

ENDOCRINOLOGÍA Y NUTRICIÓN

www.elsevier.es/endo



ORIGINAL

Valoración de niveles de testosterona mediante diferentes métodos analíticos en varones sanos

Concepción Sanabria Pérez y José Angel Díaz Pérez*

Servicio de Endocrinología y Nutrición, Hospital Clínico San Carlos, Madrid, España

Recibido el 21 de octubre de 2009; aceptado el 19 de abril de 2010

Disponible en Internet el 9 de junio de 2010

PALABRAS CLAVE

Testosterona total;
Testosterona libre;
Testosterona
biodisponible;
Hipogonadismo

Resumen

Las determinaciones plasmáticas de testosterona son fundamentales para el diagnóstico de las distintas causas de hipogonadismo, incluido el hipogonadismo de inicio tardío. Existen dificultades para interpretar los resultados de las concentraciones de testosterona debido a los cambios que se presentan con la edad y por la variabilidad de los distintos métodos utilizados.

Objetivos: Estudiar los rangos de normalidad de testosterona en varones jóvenes sanos y comparar los resultados de los distintos métodos analíticos utilizados.

Material y métodos: Se incluyeron 20 hombres sanos con una edad media de 24,5 años (desviación estándar (DE): 5,04), un índice de masa corporal (IMC) medio de 23,8% (DE: 3,3). Se determinaron las concentraciones de testosterona total (TT) mediante inmunoquimioluminiscencia (ICLA), de testosterona libre (TL) mediante radioinmunoensayo (RIA), y se calculó la testosterona libre calculada (TLc) y la testosterona biodisponible (TB) mediante la fórmula de Vermeulen. Se midieron las concentraciones séricas de lutropina (LH), folitropina (FSH) y proteína ligadora de hormonas sexuales (SHBG) por método inmunoradiométrico (IRMA).

Resultados: Las concentraciones medias de TT fueron de 20 nmol/l (DE 4,96), las de TL de 0,054 nmol/l (DE 0,01), los de TLc de 0,3834 nmol/l (DE 0,09) y los de TB de 9,9 nmol/l (DE: 2,8). No se encontró correlación entre las concentraciones de testosterona medidos por los distintos métodos, excepto entre TL y TLc ($r=0,662$; $p<0,003$) y entre TLc y TB ($r=0,979$; $p<0,0001$). Existe una asociación inversa entre IMC y las concentraciones de testosterona total ($r: -0,52$; $p<0,017$).

Conclusiones: Es necesario establecer el intervalo de normalidad para la testosterona en hombres jóvenes sanos en función del método analítico utilizado.

© 2009 SEEN. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: joseangeldiaz@mixmail.com (J.A. Díaz Pérez).

KEYWORDS

Total testosterone;
Free testosterone;
Bioavailable
testosterone;
Hypogonadism

Evaluation of testosterone levels through distinct analytic methods in healthy men**Abstract**

Plasma testosterone concentrations are essential for the diagnosis of several causes of hypogonadism, including late-onset hypogonadism. Defining the normal range for testosterone concentrations poses certain difficulties due to the changes that occur with age and the variability of the different analytical methods used.

Objectives: To study normal ranges of testosterone in healthy young men and to compare the results of distinct analytical methods.

Material and methods: We recruited 20 healthy men with a mean age of 24.5 years (standard deviation (SD): 5.04) and a mean body mass index (BMI) of 23.8% (SD: 3.3). Total testosterone (TT) was measured by immunochemiluminescence (ICLA) and free testosterone (FT) by radioimmunoassay (RIA). Calculated free testosterone (FTc) and bioavailable testosterone (BT) were calculated using Vermeulen's formula. Serum luteinizing hormone (LH), follicle-stimulating hormone (FSH) and sex hormone binding globulin (SHBG) were measured by immunoradiometric assays (IRMA).

Results: The mean concentrations were 20 nmol/L (SD: 4.96) for TT, 0.054 nmol/L (SD: 0.01) for FT, 0.3834 nmol/L (SD: 0.09) for FTc and 9.9 nmol/L (SD: 2.8) for BT. There was no correlation between testosterone measured by different methods other than an association between FT and FTc ($r=0.662$, $p<0.003$) and between FTc and BT ($r=0.979$, $p<0.0001$). An inverse correlation was found between BMI and TT concentrations ($r: -0.52$, $p<0.017$).

Conclusions: The normal range for testosterone in healthy young men should be established in each laboratory based on the analytical method used.

© 2009 SEEN. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

La valoración de las concentraciones de testosterona en los varones constituye un reto en el campo de la endocrinología, no solamente para el diagnóstico de las distintas causas de hipogonadismo, sino para establecer el rango de normalidad en población general. Una de las dificultades en su valoración radica en los cambios fisiológicos que éstas presentan con la edad, ya que no están claramente definidos los valores de referencia según los diferentes grupos de edad, y sobre todo porque no está establecido cual es el mejor método bioquímico para su determinación.

La testosterona (T) en el varón procede el 90% de las células de Leydig testiculares que producen bajo el estímulo de la lutropina (LH) aproximadamente 7 mg de testosterona al día. El 5–10% restante proviene de las glándulas suprarrenales. El 44–60% de la T circula unida a la globulina ligadora de esteroides sexuales (SHBG) y el 38–54% circula unida a la albúmina. Sólo un 1–2% circula de forma libre (TL). La TL junto a la unida a la albúmina se denomina testosterona biodisponible (TB). La T se convierte en tejidos periféricos en estradiol por acción de la enzima aromatasa y en dihidrotestosterona (DHT) a través de la 5- α -reductasa, sobre todo en la próstata¹.

Con la edad se pierde el ritmo circadiano normal de la T y la biodisponibilidad de la T sérica no ligada a SHBG. La frecuencia de los pulsos y la amplitud de la LH disminuyen y el aumento de la LH es inferior a lo que se podría predecir por el descenso, lo que sugiere cambios a nivel hipofisario y periférico. El descenso de los receptores de andrógenos contribuye al hipogonadismo que se presenta con la edad^{2,3}.

En el análisis transversal del *Massachusetts Male Aging Study* los parámetros relacionados con la T comenzaron a modificarse a partir de los 40 años. Las concentraciones de TL disminuyeron un 1,2% por año y las de SHBG aumentaron 1,2% al año⁴. Estudios longitudinales de la misma población seguida más de 10 años demuestran una caída progresiva de las concentraciones séricas de TT y TL un 1,5% al año en relación con la edad⁵.

El *Baltimore Longitudinal Study* que incluye a 890 varones revela la presencia de hipogonadismo en el 19% de los hombres con edad >60 años, 28% tras los 70 y 49% a partir de los 80, cuando se utiliza como criterio diagnóstico concentraciones de TT por debajo de 11,3 nmol/l (325 ng/dl). Las tasas de hipogonadismo diagnosticado son mayores cuando utilizan el índice de TL: en >60 años (34%), >70 años (69%), >80 años (91%)⁶. Otro estudio establece una tasa cruda de incidencia de 12,3 por 1.000 varones de 40 a 69 años, con un aumento estadísticamente significativo con la edad. Con estos datos estiman una prevalencia de 2,4 millones de casos de deficiencia androgénica en la población de EE.UU. con una incidencia de 481.000 nuevos casos/año⁷. Estudios europeos varían en el porcentaje de casos con hipogonadismo en la edad adulta (HIT), desde un 25–30% de los hombres >70 años⁸, hasta de 11,5% de hombres entre 60–90 años⁹.

Un estudio transversal español de 230 varones mayores de 50 años estima una prevalencia de 4,8% de hipogonadismo cuando se utiliza como criterio las concentraciones de TT y un 24,8% si se utiliza la TLc estimada mediante el cálculo matemático de Vermeulen¹⁰.

La determinación de las concentraciones de TT puede hacerse mediante radioinmunoensayo (RIA), enzoinmunoensayo (ELISA) o ensayo inmunoquimioluminiscente (ICLA) y RIA

tras extracción por cromatografía. El método de mayor precisión y dificultad es el que utiliza espectrometría de masas tras extracción con cromatografía, que además permite medir simultáneamente otros esteroides¹¹. La TL medida directamente mediante diálisis en equilibrio, ultrafiltración o filtración con gel son los métodos más fiables, pero requiere de gran habilidad y cuidado^{12,13}. Para el cálculo de la TLc mediante la fórmula de Vermeulen se requiere de la determinación de la TT, de la albúmina y de la SHBG por lo que sus resultados se ven afectados por los errores de medida en estos parámetros¹⁴.

Material y métodos

Sujetos

Tras explicar el objeto del estudio por un facultativo y de firmar el consentimiento informado a voluntarios del estudio, se evaluaron 20 hombres con una edad media de 24,5 años (DE: 5,04), rango 18–34 años; una talla media 177, 5 cm (DE: 6,5), rango 162–188 cm; un peso medio 74,5 kg (DE: 10,3), rango 51–98 kg y un índice de masa corporal (IMC) (peso/talla²) medio de 23,8 kg/m² (DE: 3,3), rango 17–32 kg/m². Se realizó una extracción basal entre las 9,00–9,30. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Clínico San Carlos. De los 20 pacientes incluidos se excluyeron 2 para el estudio de asociaciones entre los distintos métodos de testosterona por presentar un IMC >30 kg/m². Para el análisis de asociaciones entre IMC y testosterona se incluyeron a los 20 pacientes.

Métodos

Se realizaron determinaciones plasmáticas de TT, albúmina, LH, folitropina (FSH), SHBG, TL y se calculó la TLc y TB mediante la fórmula de Vermeulen.

La TT se determinó mediante ICLA (DXi 800, Beckman Coulter, Brea, CA), con una sensibilidad de 0,3 nmol/l. Intervalo de referencia (6,0–27,0 nmol/l). La determinación de albumina se realizó mediante técnica colorimétrica (método verde de bromocresol, Olympus Diagnostics, GmbH) (intervalo de referencia entre 3–5 g/dl). Las determinaciones de LH y FSH se realizaron mediante IRMA (Immunotech, Marseille, France). Intervalo de referencia LH: 0,5–10,0 mUI/ml; FSH: 2,2–10,0 mUI/ml. Sensibilidad analítica: 0,2 mUI/ml. Coeficiente de variación (C.V.) intraensayo e interensayo: LH: <1,7% y <4,5%, FSH: <2,6% y <6,3%, respectivamente. La determinación de SHBG se realizó mediante IRMA (Orion Diagnostics, Spoo,

Finland). Intervalo de referencia: 16–61 nmol/l. Sensibilidad analítica: 1,3 nmol/l. C.V. intraensayo: 4,8%; interensayo: 5,3%. La determinación de TL se realizó mediante RIA (Coat-A-Count Free Testosterone, DPC, Los Angeles, CA). Intervalo de referencia por edades: 20–39 años: 0,027–0,091 nmol/l (8–27 pg/ml); 40–59 años: 0,024–0,078 nmol/l (7,2–23,0 pg/ml); 60–80 años: 0,019–0,064 nmol/l (5,6–19,0 pg/ml). Sensibilidad 0,15 pg/ml (0,00051 nmol/L). C.V. intraensayo <8%. C.V. interensayo <8,0%.

Los cálculos de TLc y de TB se realizaron mediante las fórmulas de Vermeulen¹²:

Análisis estadístico

Se realizó un análisis estadístico utilizando el programa estadístico SPSS 15.0. Se efectuó un análisis descriptivo de la media, desviaciones estándar, rangos e intervalos de confianza. Para estudiar asociación de variables cuantitativas se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson para las variables distribuidas de forma normal y el coeficiente de correlación de Spearman en caso contrario. Valores de la $p < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos.

Resultados

Las concentraciones medias de TT fueron de 20 nmol/l (DE: 4,96; rango: 11,6–28,30). Las concentraciones medias de TL por RIA fueron de 0,054 nmol/l (DE: 0,01; rango: 0,027–0,078). Las concentraciones medias de TLc de 0,383 nmol/l (DE: 0,09; rango: 0,25–0,54) y las de TB de 9,9 nmol/l (DE: 2,8; rango: 6,5–14).

La concentración media de LH fue de 3,28 mUI/ml (DE: 1,7; rango: 0,8–6,7), la de FSH de 2,70 mUI/ml (DE: 1,3; rango: 1,1–5,3), la de SHBG de 38,8 nmol/l (DE: 20,8; rango: 16–86) y la de albúmina de 4,77 g/dl (DE: 0,2; rango: 4–5,1) (tabla 1).

No se halló correlación entre la TT y la TL, ni con la medida con RIA ni con las calculadas con fórmula (TLc y TB). Existen correlaciones significativas entre la TL medida por RIA y las testosterona TLc y TB calculadas mediante fórmulas, utilizando el coeficiente de correlación de Spearman: TL y TLc ($r=0,662$; $p<0,003$); TL y TB ($r=0,643$; $p<0,004$). La asociación entre TLc y TB fue alta, ya que las fórmulas de cálculo son parecidas ($r=0,97$; $p<0,001$) (tabla 2).

Se observó una correlación inversa entre IMC y TT utilizando el coeficiente de Pearson ($r=-0,52$; $p<0,017$) (fig. 1). No se encontró correlación entre IMC y la TL.

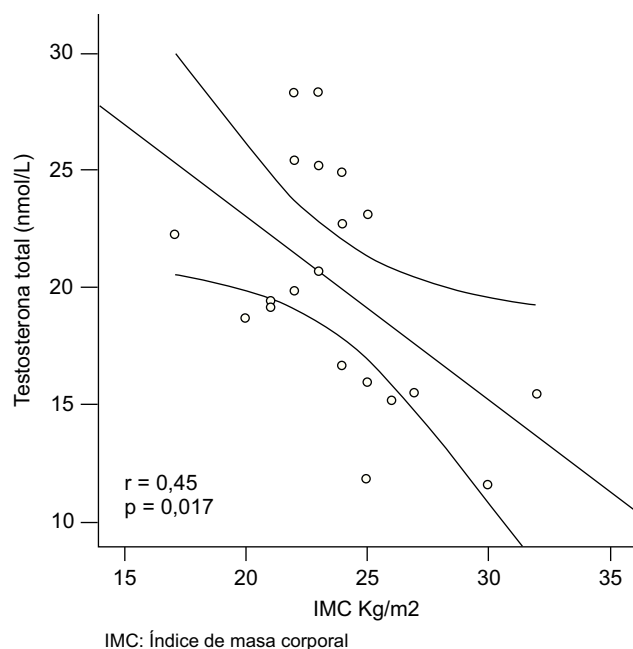
Tabla 1 Valores medios, desviaciones estándar y rangos de testosterona, LH, FSH, SHBG y albúmina

Testosterona total (TT)	20 nmol/l (DE 4,96, rango: 11,6–28,30)
Testosterona libre (TL)	0,054 nmol/l (DE 0,01, rango: 0,027–0,078)
Testosterona libre calculada (TLc)	0,383 nmol/l (DE 0,09, rango: 0,25–0,54)
Testosterona biodisponible (TB)	9,9 nmol/l (DE 2,8, rango: 6,5–14)
LH	3,28 mUI/ml (DE 1,7, rango: 0,8–6,7)
FSH	2,70 mUI/ml (DE 1,3, rango: 1,1–5,3)
SHBG	38,8 nmol/l (DE 20,8, rango: 16–86)
Albúmina	4,77 g/dl (DE 0,2, rango: 4–5,1)

FSH: folitropina; LH: lutropina; SHBG: globulina enlazante de hormonas sexuales.

Tabla 2 Correlaciones entre los niveles de testosterona medidos por los distintos métodos

<i>Rho de Spearman</i>	<i>Testosterona libre (TL) (nmol/l)</i>	<i>Testosterona libre calculada (TLC) (nmol/l)</i>	<i>Testosterona total (TT) (nmol/l)</i>	<i>Testosterona Biodisponible (TB) (nmol/l)</i>
<i>Testosterona libre (TL)</i>		0,662*	0,30	0,64*
<i>Testosterona libre calculada (TLC)</i>	0,662*		0,31	0,97*
<i>Testosterona total (TT)</i>	0,30	0,31		0,39
<i>Testosterona Biodisponible (TB)</i>	0,64*	0,97*	0,39	

*La correlación es significativa ($p < 0,01$).**Figura 1** Correlación entre el índice de masa corporal y las concentraciones de testosterona total. IMC: índice de masa corporal.

Discusión

El estudio presenta grandes limitaciones por el escaso número de sujetos incluidos. A pesar de eso, se obtuvieron resultados similares a otros estudios realizados en poblaciones de mayor tamaño, que no encuentran correlaciones entre la testosterona total y la testosterona libre medida de forma directa o calculada mediante fórmulas.

Para obtener unos resultados analíticos valorables hay que tener en cuenta diversos factores, desde el correcto transporte de las muestras, el retraso en la llegada al laboratorio, y la extracción matinal temprana (8,00–9,30). También hay controversia en cuanto a los rangos de referencia por edades. Diversos autores y guías clínicas indican que dichos rangos deben ser comparados con los de hombres sanos entre 20–39 años de edad¹⁵.

Existe una gran diferencia en los rangos de referencia de los distintos kits comerciales, que deben tenerse en cuenta.

Los datos, utilizando diferentes métodos estadísticos, dan resultados muy divergentes. Los laboratorios deben estudiar sus propios rangos referidos al menos a 120 individuos jóvenes sanos¹⁶.

El análisis de la testosterona libre calculada mediante fórmulas (TLC y TB) requiere la determinación de la total, que es afectada por los errores anteriormente expuestos. La TL medida directamente mediante diálisis en equilibrio, ultrafiltración o filtración con gel son los métodos más fiables, pero requieren de gran habilidad y cuidado. La determinación de TL mediante RIA ha sido criticada por algunos autores por la baja sensibilidad cuando se comparan los resultados de los distintos laboratorios y por la falta de correlación con la testosterona total^{12,17–19}.

En nuestra muestra los valores medios de TT (ICLA) fueron de 20 nmol/l, los de TL por RIA de 0,054 nmol/l y los de TLC de 0,383 nmol/l. Aunque presentaban una dispersión importante se encontraban todos dentro de la normalidad de los rangos que ofrecía nuestro laboratorio. No encontramos correlación entre los valores de la TT con los de TL medida por RIA ni con los de TLC. Sí encontramos correlación entre la TL medida por RIA y la calculada mediante fórmulas que incluyen la TT, la SHBG y la albúmina. Otros estudios en población española joven con mayor número de pacientes encuentran una asociación baja entre la determinación de testosterona libre por métodos directos (enzimoinmunoanálisis) y la testosterona libre calculada²⁰.

Esto podría ser debido en nuestro estudio por emplear el RIA, método que actualmente parece menos fiable que los métodos que utilizan diálisis de equilibrio o ultrafiltración con gel.

Aunque en pacientes jóvenes el hipogonadismo se presenta casi siempre con síntomas y concentraciones de T inequívocas, en el diagnóstico de hipogonadismo de inicio tardío es fundamental establecer valores de normalidad de TT y TL, por lo que el uso de diferentes métodos podría ofrecer valores discordantes. Las distintas sociedades científicas recomiendan determinar inicialmente la TT en presencia de síntomas como disminución de la libido, disfunción eréctil, disminución de la fuerza muscular, incremento de la masa grasa, disminución de la densidad mineral ósea, disminución de la vitalidad y ánimo deprimido. Los pacientes con valores de TT >12 nmol/l (350 ng/dl) no requieren tratamiento. Los pacientes con síntomas compatibles y niveles de TT <8 nmol/l (230 ng/dl) son candidatos a dicho tratamiento. En pacientes con valores

entre 8–12 nmo/l se recomienda medir la TL mediante técnicas de equilibrio de diálisis o calcular la TB a partir de la TT, la albúmina y la SHBG. Valores por debajo de 225 pmol/l (65 pg/ml) sugieren la existencia de HIT y la necesidad de tratamiento^{21,22}.

En nuestra muestra encontramos una correlación negativa entre las concentraciones de TT y el IMC aunque no se encontró dicha asociación con la TL. La obesidad, hipertensión, dislipemia y la resistencia a la insulina están a menudo presentes en los pacientes con hipogonadismo. Muchos estudios han establecido una relación entre las concentraciones bajas de T y obesidad²³. Los hombres obesos tienen entre un 20–64% menos de TT y TL²⁴. Estudios recientes encuentran relación entre concentraciones de T bajas y síndrome metabólico y diabetes^{25,26}. En un estudio en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 en el que usan la TL medida por método de equilibrio de diálisis encuentran una prevalencia de 33% de hipogonadismo bioquímico²⁷.

En conclusión, en nuestra muestra de sujetos jóvenes no encontramos asociación entre las concentraciones de TT y la TL medida por RIA ni con la TLc ni la TB. Cada laboratorio debe establecer sus propios rangos de referencia por grupos de edades y utilizar métodos más fiables para la determinación de la testosterona libre.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

A Eva Jiménez del Departamento de Epidemiología de nuestro Hospital por el apoyo en el cálculo estadístico.

Bibliografía

- Griffin JE, Wilson JD. Trastornos de los testículos y el aparato reproductor masculino. En: *Williams Textbook of Endocrinology*: Tratado de Endocrinología. Vol. 1. 10ª edición española. Editorial Elsevier S.A.; 2004. p. 773–9.
- Bhasin S, Bagatelli J, Bremner W, Plymate S, Tenover L, Kormenian S, et al. Issues in testosterone replacement in older men. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83:3435–48.
- Lamberts SW, van der Beld AW, van der Lely AJ. The endocrinology of ageing. *Science*. 1997;278:419–24.
- Gray A, Feldman HA, McKinlay JB, Longcope C. Age, disease, and changing sex hormone levels in middle-aged men: results of the Massachusetts Male Aging Study. *J Clin Endocrinol Metab*. 1991;73:1016–25.
- 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 the Massachusetts male aging study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:589–98.
- Harman SM, Metter EJ, Tobin JD, Pearson J, Blackman MR. Longitudinal effects of aging on serum total and free testosterone levels in healthy men. Baltimore Longitudinal Study of Aging. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:724–31.
- Araujo B, O'Donnell A, Brambilla D, Simpson W, Longcope C, Matsumoto A, et al. Prevalence and incidence of androgen deficiency in middle-aged and older men: estimates from the Massachusetts Male Aging Study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:5920–6.
- Vermeulen A. Diagnosis of partial androgen deficiency in the ageing male. *Ann Endocrinol*. 2003;64:109–14.
- Wu EC, Arnott JM, Finn JD, Bartfai G, Casanueva F, Forti G, et al. What is the real prevalence of androgen deficiency of the ageing male in Europe? Estimates from the European Male Ageing Study (EMAS) *J Androl*. 2005;28:36.
- Martínez JM, Queipo A, Ferrandis C, Queipo JA, Gil M, Chuan P. Cambios en las hormonas sexuales en varones mayores de 50 años. Prevalencia de niveles bajos de testosterona y factores de riesgo. *Actas Uro Esp*. 2008;32:603–10.
- Wang C, Catlin D, Demers L, Starcevic B, Swerdloff R. Measurement of total serum testosterone in adult men: comparison of current laboratory methods versus liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:534–43.
- Vermeulen A, Verdonck L, Kaufman JM. A critical evaluation of simple methods for the estimation of free testosterone in serum. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84:3666–72.
- Taieb J, Mathian B, Millot F, Patricot M, Mathieu E, Queyrel N, et al. Testosterone measurement by 10 immunoassays and isotope-dilution gas chromatography-mass spectrometry in sera from 116 men, women and children. *Clin Chem*. 2003;49:1381–95.
- Vermeulen A, Kaufman JM. Diagnosis of hypogonadism in the ageing male. *Aging Male*. 2002;5:170–6.
- Bhasin S, Cunningham G, Hayes G, Matsumoto A, Snyder P, Swerdloff R, et al. Testosterone therapy in adult men with androgen deficiency syndromes: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:1995–2010.
- Wheeler MJ, Barnes SC. Measurement of testosterone in the diagnosis of hypogonadism in the ageing male. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2008;69:515–25.
- Rosner W, Auchus RJ, Asis R, Sluss PM, Raff H. Utilidad, limitaciones y peligros al medir la testosterona: consenso de la Sociedad de Endocrinología. *Revista del climaterio*. 2007;10:171–84.
- Morley JE, Patrick P, Perry HM. Evaluation of assays available to measure free testosterone. *Metabolism*. 2002;51:554–9.
- Rosner W. An extraordinarily inaccurate assay for free testosterone is still with us. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:2903.
- Martínez JM, Queipo A, Gil M, Chuan P. Evaluación de una técnica de inmunoanálisis para la determinación de testosterona libre. *Actas Urol Esp*. 2006;30:598–601.
- Wang C, Nieschlag E, Swerdloff R, Behre HM, Hellstrom WJ, Gooren L, et al. Investigation, treatment and monitoring of late-onset hypogonadism in males. ISA, ISSAM, EAU, EAA and ASA recommendations. *Eur J of Endocrinol*. 2008;159:507–14.
- Becerra A, Enriquez L. Documento básico de consenso sobre el síndrome de hipogonadismo de inicio tardío. *Endocrinol Nutr*. 2008;55:5–28.
- Isidori AM, Giannetta E, Greco EA, Gianfrilli D, Bonifacio V, Fabbri A, et al. Effects of testosterone on body composition, bone metabolism and serum lipid profile in middle-aged men: a meta-analysis. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2005;63:280–93.
- Kalyani RR, Dobs AS. Androgen deficiency, diabetes, and the metabolic syndrome in men. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2007;14:226–34.
- Guay A. The emerging link between hypogonadism and metabolic syndrome. *J Androl*. 2009;30:370–5.
- Selvin E, Feinleib M, Zhang L, Rohrmann S, Rifai N, Nelson WG, et al. Androgens and diabetes in men: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *Diabetes Care*. 2007;30:234–8.
- Dhindsa S, Prabhakar S, Sethi M, Bandyopadhyay A, Chaudhuri A, Dandona P. Frequent occurrence of hypogonadotropic hypogonadism in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:5462–8.