



Brazilian Journal of OTORHINOLARYNGOLOGY

www.bjorl.org



ARTIGO ORIGINAL

Imbalance in the diurnal salivary testosterone/ cortisol ratio in men with severe obstructive sleep apnea: an observational study[☆]

Cristina Mihaela Ghiciuc^{a,1}, Lucia Corina Dima-Cozma^{b,1}, Raluca Mihaela Bercea^{c,1},
Catalina Elena Lupusoru^a, Traian Mihaescu^c, Sebastian Cozma^d,
Francesca Romana Patacchioli^{e,*}

^a University of Medicine and Pharmacy Grigore T. Popa, Department of Pharmacology, Iasi, România

^b University of Medicine and Pharmacy Grigore T. Popa, School of Medicine, Department of Internal Medicine, Iasi, România

^c University of Medicine and Pharmacy Grigore T. Popa, Clinic of Pulmonary Diseases, Iasi, România

^d University of Medicine and Pharmacy Grigore T. Popa, Department of Otorhinolaryngology, Iasi, România

^e Sapienza University of Rome, Department of Physiology and Pharmacology "V. Erspamer", Rome, Itália

Recebido em 24 de junho de 2015; aceito em 8 de setembro de 2015

KEYWORDS

Obstructive sleep
apnea;
Saliva;
Cortisol;
Testosterone

Abstract

Introduction: The complex relationship between sleep disorders and hormones could lead to alterations in the production of cortisol and testosterone in obstructive sleep apnea (OSA) patients.

Objective: The purpose of this study was to determine the diurnal trajectories of salivary free-testosterone, free-cortisol and their ratio (T/C).

Methods: Ten subjects newly diagnosed with OSA, based on nocturnal polysomnography evaluation and excessive daytime sleepiness, and seven matched controls were consecutively recruited. Cortisol and testosterone were measured in salivary samples collected upon awakening, at noon and in the evening. The psychometric evaluation of anxiety/depression and referred sexual function disturbances was performed to evaluate the presence of neuropsychological comorbidities.

Results and conclusion: The main finding was that OSA subjects displayed hypocortisolism upon awakening and a significant reduction in testosterone concentration in the evening in comparison with the control group, which has maintained the physiological testosterone and cortisol

DOI se refere ao artigo: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjorl.2015.09.004>

[☆] Como citar este artigo: Ghiciuc CM, Dima-Cozma LC, Bercea RM, Lupusoru CE, Mihaescu T, Cozma S, et al. Imbalance in the diurnal salivary testosterone/cortisol ratio in men with severe obstructive sleep apnea: an observational study. Braz J Otorhinolaryngol. 2016;82:529-35.

* Autor para correspondência.

E-mail: francesca.patacchioli@uniroma1.it (F.R. Patacchioli).

¹ Estes autores contribuíram igualmente para este trabalho.

PALAVRAS-CHAVE

Apneia obstrutiva do sono;
Saliva;
Cortisol;
Testosterona

diurnal fluctuation, with higher hormone concentrations in the morning and lower concentrations in the evening. The use of data from multiple diurnal measurements rather than a single point allowed the detection of T/C ratio changes of opposite signs at the beginning and end of the day: the OSA subjects had a higher T/C ratio than the controls in the morning, while their T/C ratio was significantly lower than that of the controls in the evening. The imbalances in the anabolic-catabolic diurnal equilibrium suggest that OSA is associated with a dysregulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal and hypothalamic-pituitary-gonadal axes, potentially an underlying cause of some of the neuropsychological comorbidities observed in OSA patients.

© 2015 Associação Brasileira de Otorrinolaringologia e Cirurgia Cérvico-Facial. Published by Elsevier Editora Ltda. This is an open access article under the CC BY-license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Desequilíbrio na proporção salivar diurna de testosterona/cortisol em homens com apneia obstrutiva do sono grave: um estudo observacional**Resumo**

Introdução: A relação complexa entre os distúrbios do sono e os hormônios pode levar a alterações na produção de cortisol e testosterona em pacientes com Apneia obstrutiva do sono (AOS). **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi determinar as curvas diurnas de testosterona e cortisol livres na saliva e sua proporção (razão T/C).

Método: Dez indivíduos recém-diagnosticados com AOS com base na avaliação por polissonografia noturna e sonolência diurna excessiva e sete controles pareados foram recrutados, consecutivamente. Cortisol e testosterona foram medidos em amostras de saliva coletadas ao acordar, ao meio-dia e à noite. A avaliação psicométrica dos distúrbios de ansiedade/depressão e função sexual mencionados foi realizada para detectar a presença de comorbidades neuropsicológicas. **Resultados:** O achado principal foi que os indivíduos com AOS apresentam hipocortisolismo ao acordar e uma redução significativa na concentração de testosterona à noite, em comparação com o grupo controle, que manteve a variação fisiológica diurna de testosterona e cortisol com concentrações hormonais mais elevadas pela manhã e concentrações mais baixas durante a noite. O uso de dados de várias mensurações diurnas, em vez de uma única mensuração, permitiu detectar as alterações na razão T/C de sinais opostos no início e no final do dia: os indivíduos com AOS apresentaram razão T/C maior que os controles na parte da manhã, enquanto que a razão T/C foi significativamente inferior à dos controles durante a noite.

Conclusão: Os desequilíbrios no balanço anabólico-catabólico diurno sugerem que a AOS está associada a uma desregulação dos eixos hipotálamo-hipófise-adrenal e hipotálamo-hipófise-gonadal, potencialmente a causa subjacente de algumas das comorbidades neuropsicológicas observadas em pacientes com AOS.

© 2015 Associação Brasileira de Otorrinolaringologia e Cirurgia Cérvico-Facial. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob a licença CC BY (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Introdução

A apneia obstrutiva do sono (AOS) é um distúrbio respiratório crônico que pode ser diagnosticado com polissonografia (PSG) noturna. É um problema de saúde grave, com prevalência superior a 26% na população meia-idade, em geral.¹⁻³

A sonolência diurna excessiva e o ronco são frequentemente associados a sintomas neuropsicológicos, que incluem dificuldade de concentração e distúrbios cognitivos. Sabe-se também que hipóxia, fragmentação do sono, obesidade e envelhecimento em pacientes com AOS estão associados a níveis baixos de testosterona no soro. Luboshitzky et al.⁴ demonstraram que homens com apneia do sono apresentavam redução dos níveis de testosterona e hormônio luteinizante durante o sono noturno, possivelmente causada pelos efeitos combinados de hipóxia e fragmentação do sono. Mais

recentemente, observou-se que a concentração sérica de testosterona pela manhã em pacientes obesos com AOS grave estava associada ao aumento de distúrbios da eficiência do sono e de ansiedade/depressão.⁵

A complexa relação entre os distúrbios do sono noturno e o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) pode levar a alterações na produção de cortisol.⁶⁻⁹ Testosterona e cortisol, principais produtos finais do eixo hipotalâmico-hipófise-gonadal (HHG) e do eixo HHA, respectivamente, fazem parte de um equilíbrio biológico que modula as respostas humanas física e psicologicamente integradas. A inter-relação entre sexo e hormônios do estresse foi amplamente investigada no contexto da medicina esportiva, medindo a proporção de testosterona/cortisol (razão T/C) como um marcador das atividades anabólicas/catabólicas relacionadas ao desempenho e excesso de treino do atleta.^{10,11} Além disso, a razão T/C

foi proposta como um marcador hormonal de psicopatologias,^{12,13} e uma associação específica entre a razão T/C e doença isquêmica também foi relatada.¹⁴

O objetivo deste estudo foi determinar a variação diurna salivar de testosterona livre (T) e cortisol livre (C) e estudar sua inter-relação, medindo as variações diurnas da razão T/C em pacientes com AOS grave. Esta análise aprofundará temas de estudos anteriores, que forneceram apenas dados parciais de dosagens hormonais medidas em tempo único.

Curiosamente, o desequilíbrio hormonal sexual no homem é frequentemente associado a transtornos depressivos e de humor e ansiedade,¹⁵ e interage bidirecionalmente com a função erétil.¹⁶ Portanto, para avaliar a presença de comorbidades, os Questionários do Inventário de Hamilton para Depressão (HDS) e Ansiedade (HAS) e o questionário Índice Internacional de Função Erétil (IIEF) foram administradas à população do estudo.

Método

Casuística

Este estudo prospectivo foi realizado durante seis meses, entre maio de 2011 e dezembro de 2012, no Laboratório do Sono da Clínica de Doenças Pulmonares. O estudo foi formalmente aprovado pelo Comitê de Ética local (Protocolo n.º 14, 29 de abril de 2011). Todos os indivíduos eram caucasianos, foram recrutados entre os pacientes que visitaram o Centro para Distúrbios do Sono e assinaram o termo de consentimento informado antes do início do estudo.

Nós estimamos previamente que, no mínimo, 14 indivíduos (sete por grupo) seriam necessários para detectar uma média de diferença absoluta, correspondendo a uma variação de 50% no pico esperado da razão T/C em indivíduos saudáveis ($40,00 \pm 20,00$ unidade arbitrária), com um erro- α bicaudal de 0,05 e 80% de poder estatístico. Assim, dez pacientes (grupo AOS) foram selecionados com base nos seguintes critérios de inclusão: sexo masculino, 40-60 anos de idade, não fumante, com índice de massa corporal (IMC) $> 30 \text{ kg/m}^2$ (obesidade) e recém-diagnosticados com AOS grave com base em polissonografia (PSG) noturna (índice de apneia-hipopneia, $\text{IAH} \geq 30 \text{ h}^{-1}$) e sonolência diurna excessiva (Escala de Sonolência de Epworth, $\text{ESE} \geq 10$).¹⁷ Os critérios de exclusão incluíram doenças associadas agudas ou crônicas, tabagismo, uso crônico de qualquer medicação e atitude não cooperativa. Os pacientes com suspeita de AOS foram hospitalizados por quatro dias consecutivos. Na manhã da admissão, amostras de sangue foram coletadas para determinar os parâmetros bioquímicos-hematológicos, e a avaliação da função pulmonar (espirometria) e as avaliações psicométricas com a Escala de Hamilton para Depressão,¹⁸ Escala de Hamilton para Classificação da Ansiedade e o Índice Internacional de Função Erétil (IIEF)¹⁹ foram realizadas. No início do estudo, eletrocardiograma (ECG) em repouso, frequência cardíaca (FC) (BTL-08 EUA) e pressão arterial sistólica e diastólica foram registrados (M3 - Omron, Japão). Registros convencionais do sono (SOMNOlab V2.01, Weinmann, Alemanha) foram obtidos das 22h às 7h (dia 2), e os valores de IAH, saturação arterial de oxigênio (SpO_2), índice de dessaturação de oxigênio (IDO) e índice de microalerta foram obtidos aplicando critérios padronizados.²⁰

De acordo com a Academia Americana de Medicina do Sono 2007, o IAH foi calculado como a média do número de apneias mais hipopneias por hora de sono; apneias foram consideradas quando a ausência de fluxo de ar durava pelo menos 10s e hipopneias quando havia, pelo menos, uma queda de 30% no fluxo de ar oronasal, com coincidente dessaturação de oxigênio de pelo menos 4%, com duração mínima de 10s.^{7,20}

Os participantes foram instruídos sobre como coletar saliva e solicitados a evitar a ingestão de comida, café e álcool, escovar os dentes e fazer qualquer exercício físico durante, pelo menos, 30 minutos antes de cada coleta.²¹ Assim, no dia seguinte (dia 3), a saliva foi coletada ao acordar (6h 30 min e 7h 30 min), ao meio-dia (antes do almoço) e à noite às 19h (antes do jantar), para medir a variação diária de cortisol e testosterona. Os tempos exatos de coleta das amostras de saliva foram monitorados por um membro da equipe. Entre os pacientes internados com suspeita de AOS, sete indivíduos adultos do sexo masculino foram selecionados para o grupo controle, que possuíam as mesmas características somáticas dos indivíduos com AOS, mas não apresentavam apneia do sono ($\text{IAH} < 5 \text{ h}^{-1}$, $\text{ESE} < 10$).

Procedimento de amostragem salivar, testosterona e cortisol

A saliva foi coletada usando o dispositivo de amostragem Salivette (Sarstedt, Itália), que permite a recuperação rápida e higiênica da saliva através de centrifugação a 3.000 rpm por 15 min.²²

Para cada amostra, medições duplicadas foram realizadas para o ensaio direto da testosterona em 100 µL de saliva (o coeficiente de variação intraensaios foi de $< 10\%$, e o coeficiente de variação intraensaios $< 7\%$, com uma concentração mínima detectável de 3,5 pg/mL no limite de confiança de 95%, usando kits imunoenzimáticos comerciais) e para o ensaio direto de cortisol em 25 µL de saliva (o coeficiente de variação intraensaios foi $< 10\%$, e o coeficiente de variação intraensaios $< 7\%$, com uma concentração mínima detectável de 0,5 ng/mL no limite de confiança de 95%, Diametra, Itália).

Análise de dados

Todos os dados foram registrados como média $\pm$ EPM. As análises estatísticas foram realizadas e os gráficos foram produzidos utilizando o programa SigmaPlot 11. A distribuição normal dos dados foi avaliada com o teste de Kolmogorov-Smirnov. Quando apropriado, o teste t de Student ou o teste U de Mann-Whitney foram usados como testes paramétricos e não paramétricos, respectivamente, para as comparações entre os grupos.

ANOVA de dois fatores seguida pelo método LSD de Fisher para testes de comparações múltiplas *post-hoc* foram realizados para revelar os efeitos do "GRUPO", "TEMPO" e "GRUPO $\times$ TEMPO" sobre T, C e razão T/C medidos em ambos os grupos às 7, 12 e 19 horas no dia da amostragem.

A área sob a curva (ASC) foi calculada a partir da ASC determinada para cada indivíduo pelo método trapezoidal, usando os três valores de testosterona salivar medidos durante o dia de amostragem (manhã, tarde e noite).²³

A significância estatística foi estabelecida em $p < 0,05$.

Resultados

Características da população do estudo

Como mostrado na tabela 1, os dois grupos eram pareados por idade e não houve diferenças significantes nos valores de IMC; a média do tamanho da cintura foi similar para ambos os grupos, embora acima da faixa normal para os homens.

Os resultados dos testes de função pulmonar (espirometria), volume expiratório forçado (VEF) e capacidade vital (razão VEF/CV) estavam dentro dos limites normais para os indivíduos de ambos os grupos (dados não relatados). Como mostrado na tabela 1, todos os parâmetros da PSG estavam dentro dos limites normais no grupo controle. Em contraste, o grupo AOS apresentou valores significantemente mais elevados de IAH e uma diminuição significante na SpO₂ mínima, que é uma característica de AOS grave. O IDO também estava significantemente aumentado no grupo AOS. A menor duração do sono em pacientes com AOS não atingiu significância estatística e nenhuma alteração foi detectada na eficiência do sono. Além disso, o número de índices de microalertas foi significantemente maior no grupo AOS que no grupo controle. Além disso, a sonolência diurna excessiva, tal como avaliada pela ESE, foi significantemente maior no grupo AOS que no grupo controle.

A tabela 1 também mostra que a média da pressão arterial sistólica estava ligeiramente elevada no grupo AOS, comparado ao grupo controle, sem alteração na pressão arterial diastólica. Além disso, os pacientes com AOS mostraram uma tendência de aumento da FC.

Os escores do Inventário de Hamilton para Depressão (HDS) e Ansiedade (HAS) e os resultados do IIEF para a população do estudo também são apresentados na tabela 1. Os pacientes com AOS apresentaram escores psicométricos significantemente maiores para ansiedade e depressão que os controles. Os escores psicométricos do grupo controle não indicaram sinais de depressão ou ansiedade. Além disso, os pacientes com AOS eram significantemente mais propensos a apresentar distúrbios da função erétil que os controles.

Os marcadores bioquímicos hematológicos e séricos individuais de glicemia e lipídios (colesterol total e triglicérides) estavam dentro dos limites normais para ambos os grupos (dados não mostrados).

Curvas diurnas de testosterona livre salivar e cortisol livre salivar na população do estudo

A figura 1 mostra as curvas diárias de testosterona livre salivar (painel superior) e cortisol livre salivar (painel inferior) para a população do estudo.

Tabela 1 Variáveis somáticas, polissonográficas e psicométricas da população do estudo

	Controle (n = 7)	AOS (n = 10)	Estatística	p
Idade (anos)	51 ± 3	53 ± 3	T = 58,000	0,66
IMC (kg/m ²)	32,2 ± 0,6	32,3 ± 0,7	T = 69,000	0,591
Circunferência da cintura (cm)	105 ± 2	109 ± 2	t = -1,623	0,125
<i>Parâmetros de polissonografia</i>				
IAH (h-1)	2,57 ± 0,48	63,5 ± 9,3	T = 28,000	< 0,001
SpO ₂ mínima (%)	87,6 ± 1,49	68,5 ± 4,27	T = 95,000	0,002
DIO (h-1)	4,86 ± 0,83	58,4 ± 9,35	T = 28,000	< 0,001
Duração do sono (min)	419,3 ± 8,5	395,3 ± 7,5	t = 2,088	0,054
Eficiência do sono (%)	79,9 ± 0,7	78,6 ± 0,7	t = 1,370	0,191
Microalerta (h-1)	9,9 ± 0,94	46,7 ± 6,31	T = 28,000	< 0,001
ESE	4,0 ± 0,83	12,9 ± 1,23	t = -4,910	< 0,001
<i>Pressão arterial sistêmica e FC</i>				
PAS (mmHg)	117 ± 3	127 ± 2	t = -2,744	< 0,05
PAD (mmHg)	69 ± 4	76 ± 2	t = -1,657	0,118
FC (bpm)	67 ± 1	75 ± 2	T = 48,000	0,156
<i>Escores psicométricos</i>				
PAD	5 ± 1	10 ± 0,54	t = -5,073	< 0,001
PAS	2 ± 1	5,3 ± 1	T = 38,000	< 0,05
FE	27,9 ± 0,7	16,0 ± 0,9	T = 98,000	< 0,001
FO	9,0 ± 0,2	6,9 ± 0,3	T = 97,000	< 0,001
DS	9,1 ± 0,1	6,9 ± 0,2	T = 98,000	< 0,001
IS	14,0 ± 0,2	6,5 ± 0,2	t = 18,190	< 0,001
SG	10,0 ± 0	8,5 ± 0,2	T = 98,000	< 0,001

Os dados são expressos como média ± EPM. IMC, índice de massa corporal; IAH, índice de apneia-hipopneia; SpO₂ mínima, saturação mínima de oxigênio; DIO, índice de dessaturação de oxigênio; ESE, Escala de Sonolência de Epworth; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; HDS, Escala de Depressão de Hamilton; HAS, Escala de Ansiedade de Hamilton; FE, função erétil; FO, função orgástica; DS, desejo sexual; IS, satisfação na relação sexual; SG, satisfação geral.

ANOVA de dois fatores mostrou que houve diferenças significantes nas concentrações de testosterona salivar medidas em tempos diferentes do dia (GRUPO: $F_{1,50} = 0,184$, $p = 0,670$; TEMPO: $F_{2,50} = 15,350$, $p < 0,001$; interação GRUPO $\times$ TEMPO: $F_{2,50} = 3,701$, $p = 0,032$). O teste *post-hoc* para comparações múltiplas revelou que a concentração de testosterona medida à noite para o grupo controle (91 ± 4 pg/mL) foi significativamente menor que o valor da manhã (124 ± 10 pg/mL, $p < 0,05$). A mesma variação diurna foi detectada no grupo AOS; a testosterona à noite (54 ± 5 pg/mL) foi significativamente mais baixa que na parte da manhã (136 ± 14 pg/mL, $p < 0,001$). Além disso, a concentração de testosterona no grupo AOS às 19 h foi significativamente menor ($p < 0,01$) que a concentração de testosterona no grupo controle. Finalmente, nenhuma diferença significativa foi detectada entre os grupos controle e AOS na ASC calculada a partir da produção diurna de testosterona total (1240 ± 53 pg/mL/h e 1222 ± 108 pg/mL/h, respectivamente).

As concentrações de C nos grupos controle e AOS são mostradas na figura 1. ANOVA de dois fatores mostrou diferenças significantes entre e intra grupos (GRUPO: $F_{1,5} = 9,594$, $p = 0,003$; TEMPO: $F_{2,50} = 33,152$, $p < 0,001$; interação GRUPO $\times$ TEMPO: $F_{2,50} = 3,753$, $p = 0,031$).

Em ambos os grupos controle e AOS, a concentração salivar de cortisol pela manhã ($7,2 \pm 0,6$ ng/mL e $4,6 \pm 1,0$ ng/mL, respectivamente) foi significativamente mais elevada que à noite ($2,5 \pm 0,4$ ng/mL, $p < 0,001$ e $2,1 \pm 0,1$ ng/mL, $p < 0,001$,

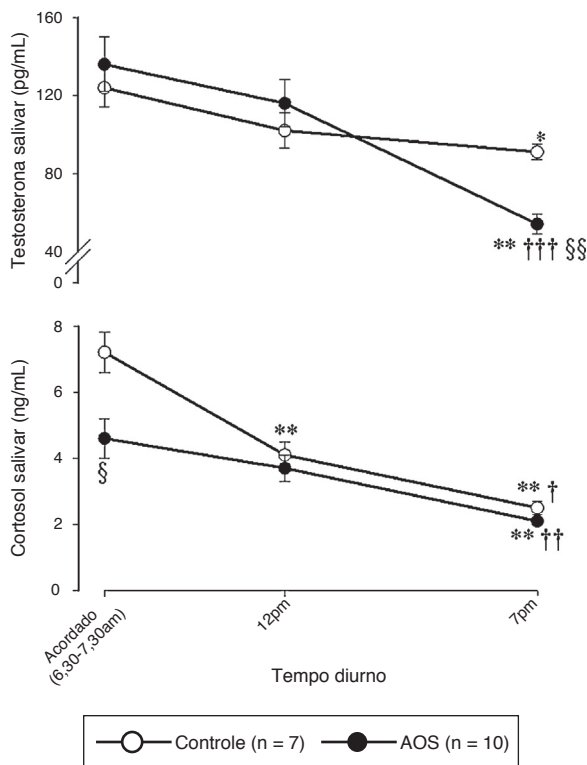


Figura 1 Curvas diurnas salivar de testosterona livre e cortisol livre na população do estudo. Os dados são apresentados como média $\pm$ EPM. Análise estatística: ANOVA de dois fatores seguida pelo teste *post-hoc* para comparações múltiplas: * e ** $p < 0,05$ e $p < 0,01$, respectivamente, vs. o valor às 7h; †, ††, e ††† $p < 0,05$, $p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente, vs. o valor às 12h; § e §§ $p < 0,05$ e $p < 0,01$, respectivamente, vs. o controle.

respectivamente). Além disso, na parte da manhã, a concentração de cortisol no grupo AOS foi significativamente mais baixa que no grupo controle ($p < 0,05$).

Curvas diurnas da razão T/C salivar na população do estudo

A figura 2 mostra as curvas diurnas da razão T/C na população do estudo. ANOVA de dois fatores mostrou diferenças significantes na razão T/C medida durante o dia de amostragem (GRUPO: $F_{1,50} = 0,633$, $p = 0,431$; TEMPO: $F_{2,50} = 3,880$, $p = 0,028$; interação GRUPO $\times$ TEMPO: $F_{2,50} = 5,347$, $p = 0,008$). No grupo controle, houve um aumento progressivo e estatisticamente significativo na razão T/C durante o dia de amostragem (7 h = 18 ± 9 ; 12 h = 27 ± 3 ; 19 h = 43 ± 5). Em contraste, não houve variações diurnas significantes na razão T/C do grupo AOS (7 h = 28 ± 3 ; 12 h = 34 ± 4 ; 19 h = 27 ± 4). Além disso, a razão T/C no grupo AOS foi significativamente maior que no grupo controle pela manhã ($p < 0,05$) e significativamente menor que no grupo controle à noite ($p < 0,05$).

Discussão

Neste estudo, medimos as curvas diurnas das concentrações salivar de cortisol e testosterona livres e analisamos a interação desses dois hormônios, avaliando a variação diurna da razão T/C em pacientes com AOS grave. Além disso, avaliação psicométrica de ansiedade/depressão e dos distúrbios autorrelatados da função sexual foi realizada. A principal conclusão deste estudo é que os pacientes obesos do sexo masculino com AOS apresentam uma concentração de T reduzida à noite e uma concentração reduzida de C na parte da manhã, em comparação com controles obesos não apneicos. Além disso, os pacientes do sexo masculino, obesos e

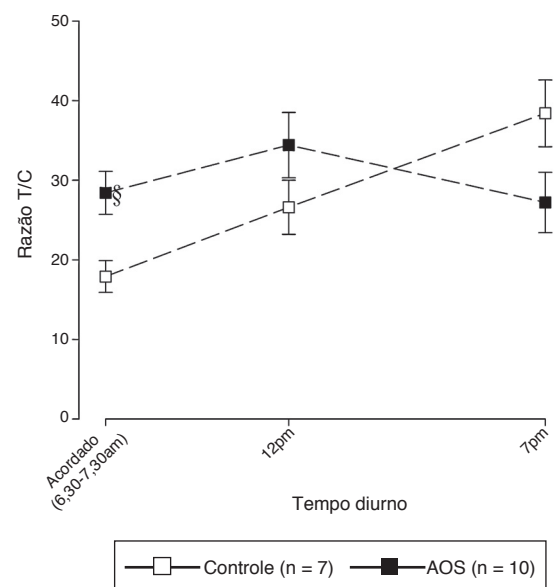


Figura 2 Curvas diurnas da razão T/C na população do estudo. Os dados são apresentados como média $\pm$ EPM. Análise estatística: ANOVA de dois fatores seguida pelo teste *post-hoc* para comparações múltiplas, * $p < 0,001$ vs. o valor às 7h; † $p < 0,05$ vs. o valor às 12h; § $p < 0,05$ vs. o controle correspondente.

com AOS apresentam um desequilíbrio na razão T/C medida pela manhã e à noite.

Acredita-se que os hormônios sexuais estão envolvidos na patogênese da AOS em indivíduos adultos do sexo masculino que apresentam níveis reduzidos de androgênio circulante.^{5,16} No presente estudo, não houve diferença entre os grupos controle e AOS na variação da curva diurna de T; as concentrações noturnas de T foram tipicamente menores que diurnas em ambos os grupos experimentais.^{24,25} A concentração de testosterona salivar menor do que a dos controles também se traduz em um aumento de comorbidades (fadiga, depressão, redução geral da sensação de bem-estar, distúrbios do sono, etc.)¹⁶ que afetam nossos indivíduos com AOS. Já que o IMC acima do intervalo normal estava presente em ambos os grupos experimentais, a AOS em si, em vez da obesidade, parece ser a causa da diminuição da concentração de testosterona salivar no presente estudo. É possível que o aumento na produção de testosterona pela manhã seja derivado de um ritmo circadiano endógeno de testosterona e não esteja diretamente relacionado com qualquer dos estados de sono.²⁶ No entanto, os pacientes com AOS, nesse estudo, experimentaram uma diminuição na condução para modificações estressantes dos padrões de sono com menos eficiência do sono.²⁶

Neste estudo, demonstramos que os indivíduos com AOS mantêm a atividade circadiana fisiológica no eixo HHA, com as concentrações de cortisol mais elevadas no período da manhã e mais baixas à noite. A manutenção regular da produção circadiana de cortisol em indivíduos com AOS também foi relatada em um estudo anterior²⁷; no entanto, os autores não detectaram qualquer diferença entre os pacientes com AOS e os controles na concentração de cortisol pela manhã. Essa discordância pode estar relacionada ao fato de que, no presente estudo, apenas a fração livre “bioativa” é detectada na saliva, o que corresponde à fração plasmática livre não ligada ao hormônio.⁷ Na verdade, o hipocortisolismo pela manhã em pacientes com AOS foi recentemente confirmado.⁸ As concentrações mais elevadas de T e C ocorrem no início do dia, enquanto os níveis mais baixos ocorrem à noite.^{25,28} Em nosso estudo, usamos três tempos de mensuração da amostragem diurna pela primeira vez, e conseguimos detectar um aumento gradual na razão T/C ao longo do dia. Uma alteração no equilíbrio entre os dois hormônios esteroides pode colocar um indivíduo em risco de ruptura da homeostase. No presente estudo, os indivíduos com AOS apresentaram uma razão T/C mais elevada pela manhã que os controles; no entanto, durante a noite, esta razão estava significativamente mais baixa nos indivíduos com AOS, em comparação com o grupo controle. Esse desequilíbrio no balanço anabólico-catabólico pode ser atribuído ao hipocortisolismo matutino que caracteriza a AOS grave^{7,8}; a resposta nivelada resultante aos desafios noturnos cronicamente repetidos reflete uma desregulação do eixo HHA.²⁹ Em contraste, a diminuição da razão T/C no grupo AOS à noite pode ser um resultado da queda acentuada na concentração de T às 19 h.

A obesidade em homens está associada à redução da secreção de androgênio.³⁰ No entanto, no presente estudo, a obesidade não foi considerada um fator de confusão na redução da concentração de T, porque a obesidade estava presente em ambos os grupos. O tratamento da AOS moderada a grave com pressão positiva contínua nas vias aéreas (CPAP)

não aumenta os níveis de testosterona de forma confiável na maioria dos estudos. Em contraste, a redução do peso corporal o faz, de maneira previsível e linear em proporção à quantidade de peso perdido.¹⁶

Em comparação com o grupo controle, os pacientes com AOS apresentaram um leve transtorno de ansiedade e depressão ou de sonolência diurna excessiva. Recentemente, uma relação entre humor depressivo e obesidade foi descrita.³¹ No entanto, a contribuição do desequilíbrio da razão T/C para o desenvolvimento de sintomas depressivos e de ansiedade nos pacientes com AOS grave e o papel fundamental que a obesidade desempenha na patogênese das comorbidades da AOS precisam ser mais estudados.

AOS é uma causa conhecida de distúrbios sexuais nos homens.^{16,32,33} Neste estudo, confirmamos que os pacientes com AOS sofrem de disfunção sexual leve a moderada, avaliada pelo questionário IIEF.¹⁹

Conclusões

A principal conclusão deste estudo é que pacientes obesos, do sexo masculino, com AOS apresentam alterações significantes nas curvas diurnas de T e C em comparação com os controles obesos e não apneicos. O hipocortisolismo foi particularmente pronunciado pela manhã. Por outro lado, a concentração de T foi mais baixa à noite. Além disso, embora os pacientes com AOS tenham mantido a variação fisiológica diurna da razão T/C, eles apresentaram um desequilíbrio na curva diurna da razão T/C.

Este estudo supera outros anteriores, ao usar dosagens hormonais salivares para detectar a fração livre de hormônios esteroides no plasma³⁴ e ao usar um protocolo voltado para um alvo. Em particular, o uso de dados de várias mensurações diurnas em vez de uma única permitiu a detecção das alterações da razão T/C de sinais opostos no início e final do dia, permitindo um estudo mais preciso dos eixos HHG e HHA. Finalmente, é provável que, em indivíduos com AOS, a má qualidade do sono, o cansaço e o estresse psicológico estejam entre as comorbidades que afetam as respostas cruciais para a manutenção do equilíbrio fisiológico hormonal anabólico-catabólico. Contudo, não estabelecemos uma relação causal entre esses fatores. Na verdade, uma limitação deste estudo é que demonstramos apenas a coexistência da produção desequilibrada de T e C e as comorbidades da AOS. Para abordar completamente essa possível relação, mais pesquisas adicionais com amostras de tamanho adequado para um projeto de estudo correlato são necessárias.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Agradecimento

Os autores gostariam de agradecer MASOPHRD (*Managing Authority for Sectoral Operational Program Human Resources Development*) por fornecer o apoio financeiro a RMB como parte do projeto POSDRU/107/1.5/S78702, intitulada “Parceria Inter-universitária para aumentar a qualidade da

pesquisa médica de doutorado e interdisciplinar através de Scholarships-DocMed.net". Este estudo foi parcialmente financiado por uma concessão do MIUR a FRP, como parte do Acordo Científico Bilateral entre as Universidades Sapienza e Grigore Popa T.

Referências

- Hiestand DM, Britz P, Goldman M, Phillips B. Prevalence of symptoms and risk of sleep apnea in the US population: results from the national sleep foundation sleep in America 2005 poll. *Chest*. 2006;130:780-6.
- Jennum P, Riha RL. Epidemiology of sleep apnoea/hypopnea syndrome and sleep-disordered breathing. *Eur Respir J*. 2009;33:907-14.
- Young T, Peppard PE, Gottlieb DJ. Epidemiology of obstructive sleep apnea: a population health perspective. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;165:217-39.
- Luboshitzky R, Lavie L, Shen-Orr Z, Herrer P. Altered luteinizing hormone and testosterone secretion in middle-aged obese men with obstructive sleep apnea. *Obes Res*. 2005;13:780-6.
- Bercea RM, Patacchioli FR, Ghiciuc CM, Cojocar E, Mihaescu T. Serum testosterone and depressive symptoms in severe OSA patients. *Andrologia*. 2013;45:345-50.
- Tomfohr LM, Edwards KM, Dimsdale JE. Is obstructive sleep apnea associated with cortisol levels? A systematic review of the research evidence. *Sleep Med Rev*. 2012;16:243-9.
- Ghiciuc CM, Dima-Cozma LC, Bercea RM, Lupusoru CE, Mihaescu T, Szalontay A, et al. Restoring of salivary cortisol awakening response (CAR) by nasal continuous positive airway pressure (CPAP) therapy in obstructive sleep apnea. *Chronobiol Int*. 2013;30:1024-31.
- Karaca Z, Ismailogullari S, Korkmaz S, Cakir I, Aksu M, Baydemir R, et al. Obstructive sleep apnoea syndrome is associated with relative hypocortisolemia and decreased hypothalamo-pituitary-adrenal axis response to 1 and 250 g ACTH and glucagon stimulation tests. *Sleep Med*. 2013;14:160-4.
- Patacchioli FR, Tabarrini A, Ghiciuc CM, Dima-Cozma LC, Prete A, Bianchini C, et al. Salivary biomarkers of obstructive sleep apnea syndrome in children. *Pediatr Pulmonol*. 2014;49:1145-52.
- Brownlee KK, Moore AW, Hackney AC. Relationship between circulating cortisol and testosterone: influence of physical exercise. *JSSM*. 2005;4:76-83.
- Peeri M, Zamani M, Farzanegi P, Rakhshanizadeh A, Piri E. Effect of sleep disorder on the levels of testosterone, cortisol and T/Cratio in young football players. *Ann Biol Res*. 2012;3:3798-804.
- Glenn LA, Raine A, Schug RA, Gao YD, Granger DA. Increased testosterone to cortisol ratio in psychopathy. *J Abnorm Psychol*. 2011;120:389-99.
- Terburg D, Morgan B, van Honk J. The testosterone-cortisol ratio: a hormonal marker for proneness to social aggression. *Int J Law Psychiatry*. 2009;32:216-23.
- Smith GD, Ben-Shlomo Y, Beswick A, Yarnell J, Lightman S, Elwood A. Cortisol, testosterone, and coronary heart disease: prospective evidence from the Caerphilly Study. *Circulation*. 2005;112:332-40.
- Fernández-Guasti A, Fiedler JL, Herrera L, Handa RJ. Sex, stress, and mood disorders: at the intersection of adrenal and gonadal hormones. *Horm Metab Res*. 2012;44:607-18.
- Anderson ML, Tufik S. The effects of testosterone on sleep and sleep-disordered breathing in men: its bidirectional interaction with erectile function. *Sleep Med Rev*. 2008;12:365-79.
- Johns MW. A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth Sleepiness Scale. *Sleep*. 1991;14:50-5.
- Hamilton M. A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1960;23:56-62.
- Rosen RC, Riley A, Wagner G, Osterloh IH, Kirkpatrick J, Mishra A. The international index of erectile function (IIEF) a multidimensional scale for assessment of erectile dysfunction. *Urology*. 1997;49:822-30.
- Iber C, Anonni-Israel S, Chesson AL, Quan SF. The AASM manual for the scoring of sleep and associated events. Westchester, IL: American Academy of Sleep Medicine; 2007.
- Hackney AC, Viru A. Research methodology: endocrinology measurements in exercise science and sports medicine. *J Athl Train*. 2008;43:631-9.
- Gröschl M, Khöler H, Topf HG, Rupprecht T, Rauh M. Evaluation of saliva collection devices for the analysis of steroids, peptides and therapeutic drugs. *J Pharm Biomed Anal*. 2008;47:478-86.
- Pruessner JC, Kirschbaum C, Meinlschmid G, Hellhammer DH. Two formulas for computation of the area under the curve represent measures of total hormone concentration versus time-dependent change. *Psychoneuroendocrinology*. 2003;28:916-31.
- Cooke RR, McIntosh JE, McIntosh RP. Circadian variation in serum free and non-SHBG-bound testosterone in normal men: measurements, and simulation using a mass action model. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1993;39:163-71.
- Plymate SR, Tenover JS, Bremner WJ. Circadian variation in testosterone, sex hormone-binding globulin, and calculated non-sex hormone-binding globulin bound testosterone in healthy young and elderly men. *J Androl*. 1989;10:366-71.
- Axelsson J, Ingre M, Åkerstedt T, Holmbäck U. Effects of acutely displaced sleep on testosterone. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90:4530-5.
- Raff H, Ettema SL, Eastwood DC, Woodson BT. Salivary cortisol in obstructive sleep apnea: the effect of CPAP. *Endocrine*. 2011;40:137-9.
- Ghiciuc CM, Dima-Cozma CL, Pasquali V, Renzi P, Simeoni S, Lupusoru CE, et al. Awakening responses and diurnal fluctuations of salivary cortisol, DHEA-S and -amylase in healthy male-subjects. *Neuroendocrinol Lett*. 2011;32:475-80.
- Nater UM, Maloney E, Roumiana S, Gurbaxani BM, Lin JM, Jones JF, et al. Attenuated morning salivary cortisol concentrations in a population-based study of persons with chronic fatigue syndrome and well controls. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93:703-9.
- Feldman HA, Longcope C, Derby CA, Johannes CB, Araujo AB, Coviello AD, et al. Age trends in the level of serum testosterone and other hormones in middle-aged men: longitudinal results from Massachusetts Male Aging Study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:589-98.
- de Wit LM, Fokkema M, van Straten A, Lamers F, Cuijpers P, Penninx BW. Depressive and anxiety disorders and the association with obesity, physical and social activities. *Depress Anxiety*. 2010;27:1057-65.
- Petersen M, Kristensen E, Berg S, Midgren B. Sexual function in male patients with obstructive sleep apnoea. *Clin Respir J*. 2010;4:186-91.
- Bercea RM, Mihaescu T, Cojocar C, Bjorvatn B. Fatigue and serum testosterone in obstructive sleep apnea patients. *Clin Respir J*. 2015;9:342-9.
- Rilling JC, Worthman CM, Campbell BC, Stallings JF, Mbizva M. Ratios of plasma and salivary testosterone throughout puberty: production versus bioavailability. *Steroids*. 1996;61:374-8.