seu início, em média, aos 63 anos) seria adequada para prevenção primária de eventos CVs (Rossouw *et al*, 2002), e no HERS (Heart and Estrogen/progestin Replacement Study) (Hulley *et al*, 1998), desenhado para prevenção secundária (em mulheres que a iniciaram com média de idade de 66,7 anos) houve aumento do risco de eventos CVs nos grupos que fizeram uso de reposição hormonal. Estes resultados levaram à hipótese de que poderia haver um período crítico logo após a menopausa para início da terapia hormonal (TH) de forma que se obtivesse alguma

cardioproteção. O nome de “janela de oportunidade” foi dado ao período após a menopausa em que o E ainda fosse capaz de aumentar a produção endotelial de NO e em que essa biodisponibilidade se refletisse de forma benéfica na prevenção ou lentificação do processo aterosclerótico.

A despeito da acentuada queda da produção estrogênica que ocorre nos ovários na menopausa, estes continuam a produzir andrógenos. Na mulher, os principais andrógenos circulantes em ordem decrescente de concentração são: sulfato de dehidroepiandrosterona (DHEAS) e dehidroepiandrosterona (DHEA), produzidos nas adrenais; androstenediona (ANDR), produzida nas adrenais e nos ovários; testosterona (T), produzida nos ovários; e dihidrotestosterona (DHT), que é principalmente um produto periférico do metabolismo da T. Apenas T e DHT se ligam a receptores androgênicos. Os outros andrógenos são considerados pró-andrógenos e atuam como precursores para a síntese de T e estrógenos. A produção adrenal de DHEAS e DHEA é regulada pelo hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), enquanto a produção ovariana de ANDR e T é regulada pelo hormônio luteinizante (LH) (Burger, 2002). O andrógeno biologicamente ativo mais importante é a T, que está fortemente ligada no plasma à proteína ligadora de hormônios sexuais (SHBG) e fracamente, à albumina. A quantidade de T livre é apenas 1-3% do total de T. Entre 65 e 75% da T estão ligadas à SHBG e os restantes à albumina. A quantidade de T livre somada à fração de T ligada à albumina denomina-se T biodisponível.

Em mulheres saudáveis, com ovários intactos, todos os andrógenos, incluindo DHEAS, DHEA, ANDR, T total e livre, declinam com a idade. A queda é mais acentuada nos primeiros anos reprodutivos. Níveis de T sofrem um declínio médio de 50% dos 20 aos 40 anos de idade e, em comparação com mulheres mais jovens, mulheres na quinta década de vida podem ser consideradas como andrógeno-insuficientes (Davison *et al*, 2005).

Em estudos que avaliaram mulheres com idades entre 45-54 anos com ovários intactos, como o Melbourne Women's Midlife Project, os níveis de andrógenos não foram influenciados pela ocorrência da menopausa. Os níveis de SHBG, no entanto, diminuíram em 43% e os níveis de T livre aumentaram em 68-80% a partir de 4 anos antes do último ciclo menstrual a 2 anos após o último ciclo (Burger *et al*, 2000). Em uma coorte de 6.296 mulheres americanas de diferentes etnias que apresentavam os dois ovários, verificou-se, durante a transição climática, aumento do índice T total/E em 10 % ao ano, independente de peso (Torrens *et al*, 2009). Este achado reflete o estado de hiperandrogenismo relativo que ocorre na pós-menopausa natural, explicado pela queda menos pronunciada dos níveis de T (em uma ordem de 2 a 4 vezes) comparada aos estrogênios (queda de 16 vezes) (Skalba *et al*, 2003).

Por outro lado, mulheres ooforectomizadas (O) apresentam queda abrupta tanto dos níveis de E quanto de T. No Melbourne Women's Midlife Project, os níveis médios T total e livre foram, em média reduzidos pela metade em mulheres O comparadas com mulheres menopausadas de mesma idade com ovários intactos (Burger *et al*, 2000).

Embora os efeitos cardioprotetores da reposição estrogênica na menopausa continuem sendo motivo de extensa discussão na literatura, ainda não se sabe ao certo qual a real importância da função dos ovários na pós-menopausa (ou seja, da produção androgênica endógena) a níveis vascular, metabólico, de composição corporal ou mesmo nos domínios cognitivo, psicológico e sexual, até hoje pouco estudados.

A pletismografia de oclusão venosa da artéria braquial é um método não invasivo para estudo de função vascular através da estimativa de aumento do fluxo sanguíneo em um determinado segmento do braço a partir do aumento de volume deste segmento. O exame é composto de 4 fases principais: os 2 fluxos basais, a avaliação da resposta à hiperemia reativa (vasodilatação endotélio-dependente) e à nitroglicerina (vasodilatação endotélio-independente). Após acomodação em decúbito dorsal, dois manguitos pneumáticos são posicionados, um ao redor do braço esquerdo e outro ao redor do punho esquerdo de forma a isolar a circulação do antebraço (Bahia *et al*, 2004). Os manguitos são conectados ao sistema do pletismógrafo Hokanson (Bellevue, EUA), bem como um sensor elástico de estiramento contendo mercúrio, posicionado sobre a pele na maior circunferência do antebraço esquerdo. A pressão arterial, assim, é medida por aparelho no braço contralateral, em cada fase do exame, e a frequência cardíaca monitorada continuamente por eletrodos posicionados no tórax conectados ao pletismógrafo. O exame inicia com a leitura de valores de fluxo basais das pacientes (FB1). Para estabelecer isquemia, o manguito do braço é insuflado a 200 mmHg por cinco minutos e decorrido este período, o manguito é desinsuflado (Alomari *et al*, 2004). Em 10 segundos, o manguito localizado no braço é novamente insuflado, agora com 50 mmHg. Esta pressão, superior à pressão venosa e inferior à pressão diastólica arterial, causa a interrupção seletiva do fluxo venoso e possibilita o aumento do volume do antebraço em resposta à isquemia arterial anteriormente provocada. Este estímulo fisiológico é conhecido como pressão de cisalhamento, semelhante ao obtido com exercício físico, pois a pressão que ocorre na parede do vaso após o término da isquemia estimula a liberação endotelial de NO. As medidas de fluxo na hiperemia reativa (FPH) são registradas imediatamente após 10 segundos da isquemia e durante 2 minutos, em 6 ciclos pletismográficos de oclusão e esvaziamento venoso. Procede-se, então, a um intervalo de 15 minutos e uma nova aferição basal é realizada (FB2). Na sequência, após a administração de nitroglicerina sublingual, em

preparação padrão comercial, na dose de 400 µg e após 5 minutos, a última aferição é realizada (FPN). Neste momento, avalia-se a resposta vascular ao estímulo direto do NO e, portanto, a integridade da parede vascular que, em conjunto, com a funcionalidade endotelial, estimada pela hiperemia reativa, fornecem dados consistentes da função vascular global.

A densitometria com emissão de raios-X de dupla energia (DEXA, GE Healthcare, Lunar iDXA) permite a diferenciação do peso corporal em componentes de tecido magro, adiposo e ósseo, além de distinguir parâmetros regionais e totais de composição corporal (Bachrach, 2000). O método é considerado referência para avaliação da composição corporal, além de ser preciso e de baixa exposição à radiação. A dose de radiação estimada varia entre 0,02 e 0,06 mrem (Laskey *et al*, 1992), o que equivale a 50 vezes menos exposição à radiação ionizante que um exame de raio-X simples. A densitometria não é invasiva e tem duração aproximada de 15 minutos.

A bioimpedância elétrica tetrapolar é um exame, assim como o DEXA, que discrimina o conteúdo de massa magra e massa gorda, pelas diferentes impedâncias que os tecidos ricos (músculos, órgãos) ou pobres em água (gordura) possuem ao fluxo elétrico, entretanto, não é possível avaliar composição corporal por regiões. A técnica é de fácil execução, com a fixação dos eletrodos emissores distalmente na superfície dorsal da mão e do pé e colocação dos eletrodos receptores proximalmente, com o indivíduo em decúbito dorsal (Kyle *et al*, 2004). Uma corrente alternada de baixa intensidade (entre 500 e 800 mA) é originada dos eletrodos emissores e a diferença de corrente causada pela resistência e reatância dos tecidos projeta os valores de impedância.

O FSFI (Female Sexual Function Index) é um questionário (Rosen *et al*, 2000), traduzido e validado no Brasil (Thiel *et al*, 2008), que avalia, por meio de 19 perguntas, a atividade sexual nas últimas quatro semanas. As respostas agrupam-se em seis domínios diferentes: desejo, excitação, lubrificação, orgasmo, satisfação e desconforto. Para obtenção dos escores de cada domínio, somam-se os escores individuais e multiplica-se pelo fator correspondente. O escore total da escala é dado pela soma dos escores para cada domínio e escores $\leq 26,55$ pontos sugerem disfunção sexual.

O termo disfunção sexual feminina (DSF) diz respeito a uma ampla variedade de condições clínicas, que incluem desejo sexual hipoativo, transtorno de aversão sexual, transtorno de excitação sexual, transtorno do orgasmo e transtornos dolorosos como dispareunia e vaginismo (DSM-IV, 2002), que são associados a uma diminuição acentuada na qualidade de vida e relações interpessoais (Basson *et al*, 2000).

A complexidade do diagnóstico da DSF acentua ainda mais a confiança no julgamento clínico. Os critérios atuais de diagnóstico ainda são vagos e para tal foram desenvolvidos diversos questionários, além do FSFI: Female Sexual Distress Scale, Arizona Sexual Experience Scale, Changes in Sexual Functioning Questionnaire, Symptom Checklist Brief Sexual, Profile of Female Sexual Function (PFSF), Brief Version of the Profile of Female Sexual Function (B-PFSF) e McCoy Female Sexuality Questionnaire (MFSQ). Por ter sido validado em nosso meio, o FSFI foi escolhido para analisar a função sexual das pacientes, além de apresentar a vantagem de individualização dos diferentes componentes, ou domínios, da DSF.

O inventário de Beck é um questionário composto por 21 perguntas que versam sobre sintomas depressivos como irritabilidade, falta de esperança, culpa, punição, fadiga, perda de peso e redução da libido (Beck *et al*, 1961).

O Mini Exame do Estado Mental é um teste para avaliação da função cognitiva, utilizado amplamente para rastreio de demência. 8 categorias são avaliadas neste exame: orientação no tempo, no espaço, capacidade de registrar informações, atenção e cálculo, habilidade de recordar informações, linguagem, repetição de frases e execução de comandos complexos. A pontuação bruta necessita de correção de acordo com a escolaridade (Folstein *et al*, 1975).

À revisão da literatura, não encontramos estudos, comparando mulheres menopausadas com os dois ovários a mulheres O, que avaliassem desfechos intermediários de risco CV, especificamente de DE. A função residual dos ovários na transição climatérica, por menor que seja, poderia ser protetora para o endotélio ou, por outro lado, o hiperandrogenismo relativo, que ocorre na perimenopausa tardia, poderia ter um efeito deletério para a microcirculação. Além disso, o interesse na terapia de reposição androgênica em mulheres com baixa libido e disfunção sexual tem crescido nos últimos anos, entretanto, os possíveis desfechos CVs desta terapia são ainda incertos.

1 DESENHO DO ESTUDO

Desenhamos um estudo que comparasse mulheres O a mulheres em menopausa natural, para avaliar se os baixos níveis de T produzidos pelos ovários na pós-menopausa recente, excluídos fatores de confusão, influenciam as funções vascular, sexual e metabólica, a composição corporal, além da cognição e do humor destas mulheres.

Recrutamos 81 pacientes dos ambulatórios de Endocrinologia Feminina do Instituto Estadual de Diabetes e Endocrinologia (IEDE) e do Hospital Federal da Lagoa, especializados no tratamento da menopausa, sendo 36 pós- ooforectomia bilateral por etiologia outra que neoplasia hormônio-dependente (grupo O) e 45 controles com os dois ovários (grupo C), todas na pós-menopausa recente, isto é, com no máximo 10 anos de hipoestrogenismo e que estivessem adequadamente compensadas dos sintomas climatéricos mediante terapia estrogênica.

Foram excluídas as mulheres que apresentaram ooforectomia unilateral, bem como as com contraindicações para uso de TH (história prévia ou atual de carcinoma de mama ou endométrio, sangramento vaginal de causa não estabelecida, doença hepatobiliar grave ou recente, doença tromboembólica recente e doença isquêmica cerebral ou cardíaca recente). Também foram excluídas: mulheres com história de síndrome de ovários policísticos na menacme, acne severa ou hirsutismo, doenças psiquiátricas ou limitações físicas que interferissem com a atividade sexual, usuárias de glicocorticóides, agentes antiandrogênicos, fitoestrógenos; medicamentos com ação em nível do sistema nervoso central, tabagistas, diabéticas em uso de hipoglicemiantes orais ou insulina, hipertensas não controladas adequadamente com medicação ou em uso de anti-hipertensivos da classe dos bloqueadores dos canais de cálcio e mulheres com hiper ou hipotireoidismo não compensado.

Para que pudéssemos avaliar os efeitos isolados dos níveis de T endógena, estas mulheres foram submetidas à terapia de reposição estrogênica com gel de preparação comercial percutâneo para adequada compensação dos sintomas climatéricos. Aquelas que possuíam útero receberam progesterona micronizada oral por 14 dias após o término do estudo.

As pacientes foram submetidas à pletismografia, DEXA, bioimpedância e questionários (auto-preenchidos) descritos acima. Também realizaram coleta de exames laboratoriais para avaliação do perfil hormonal, bioquímico e inflamatório, bem como avaliação antropométrica e exame físico, descritos detalhadamente no artigo que segue.

O projeto proporcionou a redação do artigo intitulado “*Low testosterone levels are associated to endothelial, not sexual, dysfunction in oophorectomized early postmenopausal women*” submetido à publicação para a revista *European Journal of Endocrinology*. Além do conteúdo completo do texto, uma breve discussão ressalta os principais achados no capítulo seguinte.

O artigo submetido descreve os achados encontrados neste projeto, com foco em 2 aspectos dos resultados que apresentaram maior relevância: a DE na menopausa recente, associada aos baixos níveis de T nas mulheres O e os maiores escores de função sexual em O, a despeito dos baixos níveis de T.

2 ARTIGO CIENTÍFICO SUBMETIDO

Manuscript submitted for review to European Journal of Endocrinology



Low testosterone levels are associated to endothelial, not sexual, dysfunction in oophorectomized early postmenopausal women

Journal:	<i>European Journal of Endocrinology</i>
Manuscript ID:	EJE-15-0165
mstype:	Clinical Study
Date Submitted by the Author:	11-Feb-2015
Complete List of Authors:	Rech, Ciciliana; State University of Rio de Janeiro, Physiological Sciences Clapauch, Ruth; State University of Rio de Janeiro, Physiological Sciences; Lagoa Federal Hospital, Female Endocrinology Sector de Souza, Maria das Graças; State University of Rio de Janeiro, Physiological Sciences Bouskela, Eliete; State University of Rio de Janeiro, Physiological Sciences
Keywords:	Testosterone, Ovary, Gynecology Endocrinology, Androgen, Estrogen

SCHOLARONE™
Manuscripts

Only

1 Title: Low testosterone levels are associated to endothelial, not sexual dysfunction, in
2 oophorectomized early postmenopausal women

3 Abbreviated title: Testosterone: endothelial and sexual function

4 Authors and Affiliations:

5 Ciciliana Maíla Zilio Rech¹, Ruth Clapauch^{1,2}, Maria das Graças Coelho de Souza¹, Eliete
6 Bouskela¹

7 ¹ Laboratory for Clinical and Experimental Research on Vascular Biology (BioVasc), Biomedical
8 Center, State University of Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, RJ, Brazil, ² Lagoa Federal
9 Hospital (HFL), Female Endocrinology Sector, Health Ministry, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

10 Corresponding Author:

11 Ciciliana Maíla Zilio Rech

12 Rua São Francisco Xavier, 524. Pavilhão Haroldo Lisboa da Cunha, térreo. BioVasc, UERJ.

13 20550-013 Rio de Janeiro, RJ

14 Brazil

15 Email: cicilianazr@gmail.com

16 Keywords: Menopause. Oophorectomy. Testosterone. Endothelial Dysfunction. Sexuality.

17 Word Count: abstract 242, main article and references 7050 (without figure legends) number
18 of tables 5, number of figures 4

19

20

21 ABSTRACT

22 The actual consequences of low testosterone levels in women remain uncertain. Objective: To
23 assess the influence of endogenous testosterone on vascular, sexual and metabolic function,
24 body composition, cognition and mood in recent postmenopausal women. Design: We
25 investigated 81 postmenopausal women under transdermal estradiol replacement therapy, 36
26 with bilateral oophorectomy (group O) and 45 controls (group C) through venous occlusion
27 plethysmography, bioimpedance, DEXA, biochemical, hormonal and inflammatory profiles.
28 Female Sexual Function Index (FSFI), Mini Mental and Beck Depression Inventory (BDI) were
29 used to estimate sexual function, cognition and mood, respectively. Results: Total testosterone
30 levels (TT) in O were 13.8 ± 14.4 vs. 27 ± 19.4 ng/dl in C ($p=0.001$). Brachial artery flow, in
31 ml/min/100 ml tissue, was lower in O compared to C at baseline (1.89 ± 1.23 vs. 2.20 ± 0.92 ,
32 $p=0.036$), following the reactive hyperemia response (endothelium-dependent flow mediated
33 dilatation, 3.74 ± 1.87 vs. 4.58 ± 2.31 , $p=0.031$) and following nitroglycerin (endothelium-
34 independent dilatation, 1.53 ± 0.89 vs. 1.82 ± 1.06 , $p=0.025$), with positive correlation between TT
35 and all parameters ($r=0.233-0.312$, $p=0.036-0.004$), except the reactive hyperemia response.
36 The soluble Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (sVCAM1) levels were negatively correlated to
37 TT ($r = - 0.320$, $p=0.005$) whereas Insulin-like Growth Factor-1 (IGF1) levels were positive
38 correlated ($r=0.290$, $p=0.013$). FSFI score was higher, representing better sexual function, in O
39 ($p=0.003$). Groups did not differ in body composition, depression and cognition scores.
40 Conclusions: The absence of ovarian testosterone production in recent post menopause has
41 deleterious effects on endothelial function; however, lower endogenous testosterone levels
42 showed limited role in female sexual function.

43

44 INTRODUCTION

45 A pronounced decline in estradiol levels follows menopause, a known risk factor for
46 cardiovascular diseases (1). Data from experimental and clinical studies have shown a
47 relationship between estrogen decay and endothelial dysfunction (2), the first and most
48 precocious known marker of the atherosclerotic process (3). Testosterone levels suffer less
49 pronounced descent (2-4 times), compared to estrogens (16 times) (4) because
50 postmenopausal ovaries continue to produce testosterone. This phenomenon elicits a relative
51 hyperandrogenism in women who experience natural menopause. Oophorectomized women
52 (O), on the other hand, go through a different scenario, in which both estradiol and
53 testosterone decline occurs in an abrupt way.

54 The actual ovarian role after natural menopause and the consequences of low testosterone
55 levels in women subjected to bilateral oophorectomy, especially regarding vascular health,
56 body composition, sexual function, mood and cognition have not been thoroughly studied.

57 The understanding of this subject plays a key role for women who have to face the decision to
58 undergo "prophylactic" bilateral oophorectomy during hysterectomy, a practice that has
59 increased in the last decades (5). The concept that postmenopausal ovaries are not major
60 hormone producing glands, added to the concern about risk of ovarian cancer, a type of
61 malignancy usually diagnosed in advanced stages, famed by difficult screening (6) and survival
62 rates (7), may have influenced this practice.

63 Besides, the interest on testosterone replacement therapy in women with low libido
64 complaints has grown in the last years, while cardiovascular endpoints of this therapy remain
65 unclear. In this investigation we aimed to compare oophorectomized to naturally
66 postmenopausal women, all under estrogen therapy, to determine if low testosterone levels
67 produced by early postmenopausal ovaries influence sexual and vascular function assessed by
68 venous occlusion plethysmography, a well validated method that measures blood flow at
69 baseline and after endothelial nitric oxide production during the reactive hyperemia response.

70 We believe that understanding the mechanisms and possible risks and benefits of endogenous
71 testosterone is essential to establish the reasons for developing or disregarding new hormone
72 replacement therapies, and to know to which postmenopausal women they should be
73 considered.

74

75 SUBJECTS AND METHODS

76 Study Population

77 Eighty-one postmenopausal patients were studied, 36 with bilateral oophorectomy from other
78 etiology than hormone-dependent cancer (group O) and 45 with both ovaries (group C), all in
79 recent post menopause, namely, with no more than 10 years of hypoestrogenism, and
80 adequately compensated of climacteric symptoms by estrogen therapy.

81 Exclusion criteria were women who had unilateral oophorectomy, those with contraindications
82 to hormone therapy (previous or current history of breast or endometrial cancer; vaginal
83 bleeding of unknown cause; serious or recent hepatobiliary disease; thromboembolic, cerebral
84 or heart ischemic disease), history of polycystic ovary syndrome, or severe acne or hirsutism in
85 reproductive years; psychiatric illness or physical limitations that interfere with sexual activity;
86 users of glucocorticoids, antiandrogenic agents, phytoestrogens, drugs that act on the central
87 nervous system, smokers; women with diabetes using oral hypoglycemic agents or insulin,
88 hypertension not adequately controlled with medication or using calcium channel blockers or
89 with hyper or hypothyroidism not well handled.

90 Patients were recruited from menopause specialized clinics at Lagoa Federal Hospital (HFL) and
91 Diabetes and Endocrinology State Institute (IEDE). The objectives as well as exams, risks and
92 benefits to which patients would be subjected were explained and those who agreed to

93 participate signed the Term of Consent Agreement approved for the research project by IEDE
94 Ethics Committee (01/2013).

95 Women taking oral estrogen had their treatment modified to percutaneous estradiol gel
96 (Estreva gel ®) for at least 1 month, in a dose equivalent to prior therapy, while those already
97 in use of estradiol gel maintained the same medication and dose. If the patient had uterus and
98 was using a progestin, it was temporarily interrupted, for no more than three months, to make
99 possible the standardization of hormone therapy (HT) during the study. When symptoms of
100 hypoestrogenism were properly compensated (based on clinical evaluation, by a patient-
101 oriented subjective score of hot flashes and vaginal dryness equal or less than 3 in a scale from
102 0 to 10) (8) they initiated the study procedures. Those who were not compensated had their
103 estradiol gel dose adjusted and were monthly evaluated until they could perform the
104 procedures, which took place in a maximum of 3 months. Women with uterus received
105 micronized progesterone 200 mg daily for 14 days after the conclusion of the study, when all
106 returned to the HT previously prescribed at their original clinics.

107 Data collection

108 Clinically compensated patients were instructed to check serum levels of estradiol, estrone,
109 androstenedione, FSH, TT, SHBG and albumin, progesterone, complete lipid profile, fasting
110 glucose and insulin, by blood test collected and performed at IEDE's laboratory. The method
111 used for hormone analysis was electrochemiluminescence except for estrone, measured by
112 radioimmunoassay and androstenedione, by chemiluminescence. In the same sample fasting
113 glucose, total cholesterol, triglycerides and HDL-C were evaluated by enzyme-colorimetric
114 method. LDL-C, HOMA IR, free and bioavailable testosterone were calculated (9,10,11)
115 according to well-established methods.

116 During the same week, in previously scheduled day, patients attended the Laboratory for
117 Clinical and Experimental Research in Vascular Biology (BioVasc) after 12 hours fast, where

5

118 they waited for at least 20 minutes in the acclimatized room before being called to the
119 examination room, where anthropometric evaluation was performed, comprising height,
120 weight, waist (WC) and hip (HC) circumferences. Blood pressure assessment was carried out by
121 2 measurements with 10-minute interval, with the mean of both being considered. WC was
122 defined as the average of two measurements made after expiration horizontally at the
123 midpoint between the last rib and iliac crest while HC was measured at the greatest width of
124 the femoral trochanter (12). Waist to hip ratio (WHR) estimation was performed dividing WC
125 by HC. Weight was measured with patients in light clothes, without shoes, in a high-precision
126 digital scale (Filizola®, São Paulo, SP, Brazil) and height was obtained from wall stadiometer.
127 Body mass index (BMI) was calculated dividing body weight in kg by the square of height in
128 meters.

129 Blood samples were collected at BioVasc and the plasma stored at -80° C for later analyses of
130 inflammatory biomarkers. Adiponectin, lipocalin-2/NGAL (neutrophil gelatinase-associated
131 lipocalin), resistin, adiponin and PAI1 (Plasminogen Activator Inhibitor-1) were dosed by
132 Milliplex®, using MAP - Human Panel Adipokine Magnetic Bead 1 kit, reference HADK1MAG-
133 61K, manufactured by EMD Millipore Corporation, Billerica, MA, USA. The sample dilution
134 factor was 1: 400; with coefficient of variation (CV %) for intra-assay of <5% and to inter-assay
135 of <14%. GDF15 levels (Growth Differentiation Factor 15), MPO (Myeloperoxidase), Myoglobin,
136 P selectin (Platelet selectin) and sVCAM1 were evaluated by the MAP kit Milliplex® - Human
137 Cardiovascular Disease (CVD) Panel 2 Magnetic Bead Kit, reference HCVD2MAG-67K, with
138 dilution factor of 1:100, intra and inter-assay CV% <15% and <20%, respectively. IGF1 and IGF2
139 were evaluated by the MAP kit Milliplex® - Human IGF1, Magnetic Bead Panel II, reference
140 52K-HIGFMAG, dilution factor of 1:60, intra and inter-assay CV % <10% and <15%, respectively.
141 All tests were conducted using simultaneous analysis of multiple analytes in magnetic format,
142 where concentration of biomarkers was determined by the correlation between fluorescence

143 value of samples to ones for standard curves generated by logistic fit, with the aid of data
144 analysis program (Milliplex Analyst Software Vigene Tech EMD Millipore, Billerica, MA, USA).

145 After collecting blood, patient's body composition was evaluated by dual energy X-ray
146 absorptiometry densitometry (DEXA, GE Healthcare, Lunar iDXA) at the Institute of Nutrition -
147 Nutrition Evaluation Laboratory, UERJ, to differentiate lean, fat and bone tissue components
148 and regional body composition parameters (13). The machine used in this study has precision
149 of 0.9% for fat percentage, 0.8% for fat mass and 0.5% for lean mass (14). The percentage of
150 body fat was evaluated in total, as well as in android (A) and gynoid (G) distribution. Other
151 evaluated parameters were fat mass, total lean mass, and the A/G rate. Factors such as
152 adequate position of the patient at the scanner table, proper hydration status, fasting for
153 solids and light clothing were observed (15).

154 Back to BioVasc, body composition was also analyzed by tetrapolar bioelectrical impedance to
155 discriminate total content of lean and fat mass, by different impedances that water-rich tissues
156 (muscles, organs) or poor ones (fat) have to electrical flow. The technique is painless and easy
157 to perform, by fixation of distal electrodes on the dorsal surface of hands and feet and
158 placement of proximal receptor electrodes, with the individual in supine position (16). A low
159 intensity alternating current (between 500 and 800 mA) originates from emitting electrodes
160 and its current difference caused by resistance and reactance outline tissue impedance values.

161 During the intervals between exams, the same investigator (CMZR) administered validated
162 questionnaires about sexual function, depressive symptoms and cognition, always with
163 patients at ease and in privacy conditions.

164 FSFI (17) evaluates, through 19 questions, sexual activity during the last four weeks (18). The
165 responses were grouped into six different areas: desire; excitation; lubrication; orgasm;
166 satisfaction and pain and to obtain scores of each domain, individual question scores were

167 added up and multiplied by the corresponding factor. The total score was the sum of scores for
168 each domain. Scores less than or equal to 26.5 suggest sexual dysfunction (19).

169 Depressive symptoms were assessed by BDI, consisting of 21 multiple choice questions, each
170 punctuated from 0 to 3, that deal with symptoms such as irritability, hopelessness, guilt,
171 punishment, fatigue, weight loss and reduced libido (20). Current guidelines have suggested to
172 interpret BDI total score as: minimal depression = 0-9, mild depression = 10-18, moderate
173 depression = 19-29, and severe depression = 30-63.

174 The Mini Mental State Examination is a test for assessment of cognitive function widely used
175 for screening dementia (21), with 8 categories: orientation in time, space, ability to record
176 information, attention and calculation, ability to recall, language, repetition of phrases and
177 execution of complex commands. The expected normal score is corrected according to
178 schooling (illiterate, 20; schooling 1-4 years 25; 5-8 years, 26.5; 9 to 11 years, 28; and more
179 than 11 years, 29 points).

180 In addition to questionnaires, patients subjectively scored their hot flushes (0 for no hot flash
181 to 10, very intense hot flashes) and libido (0 for low libido up to 10, very good libido) and
182 estimated how many hours per night they slept on average during the last month.

183 Finally, patients underwent venous occlusion plethysmography of the brachial artery, a non-
184 invasive method to study vascular function through baseline flows, response to reactive
185 hyperemia (endothelium-dependent vasodilatation) and nitroglycerin (endothelium-
186 independent vasodilatation). Briefly, patients were accommodated in the supine position at
187 the examination room, with temperature between 22 and 25°C. Two pneumatic cuffs,
188 connected to a Hokanson plethysmograph system (Bellevue, USA), were placed, one around
189 the left arm and another around the left wrist to isolate forearm circulation, as well as an
190 elastic stretch mercury sensor, positioned on the skin at the largest circumference of the left
191 forearm. Blood pressure was measured in the contralateral arm and heart rate continuously

8

192 monitored by electrodes placed on the chest connected to the plethysmograph. The
193 examination begins with the reading of baseline flow rate (BF1). For ischemia, the arm cuff was
194 inflated to 200 mmHg for five minutes and then deflated (22). Within 10 seconds, the cuff was
195 inflated again, now to 50 mmHg. This pressure, higher than venous pressure and lower than
196 diastolic blood pressure, causes selective interruption of venous flow and allows increased
197 forearm blood volume in response to release from ischemia, similar to what occurs with
198 physical exercise, since flow increase after ischemia (shear stress) stimulates endothelial
199 release of nitric oxide. Flow measurements during the reactive hyperemia (RHF) response
200 were recorded 10 s after ischemia release and during 2 minutes. The procedure was followed
201 by 15-minute interval and new baseline measurement (BF2). Subsequently, the patient
202 received sublingual nitroglycerin (Nitrolingual BurnsAdler Pharmaceuticals Inc, Charlotte, NC,
203 USA), at a dose of 400mcg and after 5 min the reactive nitroglycerine flow (RNF) measurement
204 was performed to evaluate the vascular response to direct stimulation of nitric oxide and thus
205 the integrity of the vascular wall, which, together with endothelial function estimated by the
206 RHF, provide consistent data of global vascular function.

207 After plethysmography, patients received a snack and were released, with recommendation to
208 use micronized progesterone 200 mg daily for 14 days if they had uterus and then return to
209 the HT previously prescribed at their original clinic.

210 Statistical Analysis

211 The descriptive analysis was expressed as mean, standard deviation and median, and consisted
212 of the following methods: 1) comparison of clinical and laboratory variables between groups
213 (O and C) by Student t-test for independent samples or Mann-Whitney test for numerical data
214 and chi-square (χ^2) or Fisher exact tests for categorical data, 2) association between numeric
215 variables by Spearman correlation coefficient. Nonparametric methods were applied, due to
216 large dispersion of data and rejection of the normality hypothesis of Shapiro-Wilks test. The

217 level of significance was 5% and statistical analyses were performed with the software SAS®
218 System, version 6.11 (SAS Institute, Inc., Cary, North Carolina).

219

220 RESULTS

221 Eighty-one early postmenopausal women, mean age 53 ± 4.6 years, which started HT at 50 ± 5.1
222 years and had a maximum of 10 years of hypoestrogenism, were studied. Mean BMI was
223 29.6 ± 5.7 kg/m². When compensated, after at least one month using percutaneous estrogen,
224 mean serum estradiol levels were 66.2 pg/ml (from an average applied estradiol dose of
225 1.13 ± 0.33 mg), FSH 47.6 ± 27.3 mIU/ml, SHBG 56 ± 28.6 nmol/l and DHEAS 83.3 ± 51.5 µg/dl.

226 Thirty-six patients had undergone bilateral oophorectomy for benign diseases, at a mean age
227 of 45.9 ± 6.2 years (group O), while forty-five women kept their two ovaries (group C).

228 The groups did not differ in age, BMI, WC, WHR, blood pressure levels and heart rate (Table 1).
229 However, group O had less time of hypoestrogenism than group C (32.7 ± 39 vs. 41.5 ± 34.3
230 months, $p=0.046$), reflecting earlier HT use in women who removed both ovaries. Both groups
231 had similar serum estradiol levels but the mean dose of estradiol gel needed to control
232 climacteric syndrome was higher in O compared to C (1.22 vs. 1.07 mg, $p=0.023$). Group O had
233 less education years than group C (7.78 ± 2.79 vs. 9 ± 2.38 , $p = 0.028$).

234 In relation to hormonal and metabolic profiles, only testosterone levels differed between
235 groups: TT was 13.8 ± 14.4 (group O) and 27 ± 19.4 ng/dl (group C) in C ($p=0.001$). The same
236 occurred with calculated free testosterone (0.189 ± 0.22 vs. 0.380 ± 0.292 ng/dl, $p=0.001$) and
237 bioavailable testosterone levels (4.47 ± 5.03 vs. 10.21 ± 10.37 ng/dl, $p=0.001$). No statistically
238 significant differences were found for other variables (Table 1).

239 All parameters evaluated by venous occlusion plethysmography (BF1, RHF, BF2 and RNF) were
240 significantly lower for O compared to C (Figure 1). There was a positive correlation between
241 total, free calculated and bioavailable testosterone values and all parameters of
242 plethysmography ($r=0.233-0.312$, $p=0.036-0.004$), except the reactive hyperemia response
243 (Table 2, Figure 2). Intra-group analysis, however, did not show such correlation.

244 The groups did not differ in relation to body composition, either by densitometry through
245 DEXA or bioimpedance (Table 3).

246 Surprisingly, group O presented better sexual function than C, as revealed by FSFI
247 questionnaire, being pain ($p=0.005$), lubrication ($p=0.012$) and satisfaction areas ($p=0.042$)
248 responsible for higher total scores ($p=0.003$) (Figure 3). Other domains (desire, arousal and
249 orgasm) showed no significant difference. There was no correlation between domains of FSFI
250 and testosterone levels in the total sample and at group C. However, within group O there was
251 a positive correlation between TT and the desire domain ($r=0.374$, $p=0.024$). Estradiol levels
252 were positively correlated with arousal domain in the total sample ($r=0.338$, $p=0.038$) and at
253 group O ($r=0.521$, $p=0.032$), being the strongest association in this group.

254 There was no difference in depression and cognition scores assessed by BDI and Mini Mental
255 Test, respectively. The grades provided by women themselves to libido and hot flashes and
256 reported number of sleep hours also showed no difference between groups (Table 4).

257 The inflammatory biomarkers did not differ between groups (Table 5). When correlated to
258 testosterone levels, only sVCAM1 levels were negatively correlated with total, free calculated
259 and bioavailable testosterone, while IGF1 levels presented positive correlations (Table 2,
260 Figure 4).

261

262 DISCUSSION

263 Endothelial dysfunction is an early marker of future cardiovascular diseases (23), which are
264 currently the leading cause of death in women after 50 years of age (24). The association
265 between reduced estrogen production and endothelial dysfunction has been described in
266 different studies (1) as well as acute (25) and chronic (2) endothelial beneficial effects of
267 estrogen replacement in early post menopause, which can be part of the "window of
268 opportunity" for HT.

269 In this study we have demonstrated, to our knowledge for the first time, that even in recent
270 menopause and under appropriate estrogen replacement, oophorectomized women
271 presented consistent signs of endothelial dysfunction associated with lower levels of
272 endogenous testosterone, compared to women with both ovaries. This phenomenon was
273 observed by plethysmography both at baseline and under stimulation of either endothelium-
274 dependent vasodilatation (by the reactive hyperemia response) or endothelium-independent
275 vasodilatation (caused by sublingual nitroglycerin), reflecting, respectively, decreased
276 bioavailability of nitric oxide (26) associated to increased vascular wall stiffness in O (27).
277 Oophorectomized women had already shown to have higher risk of cardiovascular events in
278 Women' Health Initiative study (28). Population studies including menopausal women up to 69
279 years reported higher cardiovascular risk in those who underwent bilateral oophorectomy
280 before age 50 (29) and this situation occurred in 26/35 (almost 75%) of women in our O group.
281 Endothelial dysfunction, associated to low testosterone levels, may be an early sign of this risk.
282 In agreement with our findings, Montalcini *and co-workers* (30) described a positive
283 correlation between serum testosterone levels and flow-mediated brachial artery
284 vasodilatation assessed by Doppler in 60 postmenopausal women. In addition, *Worboys and*
285 *co-workers* (31), studying 33 postmenopausal women, found increased endothelium-
286 dependent and independent vasodilatation after using, associated with estrogen-progestin
287 therapy, subcutaneous testosterone implants of 50 mg for 6 weeks.

288 The vascular and cellular mechanisms by which testosterone regulate vascular tone are still
289 not well understood. Vascular reactivity could be directly mediated by the androgen receptor
290 or could be a result of testosterone aromatization into estradiol in arteries smooth muscle
291 cells, being estradiol the activator, in a paracrine manner, of endothelial nitric oxide synthase
292 by non-genomic pathway (32). The reason could be that the aromatase enzyme, responsible
293 for testosterone transformation into estradiol, is present in the smooth muscle layer of
294 arteries but was not identified in human endothelial cells (33). Our results showed that serum
295 estradiol levels in both groups were not statistically different, even O women requiring larger
296 doses of topical estradiol gel preparation to compensate climacteric symptoms (34).
297 Furthermore, despite the shorter time of hypoestrogenism in O, given by earlier onset of HT,
298 their vascular response was worse. The groups were comparable in classical cardiovascular risk
299 factors such as age, BMI, WC, glucose, blood pressure and lipids. Endothelial dysfunction in O,
300 therefore, seems to reflect the low endogenous testosterone levels, the only evident
301 difference between the groups. These data reinforce the importance of testosterone for
302 proper vascular function in early menopause.

303 DHEAS and androstenedione, androgens from adrenal and mixed origin (ovarian and adrenal),
304 respectively, showed no significant changes in O compared to C. Our results were similar to
305 those described by Davison *and co-workers*, whereby oophorectomized 55-64 years old
306 women presented TT of 10.95 ± 7.49 vs. 19.02 ± 11.53 ng/dl compared to women with intact
307 ovaries, while DHEAS and androstenedione levels did not differ between groups (35). In the
308 Rancho Bernardo Study, in 50-89 years old women, after adjustment for age and BMI, bilateral
309 oophorectomized ones showed a 40% reduction in total and bioavailable testosterone levels
310 compared to those with intact ovaries (36). More recently, Fogle *and co-workers*, in samples
311 collected from ovarian and peripheral veins of women undergoing hysterectomy along with
312 bilateral oophorectomy pre, intra and postoperatively, demonstrated significant production of

313 ovarian testosterone even 10 years after natural menopause, possibly mediated by the
314 stimulating high levels of LH in ovarian theca cells (37).

315 Taken together, these results refute Couzinet *and co-workers* earlier hypothesis that
316 menopausal ovaries are unable to synthesize androgen properly, and therefore could be
317 prophylactically excised without major damage, as adrenals would supply their function (38).
318 Current studies suggest an increase in DHEAS in menopausal transition both in O and in
319 women with intact ovaries, but which have not undergone HT (39, 40). However, even if
320 compensatory increases of other androgens occur, by potential modulatory effect of adrenal
321 glands in estrogen-deprived postmenopausal women, evident lower testosterone levels in O
322 compared to C negatively affected the endothelial function, as demonstrated in our study.

323 The investigated groups had mean BMI of 29.6 ± 5.7 kg/m² reflecting the current prevalence of
324 overweight in women of this age in our country (41). O and C groups did not differ in relation
325 to BMI, WC, WHR, and body composition assessments by both bioimpedance and DEXA
326 densitometry. These data reinforce that observed endothelial effects were not due to changes
327 in body composition or secondary to insulin resistance (characterized by HOMA IR, which was
328 similar between groups), that could be mediated by androgen levels. However, McCarty *and*
329 *co-workers*, examining oophorectomized women from the National Health and Nutrition
330 Examination Survey (NHANES III) found that fat mass measured by bioimpedance, skinfold
331 thickness, WC and BMI were significantly higher only in women who underwent oophorectomy
332 before age 40 years (42). Stronger associations were found in those who did not take HT.
333 These results are not comparable to ours because our entire sample was in estrogen
334 replacement and most women were operated between 40-50 years old. Taken together, these
335 studies suggest that low estrogen levels, particularly in oophorectomized women before age
336 40, are higher determinants of body composition than low levels of endogenous testosterone,
337 being postmenopausal fat more related to low estradiol than to testosterone levels. However,

338 it is possible that lower testosterone levels would occur in early postmenopausal women with
339 intact ovaries and low or normal BMI than those observed in C of our sample, which filled
340 criteria to overweight or almost grade I obesity.

341 The lack of difference in adipokines levels (adiponectin, lipocalin2, adipisin, resistin and IGFs 1
342 and 2) reflects findings described above for body composition, which did not differ between
343 groups. Chalvatzas *and co-workers* found similar results for serum levels of adiponectin and
344 resistin, comparing women before and after bilateral oophorectomy with or without
345 associated estrogen replacement (43).

346 Although we found no difference in IGF1 levels between groups, there was a positive
347 correlation between serum testosterone and IGF1, a protein produced by the liver in
348 response to growth hormone that plays an important role in muscle anabolism, in addition to
349 reducing hepatic gluconeogenesis (44). In agreement with our findings, Bierznice *and co-*
350 *workers* observed an 18% increase in IGF1 levels in postmenopausal women who received 40
351 mg of testosterone orally for 2 weeks (45), which on average increased TT levels from
352 11.5 ± 2.88 to 31.7 ± 5.76 ng/dl (comparable and higher, respectively, than those we have found
353 in our O and C groups [13.8 ± 14.4 vs. 19.4 ± 27 ng/dl]). No clinical effect on body composition
354 measurements could be detected, despite a potential higher myocyte generation of IGF1 gene
355 expression, as demonstrated by testosterone in vitro studies (46). Women with lower
356 testosterone levels (the O group) also presented higher sVCAM1, an endothelial adhesion
357 molecule expressed in atherosclerosis-prone regions and in the periphery of established
358 lesions (47). It promotes accumulation and allows bearing and subsequent binding of T
359 lymphocytes and monocytes in the arterial intima (48). In a study with human endothelial cells,
360 testosterone, through its conversion to estradiol, attenuated atherogenesis by inhibiting
361 VCAM1 expression in a concentration dependent way (49). These findings demonstrated that,
362 in addition to endothelial dysfunction, the inflammatory phase of atherosclerotic disease has

363 already started in these women, despite being in early menopause with a short time of
364 hypoestrogenism.

365 In the US population, the prevalence of low libido was described as 26.7% in premenopausal
366 and 53.1%, in postmenopausal women without estrogen replacement (50). In the last two
367 decades, many studies have emerged suggesting that androgen levels were independent
368 determinants of sexual behavior in women, and androgen therapy would therefore be
369 beneficial for treatment of low libido, especially in oophorectomized ones. Different authors
370 (51-55) using testosterone patches or transdermal testosterone, leading to serum TT levels of,
371 on average, 110 ng/dl (supra physiological), reported improvement of desire in hypoactive
372 sexual disordered oophorectomized women compared to placebo, who also showed some
373 improvement compared to pre-treatment. The poor understanding of the "androgen
374 insufficiency syndrome" and the lack of specificity of its symptoms caused an indiscriminate
375 growing use of androgen therapy, generating further discussion and controversy.

376 In our study, the O group, properly compensated with estrogen therapy, showed better sexual
377 function, represented by significantly higher FSFI questionnaire scores compared to C women,
378 and this difference was mainly in pain, lubrication and satisfaction areas. At first glance, this
379 result may seem unusual. However, in a case-control study involving 1352 older (57-85 years)
380 women, 356 of them being oophorectomized, no difference was found in self-perceived sexual
381 thoughts between O and C groups (54.5 vs. 49.9%, $p = 0.227$), even after stratification for HT
382 duration, age, education and race (56). In our study O reported subjective libido scores
383 equivalent to C but it is useful to remember that O women in our study had an earlier HT onset
384 than C, which may have contributed to a more immediate resolution of the vulvovaginal
385 atrophy that follows estrogen deficiency. Thus shorter time of hypoestrogenism may represent
386 a window opportunity for sexuality maintenance in postmenopausal period.

387 Regarding sexual desire, a case-control study comparing 20 postmenopausal women (45-70
388 years old) presenting low libido, from which only 5 had surgical menopause, to 20
389 postmenopausal ones with normal libido (48-60 years old), all classified by FSFI questionnaire
390 and treated with 0.625 mg conjugated estrogens, associated or not with 2.5 mg
391 medroxyprogesterone acetate, described lower levels of total and free testosterone in the
392 group of low libido, compared to matched-for decade controls (57). However, the small
393 number of patients, heterogeneity of age, menopause and HT types pose doubt if low
394 androgen levels really correlate with sexual complaints. Davis *and co-workers*, on the other
395 hand, found no association between scores on sexual function areas studied by Profile of
396 Female Sexual Function (PFSF) questionnaire and low testosterone levels in 1021 women aged
397 18 to 75 years (58), as happened in our study using FSFI domains and testosterone levels, in
398 the total sample and in C. However, in O women, we found a positive correlation between TT
399 and desire ($r=0.374$, $p=0.024$). In oophorectomized women, the average 50% decay of total
400 and free testosterone levels (59) compared to natural menopause could explain the
401 correlations here observed, and potential benefits of androgen replacement in desire in this
402 particular group. On the other hand, estradiol levels were positively correlated with arousal in
403 the total sample ($r=0.338$, $p=0.038$), being the strongest association in the O group ($r=0.521$,
404 $p=0.032$) suggesting that proper estrogen replacement is important for sexual response,
405 particularly in the excitement phase. Thus, each hormone could be related to different
406 components of sexual function, to be analyzed together with psychological, cultural and in
407 relationship with partner's aspects, which play a key role in female sexual function and should
408 never be disregarded.

409 Reviewing findings from Mayo Clinic cohort study, which followed bilateral oophorectomy
410 patients and controls along 25 years, Rocca *and co-workers* (60) observed an increased risk of
411 dementia restricted to women who did not receive estrogen therapy, being the potential
412 pathophysiological mechanisms reduced levels of estradiol, progesterone or testosterone,

413 increased release of gonadotropins or association with genetic variants such as APOE or ESR1
414 genes. In our study, we did not found difference in cognition, depression scores or hours of
415 sleep between groups, which excludes confounding factors that could alter the sexual function
416 scores. However, our patients were in adequate estrogen replacement and the study was
417 restricted to recent post menopause, so it is not possible to exclude potential influences of
418 persistent low testosterone levels on mood and on other neurological long-term aspects.

419 One of the strengths of our study is to focus on androgen influences in early postmenopausal
420 women, an important phase yet little explored in the literature. The outcomes we have chosen
421 to study (endothelial dysfunction and inflammatory biomarkers) represent gold standard
422 signals of atherosclerotic process initiation. Also, the great homogeneity between groups O
423 and C, especially in relation to cardiovascular risk factors, constitutes a major advantage.
424 Furthermore, all women were studied under adequate estrogen replacement, so we could
425 analyze, in fact, the isolated effects of low endogenous testosterone levels in
426 oophorectomized women, contributing to the robustness of our findings. In addition, the
427 different assessments we performed, such as hormonal and biochemical measurements, body
428 composition and questionnaires provided a comprehensive review on this subject, as well as
429 unprecedented and unexpected results.

430 Possible limitations of this study are the vulnerability that subjective variables represent, such
431 as quantification of libido, patients inhibition in front of researchers and perhaps, difficult
432 understanding of the questionnaires used, although all questionnaires were validated. In
433 addition, data as time of hypoestrogenism and age of oophorectomy are subject to recall bias.

434 In conclusion, in postmenopausal women subjected to bilateral oophorectomy, compared to
435 controls, all in early post menopause and under proper estrogen replacement, we found low
436 endogenous testosterone levels which were correlated to worse endothelial function, but not
437 with overall sexual function. Thus, from the vascular point of view, the results discussed here

438 justify the need to preserve ovaries in gynecological surgeries; when this is not possible, we
439 question if testosterone replacement at physiological levels would benefit these women.
440 Physiological levels of testosterone during menopause however, may have a limited role in
441 female sexual function. More studies are needed regarding the possible prevention of
442 cardiovascular disease with low doses of testosterone in early post menopause
443 oophorectomized women.

444

445 DECLARATION OF INTEREST

446 The authors declare that they have no competing interests.

447

448 FUNDING

449 This study was supported by grants from the National Research Council of Brazil (CNPq) and
450 the Agency for Financing of the State of Rio de Janeiro (FAPERJ). The funders had no role in
451 study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the
452 manuscript.

453

454 AUTHOR CONTRIBUTIONS

455 CMZR collected the data and wrote the manuscript. RC collected the data and wrote/reviewed
456 the manuscript. EB reviewed/ edited the manuscript. MGCS did the inflammatory biomarkers
457 analysis. All authors read and approved the final manuscript.

458

459 ACKNOWLEDGEMENTS

460 A special thanks to Rita Vasconcellos Weiss MD, from IEDE and Georges Sterblitch MD, from
461 Miguel Couto Hospital for data collection collaboration, to Rosangela Aparecida Martins Noe,
462 MSc in Statistics, from the Federal University of Rio de Janeiro for statistical analysis and to
463 Daniel Alexandre Bottino MD, from BioVasc laboratory, UERJ, for informatics support.

464

465 REFERENCES

466 1 Maturana MA, Irigoyen MC & Spritzer PM. Menopause, estrogens, and endothelial
467 dysfunction: current concepts. *Clinics (São Paulo)* 2007 **62** 77-86.

468 2 Kalantaridou SN, Naka KK, Papanikolaou E, Kazakos N, Kravariti M, Calis KA, Paraskevaidis EA,
469 Sideris DA, Tsatsoulis A, Chrousos GP & Michalis LK. Impaired endothelial function in young
470 women with premature ovarian failure: normalization with hormone therapy. *Journal of*
471 *Clinical Endocrinology and Metabolism* 2004 **89** 3907-3913.

472 3 Caramori PR & Zago A. Disfunção endotelial e doença arterial coronariana. *Arquivos*
473 *Brasileiros de Cardiologia* 2000 **75** 163-172.

474 4 Davison SL, Bell R, Donath S, Montalto JG & Davis SR. Androgen levels in adult females:
475 changes with age, menopause, and oophorectomy. *Journal of Clinical Endocrinology and*
476 *Metabolism* 2005 **90** 3847-3853.

477 5 Keshavarz H, Hillis SD, Kieke BA & Marchbanks PA. Hysterectomy surveillance- United States,
478 1994–1999. *MMWR Surveillance Summaries* 2002 **51** 1-8.

479 6 Mai PL, Wentzensen N & Greene MH. Challenges Related to Developing Serum-based
480 Biomarkers for Early Ovarian Cancer Detection. *Cancer prevention research (Philadelphia,*
481 *Pennsylvania)* 2011 **4** 303–306.

- 482 7 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E & Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer*
483 *Journal for Clinicians* 2011 **61** 69-90.
- 484 8 Wygoda M, Filippo Jr, RB, Gomes MA & Clapauch R. Monitorizando a Terapia de Reposição
485 Estrogênica (TRE) na Menopausa. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia* 1999
486 **43** 336-343.
- 487 9 Friedewald WT, Levy RI & Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density
488 lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical*
489 *Chemistry* 1972 **18** 499-502.
- 490 10 Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF & Turner RC. Homeostasis
491 model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and
492 insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985 **28** 412-419.
- 493 11 Vermeulen A, Verdonck L & Kaufman JM. A critical evaluation of simple methods for the
494 estimation of free testosterone in serum. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*
495 1999 **84** 3666-3672.
- 496 12 Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation.
497 *World Health Organization Technical Report Series* 2000 **894** 1-253.
- 498 13 Bachrach LK. Dual energy X-ray absorptiometry (DEXA) measurements of bone density and
499 body composition: promise and pitfalls. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*
500 2000 **13** 983-988.
- 501 14 Hangartner TN, Warner S, Braillon P, Jankowski L & Shepherd J. The Official Positions of the
502 International Society for Clinical Densitometry: acquisition of dual-energy X ray absorptiometry
503 body composition and considerations regarding analysis and repeatability of measures. *Journal*
504 *of Clinical Densitometry* 2013 **16** 520-536.

- 505 15 Petak S, Barbu CG, Yu EW, Fielding R, Mulligan K, Sabowitz B, Wu CH & Shepherd JA. The
506 Official Positions of the International Society for Clinical Densitometry: body composition
507 analysis reporting. *Journal of Clinical Densitometry* 2013 **16** 508-519.
- 508 16 Kyle UG, Bosaeus I, De Lorenzo AD, Deurenberg P, Elia M, Gómez JM, Heitmann BL, Kent-
509 Smith L, Melchior JC, Pirllich M, Scharfetter H, Schols AM & Pichard C. Composition of the
510 ESPEN Working Group. Bioelectrical impedance analysis - part I: review of principles and
511 methods. *Clinical Nutrition* 2004 **23** 1226-1243.
- 512 17 Thiel RRC, Dambros M, Palma PCR, Thiel M, Riccetto CLZ & Ramos MdeF. Translation into
513 Portuguese, cross-national adaptation and validation of the Female Sexual Function Index.
514 *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetria* 2008 **30** 504-10.
- 515 18 Rosen R, Brown C, Heiman J, Leiblum S, Meston C, Shabsigh R, Ferguson D & D'Agostino R
516 Jr. The Female Sexual Function Index (FSFI): a multidimensional self-report instrument for the
517 assessment of female sexual function. *Journal of Sex & Marital Therapy* 2000 **26** 191-208.
- 518 19 Wiegel M, Meston C, & Rosen R. The female sexual function index (FSFI): cross-validation
519 and development of clinical cutoff scores. *Journal of Sex & Marital Therapy* 2005 **31** 1-20.
- 520 20 Beck AT, Ward CH, Mendelsom M & Mock J. An inventory for measuring depression.
521 *Archives of General Psychiatry* 1961 **4** 561-571.
- 522 21 Folstein MF, Folstein SE & McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading
523 the cognitive state of patients for the clinician. *Journal of Psychiatric Research* 1975 **12** 189-
524 198.
- 525 22 Alomari MA, Solomito A, Reyes R, Khalil, SM, Wood RH & Welsch MA. Plethysmography:
526 Technical Considerations, Standardization and Physiological Findings. *American Journal of*
527 *Physiology- Heart and Circulatory Physiology* 2004 **286** 99-107.

- 528 23 Vita JA & Keaney JF. Endothelial function: a barometer for cardiovascular risk? *Circulation*
529 2002 **106** 640-642.
- 530 24 The World Health Report 2004: Changing History. Geneva, World Health Organization 2004.
- 531 25 Clapauch R, Mecnas AS, Maranhão PA & Bouskela E. Early postmenopausal women with
532 cardiovascular risk factors improve microvascular dysfunction after acute estradiol
533 administration. *Menopause* 2012 **19** 672-679.
- 534 26 Joannides R, Haefeli WE, Linder L, Richard V, Bakkali EH, Thuillez C & Lüscher TF. Nitric oxide
535 is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo.
536 *Circulation* 1995 **91** 1314-1319.
- 537 27 Oliver JJ & Webb DJ. Noninvasive assessment of arterial stiffness and risk of atherosclerotic
538 events. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology* 2003 **23** 554-566.
- 539 28 Allison MA, Manson JE, Langer RD, Carr JJ, Rossouw JE, Pettinger MB, Phillips L, Cochrane
540 BB, Eaton CB, Greenland P, Hendrix S, Hsia J, Hunt JR, Jackson RD, Johnson KC, Kuller LH &
541 Robinson J. Women's Health Initiative and Women's Health Initiative Coronary Artery Calcium
542 Study Investigators. Oophorectomy, hormone therapy, and subclinical coronary artery disease
543 in women with hysterectomy: the Women's Health Initiative coronary artery calcium study.
544 *Menopause* 2008 **15** 639-647.
- 545 29 Dørum A, Tonstad S, Liavaag AH, Michelsen TM, Hildrum B & Dahl AA. Bilateral
546 oophorectomy before 50 years of age is significantly associated with the metabolic syndrome
547 and Framingham risk score: a controlled, population-based study (HUNT-2). *Gynecologic*
548 *Oncology* 2008 **109** 377-383.

- 549 30 Montalcini T, Gorgone G, Gazzaruso C, Sesti G, Perticone F & Pujia A. Endogenous
550 testosterone and endothelial function in postmenopausal women. *Coronary Artery Disease*
551 2007 **18** 9-13.
- 552 31 Worboys S, Kotsopoulos, Teede H, McGrath B & David SR. Evidence that parenteral
553 testosterone therapy may improve endothelium-dependent and independent vasodilatation in
554 postmenopausal women already receiving estrogen. *Journal of Clinical Endocrinology and*
555 *Metabolism* 2001 **88** 158-161.
- 556 32 Wu FCW & von Eckardstein A. Androgens and Coronary Artery Disease. *Endocrine Reviews*
557 **2003** 24 183-217.
- 558 33 Harada N, Sasano H, Murakami H, Ohkuma T, Nagura H & Takagi Y. Localized expression of
559 aromatase in human vascular tissues. *Circulation Research* 1999 **84** 1285-1291.
- 560 34 Studd J. Variations on hormone replacement therapy: an answer to the 'one dose fits all'
561 Women's Health Initiative study. *Gynecological Endocrinology* 2007 **23** 665-671.
- 562 35 Davison SL, Bell R, Donath S, Montalto JG & Davis SR. Androgen levels in adult females:
563 changes with age, menopause, and oophorectomy. *Journal of Clinical Endocrinology and*
564 *Metabolism* 2005 **90** 3847-3853.
- 565 36 Laughlin GA, Barrett-Connor E, Kritz-Silverstein D & von Mühlen D. Hysterectomy,
566 oophorectomy, and endogenous sex hormone levels in older women: the Rancho Bernardo
567 Study. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2000 **85** 645-651.
- 568 37 Fogle RH, Stanczyk FZ, Zhang X & Paulson RJ. Postmenopausal Ovarian Androgen
569 Production. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2007 **92** 3040-3043.

- 570 38 Couzinet B, Meduri G, Lecce MG, Young J, Brailly S, Loosfelt H, Milgrom E & Schaison G. The
571 postmenopausal ovary is not a major androgen producing gland. *Journal of Clinical*
572 *Endocrinology and Metabolism* 2001 **86** 5060-5066.
- 573 39 Lasley BL, Crawford SL, Laughlin GA, Santoro N, McConnell DS, Crandall C, Greendale GA,
574 Polotsky AJ & Vug M. Circulating dehydroepiandrosterone sulfate levels in women who
575 underwent bilateral salpingo-oophorectomy during the menopausal transition. *Menopause*
576 2011 **18** 494-498.
- 577 40 McConnell DS, Stanczyk FZ, Sowers MR, Randolph JF Jr & Lasley BL. Menopausal Transition
578 Stage-Specific Changes in Circulating Adrenal Androgens. *Menopause* 2012 **19** 658-663.
- 579 41 Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de Orçamentos Familiares
580 2008/2009: antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil.
581 Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística; 2010.
- 582 42 McCarthy AM, Menke A & Visvanathan K. Association of bilateral oophorectomy and body
583 fatness in a representative sample of US women. *Gynecologic Oncology* 2013 **129** 559-564.
- 584 43 Chalvatzas N, Dafopoulos K, Kosmas G, Kallitsaris A, Pournaras S & Messinis IE. Effect of
585 ovarian hormones on serum adiponectin and resistin concentrations. *Fertility and Sterility*
586 2009 **91** 1189-1194.
- 587 44 Clemmons DR. Physiology of Insuline-like Growth Factor- 1
588 (<http://www.uptodate.com/contents/physiology-of-insulin-like-growth-factor-i>). Accessed in
589 16 november 2014.
- 590 45 Birzniece V, Umpleby MA, Poljak A, Handelsman DJ & Ho KK. Oral low-dose testosterone
591 administration induces whole-body protein anabolism in postmenopausal women: a novel
592 liver-targeted therapy. *European Journal of Endocrinology* 2013 **169** 321-327.

- 593 46 Sculthorpe N, Solomon AM, Sinanan AC, Bouloux PM, Grace F & Lewis MP. Androgens affect
594 myogenesis in vitro and increase local IGF-1 expression. *Medicine & Science in Sports &*
595 *Exercise* 2012 **44** 610-615.
- 596 47 Cybulsky MI, Iiyama K, Li H, Zhu S, Chen M, Iiyama M, Davis V, Gutierrez-Ramos JC, Connelly
597 PW & Milstone DS. A major role for VCAM1, but not ICAM1, in early atherosclerosis. *The*
598 *Journal of Clinical Investigation* 2001 **107** 1255-1262.
- 599 48 Libby P, Ridker PM & Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002 **105**
600 1135-1143.
- 601 49 Mukherjee TK, Dinh H, Chaudhuri G & Nathan L. Testosterone attenuates expression of
602 vascular cell adhesion molecule-1 by conversion to estradiol by aromatase in endothelial cells:
603 Implications in atherosclerosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United*
604 *States of America* 2002 **99** 4055-4060.
- 605 50 West SL, D, Aloisio AA, Agans RP, Kalsbeek WD, Borisov NN & Thorp JM. Prevalence of Low
606 Sexual Desire and Hypoactive Sexual Desire Disorder in a Nationally Representative Sample of
607 US Women. *Archives of Internal Medicine* 2008 **168** 1441-1449.
- 608 51 Buster JE, Kingsberg SA, Aguirre O, Brown C, Breaux JG, Buch A, Rodenberg CA, Wekselman
609 K & Casson P. Testosterone patch for low sexual desire in surgically menopausal women: a
610 randomized trial. *Obstetrics & Gynecology* 2005 **105** 944-952.
- 611 52 Simon J, Braunstein G, Nachtigall L, Utian W, Katz M, Miller S, Waldbaum A, Bouchard C,
612 Derzko C, Buch A, Rodenberg C, Lucas J & Davis S. Testosterone patch increases sexual activity
613 and desire in surgically menopausal women with hypoactive sexual desire disorder. *Journal of*
614 *Clinical Endocrinology and Metabolism* 2005 **90** 5226-5233.

615 53 Braunstein GD, Sundwall DA, Katz M, Shifren JL, Buster JE, Simon JA, Bachman G, Aguirre
616 OA, Lucas JD, Rodenberg C, Buch A & Watts NB. Safety and efficacy of a testosterone patch for
617 the treatment of hypoactive sexual desire disorder in surgically menopausal women: a
618 randomized, placebo-controlled trial. *Archives of Internal Medicine* 2005 **165** 1582-1589.

619 54 Davis SR, van der Mooren MJ, van Lunsen RHW, Lopes P, Ribot C, Rees M, Moufarege A,
620 Rodenberg C, Buch A & Purdie DW. Efficacy and safety of a testosterone patch for the
621 treatment of hypoactive sexual desire disorder in surgically menopausal women: a
622 randomized, placebo-controlled trial. *Menopause* 2006 **13** 387-396.

623 55 Shifren JL, Braunstein GD, Simon JA, Casson PR, Buster JE, Redmond GP, Burki RE, Ginsburg
624 ES, Rosen RC, Leiblum SR, Caramelli KE & Mazer NA. Transdermal testosterone treatment in
625 women with impaired sexual function after oophorectomy. *New England Journal of Medicine*
626 2000 **343** 682-688.

627 56 Erekson EA, Martin DK, Zhu K, Ciarleglio MM, Patel DA, Guess MK & Ratner ES. Sexual
628 function in older women after oophorectomy. *Obstetrics & Gynecology* 2012 **120** 833-842.

629 57 Turna B, Apaydin E, Semerci B, Altay B, Cikili N & Nazli O. Women with low libido:
630 correlation of decreased androgen levels with female sexual function index. *International*
631 *Journal of Impotence Research* 2005 **17** 148-153.

632 58 Davis SR, Davison SL, Donath S & Bell RJ. Circulating androgen levels and self-reported
633 sexual function in women. *The Journal of the American Medical Association* 2005 **294** 91-96.

634 59 Davey, DA. Androgens in women before and after the menopause and post bilateral
635 oophorectomy: clinical effects and indications for testosterone therapy. *Women's Health*
636 *(London England)* 2012 **8** 437-446.

637 60 Rocca WA, Shuster LT, Grossardt BR, Maraganore DM, Gostout BS, Geda YE & Melton LJ
638 3rd. Long-term effects of bilateral oophorectomy on brain aging: Unanswered questions from
639 the Mayo Clinic Cohort Study of Oophorectomy and Aging. *Women's Health (London England)*
640 2009 5 39-48.

641

642 FIGURE LEGENDS

643

644 FIGURE 1 Venous occlusion plethysmography results between groups

645 * $p < 0.05$ by Mann-Whitney test

646 BH, baseline flow; RHF, reactive hyperemia flow; RNF reactive nitroglycerine flow

647

648 FIGURE 2 Correlations of testosterone levels with venous occlusion plethysmography results

649 r_s Spearman correlation coefficient; p descriptive level

650 2A) BH1, baseline flow 1; 2B) RHF, reactive hyperemia flow; 2C) BH2, baseline flow 2; 2D) RNF,

651 reactive nitroglycerine flow

652

653 FIGURE 3 Female Sexual Function (FSFI) domains and full-scale scores between groups

654 * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ by Mann-Whitney test

655

656 FIGURE 4 Correlations of total testosterone levels with inflammatory biomarkers

657 rs Spearman correlation coefficient; p descriptive level

658 4A) IGF1; 4B) sVCAM1

For Review Only

TABLE 1 Clinical, hormonal and biochemical features of the groups. Data are presented as means \pm SD.

	Group O	Group C	p value*
Age (years)	53.0 \pm 4.9	53.1 \pm 4.3	0.89 ^a
Education (years)	7.78 \pm 2.79	9.00 \pm 2.83	0.028
Estradiol gel used dose (mg)	1.23 \pm 0.4	1.07 \pm 0.25	0.023
Age of menopause (years)	46.0 \pm 6.0	48.0 \pm 3.5	0.097
Months of hypoestrogenism	32.7 \pm 39.0	41.5 \pm 34.3	0.046
Age of HT start (years)	48.6 \pm 6.4	51.2 \pm 3.5	0.029
Months of HT	55.2 \pm 61.6	20.4 \pm 35.5	0.015
BMI (kg/m ²)	29.1 \pm 5.4	29.9 \pm 6.1	0.90
Waist circumference (cm)	92.7 \pm 10.9	94.3 \pm 12.2	0.71
Waist-hip ratio	0.878 \pm 0.072	0.873 \pm 0.064	0.73 ^a
sBP (mmHg)	125.2 \pm 13.6	124.4 \pm 15.4	0.82
dPB (mmHg)	74.8 \pm 7.5	75.4 \pm 9.3	0.86
Estradiol (pg/ml)	66.4 \pm 49.6	66.0 \pm 61.0	0.65
Estrone (pg/ml)	105.1 \pm 52.3	107.9 \pm 69.8	0.76
Androstenedione (pg/ml)	886.2 \pm 786.3	1017.3 \pm 662.3	0.12
FSH (mIU/ml)	47.3 \pm 21.6	47.8 \pm 31.4	0.48
Total T (ng/dl)	13.8 \pm 14.4	27.0 \pm 19.4	0.001
Free calculated T (ng/dl)	0.189 \pm 0.22	0.380 \pm 0.292	0.001
Bioavailable T (ng/dl)	4.47 \pm 5.03	10.21 \pm 10.37	0.001
SHBG (nmol/l)	56.7 \pm 27.3	55.5 \pm 29.8	0.73
DHEAS (μ g/dl)	75.3 \pm 51.7	90.1 \pm 51.0	0.15
Total cholesterol (mg/dl)	214.0 \pm 39.0	205.7 \pm 37.5	0.33 ^a
HDL-cholesterol (mg/dl)	67.7 \pm 22.5	64.3 \pm 18.0	0.79
LDL-cholesterol (mg/dl)	119.4 \pm 38.4	118.1 \pm 31.6	0.87
Triglycerides (mg/dl)	124.6 \pm 57.8	116.7 \pm 66.9	0.32
Fasting glucose (mg/dl)	97.1 \pm 10.7	92.5 \pm 10.7	0.056 ^a
Insulin (mIU/ml)	7.97 \pm 3.87	8.23 \pm 6.33	0.75
HOMA IR	1.94 \pm 0.99	1.99 \pm 1.73	0.56

*P<0.05 by Student's t test^a or Mann-Whitney test.

HT, hormone therapy; BMI, body mass index; sBP, systolic blood pressure; dBP, diastolic blood pressure; T, testosterone.

Reference values: Estradiol <55 pg/ml (post menopause) and >45 pg/ml (under HT); Estrone 10-60 pg/ml; Androstenedione 300-3700 pg/ml; FSH >25.8 mIU/ml (post menopause) and 3.5 – 12.5 mIU/ml

(under HT); Total T 3-63 ng/dl; Free calculated T 0.01-1.07 ng/dl; Bioavailable T 4.4-39 ng/dl; SHBG 16-76 nmol/l; DHEAS 35-331 µg/dl (45-54 years old women), 19-295 µg/dl (55-64 years old women).

For Review Only

TABLE 2 Correlations of testosterone levels with venous occlusion plethysmography results, IGF1 and sVCAM1 levels. Data are presented as means \pm SD.

		BF1	RHF	BF2	RNF	IGF1 (ng/ml)	sVCAM1 (ng/ml)
Total testosterone (nmol/l)	r_s	0.235	0.184	0.233	0.312	0.290	-0.320
	p	0.034	0.10	0.036	0.004	0.013	0.005
Free calculated testosterone	r_s	0.206	0.144	0.227	0.311	0.365	-0.344
	p	0.064	0.20	0.041	0.005	0.001	0.002
Bioavailable testosterone	r_s	0.205	0.148	0.219	0.299	0.387	-0.357
	p	0.067	0.19	0.049	0.007	0.0007	0.002

r_s , Spearman correlation coefficient; p descriptive level

BH, baseline flow rates; RHF, reactive hyperemia flow; RNF, reactive nitroglycerine flow (all expressed in ml/min/100 ml tissue)

TABLE 3 Comparisons of body fat distribution and composition between groups, by anthropometric measurements, bioimpedance and DEXA. Data are presented as means \pm SD.

	Group O	Group C	p value*
BMI (kg/m ²)	29.1 \pm 5.4	29.9 \pm 6.1	0.90
Waist circumference (cm)	92.7 \pm 10.9	94.3 \pm 12.2	0.71
Waist-hip ratio	0.878 \pm 0.072	0.873 \pm 0.064	0.73
Bioimpedance			
LM (kg)	46.1 \pm 6.9	46.7 \pm 7.6	0.95
FM (kg)	26.9 \pm 8.7	27.4 \pm 8.7	0.90
LM (%)	63.9 \pm 5.1	62.9 \pm 6.8	0.62
FM (%)	36.1 \pm 5.1	36.4 \pm 5.1	0.71
DEXA			
Android fat tissue (kg)	47.8 \pm 7.8	49.3 \pm 7.6	0.22
Gynoid fat tissue (kg)	46.3 \pm 5.6	47.2 \pm 5.7	0.35
Total fat tissue (kg)	43.5 \pm 5.7	44.0 \pm 5.8	0.51
Total fat tissue (kg)	31.181 \pm 9.274	31.987 \pm 9.725	0.81
Total lean tissue (kg)	39.451 \pm 6.024	39.480 \pm 5.977	0.78
A/G	1.04 \pm 0.14	1.04 \pm 0.12	0.90 ³

*p <0.05 by Student's t test³ or Mann-Whitney test.

BMI, body mass index; LM, lean mass; FM, fat mass; A/G, android/ gynoid fat tissue.

TABLE 4 Libido, hot flashes, sleep, Female Sexual Function Index (FSFI) domains and full score, Beck Depression Inventory and Mini Mental scores. Data are presented as means \pm SD.

	Group O	Group C	p value*
Libido (0-10)	5.42 \pm 3.34	4.62 \pm 3.18	0.33
Hot flashes (0-10)	2.28 \pm 1.86	2.29 \pm 1.91	0.95
Hours of sleep	6.22 \pm 1.77	6.20 \pm 1.32	0.62
FSFI desire	2.98 \pm 1.32	2.81 \pm 1.20	0.66
FSFI pain	4.58 \pm 1.81	2.65 \pm 2.32	0.005
FSFI arousal	3.68 \pm 1.07	2.91 \pm 1.22	0.079
FSFI lubrication	4.63 \pm 1.02	3.36 \pm 1.66	0.012
FSFI orgasm	4.38 \pm 1.08	3.37 \pm 1.77	0.086
FSFI satisfaction	4.31 \pm 1.59	3.16 \pm 1.84	0.042
FSFI total	25.3 \pm 5.7	18.4 \pm 7.3	0.003
Beck	12.5 \pm 9.3	12.5 \pm 6.2	0.48
Mini Mental	26.6 \pm 2.2	27.1 \pm 2.2	0.34

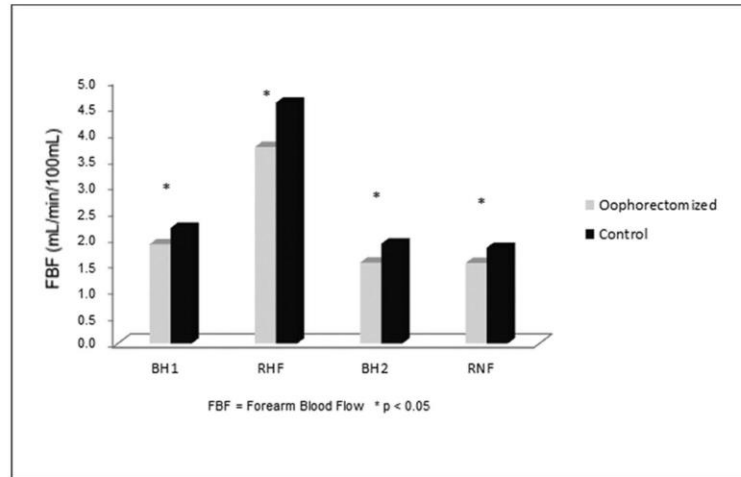
*p <0.05 by Mann-Whitney test.

TABLE 5 Bio inflammatory markers. Data are presented as means \pm SD.

	Group O	Group C	p value*
Adiponectin ($\mu\text{g/ml}$)	26.87 \pm 18.82	36.15 \pm 54.78	0.68
Lipocalin2 (ng/ml)	92.56 \pm 33.59	86.88 \pm 19.50	0.79
Resistin (ng/ml)	28.13 \pm 10.44	26.50 \pm 10.90	0.37
Adipsin ($\mu\text{g/ml}$)	3.25 \pm 1.09	3.24 \pm 6.79	0.41
PAI1 (ng/mL)	52.90 \pm 18.49	54.31 \pm 18.86	0.82
IGF1 (ng/ml)	76.85 \pm 24.53	79.24 \pm 15.98	0.39
IGF2 (ng/dl)	289.02 \pm 79.97	308.10 \pm 114.36	0.51
GDF15 (ng/ml)	0.835 \pm 0.324	0.997 \pm 0.688	0.28
Myoglobin (ng/ml)	52.4 \pm 20.3	44.1 \pm 16.8	0.066
MPO (ng/ml)	31.6 \pm 10.4	34.0 \pm 22.5	0.41
P selectin (ng/ml)	237 \pm 153	231 \pm 164	0.70
sVCAM1 (ng/ml)	729 \pm 165	674 \pm 112	0.11

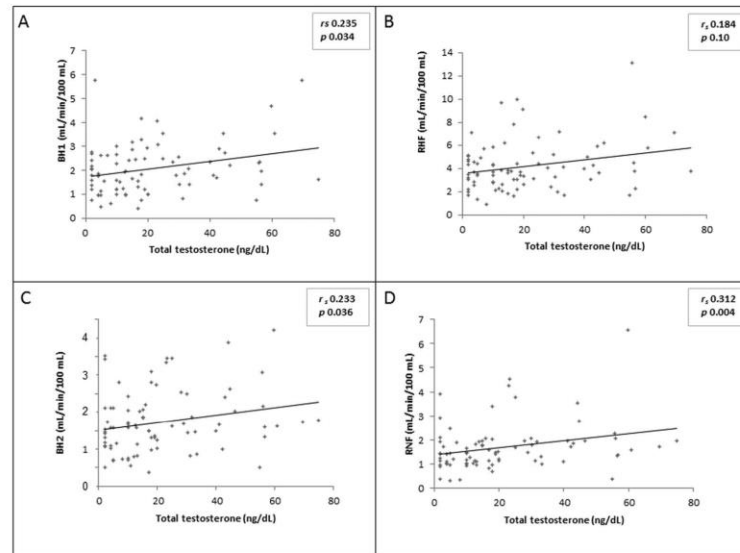
* p < 0.05 by Mann-Whitney test.

PAI1, Plasminogen Activator Inhibitor-1; IGF1/ IGF2, Insulin- like Growth Factor-1 /2; GDF15, Growth differentiation factor 15; MPO, myeloperoxidase; P selectin, platelet selectin; sVCAM1 soluble vascular cell adhesion molecule-1.



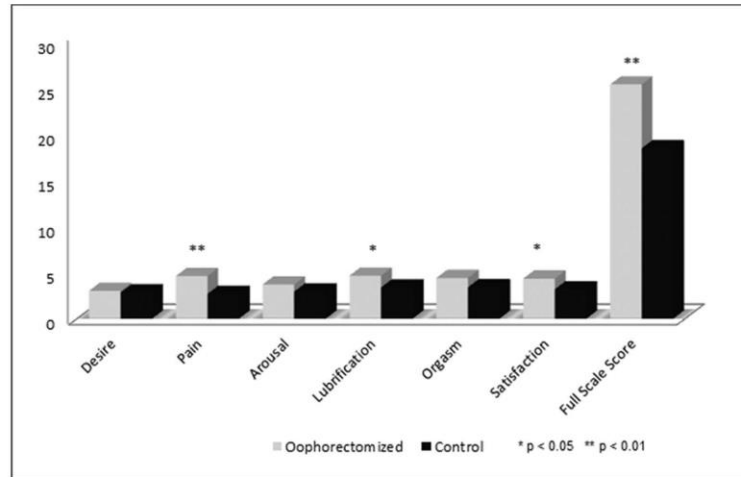
*p < 0.05 by Mann-Whitney test

BH, baseline flow; RHF, reactive hyperemia flow; RNF reactive nitroglycerine flow
69x44mm (300 x 300 DPI)

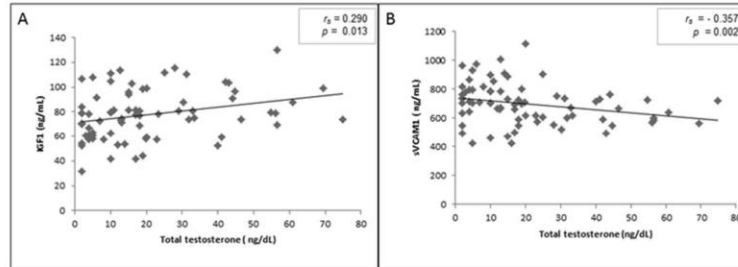


r_s Spearman correlation coefficient; p descriptive level
2A) BH1, baseline flow 1; 2B) RHF, reactive hyperemia flow; 2C) BH2, baseline flow 2; 2D) RNF, reactive nitroglycerine flow
117x88mm (300 x 300 DPI)

Only



*p < 0.05 **p < 0.01 by Mann-Whitney test
69x44mm (300 x 300 DPI)



r_s Spearman correlation coefficient; p descriptive level
4A) IGF1; 4B) sVCAM1

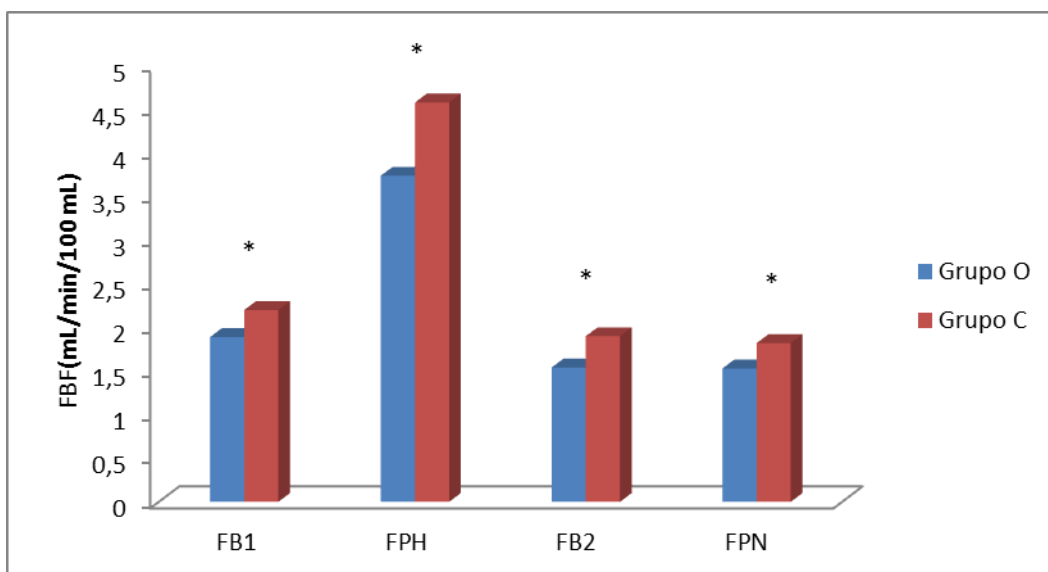
60x21mm (300 x 300 DPI)

Review Only

3 DISCUSSÃO

Neste estudo demonstramos que, mesmo na menopausa recente e mediante adequada reposição estrogênica, mulheres O apresentaram sinais consistentes de DE associados a níveis significativamente menores de T endógena, comparadas a mulheres com os dois ovários (Figura 1 e Tabela 1). Este fenômeno pôde ser observado por pletismografia tanto no basal quanto na vasodilatação endotélio dependente estimulada pela hiperemia reativa e na vasodilatação endotélio independente provocada pela nitroglicerina sublingual, o que reflete, respectivamente, uma menor produção ou bioatividade do NO (Joannides *et al*, 1995) associada a uma maior rigidez da parede arterial em O (Oliver & Webb, 2003).

Figura 1 - Resultados da pletismografia de oclusão venosa



Legenda: *p < 0.05 pelo teste de Mann-Whitney

FBF, fluxo arterial no antebraço; FB1 e 2, fluxo basal 1 e 2; FPH, fluxo pós hiperemia; FPN fluxo pós nitroglicerina

Tabela 1 - Correlação dos níveis de testosterona com os parâmetros da pletismografia de oclusão venosa

Variável		FB1	FPH	FB2	FPN
T total	r_s	0,235	0,184	0,233	0,312
	p	0,034	0,10	0,036	0,004
T livre calculada	r_s	0,206	0,144	0,227	0,311
	p	0,064	0,20	0,041	0,005
T biodisponível	r_s	0,205	0,148	0,219	0,299
	p	0,067	0,19	0,049	0,007

Legenda: r_s : coeficiente de correlação de Spearman; p : nível descritivo.

FB1 e 2, fluxo basal 1 e 2; FPH, fluxo pós hiperemia; FPN fluxo pós nitroglicerina

No WHI, O apresentaram maior risco de DCV (Allison *et al*, 2008). Estudos populacionais incluindo menopausadas até 69 anos também descreveram maior risco CV nas mulheres que sofreram ooforectomia bilateral antes dos 50 anos (Dørum *et al*, 2008). Em nosso estudo, 26 das 35 O foram submetidas à ooforectomia bilateral antes dos 50 anos. A DE associada a baixos níveis de T pode constituir um sinal precoce deste risco. Concordando com nossos achados, Montalcini *et al* (2007), descreveram correlação positiva dos níveis séricos de T em 60 mulheres menopausadas com os valores de vasodilatação mediada por fluxo, avaliados por Doppler de artéria braquial ($\beta=0,277$). Além disso, Worboys *et al*, 2001, em estudo realizado com 33 mulheres menopausadas (sem menção a terem feito ooforectomia), encontrou aumento da vasodilatação endotélio dependente e independente após uso, associado à terapia estro-progestogênica, de implante de T subcutâneo de 50 mg por 6 semanas.

Os mecanismos vasculares e celulares pelos quais a T regularia o tônus vascular ainda não estão bem compreendidos. A reatividade vascular poderia ser diretamente mediada pelo receptor androgênico ou ser consequência da aromatização da T nas células musculares lisas das artérias em E e este ativaria, de forma parácrina, a eNOS por uma via não-genômica (Wu & Eckardstein, 2003). Isto porque a aromatase, presente na camada muscular lisa das artérias, não foi identificada em células endoteliais humanas (Harada *et al*, 1999). Nossos resultados mostraram que os níveis de E séricos em O e C não foram estatisticamente diferentes, mesmo com O necessitando de doses maiores de preparação tópica de E para compensação dos sintomas climatéricos (Studd, 2007).

Tabela 2 - Características clínicas, bioquímicas e hormonais das pacientes estudadas

Variável	Grupo O			Grupo C			p valor*
	média	DP	mediana	média	DP	mediana	
Idade	53,0	4,9	53	53,1	4,3	53	0,89 ^a
Escolaridade (anos)	7,78	2,79	8	9,00	2,83	11	0,028
Dose de estradiol percutânea (mg)	1,23	0,4	1,5	1,07	0,25	1	0,023
Idade da menopausa (anos)	46,0	6,0	47	48,0	3,5	48	0,097
Tempo de hipostrogenismo (meses)	32,7	39,0	12	41,5	34,3	36	0,046
Início TH (idade)	48,6	6,4	49	51,2	3,5	51	0,029
Tempo de TH (meses)	55,2	61,6	24	20,4	35,5	1	0,015
IMC (kg/m ²)	29,1	5,4	27,6	29,9	6,1	28,0	0,90
CA (cm)	92,7	10,9	93,3	94,3	12,2	93	0,71
Relação cintura-quadril	0,878	0,072	0,881	0,873	0,064	0,878	0,73 ^a
PAS (mmHg)	125,2	13,6	127,5	124,4	15,4	127	0,82
PAD (mmHg)	74,8	7,5	74,5	75,4	9,3	76	0,86
Estradiol (pg/ml)	66,4	49,6	59,1	66,0	61,0	51,0	0,65
Estrona (pg/ml)	105,1	52,3	85	107,9	69,8	94	0,76
Androstenediona (pg/ml)	886,2	786,3	569	1017,3	662,3	800	0,12
FSH (mUI/ml)	47,3	21,6	51,2	47,8	31,4	40,1	0,48
Testosterona total (ng/dl)	13,8	14,4	11	27,0	19,4	23	0,001
Testosterona livre calculada	0,189	0,220	0,1355	0,380	0,292	0,350	0,001
Testosterona biodisponível	4,47	5,03	3,21	10,21	10,37	8,2	0,001
SHBG (nmol/ml)	56,7	27,3	54,85	55,5	29,8	52,7	0,73
DHEAS (µg/dl)	75,3	51,7	56,5	90,1	51,0	92	0,15
Colesterol total (mg/dl)	214,0	39,0	212	205,7	37,5	203	0,33
HDL colesterol (mg/dl)	67,7	22,5	60,7	64,3	18,0	62	0,79
LDL colesterol (mg/dl)	119,4	38,4	115	118,1	31,6	115,7	0,87
Triglicerídeos (mg/dl)	124,6	57,8	114	116,7	66,9	103	0,32
Glicemia jejum (mg/dl)	97,1	10,7	96	92,5	10,7	91,5	0,056 ^a
HOMA IR	1,94	0,99	1,76	1,99	1,73	1,73	0,56

Legenda: *p<0.05 pelo teste t de Student^a ou Mann-Whitney.

TH, terapia hormonal; CA, circunferência abdominal; IMC, índice de massa corporal; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; T, testosterona.

Nota: Valores de referência: Estradiol <55 pg/ml (pós-menopausa) e >45 pg/ml (sob TH); Estrona 10-60 pg/ml; Androstenediona 300-3700 pg/ml; FSH >25.8 mUI/ml (pós-menopausa) e 3.5 – 12.5 mUI/ml (sob HT); T total 3-63 ng/dl; T livre calculada 0.01-1.07 ng/dl; T biodisponível 4.4-39 ng/dl; SHBG 16-76 nmol/l; DHEAS 35-331 µg/dl (para mulheres de 45-54 anos), 19-295 µg/dl (para mulheres de 55-64 anos).

Da mesma forma, a despeito do tempo de hipoestrogenismo inferior às C, conferido pelo início mais precoce da reposição hormonal nas O, a resposta vascular das mesmas foi pior. Ainda, os grupos foram comparáveis, em fatores de risco CV clássicos, como idade, IMC, circunferência abdominal, glicose, lípidos e níveis de pressão arterial. No grupo O, 41,6 % das mulheres eram hipertensas controladas e no grupo C, 17,7%. Os grupos foram semelhantes na prevalência de glicemia de jejum alterada (30,5% em O e 28,8% em C) e apresentaram risco cardiovascular < 4 % em 10 anos, calculado através do escore de Framingham. Em estudo de Clapauch *et al*, 2012, mulheres hipertensas e diabéticas com escore de Framingham < 10% na pós menopausa recente apresentaram recuperação da função endotelial após tratamento com estradiol nasal, o que poderia justificar a homogeneidade vascular, para os fatores acima, dos grupos avaliados neste estudo, que estavam sob reposição de estradiol percutâneo. A DE nas O, portanto, parece refletir os baixos níveis de T endógenos, única diferença evidente entre os grupos (Tabela 2). Estes dados sugerem a importância da T para adequada função vascular na fase inicial da menopausa.

Outros andrógenos não mostraram alterações importantes entre os grupos neste estudo. A queda evidente de andrógenos em O foi representada pelos menores níveis de T total, livre e biodisponível, enquanto o DHEAS e a ANDR, de origem adrenal e mista (ovariana e adrenal), respectivamente não mostraram alterações importantes em relação ao grupo C. Nosso resultado foi semelhante ao descrito por Davison *et al*, 2005, segundo o qual, mulheres O de 55 a 64 anos apresentaram, comparadas a C, níveis de T total de 10,95 ($\pm 7,49$) ng/dl vs. 19,02 ($\pm 11,53$) ng/dl enquanto os níveis de SDHEA e de ANDR não diferiram entre os grupos. No Rancho Bernardo Study (Laughlin *et al*, 2000) em mulheres de 50 a 89 anos, após ajuste para idade e IMC, observou-se redução de 40% na T total e biodisponível nas mulheres com ooforectomia bilateral comparadas às C. Mais recentemente, Fogle *et al*, 2007, através de amostras coletadas de veia ovariana e periférica de mulheres antes, durante e após histerectomia com ooforectomia bilateral demonstraram que os ovários na pós-menopausa apresentavam produção significativa de T mesmo após 10 anos de menopausa natural, possivelmente mediada pelo estímulo dos altos níveis de LH na teca ovariana.

Em conjunto, estes resultados refutam a hipótese mais antiga de Couzinet *et al*, 2001, de que os ovários climatéricos são incapazes de sintetizar androgênios de maneira adequada, e, portanto, poderiam ser extirpados profilaticamente sem danos maiores às mulheres, já que as adrenais supririam suas funções. Atualmente, os estudos estão direcionados mais à inter-relação e à interdependência das duas glândulas, tendo sido observado um aumento de DHEAS na transição menopáusicas tanto em O quanto em mulheres com os dois ovários que

não se submeteram à reposição hormonal, descrito por Lasley *et al*, 2011 e McConell *et al*, 2012. Contudo, como demonstrado em nosso estudo, os menores níveis de T evidentes em O comparadas à C, detectados por métodos laboratoriais cada vez mais sensíveis, se associaram de forma negativa na função endotelial, mesmo admitindo que possam ocorrer aumentos compensatórios de outros andrógenos por um possível efeito modulatório pelas adrenais na pós-menopausa.

A amostra estudada apresentou média de IMC de $29,6 \pm 5,7$ Kg/ m², que representa a média de IMC da população feminina brasileira nesta idade (IBGE, 2010). Os grupos O e C não diferiram em relação ao IMC, circunferência abdominal e relação cintura-quadril, e também não diferiram nas avaliações de composição corporal tanto pelo método de bioimpedância quanto por DEXA (Tabela 3). Estes dados reforçam que os efeitos endoteliais que observamos não foram devidos a alterações da composição corporal ou secundários à resistência insulínica (como observado pelo HOMA IR, que foi similar entre os grupos).

Tabela 3 - Distribuição e composição da gordura corporal (medidas antropométricas, bioimpedância e DEXA)

Variável	Grupo O			Grupo C			p valor*
	Média	DP	mediana	média	DP	Mediana	
IMC (kg/m ²)	29,1	5,4	27,6	29,9	6,1	28,0	0,90
CA (cm)	92,7	10,9	93,3	94,3	12,2	93	0,71
Relação cintura-quadril	0,878	0,072	0,881	0,873	0,064	0,878	0,73
Bioimpedância							
MM (kg)	46,1	6,9	46,4	46,7	7,6	44,6	0,95
MG (kg)	26,9	8,7	25,5	27,4	8,7	26,1	0,90
MM (%)	63,9	5,1	63,5	62,9	6,8	62,8	0,62
MG (%)	36,1	5,1	36,5	36,4	5,1	37,2	0,71
DEXA							
Tecido gordo andróide	47,8	7,8	48,15	49,3	7,6	49,8	0,22
Tecido gordo ginóide	46,3	5,6	46,85	47,2	5,7	48,6	0,35
Tecido gordo total (kg)	43,5	5,7	43,15	44,0	5,8	45,0	0,51
Tecido gordo total (kg)	31,181	9,274	30,569	31,987	9,725	30,022	0,81
Tecido magro total (kg)	39,451	6,024	39,942	39,480	5,977	37,667	0,78
A/G	1,04	0,14	1,05	1,04	0,12	1,05	0,90 ^a

Legenda: *p<0,05 pelo teste t de Student^a ou de Mann-Whitney.

IMC, índice de massa corporal; CA circunferência abdominal; MM massa magra, MG massa gorda, A/G relação tecido gordo andróide/ginóide

Contudo, McCarty *et al*, 2013, ao examinar mulheres O com idade superior a 40 anos provenientes do NHANES III (National Health and Nutrition Examination Survey), observaram que a massa gorda avaliada por bioimpedância, pregas cutâneas, circunferência abdominal e IMC foram significativamente maiores apenas nas mulheres submetidas à ooforectomia antes dos 40 anos. Associações ainda mais fortes foram encontradas naquelas que não fizeram reposição hormonal. Estes resultados não são comparáveis aos que encontramos, uma vez que toda nossa amostra estava em reposição estrogênica e o tempo de hipoestrogenismo total foi menor nas O, comparadas às C com os ovários. Mas em conjunto sugerem que os baixos níveis de estrógenos, particularmente em O antes dos 40 anos, são mais determinantes da composição corporal que os baixos níveis de T endógena. A análise combinada dos dois estudos pode sugerir que a adiposidade na pós-menopausa correlaciona-se mais aos níveis de E que à diferença nos níveis de T, sendo estes fisiológicos como na menopausa natural ou baixos, como observado nas O. O contrário sabidamente ocorre com a composição corporal em situações onde há níveis supra-fisiológicos de T como na síndrome dos ovários policísticos (Kirchengast & Huber, 2001). Nossos resultados anulam a hipótese de que a pior resposta endotelial, apresentada pelas O, com adequada reposição estrogênica, seria consequência de uma diferença na distribuição da gordura corporal; embora tenha sido descrito, recentemente, que os níveis endógenos de E e T estão diretamente relacionados ao IMC na menopausa natural (Jones *et al*, 2013). É possível que mulheres na pós-menopausa recente com ovários intactos e IMC baixo ou normal apresentem menores níveis de T que as C de nossa amostra, que apresentaram sobrepeso ou quase obesidade grau I.

A ausência de diferença significativa dos níveis de adipocinas (adiponectina, lipocalina 2, adipsina, resistina e IGF2) reflete os achados já descritos para composição corporal, que não diferiu entre os grupos; e também que os grupos eram semelhantes em relação aos fatores de risco para aterosclerose e inflamação. (Tabela 4). Chalvatzas *et al*, 2009, encontraram resultado semelhante para níveis séricos de adiponectina e resistina comparando mulheres antes e após ooforectomia bilateral, com ou sem reposição estrogênica associada.

Tabela 4 - Biomarcadores inflamatórios

Variável	Grupo O			Grupo C			p valor *
	média	DP	mediana	média	DP	mediana	
Adiponectina (µg/ml)	26,87	18,82	19,34	36,15	54,78	20,36	0,68
Lipocalina 2 (ng/ml)	92,56	33,59	79,20	86,88	19,50	86,20	0,79
Resistina (ng/ml)	28,13	10,44	25,12	26,50	10,90	23,64	0,37
Adipsina (µg/ml)	3,25	1,09	2,91	3,24	6,79	3,19	0,41
PAI1 (ng/ml)	52,90	18,49	48,40	54,31	18,86	51,20	0,82
IGF1 (ng/ml)	76,85	24,53	72,39	79,24	15,98	79,74	0,39
IGF2 (ng/dl)	289,02	79,97	270,96	308,10	114,36	308,34	0,51
GDF15 (ng/ml)	0,835	0,324	0,775	0,997	0,688	0,850	0,28
Mioglobina (ng/ml)	52,4	20,3	49,3	44,1	16,8	43,6	0,066
MPO (ng/ml)	31,6	10,4	32,5	34,0	22,5	28,4	0,41
P-selectina (ng/ml)	237	153	198	231	164	186	0,70
sVCAM1 (ng/ml)	729	165	723	674	112	697	0,11

Legenda: * p < 0,05 pelo teste de Mann-Whitney.

PAI1, Plasminogen Activator Inhibitor-1; IGF1/ IGF2, Insulin- like Growth Factor-1 /2; GDF15, Growth differentiation factor 15; MPO, mieloperoxidase; P selectin, platelet selectin; sVCAM1 soluble vascular cell adhesion molecule-1

Apesar de não termos encontrado diferença na composição corporal entre os dois grupos, houve correlação positiva dos níveis de T séricos com os níveis de IGF1 (*insulin- like growth factor 1*) (Tabela 5). IGF1 é uma proteína produzida pelo fígado em resposta ao hormônio de crescimento e tem importante papel anabólico muscular, além de reduzir a gliconeogênese hepática. Concordando com nossos achados, Bierznice *et al*, 2013, observaram um aumento de 18% nos níveis de IGF1 em mulheres na pós-menopausa que receberam 40 mg de T por via oral por 2 semanas. A dose utilizada fez com que os níveis de T séricos fossem elevados, em média, de 11,5±2,88 ng/dl para 31,7±5,76 ng/ dl nestas mulheres. A diferença entre o pré e pós-tratamento foi compatível, respectivamente, com os que encontramos em O e C (13,8±14,4 vs. 27±19,4 ng/ dl). Contudo, a pequena diferença entre os níveis de T dos grupos não mostrou repercussão clínica nas medidas de composição corporal, apesar de ter potencialmente gerado maior expressão genética de IGF1 em miócitos, como demonstrado em estudos in vitro com baixos níveis de T (Sculthorpe *et al*, 2012).

Mulheres com menores níveis de T séricos (em última análise, as O) também possuíam níveis de sVCAM1 (*soluble vascular cell adhesion molecule-1*) mais elevados. VCAM1 é uma molécula de adesão endotelial, expressa em regiões predispostas a

aterosclerose e na periferia de lesões já estabelecidas (Cybulski *et al*, 2001), que promove o acúmulo e possibilita o rolamento e a subsequente ligação de monócitos e linfócitos T na camada íntima arterial (Libby *et al*, 2002). Em estudo (Mukherjee *et al*, 2002) realizado em células endoteliais humanas da veia umbilical, a T, através de sua conversão para E mediada pela aromatase, atenuou a aterogênese por inibir a expressão do VCAM1 de forma concentração dependente. Não houve correlação estatisticamente significativa dos biomarcadores inflamatórios e as medidas de fluxo à pletismografia.

Tabela 5 - Correlações dos níveis de testosterona com os níveis de IGF1 e sVCAM1

Variável		IGF1	sVCAM1
T total	r_s	0,290	-0,320
	p	0,013	0,005
T livre calculada	r_s	0,365	-0,344
	p	0,001	0,002
T biodisponível	r_s	0,387	-0,357
	p	0,0007	0,002

Legenda: r_s : coeficiente de correlação de Spearman; p : nível descritivo
T , testosterona; IGF1, Insulin- like Growth Factor-1; sVCAM1 soluble vascular cell adhesion molecule-1

Segundo a Organização Mundial de Saúde (WHO, 1996), a sexualidade é influenciada pela interação de fatores biológicos, psicológicos, socioeconômicos, políticos, culturais, éticos, legais, históricos, religiosos e espirituais. Constitui um aspecto fundamental do ser humano, envolvendo as identidades de gênero, sexo, orientação sexual, erotismo, prazer, intimidade e reprodução. A sexualidade é vivida e expressa em pensamentos, fantasias, desejos, crenças, atitudes, valores, comportamentos, práticas, papéis e relacionamentos (Collumbien *et al*, 2012).

Fatores psicológicos como ansiedade, baixa autoestima, distúrbios da percepção da imagem corporal, medo de rejeição, ansiedade do desempenho sexual, experiências sexuais traumáticas passadas, histórico de abuso e qualidade do relacionamento e outros fatores - hormonais, vasculares, neurológicos, condições médicas específicas (urogenitais como disfunções do assoalho pélvico), musculares (lacerações perineais decorrentes do parto, fraqueza muscular e músculos disfuncionais hipertônicos) - influenciam negativamente o ciclo de resposta sexual (Basson, 2001).

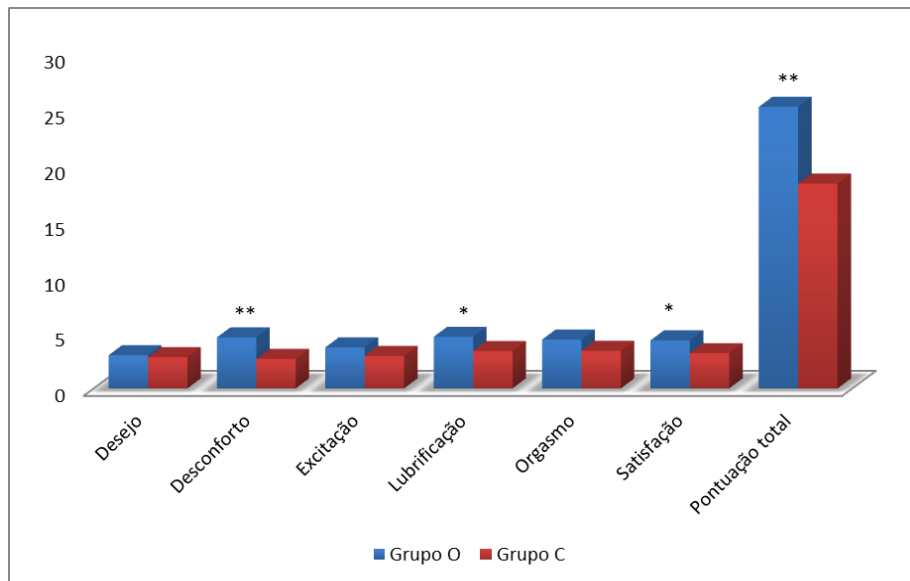
Como fatores hormonais, os estrógenos e a T desempenham importantes papéis na regulação da função sexual feminina. Baixos níveis de T estão associados à diminuição da excitação sexual, libido, orgasmo e sensação genital. Os níveis de E exercem influência sobre transmissão nervosa das células de todo o sistema nervoso periférico e central. Na menopausa o declínio nos níveis de estrógenos séricos resulta em afinamento do epitélio da mucosa vaginal e atrofia do músculo liso da parede vaginal e torna o ambiente do canal vaginal menos ácido, o que leva a infecções vaginais, infecções do trato urinário e incontinência, bem como queixas de disfunção sexual (Berman, 2005).

A DSF, principalmente a baixa libido/ desejo sexual hipoativo, é muito comum e aumenta nas mulheres após a menopausa. Na população americana, a prevalência de redução de libido foi de 26.7% na pré-menopausa e de 53,1% na pós- menopausa, sem reposição estrogênica (West *et al*, 2008). Nas duas últimas décadas, muitos estudos surgiram propondo que os níveis androgênicos seriam determinantes independentes do comportamento sexual na mulher e que a terapia com andrógenos, portanto, seria benéfica para o tratamento de baixa libido, especialmente em O. Estudos de Buster *et al*, 2005; Simon *et al*, 2005; Braunstein *et al*, 2005; Davis *et al*, 2006 e Shifren *et al*, 2000; utilizando adesivos de T ou T transdérmica levando a níveis séricos de T total médios de 110 ng/dl (doses supra-fisiológicas) relataram melhora do desejo sexual hipoativo em mulheres O comparado a placebo, que, todavia, também demonstrou melhora em relação ao pré-tratamento. Com isso, a pobre compreensão da “síndrome de insuficiência androgênica” e a falta de especificidade dos seus sintomas fizeram com que o uso indiscriminado da terapia androgênica aumentasse de forma exponencial, gerando ainda mais discussões e controvérsias.

Na atual investigação, mulheres O, adequadamente repostas com estrógenos, apresentaram melhor função sexual, representada por pontuações significativamente maiores no questionário FSFI comparadas as C, e esta diferença se deu principalmente nos domínios desconforto, lubrificação e satisfação (Figura 2 e Tabela 6). À primeira vista, este resultado pode parecer inusitado. Celik *et al*, 2008, escreveram que 6 meses após a cirurgia mulheres submetidas a histerectomia e salpingooforectomia bilateral por via abdominal tiveram pontuações significativamente reduzidas no FSFI mesmo quando submetidas a terapia estrogênica, enquanto nas que realizaram a cirurgia por via transvaginal, não houve prejuízo da função sexual comparada à do pré-operatório mediante a reposição estrogênica. A maior ou menor invasividade da via cirúrgica utilizada e a avaliação sexual em tempo de pós-operatório menor que o nosso pode ter contribuído para a discordância de parte dos achados de Celik comparados aos nossos. Erekson *et al*, 2012, entretanto, em estudo de caso-controle

envolvendo 356 mulheres O, não encontraram diferença na autopercepção de pensamentos sexuais entre os grupos (54,5%. [48,1-60,9] vs. 49,9%, [46,0- 53,8], $p = 0,227$), mesmo após estratificação para vigência de TH, idade, escolaridade e raça. À semelhança destes achados, em nosso estudo as mulheres O relataram valores subjetivos de libido equivalentes às C. Lembramos também que as O em nosso estudo fizeram reposição hormonal mais imediata que as C, o que pode ter contribuído para resolução mais precoce da atrofia vulvovaginal que se segue à deficiência estrogênica. Desta forma, menor tempo de hipoestrogenismo permitindo resolução de sintomas locais como desconforto, lubrificação e satisfação e retomada da vida sexual, pode representar uma janela de oportunidade como fator adicional para manutenção da sexualidade na pós-menopausa.

Figura 2 - Pontuação total e por domínios do Female Sexual Function Index (FSFI)



Legenda: * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ pelo teste de Mann-Whitney

Quanto ao desejo sexual, Turna *et al*, 2005 descreveram em estudo caso-controle de 20 mulheres menopausadas com baixa libido (em que apenas 5 tiveram menopausa cirúrgica) comparadas a 20 menopausadas com libido normal pelo questionário FSFI, todas repostas com 0,625 mg de estrógenos conjugados associados ou não a 2,5 mg de acetato de medroxiprogesterona, que mulheres com baixo libido apresentam menores níveis de T total, livre e DHEAS, comparadas a C pareados por década. O pequeno número de pacientes e a heterogeneidade de tipos de menopausa e reposição hormonal colocam em dúvida se

realmente baixos níveis de andrógenos se correlacionam a queixas sexuais. Davis *et al*, 2005, por outro lado, não encontraram associação entre escores baixos nos domínios de função sexual estudados pelo questionário PFSF e baixos níveis de T em 1021 mulheres de 18 a 75 anos (Derogatis *et al*, 2004). Este questionário é composto de 37 perguntas sobre 7 domínios sexuais (desejo, excitação, orgasmo, satisfação, responsividade, preocupações e autoimagem). Também não encontramos correlação entre os domínios do FSFI e os níveis de T total, calculada e biodisponível na amostra total e nas C. Entretanto, nas O, observamos correlação positiva dos níveis de T e o domínio desejo ($r= 0,397$, $p= 0,016$). A variabilidade interpessoal da sensibilidade dos receptores androgênicos e os efeitos intrácrinos da T no sistema nervoso central (Basson, 2010), ainda desconhecidos, poderiam ser relevantes e, portanto, alvo de futuros estudos sobre este tema.

Tabela 6 - Função sexual, depressão e cognição

Variável	Grupo O			Grupo C			p valor*
	média	DP	mediana	média	DP	mediana	
Libido (pontos)	5,42	3,34	5,5	4,62	3,18	5	0,33
Fogachos (pontos)	2,28	1,86	2,5	2,29	1,91	3	0,95
Sono (numero de horas)	6,22	1,77	6	6,20	1,32	6	0,62
FSFI desejo	2,98	1,32	3	2,81	1,20	3	0,66
FSFI desconforto	4,58	1,81	5,4	2,65	2,32	2,8	0,005
FSFI excitação	3,68	1,07	3,6	2,91	1,22	3	0,079
FSFI lubrificação	4,63	1,02	4,8	3,36	1,66	3,3	0,012
FSFI orgasmo	4,38	1,08	4,4	3,37	1,77	4	0,086
FSFI satisfação	4,31	1,59	4,8	3,16	1,84	4	0,042
FSFI total	25,3	5,7	25,1	18,4	7,3	18,6	0,003
BDI	12,5	9,3	10	12,5	6,2	12	0,48
Mini Mental	26,6	2,2	26	27,1	2,2	27	0,34

Legenda: * $p<0,05$ pelo teste de Mann-Whitney.

FSFI, Female Sexual Function Index; BDI, Beck Depression Inventory

Nas mulheres O a queda substancial (em média, de 50%) dos níveis de T total e livre, comparadas às com menopausa natural de mesma idade, todas na pós-menopausa recente (Davey, 2012), poderiam explicar a correlação e o benefício da reposição androgênica neste grupo em particular. Por outro lado, encontramos que os níveis de E apresentaram correlação positiva com o domínio excitação na amostra total ($r= 0,338$, $p= 0,038$) e no grupo O ($r=$

0,521, $p=0,032$), sendo a força de associação maior neste grupo, o que sugere que a reposição estrogênica adequada seja importante na resposta sexual, mormente a fase de excitação. Dessa forma, a adequada concentração de cada hormônio poderia estar relacionada a uma variável distinta da função sexual, desde que analisados em conjunto a fatores psíquicos, culturais e mesmo, próprios do relacionamento com o parceiro, que desempenham um papel fundamental na função sexual feminina e jamais deverão ser desconsiderados. Como comprovação, em nosso estudo, os menores níveis séricos de T das O (em reposição estrogênica) não se traduziram como pior função sexual que as C.

Em revisão a partir de achados do estudo de coorte da Mayo Clinic, seguindo por em média 25 anos pacientes pós-ooforectomia bilateral comparadas a C, Rocca *et al* discutem a associação de demência e depressão a ooforectomia antes dos 45 anos. No estudo original (Rocca *et al*, 2009), o aumento do risco de demência restringiu-se a mulheres que não receberam terapia estrogênica, entretanto, o mesmo não ocorreu em relação ao risco de depressão/ transtornos ansiosos e parkinsonismo, bem como a mortalidade por doenças neurológicas e mentais que foram aumentados nestas mulheres, independente da adequada reposição estrogênica (Rivera *et al*, 2009). Os mecanismos fisiopatológicos das alterações mentais possivelmente implicados seriam os níveis reduzidos de E, os baixos níveis de progesterona ou T, o aumento da liberação de gonadotrofinas ou a associação a variantes genéticas, como genes APOE ou ESR1. Não encontramos em nosso estudo diferença nos escores de depressão entre os grupos, avaliados pelo inventário de Beck, o que exclui um fator de confusão importante que poderia alterar os resultados dos escores de função sexual. Também não encontramos diferença significativa nas pontuações do Mini Mental ou horas de sono entre os grupos (Tabela 6). Nossas pacientes estavam em adequada reposição estrogênica, que parece ter um efeito preponderante no sistema nervoso central (SNC) (Rocca *et al*, 2007). Porém nosso estudo se restringiu à pós-menopausa recente, não sendo possível excluir potenciais influências da persistência de baixos níveis de T no humor ou em outros aspectos neurológicos em longo prazo.

Como pontos fortes de nosso estudo podemos destacar a intenção de estudar efeitos da pós-menopausa recente em O, assunto até então pouco explorado na literatura; a grande homogeneidade dos grupos O e C, principalmente em relação a fatores de risco CVs e a avaliação de mulheres com adequada reposição estrogênica para que pudéssemos analisar, de fato, as repercussões isoladas dos baixos níveis de T na saúde de mulheres O. Ademais, a gama diversificada de avaliações feitas, como dosagens hormonais e bioquímicas, composição corporal, marcadores inflamatórios em complemento à pletismografia e

questionários conferiram ao estudo uma análise global sobre o assunto e resultados inéditos e inusitados.

Possíveis limitações deste estudo são a vulnerabilidade que variáveis subjetivas apresentam, como quantificação de libido, inibição diante das pesquisadoras e compreensão dos questionários empregados, embora todos sejam validados. Além disso, dados como tempo de hipoestrogenismo e idade da ooforectomia são passíveis de viés de memória.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em mulheres pós-ooforectomia bilateral comparadas a C, na pós-menopausa recente e com adequada reposição estrogênica, baixos níveis de T estão correlacionados com pior função endotelial, mas não com pior função sexual global. Supomos, assim, que níveis fisiológicos de T na menopausa tenham um papel limitado na função sexual feminina. Por outro lado, a diminuição de T ovariana se correlacionou com pior função endotelial e com sVCAM1, um marcador de inflamação vascular; sugerindo um possível papel no controle vascular. Dessa forma, do ponto de vista cardiovascular, os resultados aqui discutidos justificam a necessidade de preservação dos ovários em cirurgias ginecológicas, porém, quando isto não for possível, que seja questionada a reposição de T em níveis fisiológicos nestas mulheres.

REFERÊNCIAS

- Allison MA, Manson JE, Langer RD, Carr JJ, Rossouw JE, Pettinger MB, Phillips L, Cochrane BB, Eaton CB, Greenland P, Hendrix S, Hsia J, Hunt JR, Jackson RD, Johnson KC, Kuller LH, Robinson J; Women's Health Initiative and Women's Health Initiative Coronary Artery Calcium Study Investigators. Oophorectomy, hormone therapy, and subclinical coronary artery disease in women with hysterectomy: the Women's Health Initiative coronary artery calcium study. *Menopause*. 2008 Jul-Aug;15 (4 Pt 1):639-47.
- Alomari MA, Solomito A, Reyes R, Khalil, SM, Wood RH, Welsch MA. Plethysmography: Technical Considerations, Standardization and Physiological Findings. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004 Jan;286(1):H99-H107.
- Bachrach LK. Dual energy X-ray absorptiometry (DEXA) measurements of bone density and body composition: promise and pitfalls. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2000; 13 Suppl 2: 983-988.
- Bahia L, Aguiar LGK, Villela NR, Bottino D, Bouskela E. Endotélio e aterosclerose. *Revista da SOCERJ - Jan/Fev/Mar 2004*. Vol 17, n 1.
- Basson R, Berman J, Burnett A, Derogatis L, Ferguson D, Fourcroy J, et al. Report of the international consensus development conference on female sexual dysfunction: definitions and classifications. *J Urol*. 2000;163(3):888-93.
- Basson R. Human sex-response cycles. *J Sex Marital Ther*. 2001;27(1):33-43.
- Basson, R. Testosterone therapy for reduced libido in women. *Ther Adv Endocrinol Metab* 2010; 1(4):155-164.
- Beck AT, Ward CH, Mendelson M, Mock J. An inventory for measuring depression. *Arch Gen Psychiatry*. 1961 Jun;4:561-71.
- Berman JR. Physiology of female sexual function and dysfunction. *Int J Impot Res*. 2005;17 Suppl 1:S44-51.
- Birzniece V, Umpleby MA, Poljak A, Handelsman DJ, Ho KK. Oral low-dose testosterone administration induces whole-body protein anabolism in postmenopausal women: a novel liver-targeted therapy. *Eur J Endocrinol*. 2013 Jul 29;169(3):321-7.
- Braunstein GD, Sundwall DA, Katz M, Shifren JL, Buster JE, Simon JA, Bachman G, Aguirre OA, Lucas JD, Rodenberg C, Buch A, Watts NB. Safety and efficacy of a testosterone patch for the treatment of hypoactive sexual desire disorder in surgically menopausal women: a randomized, placebo-controlled trial. *Arch Intern Med* 2005;165:1582-9.
- Burger HG, Dudley EC, Cui J, Dennerstein L, Hopper JL. A prospective longitudinal study of testosterone, dehydroepiandrosterone sulfate and sex-hormone binding globulin through the menopause transition. *J Endocrinol Metab* 2000; 85: 2832-2838.

Burger HG. Androgen production in women. *Fertil Steril* 2002; 77(Suppl. 4): S3-S5.

Buster JE, Kingsberg SA, Aguirre O, Brown C, Breaux JG, Buch A, Rodenberg CA, Wekselman K, Casson P. Testosterone patch for low sexual desire in surgically menopausal women: a randomized trial. *Obstet Gynecol* 2005; 105:944-52.

Caramori, P R & Zago, A. Disfunção endotelial e doença arterial coronariana. *Arq Bras Cardiol* volume 75, (nº 2), 2000.

Celik H, Gurates B, Yavuz A, Nurkalem C, Hanay F, Kavak B. The effect of hysterectomy and bilaterally salpingo-oophorectomy on sexual function in post-menopausal women. *Maturitas* 2008 20; 61(4): 358–363.

Chalvatzas N, Dafopoulos K, Kosmas G, Kallitsaris A, Pournaras S, Messinis IE. Effect of ovarian hormones on serum adiponectin and resistin concentrations. *Fertil Steril* 2009; 91(4): 1189-94.

Clapauch R, Mecena, ASB, Maranhão P A, Bouskela, E. Early postmenopausal women with cardiovascular risk factors improve microvascular dysfunction after acute estradiol administration. *Menopause* 2012; 19(6): 672-79.

Clemmons DR. Physiology of insuline-like growth factor 1. (<http://www.uptodate.com/contents/physiology-of-insulin-like-growth-factor-i>.) Accessed 16 NOVEMBER 2014.

Collumbien M, Busza J, Cleland J, Campbell O. Social science methods for research on sexual and reproductive health. Geneva: WHO; 2012.

Couzinet B, Meduri G, Lecce MG, Young J, Brailly S, Loosfelt H, Milgrom E, Schaison G. The postmenopausal ovary is not a major androgen producing gland. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:5060-66.

Cybulsky MI, Iiyama K, Li H, Zhu S, Chen M, Iiyama M, Davis V, Gutierrez-Ramos JC, Connelly PW, Milstone DS. A major role for VCAM-1, but not ICAM-1, in early atherosclerosis. *J Clin Invest*. 2001 May; 107(10):1255-62.

Davis SR, Davison SL, Donath S, Bell RJ. Circulating androgen levels and self-reported sexual function in women. *JAMA*. 2005;294(1):91-6.

Davis SR, van der Mooren MJ, van Lunsen RHW, Lopes P, Ribot C, Rees M, Moufarege A, Rodenberg C, Buch A, Purdie DW. Efficacy and safety of a testosterone patch for the treatment of hypoactive sexual desire disorder in surgically menopausal women: a randomized, placebo-controlled trial. *Menopause* 2006;13:387-96.

Davey, DA. Androgens in women before and after the menopause and post bilateral oophorectomy: clinical effects and indications for testosterone therapy. *Women's Health (Lond Engl)*. 2012 Jul;8(4):437-46.

Davison SL, Bell R, Donath S, Montalto JG, Davis SR. Androgen levels in adult females: changes with age, menopause, and oophorectomy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005 Jul;90(7):3847-53.

Derogatis L, Rust J, Golombok S, Bouchard C, Nachtigall L, Rodenberg C, Kuznicki J, McHorney CA. Validation of the profile of female sexual function (PFSS) in surgically and naturally menopausal women. *J Sex Marital Ther.* 2004 Jan-Feb; 30(1):25-36.

Dørum A, Tonstad S, Liavaag AH, Michelsen TM, Hildrum B, Dahl AA. Bilateral oophorectomy before 50 years of age is significantly associated with the metabolic syndrome and Framingham risk score: a controlled, population-based study (HUNT-2). *Gynecol Oncol.* 2008 Jun; 109(3):377-83.

DSM-IV-TR. Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais. 4^a ed. Porto Alegre: Artmed; 2002.

Erekson EA, Martin DK, Zhu K, Ciarleglio MM, Patel DA, Guess MK, Ratner ES. Sexual function in older women after oophorectomy. *Obstet Gynecol.* 2012 October; 120(4): 833–842.

Fishman AP. Endothelium: a distributed organ of diverse capabilities. *Ann N Y Acad Sci* 1982; 401: 1-8.

Fogle RH, Stanczyk FZ, Zhang X, Paulson RJ. Postmenopausal Ovarian Androgen Production. *J Clin Endocrinol Metab,* August 2007, 92(8):3040 –43.

Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. “Mini-mental state”. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 1975; 12: 189-98.

Harada N, Sasano H, Murakami H, Ohkuma T, Nagura H, Takagi Y. Localized expression of aromatase in human vascular tissues. *Circ Res* 1999 84:1285–1291.

Hulley S, Grady D, Bush T, Furberg C, Herrington D, Riggs B et al. Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. Heart and Estrogen/progestin Replacement Study (HERS) Research Group. *JAMA* 1998; 280: 605-13.

Hunter MS. Emotional well-being, sexual behaviour and hormone replacement therapy. *Maturitas* 1990; 12:299-314.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008/2009: antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística; 2010.

Joannides R, Haefeli WE, Linder L, Richard V, Bakkali EH, Thuillez C, Lüscher TF. Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. *Circulation.* 1995 Mar 1;91(5):1314-9.

Jones ME, Schoemaker M, Rae M, Folkerd EJ, Dowsett M, Ashworth A, Swerdlow AJ. Changes in estradiol and testosterone levels in postmenopausal women after changes in body mass index. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013 Jul;98(7):2967-74.

Kalantaridou SN, Naka KK, Papanikolaou E, Kazakos N, Kravariti M, Calis KA, et al. Impaired endothelial function in young women with premature ovarian failure: normalization with hormone therapy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:3907-13.

Kannel WB, Hjortland MC, Mcnamara PM, Gordon T. Menopause and Risk of Cardiovascular Disease -The Framingham Study. *Ann Int Med* 1976; 85 (4): 447-452.

Kirchengast S, Huber J. Body composition characteristics and body fat distribution in lean women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod*. 2001 Jun; 16(6):1255-60.

Kyle UG, Bosaeus I, De Lorenzo AD, Deurenberg P, Elia M, Gómez JM, Heitmann BL, Kent-Smith L, Melchior JC, Pirlich M, Scharfetter H, Schols AM, Pichard C. Composition of the ESPEN Working Group. Bioelectrical impedance analysis—part I: review of principles and methods. *Clin Nutr* 2004; 23:1226-43.

Laskey MA, Lytle KD, Flaxman ME, Barber RW. The influence of tissue depth and composition on the performance of the lunar dual-energy X- ray absorptiometer whole body scanning mode. *Eur J Clin Nutr* 1992; 46: 39-45.

Lasley BL, Crawford SL, Laughlin GA, Santoro N, McConnell DS, Crandall C, Greendale GA, Polotsky AJ, Vug M. Circulating dehydroepiandrosterone sulfate levels in women who underwent bilateral salpingo-oophorectomy during the menopausal transition. *Menopause*. 2011; 18(5):494–98.

Laughlin GA, Barrett-Connor E, Kritz-Silverstein D, von Mühlen D. Hysterectomy, oophorectomy, and endogenous sex hormone levels in older women: the Rancho Bernardo Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2000 85:645–651.

Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002;105:1135-43.

Maturana MA, Irigoyen MC, Spritzer PM. Menopause, estrogens, and endothelial dysfunction: current concepts. *Clinics (São Paulo)* 2007;62:77-86.

McCarthy AM, Menke A, Visvanathan K. Association of bilateral oophorectomy and body fatness in a representative sample of US women. *Gynecol Oncol*. 2013 Jun;129(3):559-64.

McConnell DS, Stanczyk FZ, Sowers MR, Randolph JF Jr, Lasley BL. Menopausal Transition Stage-Specific Changes in Circulating Adrenal Androgens. *Menopause*. Jun 2012; 19(6): 658–63.

Mendelsohn ME & Karas RH. The protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *New Engl J Med* 1999 ; 340: 1801-1811.

- Montalcini T, Gorgone G, Gazzaruso C, Sesti G, Perticone F, Pujia A. Endogenous testosterone and endothelial function in postmenopausal women. *Coron Artery Dis.* 2007 Feb; 18(1):9-13.
- Mukherjee TK, Dinh H, Chaudhuri G, Nathan L. Testosterone attenuates expression of vascular cell adhesion molecule-1 by conversion to estradiol by aromatase in endothelial cells: Implications in atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Mar 19, 2002; 99(6): 4055–4060.
- Oliver JJ, Webb DJ. Noninvasive assessment of arterial stiffness and risk of atherosclerotic events. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003 Apr 1;23(4):554-66.
- Rocca WA, Bower JH, Maraganore DM, Ahlskog JE, Grossardt BR, de Andrade M, Melton LJ 3rd. Increased risk of cognitive impairment or dementia in women who underwent oophorectomy before menopause. *Neurology* 2007; 69:1074–1083.1083.
- Rocca WA, Shuster LT, Grossardt BR, Maraganore DM, Gostout BS, Geda YE, Melton LJ 3rd. Long-term effects of bilateral oophorectomy on brain aging: Unanswered questions from the Mayo Clinic Cohort Study of Oophorectomy and Aging. *Women's Health (Lond Engl).* 2009 January ; 5(1): 39–48.
- Rivera CM, Grossardt BR, Rhodes DJ, Rocca WA. Increased mortality for neurological and mental diseases following early bilateral oophorectomy. *Neuroepidemiology.* 2009; 33(1):32-40.
- Rosen R, Brown C, Heiman J, Leiblum S, Meston C, Shabsigh R, Ferguson D, D'Agostino R Jr. The Female Sexual Function Index (FSFI): a multidimensional self-report instrument for the assessment of female sexual function. *J Sex Marital Ther* 2000;26(2):191-208.
- Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, Kooperberg C, Stefanick ML et al. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA* 2002; 288: 321-33.
- Rubanyi GM. The role of endothelium in cardiovascular homeostasis and diseases. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993; 22 (suppl 4): S1-S4.
- Sculthorpe N, Solomon AM, Sinanan AC, Bouloux PM, Grace F, Lewis MP. Androgens affect myogenesis in vitro and increase local IGF-1 expression. *Med Sci Sports Exerc.* 2012 Apr;44(4):610-5.
- Shifren JL, Braunstein GD, Simon JA, Casson PR, Buster JE, Redmond GP, Burki RE, Ginsburg ES, Rosen RC, Leiblum SR, Caramelli KE, Mazer NA. Transdermal testosterone treatment in women with impaired sexual function after oophorectomy. *N Engl J Med* 2000; 343(10):682-8.
- Simon J, Braunstein G, Nachtigall L, Utian W, Katz M, Miller S, Waldbaum A, Bouchard C, Derzko C, Buch A, Rodenberg C, Lucas J, Davis S. Testosterone patch increases sexual activity and desire in surgically menopausal women with hypoactive sexual desire disorder. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:5226-33.

Skałba P, Wójtowicz M, Sikora J. Androgen and SHBG serum concentrations in late post-menopause women. *Med Sci Monit.* 2003; 9(3):152-6.

Subbiah MR. Estrogen replacement therapy and cardioprotection: mechanisms and controversies. *Braz J Med Biol Res* 2002; 35:271-76.

Stamler JS, Singel DJ, Loscalzo J. Biochemistry of nitric oxide and its redox-activated forms. *Science* 1992; 258: 1898-902.

Studd J. Variations on hormone replacement therapy: an answer to the 'one dose fits all' Women's Health Initiative study. *Gynec Endocrinol.* 2007 Nov; 23(11):665-71.

Taddei S, Viridis A, Ghiadoni L, Mattei P, Sudano I, Bernini G, et al Menopause is associated with endothelial dysfunction in women. *Hypertension* 1996; 28:575-82.

Thiel RRC, Dambros M, Palma PCR, Thiel M, Riccetto CLZ, Ramos MdeF. Translation into Portuguese, cross-national adaptation and validation of the Female Sexual Function Index. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2008;30(10):504-10.

Torrens J, Sutton-Tyrrell K, Zhao X, Matthews K, Brockwell S, Sowers M, Santoro N. Relative androgen excess during the menopausal transition predicts incident metabolic syndrome in midlife women: Study of Women's Health Across the Nation. *Menopause* 2009; 16(2):257-264.

Turna B, Apaydin E, Semerci B, Altay B, Cikili N, Nazli O. Women with low libido: correlation of decreased androgen levels with female sexual function index. *Int J Impot Res.* 2005 Mar-Apr;17(2):148-53.

Vanhoutte PM, Rubanyi GM, Miller M, Houstin DS. Modulation of vascular smooth muscle cell contraction by the endothelium. *Ann Rev Physiol* 1986; 48: 349-80.

West SL, D, Aloisio AA, Agans RP, Kalsbeek WD, Borisov NN, Thorp JM. Prevalence of Low Sexual Desire and Hypoactive Sexual Desire Disorder in a Nationally Representative Sample of US Women. *Arch Intern Med.*2008; 168(13):1441-9.

WHO Scientific Group. Research on the Menopause in the 1990s. Geneva, WHO technical report series; 1996, 866, 1-107.

Worboys S, Kotsopoulos, Teede H, McGrath B, David SR. Evidence that parenteral testosterone therapy may improve endothelium-dependent and independent vasodilatation in postmenopausal women already receiving estrogen. *J Clin Endocrinol Metab* 2001 88:158–161.

Wu FCW and von Eckardstein A. Androgens and Coronary Artery Disease. *Endocr Rev* 2003 24(2):183–217

ANEXO A - Aprovação do Comitê de Ética



INSTITUTO ESTADUAL DE DIABETES E ENDOCRINOLOGIA LUIZ CAPRIGLIONE
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

PARECER CEP-IEDE nº 001/13

Protocolo: “Repercussões da ooforectomia bilateral e de sua abordagem terapêutica na composição corporal, perfil metabólico e vascular da mulher menopausada”

Registro CEP-IEDE: CAAE 021-12 (Este nº deve ser citado nas correspondências sobre este protocolo).

Pesquisador principal: Ciciliana Maila Zilio Rech

Instituição: Instituto Estadual de Diabetes e Endocrinologia – IEDE.

O CEP-IEDE analisou a resposta da pendência do protocolo de pesquisa acima referido e emitiu o parecer **APROVADO**.

Esclarecemos que o TCLE a ser aplicado aos pacientes deverá ser o que contém a assinatura e o carimbo da Coordenadora do CEP

De acordo com o regulamento do CEP-IEDE, e a Resolução 196, ficam estabelecidos à entrega de relatórios semestrais sobre o andamento da pesquisa ao CEP/IEDE, e a conclusão do trabalho.

Rio de Janeiro, 07 de janeiro de 2013.


Laura da Costa S. Soares
Coordenadora do CEP-IEDE

ANEXO B - Female Sexual Function Index (FSFI)

Versão final do Female Sexual Function Index em português.

Instruções:

Este questionário pergunta sobre sua vida sexual durante as últimas 4 semanas. Por favor, responda às questões de forma mais honesta e clara possível. Suas respostas serão mantidas em absoluto sigilo. Assinale apenas uma alternativa por pergunta. Para responder às questões use as seguintes definições: atividade sexual pode incluir afagos, carícias preliminares, masturbação (“punheta”/“siririca”) e ato sexual; ato sexual é definido quando há penetração (entrada) do pênis na vagina; estímulo sexual inclui situações como carícias preliminares com um parceiro, auto-estimulação (masturbação) ou fantasia sexual (pensamentos); desejo sexual ou interesse sexual é um sentimento que inclui querer ter atividade sexual, sentir-se receptiva a uma iniciativa sexual de um parceiro(a) e pensar ou fantasiar sobre sexo; excitação sexual é uma sensação que inclui aspectos físicos e mentais (pode incluir sensações como calor ou inchaço dos genitais, lubrificação – sentir-se molhada/“vagina molhada”/“tesão vaginal” –, ou contrações musculares).

1 - Nas últimas 4 semanas com que frequência (quantas vezes) você sentiu desejo ou interesse sexual?

- 5 = Quase sempre ou sempre
- 4 = A maioria das vezes (mais do que a metade do tempo)
- 3 = Algumas vezes (cerca de metade do tempo)
- 2 = Poucas vezes (menos da metade do tempo)
- 1 = Quase nunca ou nunca

2 - Nas últimas 4 semanas como você avalia o seu grau de desejo ou interesse sexual?

- 5 = Muito alto
- 4 = Alto
- 3 = Moderado
- 2 = Baixo
- 1 = Muito baixo ou absolutamente nenhum

3 - Nas últimas 4 semanas, com que frequência (quantas vezes) você se sentiu sexualmente excitada durante a atividade sexual ou ato sexual?

- 0 = Sem atividade sexual
- 5 = Quase sempre ou sempre
- 4 = A maioria das vezes (mais do que a metade do tempo)
- 3 = Algumas vezes (cerca de metade do tempo)
- 2 = Poucas vezes (menos da metade do tempo)
- 1 = Quase nunca ou nunca

4 - Nas últimas 4 semanas, como você classificaria seu grau de excitação sexual durante a atividade ou ato sexual?

- 0 = Sem atividade sexual
- 5 = Muito alto
- 4 = Alto
- 3 = Moderado
- 2 = Baixo
- 1 = Muito baixo ou absolutamente nenhum

5 - Nas últimas 4 semanas, como você avalia o seu grau de segurança para ficar sexualmente excitada durante a atividade sexual ou ato sexual?

- 0 = Sem atividade sexual
- 5 = Segurança muito alta
- 4 = Segurança alta
- 3 = Segurança moderada
- 2 = Segurança baixa
- 1 = Segurança muito baixa ou Sem segurança

6 - Nas últimas 4 semanas, com que frequência (quantas vezes) você ficou satisfeita com sua excitação sexual durante a atividade sexual ou ato sexual?

- 0 = Sem atividade sexual
- 5 = Quase sempre ou sempre
- 4 = A maioria das vezes (mais do que a metade do tempo)
- 3 = Algumas vezes (cerca de metade do tempo)
- 2 = Poucas vezes (menos da metade do tempo)
- 1 = Quase nunca ou nunca

7 - Nas últimas 4 semanas, com que frequência (quantas vezes) você teve lubrificação vaginal (ficou com a “vagina molhada”) durante a atividade sexual ou ato sexual?

- 0 = Sem atividade sexual
- 5 = Quase sempre ou sempre
- 4 = A maioria das vezes (mais do que a metade do tempo)
- 3 = Algumas vezes (cerca de metade do tempo)
- 2 = Poucas vezes (menos da metade do tempo)
- 1 = Quase nunca ou nunca

8 - Nas últimas 4 semanas, como você avalia sua dificuldade em ter lubrificação vaginal (ficar com a “vagina molhada”) durante o ato sexual ou atividades sexuais?

- 0 = Sem atividade sexual
- 1 = Extremamente difícil ou impossível
- 2 = Muito difícil
- 3 = Difícil
- 4 = Ligeiramente difícil
- 5 = Nada difícil

9- Nas últimas 4 semanas, com que frequência (quantas vezes) você manteve a lubrificação vaginal (ficou com a “vagina molhada”) até o final da atividade ou ato sexual?

0 = Sem atividade sexual

5 = Quase sempre ou sempre

4 = A maioria das vezes (mais do que a metade do tempo)

3 = Algumas vezes (cerca de metade do tempo)

2 = Poucas vezes (menos da metade do tempo)

1 = Quase nunca ou nunca

10- Nas últimas 4 semanas, qual foi sua dificuldade em manter a lubrificação vaginal (“vagina molhada”) até o final da atividade ou ato sexual?

0 = Sem atividade sexual

1 = Extremamente difícil ou impossível

2 = Muito difícil

3 = Difícil

4 = Ligeiramente difícil

5 = Nada difícil

11- Nas últimas 4 semanas, quando teve estímulo sexual ou ato sexual, com que frequência (quantas vezes) você atingiu o orgasmo (“gozou”)?

0 = Sem atividade sexual

5 = Quase sempre ou sempre

4 = A maioria das vezes (mais do que a metade do tempo)

3 = Algumas vezes (cerca de metade do tempo)

2 = Poucas vezes (menos da metade do tempo)

1 = Quase nunca ou nunca

12 - Nas últimas 4 semanas, quando você teve estímulo sexual ou ato sexual, qual foi sua dificuldade em você atingir o orgasmo (“clímax/gozou”)?

0 = Sem atividade sexual

1 = Extremamente difícil ou impossível

2 = Muito difícil

3 = Difícil

4 = Ligeiramente difícil

5 = Nada difícil

13- Nas últimas 4 semanas, o quanto você ficou satisfeita com sua capacidade de atingir o orgasmo (“gozar”) durante atividade ou ato sexual?

0 = Sem atividade sexual

5 = Muito satisfeita

4 = Moderadamente satisfeita

3 = Quase igualmente satisfeita e insatisfeita

2 = Moderadamente insatisfeita

1 = Muito insatisfeita

14- Nas últimas 4 semanas, o quanto você esteve satisfeita com a proximidade emocional entre você e seu parceiro(a) durante a atividade sexual?

- 0 = Sem atividade sexual
- 5 = Muito satisfeita
- 4 = Moderadamente satisfeita
- 3 = Quase igualmente satisfeita e insatisfeita
- 2 = Moderadamente insatisfeita
- 1 = Muito insatisfeita

15- Nas últimas 4 semanas, o quanto você esteve satisfeita como relacionamento sexual entre você e seu parceiro(a)?

- 5 = Muito satisfeita
- 4 = Moderadamente satisfeita
- 3 = Quase igualmente satisfeita e insatisfeita
- 2 = Moderadamente insatisfeita
- 1 = Muito insatisfeita

16- Nas últimas 4 semanas, o quanto você esteve satisfeita com sua vida sexual de um modo geral?

- 5 = Muito satisfeita
- 4 = Moderadamente satisfeita
- 3 = Quase igualmente satisfeita e insatisfeita
- 2 = Moderadamente insatisfeita
- 1 = Muito insatisfeita

17- Nas últimas 4 semanas, com que frequência (quantas vezes) você sentiu desconforto ou dor durante a penetração vaginal?

- 0 = Não tentei ter relação
- 1 = Quase sempre ou sempre
- 2 = A maioria das vezes (mais do que a metade do tempo)
- 3 = Algumas vezes (cerca de metade do tempo)
- 4 = Poucas vezes (menos da metade do tempo)
- 5 = Quase nunca ou nunca

18- Nas últimas 4 semanas, com que frequência (quantas vezes) você sentiu desconforto ou dor após a penetração vaginal?

- 0 = Não tentei ter relação
- 1 = Quase sempre ou sempre
- 2 = A maioria das vezes (mais do que a metade do tempo)
- 3 = Algumas vezes (cerca de metade do tempo)
- 4 = Poucas vezes (menos da metade do tempo)
- 5 = Quase nunca ou nunca

19- Nas últimas 4 semanas, como você classificaria seu grau de desconforto ou dor durante ou após a penetração vaginal?

0 = Não tentei ter relação

1 = Muito alto

2 = Alto

3 = Moderado

4 = Baixo

5 = Muito baixo ou absolutamente nenhum

Avaliação:

Desejo: itens 1 e 2; Desconforto/ Dor : itens 17, 18 e 19; Excitação: itens 3, 4, 5 e 6;

Lubrificação: itens 7, 8, 9, e 10; Orgasmo itens 11, 12 e 13 e Satisfação: itens 14, 15 e 16.

ANEXO C - Inventário de Depressão de Beck

Inventário de Depressão de Beck

Nome: _____ Idade: _____
 Estado Civil: _____ Profissão: _____ Escolaridade: _____
 Data de aplicação: _____
 Pontuação: _____

Instruções

Neste questionário existem grupos de afirmações. Por favor leia cuidadosamente cada uma delas. A seguir selecione a afirmação, em cada grupo, que melhor descreve como se sentiu NA SEMANA QUE PASSOU, INCLUINDO O DIA DE HOJE. Desenhe um círculo em torno do número ao lado da afirmação selecionada. Se escolher dentro de cada grupo várias afirmações, faça um círculo em cada uma delas. Certifique-se que leu todas as afirmações de cada grupo antes de fazer a sua escolha.

1.

- 0 Não me sinto triste.
- 1 Sinto-me triste.
- 2 Sinto-me triste o tempo todo e não consigo evitá-lo.
- 3 Estou tão triste ou infeliz que não consigo suportar.

2.

- 0 Não estou particularmente desencorajado(a) em relação ao futuro.
- 1 Sinto-me desencorajado(a) em relação ao futuro.
- 2 Sinto que não tenho nada a esperar.
- 3 Sinto que o futuro é sem esperança e que as coisas não podem melhorar.

3.

- 0 Não me sinto fracassado(a).
- 1 Sinto que falhei mais do que um indivíduo médio.
- 2 Quando analiso a minha vida passada, tudo o que vejo é uma quantidade de fracassos.
- 3 Sinto que sou um completo fracasso.

4.

- 0 Eu tenho tanta satisfação nas coisas, como antes.
- 1 Não tenho satisfações com as coisas, como costumava ter.
- 2 Não consigo sentir verdadeira satisfação com alguma coisa.
- 3 Estou insatisfeito(a) ou entediado(a) com tudo.

5.

- 0 Não me sinto particularmente culpado(a).
- 1 Sinto-me culpado(a) grande parte do tempo.
- 2 Sinto-me bastante culpado(a) a maior parte do tempo.
- 3 Sinto-me culpado(a) durante o tempo todo.

6.

0 Não me sinto que esteja a ser punido(a).

1 Sinto que posso ser punido(a).

2 Sinto que mereço ser punido(a).

3 Sinto que estou a ser punido(a).

7.

0 Não me sinto desapontado(a) comigo mesmo(a).

1 Sinto-me desapontado(a) comigo mesmo(a).

2 Sinto-me desgostoso(a) comigo mesmo(a).

3 Eu odeio-me.

8.

0 Não me sinto que seja pior que qualquer outra pessoa.

1 Critico-me pelas minhas fraquezas ou erros.

2 Culpo-me constantemente pelas minhas faltas.

3 Culpo-me de todas as coisas más que acontecem.

9.

0 Não tenho qualquer ideia de me matar.

1 Tenho ideias de me matar, mas não sou capaz de as concretizar.

2 Gostaria de me matar.

3 Matar-me-ia se tivesse uma oportunidade.

10.

0 Não costumo chorar mais do que o habitual.

1 Choro mais agora do que costumava fazer.

2 Atualmente, choro o tempo todo.

3 Eu costumava conseguir chorar, mas agora não consigo, ainda que queira.

11.

0 Não me irrita mais do que costumava.

1 Fico aborrecido(a) ou irritado(a) mais facilmente do que costumava.

2 Atualmente, sinto-me permanentemente irritado(a).

3 Já não consigo ficar irritado(a) com as coisas que antes me irritavam.

12.

0 Não perdi o interesse nas outras pessoas.

1 Interesse-me menos do que costumava pelas outras pessoas.

2 Perdi a maior parte do meu interesse nas outras pessoas.

3 Perdi todo o meu interesse nas outras pessoas.

13.

0 Tomo decisões como antes.

1 Adio as minhas decisões mais do que costumava.

2 Tenho maior dificuldade em tomar decisões do que antes.

3 Já não consigo tomar qualquer decisão.

14.

0 Não sinto que a minha aparência seja pior do que costumava ser.

1 Preocupo-me porque estou a parecer velho(a) ou nada atraente.

2 Sinto que há mudanças permanentes na minha aparência que me tornam nada atraente.

3 Considero-me feio(a).

15.

0 Não sou capaz de trabalhar tão bem como antes.

1 Preciso de um esforço extra para começar qualquer coisa.

2 Tenho que me forçar muito para fazer qualquer coisa.

3 Não consigo fazer nenhum trabalho.

16.

0 Durmo tão bem como habitualmente.

1 Não durmo tão bem como costumava.

2 Acordo 1 ou 2 horas antes que o habitual e tenho dificuldade em voltar a adormecer.

3 Acordo várias vezes mais cedo do que costumava e não consigo voltar a dormir.

17.

0 Não fico mais cansado(a) do que o habitual.

1 Fico cansado(a) com mais dificuldade do que antes.

2 Fico cansado(a) ao fazer quase tudo.

3 Estou demasiado cansado(a) para fazer qualquer coisa.

18.

0 O meu apetite é o mesmo de sempre.

1 Não tenho tanto apetite como costumava ter.

2 O meu apetite, agora, está muito pior.

3 Perdi completamente o apetite.

19.

0 Não perdi muito peso, se é que perdi algum ultimamente.

1 Perdi mais de 2,5 kg.

2 Perdi mais de 5 kg.

3 Perdi mais de 7,5 kg.

Estou propositadamente a tentar perder peso, comendo menos.

Sim _____ Não _____

20.

0 A minha saúde não me preocupa mais do que o habitual.

1 Preocupo-me com problemas físicos, como dores e aflições, má disposição do estômago, ou prisão de ventre.

2 Estou muito preocupado(a) com problemas físicos e torna-se difícil pensar em outra coisa.

3 Estou tão preocupado(a) com os meus problemas físicos que não consigo pensar em qualquer outra coisa.

21.

0 Não tenho observado qualquer alteração recente no meu interesse sexual.

1 Estou menos interessado(a) na vida sexual do que costumava.

2 Sinto-me, atualmente, muito menos interessado(a) pela vida sexual.

3 Perdi completamente o interesse na vida sexual.

Total: _____

Classificação: _____

Pontuação:

0-9: sem depressão

10-18: depressão leve a moderada

19-29: depressão moderada a severa

30-63: depressão severa

ANEXO D - Mini Mental

Mini Mental

Paciente: _____

Data de avaliação: _____ Avaliador: _____

Orientação

- | | |
|--|-----|
| 1) Dia da Semana (1 ponto) | () |
| 2) Dia do Mês (1 ponto) | () |
| 3) Mês (1 ponto) | () |
| 4) Ano (1 ponto) | () |
| 5) Hora aproximada (1 ponto) | () |
| 6) Local específico (andar ou setor) (1 ponto) | () |
| 7) Instituição (residência, hospital, clínica) (1 ponto) | () |
| 8) Bairro ou rua próxima (1 ponto) | () |
| 9) Cidade (1 ponto) | () |
| 10) Estado (1 ponto) | () |

Memória Imediata

Fale três palavras não relacionadas. Posteriormente pergunte ao paciente pelas 3 palavras. Dê 1 ponto para cada resposta correta. ()

Depois repita as palavras e certifique-se de que o paciente as aprendeu, pois mais adiante você irá perguntá-las novamente.

Atenção e Cálculo

(100-7) sucessivos, 5 vezes sucessivamente (93,86,79,72,65)
(1 ponto para cada cálculo correto) ()

Evocação

Pergunte pelas três palavras ditas anteriormente
(1 ponto por palavra) ()

Linguagem

- | | |
|--|-----|
| 1) Nomear um relógio e uma caneta (2 pontos) | () |
| 2) Repetir “nem aqui, nem ali, nem lá” (1 ponto) | |

Praxias

- | | |
|--|-----|
| 1) Comando: pegue este papel com a mão direita, dobre ao meio e coloque no chão (3 pontos) | () |
| 2) Ler e obedecer: feche os olhos (1 ponto) | () |

Escrita

- | | |
|---------------------------------|-----|
| 1) Escrever uma frase (1 ponto) | () |
|---------------------------------|-----|

Habilidade construtiva

1) Copiar um desenho (1 ponto)

()

Escore: (/ 30)

Pontuação total – 30

Escore medianos por escolaridade:

para analfabetos: 20

escolaridade de 1 a 4 anos: 25

5 a 8 anos: 26,5

9 a 11 anos: 28

superior a 11 anos: 29