

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**



**ANDREA CAMARGO CASQUERO**

**EFEITOS DE HORMÔNIOS SEXUAIS MASCULINOS SOBRE O  
METABOLISMO DAS LIPOPROTEÍNAS PLASMÁTICAS E  
EXPRESSÃO DA CETP EM CAMUNDONGOS GENETICAMENTE  
MODIFICADOS SEDENTÁRIOS E EXERCITADOS**

Este exemplar corresponde à redação final  
da tese defendida pelo(a) candidato (a)  
ANDREA CAMARGO CASQUERO  
e aprovada pela Comissão Julgadora.  
\* Helena C. Oliveira

Tese apresentada ao Instituto de  
Biologia para obtenção do título de  
Doutor em Biologia Funcional e  
Molecular, na área de **Fisiologia**.

Orientadora: Prof. Dra. Helena Coutinho Franco de Oliveira

2005

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP**

**C270e**

Casquero, Andrea Camargo

Efeitos de hormônios sexuais masculinos sobre o metabolismo das lipoproteínas plasmáticas e expressão da CETP em camundongos geneticamente modificados sedentários e exercitados / Andrea Camargo Casquero. - Campinas, SP: [s.n.], 2005.

Orientadora: Helena Coutinho Franco de Oliveira.  
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.

1. Testosterona. 2. Aterosclerose. 3. Animais transgênicos. 4. Camundongo. 5. Exercícios físicos. I. Helena Coutinho Franco de Oliveira. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

**Título em inglês:** Effects of male sex hormone on the plasma lipoprotein metabolism and CETP expression in sedentary and trained genetically modified mice.

**Palavras-chave em inglês:** testosterone, atherosclerosis, transgenic animals, mice, physical exercises.

**Área de concentração:** Fisiologia.

**Titulação:** Doutorado.

**Banca examinadora:** Helena Coutinho Franco de Oliveira, Eliana Cotta de Faria, Maria Cristina Cintra Gomes Marcondes, Edna Regina Nakandakare, Bruno Geloneze Neto.

**Data da defesa:** 27/06/2005.

Data da Defesa: 27/06/2005

*BANCA EXAMINADORA:*



---

Profa Dra. Helena Coutinho Franco de Oliveira  
(orientadora)



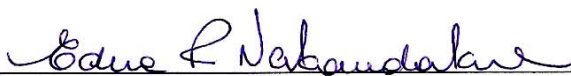
---

Profa. Dra. Eliana Cotta de Faria



---

Profa. Dra. Maria Cristina Cintra Gomes Marcondes



---

Profa. Dra. Edna Regina Nakandakare



---

Prof. Dr. Bruno Geloneze Neto

---

Profa. Dra Lúcia Nassi Castilho

---

Prof. Dr. Everardo Magalhães Carneiro

***DEDICO***

*Esta tese aos meus pais, Constantino Casquero Castro e  
Elisa Aparecida Camargo Casquero pela oportunidade da vida  
e por cuidarem de mim até hoje.*

## ***AGRADECIMENTO AOS FAMILIARES E AMIGOS***

Aos meus irmãos Ian e Xandi pelo companheirismo, amizade e amor.

Ao meu cunhado André, meu irmão.

A minha cunhada Fernanda, grande companheira.

Ao Rodolfo pelo carinho, amizade e incentivo.

A minha querida amiga Maria Helena sempre presente em minha vida e sempre me ajudando.

As minhas queridas amigas Sandra e Alessandra pela nossa grande amizade.

As minhas queridas amigas Graça e Rafa sempre estão perto não importa a distância.

Aos meus amigos Agreli, Marco, Danilo, Leni, Ricardo, Júlia, Luiza, Marisa, Emerson e Pedro, meus novos amigos.

A todos os amigos que me apoiaram direta ou indiretamente durante a realização deste trabalho.

## ***AGRADECIMENTOS***

- À professora Dra. Helena Coutinho Franco de Oliveira meus agradecimentos especiais por ter me confiado a realização deste trabalho e pela sua seriedade acadêmica não somente na orientação desta tese, como também durante toda sua trajetória como cientista.
- Aos professores Dr. Antonio Carlos Boschero e Dr. Everardo Magalhães Carneiro do Laboratório Pâncreas Endócrino e Metabolismo, do Departamento de Fisiologia e Biofísica da Unicamp.
- Aos Professores Dr. Éder C. R. Quintão e Dra. Edna Regina Nakandakare, que generosamente proporcionaram livre acesso aos seus laboratórios e aos recursos neles disponíveis.
- Às professoras Dra. Eliana Cotta de Faria e Dra. Lúcia Nassi Castilho do Departamento de Patologia Clínica da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp,
- Aos amigos e colaboradores do grupo de pesquisa em Metabolismo de Lipoproteínas: Adriano Affonso Mariscal, Alessandro G. Salerno, Denise Beheregaray Kaplan, Eliette Janaína B. Bighetti, Gabriel de Gabriel e Dorighello, Jairo Augusto Berti, Laura Lauand S. Teixeira, Maria Lúcia Bonfleur, Nathasha Stigliano Praxedes, Patrícia Riva Patrício, Roberto Schreiber, Tiago Rodrigues e Silva.
- A Prof. Dra. Maria Cristina Cintra Gomes Marcondes, por ceder gentilmente o equipamento para análise histológica computadorizada das imagens das lesões ateroscleróticas.
- As amigas do Laboratório de Aparelho Digestivo e Nutrição: Mércia Tancredo Toledo, Gislaine Ventrucci, Emilianne Miguel Salomão, Claudia Lumi Yano.

- Aos amigos do Laboratório de Pâncreas Endócrino e Metabolismo, Luiz Fabrizio Stopiglia, Fabiano Ferreira, Helena de L. Barbosa, Viviane D. Augusto, Eliane Filiputti, Maria Esméria C. do Amaral, Vanessa C. Arantes, Marise Reis, Daniel A. Cunha, Luis F. Rezende, Roberto Vilela Velloso, Vanessa Giozzet..
- Ao funcionário Léscio Domingos Teixeira pela seriedade e competência profissional.
- Aos funcionários do Departamento de Fisiologia e Biofísica: Ivo S. Moreira, Alexandra M. F. Rosa, Dona Josefina S. M. Nogueira (“Dona Zefa”), Lucilene G. Damaceno (“Dona Lu”) e Maria Aparecida Geraldo (“Dona Cida”) (*in memórian*).
- A todos os companheiros de trabalho e do curso de pós-graduação não citados, mas que com certeza em algum momento, contribuíram direta ou indiretamente com informações técnicas e a própria amizade.
- A todos os docentes do Departamento de Fisiologia e Biofísica, na pessoa do Prof. Dr. Miguel Arcanjo Areas, Chefe do Departamento de Fisiologia e Biofísica da Unicamp.
- Ao PRONEX/CNPq e FAPESP pelo apoio financeiro

## ***RESUMO***

As diferenças entre gêneros quanto ao perfil de lipoproteínas (LP) plasmáticas e risco de doenças ateroscleróticas são geralmente atribuídas aos efeitos protetores dos estrógenos e/ou pró-aterogênicos dos andrógenos. Neste trabalho realizamos três estudos dos efeitos de variações da concentração de testosterona sobre o metabolismo das LP e aterosclerose em camundongos que expressam a proteína de transferência de colesterol éster (CETP) com ou sem deficiência parcial do receptor de LDL. No primeiro estudo, mostramos que a deficiência de testosterona aumentou os níveis plasmáticos de LDL e de anticorpos anti-LDL oxidada e duplicou o tamanho médio da lesão aterosclerótica da raiz da aorta. A expressão da CETP neste modelo levou a um menor aumento de LDL e redução significativa do tamanho da lesão aterosclerótica. No segundo trabalho, comparamos os efeitos da suplementação com testosterona, na sua forma metabolizável ou não. Mostramos que a testosterona, seja metabolizável ou não, induziu elevações significativas de LDL e HDL. Somente a testosterona metabolizável aumentou a expressão da CETP e reduziu a de lipase hepática. No terceiro estudo, investigamos a interação entre os efeitos da testosterona não metabolizável (Mesterolona) e do exercício físico. Verificamos que o exercício físico aumentou HDL, de maneira mais potente nos animais que expressavam a CETP e nos animais que não foram tratados com Mesterolona. O exercício também reduziu a atividade da CETP, os níveis de triglicérides e ácidos graxos livres, independentemente do tratamento com Mesterolona. O tratamento com Mesterolona aumentou VLDL, independente do genótipo e do estado de atividade física, e reduziu HDL nos animais exercitados.



## ***ABSTRACT***

Gender differences in lipoprotein profile and atherosclerotic disease risk are generally attributed to an attenuating effect of estrogen and/or to a proatherogenic action of androgens. In this work we studied the effects of deficiency and excess of testosterone on the lipoprotein metabolism and development of atherosclerosis in transgenic mice expressing CETP with or without partial deficiency of the LDL receptor. In the first study, we showed that testosterone deficiency increased the levels of plasma LDL-cholesterol, and the titers of auto-antibodies anti-oxidized LDL and doubled the size of atherosclerotic lesions in the aortic roots. CETP expression in this animal model led to a less pronounced elevation of LDL-cholesterol and reduced significantly the atherosclerotic lesion size. In the second study, we compared the effects of two types of testosterone supplementation, metabolizable or not. We showed that either type of testosterone induced significant elevations in LDL- and HDL- cholesterol. However, only the metabolizable testosterone promoted an increase in the CETP and a reduction in the hepatic lipase expression. In the third work, we investigated the interaction between the effects of non metabolizable testosterone (mesterolone) and physical exercise. We observed that the physical exercise increased HDL, more potently in animals expressing CETP and without mesterolone treatment. Physical exercise also reduced the CETP activity, triglycerides and free fatty acids levels, independently of the mesterolone treatment. The treatment with mesterolone increased VLDL, independently of the genotype and physical active state, and reduced HDL in the exercised mice.

## ***LISTADE ABREVIATURAS***

ABCA1 - *ATP-binding cassette transporter-A1*  
AGL - Ácidos graxos livres  
AN - Androgenol  
apoAI - Apolipoproteína AI  
apoAII- Apolipoproteína AII  
apoE - Apolipoproteína E  
AR - Receptor androgênio  
CE - Colesteril éster  
CETP - Proteína de transferência de colesteril éster  
COL - Colesterol  
DAC - Doença arterial coronariana  
DHT - Diidrotestosterona  
DT - Durateston  
EAA - Esteróides androgênicos anabolizantes  
ER - Receptor estrogênio  
FPLC - Cromatografia líquida de alta resolução  
HDL - Lipoproteína de alta densidade  
HMG-CoA - 3-hidroxi-3-metil-glutaril coenzima A redutase  
IDL - Lipoproteína de densidade intermediária  
LCAT - Lecitina: colesterol acil transferase  
LDL - Lipoproteína de baixa densidade  
LDLR1 - Camundongo com 1 alelo do gene do receptor da LDL inativado  
LH - Lipase hepática  
LP - Lipoproteína  
LPL - Lipoproteína lipase  
LRP- *LDL receptor related protein*  
MEST - Mesterolona  
QM - Quilomicrom  
SR-B1 - Receptores *scavenger*, classe B tipo 1  
Tg - Transgênicos  
TG - Triglicérides  
TRC - Transporte reverso do colesterol  
VLDL - Lipoproteína de densidade muito baixa

## ***SUMÁRIO***

<b>RESUMO .....</b>	<b>viii</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>ix</b>
<b>LISTADE ABREVIATURAS.....</b>	<b>x</b>
<b>I -APRESENTAÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>II - INTRODUÇÃO</b>	
• <i>Metabolismo de lipoproteínas e aterosclerose.....</i>	<b>4</b>
• <i>Transporte reverso do colesterol .....</i>	<b>6</b>
• <i>Regulação do gene da CETP .....</i>	<b>6</b>
• <i>CETP e aterosclerose.....</i>	<b>8</b>
• <i>Hormônios sexuais, lipoproteínas e doença coronariana.....</i>	<b>9</b>
• <i>Condicionamento físico e metabolismo das lipoproteínas .....</i>	<b>11</b>
• <i>A testosterona e seus metabólitos.....</i>	<b>12</b>
• <i>Uso de esteróides androgênicos anabolizantes.....</i>	<b>20</b>
• <i>Modelo animal.....</i>	<b>21</b>
<b>III - OBJETIVOS.....</b>	<b>23</b>
<b>IV- MATERIAIS e MÉTODOS .....</b>	<b>24</b>
<b>V - RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	
1 <i>Estudo da deficiência de testosterona.....</i>	<b>34</b>
2 <i>Estudo da suplementação com testosterona.....</i>	<b>42</b>
3 <i>Estudo da interação entre exercício e testosterona.....</i>	<b>48</b>
<b>VI- CONCLUSÕES.....</b>	<b>55</b>
<b>VII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>60</b>
<b>VIII - TABELAS.....</b>	
<b>IX - FIGURAS.....</b>	
<b>X -ANEXO 1: Compilação da literatura sobre testosterona e     perfil lipídico.....</b>	
<b>XI -ANEXO 2: Análise de variância multifatorial dos dados     do Estudo da interação entre exercício     e testosterona.....</b>	

## I- APRESENTAÇÃO

A proteína de transferência de colesterol éster (CETP) é uma proteína que, no compartimento plasmático de mamíferos, promove um fluxo resultante de colesterol éster (CE) das HDL para as lipoproteínas (LP) que contêm apoproteína B (apoB-LP): quilomícrons, VLDL, LDL (Tall, 1993). Este processo de transferência é bidirecional, ocorre em troca de triglicérides (TG) ou de CE (*homo* ou *heteroexchange*) e não é equimolar (Oliveira e Quintão, 1996). Portanto, a ação da CETP altera a composição química e a distribuição de colesterol nas lipoproteínas plasmáticas, e com isso, a atividade desta proteína pode alterar o risco de desenvolvimento de aterosclerose, o qual é positivamente correlacionado às concentrações de LDL e inversamente correlacionado às concentrações de HDL.

Em seres humanos, a deficiência genética de CETP acompanhada de altas concentrações de HDL-colesterol (>60 mg/dL) está estatisticamente correlacionada a um menor risco de doença arterial coronariana (DAC). No entanto, indivíduos com deficiência de CETP com níveis moderadamente altos de HDL (40-60 mg/dL) apresentam maior risco de DAC (Zhong et al, 1996). Estudos em camundongos transgênicos têm mostrado que a expressão da CETP pode ser pró- ou anti-aterogênica dependendo do contexto metabólico (Marotti et al., 1993; Plump et al., 1999; Hayek et al., 1995; Foger et al., 1999; Cazita et al., 2003; Berti et al., 2005). Isso cria a necessidade de se investigar o papel da CETP em cada situação metabólica específica.

O interesse maior de nosso grupo de pesquisa é investigar a regulação hormonal da expressão do gene da CETP, seu impacto sobre o metabolismo das LP e sobre o desenvolvimento de aterosclerose em diversas condições fisiopatológicas. Neste trabalho, a nossa atenção voltou-se para os hormônios sexuais masculinos.

As diferenças dos gêneros quanto ao risco de DAC são geralmente atribuídas a efeitos protetores dos estrógenos e/ou pró-aterogênicos dos andrógenos (Green & Bain, 1993; Sullivan et al, 1998). No entanto, o papel dos andrógenos no metabolismo das LP é controverso. Enquanto em diversos modelos experimentais seu uso aumenta a severidade da aterosclerose (Adams et al 1995; Fischer et al, 1985), em outros estudos é a deficiência de testosterona que prejudica o perfil lipoproteico e aumenta a aterosclerose (Xu et al., 2002; Nathan et al., 2001).

Os níveis plasmáticos de CETP diferem nos homens e mulheres (Stevenson, 1998), porém tratamentos com testosterona ou estrógenos não alteram a atividade da CETP no plasma de seres humanos e animais (Buckler et al, 1997; Tan et al.,1998; Vadlamudi et al, 1998; Tilly-Kiesi et al, 1997; Zuckerman et al, 1999). Recentemente, foi mostrado que, apesar da castração não alterar a expressão da CETP em camundongos transgênicos fêmeas, houve uma proteção significativa no desenvolvimento de aterosclerose conferida pela expressão da CETP nas fêmeas castradas (Cazita et al, 2003).

Assim, o primeiro objetivo deste trabalho foi investigar os mecanismos envolvidos nas alterações das LP na deficiência de testosterona e testar a hipótese de que a expressão da CETP também modula a aterosclerose em machos deficientes de testosterona.

A deficiência de testosterona é uma situação experimental importante para demonstrar o papel da testosterona no metabolismo das LP e na expressão de proteínas específicas, bem como para a compreensão das repercussões de estados como retardo do desenvolvimento puberal e hipogonadismo. Por outro lado, a suplementação com testosterona tem sido indicada em diversas situações tais como reposição hormonal para hipogonadismo, indivíduos idosos, pós-cirurgia de castração por câncer de próstata ou de testículo, como anabolizante para pacientes terminais e também, como anabolizante para aumentar o rendimento esportivo ou para modelagem corporal (Mottram & George, 2000, Alexandersen and Christiansen, 2004, Swerdloff & Wang , 2004). Diversos efeitos colaterais são descritos, os quais variam em função do tipo de testosterona, dose e tempo de uso, entre eles estão alterações no perfil de LP e doenças cardiovasculares (Mottram & George, 2000, Hartgens and Kuipers, 2004). Assim, em um segundo estudo, avaliamos o efeito da suplementação dos camundongos transgênicos com testosterona, na sua forma metabolizável ou não, sobre a expressão da CETP e sua repercussão no metabolismo das HDL.

Como a suplementação com testosterona é muito utilizada em associação com treinamento físico, e como existe controvérsia sobre o efeito do exercício físico na expressão da CETP (Gupta et al., 1993; Seip et al., 1993), um terceiro estudo foi realizado com o objetivo de

estudar a interação entre treinamento físico e suplementação com testosterona não metabolizável sobre a expressão da CETP e concentração das LP plasmáticas.

## II-INTRODUÇÃO

### II.1- Metabolismo de lipoproteínas e aterosclerose

A aterosclerose, principal responsável pela patogênese do infarto miocárdico e cerebral, da gangrena e outras doenças vasculares periféricas, permanece como principal causa de morbidade e mortalidade nas populações “ocidentalizadas”. Anormalidades no metabolismo das lipoproteínas plasmáticas, principalmente em lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e de alta densidade (HDL), são fatores de risco primários para aterosclerose, cuja lesão mais precocemente reconhecível caracteriza-se por uma agregação de macrófagos carregados de colesterol (*foam cells*) e linfócitos T na íntima arterial, a chamada *fatty streak*. A ubiquidade do processo aterosclerótico é atestada pela detecção de *fatty streaks* em 50% das autópsias realizadas em coronárias de crianças entre 10 e 14 anos. As lesões iniciais progridem em função de uma resposta inflamatória-fibroproliferativa exagerada ao dano ou disfunção das células endoteliais e musculares lisas da parede arterial (Ross, 1993).

A homeostase do colesterol no compartimento plasmático e nos tecidos é regulada por processos fisiológicos complexos que envolvem a síntese e secreção de lipoproteínas, atividade de receptores celulares específicos para as lipoproteínas, atividade de enzimas lipolíticas e de proteínas de transferência de lipídeos.

Há cinco classes principais de lipoproteínas plasmáticas (LP) transportadoras de lipídeos, classificadas de acordo com a sua densidade: as LP de alta, baixa, intermediária e muito baixa densidade, respectivamente, HDL, LDL, IDL e VLDL, além dos quilomícrons (QM). As várias LP diferem entre si em termos de densidade, tamanho e migração eletroforética porque têm composição lipídica e protéica distintas. QM e VLDL são as chamadas LP ricas em triglicérides (TG), de origem intestinal e hepática, respectivamente. Essas LP são metabolizadas no compartimento vascular pela lipoproteína lipase (LPL) que hidrolisa seus TG gerando partículas remanescentes de quilomícrons e de VLDL enriquecidas em colesterol. As IDL são os produtos intermediários e as LDL os produtos finais do catabolismo intravascular das VLDL. A LDL é a LP mais abundante do plasma dos seres humanos (cerca de 70 % do colesterol plasmático é encontrado nessa fração). As IDL e LDL são removidas da circulação sanguínea via receptores de LDL amplamente expressos em tecidos em proliferação, tecidos esteroideogênicos (gônadas e adrenal) e principalmente fígado (Brown e Goldstein, 1986). Os

remanescentes de QM e as IDL são também rapidamente captados por outros receptores hepáticos chamados LRP (*LDL receptor related protein*) (Herz et al., 1988). Uma vez dentro da célula, o colesterol derivado das LP exerce várias ações regulatórias, incluindo a repressão da expressão da enzima que catalisa a etapa limitante da biossíntese do colesterol, a HMG-CoA redutase, e a repressão da transcrição do gene do receptor da LDL. Desta forma, as células se protegem de um aumento excessivo da concentração de colesterol. Por outro lado, na deficiência de colesterol, as células aumentam a expressão da HMG-CoA redutase estimulando a síntese *de novo* de colesterol e aumentam também a expressão dos receptores de LDL promovendo captação do colesterol exógeno. Os mecanismos moleculares envolvidos nesta fina regulação da concentração intracelular de colesterol foram elegantemente elucidados pelos prêmios-Nobel, Michael Brown e Joseph Goldstein (Brown e Goldstein, 1997). Como consequência, a concentração de LDL no plasma varia em função do número de receptores de LDL nos tecidos, principalmente no fígado. Estes podem estar diminuídos por defeito genético ou por excesso de colesterol na dieta que aumenta o aporte de lipoproteínas de origem intestinal (QM e remanescente) para o fígado.

Concentração elevada de LDL plasmática resulta em aumento da quantidade de LDL que se infiltra no espaço subendotelial. A LDL interage com elementos da matriz extracelular (ex.: glicosaminoglicanos e colágenos) e fica retida por mais tempo neste microambiente, onde sofre alterações químicas tais como oxidação e proteólise. Esta LDL quimicamente modificada estimula as células endoteliais a expressarem moléculas de adesão facilitando a adesão e transmigração de células linfomonocitárias circulantes para o espaço subendotelial. Os monócitos proliferam-se e diferenciam-se em macrófagos que captam as LDL modificadas através de uma classe de receptores chamados *scavenger*. Diferentemente dos receptores de LDL, os receptores *scavenger* não são regulados e os macrófagos captam as LDL modificadas de maneira contínua transformando-se em *foam cells*. Com o tempo, as *foam cells* morrem e vão constituir o núcleo necrótico da lesão aterosclerótica avançada. Células musculares lisas também migram da camada adventícia para íntima, proliferam-se e eventualmente transformam-se em *foam cells*. O processo ocorre em progressão geométrica com a participação de um grande número de fatores de crescimento, citocinas e moléculas vasoregulatórias (Ross, 1993; Lusis, 2000 e Libby, 2000).



## **II.2- Transporte reverso de colesterol**

Alterações dos níveis plasmáticos de LDL- e HDL-colesterol produzem efeitos muito distintos no risco relativo para doença arterial coronariana. Este risco está diretamente correlacionado à concentração plasmática de LDL-colesterol e inversamente à concentração plasmática de HDL-colesterol (Huusknen e Ehnholm, 2000; Pedersen, 2001; Assmann, 2001, Muller, 2003). Uma das teorias que explica o papel atero-protetor da HDL é o chamado transporte reverso de colesterol (TRC) um eficiente mecanismo para descartar o excesso do colesterol dos tecidos através da excreção pelo fígado. Este sistema envolve o efluxo de colesterol livre das membranas celulares, via transportador ABCA1 (*ATP binding cassette transporter*) (Dean et al., 2001; Oram et al., 2000) para as apoA-I pobres em lipídeos e para as próprias HDL. Os passos subsequentes do TRC são a esterificação do colesterol pela LCAT (*lecithin-cholesterol acyl transferase*) (Glomset, 1968) e a transferência do colesterol éster (CE) para lipoproteínas ricas em TG mediada pela CETP (Hesler et al., 1987; Tall et al., 2000). Posteriormente, o CE pode ser transferido para o fígado diretamente da HDL através dos receptores SR-BI (Acton et al., 1996; Landschulz et al., 1996) e indiretamente das apoB-LP, através do receptor de LDL (Brown & Goldstein, 1986) e do LRP (Herz et al., 1988). A ação da CETP na HDL facilita a velocidade de efluxo de colesterol da célula e esterificação de colesterol pela LCAT (Oliveira et al., 1997). Também a ação combinada da CETP e lipase hepática na HDL<sub>2</sub> madura, regenera HDL<sub>3</sub> e pré-beta-HDL, subfrações que são melhores aceptoras de colesterol das células (Bruce et al., 1998), e facilita a captação seletiva de CE de HDL por células que expressam SR-BI (Collet et al., 1999). As HDL têm ainda outras propriedades anti-aterogênicas, tais como ação anti-inflamatória, anti-oxidante e anti-trombogênica (Stein & Stein, 1999; Kwiterovich, 2000).

## **II.3- Regulação do gene da CETP**

A CETP é uma glicoproteína plasmática hidrofóbica constituída por 476 aminoácidos, e seu peso molecular aparente varia de 66 a 74 KDa em gel de poliacrilamida com SDS. Seu gene situa-se no braço longo do cromossomo 16 e consiste de 16 exons e 15 introns, perfazendo um total de 25 Kb de DNA genômico (Tall, 1995).

Nos seres humanos, os órgãos que mais expressam o mRNA da CETP são o fígado, baço e tecido adiposo, e níveis mais baixos de expressão são encontrados no intestino delgado,

adrenal, rim e coração (Jiang et al., 1991 e Drayna et al., 1987). A síntese hepática parece ser a maior fonte de CETP no plasma dos primatas (Son et al., 1986). Em várias espécies (humanos, primatas, coelhos, hamsters) observa-se que o tecido adiposo apresenta a maior conservação da expressão do mRNA da CETP (Jiang et al., 1991), porém camundongos e ratos não apresentam ou apresentam muito baixa atividade da CETP no plasma (Ha & Barter, 1982).

A expressão gênica da CETP pode ser regulada por estímulos nutricionais, hormonais e inflamatórios (Tall, 1993;1995).

Em uma variedade de espécies, coelhos (Quinet et al., 1990), macacos (Quinet & Tall, 1991), hamsters (Jiang et al., 1991), camundongos transgênicos (Jiang et al., 1992) e seres humanos (Martin et al., 1993), observou-se aumento do mRNA da CETP em resposta à dieta rica em colesterol. A hiperlipidemia endógena pode induzir aumento da expressão do gene da CETP por um mecanismo similar ao observado com dieta rica em colesterol (Tall, 1995). Oliveira et al (1996) localizaram a região responsiva ao colesterol no promotor do gene da CETP, enquanto Lou & Tall (2000) mostraram que o transativador LXR (*Liver X receptor*) era o responsável pela ativação do gene da CETP na vigência de dieta rica em colesterol.

A hiperinsulinemia produzida durante o procedimento de “clamp” euglicêmico-hiperinsulinêmico diminui a atividade da CETP em diabéticos do tipo 2 (Sutherland et al., 1994). Em hamsters, o mRNA da CETP no tecido adiposo está aumentado durante o jejum e diminuído com a alimentação (Jiang et al., 1991). Recentemente, Berti et al (2003) mostraram que a insulina regula negativamente a expressão da CETP.

Hormônios da tireóide também podem alterar a expressão da CETP. Tan et al. (1998) verificaram **uma** diminuição da atividade da CETP em pacientes hipotireoideos e **um** aumento nos pacientes hipertireoideos, quadro que foi revertido com o tratamento para restabelecer a função tireoideana. Em estudos com camundongos transgênicos para CETP, observou-se que o excesso de hormônio tireoideano aumentou a atividade plasmática da CETP, enquanto no hipotireoidismo não houve alteração da CETP (Berti et al., 2001).

A expressão do gene da CETP é influenciada também pelos corticoesteróides. Tratamento com corticoesteróides em seres humanos e camundongos transgênicos para CETP induziu diminuição das concentrações plasmáticas da CETP (Tall,1995). Nos camundongos transgênicos para CETP esse efeito foi mediado por uma diminuição do mRNA da CETP no fígado (Masucci-Magoulas et al., 1995).

Mulheres normolipidêmicas apresentam maiores concentrações plasmáticas de CETP que homens (Stevenson, 1998; Kinoshita et al., 1996; Marcel et al., 1990) bem como as pré-menopausadas quando comparadas às pós-menopausadas (Zhang et al., 2001). No entanto, Kinoshita et al. (1996) não observaram variação de CETP em mulheres ao longo da idade, 31 a 70 anos. A atividade plasmática da CETP encontra-se diminuída durante a gestação em coelhos. No entanto, está aumentada no segundo e terceiro trimestre de gestação em seres humanos. Diversos tratamentos com estrógeno ou testosterona parecem não alterar a atividade da CETP no plasma de seres humanos (Buckler et al., 1997; Tilly-Kiesi et al., 1997; Tan et al., 1998) e animais (Vadlamudi et al., 1998; Zuckerman et al., 1999). Em camundongos, tanto a ooforectomia (Vladamudi et al., 1998) quanto a administração de  $17\beta$ -etinil estradiol (Zuckerman et al., 1999) não alteraram a atividade da CETP. A castração em fêmeas de camundongos transgênicos para CETP mostrou que a expressão desta proteína não estava alterada pela deficiência de estrógeno (Cazita et al., 2003). Mesmo assim, a expressão da CETP reduziu o desenvolvimento de aterosclerose nas fêmeas castradas (Cazita et al., 2003).

#### **II.4- CETP e aterosclerose**

A ação da CETP modifica a distribuição de colesterol nas lipoproteínas plasmáticas, e com isso, a atividade desta proteína pode alterar o risco de desenvolvimento de aterosclerose (Tall, 1995). A atividade da CETP induz o enriquecimento das apoB-LP com colesterol éster. Estas podem aumentar a quantidade de colesterol transportado para os tecidos extra-hepáticos, inclusive parede arterial (ação aterogênica). Entretanto, se não houver limitação da via de captação de colesterol pelo fígado, de onde este pode ser excretado na bile, a ação da CETP pode ser considerada anti-aterogênica (Tall, 1995).

A deficiência genética da CETP foi documentada pela primeira vez em 1985 por Kurasawa e Koizumi e seus colaboradores. Desde então, mutações e polimorfismos nas regiões codificadoras e regulatórias do gene da CETP têm sido descritos e sua relação com aterosclerose investigada em populações asiáticas, caucasianas, afro-americanas e outras (Nagano et al., 2004; Thompson et al., 2004). Em seres humanos, a deficiência genética de CETP acompanhada de altas concentrações de HDL-colesterol ( $>60\text{mg/dL}$ ) está estatisticamente correlacionada a um menor risco de doença arterial coronariana (DAC). No

entanto, indivíduos com deficiência de CETP com níveis moderadamente altos de HDL (40-60 mg/dL) apresentam maior risco de DAC (Zhong et al., 1996). Estudos com inibidores da CETP têm sido considerados como terapia anti-aterogênica (Okamoto, *et al.*, 2000; Huang *et al.*, 2002; Barter *et al.*, 2003, Clark et al., 2004; Brousseau et al., 2004).

Durante os últimos anos, estudos com camundongos geneticamente modificados mostraram que a ação da CETP é claramente dependente do contexto metabólico. O papel protetor da CETP foi demonstrado em camundongos transgênicos expressando CETP em condições de hipertrigliceridemia (Hayek et al., 1995), na super expressão da LCAT (Foger et al., 1999; Berti et al., 2005), na super expressão da apoB combinada com deficiência da lipoproteína lipase e diabetes (Kako et al., 2002) e em camundongos ovariectomizados (Cazita et al., 2003). Contudo, outros autores observaram ações pró-aterogênicas em camundongos que expressam a CETP em concentrações supra-fisiológicas (Marotti et al., 1993) em hipercolesterolemia severa por ausência completa de receptores LDL ou da apoE (Plump et al., 1999) e em ratos hipertensos (Herrera et al., 1999). Há ainda situações onde a expressão da CETP é neutra para o desenvolvimento de aterosclerose (Foger et al., 1999; Berti et al., 2005).

## **II.5- Hormônios sexuais, lipoproteínas e doença coronariana**

Hormônios sexuais são reguladores chave do metabolismo das LP, o que se verifica pela diferença nos perfis lipoprotéicos que emergem na puberdade. Ocorrem mudanças dinâmicas nos níveis séricos das LP durante a maturação sexual antes do padrão adulto estabelecer-se (Srinivasan et al., 1985). Meninas possuem níveis mais altos de VLDL-colesterol e níveis similares de HDL-colesterol quando comparadas aos meninos. Durante a adolescência, os níveis de HDL- e LDL-colesterol diminuem, sendo a diminuição de HDL-colesterol mais pronunciada em meninos do que em meninas. Meninos, diferentemente das meninas, continuam a apresentar um aumento em VLDL-colesterol. Os níveis de HDL-colesterol estão relacionados negativamente com a testosterona em meninos púberes e positivamente com estradiol em meninas púberes. Essas observações demonstram que as alterações nas lipoproteínas em adolescentes estão altamente relacionadas aos hormônios sexuais (Srinivasan et al., 1985).

Em geral, homens adultos têm maiores níveis de LDL e menores níveis de HDL que as mulheres pré-menopausadas da mesma idade. Observa-se também um menor risco para doença

coronariana (DC) nessas mulheres quando comparadas aos homens e às mulheres pós-menopausadas (Bagatell & Bremner, 1995; Legato, 2000).

A testosterona é o principal hormônio masculino. É sintetizado nas células de Leydig do testículo e no córtex da glândula adrenal, porém neste último em quantidade muito pequena (Griffin et al., 1998). Vermuelen *et al.* (1980 e 1985) e outros demonstraram que os níveis de testosterona diminuem com a idade. Essa diminuição frequentemente começa antes dos 30 anos em homens aparentemente saudáveis (Simon et al., 1992; Freedman et al., 1991). No entanto, os níveis de HDL-colesterol em homens permanecem constante a cada década da vida adulta (Kannel, 1988). Em uma revisão, Barrett-Connor (1995) mostrou que entre treze estudos com homens adultos, dez observaram que os níveis de testosterona total estavam significativamente e positivamente correlacionados com HDL-colesterol; exatamente o oposto do esperado se a testosterona fosse responsável pelos menores níveis de HDL.

Vários fatores que afetam os níveis de HDL-colesterol também estão associados com níveis endógenos de testosterona (Heiss et al., 1980). Por exemplo, obesidade masculina (depósito de gordura central ou no tronco) está associada com dislipidemia e baixos níveis de testosterona (Kannel, 1988; Stefanick et al., 1987; Seidell et al., 1991; Pasquali et al., 1991; Phillips, 1993).

Por outro lado, vários autores relataram aumento da fração LDL-colesterol em situações de deficiência de testosterona em diferentes espécies, inclusive em seres humanos hipogonádicos (Oppenheim et al., 1989; Alexandersen et al., 1999; Haug et al., 1985; Uyanik et al., 1997; Heiss et al., 1980). Haug *et al.* (1985), também observaram aumento nos níveis de apoB em ratos castrados. Uma diminuição da HDL foi observada em estudos realizados em homens hipogonádicos (Tan et al., 1998; Ozata et al., 1996) e em camundongos castrados (Grainger et al., 1995). Contudo, outros autores encontraram o inverso, i.e., aumento ou nenhuma variação nos níveis de HDL em homens com deficiência de testosterona (Bagatell et al., 1992; Von Eckerdstein et al., 1997; Tang et al., 1991; Oppenheim et al., 1989; Alexandersen et al., 1999), em macacos (Greger et al., 1990) e camundongos castrados (Reckless et al., 1997).

Solyom já havia relatado em 1971, em seus trabalhos com fisiculturistas e halterofilistas, a habilidade da testosterona e seus derivados em induzirem modificações desfavoráveis no perfil lipoprotéico. Supressão dos níveis de HDL após suplementação com testosterona em

indivíduos saudáveis também foi observada por outros (Bagatell et al., 1994; Zmuda et al., 1993; Anderson et al., 1995). Outros autores relataram pequeno ou nenhum efeito da testosterona sobre a concentração de LDL-colesterol (Webb et al., 1984; Hinkel et al., 1985; Kirkland et al., 1987; Sorva et al., 1988; Thompson et al., 1989; Frisch & Sumida, 1999).

As razões para estas discrepâncias de resultados não são claras. Entretanto, elas podem estar relacionadas a diferenças na etiologia do hipogonadismo, variabilidade entre as espécies animais estudadas, a via de administração, o tipo e a dose de hormônio utilizado e o tempo de tratamento. Um levantamento detalhado sobre os efeitos da testosterona e seus derivados sobre os lipídeos e LP em várias espécies é apresentada no ANEXO 1.

## **II.6 - Condicionamento físico e metabolismo das lipoproteínas**

Vários estudos têm documentado os efeitos do exercício físico sobre a concentração plasmática dos lipídeos. Está descrito que o exercício aumenta os níveis de HDL-colesterol em humanos (Haskell, 1984; Wood & Haskell, 1979; Hoffman et al., 1967; Hartung et al., 1980; Martin et al., 1977; Criqui et al., 1980; Wood et al., 1977; Enger et al., 1977; Lehtonen & Viikari, 1978). Esse aumento pode estar associado com **um** aumento da atividade da LPL e **uma** diminuição das concentrações plasmáticas de TG (Peltonen et al., 1981; Robinson et al., 1970; Huttunen et al., 1976; Nikkila et al., 1978). Herbert *et al.* (1984) e Thompson *et al.* (1991) mostraram que treinamento físico em humanos estava associado com elevação das concentrações de HDL-colesterol por aumentar o tempo de residência de apoAI e apoAII de HDL no plasma.

Gupta *et al.* (1993) observaram em atletas aumento da atividade da LCAT e CETP, diminuição nos níveis de LDL-colesterol e apoB, como também aumento da remoção de colesterol livre em cultura de fibroblastos de atletas. Contudo, os níveis de HDL-colesterol e apoAI estavam similares aos controles sedentários. Tsopanakis *et al.* (1988), comparando diferentes esportes, relataram aumento da atividade da LCAT plasmática de 2,2 a 7 vezes nos esportistas em relação aos indivíduos sedentários. Em outro estudo com atletas, os efeitos observados após uma prova de ciclismo de longa distância indicaram diminuição nos níveis plasmáticos de colesterol total, triglicérides, apoB, massa e atividade da CETP, quando comparados com os valores pré-prova (Foger et al., 1999). Siep *et al.* (1993) observaram que o treinamento físico durante 1 ano em homens e mulheres normolipidêmicos diminuiu os níveis

de triglicérides, a concentração plasmática de CETP e aumentou a concentração de HDL-colesterol. Entretanto, Thomas *et al.* (1985), em estudo com jovens universitários, não observaram alterações nos níveis plasmáticos de colesterol total, HDL-colesterol, apo AI e apoB ou LCAT, após treinamento com corrida intervalada e contínua durante 11 semanas.

Estudos em animais têm também avaliado o papel do exercício físico no metabolismo dos lipídeos. Exercícios em ratos tratados com dieta hipercolesterolêmica provocaram aumento nos níveis de HDL-colesterol (Pels *et al.*, 1991), mas tal efeito não foi observado em ratos normolipidêmicos (Pels *et al.*, 1985). O treinamento físico nos ratos aumentou tanto o tempo de residência de HDL-CE e apolipoproteínas como também as concentrações de HDL-colesterol (Pels *et al.*, 1991). Em porcos, o exercício também mostrou uma tendência em aumentar os níveis de HDL-colesterol. Em alguns estudos, esse efeito não foi estatisticamente significativo (Gross *et al.*, 1983; Pedersoli, 1978; Stucchi *et al.*, 1991; Van Oort *et al.*, 1987). von Duvillard *et al.* (2000), em estudos com porcos tratados com dieta hipercolesterolêmica e submetidos ao exercício, observaram prolongado tempo de residência e aumento da concentração de HDL-CE no plasma. Stucchi *et al.* (1991) mostraram que treinamento físico prolongado em porcos resultou em aumento do tempo de residência de LDL-colesterol no plasma sem afetar significativamente os níveis plasmáticos de colesterol total e TG.

## **II.7- A testosterona e seus metabólitos**

A função dos hormônios testiculares na fisiologia foi estabelecida em estudos de castração masculina na antiguidade e confirmou o experimento de transplante testicular realizado por Berthold em 1849 (Wilson, 2001). Mas a moderna fisiologia dos andrógenos iniciou-se quando Bouin e Ancel deduziram o papel das células de Leydig na formação dos hormônios testiculares em 1903. Porém, somente em 1935, David e colaboradores conseguiram isolar a testosterona, um dos mais potentes hormônios androgênicos. Neste mesmo ano, Ruzicka e Wettstein a sintetizaram-na (Goodman & Gilman, 1996).

A biossíntese da testosterona ocorre nas células de Leydig dos testículos e nas glândulas adrenais nos homens e apenas pelas glândulas adrenais nas mulheres (Mottram *et al.*, 2000). Nos modelos animais utilizados em laboratório, nominalmente, ratos, camundongos, guinea pig, e todos os outros (exceto macacos), a secreção dos esteróides sexuais ocorre exclusivamente nas

gônadas (Labrie et al., 1997). Nestas espécies de animais, não há quantidade significativa de andrógenos e estrógenos na circulação após a castração.

O colesterol é o precursor dos hormônios sexuais e pode ser sintetizado a partir de acetil coenzima A ou obtido da LDL plasmática que entra na célula via receptor de LDL. Em ratos, a síntese de colesterol dentro da célula de Leydig é a principal fonte de substrato para a síntese de testosterona, mas em humanos as duas fontes (síntese *de novo* e captação de LDL) têm igual importância (Goldstein et al., 1979).

Cinco etapas enzimáticas estão envolvidas na conversão de colesterol em testosterona: **CYP11A1** (21, 22 desmolase, enzima da clivagem da cadeia lateral do colesterol), **3 $\beta$ -HSD** (3 $\beta$ -hidroxiesteroide dehidrogenase-isomerase), **CYP17** (17 $\alpha$ -hidroxilase), **CYP17** (17,20-liase) e **17 $\beta$ -HSD** (17 $\beta$ -hidroxiesteroide dehidrogenase). Embora a 17 $\alpha$ -hidroxilase e 7,20-liase tenham sido reconhecidas como enzimas separadas, a purificação e reconstituição *in vitro* de suas atividades enzimáticas indicam que ambas atividades são desempenhadas por uma única enzima do sistema citocromo P450 (CYP17). A etapa limitante da síntese é a conversão de colesterol em pregnenolona, a qual é controlada pelo hormônio hipofisário LH e catalisada pela enzima CYP11A1 (Griffin et al., 1998 e Miller, 1988) (Figura 1).

Além da testosterona, os testículos secretam pequenas quantidades de diidrotestosterona (DHT), androsterona, androstenediona, 17-hidroxiprogesterona, progesterona e pregnenolona (Catt & Dufau, 1973). Os principais sítios de formação e ação da DHT são extra-gonadal (Wilson, 2001) e a androstenediona é um androgênio muito fraco, sendo que sua função como andrógeno ocorre apenas quando é convertido a testosterona ou DHT nos tecidos alvo (Wilson, 2001). A testosterona e a androstenediona, mas não a DHT, servem como um precursor de estrógeno extra-gonadal. Além disso, no homem saudável, pequena quantidade de estradiol (20% do total) são secretadas diariamente pelos testículos. As funções da pregnenolona, progesterona e 17-hidroxiprogesterona em machos não são conhecidas (Griffin et al., 1998).

No plasma, apenas 0,5- 4% dos hormônios esteróides sexuais estão livres e não formam complexos com proteínas plasmáticas. Aproximadamente 60% da testosterona e DHT plasmáticas estão ligadas a uma glicoproteína hepática chamada SHBG (*sex-hormone-binding globulin*). A maior parte da testosterona remanescente está ligada à albumina e a outras proteínas (Heinlein & Chang, 2002). A SHBG também liga 5 $\alpha$ -androstenediol



/androstenediona. Os estrógenos possuem menor afinidade de ligação com a SHBG do que os andrógenos (Terasaki et al., 1988). As frações ligadas a SHBG servem como reservatório circulante de andrógeno e em geral apenas as frações de testosterona e outros andrógenos livres ou frouxamente ligados à albumina se difundem para dentro das células e são biologicamente ativos. Entretanto, existem receptores para o complexo SHBG-esteróide na membrana celular de tecidos-alvos incluindo próstata, testículos, mama e fígado. A concentração de SHBG é aumentada por hormônio tireoideno e estrogênio e é diminuída por androgênio. Reciprocamente, então, o estrógeno reduz a porcentagem de testosterona livre enquanto o andrógeno aumenta (Plymate et al., 1983).

Cerca de 1% da produção diária de testosterona é excretada diariamente na urina como glicuronídeo. A maior parte do restante é metabolizada em dois produtos 17-cetosteróides (androsterona e eticolona) que são também excretados na urina (Griffin & Wilson, 1998).

A interação do hormônio hipotalâmico de liberação de gonadotropinas (GnRH) ao seu receptor específico na membrana das células gonadotróficas da hipófise, estimula a liberação de ambos hormônios gonadotrópicos (hormônio luteinizante e hormônio folículo estimulante). O hormônio luteinizante e FSH juntos regulam o crescimento testicular, a espermatogênese e a esteroidogênese. O papel principal do hormônio luteinizante é estimular as células de Leydig a produzirem testosterona (Amory & Bremner, 2003). O hormônio de crescimento (GH) através da ação da somatomedina pode ter nos testículos um efeito sinérgico com o hormônio luteinizante sobre a secreção da testosterona (Kasson & Hsueh, 1987). A secreção de hormônio luteinizante é controlada pela alça de retroalimentação negativa dos esteróides gonadais no hipotálamo e na hipófise. Ambos, testosterona e estradiol podem efetuar essa inibição (Santen, 1975). As ações das gonadotropinas são mediadas pelo aumento da concentração intracelular de AMP cíclico. O AMPc desencadeia uma via de sinalização que aumenta a atividade de várias enzimas na via esteroidogênica, inclusive a enzima de clivagem da cadeia lateral do colesterol (Podesta et al., 1978).

Na célula de Sertoli, o FSH liga-se ao seu receptor na membrana celular, que também aumenta a concentração intracelular do AMPc (Fakunding & Means, 1977). A principal função do FSH, em sinergismo com a testosterona, é promover a espermatogênese (Gnanaprakasam et al., 1979). O FSH possui também outras funções indiretas na modulação da esteroidogênese pelas células de Leydig, tais como, estimular sua maturação

durante o desenvolvimento, estimular o número dos seus receptores para hormônio luteinizante, e também, modular sua própria função através de dois peptídeos, inibina e ativina, produzidos pela célula de Sertoli. Estes dois peptídeos modulam negativa e positivamente a secreção hipofisária do FSH, respectivamente. E como ocorre com hormônio luteinizante e outros hormônios peptídicos, o FSH regula o número de seus próprios receptores (Odell et al., 1973; Ketelslegers et al., 1978; De Kretser et al., 2001).

Andrógenos circulantes podem ser aromatizados a estrógenos através da ação da enzima aromatase nos tecidos cerebrais e ósseos, nas células musculares lisas, no endotélio vascular e principalmente no tecido adiposo e hepático em ambos os sexos (Simpson et al., 1999). O estradiol e a estrona são os dois estrógenos produzidos pelo homem. Entretanto, apenas pequena fração da produção diária, 15 a 20%, é proporcionada pela secreção testicular. A maior parte é derivada da aromatização da testosterona e da androstenediona circulantes (MacDonald et al., 1979). No homem, a produção local de estrógeno, tanto intratesticular como extragonadal, é importante para garantir os processos fisiológicos, tais como:

- padrão masculino de secreção de gonadotropinas, impulso e comportamento sexual. (Gruber et al., 2002)
- supressão por retroalimentação da secreção de gonadotropinas (Santen, 1975).
- manutenção da mineralização dos ossos (Simpson et al., 1999)
- espermatogênese (Nitta et al., 1993).

Hormônios estrogênicos são considerados agentes vasoprotetores naturais. Receptores estrogênicos (ER) foram detectados em células musculares lisas das artérias coronarianas (Karas et al., 1994), células endoteliais (Venkov et al., 1996) e macrófagos (Gulshan et al., 1990). Em camundongos, ambos ER $\alpha$  e ER $\beta$ , são necessários e suficientes para mediar a proteção contra danos vasculares. Hormônios estrogênicos causam em curto prazo vasodilatação por aumentar a formação e liberação de óxido nítrico (NO) e pela abertura de canais de cálcio específicos (White et al., 1995). No âmbito celular, estrógeno inibe apoptose nas células endoteliais (Spyridopoulos et al., 1997) e tem atividade angiogênica *in vitro* (Morales et al., 1995).

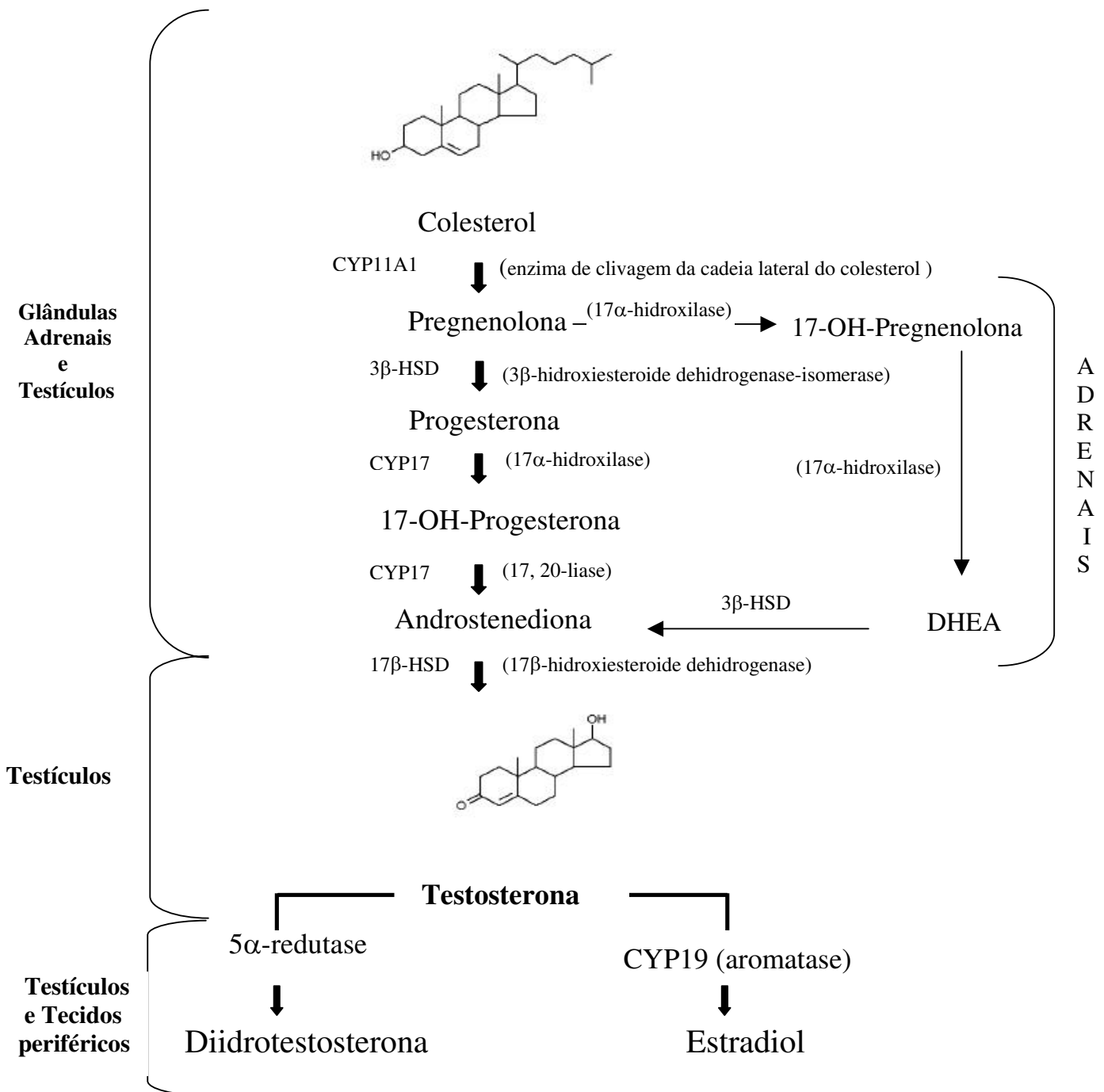


Figura 1. Via de formação da testosterona nos testículos e a conversão de testosterona em metabólitos ativos nos tecidos periféricos. (Modificado de Griffin JE & Wilson JD. Disorders of the testes. In: Isselbacher KJ, et al, eds. Harrison's Principles of Internal Medicine. 13th ed. New York: McGraw-Hill, 1994: 2006-2017.)

Numerosos estudos em animais tem demonstrado que a testosterona possui **uma** ação direta como vasodilatadora coronariana em uma variedade de espécies, incluindo coelhos, cães, porcos e ratos, tanto *in vivo* (Chou *et al.*, 1996) como *in vitro* (Yue *et al.*, 1995; Murphy & Khalil, 1999; Crews & Khalil, 1999; English *et al.*, 2000 e 2002; Deenadayalu *et al.*, 2001). Também foi descrito que a testosterona exibe uma ação vasodilatadora na aorta torácica (Yue *et al.*, 1995; Perusquia *et al.*, 1996; Honda *et al.*, 1999; Ding & Stallone, 2001) e em veias mesentéricas isoladas (Tep-areenan *et al.*, 2002) e vasculatura pulmonar (English *et al.*, 2001; Jones *et al.*, 2002). Testosterona também exerce um efeito benéfico no controle do tônus vascular pela liberação do NO pelo endotélio (Ong *et al.*, 2000; Kang *et al.*, 2002). Outros trabalhos relatam uma ação modulatória da testosterona na função endotelial, onde a testosterona não induz somente vasodilatação pela liberação de NO, mas claramente atua na melhora da sensibilidade da musculatura vascular lisa à ação do NO (Jones *et al.*, 2003). A vasodilatação mediada pela testosterona é rapidamente observada dentro de no máximo 20 minutos após a administração do hormônio, o que sugere fortemente que a ativação da síntese protéica não é pré-requisito para o relaxamento vascular. Outras evidências mais substanciais comprovam estas observações. Em estudos de indução de vasodilatação por testosterona, o pré-tratamento com flutamida (bloqueador de AR) (Yue *et al.*, 1995; Tep-areenan *et al.*, 2002; Jones *et al.*, 2002) ou a ligação covalente da testosterona com análogos da albumina, prevenindo sua endocitose nas células musculares lisa (Ding & Stallone, 2001; English *et al.*, 2000) não prejudicaram a resposta vasodilatadora da testosterona. Esses dados em conjunto evidenciam uma ação não-genômica da testosterona na vasodilatação (Jones *et al.*, 2003).

Acredita-se que esteróides (testosterona, DHT e estradiol) difundem-se livremente para dentro de todas as células. Em muitas células-alvo, a testosterona é rapidamente reduzida a DHT pela ação da enzima 5 $\alpha$ -redutase localizada na membrana celular (isoforma 1- glândulas sebáceas e fígado e isoforma 2- trato urogenital masculino, tecidos genitais e fígado). A irreversibilidade dessa reação impede a aromatização do esteróide, promovendo um acúmulo intracelular deste andrógeno. A DHT é um hormônio mais ativo que a testosterona pelo fato de sua estrutura molecular ser mais plana facilitando a ligação ao AR e tornando esta ligação 5 vezes mais potente que a ligação do AR com testosterona (Quigley *et al.*, 1995; Griffin & Wilson, 1998; Feldman & Feldman, 2001).

Os receptores de estrógenos e andrógenos são membros da superfamília de receptores nucleares de esteróides, hormônios da tireóide e retinóides. Eles são compostos de um domínio ativador na região amino-terminal, um domínio de ligação com o ligante na região carboxi-terminal e um domínio de ligação ao DNA na região central da molécula que contém dois “dedos de zinco”. Como ocorre com os receptores nucleares no estado basal, os ERs e AR estão ligados a uma proteína de choque térmico (*heat-shock*) ou outras proteínas numa conformação que previne sua ligação com DNA. A ligação com o hormônio esteróide (testosterona, DHT e estradiol) induz uma mudança conformacional nos receptores esteróides que promove a dissociação das proteínas de choque térmico e fosforilação do receptor em parte mediada pela proteína kinase A (PKA). As mudanças conformacionais induzidas pelo ligante facilitam a formação de um complexo homodimérico do receptor que pode então ligar-se aos elementos responsivos androgênicos ou estrogênicos (*androgen-response elements*, AREs; *estrogen-reponse elements*, EREs) na região do promotor dos genes alvos. O complexo homodimérico ativado do receptor ligado ao DNA recruta proteínas regulatórias, co-ativadores ou co-repressores. Estas possibilitam ou impedem a interação do complexo homodimérico com a maquinaria de transcrição para estimular ou inibir a transcrição dos genes alvos. (Feldman & Feldman, 2001). Algumas ações androgênicas nos tecidos alvos são exercidas exclusivamente pela testosterona, como:

- diferenciação do epidídimo, do canal deferente e vesículas seminais.
- aumento da laringe e espessamento das cordas vocais, resultando em voz mais grave.
- aumento da massa muscular observado em meninos durante a puberdade.
- acúmulo de gordura na parte superior do corpo, no abdome e nas vísceras.
- estimulação da síntese de eritropoetina e maturação dos precursores eritróides.

Outras ações androgênicas nos tecidos alvos são exercidas exclusivamente pela DHT:

- diferenciação intra-uterina do pênis, bolsa escrotal, uretra e próstata.
- crescimento da bolsa escrotal e próstata durante a puberdade.
- estimulação dos folículos pilosos com padrão masculino de distribuição e crescimento de pêlos e formação de sebo pelas glândulas sebáceas.

E há ações androgênicas que ocorrem pela ação tanto da testosterona como da DHT:

- supressão (retroalimentação) da secreção das gonadotropinas.

- determinação do padrão masculino das gonadotropinas, impulso e comportamento sexual.
- espermatogênese.
- aumento do pênis e das vesículas seminais que ocorre na puberdade.

Os hormônios androgênicos causam efeitos diretos no músculo esquelético de mamíferos. Receptores androgênicos são encontrados nas células musculares, adiposas, nervosas e pluripotentes mesenquimais presentes nos músculos esqueléticos, e medeiam os efeitos androgênicos na hipertrofia muscular. Testosterona aumenta a massa muscular por múltiplos mecanismos; ela promove anabolismo protéico e diferenciação de células tronco pluripotentes em linhagem miogênica e inibe a diferenciação dos adipócitos. Entretanto, ainda não está claro se a conversão de testosterona em DHT ou estradiol é necessária para mediar os efeitos androgênicos no músculo ou se esses metabólitos têm efeitos independentes na composição corporal (Herbst & Bhasin, 2004).

## **II.8 - Uso de esteróides androgênicos**

A frequência de uso de esteróides androgênicos anabolizantes (EAA) parece ter aumentado consideravelmente nos últimos anos. Eles têm recebido atenção da mídia devido a desclassificação de atletas profissionais detectados como usuários. Vários estudos americanos realizados com estudantes desde o ensino fundamental até universitários e também com atletas, verificaram que a utilização de EAA varia entre 3% a 37 % (Ghaphery, 1995; Scott, 1996; Matsumoto, 1996; Appleby, 1994; Yesalis et al. 2000; Monitoring the future study, 2003). No Brasil, acredita-se que o uso é mais indiscriminado, porém a documentação é escassa.

A utilização de EAA como um suplemento para treinamento físico deve-se aos seus efeitos anabólicos que provocam o aumento da massa muscular, balanço de nitrogênio positivo e diminuição da massa adiposa (Herbst & Bhasin, 2004). Entre os efeitos adversos conhecidos incluem-se atrofia testicular, ginecomastia, hipertrofia prostática, alterações do metabolismo glicêmico, alterações do perfil tiroideano, hipertensão, alterações no perfil lipídico, acidente cerebrovascular, vários distúrbios hepáticos, danos renais, alterações do comportamento, entre outros (Bahrke & Yesalis, 2004).

Os hormônios androgênicos podem também ser utilizados na clínica médica para estimular o desenvolvimento sexual em casos de atraso pubertário e quando os testículos foram cirurgicamente removidos devido a injúria ou tumor. Nestes casos, a terapia de reposição hormonal deve ser utilizada durante toda a vida (Mottram & George, 2000). Na contracepção masculina, os hormônios androgênicos são utilizados para supressão hormonal da espermatogênese (World Health Organization Task Force, 1990, 1996). Estudo clínico extenso de reposição de testosterona em homens idosos realizado durante três anos, observaram que o tratamento com testosterona em homens com mais de 65 anos aumentou a massa magra e diminuiu a massa adiposa sem alteração na força muscular, densidade óssea, concentrações de lipídeos e apolipoproteínas plasmáticas (Snyder et al 1999a, 1999b, 2001). Outros estudos com reposição de testosterona de menor duração (3-12 meses) não conseguiram constatar benefícios consistentes na função muscular, mental e na qualidade de vida dos homens idosos (Tenover, 1992; Morley et al., 1993; Sih et al., 1997; Marin et al., 1992; Clague et al., 1999). O tratamento com testosterona em pacientes infectados com HIV pode prevenir a perda de massa muscular, promover aumento da densidade mineral óssea e melhoria do ânimo (Dobs, 2003).

Alguns estudos recentes têm investigado os mecanismos de ação dos EAA em seus diferentes alvos: no músculo esquelético (Ferrando et al., 2002), tecido adiposo (Singh et al., 2003) e rins (Park et al., 2004). Ferrando et al (2002) observaram que a administração de enantato de testosterona em homens idosos aumentou a expressão protéica do IGF-1 (*insulin-like growth factor-1*) no músculo esquelético como também o conteúdo protéico muscular, devido a uma diminuição da quebra da proteína muscular. Em células pluripotentes de camundongos tanto DHT como testosterona diminuíram a formação de adipócitos e regularam negativamente a expressão do mRNA e proteína do PPAR gama 2 (*peroxissomal proliferator-activated receptor gamma 2*) (Singh et al., 2003). O tratamento com testosterona em camundongos aumentou a vulnerabilidade à injúria renal devido a menor ativação da NOS (óxido nítrico sintase), PKB/Akt (*Protein kinase B*) e ERK (*extracelular signal related kinase*) e aumento da JNK (*c-jun N-terminal kinase*) e de ICAM-1 (*intracellular adhesion molecule-1*), causando maior infiltração de leucócitos e mais apoptose (Park et al., 2004).

## **II.9 - Modelo Animal**

No final dos anos 80, o desenvolvimento de animais transgênicos possibilitaram a elucidação de algumas das complexidades envolvidas no transporte das lipoproteínas e apontaram novos alvos para intervenções farmacológicas para normalizar o perfil lipoprotéico e reduzir o risco de aterosclerose. A tecnologia da transgênese tem sido empregada com sucesso na criação de modelos experimentais de dislipidemias e aterosclerose, bem como no estudo de aspectos básicos da regulação gênica e da expressão tecido-específico de vários genes do metabolismo das lipoproteínas (Breslow, 1993). Foram criados e estudados transgênicos para quase todas as apolipoproteínas plasmáticas (Breslow, 1993), receptor da LDL (Hofmann et al., 1988), LCAT (Francone, 1995), CETP (Agellon et al., 1991; Marotti et al., 1993; Jiang et al., 1992), entre outros.

Camundongos normalmente não expressam CETP e por isso são modelos muito úteis para o estudo dos efeitos da expressão da CETP. Em estudos prévios, verificou-se que a expressão da CETP resulta em diminuição do colesterol na fração HDL (Agellon et al., 1991) e que a



expressão da CETP é positivamente regulada pelo colesterol da dieta (Jiang et al., 1992; Oliveira et al., 1996).

Camundongos *knockout* do gene do receptor de LDL (LDLR0) tem sido utilizados como modelo de hipercolesterolemia familiar e para investigações sobre intervenção na aterogênese. Camundongos machos e fêmeas que não expressam o receptor da LDL são viáveis e férteis. Sob dieta pobre em gordura e colesterol, os níveis de colesterol plasmático são duas a quatro vezes maiores que aqueles dos camundongos selvagens, devido a um aumento de sete a nove vezes nas concentrações de lipoproteínas de densidade intermediária (IDL) e nas lipoproteínas de baixa densidade (LDL), sem uma significativa mudança nas lipoproteínas de alta densidade (HDL) (Ishibashi et al., 1993). Sob dieta rica em gordura e colesterol desenvolvem aterosclerose com padrão semelhante à dos seres humanos (Ishibashi et al., 1994).

O cruzamento entre animais LDLR0 e CETP resulta em uma progênie (LDLR1/CETP) com perfil lipídico mais próximo ao dos seres humanos, isto é, com redução de HDL e aumento de LDL, que os camundongos *wild type*. A comparação entre animais LDLR1 e LDLR1/CETP oferece uma boa oportunidade para se investigar o papel da CETP nas respostas metabólicas das lipoproteínas às diferentes manipulações experimentais.

### **III- OBJETIVOS**

Os objetivos gerais deste trabalho foram verificar os efeitos de hormônios sexuais masculinos sobre o metabolismo das lipoproteínas plasmáticas e expressão da CETP em camundongos geneticamente modificados sedentários e exercitados.

Os objetivos específicos foram:

- 1- Investigar os possíveis mecanismos pelos quais a deficiência de testosterona (castração) modifica o metabolismo das lipoproteínas plasmáticas e a aterogênese em linhagens de camundongos que expressam a CETP.
- 2- Comparar os efeitos da suplementação com testosterona metabolizável (Durateston: convertida em estrógeno e dihidrotestosterona) ou testosterona não metabolizável (Mesterolona) sobre o metabolismo das lipoproteínas plasmáticas em camundongos transgênicos que expressam a CETP com ou sem deficiência do receptor da LDL.
- 3- Verificar se os efeitos benéficos do exercício físico são modulados pelos efeitos da suplementação com Mesterolona, através da determinação da resposta do perfil lipídico e lipoprotéico ao exercício crônico (treinamento) em camundongos transgênicos que expressam a CETP, com ou sem deficiência do receptor de LDL.

## IV- MATERIAIS E MÉTODOS

### Materiais

Solventes orgânicos e sais em geral utilizados neste estudo são das marcas Merck® (Darmstadt, Alemanha) e Sigma® (St. Luis, MO, E.U.A)..

### Animais

Todos os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) do Instituto de Biologia da Unicamp (Protocolo nº 040-2) e pela Comissão Interna de Biosegurança (CQB069/98). As colônias de animais geneticamente modificadas utilizados neste estudo foram geradas a partir de animais fornecidos pelo Dr. Alan R. Tall da Divisão de Medicina Molecular da Universidade de Columbia, NY, E.U.A. Foram utilizados transgênicos (Tg) para CETP, linhagem 5203 (Jiang *et al.*, 1992) e *knockouts* do receptor de LDL originalmente obtidos do Jackson Laboratory. Os animais não transgênicos (não-Tg) com o mesmo “background” dos animais CETP Tg (C57BL/6) eram provenientes do Centro Multidisciplinar de Bioterismo CEMIB) da Unicamp. Todos os animais foram mantidos em condições controladas de temperatura ( $22 \pm 1^\circ\text{C}$ ), luminosidade (ciclo de claro-escuro de 12 horas) e receberam água e ração (Nuvital®, Colombo, Paraná, Brasil) *ad libitum*. Os animais foram reunidos em grupos segundo seus genótipos e tratamentos e submetidos a jejum de 12 horas antes das coletas de sangue. Para a determinação do genótipo dos animais CETP, foi utilizada a medida da atividade da CETP no plasma, descrita a seguir. Os *knockouts* do receptor de LDL foram identificados pela concentração de colesterol (>250 mg/dL).

### Tratamento dos animais

#### 1. Estudo da deficiência de testosterona (castração):

Foram realizados os procedimentos cirúrgicos de orquidectomia bilateral e pseudocirurgia nos camundongos CETP Tg e não-Tg, com idades de 3 a 4 meses. Após um período de 30 dias de castração, os animais foram anestesiados com 50 mg/Kg de Vetanarcol® (Laboratórios König S.A, Avellaneda, Argentina) e 15 mg/Kg de Ronpum® (Bayer S.A, São Paulo, Brasil). As adrenais e o fígado foram extraídos e pesados, e o sangue total foi coletado por drenagem do plexo retro orbital. Com o objetivo de avaliar o efeito da expressão da CETP e da castração

sobre a formação de lesões ateroscleróticas, os mesmos procedimentos anestésicos e cirúrgicos foram realizados em camundongos heterozigotos para o alelo nulo do que do receptor de LDL, R1 e CETP/R1. Em seguida, os animais foram mantidos por 10 semanas com dieta hiperlipídica composta por 15% de gordura, 1,25% de colesterol e 0,5% de colato de sódio para posterior análise de lesões ateroscleróticas na raiz da aorta.

## 2. Estudo da suplementação com testosterona (metabolizável ou não):

Camundongos CETP Tg e não-Tg, machos e fêmeas, com 4 a 5 meses de idade, foram tratados com diferentes composições de testosterona, a saber, Durateston® (Akzo Nobel Ltda, Divisão Organon, São Paulo, Brasil), Androgenol (Hertape®, Belo Horizonte, Brasil) e Proviron® (Mesterolona, Schering do Brasil, São Paulo, Brasil). A testosterona é rapidamente degradada no fígado com meia-vida na circulação sanguínea de aproximadamente 10 minutos (Wu, 1992). Em preparações comerciais clinicamente úteis, a testosterona é esterificada na posição 17-hidroxi, resultando em compostos mais hidrofóbicos e liberados gradualmente do veículo. Uma vez na circulação, a testosterona é hidrolisada do éster e comporta-se metabolicamente de forma idêntica à testosterona natural. O Durateston contém propionato, fenilpropionato, isocaproato e decanoato de testosterona e o Androgenol contém apenas propionato de testosterona, de meia-vida mais curta que os outros ésteres do Durateston. A Mesterolona é uma testosterona sintética que não é convertida em estrógeno. Os animais receberam injeções subcutâneas diárias de testosterona metabolizável ou gavagem de testosterona não-metabolizável, 1 µg por grama de peso corporal, durante 14 ou 21 dias, respectivamente, e foram sacrificados ao final de cada estudo para obtenção do sangue total e órgãos.

Os seguintes grupos experimentais de camundongos foram estudados:

- 1- Machos não-Tg tratados com veículo (propileno glicol, PEG) ou Durateston
- 2- Machos CETP Tg tratados com veículo, Durateston ou Androgenol
- 3- Fêmeas CETP Tg tratadas com veículo, Durateston ou Androgenol
- 4- Machos CETP/R1 tratados com veículo ou Durateston
- 5- Machos CETP/R1 tratados com veículo ou Mesterolona
- 6- Machos R1 tratados com veículo ou Mesterolona

### 3. Estudo da interação entre exercício físico e a testosterona:

#### Sedentários

Os camundongos R1 e CETP/R1 foram tratados com 2 µg/g de peso de Mesterolona ou veículo (goma arábica) por via oral, durante 3 semanas. Após este período, os animais foram sacrificados para obtenção do sangue total e órgãos.

#### Treinados

Durante 6 semanas os camundongos R1 e CETP/R1 foram submetidos ao treinamento físico de natação conforme descrito por Evangelista et al. (2003). Os animais iniciaram o treinamento com 20 minutos de natação em tanque com água aquecida (30-32 ° C ) em raias individualizadas, sem carga e agitação da água por borbulhamento de ar para evitar que os animais flutuassem. Aumentou-se o tempo de natação de 10 minutos/dia até atingirem 60 minutos de duração total de treino. Foi realizada 1 sessão diária, 5 vezes por semana, durante 6 semanas. Foi demonstrado que neste protocolo de treinamento não ocorre hipertrofia cardíaca (Evangelista et al., 2003). Nas últimas 3 semanas de treino, os animais receberam suplementação com Mesterolona ou goma arábica. Vinte e quatro horas após a última sessão de treinamento físico, os animais foram sacrificados para obtenção do sangue total.

#### **Isolamento e marcação da HDL com colesterol radioativo**

Utilizou-se o método descrito anteriormente por Oliveira e Quintão (1996b) para a marcação da HDL com colesteril éster radioativo. Para tanto, obteve-se misturas de plasma de doadores normolipidêmicos. Aproximadamente 10 mL da mistura plasmática foi ajustada à densidade 1,125 g/mL com KBr (0,202 g/mL) e ultracentrifugado no rotor 50 ti, 40.000 rpm, por 40 horas. Descartou-se os 2 mL sobrenadantes e dializou-se o infranadante ( $d > 1,125$ ) que contém HDL<sub>3</sub> e proteínas plasmáticas. 50 µCi de colesterol radioativo: <sup>14</sup>C- colesteril oleato (<sup>14</sup>CCE) ou <sup>3</sup>H- colesteril oleato (<sup>3</sup>HCE) ou <sup>3</sup>H-colesteril éter ou ainda com <sup>3</sup>H-colesterol (Amersham Pharmacia Biotech, Buckinghamshire, Inglaterra), dissolvido em 100 µL de etanol absoluto foi adicionado, gota-a-gota (seringa Hamilton), aos 10 mL da fração de  $d > 1,125$ , sob agitação. A mistura foi então transferida para os tubos do rotor 50 ti e incubada a 37°C por 20 horas em rotor de tubos (Tube rotator, Scientific Equipment Products, EUA) a 20.000 rpm. Nesse tempo de incubação, o CE radioativo é incorporado às HDL por ação da CETP que encontra-se na

fração de  $d > 1,21$ . No caso de colesterol livre, o isótopo é esterificado pela ação da LCAT na HDL. Em seguida, ajustou-se a densidade para 1,21 g/mL e ultracentrifugou-se a 40.000 rpm, 4°C, por 40 horas para obtenção de HDL<sub>3</sub> ( $1,125 < d < 1,21$ ) marcada radioativamente. Essa foi exaustivamente dializada contra salina 0,15M e esterilizada em filtro Millipore 0,22 µm (Millipore Corporation, Bedford, MA, E.U.A). A eficiência da marcação variou entre 25-35 %.

### **Atividade da CETP no plasma**

*Ensaio exógeno:* Uma mistura de VLDL + LDL obtida por ultracentrifugação (Havel et al., 1955) de plasma de doadores normolipidêmicos foi utilizada como lipoproteínas aceptoras. HDL também obtida por ultracentrifugação de plasma de doadores normolipidêmicos foi marcada radioativamente com <sup>14</sup>C-colesteril-éster (<sup>14</sup>CCE) conforme descrito acima. O ensaio isotópico consiste em uma reação contendo 50 µg de proteína de VLDL+LDL, 10000 dpm de <sup>14</sup>CCE-HDL e 15 µL do plasma dos animais, como fonte de CETP, em um volume final de 100 µL. A mistura é incubada a 40°C por 2 horas. Em seguida, adiciona-se à mistura 400 µL de tampão tris (10 mM) / salina (150 mM) / EDTA (1 mM) e 50 µL de coquetel de precipitação das lipoproteínas que contém apoB (partes iguais de sulfato de dextrana 1,6 % e MgCl<sub>2</sub> 1,0 M) e espera-se 10 minutos à temperatura ambiente. As amostras são então centrifugadas à 12000 rpm por 30 minutos. Quatrocentos e cinquenta microlitros (450 µL) do sobrenadante são recuperados e misturados a 2 mL de solução cintiladora para determinação da radioatividade remanescente nas HDL. No ensaio são utilizados sempre 2 “blanks” (tubos com salina) e 2 controles-negativos (tubos com plasma de camundongo não-transgênico). Os resultados são expressos como % de <sup>14</sup>CCE transferido da HDL para as VLDL+LDL: % CE transferido = (dpm blank - dpm amostra) x 100/dpm “blank”.

*Ensaio endógeno:* Atividade endógena de CETP foi medida da seguinte maneira: 100 µl de plasma dos camundongos são fracionados por FPLC para obtenção das frações VLDL + LDL (pool das frações VLDL e LDL). Paralelamente, 100 µl de plasma são precipitados com 10 µl de coquetel de precipitação das lipoproteínas que contém apoB (partes iguais de sulfato de dextrana 1,6 % e MgCl<sub>2</sub> 1,0 M) e depois de 10 minutos à temperatura ambiente, coleta-se 80 µl do sobrenadante (fração que contém HDL e CETP). Adiciona-se 100.000 dpm de <sup>3</sup>HCE-HDL aos 80 µL da fração de HDL e CETP, e incuba-se *overnight* a 4°C. Em seguida, adiciona-se a

fração VLDL+ LDL à fração de HDL equilibrada com  $^3\text{HCE-HDL}$  e incuba-se a  $37^\circ\text{C}$  por 30 minutos. Transfere-se as amostras para banho de gelo, adiciona-se à mistura 50  $\mu\text{g}$  de LDL humana como carreador, e adiciona-se 1/10 do volume de coquetel de precipitação e espera-se 15 minutos ainda em banho de gelo. As amostras são então centrifugadas à 12000 rpm por 15 minutos a  $4^\circ\text{C}$ . 1,2 mL do sobrenadante são recuperados e misturados a 5 mL de solução cintiladora para determinação da radioatividade remanescente nas HDL. No ensaio são utilizados sempre 2 “blanks” que consistem em 80  $\mu\text{l}$  de albumina 3,5 % +  $^3\text{HCE-HDL}$  + 1,2 mL de salina 0,85 %.

### **Determinação de lipídeos e glicose no plasma**

Colesterol total no plasma foi determinado utilizando-se kit enzimático da Roche<sup>®</sup> (Indianapolis, IN, E.U.A). Para triglicérides utilizou-se kit da Merck<sup>®</sup> (Darmstadt, Alemanha). Para ácidos graxos livres utilizou-se kit da Wako Chemicals<sup>®</sup> GmbH (Neuss, Alemanha). A glicose foi determinada pelo método de glicose oxidase pelo kit Merck Diagnostic-Biotrol<sup>®</sup> (Chennevières-les-Louvres, France) de acordo com as instruções do fabricante.

### **Dosagem de insulina**

A concentração plasmática de insulina foi determinada por radioimunoensaio com curva padrão confeccionada com insulina de rato (Scott *et al.*, 1981).

### **Fracionamento das Lipoproteínas**

Foram feitos “pools” de plasma fresco dos animais tratados e controles. Esses foram submetidos à cromatografia líquida de alta resolução (FPLC) utilizando-se uma coluna de Superose 6 HR 10/30 (Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala, Suécia) para o fracionamento das lipoproteínas (VLDL, LDL e HDL) (Jiao *et al.*, 1990; Masucci-Magoulas *et al.*, 1996). Nas 40 frações eluídas da coluna foi determinada a quantidade de colesterol total utilizando kit enzimático da Roche<sup>®</sup> (Indianapolis, IN, EUA) de acordo com as especificações do fabricante.

### **Atividades da lipoproteína lipase (LPL) e hepática (LH)**

A atividade total das lipases foi determinada de acordo com Ehnholm & Kuusi (1986). O plasma foi obtido 10 minutos após injeção subcutânea de heparina (100 IU/Kg de peso corpóreo) e incubado com substrato de goma arábica e trioleína marcada com  $^3\text{H}$  (glycerol tri [9, 10 (n)-  $^3\text{H}$ ] oleate, Amersham Life Sciences, Buckinghamshire, England) em tampão tris-HCl 0,2 M, pH=8,5, 37 °C por 1 hora. A atividade da lipase hepática foi determinada em tubos onde a lipase lipoprotéica (LPL) estava inibida por NaCl 2 M. Os ácidos graxos livres hidrolizados marcados foram extraídos com metanol/clorofórmio/heptana (1,4:1,25:1) em tampão  $\text{K}_2\text{CO}_3/\text{H}_3\text{BO}_3$ ; 0,14 M; pH 10,5. O extrato foi seco sobre fluxo de nitrogênio ( $\text{N}_2$ ), e a radioatividade foi determinada com líquido de cintilação (Amersham) em um contador Beta LS 6000 Beckman. As amostras foram analisadas em triplicata. Plasmas pré e pós heparina de ratos e humanos foram utilizados como controles positivos. A atividade da LPL foi calculada pela diferença entre a atividade total das lipases e da lipase hepática.

### **Estudos cinéticos de LDL e HDL marcadas com iodo radioativo**

LDL e HDL foram isoladas por ultracentrifugação sequencial de plasma de doadores normolipidêmicos de acordo com Havel et al. (1955). As frações de LDL e HDL obtidas foram exaustivamente dializadas contra salina 0,85 % contendo 2 mM de EDTA. As LDL e HDL foram marcadas com  $^{131}\text{I}$  (IPEN, São Paulo, Brasil) e  $^{125}\text{I}$  (Amersham Pharmacia Biotech, Buckinghamshire, Inglaterra), respectivamente, utilizando-se as modificações feitas por Bilheimer et al. (1972) do método de monocloreto de iodo (MacFarlane, 1958). Verificamos que 95 % da marcação foi precipitada com ácido tricloroacético 5 %. Os animais receberam  $1 \times 10^6$  dpm de cada lipoproteína dissolvidos em 0,2 mL da mistura contendo  $^{131}\text{I}$ -LDL e  $^{125}\text{I}$ -HDL, via intraperitoneal. Amostras de sangue foram coletadas pela ponta da cauda nos tempos: 0,17, 0,5, 1, 3, 5, 8 horas após a injeção. A quantidade das lipoproteínas que permaneceu na circulação no período foi calculado como a área sob a curva da radioatividade (Tai, 1994).

### **Estudos cinéticos da LDL e HDL marcadas com colesteril éster radioativo**

LDL e HDL foram isoladas por ultracentrifugação sequencial de plasma de doadores normolipidêmicos de acordo com Havel *et al.* (1955). As frações de LDL e HDL obtidas



foram exaustivamente dializadas contra salina 0,85% contendo 2mM de EDTA. LDL e HDL foram marcadas com  $^3\text{H}$ -colesteril éter ou  $^{14}\text{C}$ -colesterol conforme descrito por Oliveira & Quintão (1996). Os grupos de animais receberam  $1 \times 10^6$  dpm das lipoproteínas marcadas por via intraperitoneal ou endovenosa. Amostras de sangue foram coletadas pela veia da cauda nos tempos mencionados a seguir:

Injeção  $^3\text{H}$ -CE-LDL ip: 30 mim, 1h, 2h, 3h, 5h e 8h.

Injeção  $^3\text{H}$ -CE-LDL ev: 2 mim, 30 mim, 1h, 2h, 3h e 6h.

Injeção  $^3\text{H}$ -CE-HDL ev: 2 mim, 30 mim, 1h, 3h, e 6 h.

Injeção  $^{14}\text{C}$ -CE-HDL ev: 2 mim, 30 mim, 1h, 3h e 6 h.

A taxa fracional de remoção das lipoproteínas plasmáticas marcadas foi calculada como a inclinação da curva de desaparecimento da radioatividade no plasma pelo ajuste de curva monoexponencial utilizando-se o programa Microcal<sup>TM</sup> Origin<sup>TM</sup> 4.1. A quantidade de lipoproteínas que permaneceu na circulação durante o período foi calculada como a área sob a curva da radioatividade (Tai, 1994).

### **Cromatografia em camada delgada (TLC)**

As amostras de sangue dos estudos cinéticos com HDL marcadas com  $^{14}\text{C}$ -colesterol foram submetidas à cromatografia em camada delgada (TLC) em sílica gel 60 H (MERCK®) com a fase móvel contendo hexana/éter dietílico/ácido acético (70:30:1, por volume). Para a aplicação das amostras e padrões na placa, utilizamos o aparelho TLC Autospotter (ROMER<sup>TM</sup> LABS, Inc.). Após revelação com iodo, as bandas correspondentes ao colesteril éter foram raspadas diretamente para dentro de frascos de cintilação contendo 3 mL de solução cintiladora (Amersham). A radioatividade foi medida em um contador Beckman modelo LS 6000 TA no, durante 1 minuto.

### **Estudo da secreção hepática de triglicérides (TG) e colesterol (COL)**

Os animais foram pesados e coletou-se um capilar de sangue via caudal para dosagem de triglicérides e colesterol basal. Os camundongos CETP Tg castrados e sham-operados foram anestesiados e receberam uma injeção de Triton WR 1339 (Sigma, St. Louis, MO) para inibir a atividade da lipoproteína lipase, na dose de 500mg/kg, dissolvidos em solução NaCl 0,9% por via endovenosa (veia femoral). Coletou-se amostras de sangue (50 ul) de cada animal nos

tempos 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 horas (Escolà-Gil et al, 2001). Determinou-se triglicérides e colesterol no plasma obtido em cada tempo. A secreção hepática de VLDL foi determinada pela inclinação das retas médias obtidas por regressão linear da trigliceridemia e colesterolemia ao longo do tempo após a administração do Triton WR 1339.

### **Ensaio de lipólise endógena**

Foram coletados 150  $\mu\text{L}$  de sangue caudal dos animais em jejum de 6 horas (amostra fonte de substratos). Em seguida, os animais receberam, via subcutânea, heparina (100 IU/Kg de peso corpóreo) e após 10 min, foram coletados mais 50  $\mu\text{L}$  de sangue (amostra fonte de lipases). Aos 50  $\mu\text{L}$  de plasma pré-heparina foram adicionados 5  $\mu\text{L}$  do plasma pós-heparina ou salina (blank). As amostras foram incubadas à temperatura de 37°C por 60 min. Ácidos graxos livres (AGL) foram dosados com kit enzimático Wako®, de acordo com especificação do fabricante. A lipólise endógena foi estimada por diferença entre as concentrações de AGL nas amostras e os blanks.

### **Análise histológica das lesões ateroscleróticas**

Os camundongos foram anestesiados e seus corações foram perfundidos *in situ* com tampão fosfato (PBS) e em seguida por PBS- formaldeído 10%. Após esses procedimentos, os corações foram removidos e fixados em formaldeído 10% por dois dias. Os corações, então, foram embebidos sequencialmente em gelatina 5%, 10% e 25%. Os processamentos e coloração foram realizados de acordo com Paigen *et al* (1987). Os lipídeos corados nas lesões foram quantificados como descrito por Rubin *et al* (1991) usando Image Pro Plus Software para análise da imagem (versão 3.0, media Cybernetics Silver Spring, MD). As lâminas foram analisadas sem que se conhecesse o tipo de tratamento dos animais. A área das lesões representa a soma das lesões de sete secções de 10  $\mu\text{m}$ , distantes 80  $\mu\text{m}$  uma da outra, em um total de 550  $\mu\text{m}$  de comprimento da aorta.

### **Quantificação do auto- anticorpo anti-LDLox (oxidada)**

O auto-anticorpo-anti- LDLox foi determinado como previamente descrito por Cazita et al. (2003). Placas de microtitulação de poliestireno (Costar, Cambridge, MA, USA) foram cobertas

com 1  $\mu\text{L}$ /cavidade de LDLox humana (20mM  $\text{Cu}^{2+}$ , 24h) Em tampão de carbonato/bicarbonato (20  $\mu\text{L}$ /cavidade), pH 9.4, e mantida a 4°C por 12 horas. As microplacas foram bloqueadas com uma solução 5% de leite livre de gordura (Molico/Nestlé, SP, Brasil), então foram incubadas por 2 h em temperatura, em seguida as placas foram lavadas com 4 vezes com PBS (100  $\mu\text{L}$ ). Amostras de plasma (50  $\mu\text{L}$ , 1:100) foram adicionadas as placas e incubadas a 4°C por 12 horas em seguida foram lavadas com PBS contendo Tween 20 a 1% . Foi adicionado um conjugado peroxidase de coelho anti-IgG de camundongo (50  $\mu\text{L}$ ; 1:5000), e após 1 h em temperatura ambiente as placas foram lavadas. Finalmente, foi adicionado 75  $\mu\text{L}$  de solução de substrato (250 mg de tetrametil-benzidina diluído em 50 mL de DMSO, 10  $\mu\text{L}$  de 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 12 mL de tampão de citrato, pH 5,5), após incubação em temperatura ambiente por 15 min, a reação foi interrompida pela adição de 25 $\mu\text{L}$  de 2.0 M de ácido sulfúrico. Os resultados foram avaliados por leitura espectrofotometria a 450nm de comprimento de onda em aparelho Multiskan MCC/340P, model 2.20 (Labsystems, Finlândia).

#### **Tratamento estatístico:**

Os dados foram apresentados como média  $\pm$  erro padrão (ep). Utilizou-se o teste “t” de Student e análise de variância ANOVA seguida pelo teste de Tukey – Kramer para análise paramétrica e Mann-Whitney para a análise de parâmetros com unidades relativas. O programa estatístico foi o InStat versão 3.00 da GraphPad Software. Para verificação dos efeitos de 3 fatores (genótipo, tratamento hormonal e estado de atividade física) foi utilizada análise de variância multifatorial através do Software SAS (versão 8). As diferenças foram consideradas significativas quando  $p < 0,05$ .

## ***V. RESULTADOS E DISCUSSÃO***

## V.1) ESTUDO DA DEFICIÊNCIA DE TESTOSTERONA.

### Resultados

As avaliações foram realizadas 30 dias após a orquidectomia bilateral (castração) e a pseudo-cirurgia (sham) em camundongos CETP Tg e não-Tg com idade média de 4 meses.

O peso corporal e de órgãos dos animais CETP Tg e não-Tg, castrados e sham, estão apresentados na **Tabela 1**. Houve uma redução significativa do peso corporal final dos animais CETP Tg castrados quando comparados ao grupo CETP Tg sham. Leblanc et al. (2004), em estudo com macacos castrados, também observaram redução do peso corporal dos animais castrados e, através de avaliação do consumo alimentar, foi descartada a possibilidade de uma diferença na ingesta dos grupos castrados e controles. A perda do peso deveu-se a uma diminuição de massa magra nos macacos castrados. Os pesos das adrenais e pesos relativos dos fígados apresentaram-se similares nos dois grupos CETP Tg, castrados e sham. O peso corporal, os pesos das adrenais e pesos relativos dos fígados foram semelhantes entre os grupos de camundongos não-Tg castrados e sham.

As concentrações plasmáticas de colesterol (COL), ácidos graxos livres (AGL), triglicérides (TG) e glicose (GLIC) não variaram em função da castração, tanto nos animais CETP Tg como nos não-Tg (**Tabela 2**). Como foi descrito anteriormente que os níveis de testosterona livre em humanos podem estar correlacionados positivamente com a concentração de insulina (Stefanick et al., 1987), averiguamos este parâmetro nos camundongos CETP Tg. As concentrações plasmáticas de insulina dos CETP Tg foram similares entre os grupos castrado e sham (**Tabela 2**).

Os perfis das lipoproteínas plasmáticas, obtidos por cromatografia líquida de alta resolução (FPLC), dos animais CETP transgênicos e não-transgênicos, castrados e pseudo-operados, são apresentados na **Tabela 3**. Observou-se um aumento de 36 % na fração LDL-COL ( $p=0,02$ ) e uma significativa redução paralela de 30 % na fração HDL-COL ( $p=0,002$ ) nos animais CETP Tg castrados quando comparados aos CETP Tg sham. As modificações nas apoB-LP dos camundongos não-Tg foram mais pronunciadas, com um aumento de 43 % na fração VLDL-COL e de 79 % na fração LDL-COL ( $p=0,001$ ). Houve também uma redução

modesta porém significativa de 11 % da fração HDL-COL ( $p=0,003$ ) quando comparados aos não-transgênicos sham (**Tabela 3**).

Os níveis de LDL oxidada (LDLox) foram medidos indiretamente pela determinação dos níveis de auto-anticorpos anti-LDLox e estavam aumentados ( $p=0,014$ ) nos camundongos CETP Tg castrados quando comparados aos CETP Tg sham (**Tabela 3**). A diminuição de estrógeno derivado da testosterona, pela castração, poderia ser a causa de uma diminuição de um agente anti-oxidante, o que poderia explicar estes resultados (Leblanc et al., 2004 e Nathan et al., 2001 e Sack et al., 1994).

A atividade da CETP medida com substratos exógenos é indicativa da massa da proteína no plasma (McPherson et al., 1991). Esta não variou nos dois grupos, castrados e sham (**Tabela 4**). No entanto, a atividade da CETP determinada com os substratos endógenos estava 20 % aumentada no grupo CETP Tg castrado quando comparada ao grupo CETP Tg sham ( $p=0,01$ ) (**Tabela 4**). Portanto, esta atividade aumentada de CETP pode ter contribuído para redução das HDL nos animais CETP Tg castrados.

A atividade das lipases LPL e LH são importantes na geração das LDL a partir das VLDL (Redgrave, 1983). A atividade da LPL também contribui para um aumento de HDL-COL (Nunes *et al*, 2001), enquanto a atividade da LH está associada a uma redução de HDL-COL (Cohen *et al*, 1999). Examinando a atividade máxima *in vitro* destas enzimas a partir de plasma obtido após tratamento com heparina, verificamos que não existem diferenças significativas entre os animais castrados e sham-operados (**Tabela 4**). Este ensaio também mede, indiretamente, a quantidade destas enzimas. Portanto, podemos concluir que a expressão destas enzimas não foi modificada pela deficiência de testosterona (castração).

Para verificar a influência tanto das enzimas lipolíticas quanto dos substratos endógenos na lipólise intravascular, realizamos um ensaio *in vitro* com substratos endógenos. Os plasmas dos animais foram incubados com uma pequena quantidade (1/10 do volume) de plasma pós-heparina dos mesmos animais (fonte de lipase) por 1 hora a 37°C e a quantidade de AGL liberados foi determinada pela diferença entre os valores antes e após incubação. Verificamos que não houve diferenças significativas na lipólise endógena nos camundongos sham e castrados (**Tabela 4**). Portanto, as diferenças observadas nos níveis de LDL e HDL não podem ser explicadas por alterações da lipólise intravascular.

Para entender as alterações induzidas pela deficiência de testosterona sobre os níveis de LDL e HDL plasmáticas, realizamos estudos de velocidade de remoção plasmática com LDL e HDL “neutras” (obtidas de doadores humanos), marcadas com isótopos radioativos e injetadas via intraperitoneal (ip) ou endovenosa (ev) em camundongos machos CETP Tg castrados ou pseudo-operados (**Tabela 5**). Estes estudos indicam a quantidade de receptores teciduais específicos para remoção plasmática de LDL e HDL. As quantidades de LDL e HDL, marcadas tanto em seus componentes protéicos como no colesterol, que permaneceu no plasma durante 6 horas não estavam alteradas pela castração. Assim, podemos concluir que o aumento observado em LDL-COL e a diminuição em HDL-COL nos CETP Tg castrados não foram devido a modificações no número de receptores dessas LP.

Em seguida, avaliamos a velocidade de produção da partícula precursora da LDL plasmática, a VLDL. A velocidade de secreção hepática de VLDL foi determinada após administração de Triton WR 1339, um inibidor da LPL. Como mostra a **Figura 2**, observamos que a secreção de VLDL-TG estava reduzida nos animais castrados quando comparada aos sham-operados ( $p = 0,022$ ), enquanto a secreção de VLDL-COL encontrava-se inalterada nos castrados e sham. Esses experimentos demonstram que o aumento de LDL nos animais castrados não se deve ao aumento de seu precursor, a VLDL. Porém, indica que as partículas de VLDL secretadas pelo fígado são mais pobres em TG e relativamente mais ricas em COL.

Para investigar a susceptibilidade dos animais castrados à aterosclerose e ainda, estudar o efeito da expressão da CETP sobre a aterogênese, camundongos CETP Tg foram cruzados com os *knockout* do receptor de LDL para gerar camundongos que expressam ou não CETP e com deficiência parcial de receptores de LDL, CETP/R1 e R1, respectivamente. Machos com idade de 3 a 4 meses foram estudados após 10 semanas de orquidectomia bilateral ou pseudocirurgia e alimentação com dieta hiperlipídica contendo 20% de gordura, 1,25% de colesterol e 0,5% de colato de sódio.

O peso corporal e do fígado dos animais R1 e CETP/R1, castrados e sham, estão apresentados na **Tabela 6**. Observou-se que ao final do experimento, ambos os grupos genotípicos castrados, R1 e CETP/R1, apresentaram peso menor que seus respectivos controles sham-operados, porém não diferiram entre os genótipos. Conforme mencionado anteriormente, isso deveu-se provavelmente a uma perda da massa corporal magra como foi verificado no estudo de Leblanc et al. (2004).

As concentrações plasmáticas de colesterol (COL), triglicérides (TG), ácidos graxos livres (AGL) e glicose (GLIC) estão apresentadas na **Tabela 7**. Como esperado, animais que expressam CETP (CETP/R1) exibiram menor concentração de COL que os que não expressam a CETP (R1), tanto nos castrados como nos sham. Esta resposta à expressão da CETP já foi descrita anteriormente por Marotti et al. (1992), que encontraram uma forte correlação negativa entre atividade plasmática da CETP e colesterol total plasmático. A castração elevou a colesterolemia em ambos os grupos, 17% em CETP/R1 e 23 % em R1. Quanto a trigliceridemia, a castração não teve efeito significativo, tanto nos animais R1 quanto em CETP/R1. A castração também não alterou significativamente os níveis de AGL dentro de cada grupo genotípico. A glicemia também não variou em função do genótipo nem em função da castração.

As atividades da lipase hepática (LH) e da CETP são mostradas na **Tabela 8**. A castração não teve efeito estatisticamente significativo sobre a atividade da LH dentro de cada grupo genotípico. A castração também não afetou os níveis de CETP, confirmando os resultados anteriores.

Os perfis das lipoproteínas plasmáticas, obtidos por cromatografia líquida de alta resolução (FPLC), dos R1 e CETP/R1 castrados e sham são apresentados em valores absolutos (concentração de colesterol em cada fração) e valores relativos (distribuição percentual de colesterol em cada fração) na **Figuras 3 e 4 e Tabela 9**.

Animais alimentados com este tipo de dieta hiperlipídica apresentam um perfil de lipoproteínas no qual não é possível resolver completamente os picos de VLDL e LDL pela coluna de superose 6 do sistema FPLC. Assim, consideramos as VLDL e LDL conjuntamente como a fração de apoB-LP. Observamos que os animais sham-operados que expressam a CETP já apresentavam uma distribuição de colesterol nas lipoproteínas diferente dos que não a expressam (R1), isto é, CETP/R1 sham apresentaram níveis de apoB-LP reduzidos em relação aos R1 sham. Após a castração, houve uma elevação significativa das apoB-LP tanto nos animais R1, quanto nos CETP/R1, porém esta elevação foi menor em CETP/R1, acentuando mais a diferença de concentração das apoB-LP observada entre os dois grupos genotípicos. Portanto, a expressão da CETP atenuou o acúmulo destas lipoproteínas aterogênicas frente à dieta hiperlipídica.



Com relação aos níveis plasmáticos de HDL-colesterol, não se verificaram diferenças estatísticas nem em função do genótipo, nem em função da castração nestes animais alimentados com dieta hiperlipídica.

A razão apoB-LP/HDL, muito usada como um índice aterogênico, é mostrada na **Figura 4** e **Tabela 9**. Os animais castrados que não expressam CETP (R1) apresentaram a maior razão e portanto o maior risco de desenvolverem aterosclerose.

A análise morfométrica das lesões ateroscleróticas da raiz da aorta (**Tabela 10**) indicou que a deficiência da testosterona induziu um aumento de aproximadamente 100 % na área de lesão aterosclerótica nos animais R1 ( $p < 0,02$ ) e de aproximadamente 50 % nos camundongos CETP/R1 castrados ( $p = 0,15$ ) quando comparados aos seus respectivos controles sham-operados. A expressão da CETP reduziu significativamente a área de lesão nos camundongos castrados (-44 %,  $p < 0,05$ , CETP/R1 castrado vs R1 castrado).

### **Discussão**

Neste trabalho, nós investigamos alguns mecanismos pelos quais a deficiência de testosterona, combinada ou não com a expressão da CETP, altera a concentração das lipoproteínas plasmáticas e seu impacto no desenvolvimento da aterosclerose induzida por dieta em camundongos geneticamente modificados. Uma das principais alterações nas lipoproteínas causadas pela deficiência de testosterona foi um marcante aumento nas concentrações de apoB-LP. Isso foi observado nos quatro grupos genotípicos castrados: não-Tg, CETP, R1 e CETP/R1. Assim, esse efeito foi independente da presença da CETP. Entretanto, as alterações nestas lipoproteínas foram amenizadas nos camundongos que expressam a CETP. Sob dieta com baixa concentração de gordura (chow), a deficiência de testosterona induziu também uma redução nas concentrações de HDL-COL, a qual foi exacerbada pela atividade da CETP nos camundongos transgênicos. A redução da concentração da HDL-COL pela deficiência de testosterona e pela expressão da CETP não foi observada nos camundongos alimentados com dieta hiperlipídica, provavelmente por que este tipo de dieta estimula a síntese hepática da apoAI (Azrolan et al., 1995), aumentando assim a concentração de HDL-COL em todos os camundongos que consumiram essa dieta. Apesar disso, em ambos os grupos de camundongos alimentados com dieta chow e hiperlipídica, a castração induziu um aumento significativo em apoB-LP e na relação apoB-LP/HDL.

LPL e LH possuem um importante papel não apenas no metabolismo das lipoproteínas ricas em TG, mas também no metabolismo da HDL (Auwerx et al., 1992). Administração de esteróides androgênicos em humanos causou aumento na atividade da LH (Berg et al., 2002), enquanto nenhum efeito ou elevação foi observado na atividade da LPL (Sorva et al., 1988; Zmuda et al., 1993; Herbst et al., 2003). Nós mostramos neste trabalho que a deficiência de testosterona não alterou a expressão de ambas enzimas lipolíticas, o que exclui suas participações nas alterações das concentrações de LDL e HDL observadas nos camundongos castrados.

De acordo com nossos resultados, a elevação em apoB-LP nos camundongos deficientes de testosterona não pode ser explicada por modificação na produção dos precursores (VLDL), na velocidade de conversão de VLDL em LDL mediada pela lipólise, e nem por alteração do número de receptores de LDL. Contudo, nos camundongos castrados, a secreção hepática de partículas de VLDL contendo menos TG poderia gerar partículas de LDL com menor afinidade por seus receptores. Essas LDL poderiam então, permanecer por mais tempo no compartimento plasmático, explicando assim suas maiores concentrações plasmáticas.

Evidência de outra alteração na composição química da LDL que poderia afetar a sua afinidade pelo receptor e maiores concentrações plasmáticas é o aumento do título de auto-anticorpos anti-LDLox encontrado no plasma dos camundongos castrados. Isso significa que a deficiência de testosterona, provavelmente devido a deficiência da ação antioxidante do estrógeno, poderia desencadear oxidação de LDL. O papel crítico do estrógeno derivado da testosterona na aterosclerose foi elegantemente demonstrado por Nathan et al (2001) usando reposição de testosterona em camundongos castrados com ou sem inibidor da aromatase. Os mesmos autores mostraram que a aromatase medeia a conversão de testosterona em estrógeno nas células endoteliais, atenuando a expressão de VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule-1*), uma molécula de adesão envolvida na aterogênese (Mukherjee et al., 2002).

De acordo com nossos estudos, os camundongos castrados desenvolveram maior área de lesão aterosclerótica que os controles sham-operados. Combinando os grupos pelo estado hormonal (todos os castrados vs todos os sham), o efeito da deficiência de testosterona no aumento da lesão é confirmado (+90 %,  $p < 0,005$ ), independentemente dos genótipos. Por isso, o aumento da aterosclerose na deficiência de testosterona poderia ser atribuído, pelo menos em parte, a maior concentração de LDL e LDLox observada nesses camundongos.

Camundongos que expressam a CETP apresentam menor área de lesão (-44 %) quando comparados aos camundongos R1 castrados ( $p < 0,05$ ). Foi descrito previamente que a expressão da CETP em camundongos fêmeas castradas atenuou a aterosclerose em 50 % (Cazita et al., 2003). Neste trabalho, nós ampliamos esses achados mostrando que a CETP também atenuou a aterosclerose nos camundongos machos deficientes de testosterona. Como no trabalho anterior, o papel benéfico da CETP pode ser observado apenas no estado de deficiência hormonal. O provável mecanismo pode estar relacionado a capacidade da CETP em atenuar a elevação da apoB-LP causada pela dieta hiperlipídica e pela deficiência de testosterona, visto que as concentrações de apoB-LP se correlacionaram positiva e significativamente com a área de lesão ( $r = 0,53$ ,  $p < 0,005$ ).

Em uma situação de supressão dos receptores de LDL pela dieta aterogênica, a transferência de CE da HDL para apoB-LP mediada pela CETP poderia adicionalmente aumentar a concentração de LDL-COL no plasma o que não foi observado no presente estudo. Não está clara a razão pela qual a expressão da CETP conduziu a uma elevação menos pronunciada da LDL-COL, mas isso poderia estar relacionado a sua capacidade de modificar a afinidade das apoB-LP por seus receptores específicos, visto que pacientes com deficiência da CETP apresentam partículas de LDL com afinidade diminuída pelos receptores de LDL (Sakai et al., 1995). Em outro trabalho (Castilho et al., 2001), foi mostrado que a CETP transfere CE de LDLox para HDL com maior eficiência do que para LDL nativa. Como consequência, CETP pode facilitar a remoção plasmática de lipídeos oxidados da LDL via HDL. Esses achados estão de acordo com as maiores concentrações de LDLox encontradas nos pacientes com deficiência da CETP (Chiba et al., 1997). Outro potencial mecanismo protetor mediado pela CETP é a transferência de  $17\beta$ -estradiol esterificado das partículas de HDL para LDL (Helisten et al., 2001; Tikkanen et al., 2002), conferindo proteção à LDL contra oxidação.

Por outro lado, os eventos locais envolvidos na formação do ateroma são também importantes para explicar as diferenças no tamanho das áreas de lesão. Trabalhos anteriores mostraram que a adição da CETP no meio de cultura de células musculares lisas (Stein et al., 1985) ou de células espumosas (Morton, 1988) estimulou a taxa de efluxo de colesterol celular. Foi mostrado recentemente que macrófagos expressando CETP captaram menos colesterol de LDL acetilada e liberaram mais colesterol celular para HDL (Cazita et al., 2003). Assim, a

CETP poderia contribuir diretamente para a diminuição do acúmulo de lipídeos nas células espumosas arteriais.

Em síntese, neste estudo, nós mostramos que a deficiência de testosterona aumentou a concentração plasmática de apoB-LP, diminuiu a taxa de secreção de VLDL-TG mas não de VLDL-COL, aumentou as concentrações de auto-anticorpos anti-LDLox e dobrou o tamanho da área de lesão aterosclerótica induzida por dieta. A expressão da CETP não foi alterada na deficiência de testosterona e promoveu um menor elevação das apoB-LP e redução do tamanho da área de lesão nos camundongos deficientes de testosterona.

## V.2) ESTUDO DA SUPLEMENTAÇÃO COM TESTOSTERONA (METABOLIZÁVEL OU NÃO)

### Resultados e Discussão

Camundongos CETP Tg e não-Tg, machos e fêmeas, com idade média de 4 meses, foram tratados com dois tipos de ésteres de testosterona metabolizáveis, Durateston (DT) e Androgenol (AN) ou com placebo, propilenoglicol (PL), durante 14 dias. Nenhum dos grupos tratados mostrou alterações nos seus pesos finais, quando comparados aos valores basais iniciais (**Tabelas 11 e 12**). Também o peso relativo do tecido adiposo perigonadal, do fígado e das gônadas foram semelhantes entre os grupos de camundongos tratados e controles (**Tabelas 11 e 12**).

As concentrações plasmáticas de triglicérides (TG), ácidos graxos livres (AGL) e colesterol (COL) são mostradas nas **Tabelas 13 e 14**. Observou-se que as concentrações de TG e AGL foram estatisticamente semelhantes entre os grupos tratados (DT e AN) e placebo (PL), em ambos os sexos. No entanto, observa-se aumento de 25 % em TG de machos tratados com DT, porém este dado não alcançou significância estatística. O nível plasmático de colesterol diminuiu significativamente no grupo de machos tratados com Androgenol em relação ao placebo (**Tabela 13**).

Vários estudos têm demonstrado que níveis fisiológicos de testosterona e estrógeno estão envolvidos na manutenção da insulinemia (Muller et al., 2003). Assim, após 14 dias de tratamento com doses supra-fisiológicas de testosteronas metabolizáveis (DT e AN), avaliamos os níveis de glicose e insulina plasmáticas, porém não observamos diferenças nas concentrações plasmáticas destes dois parâmetros nos camundongos machos e fêmeas tratados com Durateston e Androgenol (**Tabelas 13 e 14**).

Camundongos CETP Tg, tanto os machos (**Tabela 13**) quanto as fêmeas (**Tabela 14**), não exibiram alterações significativas da distribuição do colesterol nas frações de lipoproteínas plasmáticas após suplementação com testosterona. Entretanto, camundongos não-Tg machos apresentaram uma elevação significativa de 72 % na fração de LDL-colesterol (**Tabela 13**) após suplementação com DT. As razões pelas quais a expressão da CETP protegeu os camundongos transgênicos contra a elevação das LDL observada nos não-transgênicos em resposta à

suplementação com testosterona não são claras, porém já foi mostrado que pacientes com deficiência de CETP apresentam LDL com menor afinidade por seus receptores, e assim permanecem mais tempo no plasma (Sakai et al., 1995).

A atividade da CETP determinada tanto pelo ensaio com substratos exógenos como endógenos é mostrada na **Figura 5**. Podemos observar que o tratamento com DT induziu um aumento na atividade da CETP de 45 % nas fêmeas e de 56 % nos machos. Porém, devido à grande variabilidade dos dados, não foi atingida a significância estatística para  $p < 0,05$ .

Buckler et al. (1997) mostraram que mulheres na pré-menopausa tratadas com baixas doses de testosterona apresentaram níveis de VLDL-colesterol aumentados e diminuição dos níveis de HDL-colesterol e apoA-I. Redução dos níveis de HDL-colesterol após suplementação com testosterona também tem sido consistentemente observada em homens saudáveis e atletas (Bagatell et al., 1994; Anderson et al., 1995; Webb et al., 1984).

Em camundongos, o efeito da testosterona é dependente do gênero e da linhagem genética. Testosterona administrada em camundongos fêmeas da linhagem C57Bl/6, sejam intactas (Paigen et al. 1987) ou castradas (Tang et al. 1991a), não induziu qualquer modificação da concentração de HDL-colesterol, embora tenha resultado em aumento de síntese hepática de apoAI (Tang et al. 1991a, 1991b). Em contrapartida, fêmeas C3H castradas e tratadas com testosterona exibiram redução da concentração de HDL-colesterol (Tang et al., 1991a). Por outro lado, van Vlijmen et al. (1996) mostraram que a administração de testosterona a fêmeas hiperlipidêmicas que expressavam uma apoE mutada, a apoE3 Leiden, promoveu aumento do clearance de VLDL e redução da concentração de VLDL+LDL, sem alterar a concentração de HDL. Em fêmeas hiperlipidêmicas por deficiência de apoE, quando castradas e tratadas com testosterona, houve aumento de HDL-colesterol (Elhage et al., 1997).

A discrepância entre esses resultados muito provavelmente deve-se aos mesmos fatores genéticos que levam as diferentes linhagens de camundongos a exibirem perfis de lipoproteínas plasmáticas distintos na condição basal.

É importante lembrar que os resultados obtidos neste e nos vários estudos citados podem ser consequência de metabólitos da testosterona, isto é, de estrógenos derivados da aromatização da testosterona pela enzima aromatase, a qual ocorre não só no ovário mas também no fígado, tecido adiposo, córtex da adrenal e parede arterial (Griffin et al., 1998; Simpson et al., 1999). Friedl et al. (1990) observaram aumento de estradiol em homens tratados

com testosterona quando comparados aos tratados com testosterona + testolactona (inibidor da aromatização da testosterona) ou com metiltestosterona (andrógeno que não é metabolizado em estradiol). Recentemente, Nathan et al. (2001) mostraram que a administração de um inibidor da aromatização de testosterona a camundongos machos hipercolesterolêmicos aumentou a formação de lesões ateroscleróticas tanto quanto a castração destes animais. Em contraprova, a administração de testosterona aos animais castrados reduziu a formação das lesões tanto quanto a administração de estradiol. Estes resultados indicam que a testosterona atenuou o desenvolvimento da aterosclerose por ser convertida em estrógeno pela aromatase expressa na parede do vaso.

Na seqüência, estudamos animais com perfil de LP mais semelhantes aos seres humanos. Para tanto, os animais CETP Tg foram cruzados com animais *knockout* do receptor de LDL, gerando dois grupos: CETP/R1 e R1, os quais são moderadamente hipercolesterolêmicos. Estes animais foram tratados por 3 semanas com dois tipos de testosterona: Durateston (DT) uma mistura de ésteres de testosterona metabolizável e Mesterolona (MEST), que não é metabolizada intracelularmente. Para cada tratamento foi realizado o correspondente grupo placebo: propilenoglicol no caso do DT (PEG) e goma arábica no caso da MEST (GA).

O peso corporal e de órgãos dos animais CETP/R1 e R1 estão apresentados na **Tabela 15**. Somente o peso corpóreo estava aumentado significativamente nos camundongos CETP/R1 MEST quando comparados aos controles CETP/R1 GA ( $p < 0,01$ ) ao final do tratamento.

As concentrações plasmáticas de lipídeos e glicose nestes animais estão mostradas na **Tabela 16**. Observamos que os níveis de ácidos graxos livres (AGL) e de glicose não variaram nem em função dos tratamentos hormonais nem em função do genótipo. Tanto DT quanto MEST elevaram significativamente a colesterolemia dos animais CETP/R1. Isso não aconteceu nos animais LDL R1 porque estes já apresentam uma concentração basal de colesterol maior que a dos animais CETP/R1. Os níveis de triglicérides também estavam aumentados nos animais CETP/R1 tratados com DT, porém não se alteraram nos animais tratados com MEST.

A elevação da colesterolemia pelos tratamentos com testosterona já era esperada, uma vez que isso já havia sido descrito na literatura, tanto em camundongos (Tang *et al*, 1991) como em seres humanos (Jockenovel *et al.*, 1999). Podemos ainda concluir que este efeito independe da metabolização intracelular da testosterona.

O perfil da distribuição do colesterol nas LP plasmáticas está mostrado na **Tabela 17**. Observamos que a MEST induziu aumento tanto de LDL (81 %) quanto de HDL (30 %) nos animais CETP/R1 enquanto elevações mais brandas foram observadas em animais R1. O tratamento com a testosterona metabolizável DT também induziu aumento estatisticamente significativo tanto de LDL (47 %) quanto de HDL (15 %) nos animais CETP/R1.

Para melhor evidenciar os efeitos dos dois tipos de testosterona e os efeitos dos genótipos sobre o perfil de LP plasmáticas, os dados da **Tabela 17** foram transformados em porcentagem de variação em relação aos valores dos placebos e mostrados na **Figura 6**. No painel da esquerda, mostramos como a resposta ao tratamento com MEST varia em função do genótipo. Os animais que expressam CETP responderam com aumento de LDL, enquanto isso não ocorreu nos animais R1. No painel da direita mostramos o efeito das duas testosteronas no mesmo grupo genotípico (CETP/R1). Observamos que ambas, DT e MEST, produziram o mesmo efeito sobre as concentrações de LDL e HDL, porém MEST foi mais potente que DT.

Para buscar explicação para as alterações nos lipídeos e LP, medimos as atividades das enzimas lipolíticas (LPL e LH), lipólise endógena e atividade da CETP, as quais são apresentadas na **Tabela 18**.

O tratamento com DT não alterou a atividade da LPL conforme resultados do ensaio com substratos exógenos. Em seres humanos, o efeito de testosterona sobre LPL é controverso. Tratamento com testosterona e inibidor da aromatase levou ao aumento na LPL (Zmuda et al., 1993). Porém, tratamento com outro esteróide androgênico não metabolizável (stanozolol) não alterou os níveis de LPL (Haffner et al, 1983). Outros estudos em homens hipogonádicos ou ratos castrados mostraram que a reposição com testosterona não altera a atividade da LPL (Valdemarsson et al, 1987; Tan et al, 1999; Peinado-Onsurbe et al, 1993), como ocorreu em nosso estudo.

Verificamos também que a lipólise endógena não estava alterada pelo tratamento com DT, através da diferença das concentrações finais e iniciais de ácidos graxos livres (AGL) após incubação do plasma pré-heparina (substratos endógenos) com plasma pós-heparina (rico em lipases). Portanto, o aumento da concentração de triglicérides (TG) no plasma dos animais DT deve ser consequência de uma elevação da secreção hepática e/ou intestinal de TG e não de redução do processo lipolítico intravascular.



Os efeitos da MEST e DT em aumentarem a LDL, poderiam ser resultado de: 1) aumento de conversão de VLDL para LDL mediado pela LPL e LH, 2) aumento de transferência de colesterol para LDL, mediado pela CETP, e 3) redução do número de receptores de LDL. A primeira possibilidade não deve estar contribuindo para este resultado, uma vez que não verificamos redução de TG, pelo contrário, o DT aumentou a trigliceridemia. As enzimas LPL e LH e a lipólise endógena também não variaram nos animais tratados com testosterona. A expressão da CETP não foi modificada pelo tratamento com MEST, porém encontrava-se elevada no grupo de animais tratados com DT (**Tabela 18**).

Portanto, nossos resultados sugerem que o aumento de LDL deve-se ao menor número de receptores de LDL ou menor afinidade da LDL pelos seus receptores nos animais tratados com testosterona. Há indicações na literatura de que a testosterona reduz a expressão dos receptores da LDL. Croston *et al* (1997) descreveram que agonistas de receptores androgênicos reduzem a transcrição gênica do receptor da LDL induzido por estrógeno em cultura de hepatócitos. Por isso DT (metabolizável a estrógeno) não teria efeito tão potente sobre LDL, como é o caso da MEST (LDL aumentada em 47 % vs 81 %, respectivamente).

Os efeitos da MEST e DT em aumentarem as HDL poderiam ser resultado de: 1) redução das proteínas CETP, LH ou SRBI, e 2) aumento de apo AI, ABCA1 ou LCAT.

A MEST não alterou a CETP e a LH. Porém, o DT elevou a CETP e reduziu a LH (**Tabela 18**). Como ambas as proteínas, CETP e LH, são inversamente correlacionadas com concentrações de HDL (Tall 1990 e 1995; Brinton *et al*, 1989 e 1991; Bersot *et al*, 1999), o aumento da CETP e redução da LH tiveram menor impacto sobre a HDL (+15 %) nos animais tratados com DT, quando comparados ao aumento de 30 % da HDL dos CETP/R1 tratados com MEST. Portanto, a MEST (e também a DT) podem estar atuando na expressão de outras proteínas que aumentam HDL, tais como apoA-I, ABCA1 ou LCAT. Tang *et al* (1991a, 1991b) mostraram aumento de síntese hepática de apoA-I em fêmeas C57B16 tratadas com testosterona.

Como os efeitos sobre CETP e LH só foram verificados com a testosterona metabolizável, podemos concluir que eles são consequência dos metabólitos da testosterona, dihidrotestosterona ou estrógeno.

Diferentemente de nossos resultados, Field *et al*. (1990) mostraram que em homens tratados com testosterona não metabolizável ocorria aumento de LH, enquanto o tratamento

com testosterona metabolizável não tinha efeito sobre a LH. Portanto, nossos resultados podem ser espécie-específicos.

Com o objetivo de investigar se o aumento da atividade da CETP e redução da LH aumentariam o transporte reverso de colesterol indireto, via apoB-LP, para o fígado, realizamos estudo cinético com HDL marcada com  $^{14}\text{C}$ -colesteril oleato em camundongos CETP/R1 tratados com DT e PL. Seis horas após a injeção de  $^{14}\text{C}$ -HDL, o plasma dos animais foi submetido à FPLC para fracionamento das lipoproteínas. Esses resultados são apresentados na **Figura 7 e Tabela 19**.

Podemos observar na **Figura 7** que tanto a quantidade de  $^{14}\text{CCE-HDL}$  que permanece no plasma durante as 6 horas, medida através da área sob a curva de radioatividade, quanto a taxa fracional de remoção plasmática de  $^{14}\text{CCE}$ , avaliada através da inclinação da curva, não foram alteradas pela suplementação com DT. No entanto, quando isolamos as lipoproteínas plasmáticas 6 horas após a injeção ev de  $^{14}\text{CCE-HDL}$ , observamos um aumento de  $^{14}\text{CCE}$  nas frações VLDL (+ 76 %) e LDL (+17 %) e diminuição de  $^{14}\text{CCE}$  na fração HDL (-10 %) (**Tabela 19**). Estes dados comprovam que a transferência de CE da HDL para as apoB-LP está aumentada, porém este CE das apoB-LP (VLDL e LDL) permaneceu mais na circulação dos animais DT do que dos animais PL. A redução de  $^{14}\text{CCE}$  na HDL também está de acordo com o aumento da transferência de  $^{14}\text{CCE}$  de HDL para VLDL e LDL, pela CETP.

Estes resultados indicam que a testosterona metabolizável aumentou LDL, por aumentar a atividade da CETP e reduzir a velocidade de remoção plasmática das LDL. Este último efeito pode ser resultante da ação da testosterona sobre o número de receptores ou sobre a afinidade da LDL por seus receptores. O efeito da testosterona não metabolizável (MEST) em aumentar a LDL foi mais potente que o da testosterona metabolizável (DT). Apesar de não estimular a atividade da CETP, o efeito da MEST sobre LDL foi maior nos animais que expressam CETP.

### IV.3) ESTUDO DA INTERAÇÃO ENTRE TREINAMENTO FÍSICO E SUPLEMENTAÇÃO COM TESTOSTERONA

#### Resultados e Discussão

Neste estudo avaliamos a interação entre o exercício físico (6 semanas de natação) e suplementação com Mesterolona (3 semanas), testosterona não metabolizável, em camundongos adultos com deficiência parcial de receptor de LDL e que expressavam a CETP (CETP/ R1) ou não (R1).

#### Efeitos da testosterona em animais sedentários

O tratamento com MEST não alterou o peso corpóreo, peso das adrenais e peso relativo dos testículos, do fígado e do coração em ambos os grupos genotípicos (**Tabela 20**). Houve uma redução média de 2,6 g de peso corpóreo em todos os grupos de animais ao final do estudo. Esta redução é atribuída ao estresse diário da gavagem, uma vez que ocorreu em ambos os grupos genotípicos e tanto nos tratados com MEST quanto nos placebo.

A colesterolemia estava significativamente aumentada ( $p=0,002$ ) no grupo MEST que expressava a CETP (CETP/ R1) quando comparada ao placebo (**Tabela 21**). Isso não foi verificado no grupo R1, pois estes já apresentavam uma concentração de colesterol basal maior que os CETP/R1 placebo ( $p=0,0003$ ). Quanto aos níveis plasmáticos de AGL, TG e glicose, estes não variaram nem em função do genótipo, nem em função do tratamento hormonal (**Tabela 21**).

A distribuição do COL nas lipoproteínas é apresentada na **Tabela 22**, onde podemos observar que não houve modificação em VLDL-COL entre os grupos. Porém, o tratamento com MEST induziu elevação em LDL-COL nos CETP/R1 e de HDL-COL em ambos os grupos genotípicos. A presença da CETP nos grupos tratados com MEST (CETP/ R1 vs R1) induziu aumento de 18 % em LDL-COL ( $p=0,002$ ) e este aumento se refletiu na fração non-HDL (17 %) e na razão V+LDL/HDL (31 %), tornando o perfil lipoprotéico do CETP/ R1 MEST o mais aterogênico dos quatro grupos.

Investigamos também as duas proteínas moduladoras do metabolismo da HDL, a CETP e LH (**Tabela 23**). Verificamos que as quantidades de CETP (ensaio exógeno) e de LH não estavam alteradas pelo tratamento com MEST. Assim, não podemos atribuir a elevação dos níveis plasmáticos de HDL-COL induzida por MEST às modificações das concentrações destas proteínas.

### **Efeito da testosterona em camundongos exercitados**

Camundongos CETP/ R1 e R1 foram submetidos a treinamento físico através de sessões diárias (5 dias/semana) de natação durante 6 semanas e receberam Mesterolona ou placebo nas 3 últimas semanas de treinamento.

A **Tabela 24** mostra que os pesos corpóreos, de adrenais e pesos relativos de testículos, do fígado e do coração não variaram entre os grupos exercitados. Nestes grupos exercitados também ocorreu redução de peso em todos os grupos genotípicos, tratados ou não com MEST (redução média de 3,7 g de peso corpóreo). Atribuímos esta redução de peso corpóreo ao estresse do treinamento físico associado à gavagem diária.

As concentrações plasmáticas de COL, TG, AGL e glicose não variaram nem em função do tratamento com Mesterolona, nem em função do genótipo dos animais exercitados (**Tabela 25**).

Os perfis de LP dos animais exercitados estão na **Tabela 26**. Observamos ausência de efeitos da MEST em VLDL-COL e LDL-COL tanto nos grupos CETP/ R1 como nos LDL R1 exercitados. No entanto, o tratamento com MEST reduziu significativamente a concentração de HDL (-18 %) somente nos R1, embora se observe a mesma tendência nos CETP/R1 (-9 %), porém sem alcançar significância estatística. Quando analisamos a fração non-HDL e a razão V+LDL/HDL podemos observar que a presença da CETP no grupo placebo levou a maior concentração de COL na fração non-HDL e conseqüentemente maior índice aterogênico.

As atividades da CETP e da LH (**Tabela 27**) não sofreram alterações significativas nem entre os genótipos, nem entre os tratamentos hormonais dos camundongos exercitados.

## **ANÁLISE MULTIFATORIAL DOS RESULTADOS DOS ANIMAIS CETP/R1 E R1, TRATADOS COM MEST OU PLACEBO, SEDENTÁRIOS E EXERCITADOS**

Os dados dos estudos com os animais sedentários e exercitados foram tratados em conjunto através da análise de variância multifatorial para entendermos os efeitos do genótipo (ter ou não a CETP), do tratamento com Mesterolona, do exercício e das possíveis interações entre estes 3 fatores. A seguir descreveremos estes efeitos para cada parâmetro estudado.

### **COLESTEROL**

A análise multivariada mostrou que a presença de CETP, o exercício e as interações CETP-exercício e Mesterolona-exercício afetam significativamente as concentrações plasmáticas de colesterol total: o exercício físico elevou os níveis de colesterol plasmático tanto nos camundongos CETP/R1 (31%,  $p < 0,0001$ ) como nos R1 (13%,  $p = 0,02$ ) e esta elevação foi mais pronunciada nos animais que expressavam a CETP (CETP/R1), **Figura 11**. O exercício físico aumentou os níveis de colesterol no plasma dos camundongos tratados com placebo em 33 % ( $p < 0,0001$ ) e nos tratados com Mesterolona em 11 % ( $p = 0,008$ ), **Figura 12**.

Vários autores observaram que níveis de colesterol em homens exercitados não se alteravam em relação aos sedentários (Tikkanen et al., 1998; Durstine et al., 2001; Kim et al., 2001; Kraus et al., 2002; Katzmarzyk et al., 2001; Benítez et al., 2002; Thompson et al., 1991; Banz et al., 2003; Jafari et al., 2003). Entretanto, outros autores relataram diminuição nos níveis de colesterol como consequência de treinamento físico (Siep et al., 1993; Foger et al., 1999; Herd et al., 2001). Redução de colesterol também foi observada em estudos com homens exercitados tratados com testosterona (Sader et al., 2001; Zmuda et al., 1993). Porém, aumento do colesterol plasmático em função de aumento de atividade física foi descrito anteriormente em dois trabalhos (McKillop & Ballantyne, 1987 e Hurley et al., 1984).

## **VLDL-COL**

Não houve interações significativas entre os efeitos do genótipo, atividade física e Mesterolona neste parâmetro. A análise multivariada mostrou que o tratamento com Mesterolona, isoladamente, elevou de modo significativo as concentrações de VLDL-COL em 42% ( $p=0,02$ ) independentemente do genótipo e do estado de atividade física (**Figura 10**). Encontramos vários trabalhos na literatura em que animais castrados e suplementados com testosterona apresentaram resposta bastante variadas nos níveis de VLDL-COL (Haug et al., 1985; Elhage et al., 1997; Larsen et al., 1993; Greger et al., 1990; Bruck et al., 1997). Herbst *et al* (2003) não encontraram alteração nos níveis de VLDL-COL quando submeteu homens saudáveis a tratamento de 3 semanas com testosterona.

## **LDL-COL**

A análise multivariada mostrou que existe interação significativa entre os efeitos de Mesterolona e exercício em relação as concentrações plasmáticas de LDL-COL. O exercício físico elevou a fração de LDL-COL em 32 % ( $p= 0,0006$ ) de modo geral (todos exercitados vs todos sedentários) (**Figura 8**) , em 60 % ( $p=0,0006$ ) nos animais que não foram tratados com a Mesterolona (grupos placebo) (**Figura 12**) . von Duvillard et al (2000), em estudo com porcos alimentados com dieta hiperlipídica e exercitados, observaram aumento na fração LDL-COL. Porém, redução em LDL-COL e também em apo B foram encontradas em homens e mulheres exercitados (Siep et al., 1993). Na maioria dos estudos em humanos, o exercício físico diminuiu ou não alterou os níveis de LDL-COL (Tikkanen et al., 1998; Durstine et al., 2001; Kim et al., 2001; Kraus et al., 2002; Katzmarzyk et al., 2001; Benítez et al., 2002; Thompson et al., 1991; Banz et al., 2003; Jafari et al., 2003). Portanto, este efeito parece estar relacionado à espécie estudada.

## **Non-HDL (VLDL+LDL)**

A análise multivariada mostrou que a presença de CETP, o exercício e a interação Mesterolona-exercício afetaram significativamente as concentrações plasmáticas da fração chamada non-HDL a presença de CETP levou uma tendência de elevar a fração non-HDL em

15 % ( $p= 0,06$ ) (**Figura 9**) . O exercício, per se, elevou a fração non-HDL em 31 % ( $p= 0,0005$ ) (**Figura 8**) . Este efeito foi mais potente nos grupos placebo, 56 % ( $p<0,0009$ ).

### **HDL-COL**

Pela análise multivariada, a presença de CETP, o exercício e as interações CETP-exercício e Mesterolona-exercício afetaram significativamente as concentrações plasmáticas de HDL-COL: a presença de CETP reduziu a HDL-COL em 21 % ( $p= 0,0001$ ) (**Figura 9**) . Este efeito era esperado, uma vez que a atividade da CETP é inversamente correlacionada a concentração de HDL-COL.

O exercício aumentou os níveis de HDL-COL (**Figura 8**) e este aumento foi mais intenso no grupo que expressava a CETP (46 %,  $p<0,0001$ ) que nos R1 (20 %,  $p=0,01$ ) (**Figura 11**). Foi verificado em animais tratados com placebo (59 %) mas não nos tratados com Mesterolona (**Figura 12**) .

Niebauer et al (1999) não observaram aumento em HDL-COL após treinamento em esteira em camundongos fêmeas *wild type* e *knockout* para apo E durante 4 semanas. Entretanto, von Duvillard et al (2000), em estudo com porcos alimentados com dieta hiperlipídica e exercitados, observaram aumento na fração HDL-COL. Em humanos, o exercício pode aumentar ou não alterar os níveis de HDL-COL e as razões para estas diferenças estão relacionadas com os diferentes tipos de exercício realizados, sua intensidade e regularidade (Tall, 2002).

O tratamento com Mesterolona aumentou os níveis de HDL-COL somente nos grupos sedentários (27%,  $p<0,0001$ ), mas não nos exercitados, pois este último já possuía uma concentração de HDL-COL mais elevada. Em uma revisão feita por M. Oettel (2003) foi descrito que a testosterona endógena em homens de meia idade está associada positivamente com os níveis de HDL-COL e apoB (Tan et al, 1998). Nos estudos que investigaram a associação entre exercício e testosterona, os níveis de HDL-COL apresentam-se diminuídos . Fisiculturistas usuários de EAA apresentaram menores concentrações plasmáticas de HDL-COL quando comparados à ex-usuários (Urhausen et al., 2003) à não usuáries atletas (Sader et al., 2001; McKillop et al., 1987) e não usuáries sedentários (McKillop et al., 1987).

## **RAZÃO (VLDL+LDL)/HDL**

A análise multivariada mostrou que apenas a presença de CETP afeta significativamente a relação (VLDL+LDL)/HDL. Nos grupos combinados, a presença de CETP elevou a relação (VLDL+LDL)/HDL em 36 % ( $p < 0,0001$ ). Esta relação é muito utilizado na clínica médica como índice aterogênico, sendo assim podemos inferir que neste contexto a presença da CETP é aterogênica.

## **CETP**

A análise multivariada mostrou que apenas o exercício físico afetou significativamente a atividade da CETP. Os camundongos exercitados apresentaram uma diminuição de 19 % ( $p = 0,01$ ) na atividade da CETP (**Figura 8**).

Siep et al (1993) mostraram diminuição da atividade da CETP em homens e mulheres normolipidêmicos submetidos a treinamentos físicos durante 9 - 12 meses quando comparados com seus próprios valores pré-treinamento físico. Foger et al. (1994) observaram diminuição da massa e da atividade da CETP em atletas de endurance após maratona ciclística quando comparados aos valores pré-competição. No entanto, Gupta et al. (1993) observaram aumento da atividade da CETP em atletas quando comparados a homens sedentários. Wilund *et al* (2002), em estudo onde homens sedentários que apresentam dois genótipos para a CETP (polimorfismo Taq 1B) submetidos ao treinamento de *endurance*, mostraram diferenças nas respostas concentrações de HDL-COL frente ao exercício físico conforme a variação no gene da CETP. Os indivíduos com o genótipo CETP-B1B2 responderam ao exercício com aumento de HDL-COL enquanto isso não ocorreu nos indivíduos B1B1.

## **TRIGLICÉRIDES (TG)**

Pela análise multivariada apenas o exercício afetou significativamente as concentrações plasmáticas de TG: nos grupos combinados, o exercício reduziu as concentrações plasmáticas de TG em 26 % ( $p < 0,0001$ ). Este resultado está de acordo com a literatura (Thompson & Rader, 2001; Kraus et al., 2002; Siep et al., 1993; Foger et al., 1999; Herbert et al., 1984; Dustine et al., 2001; Hurley et al., 1984). Porém, em alguns estudos não foram observadas variações nos níveis de TG plasmático pelo exercício (Tikkanen et al., 1998; Jafari et al., 2003; Katzmarzyk et al., 2001; Herde t al., 2001).



## **ÁCIDOS GRAXOS LIVRES (AGL)**

A análise multivariada mostrou que apenas o exercício afetou significativamente as concentrações plasmáticas de AGL: nos grupos combinados, o exercício reduziu as concentrações plasmáticas de AGL em 19,5 % ( $p < 0,0004$ ).

## **GLICOSE**

Nenhum fator (genótipo, exercício, testosterona) teve efeito estatisticamente significativo sobre a glicemia.

## **PESO CORPORAL E DE ORGÃOS**

A análise multivariada mostrou que apenas o exercício alterou significativamente a variação de peso corpóreo e de órgãos dos camundongos.

O treinamento físico conjuntamente com a gavagem (seja de placebo ou MEST) nos animais exercitados induziram maior perda de peso corpóreo quando comparado à gavagem isoladamente nos animais sedentários (-2,7 g vs -3,7 g,  $p < 0,0001$ , respectivamente para sedentários vs exercitados).

O peso relativo do fígado dos animais exercitados (4,3%) foi maior que o dos animais sedentários (4,1%;  $p < 0,006$ ).

O peso relativo dos testículos dos animais exercitados (0,9%) foi maior que o dos animais sedentários (0,8%;  $p < 0,005$ ).

O peso relativo do coração foi maior nos animais exercitados (0,6%) que o dos animais sedentários (0,5%;  $p < 0,0001$ ). Este dado sugere que pode ter havido hipertrofia cardíaca nos animais exercitados, embora o protocolo de treinamento físico esteja descrito na literatura (Evangelista et al., 2003) como um protocolo que não causa hipertrofia cardíaca.

Esses resultados foram independentes da expressão da CETP e do tratamento com Mesterolona.

## ***VI-CONCLUSÕES***

## VI-CONCLUSÕES

### *Estudo da deficiência de testosterona.*

- Os efeitos da deficiência de testosterona em animais normolipidêmicos são:
  - 1- aumento de LDL e redução de HDL.
  - 2- aumento dos níveis de auto-anticorpos anti-LDL oxidada circulante.
  - 3- não modifica a expressão de LPL, LH e CETP.
  - 4- não modifica a lipólise endógena das LP ricas em TG.
  - 5- Aumento de transferência endógena de CE de LDL para HDL, mediada pela CETP.
  - 6- Redução de secreção de VLDL-TG mas não de VLDL-COL.
  - 7- não modifica as velocidades de remoção plasmática de HDL e LDL.
- Efeitos da deficiência de testosterona em animais hiperlipidêmicos (*background* de deficiência do receptor de LDL e dieta hiperlipídica):
  - 1- aumento da concentração de colesterol total.
  - 2- aumento de [VLDL + LDL] e da relação VLDL+LDL/HDL
  - 3- aumento da área de lesão aterosclerótica.
  - 4- a expressão da CETP atenuou todos os efeitos da castração.

Em síntese, a deficiência de testosterona aumentou a concentração plasmática de apoB-LP, diminuiu a taxa de secreção de VLDL-TG mas não de VLDL-COL, aumentou as concentrações de auto-anticorpos anti-LDLox e dobrou o tamanho da área de lesão aterosclerótica induzida por dieta. A expressão da CETP não foi alterada na deficiência de testosterona e levou a um menor aumento das apoB-LP e redução do tamanho da área de lesão nos camundongos deficientes de testosterona.

### *Estudo da suplementação com testosterona*

- 1- Testosterona metabolizável (DT e AN) não alterou o perfil de lipídeos e de lipoproteínas em camundongos que expressam CETP.
- 2- Testosterona metabolizável (DT) aumentou LDL-colesterol em camundongos não-transgênicos C57BL/6.
- 3- Testosterona, metabolizável ou não, aumentou a colesterolemia em animais que expressam CETP e têm deficiência parcial de receptores de LDL (CETP/R1).
- 4- Testosterona metabolizável (DT) induziu aumento da trigliceridemia em animais CETP/R1.
- 5- Testosterona, metabolizável ou não, induziu elevação de LDL e HDL em animais CETP/R1.
- 6- A testosterona metabolizável (DT) aumentou a expressão da CETP e reduziu a expressão da LH.
- 7- A testosterona metabolizável (DT) diminuiu a remoção plasmática de LDL mas não de HDL em animais CETP/R1.

Esses resultados demonstram que os efeitos da testosterona sobre o metabolismo das lipoproteínas são dependentes do genótipo (presença de CETP e deficiência de receptor de LDL) e do tipo de testosterona (metabolizável ou não). Em conjunto, os dados sugerem que a testosterona aumenta LDL por reduzir o número de receptores para LDL. Este efeito é amenizado pelo aumento de expressão de CETP que poderia aumentar a afinidade das LDL pelos seus receptores. Testosterona também aumenta HDL provavelmente por aumentar a síntese hepática de apoA-I. Este efeito é reduzido pelo aumento da expressão da CETP.

### *Estudo da interação entre treinamento físico e suplementação com testosterona*

- 1- O exercício físico reduziu os níveis de TG e de AGL, independentemente do tratamento com Mesterolona.
- 2- O exercício físico aumentou a colesterolemia e HDL-COL, de maneira mais potente nos animais que expressam a CETP e nos animais que não foram tratados com Mesterolona. O exercício físico aumentou também a fração LDL-COL, de forma mais intensa nos animais não tratados com Mesterolona.
- 3- O exercício físico reduziu a atividade da CETP, independentemente do tratamento com Mesterolona.
- 4- A presença da CETP reduziu HDL-COL e elevou a relação VLDL+LDL/HDL, independente do tratamento com Mesterolona e do estado de atividade física.
- 5- O tratamento com Mesterolona aumentou VLDL-COL, independente do genótipo e do estado de atividade física.
- 6- O tratamento com Mesterolona reduziu HDL-COL nos grupos exercitados.

Esses resultados demonstram que o exercício físico tem um efeito mais benéfico nos animais que não foram tratados com Mesterolona.

## CONCLUSÃO FINAL

Em conjunto, podemos concluir a partir dos três estudos que:

1- A deficiência de testosterona aumentou os níveis plasmáticos de LDL e de anticorpos anti-LDL oxidada e duplicou o tamanho médio da lesão aterosclerótica da raiz da aorta. A expressão da CETP promoveu uma redução significativa do tamanho da lesão aterosclerótica.

2- A suplementação com testosterona, seja metabolizável ou não, induziu elevações significativas tanto de LDL como de HDL. Porém, somente a testosterona metabolizável tornou o perfil de lipoproteínas mais aterogênico (aumento da relação V+LDL/HDL), provavelmente devido ao aumento da expressão da CETP.

3- O exercício físico aumentou HDL, de maneira mais potente nos animais que expressavam a CETP e nos animais que não foram tratados com Mesterolona. O exercício também reduziu a atividade da CETP, os níveis de triglicérides e ácidos graxos livres, independentemente do tratamento com Mesterolona. O tratamento com Mesterolona aumentou VLDL, independente do genótipo e do estado de atividade física, e reduziu HDL nos animais exercitados.

## ***VII- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS***

## VII- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACTON S, RIGOTTI A, LANDSCHULZ KT, XU S, HOBBS HH AND KRIEGER M. (1996) Identification of scavenger receptor SR-BI as a high density lipoprotein receptor. *Science*; 271:518-520.
- ADAMS MR, WILLIAMS JK, KAPLAN JR. (1995) Effects of androgens on coronary artery atherosclerosis and atherosclerosis-related impairment of vascular responsiveness. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1:562-570.
- AGELLON LB, WALSH A, HAYEK T, MOULIN P, JIANG XC, SHELANSKI SA, BRESLOW JL, TALL AR.. (1991). Reduced high density lipoprotein cholesterol in human cholesteryl ester transfer protein transgenic mice. *J. Biol.Chem.* 266:10796-10801.
- ALEXANDERSEN, P.; HAARBO, J.; BYRJALSEN, I.; LAWAETZ, H.; CHRISTIANSEN, C. (1999). Natural androgens inhibit male atherosclerosis. A study in castrated, cholesterol-fed rabbits. *Circ. Res.* 84:813-819.
- ALEXANDERSEN P, CHRISTIANSEN C. (2004) The aging male: testosterone deficiency and testosterone replacement. An up-date. *Atherosclerosis.* 173(2):157-69. Review.
- AMORY JK, BREMNER WJ. (2003) Regulation of testicular function in men: implications for male hormonal contraceptive development. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 85(2-5):357-361. Review.
- ANDERSON, R.A.; WALLACE, E.M.; WU, F.C.M. (1995). Effect of testosterone enanthate on serum lipoproteins in man. *Contraception.* 52:115-119.
- APPLEBY, M. FISHER, M. MARTIN, M. (1994) Miocardial infartion hypercalemia and ventricular tachycardia in young male body- builder. *Inter J Card.* 44:171-174.
- ASSMANN, G. (2001). Pro and con: high-density lipoprotein, triglycerides, and other lipid subfractions are the future of lipid management. *Am. J. Cardiol.* 87:2B-7B.
- AUWERX J, LEROY P, SCHOONJANS K.(1992) Lipoprotein lipase: recent contributions from molecular biology. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 29(3-4):243-268. Review.
- AZROLAN N, ODAKA H, BRESLOW JL, FISHER EA. (1995) Dietary fat elevates hepatic apoA-I production by increasing the fraction of apolipoprotein A-I mRNA in the translating pool. *J Biol Chem.* 25;270(34):19833-19838.
- BAGATELL, C.J.; KNOPP, R.H.; VALE, W.W.; RIVIER, J.E.; BREMNER, W.J. (1992). Physiologic testosterone levels in normal men suppress high-density lipoprotein cholesterol levels. *Ann. Int. Med.* 116:967-973.



- BAGATELL, C.J.; HEIMAN, J.R.; MATSUMOTO, A.M.; RIVIER, J.E.; BREMNER, W.J. (1994). Metabolic and behavioral effects of high-dose, exogenous testosterone in healthy men. *J.Clin. Endocr. Metab.* 79:561-567.
- BAGATELL, C.J. & BREMNER, W.J. (1995). Androgen and progestagen effects on plasma lipids. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 38:255-271.
- BAHRKE MS, YESALIS CE. (2004) Abuse of anabolic androgenic steroids and related substances in sport and exercise. *Curr Opin Pharmacol.* 4(6):614-620.
- BANZ WJ, MAHER MA, THOMPSON WG, BASSETT DR, MOORE W, ASHRAF M, KEEFER DJ, ZEMEL MB. (2003) Effects of resistance versus aerobic training on coronary artery disease risk factors. *Exp Biol Med.* 228:434-440.
- BARRETT-CONNOR, E. (1995) Testosterone and risk factors for cardiovascular disease in men. *Diabete Metab.* 21(3):156-161. Review.
- BARTER PJ, BREWER HB, JR., CHAPMAN MJ, HENNEKENS CH, RADER DJ AND TALL AR. (2003) Cholesteryl ester transfer protein: a novel target for raising HDL and inhibiting atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 23:160-167.
- BENITEZ S, SANCHEZ-QUESADA JL, LUCERO L, ARCELUS R, RIBAS V, JORBA O, CASTELLVI A, ALONSO E, BLANCO-VACA F, ORDONEZ-LLANOS J. (2002) Changes in low-density lipoprotein electronegativity and oxidizability after aerobic exercise are related to the increase in associated non-esterified fatty acids. *Atherosclerosis.* 160:223-232.
- BERG G, SCHREIER L, GELOSO G, OTERO P, NAGELBERG A, LEVALLE (2002) O. Impact on lipoprotein profile after long-term testosterone replacement in hypogonadal men. *Horm Metab Res.*34(2):87-92.
- BERNSTEIN MS, COSTANZA MC, JAMES RW, MORRIS MA, CAMBIEN F, RAOUX S, MORABIA A. (2003) No physical activity x CETP 1b.-629 interaction effects on lipid profile. *Med Sci Sports Exerc.* 35:1124-1129.
- BERSOT TP, VEGA GL, GRUNDY SM, PALAOGLU KE, ATAGUNDUZ P, OZBAYRAKCI S, GOKDEMIR O, MAHLEY RW. (1999) Elevated hepatic lipase activity and low levels of high density lipoprotein in a normotriglyceridemic, nonobese Turkish population. *J Lipid Res.* 40:432-438.
- BERTI JA, AMARAL ME, BOSCHERO AC, NUNES VS, HARADA LM, CASTILHO LN, OLIVEIRA HC. (2001) Thyroid hormone increases plasma cholesteryl ester transfer protein activity and plasma high-density lipoprotein removal rate in transgenic mice. *Metabolism.* 50(5):530-536.

- BERTI JA, CASQUERO AC, PATRICIO PR, BIGHETTI EJ, CARNEIRO EM, BOSCHERO AC, OLIVEIRA HC. (2003) Cholesteryl ester transfer protein expression is down-regulated in hyperinsulinemic transgenic mice. *J Lipid Res.* 44(10):1870-1876.
- BERTI JA, SALERNO AG, BIGHETTI EJ, CASQUERO AC, BOSCHERO AC, OLIVEIRA HC. (2005) Effects of diabetes and CETP expression on diet-induced atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. *APMIS.* 113(1):37-44.
- BERTI JA, DE FARIA EC, OLIVEIRA HC. (2005) Atherosclerosis in aged mice over-expressing the reverse cholesterol transport genes. *Braz J Med Biol Res.* 38(3):391-398.
- BILHEIMER DW, EISENBERG S, LEVY RI. (1972) The metabolism of very low density lipoprotein proteins. I. Preliminary in vitro and in vivo observations. *Biochim Biophys Acta.* 21;260(2):212-221.
- BRESLOW JL. (1989). In: *The metabolic basis of inherited disease.* Scriver CR & Beaudet AL (eds.), Mc Graw-Hill, N.York.
- BRESLOW JL. (1993) Transgenic mouse models of lipoprotein metabolism and atherosclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 90:8314-8318.
- BRINTON EA, EISENBERG S, BRESLOW JL. (1989) Elevated high density lipoprotein cholesterol levels correlate with decreased apolipoprotein A-I and A-II fractional catabolic rate in women. *J Clin Invest.* 84:262-269.
- BRINTON EA, EISENBERG S, BRESLOW JL. (1991) Increased apo A-I and apo A-II fractional catabolic rate in patients with low high density lipoprotein-cholesterol levels with or without hypertriglyceridemia. *J Clin Invest.* 87:536-544.
- BROUSSEAU ME, SCHAEFER EJ, WOLFE ML, BLOEDON LT, DIGENIO AG, CLARK RW, MANCUSO JP, RADER DJ. (2004) Effects of an inhibitor of cholesteryl ester transfer protein on HDL cholesterol. *N Engl J Med.* 8;350(15):1505-1515.
- BROWN, M.S. & GOLDSTEIN, J.L. (1986). A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science.* 232:34-47.
- BROWN, M.S. & GOLDSTEIN, J.L. (1997). The SREBP pathway regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor. *Cell.* 89:331-340.
- BRUCE C, SHARP DS AND TALL AR. (1998) Relationship of HDL and coronary heart disease to a common amino acid polymorphism in the cholesteryl ester transfer protein in men with and without hypertriglyceridemia. *J Lipid Res.* 39:1071-1078.
- BRUCK B, BREHME U, GUGEL N, HANKE S, FINKING G, LUTZ C, BENDA N, SCHMAHL FW, HAASIS R, HANKE H. (1997) Gender-specific differences in the

effects of testosterone and estrogen on the development of atherosclerosis in rabbits. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 17:2192-2199.

BUCKLER, H.M.; McELHONE, K.; DURRINGTON, P.N.; MACHNESS, C.A.; LUDLAM, C.A.; WU, F.C.W. (1997). The effects of low-dose testosterone treatment on lipid metabolism, clotting factors and ultrasonographic ovarian morphology in women. *Clin. Endocrinol.* 49:173-178.

CASTILHO LN, OLIVEIRA HC, CAZITA PM, DE OLIVEIRA AC, SESSO A, QUINTAO EC. (2001) Oxidation of LDL enhances the cholesteryl ester transfer protein (CETP)-mediated cholesteryl ester transfer rate to HDL, bringing on a diminished net transfer of cholesteryl ester from HDL to oxidized LDL. *Clin Chim Acta.* 304(1-2) :99-106.

CATT KJ, DUFAU ML. (1973) Spare gonadotrophin receptors in rat testis. *Nat New Biol.* 15;244(137):219-221.

CAZITA PM, BERTI JA, AOKI C, GIDLUND M, HARADA LM, NUNES VS, QUINTAO EC, OLIVEIRA HC. (2003) Cholesteryl ester transfer protein expression attenuates atherosclerosis in ovariectomized mice. *J Lipid Res.* 44:33-40.

CHIBA H, AKITA H, KOTANI K, KANNO T, MANABE M. (1997) [Complete cholesteryl ester transfer protein deficiency increases oxidized-LDL in plasma] *Rinsho Byori.* 45(1): 55-57. Japanese.

CHOU TM, SUDHIR K, HUTCHISON SJ, KO E, AMIDON TM, COLLINS P, CHATTERJEE K. (1996) Testosterone induces dilation of canine coronary conductance and resistance arteries in vivo. *Circulation.* 15;94(10):2614-2619.

CLARK RW, SUTFIN TA, RUGGERI RB, WILLAUER AT, SUGARMAN ED, MAGNUS-ARYITEY G, COSGROVE PG, SAND TM, WESTER RT, WILLIAMS JA, PERLMAN ME, BAMBERGER MJ (2004) Raising high-density lipoprotein in humans through inhibition of cholesteryl ester transfer protein: an initial multidose study of torcetrapib. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 24(3):490-497.

CLAGUE JE, WU FC, HORAN MA. (1999) Difficulties in measuring the effect of testosterone replacement therapy on muscle function in older men. *Int J Androl.* 22(4):261-265.

COHEN, J.; VEGA, G.L.; GRUNDY, S.M. (1999). Hepatic lipase: new insights from genetic and metabolic studies. *Curr. Opin. Lipidol.* 3:259-268.

COLLET X, TALL AR, SERAJUDDIN H, GUENDOUZI K, ROYER L, OLIVEIRA H, BARBARAS R, JIANG XC, FRANCONI OL. (1999) Remodeling of HDL by CETP in vivo and by CETP and hepatic lipase in vitro results in enhanced uptake of HDL CE by cells expressing scavenger receptor B-I. *J Lipid Res.* 40(7):1185-1193.

- CREWS JK, KHALIL RA (1999) Gender-specific inhibition of Ca<sup>2+</sup> entry mechanisms of arterial vasoconstriction by sex hormones. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 26(9):707-715.
- CRIQUI MH, WALLACE RB, HEISS G, MISHKEL M, SCHONFELD G, JONES GT. (1980) Cigarette smoking and plasma high-density lipoprotein cholesterol. The Lipid Research Clinics Program Prevalence Study. *Circulation*. 62:70.
- CROSTON, G.E.; MILAN, L.B.; MARSCHKE, K.B.; REICHMAN, M.; BRIGGS, M.R. (1997). Androgen receptor-mediated antagonism of estrogen-dependent low density lipoprotein receptor transcription in cultured hepatocytes. *Endocrinol*. 138:3779-3786.
- DEAN M, HAMON Y, CHIMINI G. (2001) The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *J Lipid Res*. 42(7):1007-1017. Review.
- DEENADAYALU VP, WHITE RE, STALLONE JN, GAO X, GARCIA AJ. (2001) Testosterone relaxes coronary arteries by opening the large-conductance, calcium-activated potassium channel. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 281(4):H1720-7.
- DE KRETZER DM, LOVELAND KL, MEEHAN T, O'BRYAN MK, PHILLIPS DJ, WREFORD NG. (2001) Inhibins, activins and follistatin: actions on the testis. *Mol Cell Endocrinol*. 30;180(1-2):87-92. Review.
- DING AQ, STALLONE JN. (2001) Testosterone-induced relaxation of rat aorta is androgen structure specific and involves K<sup>+</sup> channel activation. *J Appl Physiol*. 91(6):2742-2750.
- DOBS A. (2003) Role of testosterone in maintaining lean body mass and bone density in HIV-infected patients. *Int J Impot Res*;15 Suppl 4:S21-25. Review.
- DRAYNA DA, JARNAGIN S, MCLEAN J, HENZEL W, KOHR W, FIELDING C AND LAWN R. (1987) Cloning and sequencing of human cholesteryl ester transfer protein cDNA. *Nature*. 327:632-634.
- DURSTINE JL, GRANDJEAN PW, DAVIS PG, FERGUSON MA, ALDERSON NL, DUBOSE KD. (2001) Blood lipid and lipoprotein adaptations to exercise: a quantitative analysis. *Sports Med*. 31:1033-1062. Review.
- ESCOLA-GIL JC, JULVE J, MARZAL-CASACUBERTA A, ORDONEZ-LLANOS J, GONZALEZ-SASTRE F, BLANCO-VACA F. (2001) ApoA-II expression in CETP transgenic mice increases VLDL production and impairs VLDL clearance. *J Lipid Res*. 42:241-248.
- EHNHOLM, C. & KUUSI, T. (1986). Preparation, characterization and measurement of hepatic lipase. *Methods Enzymol*. 129:716-738.

- ELHAGE, R.; ARNAL, J.F.; PIERAGGI, M.T.; DUVERGER, N.; FIÉVET, C.; BAYARD, F. (1997). 17 $\beta$ -Estradiol prevents fatty streak formation in apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscler. Tromb. Vasc. Biol.* 17:2679-2684.
- ENGER SC, HERBJORNSEN K, ERIKSEN J, FRETLAND A. (1977) High density lipoproteins (HDL) and physical activity: the influence of physical exercise, age and smoking on HDL-cholesterol and the HDL-/total cholesterol ratio. *Scand J Clin Lab Invest.* 37:251-255.
- ENGLISH KM, JONES RD, JONES TH, MORICE AH, CHANNER KS. (2000) Aging reduces the responsiveness of coronary arteries from male Wistar rats to the vasodilatory action of testosterone. *Clin Sci (Lond).* 99(1):77-82.
- ENGLISH KM, JONES RD, JONES TH, MORICE AH, CHANNER KS. (2001) Gender differences in the vasomotor effects of different steroid hormones in rat pulmonary and coronary arteries. *Horm Metab Res.*33(11):645-652.
- ENGLISH KM, JONES RD, JONES TH, MORICE AH, CHANNER KS. (2002) Testosterone acts as a coronary vasodilator by a calcium antagonistic action. *J Endocrinol Invest.* 25(5):455-458.
- EVANGELISTA FS, BRUM PC, KRIEGER JE. (2003) Duration-controlled swimming exercise training induces cardiac hypertrophy in mice. *Braz J Med Biol Res.* 36:1751-1759.
- FAKUNDING JL, MEANS AR. (1977) Characterization and follicle stimulating hormone activation of Sertoli cell cyclic AMP-dependent protein kinases. *Endocrinology.* 101(5):1358-1368.
- FELDMAN BJ, FELDMAN D.(2001) The development of androgen-independent prostate cancer. *Nat Rev Cancer.* (1):34-45. Review.
- FERRANDO AA, SHEFFIELD-MOORE M, YECKEL CW, GILKISON C, JIANG J, ACHACOSA A, LIEBERMAN SA, TIPTON K, WOLFE RR, URBAN RJ.. (2002) Testosterone administration to older men improves muscle function: molecular and physiological mechanisms. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 282(3):E601-607.
- FISCHER GM, BASHEY RI, ROSENBAUM H, LYTTLE CR. (1985) A possible mechanism in arterial wall for mediation of sex difference in atherosclerosis. *Exp Mol Pathol.* 43:288-296.
- FOGER B, WOHLFARTER T, RITSCH A, LECHLEITNER M, MILLER CH, DIENSTL A, PATSCH JR. (1994) Kinetics of lipids, apolipoproteins, and cholesteryl ester transfer protein in plasma after a bicycle marathon. *Metabolism.* 43:633-639.

- FOGER B, CHASE M, AMAR MJ, VAISMAN BL, SHAMBUREK RD, PAIGEN B, FRUCHART-NAJIB J, PAIZ JA, KOCH CA, HOYT RF, BREWER HB, JR. AND SANTAMARINA-FOJO S. (1999) Cholesteryl ester transfer protein corrects dysfunctional high density lipoproteins and reduces aortic atherosclerosis in lecithin cholesterol acyltransferase transgenic mice. *J Biol Chem.* 274:36912-36920.
- FRANCONE OL, GONG EL, NG DS, FIELDING CJ, RUBIN EM. (1995) Expression of human lecithin-cholesterol acyltransferase in transgenic mice. Effect of human apolipoprotein AI and human apolipoprotein all on plasma lipoprotein cholesterol metabolism. *J Clin Invest.* ;96(3):1440-1148.
- FREEDMAN, D.S.; O'BRIEN, T.R.; FLANDERS, W.D.; DE STEFANO, F.; BARBORIAK, J.J. (1991). Relation of serum testosterone levels to high density lipoprotein cholesterol and other characteristics in men. *Arterioscler. Thromb.* 11:307-315.
- FRISCH, F. & SUMIDA, K.D. (1999). Temporal effects of testosterone propionate injections on serum lipoprotein concentrations in rats. *Med. Sci. Sports Exerc.* 31:664-669.
- FRIEDL, K.E.; HANNAN, C.J.; JONES, R.E.; PLYMATE, S.R. (1990). High-density lipoprotein cholesterol is not decreased if an aromatizable androgen is administered. *Metabolism.* 39:69-74.
- GHAPHERY, N.A. (1995) Performance-enhancing drugs. *Orthop. Clin. N. Am.* 26: 433-442.
- GLOMSET JA. (1968) The plasma lecithins:cholesterol acyltransferase reaction. *J Lipid Res.* 9:155-167.
- GOLDSTEIN JL, ANDERSON RG, BROWN MS (1979). Coated pits, coated vesicles, and receptor-mediated endocytosis. *Nature.* 21;279(5715):679-685.
- GRAINGER, D.J.; WITCHELL, C.M.; METCALFE, J.C. (1995). Tamoxifen elevates transforming growth factor- $\beta$  and suppresses diet-induced formation of lipid lesions in mouse aorta. *Nat. Med.* 1:1067-1073.
- GREGER, N.G.; INSULL, W.; PROBSTFIELD, J.L.; KEENAN, B.S. (1990). High-density lipoprotein response to 5- $\alpha$ -dihydrotestosterone and testosterone in *Macaca fascicularis*: A hormone-responsive primate model for the study of atherosclerosis. *Metabolism.* 39:919-924.
- GREEN A, BAIN C. (1993) Epidemiological overview of oestrogen replacement and cardiovascular disease. *Baillieres Clin Endocrinol Metab.* 7(1):95-112. Review.
- GRIFFIN JE & WILSON JD. Disorders of the testes. In: Isselbacher KJ, et al, eds. Harrison's Principles of Internal Medicine. 13th ed. New York: McGraw-Hill, 1994: 2006-2017.

- GRIFFIN JE, WILSON JD. Disorders of the testes and male reproductive tract. (1998) In Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM, Larsen PR, editors. Williams textbook of endocrinology, 9th edition. Philadelphia: WB Saunders, pp. 819–875.
- GROSS DR, VAN OOT G, SPIEKERMAN M. (1983) Effects of aerobic conditioning on serum lipids in atherosclerotic miniature swine. *Fed Proc.* 42:734.
- GOODMAN L.S., GILMAN A. (1996) Goodman e Gilman; as bases farmacológicas da terapêutica. 9.ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan.
- GRUBER CJ, TSCHUGGUEL W, SCHNEEBERGER C, HUBER JC. (2002) Production and actions of estrogens. *N Engl J Med.* Jan 31;346(5):340-352.
- GULSHAN S, MCCRUDDEN AB, STIMSON WH. (1990) Oestrogen receptors in macrophages. *Scand J Immunol.* 31(6):691-697.
- GUPTA AK, ROSS EA, MYERS JN, KASHYAP ML. (1993) Increased reverse cholesterol transport in athletes. *Metabolism.* 42:684-690.
- HA YC, BARTER PJ. (1982) Differences in plasma cholesteryl ester transfer activity in sixteen vertebrate species. *Comp Biochem Physiol B.* 71(2):265-269.
- HADDAD, I.A.; ORDOVAS, J.M.; FITZPATRICK, T.; KARATHANASIS, S.K. (1986). Linkage, evolution, and expression of the rat apolipoprotein A-I, CIII, and A-IV genes. *J. Biol. Chem.* 261:13268-13277.
- HAFFNER SM, KUSHWAHA RS, FOSTER DM, APPLEBAUM-BOWDEN D, HAZZARD WR. (1983) Studies on the metabolic mechanism of reduced high density lipoproteins during anabolic steroid therapy. *Metabolism.* 32:413-420.
- HARTGENS F, KUIPERS H. (2004) Effects of androgenic-anabolic steroids in athletes. *Sports Med.* 34(8):513-554. Review.
- HARTUNG GH, FOREYT JP, MITCHELL RE, VLASEK I, GOTTO AM JR. (1980) Relation of diet to high-density-lipoprotein cholesterol in middle-aged marathon runners, joggers, and inactive men. *N Engl J Med.* 302:357-361.
- HASKELL WL. (1984) The influence of exercise on the concentrations of triglyceride and cholesterol in human plasma. *Exerc Sport Sci Rev.* 12:205-244. Review.
- HAUG, A.; HOSTMARK, A.T.; SPYDEVOLD, O. (1985). Responses of plasma apolipoproteins to gonadectomy and androgen substitution in male rats. *Horm. Metabol. Res.* 17:641-645.
- HAVEL RJ., EDER HA., GRAGDON JH.. (1955). The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J. Clin. Invest.* 34: 1345-1353.

- HAYEK T, MASUCCI-MAGOULAS L, JIANG X, WALSH A, RUBIN E, BRESLOW JL AND TALL AR. (1995) Decreased early atherosclerotic lesions in hypertriglyceridemic mice expressing cholesteryl ester transfer protein transgene. *J Clin Invest* 96:2071-2074.
- HEINLEIN CA, CHANG C. (2002) The roles of androgen receptors and androgen-binding proteins in nongenomic androgen actions. *Mol Endocrinol.* 16(10):2181-7. Review.
- HEISS G, TAMIR I, DAVIS CE, TYROLER HA, RIFKAND BM, SCHONFELD G, JACOBS D, FRANTZ ID JR. (1980). Lipoprotein-cholesterol distribution in North American populations: The Lipid Research Clinics program prevalence study. *Circulation.* 61:302-315.
- HELISTEN H, HOCKERSTEDT A, WAHALA K, TIITINEN A, ADLERCREUTZ H, JAUHAINEN M, TIKKANEN MJ. (2001) Accumulation of high-density lipoprotein-derived estradiol-17beta fatty acid esters in low-density lipoprotein particles. *J Clin Endocrinol Metab.* 86(3):1294-1300.
- HERBST KL, AMORY JK, BRUNZELL JD, CHANSKY HA, BREMNER WJ. (2003) Testosterone administration to men increases hepatic lipase activity and decreases HDL and LDL size in 3 wk. *Am J Physiol Endocrinol Metab.*284:E1112-118.
- HERBST KL, BHASIN S. (2004) Testosterone action on skeletal muscle. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 7(3):271-277. Review.
- HERD SL, KIENS B, BOOBIS LH, HARDMAN AE. (2001) Moderate exercise, postprandial lipemia, and skeletal muscle lipoprotein lipase activity. *Metabolism.*;50:756-762.
- HERBERT PN, BERNIER DN, CULLINANE EM, EDELSTEIN L, KANTOR MA, THOMPSON PD. (1984) High-density lipoprotein metabolism in runners and sedentary men. *JAMA.*252:1034-1037.
- HERRERA VL, MAKRIDES SC, XIE HX, ADARI H, KRAUSS RM, RYAN US AND RUIZ-OPAZO N. (1999) Spontaneous combined hyperlipidemia, coronary heart disease and decreased survival in Dahl salt-sensitive hypertensive rats transgenic for human cholesteryl ester transfer protein. *Nat Med.* 5:1383-1389.
- HERZ, J.; HAMANN, U.; ROGNE, S.; MYKLEBOST, O.; GAUSEPOHL, H.; STANLEY, K.K. (1988). Surface location and high affinity for calcium of a 500-kDa liver membrane protein closely related to the LDL-receptor suggest a physiological role as lipoprotein receptor. *EMBO. J.* 7:4119-4127.
- HESLER CB, SWENSON TL, TALL AR. (1987) Purification and characterization of a human plasma cholesteryl ester transfer protein. *J Biol Chem.* 15;262(5):2275-2282.



- HINKEL, G.K.; HANEFELD, M.J.; JAROSS, W.; LEONHARDT, W.; TRÜBSBACH, A. (1985). Effects of high doses of oestrogens and androgens on lipoproteins: observations in the treatment of excessive growth with sexual hormones. *Exp. Clin. Endocrinol.* 86:17-25.
- HONDA H, UNEMOTO T, KOGO H. (1999) Different mechanisms for testosterone-induced relaxation of aorta between normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Hypertension.* 34(6):1232-1236.
- HOFFMAN AA, NELSON WR, GOSS FA (1967). Effects of an exercise program on plasma lipids of senior Air Force officers. *Am J Cardiol.* 20:516-524.
- HOFMANN, S.L.; RUSSEL, D.W.; BROWN, M.S.; GOLDSTEIN, J.L.; HAMMER, R.E. (1988). Overexpression of low density lipoprotein (LDL) receptor eliminates LDL from plasma in transgenic mice. *Science.* 239:1277-1281.
- HUANG Z, INAZU A, NOHARA A, HIGASHIKATA T AND MABUCHI H. (2002) Cholesteryl ester transfer protein inhibitor (JTT-705) and the development of atherosclerosis in rabbits with severe hypercholesterolaemia. *Clin Sci (Lond).* 103:587-594.
- HURLEY BF, SEALS DR, HAGBERG JM, GOLDBERG AC, OSTROVE SM, HOLLOSZY JO, WIEST WG, GOLDBERG AP. (1984) High-density-lipoprotein cholesterol in bodybuilders v powerlifters. Negative effects of androgen use. *JAMA.* 27:507-513.
- HUTTUNEN JK, EHNHOLM C, KEKKI M, NIKKILA EA. (1976) Post-heparin plasma lipoprotein lipase and hepatic lipase in normal subjects and in patients with hypertriglyceridaemia: correlations to sex, age and various parameters of triglyceride metabolism. *Clin Sci Mol Med.* 50:249-260.
- HUUSKONEN, J. & EHNHOLM, C. (2000). Phospholipid transfer protein in lipid metabolism. *Curr.Opin. Lipidol.* 11:285-289.
- ISHIBASHI S, BROWN MS, GOLDSTEIN JL, GERARD RD, HAMMER RE, HERZ J. (1993) Hypercholesterolemia in low density lipoprotein receptor knockout mice and its reversal by adenovirus-mediated gene delivery. *J Clin Invest.* 92(2):883-893.
- ISHIBASHI S, GOLDSTEIN JL, BROWN MS, HERZ J, BURNS DK. (1994) Massive xanthomatosis and atherosclerosis in cholesterol-fed low density lipoprotein receptor-negative mice. *J Clin Invest.* 93(5):1885-1893.
- JAFARI M, LEAF DA, MACRAE H, KASEM J, O'CONNOR P, PULLINGER C, MALLOY M, KANE JP. (2003) The effects of physical exercise on plasma prebeta-1 high-density lipoprotein. *Metabolism.* 52:437-442.
- JIANG XC, MOULIN P, QUINET E, GOLDBERG IJ, YACOUB LK, AGELLON LB, COMPTON D, SCHNITZER-POLOKOFF R AND TALL AR. (1991) Mammalian

- adipose tissue and muscle are major sources of lipid transfer protein mRNA. *J Biol Chem.* 266:4631-4639.
- JIANG XC, AGELLON LB, WALSH A, BRESLOW JL, TALL A.(1992). Dietary cholesterol increases transcription of the human cholesteryl ester transfer protein gene in transgenic mice. Dependence on natural flanking sequences. *J. Clin. Invest.* 90:1290-1295.
- JIAO, S.; COLE, T.G; KITCHENS, R.T; PFLEGER, B.; SCHONFELD, G. (1990). Genetic heterogeneity of lipoprotein in inbred strain of mice: analysis by gel-permeation chromatography. *Metab. Clin. Exp.* 39:155-160.
- JOCKENHOVEL F, BULLMANN C, SCHUBERT M, VOGEL E, REINHARDT W, REINWEIN D, MULLER-WIELAND D, KRONE W. (1999) Influence of various modes of androgen substitution on serum lipids and lipoproteins in hypogonadal men. *Metabolism.* 48:590-596.
- JONES RD, ENGLISH KM, PUGH PJ, MORICE AH, JONES TH, CHANNER KS. (2002) Pulmonary vasodilatory action of testosterone: evidence of a calcium antagonistic action. *J Cardiovasc Pharmacol.* 39(6):814-823.
- JONES RD, PUGH PJ, JONES TH, CHANNER KS. (2003) The vasodilatory action of testosterone: a potassium-channel opening or a calcium antagonistic action? *Br J Pharmacol.* 38(5):733-744. Review.
- KAKO Y, MASSE M, HUANG LS, TALL AR AND GOLDBERG IJ. (2002) Lipoprotein lipase deficiency and CETP in streptozotocin-treated apoB- expressing mice. *J Lipid Res* 43:872-877.
- KANG SM, JANG Y, KIM JY, CHUNG N, CHO SY, CHAE JS, LEE JH. (2002) Effect of oral administration of testosterone on brachial arterial vasoreactivity in men with coronary artery disease. *Am J Cardiol.* 1;89(7):862-864.
- KANNEL, W.B. (1988). Cholesterol and risk of coronary heart disease and mortality in men and women. *Clin.Chem.* 34:B53-B59.
- KARAS RH, PATTERSON BL, MENDELSON ME. (1994) Human vascular smooth muscle cells contain functional estrogen receptor. *Circulation.* 89(5):1943-1950.
- KASSON BG, HSUEH AJ. (1987) Insulin-like growth factor-I augments gonadotropin-stimulated androgen biosynthesis by cultured rat testicular cells. *Mol Cell Endocrinol.* 52(1-2):27-34.
- KATZMARZYK PT, LEON AS, RANKINEN T, GAGNON J, SKINNER JS, WILMORE JH, RAO DC, BOUCHARD C. (2001) Changes in blood lipids consequent to aerobic exercise training related to changes in body fatness and aerobic fitness. *Metabolism* 50:841-848.

- KETELSLEGERS JM, HETZEL WD, SHERINS RJ, CATT KJ. (1978) Developmental changes in testicular gonadotropin receptors: plasma gonadotropins and plasma testosterone in the rat. *Endocrinology*. 103(1):212-222.
- KIM JR, OBERMAN A, FLETCHER GF, LEE JY. (2001) Effect of exercise intensity and frequency on lipid levels in men with coronary heart disease: Training Level Comparison Trial. *Am J Cardiol*. 87:942-946; A3.
- KINOSHITA M, TERAMOTO T, SHIMAZU N, KANEKO K, OHTA M, KOIKE T, HOSOGAYA S, OZAKI Y, KUME S, YAMANAKA M. (1996) CETP is a determinant of serum LDL-cholesterol but not HDL-cholesterol in healthy Japanese. *Atherosclerosis*. 120(1-2):75-82.
- KIRKLAND RT, KEENAN BS, PROBSTFIELD JL, PATSCH W, LIN TL, CLAYTON GW, INSULL W JR. (1987). Decrease in plasma high density lipoprotein cholesterol levels at puberty in boys with delayed adolescence. *JAMA*. 257:502-507.
- KOIZUMI J, MABUCHI H, YOSHIMURA A, MICHISHITA I, TAKEDA M, ITOH H, SAKAI Y, SAKAI T, UEDA K, TAKEDA R. (1985) Deficiency of serum cholesteryl-ester transfer activity in patients with familial hyperalphalipoproteinaemia. *Atherosclerosis*. 58(1-3):175-186.
- KRAUS WE, HOUMARD JA, DUSCHA BD, KNETZGER KJ, WHARTON MB, MCCARTNEY JS, BALES CW, HENES S, SAMSA GP, OTVOS JD, KULKARNI KR, SLENTZ CA. (2002) Effects of the amount and intensity of exercise on plasma lipoproteins. *N Engl J Med*. 347:1483-1492.
- KURASAWA T, YOKOYAMA S, MIYAKE Y, YAMAMURA T, YAMAMOTO A. (1985) Rate of cholesteryl ester transfer between high and low density lipoproteins in human serum and a case with decreased transfer rate in association with hyperalphalipoproteinemia. *J Biochem (Tokyo)*.98(6):1499-1508
- KWITEROVICH, P.O.JR. (2000). The metabolic pathways of high-density lipoprotein, low-density lipoprotein, and triglycerides: a current review. *Am. J. Cardiol*. 86:5L-10L.
- LABRIE F, LUU-THE V, LIN SX, LABRIE C, SIMARD J, BRETON R, BELANGER A. (1997) The key role of 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenases in sex steroid biology. *Steroids*. 62(1):148-158.
- LANDSCHULZ KT, PATHAK RK, RIGOTTI A, KRIEGER M AND HOBBS HH. (1996) Regulation of scavenger receptor, class B, type I, a high density lipoprotein receptor, in liver and steroidogenic tissues of the rat. *J Clin Invest* 98:984-995.

- LARSEN BA, NORDESTGAARD BG, STENDER S, KJELDSEN K. (1993) Effect of testosterone on atherogenesis in cholesterol-fed rabbits with similar plasma cholesterol levels. *Atherosclerosis*. 99:79-86.
- LEBLANC M, BELANGER MC, JULIEN P, TCHERNOF A, LABRIE C, BELANGER A, LABRIE F. (2004) Plasma lipoprotein profile in the male cynomolgus monkey under normal, hypogonadal, and combined androgen blockade conditions. *J Clin Endocrinol Metab*. 89:1849-1857.
- LEGATO, M.J. (2000). Dyslipidemia, gender, and the role of high-density lipoprotein cholesterol: implications for therapy. *Am. J. Cardiol*. 86:15L-18L.
- LEHTONEN A, VIIKARI J. (1978) The effect of vigorous physical activity at work on serum lipids with a special reference to serum high-density lipoprotein cholesterol. *Acta Physiol Scand*. 104:117-121.
- LIBBY, P. (2000). Changing concepts of atherogenesis. *J. Intern. Med*. 247:349-358.
- LUO Y, TALL AR. (2000) Sterol upregulation of human CETP expression in vitro and in transgenic mice by an LXR element. *J Clin Invest*. 105(4):513-520.
- LUSIS, A.J. (2000). Atherosclerosis. *Nature*. 407:233-241.
- MACDONALD PC, MADDEN JD, BRENNER PF, WILSON JD, SIITERI PK. (1979) Origin of estrogen in normal men and in women with testicular feminization. *J Clin Endocrinol Metab* 49(6):905-916.
- MARCEL YL, MCPHERSON R, HOGUE M, CZARNECKA H, ZAWADZKI Z, WEECH PK, WHITLOCK ME, TALL AR, MILNE RW. (1990) Distribution and concentration of cholesteryl ester transfer protein in plasma of normolipemic subjects. *J Clin Invest*. 85(1):10-17.
- MARIN P, KROTKIEWSKI M, BJORNTORP P. (1992) Androgen treatment of middle-aged, obese men: effects on metabolism, muscle and adipose tissues. *Eur J Med*. 1(6):329-336.
- MAROTTI KR, CASTLE CK, MURRAY RW, REHBERG EF, POLITES HG, MELCHIOR GW. (1992) The role of cholesteryl ester transfer protein in primate apolipoprotein A-I metabolism. Insights from studies with transgenic mice. *Arterioscler Thromb*. 12:736-744.
- MAROTTI KR., CASTLE CK, BOYLE TP, LIN AH, MURRAY RW, MELCHIOR GW. (1993). Severe atherosclerosis in transgenic mice expressing simian cholesteryl ester transfer protein. *Nature*. 364:73-75.
- MARTIN RP, HASKELL WL, WOOD PD. (1977) Blood chemistry and lipid profiles of elite distance runners. *Ann N Y Acad Sci*. 301:346-360.

- MARTIN LJ, CONNELLY PW, NANCOO D, WOOD N, ZHANG ZJ, MAGUIRE G, QUINET E, TALL AR, MARCEL YL, MCPHERSON R. (1993) Cholesteryl ester transfer protein and high density lipoprotein responses to cholesterol feeding in men: relationship to apolipoprotein E genotype. *J Lipid Res.* 34(3):437-446.
- MASUCCI-MAGOULAS L, MOULIN P, JIANG XC, RICHARDSON H, WALSH A, BRESLOW JL, TALL A. (1995) Decreased cholesteryl ester transfer protein (CETP) mRNA and protein and increased high density lipoprotein following lipopolysaccharide administration in human CETP transgenic mice. *J Clin Invest.* 95(4):1587-1594
- MASUCCI-MAGOULAS, L.; PLUMP, A.; JIANG, X.C.; WALSH, A.; BRESLOW, J.L.; TALL, A.R. (1996). Profound induction of hepatic cholesteryl ester transfer protein transgene expression in apolipoprotein E and low density lipoprotein receptor gene knockout mice. A novel mechanism signals changes in plasma cholesterol levels. *J. Clin. Invest.* 97:154-161
- MATSUMOTO, A.M. Endocrinology diseases unique to men. In *Benett JC & Plum Feds. Cecil textbook of medicine*, 20<sup>th</sup> ed. Philadelphia, WB. Saunders Co. 1325-1341, 1996.
- McFARLANE, A.S. (1958). Efficient trace-labelling of protein with iodine. *Nature.* 182:53.
- McPHERSON R, MANN CJ AND TALL AR.(1991) Plasma concentrations of cholesteryl ester transfer protein in hyperlipoproteinemia. Relation to cholesteryl ester transfer protein in activity and other lipoproteins variables. *Arterioscler Thromb.* 11:797-804.
- McKILLOP G, BALLANTYNE D. (1987) Lipoprotein analysis in bodybuilders. *Int J Cardiol.* 17:281-288.
- MILLER WL. (1988) Molecular biology of steroid hormone synthesis. *Endocr Rev.* 9(3):295-318. Review.
- Monitoring the Future Study. Ann Arbor: University of Michigan; 2003  
[URL:<http://www.monitoringthefuture.org>]
- MORALES DE, MCGOWAN KA, GRANT DS, MAHESHWARI S, BHARTIYA D, CID MC, KLEINMAN HK, SCHNAPER HW. (1995) Estrogen promotes angiogenic activity in human umbilical vein endothelial cells in vitro and in a murine model. *Circulation.* 91(3):755-763.
- MORLEY JE, PERRY HM 3RD, KAISER FE, KRAENZLE D, JENSEN J, HOUSTON K, MATTAMMAL M, PERRY HM JR. (1993) Effects of testosterone replacement therapy in old hypogonadal males: a preliminary study. *J Am Geriatr Soc.* 41(2):149-152.
- MORTON RE.(1988) Interaction of plasma-derived lipid transfer protein with macrophages in culture. *J Lipid Res.* 29(10):1367-1377.

- MOTTRAM DR, GEORGE AJ. (2000) Anabolic steroids. *Baillieres Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 4(1):55-69. Review.
- MUKHERJEE TK, DINH H, CHAUDHURI G, NATHAN L. (2002) 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.* 99(6):4055-4060.
- MULLER M, VAN DER SCHOUW YT, THIJSSSEN JH, GROBBEE DE. (2003) Endogenous sex hormones and cardiovascular disease in men. *J Clin Endocrinol Metab.* 88:5076-5086. Review.
- MURPHY JG, KHALIL RA. (1999) Decreased  $[Ca^{2+}]_i$  during inhibition of coronary smooth muscle contraction by 17 $\beta$ -estradiol, progesterone, and testosterone. *J Pharmacol Exp Ther.* 291(1):44-52.
- NAGANO M, YAMASHITA S, HIRANO K, TAKANO M, MARUYAMA T, ISHIHARA M, SAGEHASHI Y, KUJIRAOKA T, TANAKA K, HATTORI H, SAKAI N, NAKAJIMA N, EGASHIRA T, MATSUZAWA Y. (2004) Molecular mechanisms of cholesteryl ester transfer protein deficiency in Japanese. *J Atheroscler Thromb.* 11(3):110-121. Review.
- NATHAN, L.; SHI, W.; DINH, H.; MUKHERJEE, T.K.; WANG, X.; LUSIS, A.J.; CHAUDHURI, G. (2001). Testosterone inhibits early atherogenesis by conversion to estradiol: Critical role of aromatase. *Proc. Natl. Acad Sci. U S A.* 98:3589-3593.
- NIEBAUER J, MAXWELL AJ, LIN PS, TSAO PS, KOSEK J, BERNSTEIN D, COOKE JP. (1999) Impaired aerobic capacity in hypercholesterolemic mice: partial reversal by exercise training. *Am J Physiol.* 276:H1346-354.
- NIKKILA EA, TASKINEN MR, REHUNEN S, HARKONEN M.(1978) Lipoprotein lipase activity in adipose tissue and skeletal muscle of runners: relation to serum lipoproteins. *Metabolism.* 27:1661-1667.
- NITTA H, BUNICK D, HESS RA, JANULIS L, NEWTON SC, MILLETTE CF, OSAWA Y, SHIZUTA Y, TODA K, BAHN JM. (1993) Germ cells of the mouse testis express P450 aromatase. *Endocrinology.* ;132(3):1396-1401.
- NUNES, V.S.; QUINTÃO, E.C.R.; CAZITA, P.M.; HARADA, L.M.; FARIA, E.C.; OLIVEIRA, H.C.F. (2001). Plasma lipase and lipid transfer proteins phospholipid but not free cholesterol transfer from lipid emulsion to high density lipoproteins. *BMC Biochemistry.* 2:1-10.
- ODELL WD, SWERDLOFF RS, JACOBS HS, HESCOX MA. (1973) FSH induction of sensitivity to LH: one cause of sexual maturation in the male rat. *Endocrinology.* 92(1):160-165.

- OETTEL M. (2003) Testosterone metabolism, dose-response relationships and receptor polymorphisms: selected pharmacological/toxicological considerations on benefits versus risks of testosterone therapy in men. *Aging Male* 6:230-256. Review.
- OKAMOTO H, YONEMORI F, WAKITANI K, MINOWA T, MAEDA K AND SHINKAI H. (2000) A cholesteryl ester transfer protein inhibitor attenuates atherosclerosis in rabbits. *Nature*. 406:203-207.
- OLIVEIRA HC, CHOUINARD RA, AGELLON LB, BRUCE C, MA L, WALSH A, BRESLOW JL, TALL AR.. (1996a). Human cholesteryl ester transfer protein gene proximal promoter contains dietary cholesterol positive elements and mediates expression in small intestine and periphery while predominant liver and spleen expression is controlled by 5' distal sequences. *J. Biol.Chem.* 271:31831-31838.
- OLIVEIRA, H.C.F. & QUINTÃO, E.C.R. (1996b). "In vitro" cholesteryl ester bidirectional flow between high-density lipoproteins and triglyceride rich emulsions. Effects of particle concentration and composition, cholesteryl ester transfer activity and oleic acid. *J. Biochem. Biophys. Methods.* 32:45-57.
- OLIVEIRA HC, MA L, MILNE R, MARCOVINA SM, INAZU A, MABUCHI H AND TALL AR. (1997) Cholesteryl ester transfer protein activity enhances plasma cholesteryl ester formation. Studies in CETP transgenic mice and human genetic CETP deficiency. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 17:1045-1052.
- ONG PJ, PATRIZI G, CHONG WC, WEBB CM, HAYWARD CS, COLLINS P. (2000) Testosterone enhances flow-mediated brachial artery reactivity in men with coronary artery disease. *Am J Cardiol.* 15;85(2):269-272.
- OPPENHEIM, D.S.; GREENSPAN, S.L.; ZERVAS, N.T.; SCHOENFELD, D.A.; KLIBANSKI, A. (1989). Elevated serum lipids in hypogonadal men with and without hyperprolactinemia. *Ann. Int. Med.* 111:288-292.
- ORAM JF AND VAUGHAN AM. (2000) ABCA1-mediated transport of cellular cholesterol and phospholipids to HDL apolipoproteins. *Curr Opin Lipidol.* 11:253-260.
- OZATA, M.; YIDIRIMKAYA, M.; BULUR, M.; YILMAZ, K.; BOLU, E.; CORAKCL, A.; GUNDOGAN, M.A. (1996). Effects of gonadotropin and testosterone treatments on lipoprotein(a), high density lipoprotein particles, and other lipoprotein levels in male hypogonadism. *J. Clin. Endocr. Metab.* 81:3372-3378.
- PAIGEN, B.; HOLMES, P.A.; MITCHELL, D.; ALBEE, D. (1987). Comparison of atherosclerotic lesions and HDL-lipid levels in male, female and testosterone-treated female mice from strains C57BL/6, BALB/c and C3H. *Atherosclerosis.* 64:215-221.

- PARK KM, KIM JI, AHN Y, BONVENTRE AJ, BONVENTRE JV. (2004) Testosterone is responsible for enhanced susceptibility of males to ischemic renal injury. *J Biol Chem.* 10;279(50):52282-52292.
- PASQUALI, R.; CASIMIRRI, F.; CANTOBELLI, S.; MELCHIONDA, N.; MORSELLI LABATE, A.M.; FABBRI, R.; CAPELLI, M. (1991). Effect of obesity and body fat distribution on sex hormones and insulin in men. *Metabolism.* 40:101-104.
- PEDERSEN, T.R. (2001). Pro and con: low-density lipoprotein cholesterol lowering is and will be the key to the future of lipid management. *Am. J. Cardiol.* 87:8B-12B.
- PEDERSOLI, W.M. (1978) Physical exercise. Atherogenic diet, and serum lipids in swine. *Curr Ther Res* 23:464-473.
- PEINADO-ONSURBE J, STAELS B, VANDERSCHUEREN D, BOUILLON R, AUWERX J. (1993) Effects of sex steroids on hepatic and lipoprotein lipase activity and mRNA in the rat. *Horm Res.* 40:184-188.
- PELS AE 3RD, WHITE TP, BLOCK WD. (1985) Effects of exercise training on plasma lipids and lipoproteins in rats. *J Appl Physiol.* 58:612-618.
- PELS AE 3RD, TERPSTRA AH, WHITE TP. (1991) Endurance training increased HDL cholesteryl ester metabolism in rats. *J Appl Physiol.* 70:1743-1747.
- PELTONEN P, MARNIEMI J, HIETANEN E, VUORI I, EHNHOLM C. (1981) Changes in serum lipids, lipoproteins, and heparin releasable lipolytic enzymes during moderate physical training in man: a longitudinal study. *Metabolism.* 30:518-526.
- PERUSQUIA M, HERNANDEZ R, MORALES MA, CAMPOS MG, VILLALON CM. (1996) Role of endothelium in the vasodilating effect of progestins and androgens on the rat thoracic aorta. *Gen Pharmacol.* 27(1):181-185.
- PHILLIPS, G.B. (1993). Relationship between serum sex hormones and the glucose-insulin-lipid defect in men with obesity. *Metabolism.* 42:116-120.
- PLYMATE SR, LEONARD JM, PAULSEN CA, FARISS BL, KARPAS AE. (1983) Sex hormone-binding globulin changes with androgen replacement. *J Clin Endocrinol Metab.* 57(3):645-648.
- PLUMP AS, MASUCCI-MAGOULAS L, BRUCE C, BISGAIER CL, BRESLOW JL AND TALL AR. (1999) Increased atherosclerosis in ApoE and LDL receptor gene knock-out mice as a result of human cholesteryl ester transfer protein transgene expression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 19:1105-1110



- PODESTA EJ, DUFAU ML, SOLANO AR, CATT KJ. (1978) Hormonal activation of protein kinase in isolated Leydig cells. Electrophoretic analysis of cyclic AMP receptors. *J Biol Chem.* 25:253(24):8994-9001.
- QUIGLEY CA, DE BELLIS A, MARSCHKE KB, EL-AWADY MK, WILSON EM, FRENCH FS. (1995) Androgen receptor defects: historical, clinical, and molecular perspectives. *Endocr Rev.* 16(3):271-321. Review
- QUINET EM, AGELLON LB, KROON PA, MARCEL YL, LEE YC, WHITLOCK ME, TALL AR. (1990) Atherogenic diet increases cholesteryl ester transfer protein messenger RNA levels in rabbit liver. *J Clin Invest.* 85(2):357-363.
- QUINET E, TALL A, RAMAKRISHNAN R, RUDEL L. (1991) Plasma lipid transfer protein as a determinant of the atherogenicity of monkey plasma lipoproteins. *J Clin Invest.* 87(5):1559-1566.
- RECKLESS, J.; METCALFE, J.C.; RAINGER, D.J. (1997). Tamoxifen decreases cholesterol sevenfold and abolishes lipid lesion development in apolipoprotein E knockout mice. *Circulation.* 95:1542-1548.
- REDGRAVE, T.G. (1983). Formation and metabolism of chylomicrons. *Int. Rev. Physiol.* 28:103-130.
- ROBINSON DS. IN FLORKING M. AND STOTZ EH. (eds) *Comprehensive Biochemistry, Lipid Metabolism.* Amsterdam, Elsevier North Holland, 1970.
- ROSS, R. (1993). The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature.* 362:801.
- RUBIN, E.M.; KRAUSS, R.M.; SPRANGLER, E.A.; VERSTUYFT, J.G.; CLIFT, S.M. (1991). Inhibition of early atherogenesis in transgenic mice by human apolipoprotein A1. *Nature.* 353:265-267.
- SACK MN, RADER DJ, CANNON RO 3RD. (1994) Oestrogen and inhibition of oxidation of low-density lipoproteins in postmenopausal women. *Lancet* 343:269-270.
- SADER MA, GRIFFITHS KA, MCCREDIE RJ, HANDELSMAN DJ, CELERMAJER DS. (2001) Androgenic anabolic steroids and arterial structure and function in male bodybuilders. *J Am Coll Cardiol.* 37:224-230.
- SANTEN RJ. (1975) Is aromatization of testosterone to estradiol required for inhibition of luteinizing hormone secretion in men? *J Clin Invest.* 56(6):1555-1563.

- SAKAI N, YAMASHITA S, HIRANO KI. (1995) Decreased affinity of low-density lipoprotein (LDL) particles for LDL receptors in patients with cholesteryl ester transfer protein deficiency. *Eur J Clin Invest.* 25:332-339
- SCOTT, A.M.; ATWATER, I.; ROJAS, E. (1981). A method for the simultaneous measurement of insulin release and B-cell membrane potential in single mouse islets of Langerhans. *Diabetologia.* 21:470-475.
- SCOTT, D.M. WAGNER, C.J. BARLOW, T.W. (1996) Anabolic steroid use among adolescents in Nebraska schools. *Am J Health Syst Pharm.* 53:2068-2072.
- SEIDELL, J.C.; BJORNTORP, P.; KVIST, H.; SANNERSTEDT, R. (1991). Visceral fat accumulation in men is positively associated with insulin, glucose, and C-peptide levels, but negatively with testosterone levels. *Metabolism.* 39:897-901.
- SEIP, R.L.; MOULIN. P.; COCKE. T.; TALL, A.; KOHRT, W.M.; MANKOWITZ, K.; SEMENKOVICH, C.F.; OSTLUND, R.; SCHONFELD, G. (1993) Exercise training decreases plasma cholesteryl ester transfer protein. *Arterioscler Thromb.* 13:1359-1367,
- SIH R, MORLEY JE, KAISER FE, PERRY HM 3RD, PATRICK P, ROSS C. (1997) Testosterone replacement in older hypogonadal men: a 12-month randomized controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 82(6):1661-1667.
- SIMON, D.; PREZIOSI, P.; BARRET-CONNOR, E.; ROGER, M.; SAINT-PAUL, M.; NAHOUL, K.; PAPO,Z.L. (1992). The influence of aging on plasma sex hormones in men: the Telecom Study. *Am. J. Epidemiol.* 135:783-791.
- SIMPSON, E.; RUBIN, G.; CLYNE, C.; ROBERTSON, K.; O'DONNELL, O.; DAVIS,S.; JONES, M. (1999). Local estrogen biosynthesis in males and females. *Endocrinol. Rel. Can.*6:131-137.
- SINGH R, ARTAZA JN, TAYLOR WE, GONZALEZ-CADAVID NF, BHASIN S. (2003) Androgens stimulate myogenic differentiation and inhibit adipogenesis in C3H 10T1/2 pluripotent cells through an androgen receptor-mediated pathway. *Endocrinology.* 144(11):5081-5088.
- SNYDER PJ, PEACHEY H, HANNOUSH P, BERLIN JA, LOH L, LENROW DA, HOLMES JH, DLEWATI A, SANTANNA J, ROSEN CJ, STROM BL. (1999a) Effect of testosterone treatment on body composition and muscle strength in men over 65 years of age. *J Clin Endocrinol Metab.* 84(8):2647-2653.
- SNYDER PJ, PEACHEY H, HANNOUSH P, BERLIN JA, LOH L, HOLMES JH, DLEWATI A, STALEY J, SANTANNA J, KAPOOR SC, ATTIE MF, HADDAD JG JR, STROM

- BL. (1999b) Effect of testosterone treatment on bone mineral density in men over 65 years of age. *J Clin Endocrinol Metab.* 84(6):1966-1972.
- SNYDER PJ, PEACHEY H, BERLIN JA, RADER D, USHER D, LOH L, HANNOUSH P, DLEWATI A, HOLMES JH, SANTANNA J, STROM BL. (2001) Effect of transdermal testosterone treatment on serum lipid and apolipoprotein levels in men more than 65 years of age. *Am J Med.* 111(4):255-260.
- SON YS, ZILVERSMIT DB. (1986) Increased lipid transfer activities in hyperlipidemic rabbit plasma *Arteriosclerosis.* 6(3):345-351.
- SOLYOM, A. (1971). Effect of androgens on serum lipids and lipoproteins. *Lipids.* 7:100-105.
- SORVA, R.; KUUSI, T.; TASKINEN, M.R.; PERHEENTUPA, J.; NIKKILA, E.A. (1988). Testosterone substitution increases the activity of lipoprotein lipase and hepatic lipase in hypogonadal males. *Atherosclerosis.* 69:191-197.
- SPYRIDOPOULOS I, SULLIVAN AB, KEARNEY M, ISNER JM, LOSORDO DW (1997) Estrogen-receptor-mediated inhibition of human endothelial cell apoptosis. Estradiol as a survival factor. *Circulation.* 18;95(6):1505-1514.
- SRINIVASAN, G.S.; SUNDARAM, G.S.; WILLIAMSON, G.D.; WEBBER, L.S.; BERENSON, G.S. (1985). Serum lipoproteins and endogenous sex hormones in early life: observations in children with different lipoprotein profiles. *Metabolism.* 34:861-867.
- STEFANICK, M.L.; WILLIAMS, P.T.; KRAUSS, R.M.; TERRY, R.B.; VRANIZAN, K.M.; WOOD, P.D. (1987). Relationships of plasma estradiol, testosterone, and sex hormone-binding globulin with lipoproteins, apolipoproteins, and high density lipoprotein subfractions in men. *J.Clin. Endocrinol. Metab.* 64:723-729.
- STEIN Y, STEIN O, OLIVECRONA T, HALPERIN G. (1985) Putative role of cholesteryl ester transfer protein in removal of cholesteryl ester from vascular interstitium, studied in a model system in cell culture. *Biochim Biophys Acta.* 17;834(3):336-345.
- STEIN O, STEIN Y. (1999) Atheroprotective mechanisms of HDL. *Atherosclerosis.* 144(2):285-301. Review.
- STEVENSON CG.(1998) Cholesterol ester transfer protein: a molecule with three faces? *Crit Rev Clin Lab Sci.* 35(6):517-546. Review.
- STUCCHI AF, TERPSTRA AH, FOXALL TL, NICOLOSI RJ, SMITH SC. (1991) The effect of exercise on plasma lipids and LDL subclass metabolism in miniature swine. *Med Sci Sports Exerc.* 23:552-561.
- SWERDLOFF RS, WANG C. (2004) Androgens and the ageing male. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 18(3):349-362. Review

- SULLIVAN ML, MARTINEZ CM, GENNIS P, GALLAGHER EJ. (1998) The cardiac toxicity of anabolic steroids. *Prog Cardiovasc Dis.* 41(1):1-15. Review.
- SUTHERLAND WH, WALKER RJ, LEWIS-BARNED NJ, PRATT H, TILLMANN HC AND TILLMAN HC. (1994) The effect of acute hyperinsulinemia on plasma cholesteryl ester transfer protein activity in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus and healthy subjects. *Metabolism.* 43:1362-1366.
- TAI, M.M. (1994). A mathematical model for the determination of total area under glucose tolerance and other metabolic curves. *Diabetes Care.* 17:152-154.
- TALL AR. (1993) Plasma cholesteryl ester transfer protein. *J Lipid Res.* 34(8):1255-1274. Review.
- TALL, A.R. (1995). Plasma lipid transfer protein. *Ann. Rev. Biochem.* 64:235-237.
- TALL AR, WANG N. (2000) Tangier disease as a test of the reverse cholesterol transport hypothesis. *J Clin Invest.* 106(10):1205-7. Review. No abstract available.
- TALL AR. (2002) Exercise to reduce cardiovascular risk--how much is enough? *N Engl J Med.* 347:1522-1524.
- TAN, K.C.B.; SHIU, S.W.M.; PANG, R.W.C.; KUNG, A.W.C. (1998). Effects of testosterone replacement on HDL subfractions and apolipoprotein A-I containing lipoproteins. *Clin. Endocrinol.* 48:187-194.
- TAN KC, SHIU SW, KUNG AW. (1999) Alterations in hepatic lipase and lipoprotein subfractions with transdermal testosterone replacement therapy. *Clin Endocrinol (Oxf).* 51(6):765-769.
- TANG, J.; KRUL, E.S.; SCHONFELD, G. (1991a). *In vivo* regulation of apolipoprotein A-I gene expression by estradiol and testosterone occurs at the translational level in inbred strains of mice. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 181:1407-1411.
- TANG, J.; SRIVASTAVA, R.A.K.; KRUL, E.S.; BAUMANN, D.; PFEGER, B.A.; KITCHENS, R.T.; SCHONFELD, G. (1991b). *In vivo* regulation of apolipoprotein A-I gene expression by estradiol and testosterone occurs by different mechanisms in inbred strains of mice. *J. Lipid Res.* 32: 1571-1585.
- TENOVER JS. (1992) Effects of testosterone supplementation in the aging male. *J Clin Endocrinol Metab.* 75(4):1092-1098.
- TEP-AREENAN P, KENDALL DA, RANDALL MD. (2002) Testosterone-induced vasorelaxation in the rat mesenteric arterial bed is mediated predominantly via potassium channels. *Br J Pharmacol.* 135(3):735-740.

- TERASAKI T, NOWLIN DM, PARDRIDGE WM. (1988) Differential binding of testosterone and estradiol to isoforms of sex hormone-binding globulin: selective alteration of estradiol binding in cirrhosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 67(4):639-643.
- THOMAS TR, ADENIRAN SB, ILTIS PW, AQUIAR CA, ALBERS JJ. (1985) Effects of interval and continuous running on HDL-cholesterol, apoproteins A-1 and B, and LCAT. *Can J Appl Sport Sci.* 10:52-59.
- THOMPSON PD, CULLINANE EM, SADY SP, FLYNN MM, BERNIER DN, KANTOR MA, SARITELLI AL, HERBERT PN. (1988) Modest changes in high-density lipoprotein concentration and metabolism with prolonged training. *Circulation* 78:24-34.
- THOMPSON, P.D.; CULLINANE, E.M.; SADY, S.P.; CHENEVERT, C.; SARITELLI, A.L.; SADY, M.A.; HERBERT, P.N. (1989). Contrasting effects of testosterone and stanozolol on serum lipoprotein levels. *JAMA.* 261:1165-1168.
- THOMPSON PD, CULLINANE EM, SADY SP, FLYNN MM, CHENEVERT CB, HERBERT PN.(1991) High density lipoprotein metabolism in endurance athletes and sedentary men. *Circulation.* 84:140-152.
- THOMPSON PD, RADER DJ. (2001) Does exercise increase HDL cholesterol in those who need it the most? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 21(7):1097-1098
- THOMPSON JF, LLOYD DB, LIRA ME, MILOS PM. (2004) Cholesteryl ester transfer protein promoter single-nucleotide polymorphisms in Sp1-binding sites affect transcription and are associated with high-density lipoprotein cholesterol. *Clin Genet.* 66(3):223-228.
- TIKKANEN HO, HAMALAINEN E, SARNA S, ADLERCREUTZ H, HARKONEN M. (1998) Associations between skeletal muscle properties, physical fitness, physical activity and coronary heart disease risk factors in men. *Atherosclerosis.* 137:377-389.
- TIKKANEN MJ, VIHMA V, JAUHAINEN M, HOCKERSTEDT A, HELISTEN H, KAAMANEN M.(2002) Lipoprotein-associated estrogens. *Cardiovasc Res.* 56(2):184-188. Review.
- TILLY-KIESI M, KAHRI J, PYORALA T, PUOLAKKA J, LUOTOLA H, LAPPI M, LAHDENPERA S, TASKINEN MR. (1997) Responses of HDL subclasses, Lp(A-I) and Lp(A-I:A-II) levels and lipolytic enzyme activities to continuous oral estrogen-progestin and transdermal estrogen with cyclic progestin regimens in postmenopausal women. *Atherosclerosis* 129:249-259.
- TSOPANAKIS C, KOTSARELLIS D, TSOPANAKIS A. (1988) Plasma lecithin: cholesterol acyltransferase activity in elite athletes from selected sports. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 58:262-265.

- UYANIK, B.S.; ARI, Z.; GÜMÜS, B.; YIGITOGLU, M.R.; ARSLAN, T. (1997). Beneficial effects of testosterone undecanoate on the lipoprotein profiles in healthy elderly men . A placebo controlled study. *Jpn. Heart J.* 38:73-82.
- URHAUSEN A, TORSTEN A, WILFRIED K. (2003) Reversibility of the effects on blood cells, lipids, liver function and hormones in former anabolic-androgenic steroid abusers. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 84:369-375.
- VADLAMUDI S, MACLEAN P, GREEN T, SHUKLA N, BRADFELD J, VORE S, BARAKAT H. (1998) Role of female sex steroids in regulating cholesteryl ester transfer protein in transgenic mice. *Metabolism.* 47:1048-1051.
- VAN OORT G, GROSS DR, SPIEKERMAN AM. (1987) Effects of eight weeks of physical conditioning on atherosclerotic plaque in swine. *Am J Vet Res.* 48:51-55.
- VAN VLIJMEN, B.J.M.; van 't HOF, H.B.; MOL, M.J.T.M.; van der BOOM, H.; van der ZEE, A.; FRANTS, R.R.; HOFKER, M.H.; HAVEKES, L.M. (1996). Modulation of very low density lipoprotein production and clearance contributes to age-and gender-dependent hyperlipoproteinemia in apolipoprotein E3-Leiden transgenic mice. *J. Clin. Invest.* 97:1184-1192.
- VENKOV CD, RANKIN AB, VAUGHAN DE. (1996) Identification of authentic estrogen receptor in cultured endothelial cells. A potential mechanism for steroid hormone regulation of endothelial function. *Circulation.* 15;94(4):727-733.
- VERMEULEN, A. (1980). Sex hormone status of the postmenopausal woman. *Maturitas.* 2:81-89.
- VERMEULEN, A. & DESLYPERE, J.P. (1985). Long-term transdermal dihydrotestosterone therapy: effects on pituitary gonadal axis and plasma lipoproteins. *Maturitas.* 7:281-287.
- VON DUVILLARD SP, FOXALL TL, DAVIS WP, TERPSTRA AH. (2000) Effects of exercise on plasma high-density lipoprotein cholesteryl ester metabolism in male and female miniature swine. *Metabolism.* 49:826-832.
- VON ECKARDSTEIN, A.; KLIESCH, S.; NIESCHLAG, E.; CHIRAZI, A.; ASSMANN, G.; BEHRE, H.M. (1997). Suppression of endogenous testosterone in young men increases serum levels of high density lipoprotein subclass lipoprotein A-I and lipoprotein(a). *J. Clin. Endocr. Metab.* 82:3367-3372.
- XU T, WANG X, HOU S, ZHU J, ZHANG X, HUANG X. (2002) Effect of surgical castration on risk factors for arteriosclerosis of patients with prostate cancer. *Chin Med J (Engl)* 115:1336-1340.

- YUE P, CHATTERJEE K, BEALE C, POOLE-WILSON PA, COLLINS P. (1995) Testosterone relaxes rabbit coronary arteries and aorta. *Circulation*. 15;91(4):1154-1160.
- WEBB, O.L.; LASKARZEWSKI, P.M.; GLUECK, C.I. (1984). Severe depression of high-density lipoprotein cholesterol levels in weight lifters and body builders by self-administered exogenous testosterone and anabolic-androgenic steroids. *Metabolism*. 33:971-975.
- WHITE RE, DARKOW DJ, LANG JL. (1995) Estrogen relaxes coronary arteries by opening BKCa channels through a cGMP-dependent mechanism. *Circ Res*. 77(5):936-942.
- WILSON JD. (2001) The role of 5alpha-reduction in steroid hormone physiology. *Reprod Fertil Dev*. 13(7-8):673-678. Review.
- WILUND KR, FERRELL RE, PHARES DA, GOLDBERG AP, HAGBERG JM. (2002) Changes in high-density lipoprotein-cholesterol subfractions with exercise training may be dependent on cholesteryl ester transfer protein (CETP) genotype. *Metabolism*. 51:774-778.
- WOOD PD, HASKELL WL, STERN MP, LEWIS S, PERRY C. (1977) Plasma lipoprotein distributions in male and female runners. *Ann N Y Acad Sci*. 301:748-763.
- WOOD PD, HASKELL WL. (1979) The effect of exercise on plasma high density lipoproteins. *Lipids*. 14:417-427. Review.
- World Health Organization Task Force on methods for the regulation of male fertility. Contraceptive efficacy of testosterone-induced azoospermia in normal men.[No authors listed] *Lancet*. 1990 Oct 20;336(8721):955-959.
- World Health Organization, Task Force on Methods for the Regulation of Male Fertility. Contraceptive efficacy of testosterone-induced azoospermia and oligozoospermia in normal men. *Fertil Steril.*, 1996, 65: 821-829.
- WU FC. (1992) Testicular steroidogenesis and androgen use and abuse. *Baillieres Clin Endocrinol Metab*.6:373-403. Review.
- ZHANG C, ZHUANG Y, QIANG H, LIU X, XU R, WU Y. (2001) Relationship between endogenous estrogen concentrations and serum cholesteryl ester transfer protein concentrations in Chinese women. *Clin Chim Acta*. 314(1-2):77-83.
- ZHONG S., GOLDBERG IJ., BRUCE C., RUBEN E., BRESLOW JL., TALL A. (1994). Human ApoA-II inhibits the hydrolysis of HDL triglyceride and the decrease of HDL size induced by hypertriglyceridemia and cholesteryl ester transfer protein in transgenic mice. *J. Clin. Invest*. 94:2457.

- ZHONG, S.; SHARP, D.S.; GROVE, J.S.; BRUCE, C.; YANO K.; CURB, J.D.; TALL, A.R. (1996). Increased coronary heart disease in Japanese-American men with mutation in the cholesteryl ester transfer protein gene despite increased HDL levels. *J. Clin. Invest.* 97:2917-2923.
- ZMUDA, J.M.; FAHRENBACH, M.C.; YOUNKIN, B.T.; BAUSSERMAN, L.L.; TERRY, R.B.; CATLIN, D.H.; THOMPSON, P.D. (1993). The effect of testosterone aromatization on high-density lipoprotein cholesterol level and postheparin lipolytic activity. *Metabolism.* 42:446-450.
- ZUCKERMAN SH, EVANS GF, SCHELM JA, EACHO PI, SANDUSKY G. (1999) Estrogen-mediated increases in LDL cholesterol and foam cell-containing lesions in human ApoB100xCETP transgenic mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 19(6):1476-1483.



## ***VIII.TABELAS***

Tabela 1. Peso corporal e de órgãos de camundongos CETP transgênicos (Tg) e não transgênicos (não-Tg) machos pseudo-operados (sham) e após 30 dias de castração.

	CETP Tg		não - Tg	
	sham (n=21)	castrado (n=22)	sham (n=14)	castrado (n=12)
Peso corpóreo inicial (g)	27 ± 0.3 <sup>a</sup>	26 ± 0.3	24 ± 0.9	25 ± 1.1
Peso corpóreo final (g)	28 ± 0.4 <sup>a,b</sup>	25 ± 0.5 <sup>b</sup>	25 ± 0.8	24 ± 1.2
Par de adrenais (mg)	4.6 ± 0.3	4.9 ± 0.3	3.0 ± 0.2	4.0 ± 0.3
Fígado (% PC)	4.3 ± 0.1	4.2 ± 0.1	4.5 ± 0.1	4.1 ± 0.1

Média ± ep , % PC: % do peso do corpo. Teste de Mann Whitney, letras iguais são diferentes entre si : a) p=0.05, b) p=0.0002.

Tabela 2. Concentração plasmática de lipídeos, glicose e insulina em camundongos CETP transgênicos (Tg) e não transgênicos (não-Tg) pseudo-operados (sham) e 30 dias após castração.

	CETP Tg		não - Tg	
	sham	castrado	sham	castrado
COL (mg/dL)	58 ± 2.5 (8)	56 ± 3.0 (9)	101 ± 7.2 (6)	100 ± 7.3 (6)
AGL (nmol/L)	1.5 ± 0.1 (8)	1.4 ± 0.1 (9)	2.3 ± 0.2 (6)	1.9 ± 0.1 (6)
TG (mg/dL)	73 ± 4.2 (8)	70 ± 3.4 (9)	75 ± 1.2 (6)	72 ± 1.2 (6)
Glicose (mg/dL)	76 ± 3.5 (8)	79 ± 3.1 (9)	70 ± 6.4 (6)	77 ± 6.4 (6)
Insulina (ng/dL)	0.2 ± 0.04 (4)	0.3 ± 0.04 (5)		

Média ± ep (n). COL:colesterol, AGL: ácidos graxos livres, TG: triglicérides.

Tabela 3. Perfil lipoprotéico, anticorpo anti-LDL oxidada e IgG total em camundongos CETP transgênicos (Tg) e não transgênicos (não-Tg) pseudo-operados (sham) e após 30 dias de castração.

	CETP Tg		não - Tg	
	sham	castrado	sham	castrado
VLDL-COL (mg/dL)	3.5 ± 0.3 (3)	2.7 ± 0.6 (3)	3.7 ± 0.3 (3) <sup>d</sup>	5.3 ± 0.3 (3) <sup>d</sup>
LDL-COL (mg/dL)	10.7 ± 1.1 (3) <sup>a</sup>	14.6 ± 0.2 (3) <sup>a</sup>	9.3 ± 0.1 (3) <sup>e</sup>	16.7 ± 1.1 (5) <sup>e</sup>
HDL-COL (mg/dL)	47.4 ± 1.9 (3) <sup>b</sup>	33.1 ± 0.8 (3) <sup>b</sup>	86.7 ± 0.9 (3) <sup>f</sup>	77.2 ± 1.6 (5) <sup>f</sup>
VLDL+LDL/HDL	0.30 ± 0.03 (3)	0.50 ± 0.05 (3)	0.13 ± 0.03 (3) <sup>g</sup>	0.27 ± 0.03 (5) <sup>g</sup>
Anti-LDL ox (abs.)	0.12 ± 0.02 (6) <sup>c</sup>	0.20 ± 0.02 (7) <sup>c</sup>		
IgG total (abs.)	0.51 ± 0.10 (6)	0.44 ± 0.08 (7)		

Média ± ep (n). COL: colesterol, LDLox: LDL oxidada, abs.: absorvância (450 nm). Comparações entre sham vs. castrado de cada grupo. Expoentes iguais são diferentes entre si. Teste "t" de Student: a) p=0.025, b) p=0.002, d) p=0.02, e) p=0.001 e f) p=0.003. Teste de Mann Whitney : c) p=0.01 e g) p=0.05 .

Tabela 4. Atividades da CETP e das lipases vasculares (lipoproteína lipase, LPL; lipase hepática, LH) circulantes no plasma de camundongos CETP transgênicos (Tg), pseudo-operados (sham) e após 30 dias de castração.

	CETP Tg	
	sham	castrados
CETP (ensaio exógeno) (%)	30 ± 2.9 (8)	27 ± 3.8 (8)
Transferência de CE endógena (%)	44 ± 2.3 (6) <sup>a</sup>	53 ± 2.1 (7) <sup>a</sup>
LPL (nmoles/mL/h)	1120 ± 117 (8)	1203 ± 174 (7)
LH (nmoles/mL/h)	1759 ± 96 (8)	1853 ± 124 (7)
Lipólise endógena (AGL, nmoles/L/h)	0.44 ± 0.06 (5)	0.35 ± 0.03 (7)

Média ± ep (n). Teste de Mann Whitney : a) p=0.01.

Tabela 5. Remoção plasmática de LDL e HDL humanas marcadas radioativamente no seu componente protéico ( $^{125}\text{I}$  e  $^{131}\text{I}$ ) ou no colesterol éster ( $^3\text{H}$ ), em animais CETP transgênicos, castrados e sham-operados.

LP		castrados	sham	P *
$^{125}\text{I}$ -HDL (ip)	AUC	372 ± 33 (4)	435 ± 21 (5)	0.1323
$^{131}\text{I}$ -LDL (ip)	AUC	507 ± 19 (4)	500 ± 14 (4)	0.8076
$^3\text{H}$ -CE-LDL (ip)	AUC	517 ± 16 (7)	474 ± 52 (6)	0.73
$^3\text{H}$ -CE-LDL (ev)	FCR	0.259 ± 0.01 (7)	0.287 ± 0.01 (7)	0.1192
	AUC	261 ± 15 (7)	260 ± 9 (7)	0.9015
$^3\text{H}$ -CE-HDL (ev)	FCR	0.220 ± 0.01 (7)	0.213 ± 0.01 (8)	0.6599
	AUC	325 ± 10 (7)	318 ± 9 (8)	0.6126

Média ± ep (n). ip :injeção intra-peritoneal, ev: injeção endovenosa. Radioatividade máxima no plasma (uma hora após a injeção intraperitoneal ou dois minutos após a injeção endovenosa) foi normalizada para 100%. AUC: “area under curve” e FCR: “fractional catabolic rate” foram calculados do pico de radioatividade até 6 horas após a injeção. FCR obtido através do slope das curvas de decaimento de radioatividade. \* Teste de Mann Whitney

Tabela 6. Peso corporal e do fígado de camundongos R1 e CETP/R1, castrados e pseudo-operados (sham), alimentados durante 10 semanas com dieta hiperlipídica.

	R1		CETP/R1	
	sham	castrado	sham	castrado
Peso corpóreo final (g)	27 ± 3.1 <sup>a</sup>	22 ± 0.5 <sup>a</sup>	24 ± 0.3 <sup>b</sup>	22 ± 0.4 <sup>b</sup>
Fígado (% PC)	5.8 ± 0.1	6.4 ± 0.3	5.3 ± 0.1	5.1 ± 0.1

Média ± ep (n=12-16). % PC: % do peso do corpo. Letras iguais são diferentes entre si. Teste “t” de Student:  
a) p<0.001; b) p<0.01.

Tabela 7. Concentrações plasmáticas de colesterol (COL), triglicérides (TG), ácidos graxos livres (AGL) e glicose (GLIC) em camundongos R1 e CETP/R1, castrados e pseudo-operados (sham), alimentados durante 10 semanas com dieta hiperlipídica.

	R1		CETP/R1	
	sham	castrados	sham	castrados
COL (mg/dL)	222 ± 17 <sup>a c</sup>	273 ± 14 <sup>a d</sup>	145 ± 8 <sup>b c</sup>	169 ± 8 <sup>b d</sup>
TG (mg/dL)	68 ± 7	54 ± 4	72 ± 7	66 ± 6
AGL (nmol/L)	1.4 ± 0.1 <sup>e</sup>	1.1 ± 0.1 <sup>f</sup>	1.9 ± 0.2 <sup>e</sup>	1.8 ± 0.1 <sup>f</sup>
GLIC (mg/dL)	62 ± 3	65 ± 3	68 ± 3	70 ± 2

Média ± ep, (n= 11-16), expoentes iguais são diferentes entre si: Teste “t” de Student a) p=0.03, b) p=0.05, c) p<0.0004, d) p<0.0001, e) p=0.02, f) p=0.0003.



Tabela 8. Atividade da lipoproteína lipase hepática (LH) e da CETP em camundongos R1 e CETP/R1 castrados e pseudo-operados (sham), alimentados com dieta hiperlipídica.

	sham	R1 castrados	sham	CETP/R1 castrados
LH (nmoles/mL/h)	1915 ± 102	1663 ± 75	1478 ± 111	1616 ± 61
CETP (% transferência CE)			38 ± 1.9	35 ± 2.1

Média ± ep, n=5-16/grupo. CE: colesteril-éster.

Tabela 9. Distribuição do colesterol nas frações lipoprotéicas plasmáticas de camundongos R1 e CETP/R1, castrados e pseudo-operados (sham), alimentados durante 10 semanas com dieta hiperlipídica.

	R1				CETP/R1			
	sham (n=5)		castrados (n=7)		sham (n=8)		castrados (n=10)	
	mg/dL	(%)	mg/dL	(%)	mg/dL	(%)	mg/dL	(%)
VLDL+LDL	126 ± 9 <sup>a b</sup> (57)		195 ± 8 <sup>a c</sup> (71)		69 ± 4 <sup>b d</sup> (48)		94 ± 4 <sup>c d</sup> (56)	
HDL	96 ± 8	(43)	78 ± 8	(29)	75 ± 4	(52)	75 ± 4	(44)
VLDL+LDL/HDL	1.4 ± 0.2 <sup>e</sup>		2.7 ± 0.4 <sup>e f</sup>		1.0 ± 0.1		1.3 ± 0.1 <sup>f</sup>	

Média ± ep. Teste “t” de Student, expoentes iguais são diferentes entre si, a) p=0.0002, b) p<0.0001, c) p<0.0001, d) p=0.0008, e) p=0.02, f) p=0.01.

Tabela 10. Área das lesões ateroscleróticas na raiz da aorta de camundongos R1 e CETP/R1 castrados e pseudo-operados (sham), alimentados com dieta hiperlipídica.

	Área de lesão ( $\times 10^3 \mu\text{m}^2$ )	
	sham	castrados
CETP/ R1	$26 \pm 6$ (10)	$40 \pm 8$ (12) <sup>a</sup>
R1	$36 \pm 6$ (11) <sup>b</sup>	$71 \pm 13$ (10) <sup>a b</sup>

Média  $\pm$  ep, (n). Teste “t” de Student a)  $p < 0.05$  e b)  $p < 0.02$ .

Tabela 11. Peso corporal e de órgãos de camundongos não transgênicos machos, tratados com placebo (PL) e Durateston (DT).

	PL	DT
Peso corpóreo inicial (g)	27 ± 1.7	28 ± 1.1
Peso corpóreo final (g)	26 ± 1.2	26 ± 0.7
Par de adrenais (mg)	3.5 ± 0.1	4.2 ± 0.4
Tecido adiposo perigonadal (% peso do corpo)	0.3 ± 0.07	0.4 ± 0.1
Fígado (% peso do corpo)	4.1 ± 0.05	4.1 ± 0.04
Par de testículos (% peso do corpo)	0.7 ± 0.01	0.7 ± 0.05
número de animais utilizados	4	5

Média ± ep.

Tabela 12. Peso corporal e de órgãos de camundongos CETP transgênicos machos e fêmeas, tratados com placebo (PL), Androgenol (AN) e Durateston (DT).

	Machos			Fêmeas		
	PL	AN	DT	PL	AN	DT
Peso corpóreo inicial (g)	23 ± 0.4	22 ± 0.5	23 ± 0.8	20 ± 0.5	19 ± 0.4	20 ± 0.4
Peso corpóreo final (g)	24 ± 0.4	23 ± 0.3	24 ± 0.7	20 ± 0.5	19 ± 0.3	20 ± 0.2
Par de adrenais (mg)	4.7 ± 0.2	4.1 ± 0.4	3.8 ± 0.4	6.7 ± 0.3	5.4 ± 0.6	5.0 ± 0.4
Tecido adiposo perigonadal (% peso do corpo)	0.8 ± 0.1	0.7 ± 0.1	1.2 ± 0.2	1.0 ± 0.3	0.8 ± 0.1	1.1 ± 0.2
Fígado (% peso do corpo)	4.3 ± 0.1	4.3 ± 0.1	4.4 ± 0.1	4.3 ± 0.1	4.3 ± 0.1	4.4 ± 0.1
Par de testículos (% peso do corpo)	0.9 ± 0.03	0.9 ± 0.02	0.8 ± 0.01			
Par de ovários (mg)				5.9 ± 0.9	4.4 ± 0.3	4.4 ± 0.3
número de animais utilizados	6	7	8	6	7	7

Média ± ep.

Tabela 13. Concentração plasmática de lipídeos, glicose, insulina e lipoproteínas em camundongos machos CETP transgênicos (Tg) e não transgênicos (não-Tg) tratados com propilenoglicol (PL), Androgenol (AN) e Durateston (DT).

	CETP Tg			não-Tg	
	PL	AN	DT	PL	DT
COL (mg/dL)	74 ± 1.1 (6)	65 ± 1.5 (8) <sup>a</sup>	71 ± 2.9 (7)	95 ± 3.7 (4)	103 ± 7.3 (5)
AGL (nmol/L)	1.2 ± 0.1 (6)	1.3 ± 0.1 (8)	1.2 ± 0.1 (7)	1.0 ± 0.1 (4)	0.8 ± 0.1 (5)
TG (mg/dL)	72 ± 6.4 (6)	63 ± 5.0 (8)	90 ± 15 (7)	59 ± 5.0 (4)	60 ± 3.1 (5)
Glicose (mg/dL)	94 ± 7.1 (6)	98 ± 5.6 (8)	92 ± 4.8 (9)	86 ± 8.8 (4)	105 ± 9.3 (5)
Insulina (ng/dL)	0.25 ± 0.06 (5)	0.20 ± 0.04 (8)	0.30 ± 0.04 (7)		
VLDL-C (mg/dL)	3.1 ± 0.6 (4)	1.8 (1)	2.5 ± 0.3 (4)	1.9 ± 0.9 (4)	2.7 ± 0.7 (5)
LDL-C (mg/dL)	16.8 ± 1.6 (4)	13.5 (1)	17.5 ± 1.7(4)	8.1 ± 2.1 (4)	14.0 ± 0.8 (5) <sup>b</sup>
HDL-C (mg/dL)	54.0 ± 2.2 (4)	49.7 (1)	51.1 ± 2.1(4)	85 ± 2.4 (4)	86.7 ± 1.1 (5)

COL e C: colesterol, AGL: ácidos graxos livres, TG: triglicérides. Média ± ep, (n) representa o número de animais ou número de pools de amostras. Análise de variância: a) AN vs. PL, p<0.05 e , teste “t” de Student: b) p=0.03.

Tabela 14. Concentração plasmática de lipídeos, glicose, insulina e lipoproteínas em camundongos CETP transgênicos fêmeas tratadas com propilenoglicol (PL), Androgenol (AN) e Durateston (DT).

	PL	AN	DT
COL (mg/dL)	66 ± 3.1 (6)	67 ± 2.0 (7)	67 ± 1.6 (7)
AGL (nmol/L)	1.8 ± 0.1 (6)	1.3 ± 0.2 (7)	1.4 ± 0.2 (7)
TG (mg/dL)	92 ± 8.0 (6)	64 ± 13 (7)	74 ± 6.8 (7)
Glicose (mg/dL)	94 ± 5.4 (6)	94 ± 6.0 (7)	81 ± 6.6 (7)
Insulina (ng/dL)	0.30 ± 0.08 (6)	0.20 ± 0.02 (7)	0.30 ± 0.02 (7)
VLDL-C (mg/dL)	4.6 ± 0.3 (3)	4.7 ± 0.9 (3)	6.2 ± 0.5 (3)
LDL-C (mg/dL)	19.2 ± 1.1 (3)	19.6 ± 0.5 (3)	21.1 ± 2.6 (3)
HDL-C (mg/dL)	42.6 ± 1.0(3)	41.7 ± 0.7(3)	40.2 ± 2.6(3)

COL e C: colesterol, AGL: ácidos graxos livres, TG: triglicérides. Média ± ep, (n) representa o número de animais ou pool de amostras.

Tabela 15. Peso corporal e de órgãos de camundongos CETP/R1 e R1, após 3 semanas de tratamento com Mesterolone (MEST), Durateston (DT) ou placebos (goma arábica, GA e propilenoglicol, PEG) .

	R1		CETP/R1			
	MEST	GA	MEST	GA	DT	PEG
Peso final (g)	20 ±0.3	20 ±0.5	23 ± 0.4*	21 ±0.4*	25 ± 0.5	25 ± 0.4
Delta peso( g)	-2.4 ± 0.2	-1.8 ± 0.4	-2.5 ± 0.2	-2.8 ± 0.5	-3.3 ± 0.3	-3.1 ± 0.5
Tecido adiposo perigonadal (% pc)	0.5 ± 0.1	0.5± 0.1	0.5 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.6 ± 0.1	0.5 ± 0.1
Fígado (% pc)	4.1 ± 0.1	4.2 ± 0.1	4.1 ± 0.2	4.0 ± 0.1	4.3 ± 0.1	4.3 ± 0.1

Média ± ep, n=7 para grupos MEST, GA e PEG e n=15 para DT. % pc: % do peso do corpo. Teste “t” de Student : \*: p<0.01.



Tabela 16. Concentração plasmática de lipídeos e glicose em camundongos CETP/R1 e R1, após 3 semanas de tratamento com Mesterolone (MEST), Durateston (DT) ou placebos (goma arábica, GA e propilenoglicol, PEG) .

	R1		CETP/R1			
	MEST	GA	MEST	GA	DT	PEG
COL (mg/dL)	110 ± 6.0	104 ± 5.7	100 ± 4.8 <sup>a</sup>	86 ± 3.1 <sup>a</sup>	97 ± 3.9 <sup>b</sup>	85 ± 3.4 <sup>b</sup>
AGL (nmol/L)	1.5 ± 0.1	1.3 ± 0.1	1.6 ± 0.1	1.6 ± 0.1	1.3 ± 0.1	1.1 ± 0.1
TG (mg/dL)	92 ± 8.4	77 ± 8.0	69 ± 2.2	65 ± 4.7	78 ± 6.5 <sup>c</sup>	57 ± 2.7 <sup>c</sup>
Glicose (mg/dL)	60 ± 3.6	64 ± 2.5	67 ± 2.1	69 ± 2.9	66 ± 2.4	72 ± 4.0

COL: Colesterol, AGL:ácidos graxos livres, TG, Triglicérides. Resultados são expressos como média ± ep, n=7 para grupos MEST, GA e PEG e n=15 para DT. Letras iguais são diferentes entre si. Teste “t”de Student : a) p= 0.03 , b) p=0.04 e c) p =0.01.

Tabela 17. Perfil de colesterol das lipoproteínas em camundongos CETP/R1 e R1, após 3 semanas de tratamento com Mesterolone (MEST), Durateston (DT) ou placebos (goma arábica, GA e propilenoglicol, PEG) .

	R1		CETP/R1			
	MEST	GA	MEST	GA	DT	PEG
(n)	(4)	(3)	(6)	(3)	(7)	(7)
VLDL-COL	2.6 ± 0.2	2.2 ± 0.2	2.6 ± 0.4	2.7 ± 0.9	1.2 ± 0.1	0.7 ± 0.1
LDL-COL	21.4 ± 0.7	19.0 ± 4.5	26.8 ± 3.4 <sup>a</sup>	14.8 ± 1.6 <sup>a</sup>	30.0 ± 1.5 <sup>c</sup>	20.4 ± 1.6 <sup>c</sup>
HDL-COL	91.0 ± 6.5	74.6 ± 2.9	77.1 ± 5.5 <sup>b</sup>	59.0 ± 3.2 <sup>b</sup>	66.1 ± 2.5 <sup>d</sup>	57.3 ± 1.8 <sup>d</sup>
VLDL+LDL/HDL	0.26 ± 0.01	0.28 ± 0.05	0.38 ± 0.05	0.31 ± 0.05	0.48 ± 0.02 <sup>e</sup>	0.37 ± 0.02 <sup>e</sup>

Resultados são expressos como média ± ep (mg/dL). Nos grupos MEST e GA o n representa pool de amostras dos animais e nos grupos DT e PEG o n representa amostras individuais. Letras iguais são diferentes entre si. Mann Whitney: a) p= 0.03 e b) p=0.05. Teste “t” de Student c) p=0.0003, d) p=0.01 e e) p=0.002.

Tabela 18 . Atividades da CETP, lipase lipoprotéica (LPL) , lipase hepática (LH) e lipólise endógena em camundongos CETP/R1 e R1 após 3 semanas de tratamento com Mesterolona (MEST), Durateston (DT) ou placebos (goma arábica, GA e propilenoglicol, PEG).

	R1		CETP/R1		CETP/R1	
	MEST	GA	MEST	GA	DT	PEG
CETP (% CE transfer)			27 ± 3.0	24 ± 2.0	31 ± 1.6 <sup>a</sup>	25 ± 1.2 <sup>a</sup>
LH (nmoles/mL/h)	1203 ± 41	1210 ± 46	1345 ± 49	1191 ± 42	835 ± 112 <sup>b</sup>	1370 ± 113 <sup>b</sup>
LPL (nmoles/mL/h)					520 ± 108	404 ± 91
Lipólise endógena (AGL, nmol/L/h)					0.41 ± 0.01	0.44 ± 0.02

CE: colesterol éster. Resultados expressos como média ± ep (n=7-8). Teste "t" de Student :  
a) p=0.009 b) p=0.005.

Tabela 19: Distribuição de  $^{14}\text{CCE}$  da HDL nas frações de lipoproteínas plasmáticas 6 horas após injeção de  $^{14}\text{CCE}$  HDL em camundongos transgênicos CETP/R1 tratados com Durateston (DT) ou placebo (PL).

	%		
	DT	PL	P*
VLDL	$3.0 \pm 0.4$	$1.7 \pm 0.3$	0.0505
LDL	$35.0 \pm 1.3$	$30.0 \pm 1.9$	0.0597
HDL	$62.3 \pm 1.6$	$68.3 \pm 1.8$	0.033
V+LDL	$37.7 \pm 1.6$	$31.7 \pm 1.8$	0.033

Dados apresentados como média  $\pm$  ep. (n=5-6). \* Teste “t” de Student. Valores obtidos a partir da área sob os picos de cada lipoproteína após fracionamento do plasma por FPLC (cpm em cada fração).

Tabela 20 . Peso corporal e de órgãos de camundongos CETP/R1 e R1, após 3 semanas de tratamento com Mesterolona (MEST) ou placebo (goma arábica).

	n	R1		CETP/R1	
		MEST	placebo	MEST	placebo
Peso corpóreo inicial (g)	12	23.8 ± 0.6	23.7 ± 0.9	25.4 ± 0.3	24.8 ± 2.1
Peso corpóreo final (g)	12	21.0 ± 0.4	21.4 ± 0.7	22.9 ± 0.3	21.8 ± 0.5
Delta do peso corpóreo(g)	12	-2.8 ± 0.2	-2.2 ± 0.4	-2.5 ± 0.7	-3.0 ± 0.3
Par de adrenais (mg)	4	2.4 ± 0.9	3.1 ± 0.4	4.1 ± 0.3	5.2 ± 0.9
Par de testículos (% pc)	4	0.86 ± 0.05	0.82 ± 0.06	0.79 ± 0.08	0.87 ± 0.05
Fígado (% pc)	12	4.1 ± 0.06	4.1 ± 0.08	4.1 ± 0.1	4.0 ± 0.08
Coração (% pc)	4	0.55 ± 0.04	0.49 ± 0.02	0.54 ± 0.02	0.48 ± 0.02

% pc: porcentagem do peso do corpo. Resultados são expressos como média ± ep.

Tabela 21. Concentração plasmática de lipídeos e glicose em camundongos CETP/R1 e R1, após 3 semanas de tratamento com Mesterolona (MEST) ou placebo (goma arábica).

	R1		CETP/R1	
	MEST	placebo	MEST	placebo
COL (mg/dL)	109 ± 4.3	101 ± 4.5 <sup>b</sup>	98 ± 3.9 <sup>a</sup>	81 ± 3.0 <sup>a b</sup>
AGL (nmol/L)	1.4 ± 0.1	1.3 ± 0.1	1.5 ± 0.1	1.4 ± 0.1
TG (mg/dL)	80 ± 8.5	75 ± 6.5	67 ± 2.4	63 ± 3.8
Glicose (mg/dL)	60 ± 3.6	64 ± 2.5	67 ± 2.1	69 ± 2.9

COL: Colesterol, AGL:ácidos graxos livres, TG, Triglicérides. Resultados são expressos como média ± ep, n =12. Letras iguais são diferentes entre si. Mann Whitney a) p= 0.002 e b) p= 0.0003.

Tabela 22. Perfil de colesterol das lipoproteínas plasmáticas em camundongos CETP/R1 e R1, após 3 semanas de tratamento com Mesterolona (MEST) ou placebo (goma arábica).

	R1		CETP/R1	
	MEST	placebo	MEST	placebo
VLDL-COL	2.3 ± 0.4	1.7 ± 0.3	2.2 ± 0.3	1.8 ± 0.4
LDL-COL	22 ± 0.9 <sup>a</sup>	20 ± 2.8	26 ± 2.0 <sup>a b</sup>	19 ± 1.9 <sup>b</sup>
HDL-COL	86 ± 3.9 <sup>c d</sup>	72 ± 1.7 <sup>c e</sup>	73 ± 3.9 <sup>f d</sup>	56 ± 2.9 <sup>f e</sup>
Non-HDL	24 ± 0.9 <sup>g</sup>	22 ± 2.8	28 ± 2.2 <sup>g h</sup>	21 ± 1.8 <sup>h</sup>
V+LDL/HDL	0.29 ± 0.01 <sup>i</sup>	0.30 ± 0.04	0.38 ± 0.02 <sup>i</sup>	0.36 ± 0.03
n	8	6	10	8

Resultados são expressos como média ± ep. Letras iguais são diferentes entre si. Mann Whitney  
a) p= 0.02, b) p=0.03, c) p=0.008, d) p=0.01, e) p=0.0007, f) p=0.03, g) p=0.04, h) p=0.03  
e i) p=0,02.

Tabela 23. Atividades da CETP e lipase hepática (LH) em camundongos CETP/R1 e R1 após 3 semanas de tratamento com Mesterolona (MEST) ou placebo (goma arábica).

	R1		CETP/R1	
	MEST	GA	MEST	GA
CETP (% CE transfer)			28 ± 2.1	26 ± 1.9
LH (nmoles/mL/h)	1203 ± 41	1210 ± 46	1345 ± 49	1191 ± 42
n	8	6	15	9

CE: colesteril éster. Resultados expressos como média ± ep.



Tabela 24. Peso corporal e de órgãos de camundongos CETP/R1 e R1 após 3 semanas de tratamento com Mesterolona (MEST) ou placebo (goma arábica) e 6 semanas de treinamento de natação.

	n	R1		CETP/R1	
		MEST	placebo	MEST	placebo
Peso corpóreo inicial (g)	12	28.0 ± 0.8	28.0 ± 0.7	27.8 ± 0.9	28.1 ± 1.0
Peso corpóreo final (g)	12	24.1 ± 0.8	24.8 ± 0.5	23.6 ± 0.9	24.2 ± 0.9
Delta do peso corpóreo(g)	12	-4.0 ± 0.3	-3.3 ± 0.4	-4.2 ± 0.7	-3.7 ± 0.5
Par de adrenais (mg)	10	5.1 ± 0.4	5.2 ± 0.4	4.9 ± 0.4	4.6 ± 0.3
Par de testículos (% pc)	10	0.94 ± 0.02	0.92 ± 0.10	0.95 ± 0.04	0.94 ± 0.04
Fígado (% pc)	12	4.3 ± 0.1	4.4 ± 0.3	4.4 ± 0.1	4.2 ± 0.1
Coração (% pc)	12	0.68 ± 0.03	0.65 ± 0.02	0.66 ± 0.03	0.64 ± 0.04

% pc: porcentagem do peso do corpo. Resultados são expressos como média ± ep.

Tabela 25. Concentração plasmática de lipídeos e glicose em camundongos CETP/R1 e R1, após 3 semanas de tratamento com Mesterolona (MEST) ou placebo (goma arábica) e 6 semanas de treinamento de natação.

	R1		CETP/R1	
	MEST	placebo	MEST	placebo
COL (mg/dL)	115 ± 5.1	122 ± 4.3	114 ± 4.5	120 ± 6.2
AGL (nmol/L)	1.2 ± 0.1	1.1 ± 0.1	1.0 ± 0.1	1.2 ± 0.1
TG (mg/dL)	51 ± 1.7	52 ± 2.1	50 ± 2.8	52 ± 2.4
Glicose (mg/dL)	71 ± 5.1	69 ± 4.5	68 ± 5.7	68 ± 6.0

COL: Colesterol, AGL: ácidos graxos livres, TG, Triglicérides. Resultados são expressos como média ± ep, n =12.

Tabela 26. Perfil de colesterol das lipoproteínas em camundongos CETP/R1 e R1, após 3 semanas de tratamento com Mesterolona (MEST) ou placebo (goma arábica) e 6 semanas de treinamento de natação.

	R1		CETP/R1	
	MEST	placebo	MEST	placebo
VLDL-COL	2.7 ± 0.5	1.6 ± 0.3	3.2 ± 0.5	2.7 ± 0.4
LDL-COL	23 ± 2.9	25 ± 1.8	30 ± 2.1	35 ± 3.6
HDL-COL	86 ± 3.7 <sup>a</sup>	105 ± 4.4 <sup>a,b</sup>	83 ± 3.2	91 ± 4.9 <sup>b</sup>
Non-HDL	28 ± 3.3	27 ± 1.9 <sup>c</sup>	33 ± 2.0	38 ± 3.7 <sup>c</sup>
V+LDL/HDL	0.32 ± 0.03 <sup>d</sup>	0.27 ± 0.02 <sup>e</sup>	0.41 ± 0.03 <sup>d</sup>	0.42 ± 0.03 <sup>e</sup>
n	8	6	10	9

Resultados são expressos como média ± ep. Letras iguais são diferentes entre si. Mann Whitney: a) p= 0.008, b) p=0.03, c) p=0.05 e e) p=0.005. Teste “t” d) p=0.06.

Tabela 27. Atividades da CETP e lipase hepática (LH) em camundongos CETP/R1 e R1, após 3 semanas de tratamento com Mesterolona (MEST) ou placebo (goma arábica) e 6 semanas de treinamento de natação.

	R1		CETP/R1	
	MEST	GA	MEST	GA
CETP (% CE transfer)			21 ± 1.9	22 ± 1.6
LH (nmoles/mL/h)	1219 ± 103	1409 ± 107	1282 ± 32	1239 ± 66
n	3	4	5	4

CE: colesterol éster. Resultados expressos como média ± ep.

## ***IX. FIGURAS***

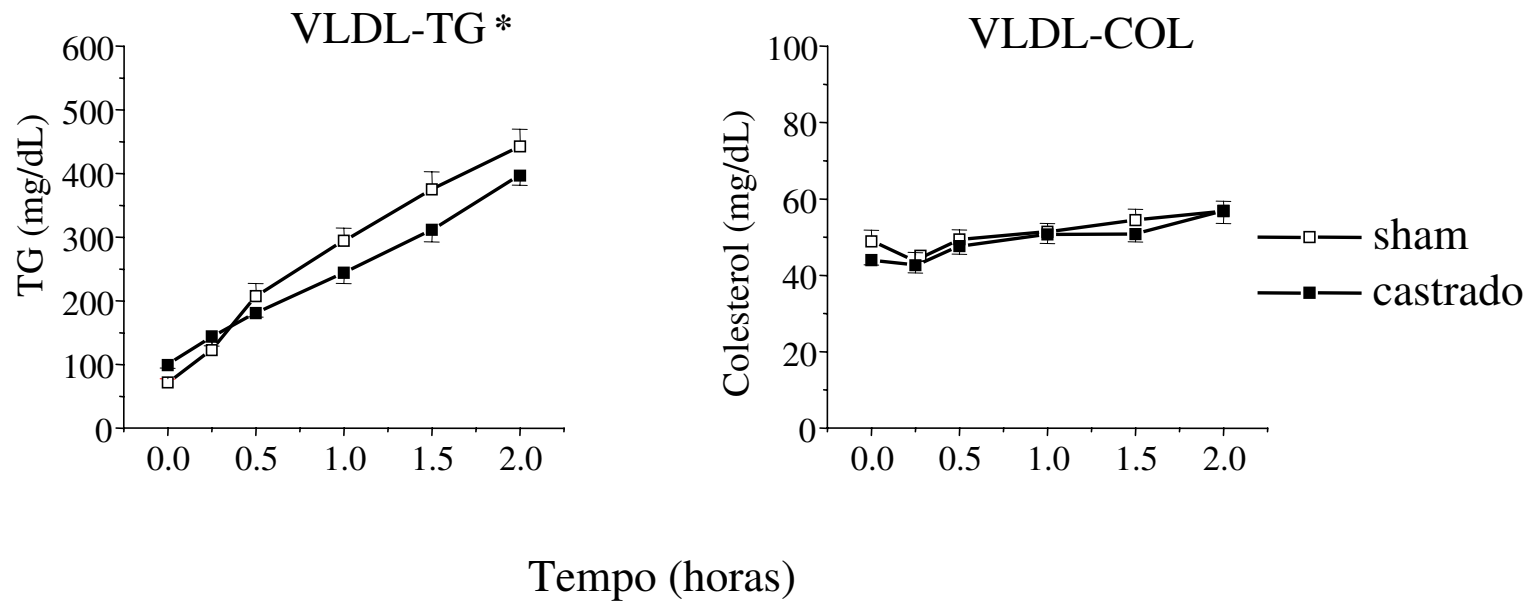


Fig. 2- Secreção hepática de VLDL em camundongos CETP transgênicos castrados e pseudo-operados (sham). Média  $\pm$  ep (n=6-7). \* Inclinação da curva da trigliceridemia:  $185.9 \pm 12.5$  e  $144.1 \pm 6.0$  mg/dL/h para sham e castrados, respectivamente (p= 0.02, teste de Mann Whitney). Inclinação da curva da colesterolemia:  $6.9 \pm 1.2$  e  $7.3 \pm 1.7$  mg/dL/h para sham e castrados, respectivamente.

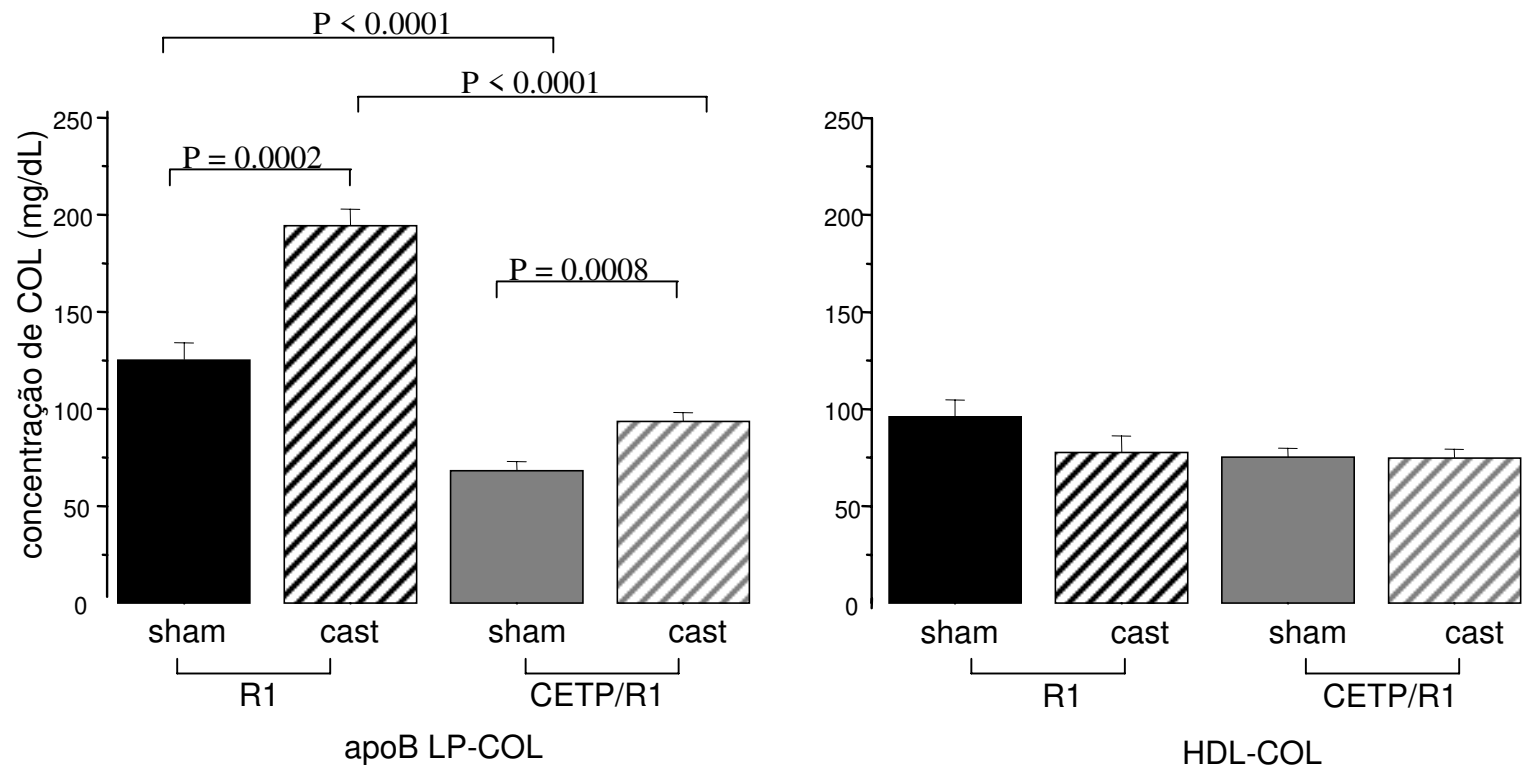


Figura 3. Distribuição de colesterol nas lipoproteínas de camundongos R1 e CETP/R1 castrados e pseudo-operados (sham) alimentados com dieta hiperlipídica por 10 semanas. Teste “t” de Student.

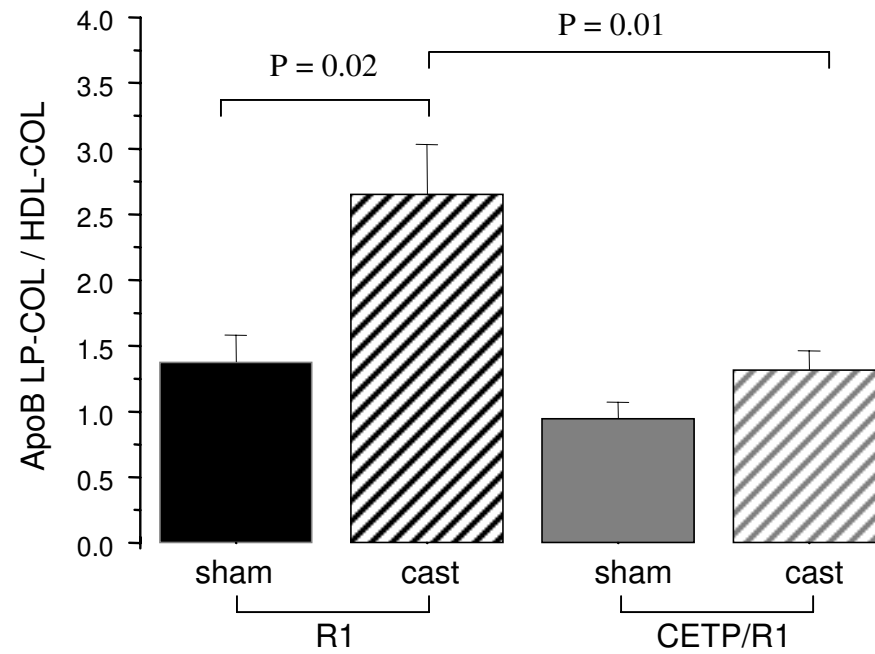


Figura 4. Razão apoB-LP/HDL em camundongos R1 e CETP/R1 castrados e pseudo-operados (sham) alimentados com dieta hiperlipídica por 10 semanas. Teste “t” de Student.



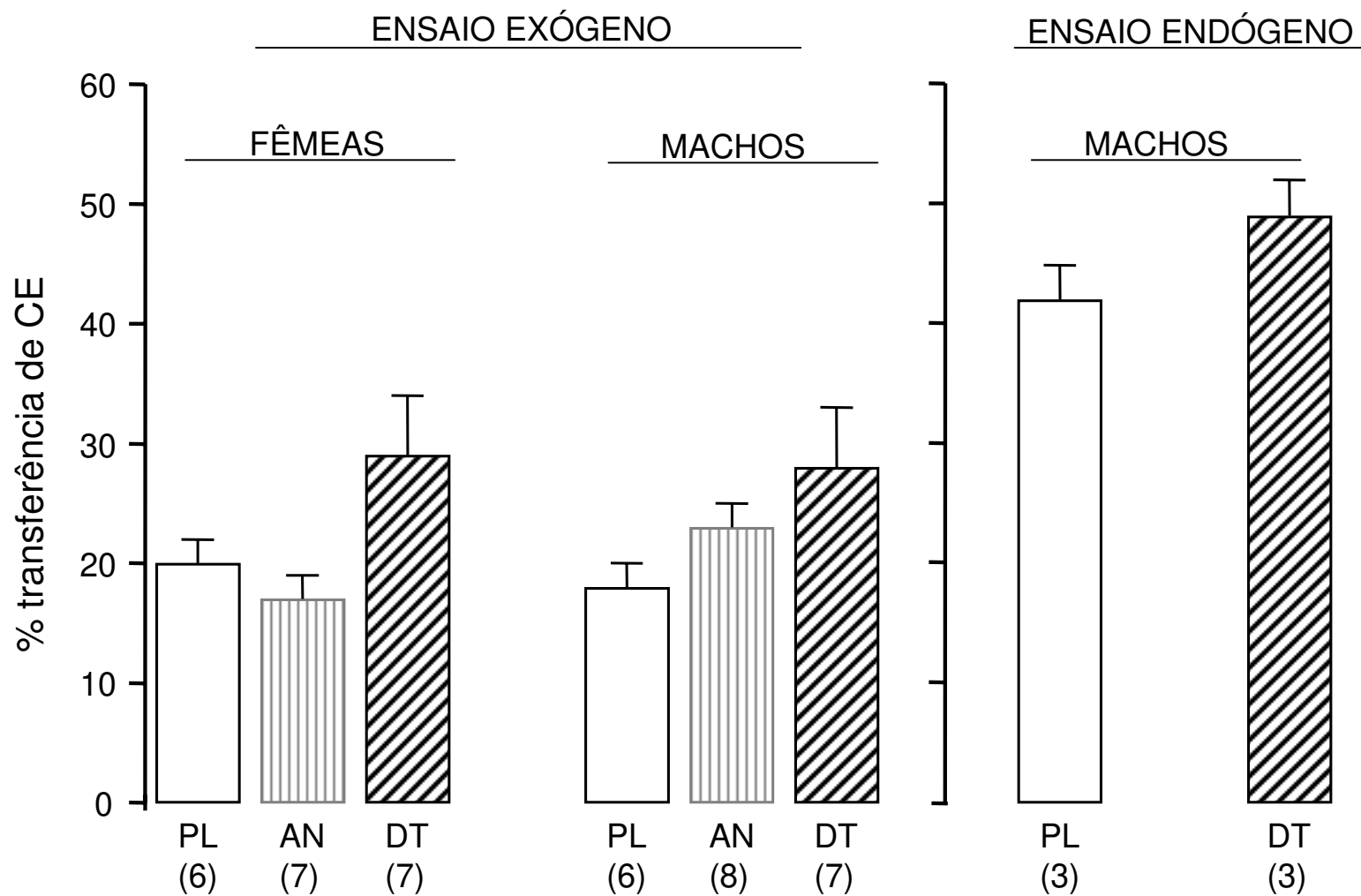


Figura 5. Atividade plasmática da CETP determinada por ensaio com substrato exógenos e endógenos, em camundongos CETP machos e fêmeas tratados com Androgenol (AN), Durateston (DT) e placebo (Propilenoglicol, PL).

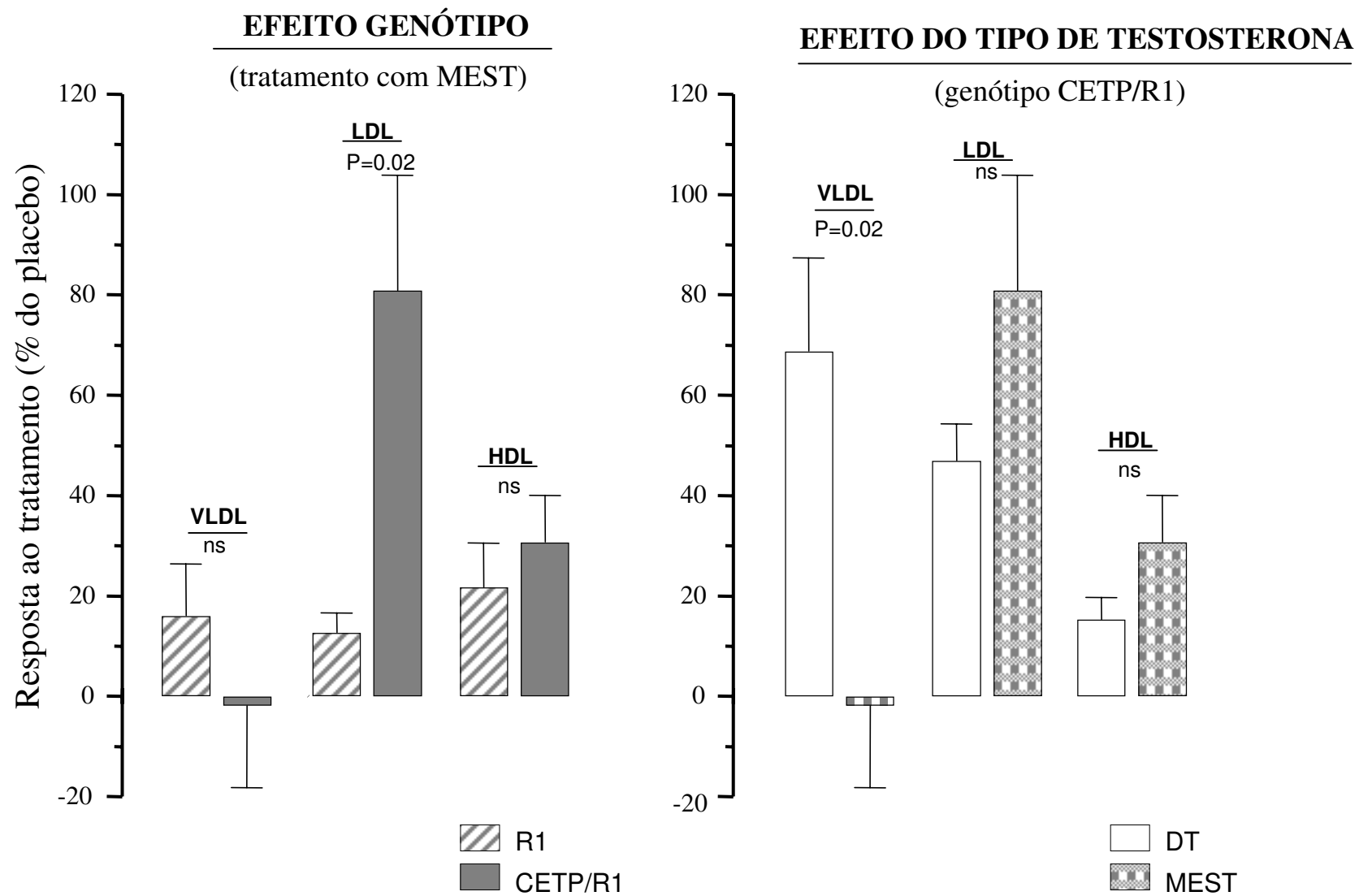


Figura 6. Resposta aos tratamentos com Durateston (DT) e Mesterolona (MEST) (% do placebo). Painel da esquerda: CETP/R1 vs. R1 tratados com MEST. Painel da direita: CETP/R1 tratados com MEST ou DT.

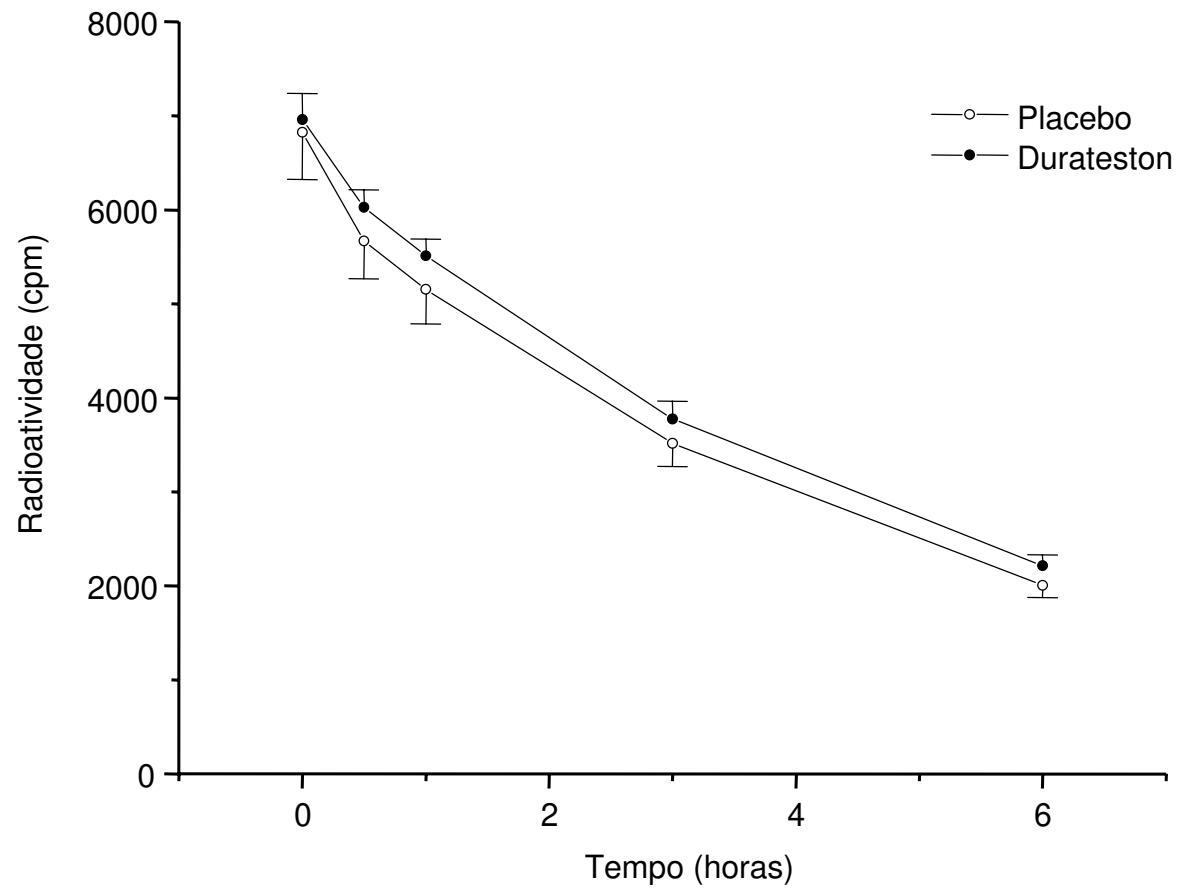


Figura 7. Remoção plasmática de HDL humana marcada radioativamente no seu componente colesterol éster ( $^{14}\text{C}$ ) injetada EV em camundongos CETP/R1 transgênicos tratados com Durateston (DT) ou placebo (PL). Média  $\pm$  ep (n=11-12). Área sob a curva:  $9723 \pm 129$  e  $10585 \pm 510$  para DT e PL, respectivamente. Taxa fracional de remoção (slope):  $-0.21 \pm 0.01$  e  $-0.21 \pm 0.01$  para DT e PL, respectivamente.

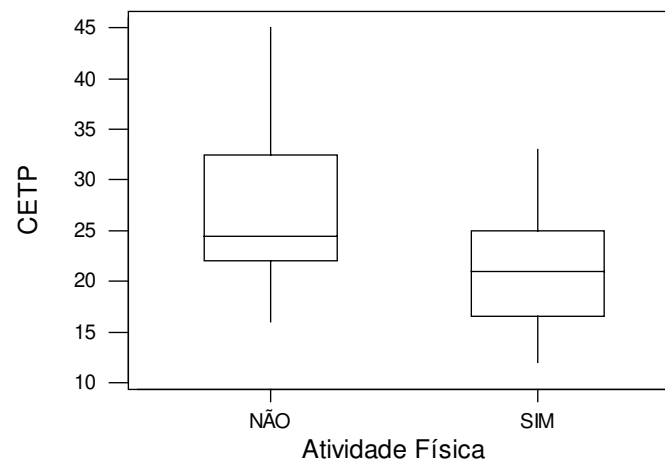
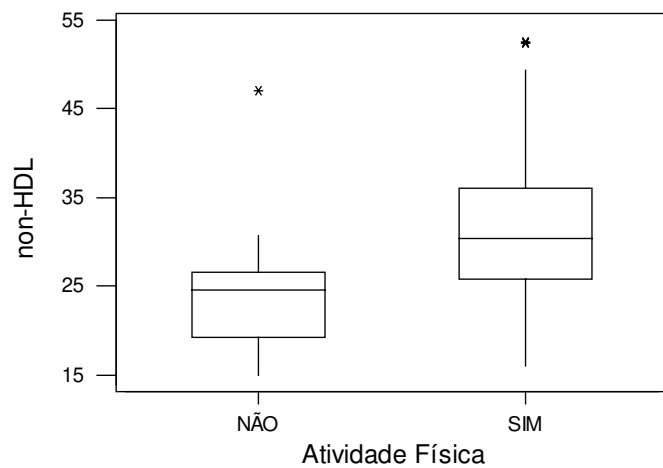
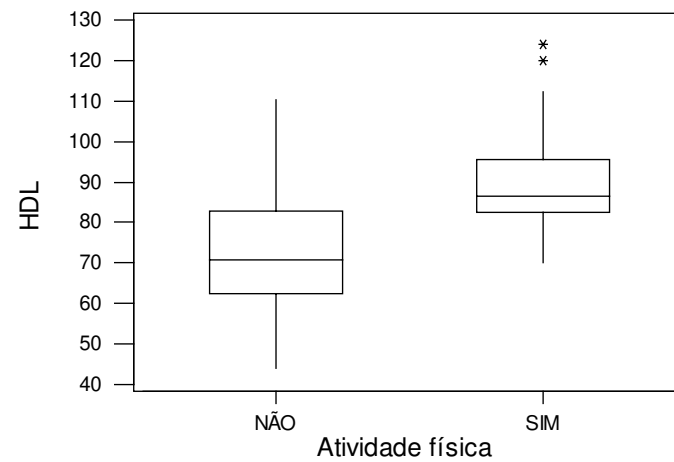
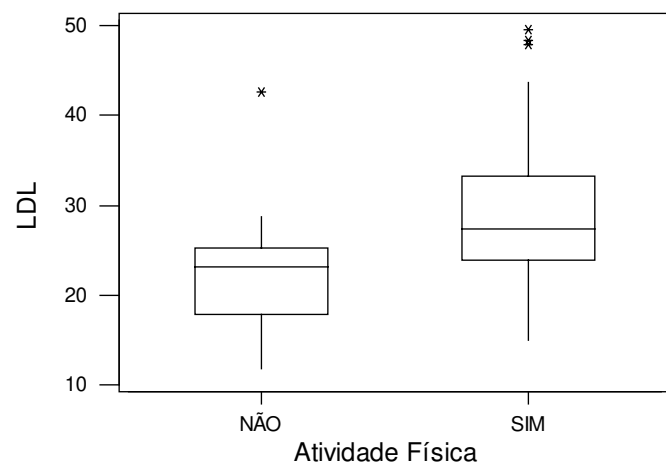


Figura 8. Efeitos independentes da Atividade física sobre LDL-COL, não-HDL (V+LDL), HDL-COL e atividade da CETP.

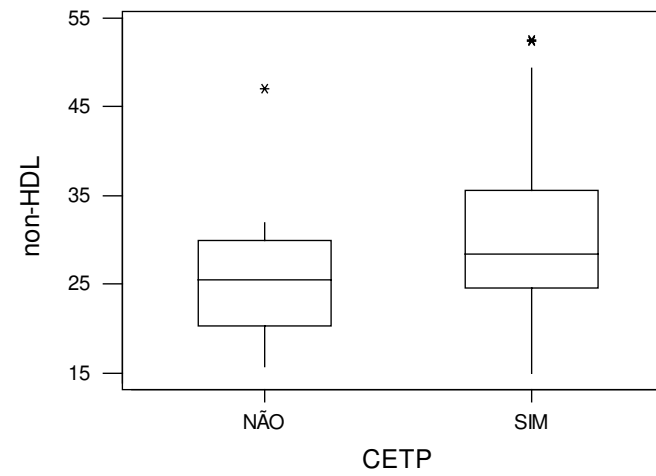
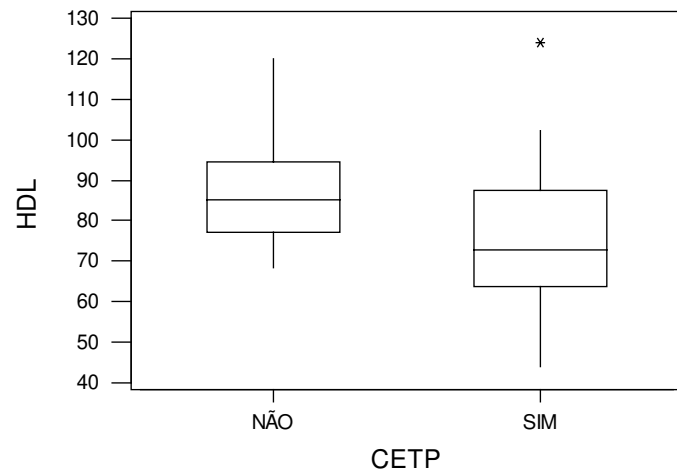


Figura 9. Efeitos independentes da CETP sobre HDL-COL e não-HDL (V+LDL).

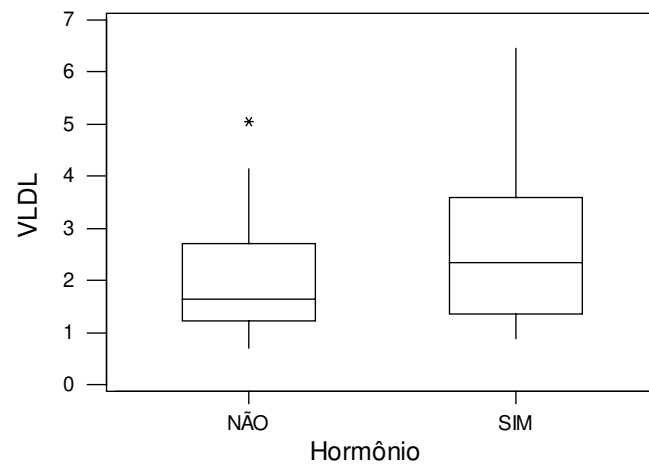


Figura 10. Efeitos independentes da Mesterolona sobre VLDL-COL.

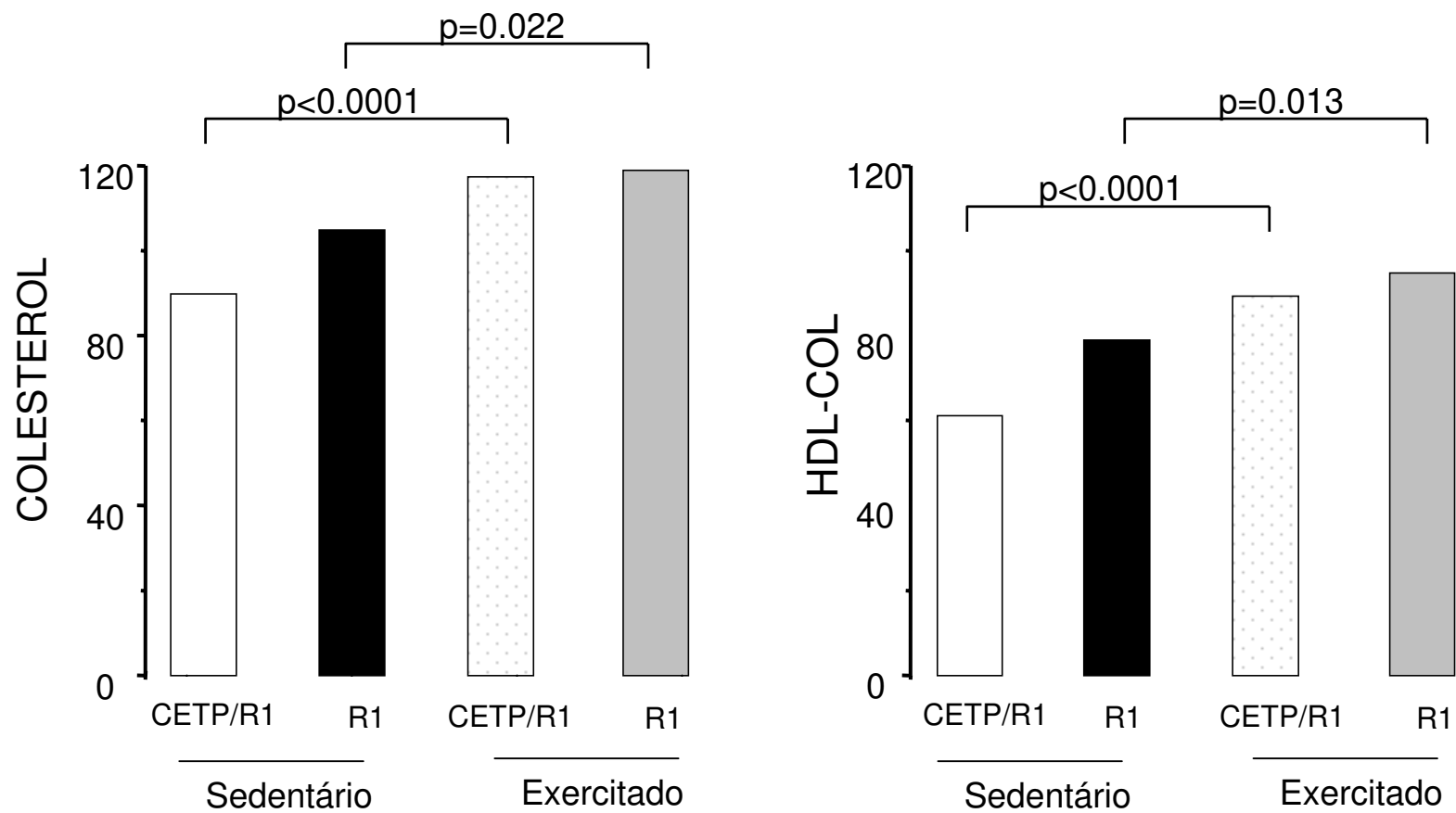


Figura 11. Interação entre atividade física e expressão da CETP sobre o colesterol total e HDL-COL.

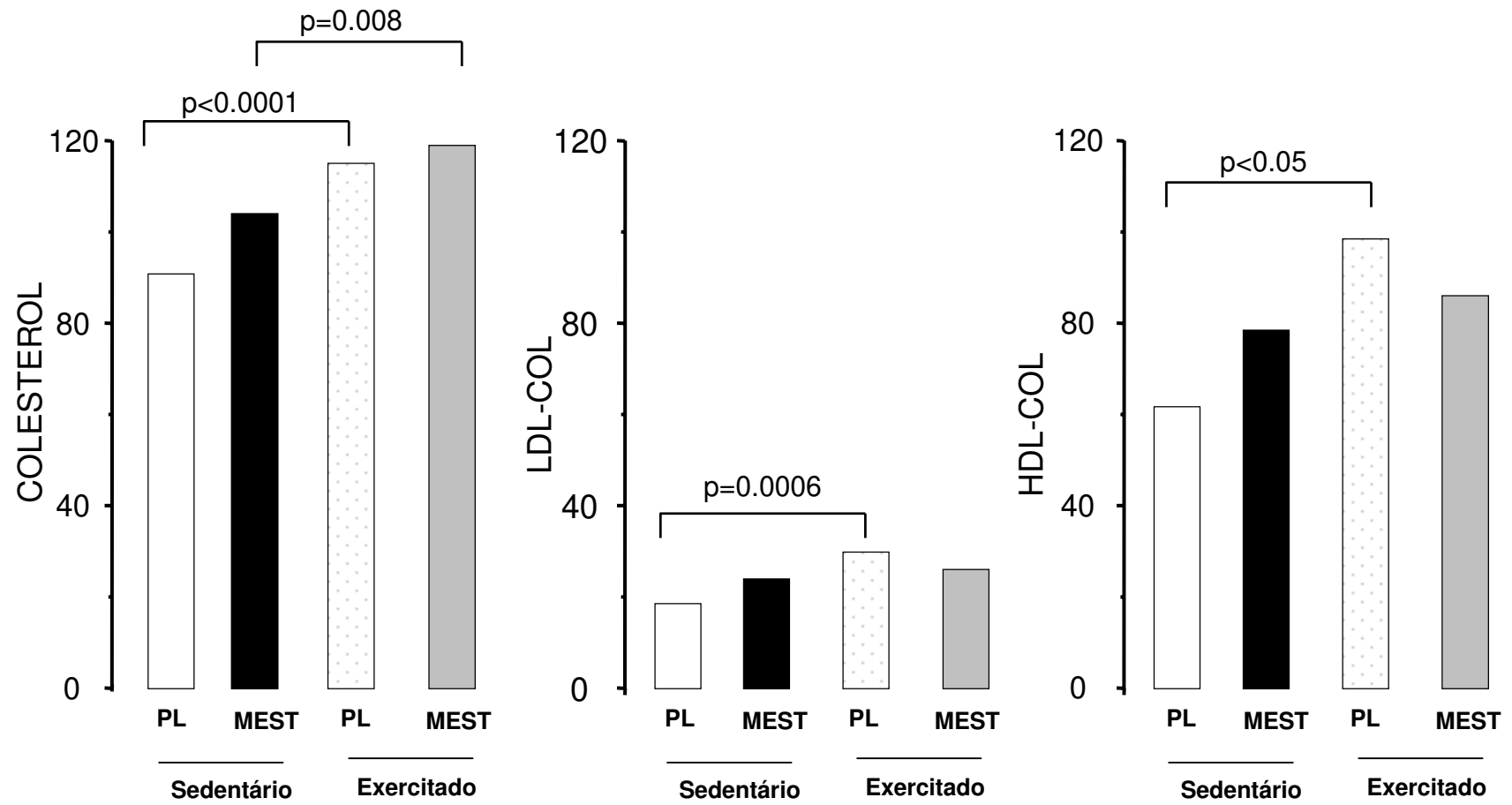


Figura 12. Interação entre atividade física e Mesterolona sobre o colesterol total, LDL-COL e HDL-COL.



## ***X. ANEXO***

*ANEXO 1:*

*Compilação da literatura sobre os efeitos de androgênios em lipídeos e lipoproteínas plasmáticas.*

Lista de abreviaturas

Quadro 1. Efeitos dos androgênios em mulheres

Quadro 2. Efeitos dos androgênios em homens

Quadro 3. Efeitos dos androgênios em homens hipogonádicos

Quadro 4. Efeitos dos androgênios em homens exercitados

Quadro 5. Efeitos dos androgênios em animais

Quadro 6. Proteínas e enzimas que atuam no transporte reverso de colesterol.

---

## *Lista de abreviaturas das tabelas de compilação da literatura*

---

### **Androgênios metabolizáveis**

---

T	testosterona
TU	testosterona undecanoato
TE	testosterona enantato
TP	testosterona propionato
DHEA	diidroepiandrosterona
Androstenediona	androgênio da adrenal
Androstenediol	androgênio da adrenal

---

### **Androgênios não metabolizáveis**

---

MET	metiltestosterone
DHT	diidrotestosterona
7-oxo-DHEA	metabólito de DHEA que não é convertido em T ou E2
Oxandrolona	androgênio 17 $\alpha$ -alquilado
STZ	stanozolol
DN	decanoato de nandrolona
Danozol	androgênio muito utilizado no tratamento para endometriose

---

### **Outros medicamentos associados**

---

GnRH	hormônio liberador das gonadotrofinas
Nal-Glu	antagonista GnRH
TL	testolactone: inibidor da aromatase
Iarom	inibidor da aromatase
E2	estradiol

---

### **Termos gerais**

---

AAS	esteróides anabólicos androgênicos (mistura de androgênios metabolizáveis e não metabolizáveis)
HiperTG	hipertrigliceridêmico
HG:	hipogonádicos
PM	pós-menopausa
PMC	pós-menopausa cirúrgica
TX	Transexuais (mulher para homem, após teste psicodiagnóstico)
M	macho
F	fêmea
OVX	ovariectomizado
KO	knockout

---

**Quadro 1. Efeitos dos androgênios em mulheres**

Parâmetro	mulheres	Tipo de testosterona	Duração meses	Dose semana	Efeito	Referência
<b>COL</b>	Mulheres (PM)	STZ (v.o.)	1,5	42 mg	=	Taggart et al., 1982
	Mulheres (PM) e homens	STZ (v.o.)	0,33	42 mg	=	Applebaum-Bowden et al., 1987
	Mulheres e homens	Nandrolona (i.m.)	1,5	100 mg	=	Glazer & Suchman 1994
	Mulheres (TX) e homens (HG)	TU (v.o.)	6	1120 mg	=	Asscheman et al., 1994
	Mulheres (jovens)	T (dérmico)	24	4,2 mg	=	Buckler e al., 1997
	Mulheres (PMC)	E2 (v.o.) + T (dérmico)	3	2100 mg	=	Simon et al., 2001
	Mulheres (PMC)	MET+ E2 (o.v.)	2,5	17,5 + 8,75 mg	↓	Chiuvé et al., 2004
<b>TG</b>	Mulheres (pós-menopausa)	STZ (v.o.)	1,5	42 mg	=	Taggart et al., 1982
	mulheres (endometriose)	Danazol (v.o.)	6	4200 mg	↑	Fahraeus et al., 1984
	Mulheres (PM) e homens	STZ (v.o.)	0,33	42 mg	=	Applebaum-Bowden et al., 1987
	Mulheres e homens	Nandrolona (i.m.)	1,5	100 mg	=	Glazer & Suchman 1994
	Mulheres (TX) e homens (HG)	TU (v.o.)	6	1120 mg	=	Asscheman et al., 1994
	Mulheres (jovens)	T (dérmico)	24	4,2 mg	=	Buckler e al., 1997
	Mulheres (PMC)	E2 (v.o.) + T (dérmico)	3	2100 mg	=	Simon et al., 2001
	Mulheres (PMC)	MET+ E2 (o.v.)	2,5	17,5 + 8,75 mg	↓	Chiuvé et al., 2004
<b>GLICOSE</b>	Mulheres (PMC)	E2 (v.o.) + T (dérmico)	3	2100 mg	=	Simon et al., 2001
<b>VLDL-C</b>	Mulheres (jovens)	T (dérmico)	24	4,2 mg	↑	Buckler e al., 1997
<b>LDL-C</b>	Mulheres (PM)	STZ (v.o.)	1,5	42 mg	↑	Taggart et al., 1982
	Mulher (endometriose)	Danazol (v.o.)	6	4200 mg	↑	Fahraeus et al., 1984
	Mulheres (PM) e homens	STZ (v.o.)	0,33	42 mg	↑	Applebaum-Bowden et al., 1987
	Mulheres e homens	Nandrolona (i.m.)	1,5	100 mg	=	Glazer & Suchman 1994
	Mulheres (TX) e homens (HG)	TU (v.o.)	6	1120 mg	=	Asscheman et al., 1994
	Mulheres (jovens)	T (dérmico)	24	4,2 mg	=	Buckler e al., 1997
	Mulheres (PMC)	E2 (v.o.) + T (dérmico)	3	2100 mg	=	Simon et al., 2001
<b>HDL-C</b>	Mulheres (PM)	STZ (v.o.)	1,5	42 mg	↓	Taggart et al., 1982
	Mulher (endometriose)	Danazol (v.o.)	6	4200 mg	↓	Fahraeus et al., 1984
	Mulheres (PM) e homens	STZ (v.o.)	0,33	42 mg	↓	Applebaum-Bowden et al., 1987
	Mulheres e homens	Nandrolona (i.m.)	1,5	100 mg	=	Glazer & Suchman 1994
	Mulheres (TX) e homens (HP)	TU (v.o.)	6	1120 mg	↓	Asscheman et al., 1994
	Mulheres (jovens)	T (dérmico)	24	4,2 mg	↓	Buckler e al., 1997
	Mulheres (PMC)	E2 (v.o.) + T (dérmico)	3	2100 mg	=	Simon et al., 2001
	Mulheres (PMC)	MET+E2 (v.o.)	2,5	17,5 + 8,75 mg	↓	Chiuvé et al., 2004
<b>apoB</b>	Mulher (PM/osteoporose)	STZ (v.o.)	1,5	42 mg	=	Albers et al., 1984
	Mulheres (TX) e homens (HG)	TU (v.o.)	6	1120 mg	=	Asscheman et al., 1994
	Mulheres (jovens)	T (dérmico)	24	4,2 mg	=	Buckler e al., 1997
	Mulheres (PMC)	MET+ E2 (v.o.)	2,5	17,5 + 8,75 mg	=	Chiuvé et al., 2004
<b>apoA-I</b>	Mulheres (PM)	STZ (v.o.)	1,5	42 mg	↓	Taggart et al., 1982
	Mulheres (TX) e homens (HG)	TU (v.o.)	6	1120 mg	↓	Asscheman et al., 1994
	Mulheres (jovens)	T (dérmico)	24	4,2 mg	↓	Buckler e al., 1997
<b>apoCIII</b>	Mulheres (PMC)	MET+ E2 (v.o.)	1,5	17,5+ 8,75 mg	↓	Chiuvé et al., 2004

**Quadro 2. Efeitos dos androgênios em homens**

Parâmetro	Homens	Tipo de testosterona	Duração meses	Dose semana	Efeito	Referência
<b>COL</b>	Homens (idosos)	DHT (dérmico)	3	1750 mg	↓	Vermeulen & Deslypere 1985
	Homens (20-33 anos)	TE (i.m.)	3	280 mg	=	Friedl et al, 1990
	Homens (20-33 anos)	TE+TL (i.m.)	3	280 mg	=	Friedl et al, 1990
	Homens (20-33 anos)	MET (v.o.)	3	280 mg	=	Friedl et al, 1990
	Homens (19-42 anos)	TE (i.m.)	5	200 mg	↓	Bagatell et al., 1994
	Homens (21-42 anos)	TE (i.m.)	12	200 mg	=	Anderson et al., 1995
	Homens (18-77 anos)	TE (i.m.)	24	100 mg	↓	Zgliczynski et al., 1996
	Homens (53-89 anos)	TU (v.o.)	2	840 mg	↓	Uyanik et al., 1997
	Homens (30-56 anos)	androstenedione (v.o.)	0,93	2100 mg	=	Brown et al., 2000
	Homens (27-72 anos)	7-oxo-DHEA (dérmico)	0,16	175 mg	↓	Sulcova et al., 2001
	Homens (62-78 anos)	DHT (dérmico)	1	490 mg	↓	Ly et al., 2001
	Homens (67-79 anos)	T (dérmico)	36	42 mg	=	Snyder et al., 2001
	Homens (18-35 anos)	TE (i.m.)+ GnRH (i.m.)	5	4200 mg	=	Singh et al., 2002
	Homens (65-87 anos)	T (dérmico)	24	14-17,5mg	=	Kenny et al., 2002
	Homens obesos (60-80 anos)	TE (im)	0,75	600 mg	=	Herbst et al., 2003
Homens (27-67 anos)	DHEA (v.o.)	3	350 mg	=	Jedrzejuk et al., 2003	
Homens (60-87 anos)	Oxandrolona (v.o.)	3	140 mg	=	Schroeder et al., 2004	
<b>TG</b>	Meninos	TE (i.m.)	24	250 mg	↓	Hinkel et al., 1985
	Homens (20-33 anos)	TE (i.m.)	3	280 mg	=	Friedl et al, 1990
	Homens (20-33 anos)	TE+TL (i.m.)	3	280-250 mg	=	Friedl et al, 1990
	Homens (20-33 anos)	MET (v.o.)	3	280 mg	=	Friedl et al, 1990
	Homens (20-40 anos)	Nal-Glu +TE+Iarom	1,5	100mg	=	Bagatell et al., 1994
	homens (19-42 anos)	TE (i.m.)	5	200 mg	=	Bagatell et al., 1994
	homens (21-42 anos)	TE (i.m.)	12	200 mg	=	Anderson et al., 1995
	Homens (19-40 anos)	TE (i.m.)	2,5	600 mg	=	Bhasin et al., 1996
	Homens (53-89 anos)	TU (v.o.)	2	840 mg	=	Uyanik et al., 1997
	Homens (29-72 anos)	DHEA (dérmico)	0,16	350 mg	=	Sulcova et al., 2000
	Homens (67-79 anos)	T (dérmico)	36	42 mg	=	Snyder et al., 2001
	Homens (62-78 anos)	DHT (dérmico)	1	490 mg	=	Ly et al., 2001
	Homens (18-35 anos)	TE (i.m.) + GnRH (i.m.)	5	600 mg	=	Singh et al., 2002
	Homens (65-87 anos)	T (dérmico)	24	14-17,5 mg	=	Kenny et al., 2002
	Homens obesos (60-80 anos)	TE (im)	0,75	600mg	=	Herbst et al., 2003
Homens (60-87 anos)	Oxandrolona (v.o.)	3	140 mg	↓	Schroeder et al., 2004	
<b>GLICOSE</b>	Homens (27-67 anos)	DHEA (v.o.)	3	350 mg	=	Jedrzejuk et al., 2003
	Homens (60-87 anos)	Oxandrolona (v.o.)	3	140 mg	=	Schroeder et al., 2004
<b>VLDL-C</b>	Homens (18-35 anos)	TE (i.m.) + GnRH (i.m.)	5	600 mg	=	Singh et al., 2002
	Homens obesos (60-80 anos)	TE (i.m.)	0,75	600mg	=	Herbst et al., 2003
<b>LDL-C</b>	Homens (idosos)	DHT (dérmico)	3	1750 mg	↓	Vermeulen & Deslypere 1985
	Homens (20-33 anos)	TE (i.m.)	3	280 mg	=	Friedl et al, 1990
	Homens (20-33 anos)	TE+TL (i.m.)	3	280-250 mg	=	Friedl et al, 1990
	Homens (20-33 anos)	MET (v.o.)	3	280 mg	↑	Friedl et al, 1990
	Homens (57-76 anos)	TE (i.m.)	3	100 mg	↓	Tenover, 1992
	Homens (20-40 anos)	Nal-Glu +TE (i.m.)+Iarom	1,5	100mg	=	Bagatell et al., 1994
	Homens (19-42 anos)	TE (i.m.)	5	200 mg	=	Bagatell et al., 1994
	Homens (21-42 anos)	TE (i.m.)	12	200 mg	=	Anderson et al., 1995
	Homens (18-77 anos)	TE (i.m.)	24	100 mg	↓	Zgliczynski et al., 1996
	Homens (19-40 anos)	TE (i.m.)	2,5	600 mg	=	Bhasin et al., 1996
	Homens (53-89 anos)	TU (v.o.)	2	840 mg	↓	Uyanik et al., 1997
	Homens (29-72 anos)	DHEA (dérmico)	0,16	350 mg	=	Sulcova et al., 2000
	Homens (30-56 anos)	androstenedione (v.o.)	0,93	2100mg	=	Brown et al., 2000
	Homens (62-78 anos)	DHT (dérmico)	1	490 mg	↓	Ly et al., 2001
	Homens (67-79 anos)	T (dérmico)	36	42 mg	=	Snyder et al., 2001
	Homens (18-35 anos)	TE (i.m.) + GnRH (i.m.)	5	600 mg	=	Singh et al., 2002
	Homens (65-87 anos)	T (dérmico)	24	14-17,5 mg	=	Kenny et al., 2002
	Homens obesos (60-80 anos)	TE (i.m.)	0,75	600mg	↑	Herbst et al., 2003
Homens (27-67 anos)	DHEA (v.o.)	3	350mg	=	Jedrzejuk et al., 2003	
Homens (60-87 anos)	Oxandrolona (v.o.)	3	140 mg	↑	Schroeder et al., 2004	
<b>HDL-C</b>	Homens (idosos)	DHT (dérmico)	3	1750 mg	↓	Vermeulen & Deslypere 1985
	Meninos	TE (i.m.)	24	250 mg	↓	Hinkel et al., 1985
	Homens (13 a 16 anos)	TE (i.m.)	3	100-200 mg	↓	Kirkland et al., 1987
	Homens (20-33 anos)	TE (i.m.)	3	280 mg	=	Friedl et al, 1990
	Homens (20-33 anos)	TE+TL (i.m.)	3	280-250 mg	↓	Friedl et al, 1990
	Homens (20-33 anos)	MET (v.o.)	3	280 mg	↓	Friedl et al, 1990
	Homens (57-76 anos)	TE (i.m.)	3	100 mg	↓	Tenover, 1992
	Homens (19-42 anos)	TE (i.m.)	5	200 mg	↓	Bagatell et al., 1994
	Homens (19-42 anos)	TE (i.m.)	12	200 mg	↓	Anderson et al., 1995

	Homens (20-40 anos)	Nal-Glu +TE+Iarom	1,5	100mg	↓	Bagatell et al., 1994
	Homens (21-42 anos)	TE (i.m.)	12	200 mg	↓	Anderson et al., 1995
	Homens (18-77 anos)	TE (i.m.)	24	100 mg	=	Zgliczynski et al., 1996
	Homens (19-40 anos)	TE (i.m.)	2,5	600 mg	=	Bhasin et al., 1996
	Homens (53-89 anos)	TU (v.o.)	2	840 mg	=	Uyanik et al., 1997
	Homens (29-72 anos)	DHEA (dérmico)	0,16	350 mg	=	Sulcova et al., 2000
	Homens (30-56 anos)	androstenedione (v.o.)	0,93	2100 mg	↓	Brown et al., 2000
	Homens (27-72 anos)	7-oxo-DHEA (dérmico)	0,16	175 mg	↑	Sulcova et al., 2001
	Homens (67-79 anos)	T ((dérmico)	36	42 mg	=	Snyder et al., 2001
	Homens (62-78 anos)	DHT (dérmico)	1	490 mg	=	Ly et al., 2001
	Homens (65-87 anos)	T (dérmico)	24	14-17,5 mg	↓	Kenny et al., 2002
	Homens (18-35 anos)	TE (i.m.)+ GnRH (i.m.)	5	600 mg	↓	Singh et al., 2002
	Homens (27-67 anos)	DHEA (v.o.)	3	350 mg	=	Jedrzejuk et al., 2003
	Homens obesos (60-80 anos)	TE (i.m.)	0,75	600mg	↓	Herbst et al., 2003
	Homens (60-87 anos)	Oxandrolona (v.o.)	3	140 mg	↓	Schroeder et al., 2004
<b>apoB</b>	Homens (53-89 anos)	TU (v.o.)	2	840 mg	=	Uyanik et al., 1997
	Homens (29-72 anos)	DHEA (dérmico)	0,16	350 mg	=	Sulcova et al., 2000
	Homens (27-72 anos)	7-oxo-DHEA (dérmico)	0,16	175 mg	↑	Sulcova et al., 2001
	Homens (18-35 anos)	TE (i.m.)+ GnRH (i.m.)	5	600 mg	=	Singh et al., 2002
	Homens obesos (60-80 anos)	TE (i.m.)	0,75	600mg	=	Herbst et al., 2003
<b>apoA-I</b>	Homens (20-33 anos)	TE (i.m.)	3	280 mg	=	Friedl et al, 1990
	Homens (20-33 anos)	TE+TL (i.m.)	3	280-250 mg	=	Friedl et al, 1990
	Homens (20-33 anos)	MET (v.o.)	3	280 mg	↓	Friedl et al, 1990
	Homens (57-76 anos)	TE (i.m.)	3	100 mg	↓	Tenover, 1992
	Homens (19-42 anos)	TE (i.m.)	5	200 mg	↓	Bagatell et al., 1994
	Homens (53-89 anos)	TU (v.o.)	2	840 mg	=	Uyanik et al., 1997
	Homens (29-72 anos)	DHEA (dérmico)	0,16	350 mg	=	Sulcova et al., 2000
	Homens (27-72 anos)	7-oxo-DHEA (dérmico)	0,16	175 mg	↑	Sulcova et al., 2001
	Homens (18-35 anos)	TE (i.m.) + GnRH (i.m.)	5	600 mg	↓	Singh et al., 2002

Parâmetro	Homens hipogonádicos (HG)	Tipo de testosterona	Duração meses	Dose semana	Efeito	Referência
<b>COL</b>	Homens (HG)	TE (i.m.)	3	200 mg	↓	Morley et al., 1993
	Homens (HG/induzido)	Nal-Glu (i.m.)+TE (i.m.)	1,5	100 mg	↑	Bagatell et al., 1994
	Homens (HG)	TE (i.m.)	24	100 mg	↓	Zgliczynski et al., 1996
	Homens (HG)	T (i.m.)	12	400mg	=	Sih et al., 1997
	Homens (HG)	TE (i.m.)	3	62,5 mg	=	Tan et al., 1998
	Homens (HG)	MET (v.o.)	7	700 mg	↑	Jockenhövel et al., 1999
	Homens (HG)	TU (v.o.)	7	1120 mg	↑	Jockenhövel et al., 1999
	Homens (HG)	TE (i.m.)	7	83,3 mg	↑	Jockenhövel et al., 1999
	Homens (HG)	T (dérmico)	7	43 mg	↑	Jockenhövel et al., 1999
	Homens (HG)	T (dérmico)	3	28 mg	=	Tan et al., 1999
	Homens (HG)	TU (i.m.)	6	167 mg	=	Lanfranco et al., 2004
<b>TG</b>	Homens (HG/induzido)	Nal-Glu (i.m.)+TE i.m.)	1,5	100 mg	=	Bagatell et al., 1994
	Homens (HG)	T (i.m.)	12	400 mg	=	Sih et al., 1997
	Homens (HG)	TE (i.m.)	3	62,5 mg	=	Tan et al., 1998
	Homens (HG)	MET (v.o.)	7	700 mg	↑	Jockenhövel et al., 1999
	Homens (HG)	TU (v.o.)	7	1120 mg	↑	Jockenhövel et al., 1999
	Homens (HG)	TE (i.m.)	7	83,3 mg	↑	Jockenhövel et al., 1999
	Homens (HG)	T (dérmico)	7	43 mg	↑	Jockenhövel et al., 1999
	Homens (HG)	T (dérmico)	3	28 mg	=	Tan et al., 1999
	Homens (HG)	TU (i.m.)	6	167 mg	=	Lanfranco et al., 2004
<b>LDL-C</b>	Homens (S. Klinefelter)	TE (dérmico)	1	175 mg	↑	Jones et al., 1989
	Homens (HG/induzido)	Nal-Glu (i.m.) +TE (i.m.)	1	100 mg	=	Bagatell et al., 1994
	Homens (HG)	TE (i.m.)	24	100 mg	↓	Zgliczynski et al., 1996
	Homens (HG)	T (i.m.)	12	400mg	=	Sih et al., 1997
	Homens (HG)	TE (i.m.)	3	62,5 mg	=	Tan et al., 1998
	Homens (HG)	MET (v.o.)	7	700 mg	↑	Jockenhövel et al., 1999
	Homens (HG)	TU (v.o.)	7	1120 mg	↑	Jockenhövel et al., 1999
	Homens (HG)	TE (i.m.)	7	83,3 mg	↑	Jockenhövel et al., 1999
	Homens (HG)	T (dérmico)	7	43 mg	↑	Jockenhövel et al., 1999
	Homens (HG)	T (dérmico)	1,5	28 mg	=	Tan et al., 1999
<b>HDL-C</b>	Homens (S. Klinefelter)	TE (dérmico)	1	175 mg	=	Jones et al., 1989
	Homens (HG/induzido)	Nal-Glu (i.m.)+TE (i.m.)	5	25 mg	↑	Pavlou et al., 1991
	Homens (HG)	TE (i.m.)	3	200 mg	↑	Morley et al., 1993
	Homens (HG/induzido)	Nal-Glu (i.m.) +TE (i.m.)	1,5	100 mg	↓	Bagatell et al., 1994
	Homens (HG)	TE (i.m.)	24	400 mg	=	Zgliczynski et al., 1996
	Homens (HG)	T (i.m.)	12	100 mg	=	Sih et al., 1997
	Homens (HG)	TE (i.m.)	3	125 mg	=	Tan et al., 1998
	Homens (HG)	T (dérmico)	3	28 mg	↓	Tan et al., 1999
	Homens (HG)	MET (v.o.)	7	700 mg	↓	Jockenhövel et al., 1999
	Homens (HG)	TU (v.o.)	7	1120 mg	↓	Jockenhövel et al., 1999
	Homens (HG)	TE (i.m.)	7	83,3 mg	↓	Jockenhövel et al., 1999
	Homens (HG)	T (dérmico)	7	43 mg	↓	Jockenhövel et al., 1999
	<b>apoB</b>	Homens (HG)	TE (i.m.)	3	62,5 mg	=
Homens (HG)		T(dérmico)	3	28 mg	=	Tan et al., 1999
<b>apoA-I</b>	Homens (HG)	TE (i.m.)	0,25	100 mg	=	Sorva et al., 1988
	Homens (HG)	TE (i.m.)	1	100 mg	↓	Sorva et al., 1988
	Homens (S. Klinefelter)	TE (dérmico)	1	175 mg	=	Jones et al., 1989
	Homens (HG/induzido)	Nal-Glu (i.m.)+TE (i.m.)	1,5	100 mg	↓	Bagatell et al., 1994
	Homens (HG)	TE (i.m.)	3	62,5 mg	↓	Tan et al., 1998
	Homens (HG)	T(dérmico)	3	28 mg	=	Tan et al., 1999

**Quadro 3. Efeitos dos androgênios em homens hipogonádicos**

**Quadro 4. Efeitos dos androgênios em homens exercitados**

Parâmetro	Homens exercitados	Tipo de testosterona	Duração meses	Dose semana	Efeito	Referência
<b>COL</b>	Fisiculturistas (jovens)	STZ (v.o)+ DN (i.m.)	3	280mg /200 mg	↑	Mc Killop et al., 1987
	halterofilistas	STZ (v.o.)	0,5	42 mg	=	Thompson et al., 1989
	halterofilistas	TE (i.m.)	0,5	200 mg	↓	Thompson et al., 1989
	halterofilistas	TE (i.m.)	0,75	200 mg	=	Zmuda et al., 1993
	halterofilistas	TE+TL (i.m.)	0,75	200 mg	=	Zmuda et al., 1993
	fisiculturistas	AAS 1	1,60	375- 990 mg	=	Hislop et al.,2001
<b>TG</b>	Fisiculturistas (jovens)	STZ (v.o)+ DN (i.m.)	3	280mg /200 mg	=	Mc Killop et al., 1987
	halterofilistas	STZ (v.o.)	0,5	42 mg	↓	Thompson et al., 1989
	halterofilistas	TE (i.m.)	0,5	200 mg	=	Thompson et al., 1989
	halterofilistas	TE (i.m.)	0,75	200 mg	=	Zmuda et al., 1993
	halterofilistas	TE+TL (i.m.)	0,75	200 mg	=	Zmuda et al., 1993
	fisiculturistas	AAS 1	1,6	375 - 990 mg	=	Hislop et al.,2001
<b>VLDL-C</b>	Fisiculturistas	STZ (v.o)+ DN (i.m.)	3	100-700mg	=	Mc Killop et al., 1987
<b>LDL-C</b>	Fisiculturistas / halterofilistas	AAS 3	1	100-700 mg	=	Webb et al., 1984
	Fisiculturistas (jovens)	STZ (v.o)+ DN (i.m.)	3	280mg /200 mg	=	Mc Killop et al., 1987
	halterofilistas	STZ (v.o.)	0,5	42 mg	↑	Thompson et al., 1989
	halterofilistas	TE (i.m.)	0,5	200 mg	↓	Thompson et al., 1989
	halterofilistas	TE (i.m.)	0,75	200 mg	=	Zmuda et al., 1993
	halterofilistas	TE+TL (i.m.)	0,75	200 mg	=	Zmuda et al., 1993
	fisiculturistas	AAS 1	1,6	375- 990 mg	=	Hislop et al.,2001
	usuários vs. ex-usuários	AAS 2	8-96	750 mg	=	Urhausen et al., 2003
<b>HDL-C</b>	halterofilistas	AAS	2	315 mg	↓	Alen & Rahkla 1984
	Fisiculturistas / halterofilistas	AAS 3	1	100-700 mg	↓	Webb et al., 1984
	Fisiculturistas (jovens)	STZ (v.o)+ DN (i.m.)	3	280mg /200 mg	↓	Mc Killop et al., 1987
	halterofilistas	STZ	0,5	42 mg	↓	Thompson et al., 1989
	halterofilistas	TE (i.m.)	0,5	200 mg	↓	Thompson et al., 1989
	halterofilistas	TE (i.m.)	0,75	200 mg	↓	Zmuda et al., 1993
	halterofilistas	TE+TL (i.m.)	0,75	200 mg	↓	Zmuda et al., 1993
	Fisiculturistas	Androstenediona	3	1400 mg	↓	Broeder et al., 2000
	fisiculturistas	Androstenediol	3	1400 mg	↓	Broeder et al., 2000
	fisiculturistas	AAS 1	1,6	375- 990 mg	↓	Hislop et al.,2001
	usuários vs. ex-usuários	AAS 2	8-96	750 mg	↓	Urhausen et al., 2003
<b>Apo B</b>	halterofilistas	STZ (v.o.)	0,5	42 mg	↑	Thompson et al., 1989
	halterofilistas	TE (i.m.)	0,5	200 mg	=	Thompson et al., 1989
	halterofilistas	TE (i.m.)	0,75	200 mg	=	Zmuda et al., 1993
	halterofilistas	TE+TL (i.m.)	0,75	200 mg	=	Zmuda et al., 1993
<b>Apo A-I</b>	halterofilistas	STZ (v.o.)	0,5	42 mg	↓	Thompson et al., 1989
	halterofilistas	TE (i.m.)	0,5	200 mg	=	Thompson et al., 1989
	halterofilistas	TE (i.m.)	0,75	200 mg	↓	Zmuda et al., 1993
	halterofilistas	TE+TL (i.m.)	0,75	200 mg	↓	Zmuda et al., 1993



**Quadro 5. Efeitos dos androgênios em animais**

Parâmetro	Espécie	Tipo de testosterona	duração meses	Dose semana	Efeito	Referência
COL	C3H/HeJ, castrado (M)	TP (s.c.)	0,5	7 ug/g	=	Tang et al., 1991
	C3H/HeJ, castrado (F)	TP (s.c.)	0,5	7 ug/g	↓	Tang et al., 1991
	C57BL/6J, castrado (M)	TP (s.c.)	0,5	7 ug/g	↑	Tang et al., 1991
	C57BL/6J, castrado (F)	TP (s.c.)	0,5	7 ug/g	=	Tang et al., 1991
	apoE*Leiden+apoCI, dieta (M)	TU (s.c.)	1	62,5 ug	=	van Vlijmen et al., 1996
	apoE*Leiden+apoCI, dieta (M)	TU (s.c.)	1	312,5 ug	=	van Vlijmen et al., 1996
	apoE*Leiden+apoCI, dieta (F)	TU (s.c.)	1	62,5 ug	=	van Vlijmen et al., 1996
	apoE*Leiden+apoCI, dieta (F)	TU (s.c.)	1	312,5 ug	↓	van Vlijmen et al., 1996
	Macaca fascicularis (F), OVX	Nandrolona (i.m.)	24	8,3 mg	=	Obasanjo et al., 1996
	apoE KO, castrado (M)	T (dérmico)	2	875 ug	↓	Elhage et al., 1997
	apoE KO, OVX (F)	T (dérmico)	2	875 ug	↓	Elhage et al., 1997
	coelho, castrado, dieta (M)	TE (i.m.)	3	25 mg/kg	↓	Bruck et al., 1997
	coelho, OVX, dieta (F)	TE (i.m.)	3	25 mg/kg	↓	Bruck et al., 1997
	coelho, castrado, dieta (M)	DHEA (v.o.)	7,5	3500 mg	↓	Alexandersen et al., 1999
	coelho, castrado, dieta (M)	TE (i.m.)	7,5	50 mg	↓	Alexandersen et al., 1999
	coelho, castrado, dieta (M)	TU (v.o.)	7,5	560 mg	↓	Alexandersen et al., 1999
	Rato, Sprague Dawley (M)	TP (i.m.)	1,75	6 mg/kg	↓	Frisch & Sumida, 1999
apoE KO (M)	T (dérmico)	2	4,4 mg	=	Von Dehn et al., 2001	
apoE KO (F)	T (dérmico)	2	4,4 mg	↑	Von Dehn et al., 2001	
				=		
TG	Rato	T	agudo		=	Haude w. & Volcker CE, 1992
	apoE*Leiden+apoCI, dieta (M)	TU (s.c.)	1	62,5 ug	=	van Vlijmen et al., 1996
	apoE*Leiden+apoCI, dieta (M)	TU (s.c.)	1	312,5 ug	=	van Vlijmen et al., 1996
	apoE*Leiden+apoCI, dieta (F)	TU (s.c.)	1	62,5 ug	=	van Vlijmen et al., 1996
	apoE*Leiden+apoCI, dieta (F)	TU (s.c.)	1	312,5 ug	↓	van Vlijmen et al., 1996
	Macaca fascicularis (F), OVX	Nandrolona (i.m.)	24	8,3 mg	=	Obasanjo et al., 1996
	macaco <i>rhesus</i> (M)	TE (i.m.)	32	25 mg	=	Tyagi et al., 1999
	coelho, castrado, dieta (M)	DHEA (v.o.)	7,5	3500 mg	↓	Alexandersen et al., 1999
	coelho, castrado, dieta (M)	TE (i.m.)	7,5	50 mg	↓	Alexandersen et al., 1999
	coelho, castrado, dieta (M)	TU (v.o.)	7,5	560 mg	↓	Alexandersen et al., 1999
	Rato, Sprague Dawley (M)	TP (i.m.)	1,75	6 mg/kg	↓	Frisch & Sumida, 1999
	apoE KO(M)	T (dérmico)	2	4,4 mg	=	Von Dehn et al., 2001
	apoE KO(F)	T (dérmico)	2	4,4 mg	=	Von Dehn et al., 2001
				=		
AGL	Cachorro (M)	TP (i.v.)	crônico		↑	Renauld A & Sverdlik RC, 1975
	Rato	T	agudo		↑	Haude w. & Volcker CE, 1992
VLDL-C	Rato Wistar, castrado (M)	TP (s.c.)	0,25	1400 ug	↑	Haug et al., 1985
	mice apoE KO, castrado (M)	T (dérmico)	2	875 ug	=	Elhage et al., 1997
	mice apoE KO, OVX (F)	T (dérmico)	2	875 ug	=	Elhage et al., 1997
	coelho, castrado, dieta (M)	TE (i.m.)	3	25 mg/kg	↓	Bruck et al., 1997
	coelho, OVX, dieta (F)	TE (i.m.)	3	25 mg/kg	↓	Bruck et al., 1997
	coelho, castrado, dieta (M)	DHEA (v.o.)	7,5	3500 mg	↓	Alexandersen et al., 1999
	coelho, castrado, dieta (M)	TE (i.m.)	7,5	50 mg	↓	Alexandersen et al., 1999
	coelho, castrado, dieta (M)	TU (v.o.)	7,5	560 mg	↓	Alexandersen et al., 1999
LDL-C	Rato Wistar, castrado (M)	TP (s.c.)	0,25	1400 ug	↓	Haug et al., 1985
	coelho, dieta (M)	STZ (v.o.)	3	35 a 70 mg	=	Fogelberg et al., 1990
	Macaca fascicularis (F), OVX	Nandrolona (i.m.)	24	8,3 mg	=	Obasanjo et al., 1996
	apoE KO, castrado (M)	T (dérmico)	2	875 ug	↓	Elhage et al., 1997
	apoE KO, OVX (F)	T (dérmico)	2	875 ug	↓	Elhage et al., 1997
	coelho, castrado, dieta (M)	TE (i.m.)	3	25 mg/kg	=	Bruck et al., 1997
	coelho, OVX, dieta (F)	TE (i.m.)	3	25 mg/kg	=	Bruck et al., 1997
	coelho, castrado, dieta (M)	DHEA (v.o.)	7,5	3500 mg	↓	Alexandersen et al., 1999
	coelho, castrado, dieta (M)	TE (i.m.)	7,5	50 mg	=	Alexandersen et al., 1999
	coelho, castrado, dieta (M)	TU (v.o.)	7,5	560 mg	↓	Alexandersen et al., 1999
	Rato, Sprague Dawley (M)	TP (i.m.)	1,75	6 mg/kg	=	Frisch & Sumida, 1999
	macaco <i>rhesus</i> (m)	TE (i.m.)	32	25 mg	↑	Tyagi et al., 1999
não HDL-C	apoE KO (M)	T (dérmico)	2	4,4 mg	↑	Von Dehn et al., 2001
	apoE KO (F)	T (dérmico)	2	4,4 mg	↓	Von Dehn et al., 2001

<b>HDL-C</b>	Rato Wistar, castrado (M)	TP (s.c.)	0,25	1400 ug	↓	Haug et al., 1985
	Rato, Sprague Dawley, castrado (M)	TP (i.m.)	0,75	3,5 a 42 mg/kg	↓	Staprans et al., 1990
	Macaco, castrado (M)	TP (i.m.)	2	1,75 a 14 mg/kg	↓	Greger et al., 1990
	Macaco, castrado (M)	DHT (i.m.)	2	1,75 a 14mg/kg	↓	Greger et al., 1990
	coelho, dieta (M)	STZ (v.o.)	3	35 a 70 mg	=	Fogelberg et al., 1990
	C3H/HeJ, castrado (M)	TP (s.c.)	0,5	7 ug/g	=	Tang et al., 1991
	C3H/HeJ, castrado (F)	TP (s.c.)	0,5	7 ug/g	↓	Tang et al., 1991
	C57BL/6J, castrado (M)	TP (s.c.)	0,5	7 ug/g	=	Tang et al., 1991
	C57BL/6J, castrado (F)	TP (s.c.)	0,5	7 ug/g	=	Tang et al., 1991
	Macaca fascicularis (F), OVX	Nandrolona (i.m.)	24	8,3 mg	=	Obasanjo et al., 1996
	apoE KO, castrado (M)	T (dérmico)	2	875 ug	=	Elhage et al., 1997
	apoE KO, OVX (F)	T (dérmico)	2	875 ug	=	Elhage et al., 1997
	coelho, castrado, dieta (M)	TE (i.m.)	3	25 mg/kg	=	Bruck et al., 1997
	coelho, OVX, dieta (F)	TE (i.m.)	3	25 mg/kg	↓	Bruck et al., 1997
	coelho, castrado, dieta (M)	DHEA (v.o.)	7,5	3500 mg	↑	Alexandersen et al., 1999
	coelho, castrado, dieta (M)	TE (i.m.)	7,5	50 mg	=	Alexandersen et al., 1999
	coelho, castrado, dieta (M)	TU (v.o.)	7,5	560 mg	=	Alexandersen et al., 1999
	Rato, Sprague Dawley (M)	TP (i.m.)	1,75	6 mg/kg	↑	Frisch & Sumida, 1999
	macaco <i>rhesus</i> (M)	TE (i.m.)	32	25 mg	↓	Tyagi et al., 1999
	apoE KO (M)	T (dérmico)	2	4,4 mg	↓	Von Dehn et al., 2001
apoE KO (F)	T (dérmico)	2	4,4 mg	=	Von Dehn et al., 2001	
<b>apo B</b>	C3H/HeJ, castrado (M)	TP (s.c.)	0,5	7 ug/g	↑	Tang et al., 1991
	C3H/HeJ, castrado (F)	TP (s.c.)	0,5	7 ug/g	=	Tang et al., 1991
	C57BL/6J, castrado (M)	TP (s.c.)	0,5	7 ug/g	=	Tang et al., 1991
	C57BL/6J, castrado (F)	TP (s.c.)	0,5	7 ug/g	=	Tang et al., 1991
	C3H/HeJ, castrado (M)	TP (s.c.)	0,5	7 ug/g	=	Srivastava et al., 1992
C3H/HeJ, castrado (F)	TP (s.c.)	0,5	7 ug/g	=	Srivastava et al., 1992	
<b>apo A-I</b>	C3H/HeJ, castrado (M)	TP (s.c.)	0,5	7 ug/g	=	Tang et al., 1991
	C3H/HeJ, castrado (F)	TP (s.c.)	0,5	7 ug/g	↓	Tang et al., 1991
	C57BL/6J, castrado (M)	TP (s.c.)	0,5	7 ug/g	=	Tang et al., 1991
	C57BL/6J, castrado (F)	TP (s.c.)	0,5	7 ug/g	=	Tang et al., 1991
<b>apo E</b>	C57BL/6, castrado (M)	DHT (dérmico)	1/2	7 ug/g	=	Srivastava et al., 1997

**Quadro 6. Proteínas e enzimas que atuam no transporte reverso de colesterol.**

Parâmetro	Homens, mulheres e animais	Tipo de testosterona	Duração meses	Dose semana	Efeito	Referência
<b>LCAT</b>	Mulheres (endometriose)	Danazol (v.o.)	6	4200 mg	↓	Fahraeus et al., 1984
	Mulheres (PM/osteoporose)	STZ (v.o.)	1,5	42 mg	↓	Albers et al., 1984
	Mulheres (jovens)	T (dérmico)	24	4,2 mg	=	Buckler et al., 1997
	Rato, wistar, castrado (M)	TP (i.m.)	0,5	2,1 mg	=	Haug et al., 1986
<b>CETP</b>	Mulheres (jovens)	T (dérmico)	24	4,2 mg	=	Buckler et al., 1997
	Homens (HG)	TE (i.m.)	3	62,5mg	=	Tan et al., 1998
<b>LPL</b>	Homens (HG)	TE (i.m.)	0,25	100 mg	↑	Sorva et al., 1988
	Homens (HG)	TE (i.m.)	1	100 mg	=	Sorva et al., 1988
	Homens (HG)	TE (i.m.)	3	62,5 mg	=	Tan et al., 1998
	Homens (halterofilistas)	TE (i.m.)	0,75	200 mg	=	Zmuda et al., 1993
	Homens (halterofilistas)	TE+TL (i.m.)	0,75	200 mg	↑	Zmuda et al., 1993
	Homens (HG)	T(dérmico)	3	28 mg	=	Tan et al., 1999
	Homens (adultos/obesos)	TE (i.m.)	0,75	600mg	=	Herbst et al., 2003
	Rato, Sprague Dawley, castrado (M)	TP (i.m.)	0,75	1,5 mg/kg	↓	Staprans et al., 1990
	Rato, Sprague Dawley, castrado (F)	TP (i.m.)	0,75	1,5 mg/kg	↓	Staprans et al., 1990
<b>LH</b>	Mulheres (PM)	STZ (v.o.)	1,5	42 mg	↑	Taggart et al., 1982
	Homens (HG)	TE (i.m.)	0,25	100 mg	↑	Sorva et al., 1988
	Homens (HG)	TE (i.m.)	1	100 mg	↑	Sorva et al., 1988
	Homens (adultos)	TE (i.m.)	3	280 mg	=	Friedl et al., 1990
	Homens (adultos)	TE+TL (i.m.)	3	280-250 mg	↑	Friedl et al., 1990
	Homens (adultos)	MET (v.o.)	3	280 mg	↑	Friedl et al., 1990
	Homens (halterofilistas)	TE (i.m.)	0,75	200 mg	↑	Zmuda et al., 1993
	Homens (halterofilistas)	TE+TL (i.m.)	0,75	200 mg	↑	Zmuda et al., 1993
	Homens (HG)	TE (i.m.)	3	62,5 mg	=	Tan et al., 1998
	Homens (HG)	T(dérmico)	3	28 mg	↑	Tan et al., 1999
	Rato, wistar, castrado (M)	TP (i.m.)	0,5	2,1 mg	=	Haug et al., 1986

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DO ANEXO I**

- Albers JJ, Taggart HM, Applebaum-Bowden D, Haffner S, Chesnut CH 3rd, Hazzard WR. Reduction of lecithin-cholesterol acyltransferase, apolipoprotein D and the Lp(a) lipoprotein with the anabolic steroid stanozolol. *Biochim Biophys Acta*. 1984 Sep 12;795(2):293-6.
- Alexandersen P, Haarbo J, Byrjalsen I, Lawaetz H, Christiansen C. Natural androgens inhibit male atherosclerosis: a study in castrated, cholesterol-fed rabbits. *Circ Res*. 1999 Apr 16;84(7):813-9.
- Anderson RA, Wallace EM, Wu FC. Effect of testosterone enanthate on serum lipoproteins in man. *Contraception*. 1995 Aug;52(2):115-9.
- Applebaum-Bowden D, Haffner SM, Hazzard WR. The dyslipoproteinemia of anabolic steroid therapy: increase in hepatic triglyceride lipase precedes the decrease in high density lipoprotein2 cholesterol. *Metabolism*. 1987 Oct;36(10):949-52.
- Asscheman H, Gooren LJ, Megens JA, Nauta J, Kloosterboer HJ, Eikelboom F. Serum testosterone level is the major determinant of the male-female differences in serum levels of high-density lipoprotein (HDL) cholesterol and HDL2 cholesterol.
- Bagatell CJ, Heiman JR, Matsumoto AM, Rivier JE, Bremner WJ. Metabolic and behavioral effects of high-dose, exogenous testosterone in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab*. 1994 Aug;79(2):561-567.
- Bagatell CJ, Knopp RH, Rivier JE, Bremner WJ. Physiological levels of estradiol stimulate plasma high density lipoprotein2 cholesterol levels in normal men. *J Clin Endocrinol Metab*. 1994 Apr;78(4):855-861.
- Bhasin S, Storer TW, Berman N, Callegari C, Clevenger B, Phillips J, Bunnell TJ, Tricker R, Shirazi A, Casaburi R. The effects of supraphysiologic doses of testosterone on muscle size and strength in normal men. *N Engl J Med*. 1996 Jul 4;335(1):1-7.
- Broeder CE, Quindry J, Brittingham K, Panton L, Thomson J, Appakondur S, Breuel K, Byrd R, Douglas J, Earnest C, Mitchell C, Olson M, Roy T, Yarlagadda C. The Andro Project: physiological and hormonal influences of androstenedione supplementation in men 35 to 65 years old participating in a high-intensity resistance training program. *Arch Intern Med*. 2000 Nov 13;160(20):3093-104.
- Brown GA, Vukovich MD, Martini ER, Kohut ML, Franke WD, Jackson DA, King DS. Endocrine responses to chronic androstenedione intake in 30- to 56-year-old men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000 Nov;85(11):4074-80.
- Buckler HM, McElhone K, Durrington PN, Mackness MI, Ludlam CA, Wu FC. The effects of low-dose testosterone treatment on lipid metabolism, clotting factors and ultrasonographic ovarian morphology in women. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1998 Aug;49(2):173-8.

- Chiuvè SE, Martin LA, Campos H, Sacks FM. Effect of the combination of methyltestosterone and esterified estrogens compared with esterified estrogens alone on apolipoprotein CIII and other apolipoproteins in very low density, low density, and high density lipoproteins in surgically postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004 May;89(5):2207-13.
- Elhage R, Arnal JF, Pieraggi MT, Duverger N, Fievet C, Faye JC, Bayard F. 17 beta-estradiol prevents fatty streak formation in apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997 Nov;17(11):2679-84.
- Fahraeus L, Larsson-Cohn U, Ljungberg S, Wallentin L. Profound alterations of the lipoprotein metabolism during danazol treatment in premenopausal women. *Fertil Steril.* 1984 Jul;42(1):52-7.
- Fogelberg M, Bjorkhem I, Diczfalussy U, Henriksson P. Stanozolol and experimental atherosclerosis: atherosclerotic development and blood lipids during anabolic steroid therapy of New Zealand white rabbits. *Scand J Clin Lab Invest.* 1990 Oct;50(6):693-6.
- Frisch F, Sumida KD. Temporal effects of testosterone propionate injections on serum lipoprotein concentrations in rats. *Med Sci Sports Exerc.* 1999 May;31(5):664-9.
- Friedl KE, Hannan CJ Jr, Jones RE, Plymate SR. Long-term transdermal dihydrotestosterone therapy: effects on pituitary gonadal axis and plasma lipoproteins. *Maturitas.* 1985 Sep;7(3):281-7.
- Glazer G, Suchman AL. Lack of demonstrated effect of nandrolone on serum lipids. *Metabolism.* 1994 Feb;43(2):204-10.
- Greger NG, Insull W Jr, Probstfield JL, Keenan BS. High-density lipoprotein response to 5-alpha-dihydrotestosterone and testosterone in *Macaca fascicularis*: a hormone-responsive primate model for the study of atherosclerosis. *Metabolism.* 1990 Sep;39(9):919-24.
- Haude W, Volcker CE. [The effect of thyroid- and sex hormones on triglyceride secretion in rat liver] *Nahrung.* 1992;36(3):279-86. German.
- Haug A, Hostmark AT, Spydevold O. Responses of plasma apolipoproteins to gonadectomy and androgen substitution in male rats. *Horm Metab Res.* 1985 Dec;17(12):641-5.
- Herbst KL, Amory JK, Brunzell JD, Chansky HA, Bremner WJ. Testosterone administration to men increases hepatic lipase activity and decreases HDL and LDL size in 3 wk. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2003 Jun;284(6):E1112-8.
- Hinkel GK, Hanefeld M, Jaross W, Leonhardt W, Trubsbach A. Effects of high doses of oestrogens and androgens on lipoproteins: observations in the treatment of excessive growth with sexual hormones. *Exp Clin Endocrinol.* 1985 Aug;86(1):17-25.
- Hislop MS, St Clair Gibson A, Lambert MI, Noakes TD, Marais AD. Effects of androgen manipulation on postprandial triglyceridaemia, low-density lipoprotein particle size and lipoprotein(a) in men. *Atherosclerosis.* 2001 Dec;159(2):425-32.

Jedrzejuk D, Medras M, Milewicz A, Demissie M. Dehydroepiandrosterone replacement in healthy men with age-related decline of DHEA-S: effects on fat distribution, insulin sensitivity and lipid metabolism. *Aging Male*. 2003 Sep;6(3):151-6.

Jockenhovel F, Bullmann C, Schubert M, Vogel E, Reinhardt W, Reinwein D, Muller-Wieland D, Krone W. Influence of various modes of androgen substitution on serum lipids and lipoproteins in hypogonadal men. *Metabolism*. 1999 May;48(5):590-6.

Jones DB, Higgins B, Billet JS, Price WH, Edwards CR, Beastall GH, Shepherd J, Sweeting VM, Horn DB, Wenham PR. The effect of testosterone replacement on plasma lipids and apolipoproteins. *Eur J Clin Invest*. 1989 Oct;19(5):438-41.

Kenny AM, Prestwood KM, Gruman CA, Fabregas G, Biskup B, Mansoor G. Effects of transdermal testosterone on lipids and vascular reactivity in older men with low bioavailable testosterone levels. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2002 Jul;57(7):M460-5.

Kirkland RT, Keenan BS, Probstfield JL, Patsch W, Lin TL, Clayton GW, Insull W Jr. Decrease in plasma high-density lipoprotein cholesterol levels at puberty in boys with delayed adolescence. Correlation with plasma testosterone levels. *JAMA*. 1987 Jan 23-30;257(4):502-7.

Lanfranco F, Zitzmann M, Simoni M, Nieschlag E. Serum adiponectin levels in hypogonadal males: influence of testosterone replacement therapy. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2004 Apr;60(4):500-7.

Ly LP, Jimenez M, Zhuang TN, Celermajer DS, Conway AJ, Handelsman DJ. A double-blind, placebo-controlled, randomized clinical trial of transdermal dihydrotestosterone gel on muscular strength, mobility, and quality of life in older men with partial androgen deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001 Sep;86(9):4078-88.

McKillop G, Ballantyne D. Lipoprotein analysis in bodybuilders. *Int J Cardiol*. 1987 Morley JE, Perry HM 3rd, Kaiser FE, Kraenzle D, Jensen J, Houston K, Mattammal M, Perry HM Jr. Effects of testosterone replacement therapy in old hypogonadal males: a preliminary study. *J Am Geriatr Soc*. 1993 Feb;41(2):149-52.

Obasanjo IO, Clarkson TB, Weaver DS. Effects of the anabolic steroid nandrolone decanoate on plasma lipids and coronary arteries of female cynomolgus macaques. *Metabolism*. 1996 Apr;45(4):463-8.

Pavlou SN, Brewer K, Farley MG, Lindner J, Bastias MC, Rogers BJ, Swift LL, Rivier JE, Vale WW, Conn PM, et al. Combined administration of a gonadotropin-releasing hormone antagonist and testosterone in men induces reversible azoospermia without loss of libido. *J Clin Endocrinol Metab*. 1991 Dec;73(6):1360-9.

Renauld A, Sverdlik RC. Influence of testosterone on blood sugar, serum insulin and free fatty acid responses to glucose in normal male dog. *Acta Physiol Lat Am*. 1975;25(5):423-9.

- Schroeder ET, Zheng L, Ong MD, Martinez C, Flores C, Stewart Y, Azen C, Sattler FR. Effects of androgen therapy on adipose tissue and metabolism in older men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004 Oct;89(10):4863-72.
- Sih R, Morley JE, Kaiser FE, Perry HM 3rd, Patrick P, Ross C. Testosterone replacement in older hypogonadal men: a 12-month randomized controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997 Jun;82(6):1661-7.
- Simon JA, Mazer NA, Wekselman K. Safety profile: transdermal testosterone treatment of women after oophorectomy. *Obst Gynecol.* 2001 97(4 Suppl 1 ): S10-S11.
- Singh AB, Hsia S, Alaupovic P, Sinha-Hikim I, Woodhouse L, Buchanan TA, Shen R, Bross R, Berman N, Bhasin S. The effects of varying doses of T on insulin sensitivity, plasma lipids, apolipoproteins, and C-reactive protein in healthy young men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002 Jan;87(1):136-43.
- Snyder PJ, Peachey H, Berlin JA, Rader D, Usher D, Loh L, Hannoush P, Dlewati A, Holmes JH, Santanna J, Strom BL. Effect of transdermal testosterone treatment on serum lipid and apolipoprotein levels in men more than 65 years of age. *Am J Med.* 2001 Sep;111(4):255-60.
- Sorva R, Kuusi T, Taskinen MR, Perheentupa J, Nikkila EA. Testosterone substitution increases the activity of lipoprotein lipase and hepatic lipase in hypogonadal males. *Atherosclerosis.* 1988 Feb;69(2-3):191-7.
- Srivastava RA, Tang J, Baumann D, Schonfeld G. Hormonal and nutritional stimuli modulate apolipoprotein B mRNA editing in mouse liver. *Biochem Biophys Res Commun.* 1992 Oct 15;188(1):135-41.
- Staprans I, Rapp JH, Pan XM, Ong DL, Feingold KR. Testosterone regulates metabolism of plasma chylomicrons in rats. *Arteriosclerosis.* 1990 Jul-Aug;10(4):591-6.
- Sulcova J, Hill M, Masek Z, Ceska R, Novacek A, Hampl R, Starka L. Effects of transdermal application of 7-oxo-DHEA on the levels of steroid hormones, gonadotropins and lipids in healthy men. *Physiol Res.* 2001;50(1):9-18.
- Sulcova J, Hill M, Hampl R, Masek Z, Novacek A, Ceska R, Starka L. Effects of transdermal application of DHEA on the levels of steroids, gonadotropins and lipids in men. *Physiol Res.* 2000;49(6):685-93.
- Taggart HM, Applebaum-Bowden D, Haffner S, Warnick GR, Cheung MC, Albers JJ, Chestnut CH 3rd, Hazzard WR. Reduction in high density lipoproteins by anabolic steroid (stanozolol) therapy for postmenopausal osteoporosis. *Metabolism.* 1982 Nov;31(11):1147-52.
- Tang, J.; Krul, E.S.; Schonfeld, G.. In vivo regulation of apolipoprotein A-I gene expression by estradiol and testosterone occurs at the translational level in inbred strains of mice. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 1991 181:1407-1411.

- Tang, J.; Srivastava, R.A.K.; Krul, E.S.; Baumann, D.; Pfeger, B.A.; Kitchens, R.T.; Schonfeld, G. In vivo regulation of apolipoprotein A-I gene expression by estradiol and testosterone occurs by different mechanisms in inbred strains of mice. *J. Lipid Res.* 1991 32: 1571-1585.
- Tan KC, Shiu SW, Pang RW, Kung AW. Effects of testosterone replacement on HDL subfractions and apolipoprotein A-I containing lipoproteins. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1998 Feb;48(2):187-94.
- Tan KC, Shiu SW, Kung AW. Alterations in hepatic lipase and lipoprotein subfractions with transdermal testosterone replacement therapy. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1999 Dec;51(6):765-9.
- Thompson PD, Cullinane EM, Sady SP, Chenevert C, Saritelli AL, Sady MA, Herbert PN. Contrasting effects of testosterone and stanozolol on serum lipoprotein levels. *JAMA*. 1989 Feb 24;261(8):1165-8.
- Tenover JS. Effects of testosterone supplementation in the aging male. *J Clin Endocrinol Metab*. 1992 Oct;75(4):1092-8.
- Tyagi A, Rajalakshmi M, Jeyaraj DA, Sharma RS, Bajaj JS. Effects of long-term administration of testosterone enanthate on glucose metabolism in rhesus monkeys. *Contraception*. 1999 May;59(5):333-7.
- Uyanik BS, Ari Z, Gumus B, Yigitoglu MR, Arslan T. Beneficial effects of testosterone undecanoate on the lipoprotein profiles in healthy elderly men. A placebo controlled study. *Jpn Heart J*. 1997 Jan;38(1):73-82.
- Urhausen A, Torsten A, Wilfried K. Reversibility of the effects on blood cells, lipids, liver function and hormones in former anabolic-androgenic steroid abusers. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2003 Feb;84(2-3):369-75.
- Van Vlijmen, B.J.M.; Van 't Hof, H.B.; Mol, M.J.T.M.; Van der Boom, H.; Van der Zee, A.; Frants, R.R.; Hofker, M.H.; Havekes, L.M. . Modulation of very low density lipoprotein production and clearance contributes to age-and gender-dependent hyperlipoproteinemia in apolipoprotein E3-Leiden transgenic mice. *J. Clin. Invest.* 1996 97:1184-1192.
- Vermeulen A, Deslypere JP. Long-term transdermal dihydrotestosterone therapy: effects on pituitary gonadal axis and plasma lipoproteins. *Maturitas*. 1985 Sep;7(3):281-7.
- Von Dehn G, Von Dehn O, Volker W, Langer C, Weinbauer GF, Behre HM, Nieschlag E, Assmann G, von Eckardstein A. Atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice is decreased by the suppression of endogenous sex hormones. *Horm Metab Res*. 2001 Feb;33(2):110-4.
- Webb OL, Laskarzewski PM, Glueck CJ. Severe depression of high-density lipoprotein cholesterol levels in weight lifters and body builders by self-administered exogenous testosterone and anabolic-androgenic steroids. *Metabolism*. 1984 Nov;33(11):971-5.



Zgliczynski S, Ossowski M, Slowinska-Srzednicka J, Brzezinska A, Zgliczynski W, Soszynski P, Chotkowska E, Srzednicki M, Sadowski Z. Effect of testosterone replacement therapy on lipids and lipoproteins in hypogonadal and elderly men. *Atherosclerosis*. 1996 Mar;121(1):35-43.

Zmuda JM, Fahrenbach MC, Younkin BT, Bausserman LL, Terry RB, Catlin DH, Thompson PD. The effect of testosterone aromatization on high-density lipoprotein cholesterol level and postheparin lipolytic activity. *Metabolism*. 1993 Apr;42(4):446-50.