

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**TICIANA NAVARRO TAVARES DE MELO**

**EFEITO DO DURATESTON® E/OU DO TREINAMENTO FÍSICO SOBRE A  
MORFOMETRIA DO TESTÍCULO DE RATOS WISTAR ADULTOS**

**RECIFE, 2014**

**TICIANA NAVARRO TAVARES DE MELO**

**EFEITO DO DURATESTON® E/OU DO TREINAMENTO FÍSICO SOBRE A  
MORFOMETRIA DO TESTÍCULO DE RATOS WISTAR ADULTOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, nível Mestrado, para obtenção do grau de Mestre em Ciências Biológicas.

**Orientador:** Prof. Dr. Marcelo Moraes  
Valença

**Co-orientadora:** Prof. Dra. Elizabeth Neves de  
Melo

**RECIFE, 2014**

Catálogo na fonte  
Elaine Barroso  
CRB 1728

**Melo, Ticiano Navarro Tavares de**  
**Efeito do Durateston e/ou do treinamento físico sobre a morfometria do**  
**testículo de ratos Wistar adultos./ Recife: O Autor, 2014.**

**84 folhas: il., fig., tab.**

**Orientador: Marcelo Moraes Valença**

**Coorientadora: Elizabeth Neves de Melo**

**Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de**  
**Pernambuco. Centro de Biociências. Ciências Biológicas,**  
**2014.**

**Inclui referências e anexos**

**1. Esteróides anabólicos 2. Testículos 3. Morfometria I.**  
**Valença, Marcelo Moraes (orient.) II. Melo, Elizabeth Neves de**  
**(coorient.) III. Título**

**572.579**

**CDD (22.ed.)**

**UFPE/CCB-2017- 509**

**TICIANA NAVARRO TAVARES DE MELO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, nível Mestrado, para obtenção do grau de Mestre em Ciências Biológicas.

**Aprovada em: 31/07/2014**

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Marcelo Moraes Valença/UFPE

---

Prof. Dra. Maria Tereza Jansen de Almeida Catanho/UFPE

---

Prof. Dra. Elizabeth Neves de Melo/UFPE

Dedico este trabalho aos meus três amores, minha mãe, minha florzinha Isadora e meu querido Olávio que me deram tanto apoio sob diferentes e preciosas formas de carinho.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Luiz Fernando, Anamáuria pelo apoio nos momentos mais difíceis desta caminhada, por sempre saber que posso contar com cada um de vocês, minha eterna gratidão, em especial a minha querida mãe, por todo seu apoio em tempo integral, com uma dedicação e cuidado com a nossa pequena Isadora, muito lindo de se ver e se inspirar, tamanha força a sua, te amo muito.

À minha tia querida, Carmenilde Navarro por acompanhar, torcer, influenciar e participar de todas as minhas conquistas na vida. Minha tia madrinha do coração, muito obrigada.

À minha pequenina, linda Isadora Navarro Campos, por tantos gestos de ternura que servirão de estímulo para seguir adiante, obrigada minha flor.

Aos orientadores Prof. Dr. Marcelo Moraes Valença e Prfa. Dra. Elizabeth Neves de Melo pelo apoio e incentivo ao longo do trabalho. Ao carinho e amizade da Prfa. Elizabeth, além da dedicação em todas as etapas deste estudo, marcadas por grande aprendizado, o meu muito obrigada.

Aos meus queridos amigos e também colegas de trabalho, a quem dedico grande parte do sucesso deste trabalho, Olávio Campos e Fernanda Dias, à aplicação cuidadosa desde a elaboração até a finalização do estudo, obrigada, sem voçes não teria chegado tão longe.

Ao meu querido Olávio Campos, pelo apoio e dedicação exaustivas, no desenvolvimento da piscina projetada, no cuidado com os animais, nas idéias e conversas esclarecedoras, muito obrigada.

As meninas da limpeza, Dona Ednalda e Marilene por deixar o ambiente de trabalho sempre mais alegre, obrigada.

À Werlayne Mendes pela sua disponibilidade e colaboração, na leitura e correções ortográficas deste trabalho, obrigada.

À nossa secretária Adenilda, por sempre esta disposta a nos ajudar, obrigada pelo apoio.

Aos estagiários Rodrigo Bezerra e Flávia Lima pelas análises realizadas, obrigada.

À Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, em especial à Profa. Dra. Maria Tereza dos Santos Correia pelo apoio desde o início do processo.

À FACEPE pelo apoio financeiro, concedido através da bolsa de apoio científico, obrigada.

“Só existem dois dias no ano que nada pode ser feito. Um se chama ontem e o outro se chama amanhã, portanto hoje é o dia certo para amar, acreditar, fazer e principalmente viver”.

Dalai Lama

## RESUMO

O consumo não terapêutico de esteróides anabólicos androgênicos (EAA) tem crescido ao longo dos anos e entre os diversos efeitos colaterais estão diversos distúrbios do sistema reprodutor masculino. O presente trabalho objetivou caracterizar as alterações morfológicas e morfométricas dos testículos de ratos adultos submetidos ao “treinamento aeróbio de moderada a elevada intensidade”, associado ou não ao Durateston®. Ratos Wistar adultos foram divididos em quatro grupos (n=10): Sedentário (S), Sedentário EAA (SEAA), Treinado (T), Treinado EAA (TEAA). Os animais foram tratados com dez administrações de 5mg/kg de Durateston®, por 06 semanas. O treinamento durou 06 semanas, 05 dias/semana, variando de 40-60 min e carga de 50 a 80 %. Após o último treino os testículos foram fixados com solução modificada de Davidson e corados pela técnica HE. O peso corporal foi o mesmo para o grupo TEAA, mas reduziu no grupo SEAA e aumentou no grupo T, ambos 5% comparados ao grupo S. Os pesos médios e líquidos dos testículos e os IGS do (SEAA e TEAA) foram menores ( $p < 0,05$ ) em relação aos (S e T). As células de Leydig apresentaram redução da densidade volumétrica SEAA (43%) e TEAA (45%) e no volume testicular ocupado (S=57%, T=66%) e celular individual (S=69%, T=64%). A população de células de Leydig por grama de testículo foi 60% maior nos grupos (SEAA e TEAA). A morfometria dos túbulos seminíferos aumento de 5% no grupo T, e reduziu 10% no TEAA, quando comparados com os grupos S e SEAA. Em comparação ao grupo S, o grupo T apresentou aumento da altura do epitélio seminífero 10% e redução no número de células de Sertoli 14% comparado ao grupo S; O grupo TEAA apresentou redução de 18% no comprimento do túbulo seminífero e aumento de (16%) no número de espermatídes arredondadas por secção transversal. O índice de células de Sertoli (ICS) aumentou (27%, 21%) nos grupos (T e TEAA) em relação aos (S e SEAA). As células de Sertoli por testículo reduziram nos grupos SEAA (17%), T (21%) e TEAA (21%), enquanto por grama de testículo aumentou 20% no grupo T e reduziu 26% no grupo TEAA. A produção espermática diária por testículo foi menor 20% no grupo SEAA em relação ao grupo S. Os resultados sugerem que o testículo apresenta alterações morfológicas e morfométricas significativas sob o efeito do treinamento, do DURATESTON®, ou associação de ambos. Entretanto a produção espermática diária é mantida, indicando que este órgão tem a capacidade de organizar-se para permitir a produção de espermatozoide, sendo necessário, no entanto, uma análise qualitativa dos espermatozoides produzidos.

**Palavras-chaves:** Rato. Esteroides Anabólicos Androgênicos. Testículo. Morfometria

## ABSTRACT

The non-therapeutic use of anabolic androgenic steroids (AAS) has grown over the years. There is a relationship between the use of (AAS) and severe side effects on male reproductive system. The present study aimed to characterize the morphological and morphometric changes of the testes of adult rats subjected to "aerobic training of moderate to high intensity", associated or not with Durateston®. Male Wistar rats were divided into four groups (n = 10): Sedentary (S), Trained (T), Sedentary AAS (SAAS) and Trained AAS (TAAS). The animals were treated with ten administrations of 5mg/kg Sustanon ®, for 06 weeks. The training lasted 06 weeks 05 days/wk, ranging from 40-60 min and the workload was determined 50-80%. After the last training testes were fixed in modified Davidson's Fluid and stained with HE solution. TAAS showed the same Body weight to S group, but decreased on SAAS group and increased in the T group, both 5% was observed. The mean and testis liquid weights and IGS (SAAS and TAAS) were lower (p <0.05) compared to (S and T). Leydig cells had a reduced volumetric density SAAS (43%) and TAAS (45%) and total testis volume occupied by the Leydig cell (S = 57%, T = 66%) and volume of individual cell (S = 69%, T = 64%). The Leydig cells population per gram of testis was 60% higher in groups (SEAA and TAAS). Morphometry of seminiferous tubules increased 5% in the T group, and decreased 10% in TAAS compared with the S and SEAA groups. Compared to the S group, the T group showed increased seminiferous epithelial height of 10% and reduction in the Sertoli cells number 14% compared to the S group; The TAAS group showed a 18% reduction in the of the seminiferous tubule length and increased (16%) the number of round spermatids in tubular cross sections. The Sertoli cells index (ICS) increased (27%, 21%) on groups (T and SEAA) compared to (S and SEAA). The Sertoli cells number per testis was reduced in SAAS (17%), T (21%) and SEAA (21%) groups, while per gram of testis increased by 20% group T and reduced 26% SEAA group. The daily sperm production per testis was 20% lower in SEAA group compared in o the group S. The results suggest that the testis has significant morphological and morphometric changes under the effect of training, DURATESTON®, or combination of both. However the daily sperm production is maintained, indicating that the testis has the ability to be organized to enable the production of sperm, a qualitative analysis of sperm produced is necessary, however.

**Keywords:** Rat. Anabolic-Androgenic Steroids. Testis. Stereology

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1:** Esquema representativo da biotransformação da testosterona (adaptado de Shahidi, 2001). ..... 15
- Figura 2:** Esquema representativo do eixo hipotálamo-hipofisário-testicular na regulação sistema reprodutivo masculino (adaptado de Hacney, 1996). ..... 23
- Figura 3:** Esquema representativo dos Compartimentos Testiculares. Compartimento Tubular ou de Túbulos Seminíferos: SG- espermatogônias; PSC- Espermatócito primários; rST- Espermátides Arredondadas; eST- espermátides alongadas; Célula de Sertoli. Compartimento Intersticial ou Interstício: LC- Célula de Leydig; M- Macrófagos; BV- Vasos Sanguíneos (adaptado de Schlatt, 1997). ..... 25
- Figura 4:** Montagem fotográfica contendo os oito estádios do ciclo do epitélio seminífero de capivara (*Hydrochoerus hydrocaeris*), uma espécie de roedor. Espermatogônia (SPTG); espermatogônia do tipo A (SPTGA); espermatogônia do tipo B (SPTGB); célula de Sertoli (S); espermatócito em transição preleptóteno/leptóteno (PL/L); leptóteno (L); zigóteno (Z); paquíteno (P); diplóteno (D); placa metafásica (PM); espermátide arredondada (Ar); espermátide em alongamento/alongada (AL) (Carreta Jr, 2012). ..... 31

### CAPÍTULO 1: EFEITO DO DURATESTON® E/OU DO TREINAMENTO FÍSICO SOBRE A MORFOMETRIA DO TESTÍCULO DE RATOS WISTAR ADULTOS.

- Figure 1: PRANCHA:** Fotomicrografia de seções de testículos de ratos Wistar adultos sob o efeito do decanoato de nandrolona e/ou natação. Figura 1: Grupos Sedentário (S); Figuras 2 e 3: Grupo Sedentário+EAA (SEAA); Figura 4 e 5: Grupo Treinado (T); Figura 6 e 7: Treinado+EAA (TEAA). Nos túbulos seminíferos identificam-se o epitélio seminífero (ES), a túnica própria (seta) e o lume tubular (L). No intertúbulo (IT) observa-se vasos sanguíneos (VS), espaço linfático (EL) e células do interstício (C). Em alguns túbulos seminíferos dos grupos SEAA, T e TEA verifica-se a presença de vacúolos (V). Barra = 60 µm.....69

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Efeito do decanoato de nandrolona e/ou natação em parâmetros biométricos de ratos Wistar adultos (90 dias). Grupos: Sedentário (S), Sedentário+EAA (SEAA), Treinado (T), Treinado+EAA (TEAA). ..... 62
- Tabela 2:** Efeito do decanoato de nandrolona e/ou natação na proporção volumétrica (%) dos componentes testiculares em testículo de ratos Wistar adultos (90 dias). Grupos: Sedentário (S), Sedentário+EAA (SEAA), Treinado (T), Treinado+EAA (TEAA). ..... 63
- Tabela 3:** Efeito do decanoato de nandrolona e/ou natação na morfometria das células de Leydig em testículo de ratos Wistar adultos (90 dias). Grupos: Sedentário (S), Sedentário+EAA (SEAA), Treinado (T), Treinado+EAA (TEAA). ..... 64
- Tabela 4:** Efeito do decanoato de nandrolona e/ou natação em parâmetros morfométrico do túbulo seminífero de ratos Wistar adultos (90 dias). Grupos: Sedentário (S), Sedentário+EAA (SEAA), Treinado (T), Treinado+EAA (TEAA). ..... 65
- Tabela 5:** Efeito do decanoato de nandrolona e/ou natação sobre população corrigida\* de células de Sertoli e espermatídes arredondadas por secção transversal de túbulo seminífero no estágio 1, índice de célula de Sertoli (ICS), população de células de Sertoli e produção espermiática diária (PED) de ratos Wistar adultos (90 dias). Grupos: Sedentário (S), Sedentário+EAA (SEAA), Treinado (T), Treinado+EAA (TEAA). ..... 66

## LISTA DE ABREVIATURAS

AE - Altura do epitélio seminífero  
CES - Ciclo do epitélio seminífero  
CTS - Comprimento do túbulo seminífero  
DT - Diâmetro do túbulo seminífero  
EAA - Esteróides anabólicos androgênicos  
FSH- Hormônio folículo estimulante  
GH - Hormônio do crescimento  
GnRH - Hormônio liberador de gonadotropina  
ICS - Índice de célula de Sertoli  
IGS - Índice gonadossomático  
LH - Hormônio luteinizante  
PED - Produção espermática diária  
TSH - Hormônio tireoestimulante  
VT - Volume do túbulo seminífero

Grupos Experimentais:

S - Sedentário  
T - Treinado  
SEAA - Sedentário+ Esteróide anabólico androgênico  
TEAA - Treinado+ Esteróide anabólico androgênico

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	<b>15</b>
2.1 ESTEROIDES ANABÓLICOS ANDROGÊNICOS(EAA) .....	15
2.2 USOS E EFEITOS DOS EAAs .....	18
2.3 ATIVIDADE FISICA E SEUS PRINCIPAIS EFEITOS .....	21
2.4 TESTÍCULO E ESPERMATOGÊNESE .....	24
2.4.1 CÉLULAS DE SERTOLI .....	28
2.4.2 CICLO DO EPITÉLIO SEMINÍFERO (CSE) E DURAÇÃO DA ESPERMATOGÊNESE .....	30
2.4.3 QUANTIFICAÇÃO DA ESPERMATOGÊNESE .....	32
2.5 TESTÍCULO SOB O EFEITO DE ESTERÓIDES ANABÓLICOS ANDROGÊNICOS E/OU ATIVIDADE FÍSICA: .....	34
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>36</b>
3.1 GERAL .....	36
3.2 ESPECÍFICOS .....	36
<b>CAPÍTULO 1: “EFEITO DO DURATESTON® E/OU DO TREINAMENTO FÍSICO SOBRE A MORFOMETRIA DO TESTÍCULO DE RATOS WISTAR ADULTOS”</b> .....	<b>37</b>
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	<b>68</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>69</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>78</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O uso de drogas para melhorar o desempenho físico tem ocorrido desde o início dos tempos. Os gregos antigos comiam cogumelos e sementes de gergelim para melhorar o desempenho, e gladiadores romanos usavam estimulantes para aumentar a resistência (PROKOP, 1970). Há relatos que na antiga Grécia muitos campeões olímpicos teriam ingerido testículos de carneiro para obterem melhores resultados (MARTINS et al., 2005).

A primeira referência ao uso de hormônios sexuais no esporte ocorreu em 1954, em uma competição de levantamento de pesos em Viena (GHAPHERY, 1995). A partir de 1982, testosterona e seus derivados passaram a fazer parte da lista de drogas proibidas pelo Comitê Olímpico Internacional (TODD, 1987). No Brasil, estes hormônios são considerados doping, segundo os critérios da Portaria nº 531, de 10 de julho de 1985 do Ministério da Educação (MEC), seguindo a legislação internacional (LISE et al., 1999).

Atualmente, as drogas mais usadas abusivamente são os esteróides anabólicos androgênicos (EAA) (WOOD, 2004). Os EAA representam um grupo de compostos naturais e sintéticos formados pela testosterona e seus derivados (THEIN et al., 1995). São compostos muito importantes farmacologicamente no tratamento de várias condições médicas, tais como déficits de crescimento, distúrbios do sangue e da osteoporose (CLARK et al., 1997; FEINBERG et al., 1997)

É cada vez mais preocupante o aumento no uso dos EAA entre adolescentes, conforme detectado em estudos internacionais que relatam que a média de idade de início do consumo está entre 15 e 18 anos. Em alunos do ensino médio, 2,8% dos estudantes haviam feito uso de EAA (MELIA et al., 1996). Esses usuários administram um ou vários tipos de esteroides anabólicos androgênicos, em doses 10 a 100 maiores do que a dose terapêutica, sem se importar com as consequências.

De acordo com Kanayama (2009) 30% dos usuários de EAA que fazem uso crônico desenvolvem dependência, apesar dos efeitos adversos sobre o funcionamento físico, psicossocial e ocupacional. Há relatos de distúrbios reprodutivos como supressão de produção de testosterona endógena e gonadotrofinas resultando em atrofia testicular, prejuízos na qualidade, quantidade e mobilidade dos espermatozoides, além de efeitos antiestéticos, como ginecomastia (EVANS, 2004; MARAVELIAS et al., 2005).

Estudos experimentais têm mostrado redução no volume testicular e no comprimento dos túbulos seminíferos em ratos (NOORAFSHAN et al., 2005), redução na população das

células de Leydig acompanhado por baixos níveis de testosterona e LH (De SOUZA & HALLAK, 2011), além de efeitos adversos em animais como alterações e anomalias na morfologia celular nas células de Leydig (FEINBERG et al., 1997). Outras evidências sugerem que doses elevadas de EAA podem produzir mudanças no comportamento sexual humano e animal e na fisiologia e qualidade espermática (CLARK et al., 1997; WROBLEWSKA,1997).

Dessa forma o presente estudo caracterizou, em ratos adultos, os efeitos do Durateston® e/ou do treinamento físico sobre a morfometria do testículo de ratos wistar adultos. Com base nos dados anteriormente citados, foram caracterizadas alterações morfológicas testiculares, densidade volumétrica dos compartimentos testiculares, processo espermatogênico e produção espermática diária.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

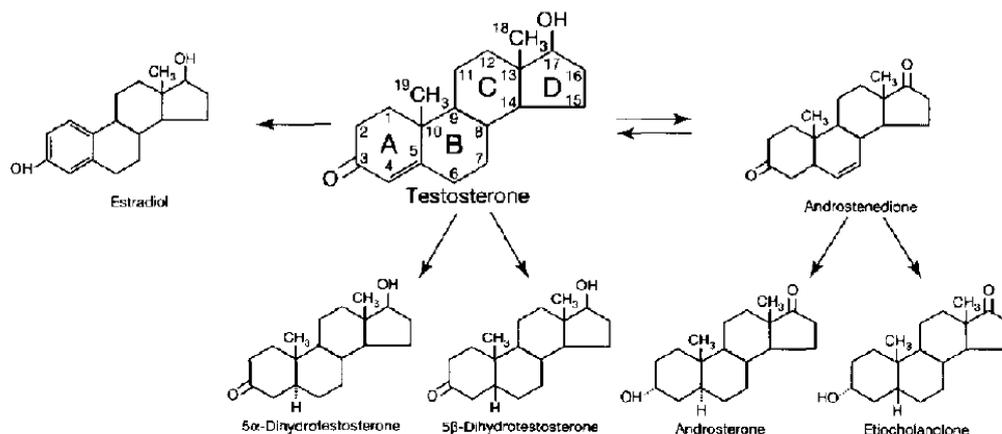
### 2.1 ESTEROIDES ANABÓLICOS ANDROGÊNICOS (EAA)

Os EAA constituem um grupo de derivados sintéticos da testosterona com propriedades anabólicas e androgênicas, atuando tanto no crescimento muscular quanto na masculinização, respectivamente (BARCELOUX & PALMER, 2013)

A testosterona é o hormônio esteroide androgênico mais importante produzido pelos testículos. No sexo feminino, é produzido em pequena quantidade pelos ovários, todavia, pode ser sintetizado pelo córtex da supra-renal em ambos os sexos (SMITH et al., 1985).

De acordo com Evans (2004) a testosterona possui diferentes funções dependendo do estágio de desenvolvimento. A secreção de testosterona é determinada pelo cromossomo masculino e acontece nas células de Leydig presentes no compartimento intertubular do testículo. Durante a fase embrionária a sua ação androgênica é fundamental para o desenvolvimento do fenótipo masculino (WILSON et al., 1996).

A síntese dos hormônios androgênicos tem como base sucessivas oxidações da molécula de colesterol para dar origem a pregnenolona que é a principal precursora dos hormônios esteroides. Durante a conversão da pregnenolona à testosterona, ocorre a formação de desidroepiandrosterona (DHEA) e de androstenediona como observado na Figura 1. (SILVA et al., 2002). O processo de metabolismo da testosterona endógena envolve a conversão tanto do composto estrogênico, estradiol, via aromatase dos esteroides, quanto do androgênico 5 $\alpha$ -dihidrotestosterona, por meio da ação da via 5 $\alpha$ -esteroideredutase (BARCELOUX & PALMER, 2013).



**Figura 1:** Esquema representativo da biotransformação da testosterona (adaptado de Shahidi, 2001).

Após o nascimento a secreção de testosterona só reinicia na puberdade, possuindo ambos efeitos androgênico e anabólico, atuando tanto em tecidos alvos reprodutivos quanto não-reprodutivos (SHAHIDI, 2001). De acordo com Blue (1999) as proporções maiores da secreção da testosterona acontecem nos homens na fase da adolescência, por volta dos 11 aos 13 anos de idade. A concentração plasmática no homem adulto normal varia de 300 a 1.000ng/dl e a taxa de produção diária está entre 2,5 e 11mg (FERREIRA, 1999). Durante a vida adulta a média de produção no homem é de 2500 mg de testosterona anual, e um total de 130 g durante 75 anos de idade (BARDIN,1996). Esse valor médio declina próximo dos 80 anos a aproximadamente 50% do valor médio com 20 anos (SNYDER, 1999). No sexo feminino os níveis de testosterone circulante são tipicamente próximo de 10% dos níveis observados no homem (WILSON, 1996).

A testosterona regula diversos processos fisiológicos no homem adulto incluindo o metabolismo das proteínas, funções cognitivas e sexuais, eritropoiese, lipídios plasmáticos e metabolismo ósseo (BHASIN et al., 1996).

Efeitos androgênicos são responsáveis pelo crescimento do trato reprodutor masculino e desenvolvimento das características sexuais secundárias, enquanto que os efeitos anabólicos estimulam a fixação de nitrogênio e aumento da síntese proteica (GUYTON & HALL,2002)

A qualidade anabólica está relacionada à construção do tecido muscular e a androgênica se relaciona, principalmente, no desenvolvimento das características masculinas secundárias ao sexo e à maturação do esperma. Alguns exemplos dessas características são: surgimento de pêlos facial e corporal, espessamento das cordas vocais, aumento da produção das glândulas sebáceas, desenvolvimento do pênis, aumento da agressividade e do interesse sexual (FERREIRA et al., 2012).

Em meados de 1900 muitas tentativas foram realizadas para a obtenção de uma substância com o potencial similar ao da testosterona e no final da década de 20 tornou-se disponível o extrato de testosterona ativo (HARTGEN & KUIPERS, 2004).

O desenvolvimento inicial dos esteróides anabólicos androgênicos (EAA) se deu na década de 1930, com o Dr. Charles Koch (FERREIRA et al., 2007). A sua utilização surgiu por volta da Segunda Guerra Mundial, quando as tropas alemãs utilizaram a testosterona com a finalidade de aumentar a agressividade dos soldados e, para fins terapêuticos, no tratamento de pessoas com queimaduras, depressão, debilidade crônica e na recuperação de grandes cirurgias (ELLENDER et al., 2005).

O primeiro relato de uso de testosterona para melhoramento do desempenho de atletas no esporte foi nos anos de 1950 quando a União Soviética conquistou três medalhas de ouro, três

de prata e uma de bronze, na competição de halterofilismo, apesar de ter sido devastada pela II Guerra Mundial (KLUG, 2004).

O treinador de halterofilismo dos EUA, Bob Hoffman, suspeitou que os atletas soviéticos estavam tomando hormônio para aumentar a força, suspeita essa que foi comprovada pelo médico da equipe americana Dr. ohn Ziegler, em 1954, no Campeonato Mundial de Levantamento de Peso em Viena (BOWERS et al, 2009).

Após a observação de que a administração de testosterona provoca alterações significativas sobre a massa muscular e o peso corporal, quando usados em homens hipogonádicos, inicialmente, assumiu-se que os andrógenos administrados a homens saudáveis, em doses farmacológicas, poderiam promover o crescimento de massa muscular a níveis maiores do que aqueles produzidos pela secreção testicular normal (FERREIRA et al., 2007).

Acreditava-se que os efeitos androgênicos e anabólicos eram ações hormonais distintas e independentes. No entanto, tais efeitos não resultam de ações diferentes do mesmo hormônio, mas sim representam a mesma ação em tecidos diferentes (RIBEIRO, 2001).

Em 1956, quando o Laboratório Ciba criou a metandrosterona comercializada com o nome de Dianabol, os relatos da eficácia desta droga difundiram-se pela comunidade. Em 1964, nas Olimpíadas de Tóquio, os EAA foram largamente utilizados em diversas modalidades (De ROSE & NÓBREGA, 1999).

Há mais de 30 anos os EAA penetraram em outros esportes olímpicos, incluindo a natação, o esqui, o vôlei, o ciclismo, o handebol, o futebol, entre outros (HOBERTMAN & YESALIS, 1995) Durante a competição “Mister America”, em 1972, John Grimek estimou que 99% dos atletas estreados fizeram ou faziam uso de esteroides (YESALIS et al., 1993).

O controle de dopagem para detecção de EAA foram feitos somente na Olimpíada de Montreal, em 1976. Isso resultou na desclassificação de 19 atletas nos jogos pan-americanos de 1983, com resgate das medalhas e o caso mais conhecido de uso de EAA pelo corredor canadense Bem Jhonson, cujo exame detectou a presença dos metabólitos do anabolizante estanozolol (YOSHIDA et al., 1994).

Observou-se, então, um aumento significativo no uso/abuso ilícito dos EAA, conhecido popularmente como “bombas”, não só por atletas, como também por frequentadores de academias, principalmente os jovens adolescentes (LISE et al., 1999)

Existe, em todo o mundo, atualmente, uma preocupação sociogovernamental envolvendo o abuso de EAA, dentro e fora do cenário esportivo. Vários estudos realizaram levantamentos epidemiológicos referentes a essa problemática, podendo assim verificar dados concretos acerca do tema. Estimou-se, por exemplo, que nos EUA, em 1993, mais de um milhão de

peças foram usuários de EAA (YESALIS et al., 1993). Kanayama e colaboradores em 2001, demonstraram que podiam existir mais de 1,5 milhões de usuários de hormônios adrenais freqüentadores das academias nos Estados Unidos.

No Brasil, Conceição et al., em 1999, realizaram estudo sobre o uso de EAA por praticantes de musculação das academias de Porto Alegre, demonstrando que 24,3% dos indivíduos usavam EAA. Em 34% dos casos os EAAs eram utilizados por vontade própria, em 34%, por indicação de outros atletas, em 19%, por indicação dos amigos, em 9%, por indicação de professores e, em 4% dos casos, sob prescrição médica. De acordo com (KANAYAMA, 2009) cerca de 30% dos usuários de EAA parecem desenvolver uma síndrome de dependência, caracterizada pelo uso de EAA crônico, apesar dos efeitos adversos sobre o funcionamento físico, psicossocial e ocupacional. Além de distúrbios reprodutivos como supressão de produção de testosterona endógena e das gonadotrofinas, resultando em atrofia testicular, prejuízos na qualidade, quantidade e mobilidade dos espermatozoides, além de efeitos como ginecomastia (EVANS, 2004, MARAVELIAS et al., 2005)

## 2.2 USOS E EFEITOS DOS EAAs

Os esteróides são moléculas orgânicas que possuem um sistema de anéis tetracíclicos compreendendo, com a exceção do ácido retinóico, compostos derivados do colesterol. As quatro principais classes de hormônios esteróides naturais são os andrógenos, corticóides, estrógenos e progestágenos, sendo a testosterona o principal esteróide androgênico masculino (LINTELMANN et al., 2003).

Esteróides anabólicos androgênicos (EAA) são compostos sintéticos com estrutura química semelhante à testosterona, apresentando peso molecular de aproximadamente 288 g/mol (BARCELOUX & PALMER, 2012). São drogas de uso exclusivo na medicina para o tratamento de diferentes tipos de patologias, causando melhoria das condições da saúde do paciente, quando administrados corretamente (Da SILVA et al., 2002).

Os EAA foram desenvolvidos para o tratamento de hipogonadismo, uma condição na qual os testículos não produzem testosterona suficiente para o crescimento normal, desenvolvimento e funcionamento sexual. O hipogonadismo pode ser considerado como primário devido à disfunções nas gônadas ou hipogonadismo secundário por meio de disfunções no eixo hipotálamo-hipofisário-gonadal (GOMES et al., 2005)

Atualmente, para alguns tipos de doenças, além do hipogonadismo, são indicados medicamentos a base de esteróides anabolizantes, como e o caso do micropenis neonatal,

deficiência nutricional ou crônica, edema angioneurótico hereditário e distrofias musculares (AIDS e doenças reumáticas) (Da SILVA et al., 2002).

A terapia androgênica pode, também, ser utilizada no tratamento da osteoporose, da anemia causada por falhas na medula óssea ou nos rins (De ROSE & NOBREGA., 1999), do câncer de mama avançado (EBELING & KOIVISTO.,1994), em garotos com estatura exagerada (CONWAY et al., 2000), e até mesmo em situações especiais da obesidade (CORRIGAN, 1999). Estudos têm demonstrado os efeitos dosEAA no tratamento da baixa estatura em portadores síndrome de Turner (ROSENFELD et al., 1992) e em garotos com puberdade e crescimento retardados (COWART., 1989). Recentemente, foi demonstrado que a utilização dos esteroides anabolizantes acelerou o crescimento linear e teve alguns efeitos benéficos no retardo da fraqueza em pacientes com distrofia muscular de Duchenne (FENICHEL et al., 2001).

Dentre os efeitos anabólicos dos EAA estão o aumento da massa muscular, aumento da concentração de hemoglobina e hematócrito, aumento da retenção de nitrogênio, aumento da deposição de cálcio nos ossos e adiminuição das reservas adiposas são alguns dos efeitos anabólicos produzidos (GHAPHERY., 1995).

O efeito anabólico do EAA é mediado principalmente por receptores androgênicos (ARs) que regulam a transcrição de genes alvo que podem controlar o acúmulo de DNA necessário para o crescimento no músculo esquelético (INOUE et al., 1994).

Entre os mecanismos envolvidos no aumento da massa muscular também destacam-se: aumento da síntese protéica via RNA mensageiro, através da estimulação intramuscular da expressão do gene para o IGF-I (insulin-like growth factor-I) (URBAN et al., 1995); balanço nitrogenado positivo; inibição do catabolismo protéico; efeitos no sistema nervoso central e na junção neuromuscular e estímulo da formação óssea e estímulo da eritropoiese (KADI, 2000; SMURAWA & CONGENI., 2007).

Estudos bioquímicos e anatômicos demonstram que os EAA têm influência significativa na morfologia e bioquímica muscular e aumento no peso corporal, principalmente pelo aumento de massa magra, além de retenção de água (KUHN, 2002).

Há muitas evidências que EAAs possuem efeitos anabólicos positivos sobre o sistema músculo-esquelético influenciando a massa magra do corpo, o tamanho do músculo, a força, o metabolismo de proteínas, o metabolismo ósseo e a síntese de colágeno (BHASIN et al., 2001). No entanto, a associação dos efeitos apresentados pelos EAA, com o desejo que atletas, em diferentes modalidades de esporte têm, de melhorar o desempenho para as tarefas que lhes são

requeridas, tem levado a uma maior procura e utilização não terapêutica de EAA no meio esportivo (BAHRKE & YESALIS, 2004).

Fatores sociais têm levado jovens a buscar o uso dos EAA, tais como, baixa auto-estima, perspectiva de se tornar um símbolo sexual, o culto ao corpo, a falsa aparência saudável e causas de natureza funcional ou profissional (RIBEIRO, 2001; IRIAT & ANDRADE., 2002).

A obsessão por estes fatores leva os jovens a situações de alto risco de doenças como a anorexia ou bulimia, o uso indevido de esteróides anabolizantes/energéticos (RIBEIRO, 2001) e alguns deles chegam até a compartilhar seringas, aumentando o risco para a transmissão de doenças entre os usuários (FERREIRA et al, 2007).

A grande preocupação com o crescimento do uso indevido de EAA entre adolescentes e praticantes de esportes em geral está relacionada ao grande número de efeitos adversos que essas substâncias podem causar nos mais variados órgãos e sistemas exibindo efeitos tanto reversíveis quanto irreversíveis (SCOTT et al., 1996). Dentre os efeitos indesejados os mais documentados são de natureza endócrina, reprodutiva, hepática, cardiovascular, imunológica, musculoesquelética e psicológica (CONFEN, 1998). Sua ação tem como alvo direto o hipotálamo e a hipófise, promovendo a interrupção da produção de GnRH, FSH e LH, causando uma diminuição na produção de testosterona natural nos testículos e também reduzindo ou cessando a produção de espermatozoides (RIBEIRO, 2001).

É comprovado que a administração exógena de EAA, a partir de 15 a 150ml por dia, é responsável pela significativa diminuição da testosterona plasmática, o que intensifica os efeitos feminilizantes (FERREIRA et al., 2007). Uma porcentagem de testosterona é convertida em estrogênio, e alguns andrógenos artificiais possuem também ação estrogênica estimulando o crescimento do tecido mamário, conhecido como ginecomastia (RIBEIRO, 2001)

Esse bloqueio tem como consequência a inibição da secreção de gonadotrofina e a conversão de andrógenos em estrógenos podem provocar atrofia testicular, levando à castração química e à azoospermia, além de hipertrofia prostática (LIZE et al., 1999).

Adicionalmente, durante o uso de EAA as concentrações séricas de andrógenos podem ser supra-fisiologicamente altas, porém o estado hipogonadotrófico reduz a concentração de testosterona testicular necessária para a manutenção da espermatogênese normal. O uso de uma combinação de hCG e esteróides é uma prática comum entre os usuários de EAA com o objetivo de evitar a incidência de supressão de LH após administração de EAA a longo prazo, o que pode levar a um estado persistente de hipogonadismo e de baixa qualidade do sêmen (de SOUZA & HALLAK, 2011).

Experimentos em modelos animais têm demonstrado alterações nas células de Leydig induzidas por EAA além de anomalias na morfologia celular (FEINBERG et al., 1997). A redução na população das células de Leydig é acompanhado por baixos níveis de testosterona e LH (De SOUZA & HALLAK, 2011).

Shokri et al (2010) relatam um aumento significativo na taxa de apoptose após a administração de nandrolona, aumento claramente amplificado pelo associação com o exercício físico.

Recentemente têm sido avaliada a correlação entre apoptose, imaturidade, necrose, consequências genéticas e ultraestruturais com a administração de altas doses de EAA em modelos animais (De SOUZA & HALLAK, 2011).

### 2.3 ATIVIDADES FISICA E SEUS PRINCIPAIS EFEITOS

Atividade física adequada é uma das bases do estilo de vida saudável. Na verdade, o exercício físico e a prática esportiva podem estar associado tanto benefícios quanto com prejuízos para a saúde geral e reprodutiva (LUIGI et al., 2012).

A resposta endócrina ao exercício e suas consequências fisiológicas depende do estado nutricional do indivíduo. Quando a demanda metabólica do exercício excede a disponibilidade de combustível metabólico, o resultado eventual é a fadiga, e quando a demanda de exercício de treinamento excede persistentemente o suprimento de nutrientes na dieta, o resultado eventual é a doença. A energia dietética é usada em cinco funções fisiológicas fundamentais: metabolismo basal, termorregulação, crescimento, locomoção e reprodução. A energia consumida em uma destas funções não é disponível para as outras. Em atletas, a quantidade de energia habitualmente consumida na locomoção pode exceder o montante previsto na deita, desta forma outro processo não operaria normalmente. Sob tais condições, o corpo minimiza a alocação de energia para o metabolismo basal e termorregulação e atrasa o crescimento e a reprodução (LOUCKS, 2006).

Nos últimos 25 anos, houve um crescimento das pesquisas sobre o efeito do exercício sobre o sistema reprodutivo, e mais recentemente um número crescente de estudos começaram abordando a relação entre exercício e sistema reprodutor masculino.

Por exemplo, estudos mostram que os homens que passaram por treinamento de resistência têm concentrações anormais de certos hormônios reprodutivos masculinos tais como a testosterona, ohormônio luteinizante, prolactina (WHEELER et al., 1984; SHANGOLD, 1984).

É geralmente aceito que o fator mais importante para a melhoria no desempenho humano é o nível de treinamento físico que os atletas são submetidos (RAGLIN & BARZDUKAS, 1999; LEHMANN et al., 1993).

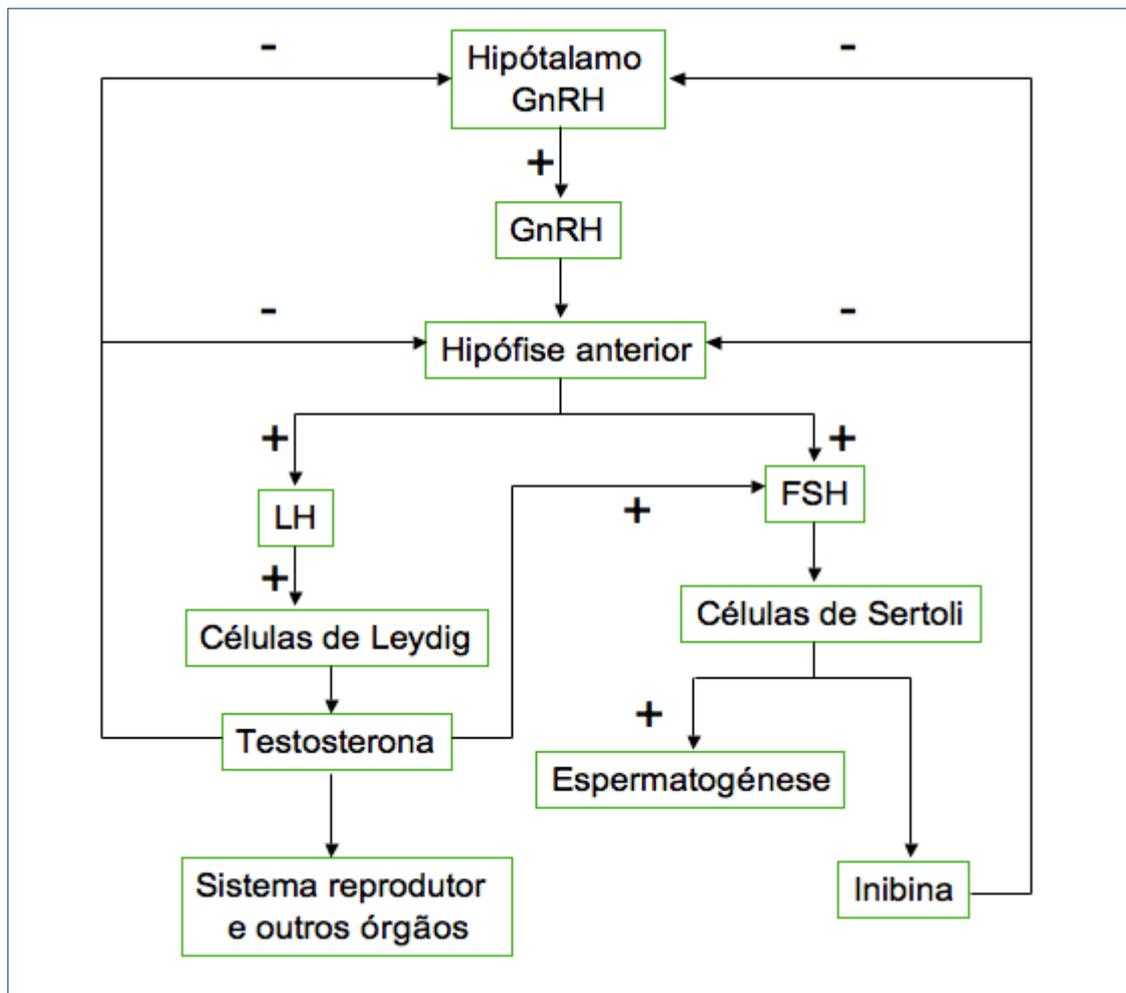
Esse volume de treinamento físico pode resultar em alterações fisiológicas e adaptações que são altamente benéficas para o organismo humano como melhora no débito cardíaco, diferença arteriovenosa de oxigênio, aumento de eritrócitos, redução da adiposidade corporal, e outras. (BROOKS et al., 1993)

Muitos hormônios influenciam o estado de saúde, as performances no exercício/desporto e adaptação fisiológica ao estresse relacionados com o exercício em atletas (HACKNEY, 2006; HASANI-RANJBAR et al., 2012). Canali e Kruehl (2001) relatam que os hormônios hormônio do crescimento (GH), hormônio tireo-estimulante (TSH), adrenocorticotropina, gonadotropinas, prolactina, vasopressina, oxitocina, hormônio tireóideo, calcitonina, hormônio paratireóideo, catecolaminas, mineralocorticóides, glicocorticóides, eritropoietina, glucagon, insulina, testosterona e estrogênios, têm seus ritmos ou níveis de produção e secreção alterados quando o indivíduo pratica uma atividade física. Níveis de testosterona e cortisol são alterados conforme a intensidade e a duração do exercício (FAHRNER & HACKNEY, 1998).

O exercício físico tem uma gama de efeitos sobre o eixo hipotálamo-hipófise-testículo, bem como na fertilidade do homem. A produção total de espermatozóides está sob o controle do sistema endócrino, em particular, o aspecto do sistema endócrino referida como o eixo de regulação hipotalâmico-hipofisário-testicular (HHT) (HACKNEY., 1996).

A produção de testosterona no homem é controlada pelo eixo (HHT). Esse eixo é composto pela díade endócrina hipotálamo-hipófise, como componente central e um componente periférico que é o testículo. O gerador de pulso hipotalâmico produz hormônio liberador de gonadotropina (GnRH) de forma episódica, que por sua vez estimula a liberação pulsátil do hormônio luteinizante (LH) e este, posteriormente, induz a produção de testosterona testicular. Todo esse eixo é operado em um sistema altamente complexo que envolve múltiplos feedbacks negativos e positivos, ilustrado na Figura 2 (BARDIN, 1978; NEWSHOLME & LEECH. 1983).

Os efeitos do exercício no eixo HHT depende do tipo, intensidade e duração do exercício realizado e estão relacionadas a muitos fatores condicionantes endógenos e exógenos como balanço energético, disponibilidade energética e fatores psicológicos (LUIGI & ROMANELLI. 2012).



**Figura 2:** Esquema representativo do eixo hipotálamo-hipofisário-testicular na regulação sistema reprodutivo masculino (adaptado de Hacney, 1996).

O exercício agudo, dependendo de suas características, exige um aumento fisiológico da testosterona (LUIGI et al., 2012). A maioria dos estudos demonstraram que a testosterona total e/ou livre foi aumentada de forma aguda imediatamente após exercícios extenuante agudo e/ou exercícios de resistência sub-máxima prolongada e exercícios de resistência (CREWETHER et al., 2006).

Como o mecanismo de aumento da testosterona ainda não é bem conhecido, fatores como padronização do exercício ou variações individuais dos níveis de gonadotrofinas podem levar a quadros de não alteração, aumento ou raramente, redução após exercício agudo submáximo e máximo (LUIGI et al., 2002).

Consequentemente, outros mecanismos, tais como possíveis adaptações da capacidade secretora das células de Leydig, adrenérgicos e/ou estimulação do lactato, modificações da taxa

de depuração, redução de volume plasmático e mudanças no fluxo sanguíneo testicular devem ser investigados (KRAEMER & RATAMESS, 2005).

Estudos sobre os efeitos do exercício crônico no eixo HHT comparando homens treinados e não treinados em um estado de repouso, utilizando uma abordagem retrospectiva, relatam uma redução na concentração de testosterona livre ou total em homens que passaram por treinamento de resistência, e os poucos estudos prospectivos mostraram resultados contraditórios, provavelmente, devido às características do período de treinamento, a magnitude do estímulo de treinamento e o volume de carga de treinamento empregado (KRAEMER & RATAMESS., 2005; GRANDYS et al., 2009). Além do mais tem sido descritas alterações de estado de receptores androgênicos (KRAEMER & RATAMESS, 2005; AHTIAINEN et al., 2011).

A anormalidade mais bem conhecida no eixo HHT em atletas altamente treinados ou mais treinados é a redução da concentração da testosterona sérica livre ou total. A exposição ao treinamento de resistência pode induzir concentrações crônicas do nível de testosterona basal de repouso no extremo inferior ao da faixa normal para a idade, ou reduzida de 40 a 80% com relação aos controles sedentários da mesma idade (exemplo, a condição masculina de hipogonadismo no exercício), com possíveis consequências clínicas devido à redução de testosterona (HACKNEY, 2008).

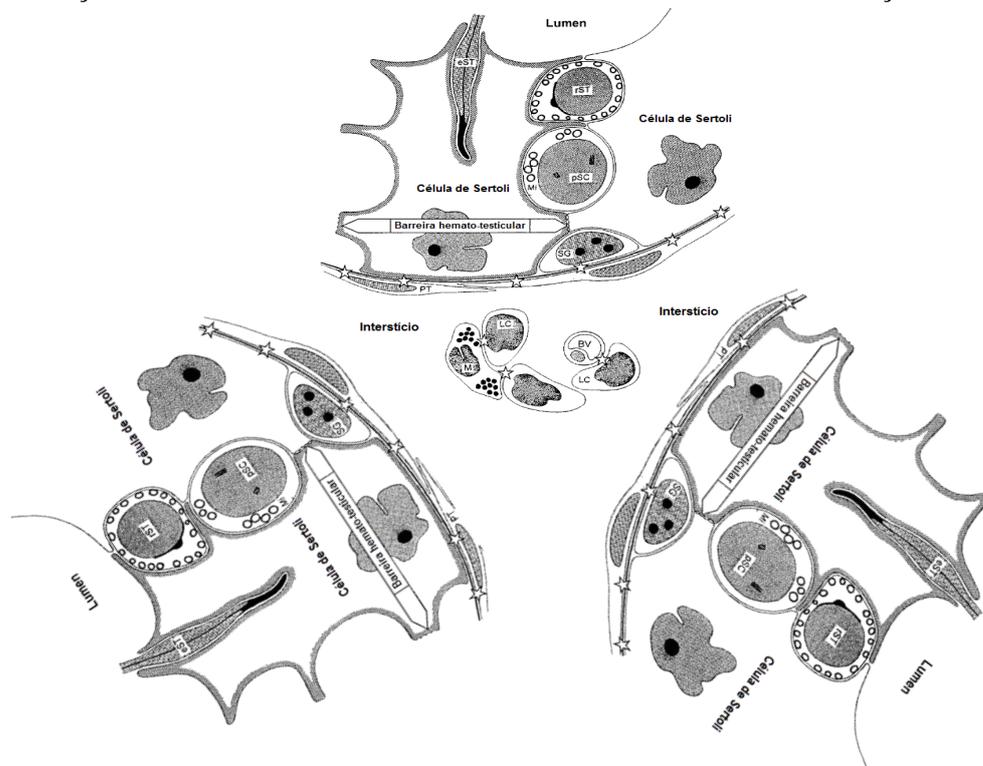
Tanto o exercício quanto a participação desportiva podem influenciar positivamente ou negativamente o estado de saúde andrológico dependendo do tipo, intensidade e duração da atividade física realizada e sobre o estado de saúde individual. Além disso, a administração de substâncias proibidas como, esteroides anabólico-androgênicos entre outros, em atletas competidores e não competidores representa a principal causa de doenças andrológicas iatrogênicas. Os médicos precisam ser orientados sobre as relações entre o sistema reprodutivo masculino e prática esportiva e sobre o papel do exame pré-participação na prevenção de doenças andrológicas (LUIGI et al., 2012).

## 2.4 TESTÍCULO E ESPERMATOGÊNESE

Em mamíferos o testículo, que possui funções exócrinas e endócrinas, é um órgão de forma oval ou arredondada, duplo, geralmente localizado no escroto, e pode ser dividido em dois compartimentos principais: o compartimento intertubular ou intersticial, e o compartimento de túbulos seminíferos (Figura 3) (RUSSELL et al.,1990). Encontra-se envolto pela túnica

albugínea, a qual é constituída de tecido conjuntivo fibroso e, em algumas espécies por células contráteis (SETCHELL, 1991). Esta túnica é contínua com trabéculas de tecido conjuntivo formando os septos testiculares que convergem para o interior do testículo no sentido do mediastino testicular sendo a quantidade de tecido conjuntivo muito variável em diferentes espécies (RUSSELL et al.,1990a) bem como sua quantidade na região do mediastino testicular (FRANÇA & RUSSELL, 1998; GONDINHO,1999; PAULA, 1999; SILVA JR, 2000). Os elementos componentes do compartimento intertubular são as células de Leydig, vasos sanguíneos e linfáticos, nervos e uma população celular variável constituída principalmente de fibroblastos, macrófagos e mastócitos (SETCHELL, 1991).

Apesar de existir grande variação entre as diversas espécies quanto ao percentual dos diferentes componentes deste compartimento (FAWCETT et al.,1973; FRANÇA & RUSSELL, 1998; GODINHO, 1999), a célula de Leydig é usualmente o tipo celular mais frequente, podendo seu percentual nos testículos de animais sexualmente maduros, no período reprodutivo, variar de aproximadamente 1% em carneiros até cerca de 35% em capivaras (FRANÇA & RUSSELL, 1998; PAULA et al., 1999; HESS & FRANÇA, 2007).



**Figura 3:** Esquema representativo dos Compartimentos Testiculares. Compartimento Tubular ou de Túbulos Seminíferos: SG- espermatogônias; PSC- Espermatocito primários; rST- Espermátides Arredondadas; eST- espermátides alongadas; Célula de Sertoli. Compartimento Intersticial ou Interstício: LC- Célula de Leydig; M- Macrófagos; BV- Vasos Sanguíneos (adaptado de Schlatt, 1997).

As células de Leydig caracterizam-se morfológicamente pela grande quantidade de retículo endoplasmático granular desenvolvido e mitocôndrias com cristas tubulares (RUSSELL et al., 1996). São especializadas na produção de esteroides a partir do colesterol como molécula base (BARDIN, 1996). Estes andrógenos produzidos são principalmente a testosterona e a diidrotestosterona os quais são responsáveis pela diferenciação do sistema genital masculino e da genitália externa na fase fetal (PELLINIEMI et al., 1996). São sintetizados sob o estímulo do LH por meio de receptores para andrógenos presentes na membrana das células somáticas intersticiais, tubulares e da própria célula de Leydig (SCHLATT et al., 1997). São responsáveis ainda, pelo aparecimento dos caracteres sexuais secundários e a manutenção quantitativa das células germinativas a partir da puberdade (SHARPE, 1994), com auxílio do hormônio folículo-estimulante (FSH) na iniciação e manutenção da espermatogênese (RUSSELL et al., 1993; PLANT & MARSHALL, 2001).

Durante o desenvolvimento testicular diversos fatores, desempenham papel importante na proliferação e diferenciação das células de Leydig, podendo ser citados dentre eles IGF-I, TGF $\alpha$ , TGF $\beta$ , LH e HCG, hormônios tireoidianos e citocinas produzidas pelos macrófagos (MENDIS-HANDAGAMA & ARIYARATNE, 2001).

O compartimento dos túbulos seminíferos constitui a maior parte do testículo, ocupando, na grande maioria dos mamíferos, de 70% a 90% do parênquima testicular (FRANÇA & RUSSELL, 1998; HESS & FRANÇA, 2007). O epitélio do túbulo seminífero apresenta dois tipos celulares de origem embriológica diferentes, sendo as células da linhagem germinativas de origem do epiblasto, enquanto que as células de Sertoli são de origem celomática (KARL & CAPEL, 1998). Os túbulos seminíferos apresentam em sua divisão, uma porção intermediária bem desenvolvida chamada de túbulo contorcido e duas menores periféricas chamadas de túbulos retos que conectam em sequência a rede testicular no mediastino. Esta por sua vez continua com os ductos deferentes que desembocam no ducto epididimário (AMANN, 1981a; ILIO & HESS, 1994).

Existe grande variação no número e nas dimensões (diâmetro e comprimento) dos túbulos seminíferos nas diferentes espécies de mamíferos (FRANÇA & RUSSELL, 1998). No camundongo e no rato, existem aproximadamente 20 túbulos seminíferos por testículo, perfazendo no total cerca de 2 metros de comprimento tubular por testículo (BASCOM & OSTRUD, 1925, SCHETELL et al., 1994). Enquanto no suíno doméstico existem de várias centenas a alguns poucos milhares de túbulos seminíferos por testículo e aproximadamente 3000 metros de túbulos no total (FRANÇA & RUSSELL, 1998).

De maneira geral, o valor observado para o diâmetro tubular na grande maioria das espécies de mamíferos está em torno de 180  $\mu\text{m}$  a 300  $\mu\text{m}$ , enquanto se observa de 10 a 15 metros de túbulos seminíferos por grama de testículo (FRANÇA & RUSSELL, 1998; ROOSEN-RUNGE, 1977). Os túbulos seminíferos não apresentam vascularização ou inervação e são constituídos de túnica própria, epitélio e lume. A túnica própria reveste externamente o epitélio seminífero, sendo constituída por células mioides ou peritubulares além de elementos acelulares (fibras colágenas e membrana basal) que juntos formam a membrana limitante do túbulo seminífero (RUSSELL et al., 1990a, DYM, 1994). As células mioides são contráteis, sendo consideradas responsáveis pela movimentação e propulsão de espermatozoides do lume (KARL & CAPEL, 1998; CAPEL, 2000). As células mioides e as células de Sertoli são responsáveis pela síntese da membrana basal que dá suporte estrutural tanto para a própria célula de Sertoli quanto para as células germinativas presentes no compartimento basal do túbulo seminífero (DYM, 1994). O lume tubular de animais sexualmente maduros contém o fluido secretado pelas células de Sertoli bem como espermatozoides recém-espermiados (SCHETELL, 1991).

A espermatogênese consiste em um processo cíclico altamente organizado que ocorre nos túbulos seminíferos, onde as espermatogônias diploides se diferenciam em espermatozoides. Este processo é altamente complexo e bem organizado que ocorre nos túbulos seminíferos durando cerca de 30 a 78 dias nos mamíferos (FRANÇA & RUSSELL, 1998; FRANÇA et al., 1998; HESS & FRANÇA, 2007).

Com base em características morfológicas e funcionais, o processo espermatogênico pode ser dividido em três fases: (a) fase proliferativa ou espermatogonial, na qual as espermatogônias passam por sucessivas e rápidas divisões mitóticas; (b) fase meiótica ou espermatocitária, onde o material genético é duplicado, recombinado e segregado, sendo esta fase muito importante para a variabilidade genética entre membros da mesma espécie; e (c) fase de diferenciação ou espermiogênica, na qual células haploides formadas se transformam em células altamente especializadas e estruturalmente equipadas para alcançar e fertilizar os oócitos (RUSSELL et al., 1990; SHARPE, 1994). A espermatogênese tem início com sucessivas divisões mitóticas da espermatogônia tronco antes de se tornar espermatócito. Em seguida cada espermatócito passa por duas divisões meióticas e formam espermátides. Em ratos e camundongos, em geral, cada espermatogônia tronco se divide nove vezes podendo formar 4100 espermatozoides (RUSSELL et al., 1990a).

Em animais de laboratório com espermatogênese bem estabelecida, as espermatogônias podem ser classificadas em duas categorias básicas de acordo com a presença e distribuição da heterocromatina: espermatogônias indiferenciadas ou imaturas e diferenciadas ou maduras (DE

ROOIJ & RUSSELL, 2000; CHIARINI-GARCIA & RUSSELL, 2001). À primeira categoria pertencem as espermatogônias isoladas (Ais), pareadas (Apr) e alinhadas (Aal), sendo as isoladas consideradas funcionalmente como espermatogônias tronco. As espermatogônias indiferenciadas estão localizadas em regiões específicas do epitélio seminífero denominadas de nichos (CHIARINI-GARCIA & RUSSELL, 2001; CHIARINI-GARCIA et al.,2001; RYU et al.,2006). A segunda categoria compreende espermatogônias do tipo A (A1-A4 em várias espécies de mamíferos), intermediárias (In) e do tipo B, comprometidas com a formação dos espermatozoides. A disposição da cromatina nuclear é frequentemente utilizada como principal referência para se distinguir os diferentes tipos espermatogoniais, uma vez que a quantidade de cromatina associada ao envoltório nuclear aumenta gradativamente da espermatogônia do tipo A isolada até a do tipo B (CHIARINI-GARCIA & RUSSELL, 2001). O esquema a seguir ilustra a provável sequência das células espermatogênicas em ratos e camundongos, desde a espermatogônia isolada (Ais) até a formação de espermátides: Ais → Apr → Aal(1-4) → A1 → A2 → A3 → A4 → In → B → espermátocitos primários → espermátocitos secundários → espermátides.

Existem consideráveis diferenças em relação ao número de gerações de espermatogônias diferenciadas em mamíferos. No entanto, nas diversas espécies de mamíferos investigadas, este número não ultrapassa seis gerações (FRANÇA & RUSSELL, 1998; DE ROOIJ & RUSSELL, 2000).

#### 2.4.1 CÉLULAS DE SERTOLI

O tipo celular mais abundante no túbulo seminífero até o início da puberdade é a célula de Sertoli, no entanto a partir desse estágio sua população permanece relativamente estável por toda vida (RUSSELL et al., 1990). A população de células de Sertoli nos testículos de mamíferos sexualmente maduros, estão completamente diferenciadas. A considerável variação morfológica e estrutural da célula de Sertoli durante o ciclo do epitélio seminífero (CES) demonstra o alto grau de plasticidade desta célula mediante as alterações morfológicas e funcionais que ocorrem nas células germinativas, recebendo dessa forma, denominações como célula de suporte, célula de sustentação, célula ramificada e nurse cell (FRANÇA et al.,1993; YE et al.,1993; FRANÇA & HESS, 2005).

As células de Sertoli possuem núcleo com grande nucléolo tripartido visível ao microscópio óptico com massas de heterocromatina associadas se estendendo da lâmina basal até o lume do túbulo seminífero (RUSSELL et al.,1990). Basolateralmente a célula de Sertoli apresenta

junções oclusivas (tight junctions) formando a barreira (Hematotesticular ou Barreira de célula de Sertoli) composta por dois compartimentos permanentes denominados de compartimentos basal e adluminal, existindo ainda um transitório chamado de compartimento intermediário (RUSSELL et al., 1990a). Dessa forma, o compartimento adluminal está totalmente sob controle das células de Sertoli, propiciando um microambiente imunoprivilegiado, condição indispensável ao desenvolvimento do processo espermatogênico (RUSSELL et al., 1990a; SETCHELL, 1991; SHARPE, 1994). Além de promover a compartimentalização do túbulo seminífero, estas células desempenham outras funções tais como nutrição, suporte físico para as células germinativas em desenvolvimento, manutenção da integridade do epitélio seminífero, secreção de fluido luminal, secreção de fatores de crescimento e de proteínas, participação na espermiacção liberando as espermátides no lume tubular, fagocitose de células germinativas em degeneração e excesso de citoplasma (corpo residual) após liberação das espermátides, além de esteroidogênese e metabolismo de esteroides (CARREAU et al., 1999; HESS, 2000). As células de Sertoli ainda são alvo de hormônios, mediando a ação do FSH e da testosterona na espermatogênese, provavelmente de maneira cíclica (RUSSELL et al., 1990a; FRANÇA & RUSSELL, 1998).

O fluido testicular secretado pelas células de Sertoli em direção ao lume tubular possui substâncias importantes para a função epididimária e maturação espermática, servindo também de veículo para o transporte dos espermatozoides (ILIO & HESS, 1994). A secreção do fluido testicular também ocorre em direção ao compartimento intersticial participando de mecanismos de regulação parácrina de outros tipos celulares do testículo como células mioídes, células de Leydig e células musculares lisas dos vasos (SHARPE, 1994; FRANÇA & RUSSELL, 1998; HESS & FRANÇA, 2007).

Durante o processo espermatogênico as células de Sertoli interagem com as células germinativas de forma bastante complexa, tanto física quanto bioquimicamente. Além das junções de oclusão as células de Sertoli conectam-se com a lâmina basal e com as células germinativas por meio de especializações ectoplasmáticas e complexos túbulo-tubulares tais como junções aderentes (hemidesmossomos e desmossomos) e junções comunicantes (gap junctions) (CHENG & MRURK, 2002). É bastante evidente a necessidade da interação das células germinativas com os componentes somáticos do testículo principalmente células de Sertoli, células de Leydig e células mioídes para que o processo espermatogênico transcorra de forma normal e eficiente (RUSSELL et al., 1994; GRISWOLD, 1995; FRANÇA & RUSSELL, 1998).

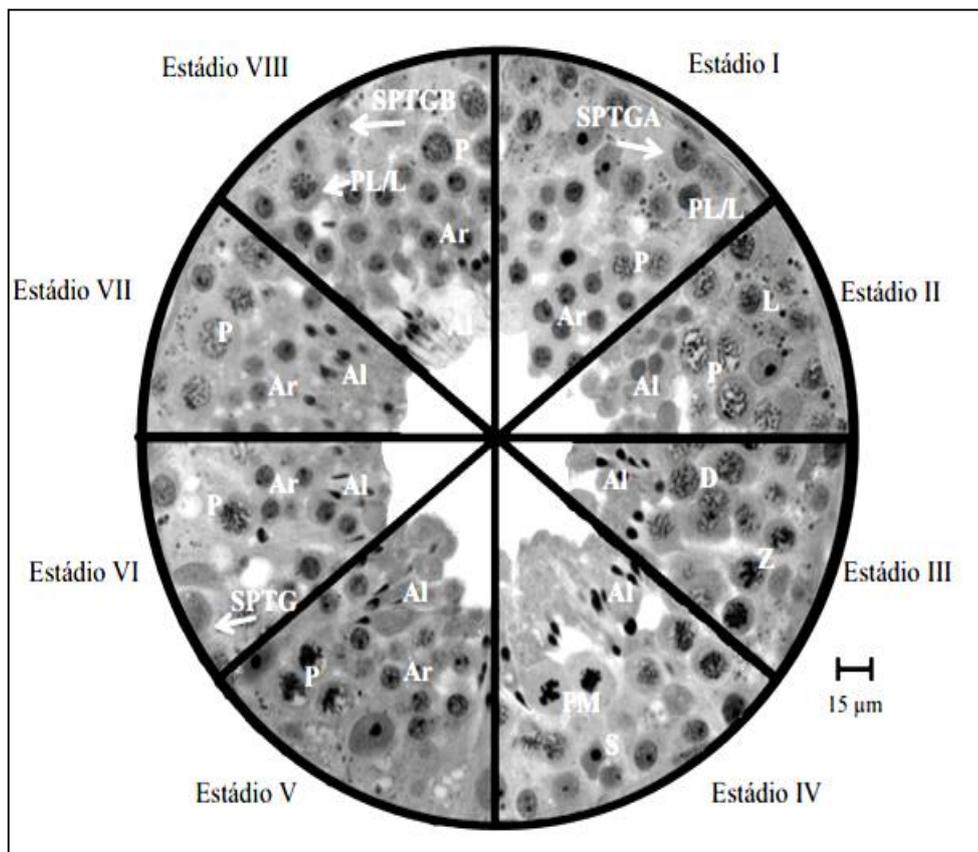
#### 2.4.2 CICLO DO EPITÉLIO SEMINÍFERO (CSE) E DURAÇÃO DA ESPERMATOGÊNESE

Nos túbulos seminíferos de animais sexualmente maduros as células germinativas não estão organizadas ao acaso e sim em associações celulares características denominadas de estádios, os quais se sucedem com o tempo de maneira bastante ordenada, formando o CES (RUSSELL et al.,1990a; FRANÇA, 1991; GONDINHO, 1999). Na grande maioria dos mamíferos estudados, exceto alguns primatas, dentre eles o homem, o arranjo dos estádios do epitélio seminífero é segmentar e geralmente apenas um estágio é observado por secção transversal de túbulo seminífero (SHARPE, 1994). Em uma determinada área de túbulo seminífero, a sequência de eventos que ocorre entre o desaparecimento de uma determinada associação celular até o seu reaparecimento caracteriza o ciclo do epitélio seminífero (ROOSEN-RUGEN & GIESEL, 1950; LEBLOND & CLERMONT, 1952; CLERMONT, 1972, FRANÇA, 1991). Cerca de 4 ciclos e meio são necessários para que o processo espermatogênico se complete em mamíferos, ou seja, desde uma espermatogônia do tipo Ais até a liberação dos espermatozoides no lume tubular (AMANN & SCHANBACHER, 1983).

Os estádios do CES podem ser classificados pelo método da morfologia tubular que estabelece 8 estádios do ciclo baseado na forma e localização das espermátides, presença de figuras de divisão meiótica e no arranjo das espermátides no epitélio seminífero (BERNDTSON, 1977; FRANÇA & RUSSELL, 1998) e pelo método do sistema acrossômico que tem como referência o desenvolvimento do acrossoma e na morfologia dos núcleos das espermátides (LEBLOND & CLERMONT, 1952; RUSSELL et al.,1990). Este método divide os estádios de forma arbitrária variando para cada espécie entre 6 e 14 estágios (AIRE et al.,1980, RUSSELL et al., 1990; FRANÇA & RUSSELL, 1998; COSTA et al.,2008). A Figura 4 ilustra os 8 estádios do ciclo do epitélio seminífero em jaguatirica.

A duração do CES é considerada uma constante biológica espécie-específica que está sob o controle do genótipo da célula germinativa (FRANÇA et al.,1998). Para o cálculo da duração do ciclo do epitélio seminífero utiliza-se o método de injeção de timidina triciada (FRANÇA, 1991; PAULA, 1991; GUIÃO-LEITE et al., 2006; BITTENCOURT et al., 2007) ou bromodeoxiuridina (BrdU) (BALARINI et al., 2011). No momento da injeção o radioisótopo é incorporado ao DNA em replicação de células em interfase nos tipos espermatogoniais, encontradas nos diferentes estádios do ciclo do epitélio seminífero, e em espermátócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno, sendo estes o último tipo celular a incorporar marcadores (timidina triciada ou BrdU) em seu núcleo. A associação entre as frequências relativas dos

diferentes estádios do CES e pré-leptóteno/leptóteno marcados são pontos de referência para a determinação do cálculo da duração do CES, em associação com a frequência dos estádios percorridos após diferentes tempos de injeção (CLERMONT, 1972; FRANÇA & CARDOSO, 1998; FRANÇA et al., 1998a; GODINHO, 1999). Sendo, portanto, possível determinar a taxa de produção espermática com base no conhecimento dos estádios que compõem o CES em conjunto com a análise histomorfométrica do testículo (AMANN & SCHANBASCHER, 1983; FRANÇA, 1991).



**Figura 4:** Montagem fotográfica contendo os oito estádios do ciclo do epitélio seminífero de capivara (*Hydrochoerus hydrocaeris*), uma espécie de roedor. Espermatogônia (SPTG); espermatogônia do tipo A (SPTGA); espermatogônia do tipo B (SPTGB); célula de Sertoli (S); espermatócito em transição preleptóteno/leptóteno (PL/L); leptóteno (L); zigóteno (Z); paquíteno (P); diplóteno (D); placa metafásica (PM); espermátide arredondada (Ar); espermátide em alongamento/alongada (AL) (Carreta Jr, 2012).

A duração do CES é considerada uma constante biológica espécie-específica que está sob o controle do genótipo da célula germinativa (FRANÇA et al., 1998). Para o cálculo da duração do ciclo do epitélio seminífero utiliza-se o método de injeção de timidina triciada (FRANÇA, 1991; PAULA, 1991; GUIÃO-LEITE et al., 2006; BITTENCOURT et al., 2007) ou bromodeoxiuridina (BrdU) (BALARINI et al., 2011). No momento da injeção o radioisótopo é

incorporado ao DNA em replicação de células em interfase nos tipos espermatogoniais, encontradas nos diferentes estádios do ciclo do epitélio seminífero, e em espermatócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno, sendo estes o último tipo celular a incorporar marcadores (timidina triciada ou BrdU) em seu núcleo. A associação entre as frequências relativas dos diferentes estádios do CES e pré-leptóteno/leptóteno marcados são pontos de referência para a determinação do cálculo da duração do CES, em associação com a frequência dos estádios percorridos após diferentes tempos de injeção (CLERMONT, 1972; FRANÇA & CARDOSO, 1998; FRANÇA et al., 1998a; GODINHO, 1999). Sendo, portanto, possível determinar a taxa de produção espermática com base no conhecimento dos estádios que compõem o CES em conjunto com a análise histomorfométrica do testículo (AMANN & SCHANBASCHER, 1983; FRANÇA, 1991).

#### 2.4.3 QUANTIFICAÇÃO DA ESPERMATOGÊNESE

Na quantificação da espermatogênese, é fundamental o conhecimento do CES, a caracterização dos estádios que o compõem, a determinação da frequência destes estádios, bem como o cálculo da duração dos eventos espermatogênicos. Este último parâmetro é, aliás, essencial para se determinar a produção espermática diária de qualquer espécie ou raça. Normalmente existe correlação positiva entre o diâmetro tubular e a atividade espermatogênica do testículo (FRANÇA & RUSSELL, 1998).

A análise da morfofisiologia testicular, especialmente daqueles aspectos relacionados com a atividade espermatogênica, é fundamental para propiciar uma visão dos efeitos de uma determinada substância sobre a função reprodutiva da espécie. De acordo com Amann e Schanbacher (1983), a biometria testicular deve ser parte integrante de qualquer exame andrológico ou de experimentos que envolvam a função reprodutiva masculina, possibilitando, assim, a verificação da normalidade dos testículos e o estabelecimento do potencial de produção de espermatozoides, dentre outros parâmetros. A obtenção da proporção volumétrica entre os diversos componentes do testículo e do epitélio seminífero, também fornece importantes dados para se avaliar a função testicular (RUSSELL et al., 1990b; FRANÇA, 1991).

Estudos têm mostrado que o número de células de Sertoli por testículo é o principal fator na determinação da produção espermática e do tamanho do testículo (FRANÇA et al., 1995; ROCHA et al., 1999; MIRANDA, 2002; FRANÇA e HESS, 2005). Tal pressuposto baseia-se no fato de que as células de Sertoli têm uma capacidade de suporte de células germinativas

relativamente fixa para cada espécie, e que a população deste tipo celular mantém-se estável após a puberdade (ORTH, 1982; ORTH et al.,1988; FRANÇA & RUSSELL, 1998), não havendo alteração no seu número ao longo dos estádios do CES (ROOSEN-RUNGE e GIESEL Jr., 1950; WING & CHRISTENSEN, 1982; FRANÇA, 1991; NEVES et al.,2002). Desta forma, o número de células germinativas suportadas por uma única célula de Sertoli é a melhor indicação da eficiência funcional da célula de Sertoli e da produção espermática (RUSSELL & PETERSON, 1984; SINHA-HIKIM et al.,1989; FRANÇA & RUSSELL, 1998; FRANÇA & HESS, 2005).

Em termos de eficiência da produção espermática por unidade de área de túbulo seminífero, o índice mais importante é o número de espermátides por célula de Sertoli (RUSSELL & PETERSON, 1984; FRANÇA & RUSSELL, 1998). A produção espermática diária por grama de testículo, que depende da estimativa prévia da duração da espermatogênese, é uma abordagem bastante eficaz para se medir a eficiência espermatogênica, sendo bastante útil nas comparações entre diferentes espécies.

A alta eficiência da espermatogênese observada em determinadas espécies de mamíferos é decorrente principalmente do alto número de células de Sertoli por grama de testículo e alta capacidade de suporte das células de Sertoli, alto percentual de túbulos seminíferos no testículo, maior número de gerações de espermatogônias, baixa perda de células durante a espermatogênese e curta duração do ciclo do epitélio seminífero (FRANÇA & RUSSELL, 1998; JOHNSON et al.,2000; FRANÇA & HESS, 2005). Dessa forma, o estudo quantitativo das células que compõem o epitélio seminífero em secções transversais de túbulos seminíferos é essencial para o entendimento do processo espermatogênico em si, possibilitando valiosas correlações com achados fisiológicos e bioquímicos (RUSSELL et al.,1990b). Este estudo permite, ainda, um entendimento mais completo da espermatogênese e também de como a estrutura testicular se comporta em condições experimentais e patológicas (FRANÇA et al.,1993).

Portanto, além de permitir a determinação do rendimento intrínseco da espermatogênese (FRANÇA et al., 1988), a avaliação histológica quantitativa dos testículos torna também possível a verificação de normalidade ou não da espermatogênese, a observação do tipo celular que está sofrendo degeneração, ou mesmo se ocorre degeneração em condições fisiológicas ou experimentais (CLERMONT & MORGENTALER, 1955; RUSSELL et al.,1990b; FRANÇA et al.,1994).

Para avaliação da produção espermática diária, vários métodos podem ser utilizados (BERNDTSON, 1977), entre eles o método histológico ou histométrico descrito por Amann e

Almquist (1962) amplamente empregado no Laboratório de Morfometria do Departamento de Anatomia-UFPE por propiciar resultados tão acurados quanto aqueles obtidos com metodologias mais tradicionais, tais como o método hemocitométrico e a quantificação através de canulação dos ductos eferentes.

## 2.5 TESTÍCULO SOB O EFEITO DE ESTERÓIDES ANABÓLICOS ANDROGÊNICOS E/OU ATIVIDADE FÍSICA:

O Durateston® é um esteróide injetável composto da combinação de 4 tipos de testosterona (propionato de testosterona, fenilpropionato de testosterona, isocaproato de testosterona e decanoato de testosterona). É muito utilizado por atletas por ter uma ação imediata após a aplicação e mantê-la por um longo período (SUPER TREINO, 2010).

A aplicação de diferentes dosagens de Durateston® sobre os níveis de testosterona intratesticular e manutenção da espermatogênese em ratos adultos hipofisectomizados, demonstrou que a espermatogênese estava incompleta, caracterizada pela ausência da etapa 15-19 das espermátides, degeneração de alguns espermátócitos em paquíteno e um rendimento significativamente mais baixo de espermatogônias do tipo B, utilizando uma dosagem de 0,2mg/dia. Nos animais tratados com 0,4 a 1mg de propionato de testosterona/dia mostrou manutenção completa e maturação dos espermátócitos paquíteno da meiose e espermiogênese. Entretanto, mesmo com a maior dose de propionato de testosterona (1mg/dia), a produção total de espermatogônias do tipo B foi de apenas cerca de 58% dos controles intactos. Conclui-se que pelo menos 0,4mg/ dia de propionato de testosterona exógena é essencial para a manutenção qualitativa da espermatogênese em ratos (CHOWDHURY & TCHOLAKIAN, 1979).

Estudo em humanos, onde uma dosagem de 50mg/dia de propionato de testosterona, por 10 e 25 semanas, resultou na redução rápida de LH a níveis indetectáveis, da testosterona testicular e da produção de espermatozóides, entretanto houve um aumento da testosterona plasmática. Sabendo que alta concentração de testosterona testicular é necessária para a espermatogênese normal, foi concluído que a causa da depressão da espermatogênese em homens dado ao propionato de testosterona, ocorre pela redução marcante da testosterona testicular (MORSE et al., 1973).

Inicialmente as pesquisas envolvendo a ação do exercício sobre o sistema reprodutivo humano se concentraram mais em indivíduos do sexo feminino do que em atletas do sexo masculino, pois aquelas apresentavam sintomas tais como anormalidades menstruais, enquanto

estes necessitavam de um fator físico extremo para comprometer efetivamente a reprodução (HACKNEY, 1996).

O exercício físico tem vários efeitos sobre o eixo hipotálamo-hipófise-gonadal e sobre a fertilidade, em função do tipo, intensidade e duração da atividade. A evidência sugere agora que os homens que participam de treinamento de resistência crônica apresentam graus leves de anormalidades no sistema reprodutivo. As principais anormalidades observadas são: reduzidos níveis basais de testosterona, liberação hipofisária alterada do hormônio luteinizante e da prolactina, e características dos espermatozóides alterados (HACKNEY, 1996).

A literatura indica que atividade física influencia negativamente o fluido seminal em atletas saudáveis com um alto nível de treinamento, e ainda que o treinamento leve em atletas com varicocele favorece o surgimento de alterações testiculares e/ou espermáticas (LUIGI & ROMANELLI, 2008).

Segundo Shokri e outros (2009) a combinação experimental de exercício e tratamento com esteróides anabólicos androgênicos reduzem o peso dos testículos e de outros órgãos reprodutivos acessórios, sendo comprovado aumento da apoptose de células espermatogênicas.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 GERAL

Caracterizar a ação do tratamento com esteróide anabolico androgênico (EAA) em associado a atividade física do tipo “treinamento aeróbio de moderada a elevada intensidade”, no testículo de ratos Wistar adultos.

#### 3.2 ESPECÍFICOS

- Verificar a influência do esteróide anabolico androgênico (EAA) no desenvolvimento corpóreo, testicular e índice gonadossomático por meio de medidas de peso;
- Analisar a morfometria macro e microscópica dos testículos, incluindo proporções volumétricas entre componentes do parênquima testicular, diâmetro tubular, altura do epitélio e comprimento total dos túbulos seminíferos;
- Determinar o número de células do epitélio seminífero (células de Sertoli e espermátides arredondadas) em secções transversais de túbulo seminífero em estágio I do ciclo do epitélio seminífero;
- Determinar as relações quantitativas entre células da linhagem espermatogênica e células de Sertoli;
- Calcular a produção espermática diária através do método histométrico (histologia quantitativa do testículo);

## CAPÍTULO 1

### “EFEITO DO DURATESTON® E/OU DO TREINAMENTO FÍSICO SOBRE A MORFOMETRIA DO TESTÍCULO DE RATOS WISTAR ADULTOS”

Artigo a ser submetido no periódico



ISSN **0034-737X**

1 **Efeito do Durateston® e/ou do treinamento físico sobre a morfometria do testículo de**  
2 **ratos Wistar adultos**

3  
4 **Effect of Durateston® and/or physical training on testis morphometry of adult wistar**  
5 **rats.**  
6

7 Ticiana Navarro Tavares de Melo<sup>1</sup>, Olávio Campos Júnior<sup>2</sup>, Fernanda Carolina Ribeiro Dias<sup>3</sup>,  
8 Maria Teresa dos Santos Correia<sup>4</sup>, Marcelo Moraes Valença<sup>5</sup>, Elizabeth Neves de Melo<sup>6</sup>

9 <sup>1</sup> Este trabalho é referente a dissertação de mestrado da primeira autora.

10 <sup>2</sup> Biólogo, Mestre. Departamento de Anatomia, Universidade Federal de Pernambuco, Campus  
11 Recife, Avenida professor Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, 50670-901, Recife,  
12 Pernambuco, Brasil. (81) 32318555.

13 <sup>3</sup> Bióloga, Mestre. Departamento de Anatomia, Universidade Federal de Pernambuco, Campus  
14 Recife, Avenida professor Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, 50670-901, Recife,  
15 Pernambuco, Brasil. (81) 32318555.

16 <sup>4</sup> Química Industrial, Doutora. Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de  
17 Bioquímica. Avenida Professor Moraes Rego S/N, Laboratório de Glicoproteínas Cidade  
18 Universitária, 50670-910, Recife, Pernambuco, Brasil. (81) 21268540.

19 <sup>5</sup> Médico, Pós-Doutor. Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde,  
20 Departamento de Neuropsiquiatria, CCS, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof.  
21 Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, 50670-901, Recife, Pernambuco – Brasil. (81)  
22 21268523.

23 <sup>6</sup> Bióloga, Doutora. Departamento de Anatomia, Universidade Federal de Pernambuco,  
24 Campus Recife, Avenida professor Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, 50670-901,  
25 Recife, Pernambuco, Brasil. (81) 32318555.

26

27

28

29

30

## 31 RESUMO

32 Tem sido demonstrado que esteroides anabólicos androgênicos (EAA) agem negativamente  
33 sobre a fisiologia humana e animal, entretanto estudos morfométricos do testículo têm recebido  
34 pouca atenção. O presente estudo objetivou avaliar o efeito do Durateston® e/ou treinamento  
35 físico na morfometria testicular de ratos. Ratos adultos foram divididos em quatro grupos  
36 (n=10): Sedentário (S), Treinado (T), Sedentário-EAA (SEAA), Treinado-EAA (TEAA). Os  
37 animais foram tratados com 5mg/kg de Durateston® via intramuscular, por 06 semanas,  
38 totalizando 10 aplicações. O treinamento ocorreu 05 dias/semana por 06 semanas, tempo  
39 variando de 40-60 min com carga de 50% a 80% da capacidade máxima. O estudo morfométrico  
40 testicular mostrou aumento do peso corporal no grupo SEAA e redução no T, ambos na ordem  
41 de 5%. O IGS dos grupos SEAA e TEAA foram menores ( $p<0,05$ ). O tratamento com o EAA  
42 reduziu tanto o volume testicular das células de Leydig (SEAA=57%, TEAA=66%), quanto o  
43 volume individual desta célula (SEAA=69%, TEAA=64%), entretanto a população por grama  
44 de testículo aumentou 60% nos grupos SEAA e TEAA. O comprimento do túbulo seminífero  
45 reduziu 18% no grupo TEAA. O índice de células de Sertoli aumentou nos grupos T (27%) e  
46 TEAA (21%). O número de células de Sertoli por grama de testículo reduziu 20% no grupo T  
47 e aumentou 26% no grupo TEAA. A produção espermática diária por testículo reduziu 20% no  
48 grupo SEAA. Entretanto a produção espermática diária por grama de testículo foi 27% menor  
49 no grupo T e 50% maior no grupo TEA. O testículo apresenta alterações morfológicas e  
50 morfométricas significativas sob o efeito do treinamento e tratamento, em separado ou  
51 associado, entretanto a produção espermática diária foi mantida.

52 **Palavras-chave:** Rato; Esteroides Anabólicos Androgênicos; Testículo; Morfometria.

## 53 ABSTRACT

54 Anabolic-androgenic steroid (AAS) compounds have adverse effects on human and animal  
55 physiology and sperm quality, but testis quantitative structural changes have received less

56 attention. The present study was conducted to evaluate the effects of DURATESTON® and /or  
57 swimming training on testis stereological data. Adult rats were divided into four groups (n =  
58 10): Sedentary (S), Trained (T), Sedentary AAS (SAAS), Trained AAS (TAAS). The animals  
59 were treated with 5mg/kg of DURATESTON® intramuscularly for 06 wk a total of 10  
60 applications. The exercise training was performed 05 days/week for 06 wk, time varying from  
61 40-60 min, workload was determined 50-80% to maximal load. The testicular stereological  
62 study showed increased body weight in SAAS group and reduction in T group, both 5%. The  
63 IGS was lower on (SAAS and TAAS) ( $P < 0.05$ ). Reduced volume and volume occupied by  
64 Leydig cells in the testis parenchyma (S = 69%, T = 64%), (S = 57%, T = 66%), however the  
65 population per gram of testis increased 60% in both groups (SAAS and TAAS). The CTS  
66 reduced 18% in TAAS group. The Sertoli cells index (ICS) increased (27%, 21%) groups (T  
67 and TAAS). Sertoli cells per gram of testis decreased 20% in the T group and increased by 26%  
68 in TAAS group. The daily sperm production per testis decreased 20% in the SAAS group.  
69 However the daily sperm production per gram of testis was 27% lower in (T) group and 50%  
70 greater (TAAS). The testis shows significant morphological and morphometric changes under  
71 the effect of training and treatment, singly or in combined, however, daily sperm production  
72 was maintained.

73 **Keywords:** Rat; Anabolic-Androgenic Steroids, testis; Stereology.

74

75

## 76 **INTRODUÇÃO**

77 Identificada primeiramente em 1935, a testosterona é o principal hormônio androgênico,  
78 responsável pelo desenvolvimento do fenótipo masculino graças aos seus efeitos androgênicos  
79 masculinizantes e da propriedade anabólica, responsável pelo aumento da massa muscular  
80 (Dotson e Brown, 2007). As modificações estruturais na molécula de testosterona foram

81 introduzidas na década de 1950 para aumentar os seus efeitos anabólicos e minimizar os efeitos  
82 androgênicos, resultando na família de esteroides anabólicos androgênicos (EAA) (Kicman,  
83 2008). Por serem derivados químicos e farmacológicos da testosterona são também utilizados  
84 em diversas condições clínicas como hipogonadismo, disfunção sexual, contracepção,  
85 osteoporose e envelhecimento. No entanto o uso clínico dos androgênios resultou no uso para  
86 além da indicação esperada e hipogonadismo (Janjic et al., 2012).

87         Introduzidos tanto no esporte de alto rendimento profissional quanto na prática esportiva  
88 amadora, atualmente os compostos EAA estão entre os medicamentos mais amplamente  
89 utilizados com o objetivo de melhorar a capacidade atlética, aparência, ou a massa muscular  
90 (Clarck et al., 1997). As doses e as combinações desses compostos utilizados por atletas são  
91 normalmente muito maiores do que as doses terapêuticas (10 - 100 vezes) (Noorafshan et al.,  
92 2005).

93         A administração de doses suprafisiológicas de EAA apresentam efeitos adversos em  
94 roedores demonstrando que a exposição a EAA, em doses similares aos níveis observados no  
95 uso humano excessivo produz alterações significativas na agressão, ansiedade e  
96 comportamentos sexuais: todos comportamentos observados em indivíduos que fazem o uso  
97 abusivo de esteroides (Clark e Henderson, 2003).

98         Por derivarem da testosterona, os EAA anabolizantes afetam diretamente o eixo  
99 hipofisário-gonadal masculino. O hipogonadismo pode ser induzido, sendo caracterizado pela  
100 redução da concentração sérica de testosterona, atrofia testicular e prejuízos na  
101 espermatogênese (Karbaly-Doust et al., 2007).

102         Administração EAA altera a produção endógena normal de testosterona e  
103 gonadotrofinas (Clark et al., 1997; Kostic et al., 2011), que por sua vez pode afetar a ultra-  
104 estrutura dos testículos (Naraghi et al., 2010). Há relatos de aumento significativos nos níveis  
105 de apoptose de células espermatogênicas após administração de EAA (Shokri et al., 2009).

106 Tanto exercício físico quanto andrógenos exógenos são conhecidos por exercerem  
107 alterações subclínicas nos tecidos reprodutivos masculinos. EAA e exercício de resistência  
108 podem induzir algumas alterações subclínicas no eixo hipotálamo-hipófise-gônada. Tais  
109 mudanças incluem, principalmente, a redução dos níveis circulantes de testosterona total e livre,  
110 bem como o hormônio luteinizante (LH) (Feinberg et al., 1997). Shokri et al. (2009) relataram  
111 um aumento significativo, claramente amplificado pelo exercício físico, nas taxas de apoptose  
112 após administração de nandrolone.

113 Alguns autores tomaram como parâmetros base o comprimento testicular (Pope e  
114 Katz,1994) e a largura dos testículos (Koskinen et al., 1997) como medidas para a avaliação  
115 testicular após injeções de anabolizantes androgênicos, e observaram uma redução significativa  
116 desses parâmetros

117 As evidências sugerem que a administração de EAA causam mudanças no  
118 comportamento sexual humano e animal, bem como na fisiologia e na qualidade espermática  
119 (Clarck et al., 1997; Wroblewska, 1997). Entretanto os efeitos combinados do treinamento  
120 físico associado a doses supra fisiológicas de andrógenos exógenos na histomorfometria  
121 testicular tem se restringido a análises morfométricas muito simples

122 Este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a combinação entre natação  
123 (treinamento aeróbio de moderada a elevada intensidade) e tratamento com EAA, sobre o  
124 processo espermatogênico, morfologia e morfometria do testículo de ratos adultos.

## 125 **MATERIAL E MÉTODOS**

### 126 **Animais**

127 Foram utilizados 40 ratos da linhagem Wistar machos adultos com aproximadamente 120  
128 dias de idade provenientes do biotério de Nutrição do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da  
129 Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Durante todo tratamento os animais foram  
130 mantidos em gaiolas coletivas com dieta de manutenção (Labina® - Purina) e água ad libitum,

131 com temperatura controlada à temperatura de  $22\pm 2$  °C e ciclo invertido diário de 12 horas de  
132 claro e 12 horas de escuro (5:30h – 17:30h), no biotério do Departamento de Anatomia do  
133 Centro de Ciências Biológicas (CCB) da UFPE. A realização do protocolo experimental foi  
134 submetido e aprovado, seguindo as resoluções específicas da Comissão de Ética em  
135 Experimentação Animal (CEEAA) da UFPE (CCB – processo nº 23076.012393/2011-87).

136

### 137 **Grupos experimentais**

138 Para avaliar a influência do treinamento aeróbio de moderada a elevada intensidade  
139 (natação), associado ao tratamento com EAA na espermatogênese os animais foram divididos  
140 aleatoriamente em quatro grupos (N=10/grupo): Sedentário (S), Sedentário EAA (SEAA),  
141 Treinado (T), Treinado EAA (TEAA). Os animais foram tratados com doses suprafisiológica  
142 de 5mg/kg (Cunha, 2005) de Durateston®. A via de administração utilizada foi a intramuscular,  
143 por um período de 06 semanas, com administrações a cada 03 dias, até atingir dez aplicações.

144

### 145 **Protocolo do treinamento físico**

146 Durante a primeira semana os grupos selecionados para o treinamento foram aclimatados  
147 ao meio líquido por um período de quatro dias, durante quinze minutos diários, antes da  
148 avaliação da capacidade aeróbia. Após a primeira semana os animais foram submetidos a um  
149 protocolo de carga progressiva até exaustão para avaliação da capacidade aeróbia, realizado 48  
150 horas após o período de aclimação. Antes da realização do teste de carga progressiva, os  
151 animais foram pesados para que, a partir da massa corporal dos mesmos, fossem confeccionadas  
152 sobrecargas correspondentes a 2% da massa corporal. O teste foi realizado individualmente, na  
153 mesma raia, com água na temperatura de  $31 \pm 1$ ° C. A partir do momento em que o animal, com  
154 uma sobrecarga de 2% afixada na cauda, era lançado na água, o cronômetro era disparado e a  
155 cada três minutos uma nova sobrecarga era adicionada. O teste foi de caráter contínuo, uma vez

156 que, não houve a necessidade de retirar o animal da água até o mesmo atingir a exaustão que  
157 foi caracterizada pela imersão total do animal durante 4 segundos.

158 A capacidade máxima foi definida como a maior sobrecarga alcançada durante o teste  
159 (Almeida et al., 2009) e este peso máximo convertido em percentagem do peso do corpo do  
160 animal. O valor percentual de peso do corpo foi utilizado como base para o cálculo de uma nova  
161 carga máxima de trabalho mediante pesagem dos animais no início de cada semana. Sendo  
162 assim, a cada semana uma carga de trabalho de 50% ou 80% da carga máxima suportada pelo  
163 animal era então determinada. Este procedimento eliminou a necessidade de realização de um  
164 teste de carga progressiva semanal.

165 Os animais foram submetidos a diferentes tempos e intensidades de treinamento, durante  
166 06 semanas por um período que variou de 40-60 minutos, cinco dias por semana. Todo  
167 treinamento foi realizado em piscina projetada com raias cilíndricas individuais (60cm x 30cm)  
168 com sistema de aquecimento e circulação de água a temperatura de  $31 \pm 1^\circ \text{C}$ .

### 169 **Processamento histológico**

170 Vinte e quatro (24) horas após o último tratamento, os animais foram pesados e  
171 anestesiados, via intramuscular, com uma associação de substâncias anestésico-sedativa:  
172 ketamina (0,7ml) e xilazina (0,1ml) na mesma seringa (Fantoni e Cortopassi, 1994). Ambos  
173 testículos foram pesados, fixados durante 24h em Solução Modificada de Davidsom  
174 (Latendresse et al., 2002), clivadas manualmente e transferidos para álcool 70%. Os fragmentos  
175 de testículo foram rotineiramente processados e incluídos em parafina. Em seguida cortes de  
176  $5\mu\text{m}$  foram obtidos e corados pelas técnicas de Hematoxilina e Eosina para análise em  
177 microscópio de luz.

178

### 179 **Cálculo do índice gonadossomático (IGS)**

180 Com a obtenção dos pesos corporal e testicular no dia do sacrifício, foi calculado o IGS,  
181 o qual corresponde à relação percentual entre a massa testicular e o peso corporal para todos os  
182 grupos experimentais:  $IGS = PT/PC$ , onde PT é o peso testicular (g) e PC é o peso do corpo  
183 (g).

184

### 185 **Análises morfométricas**

186 As imagens do parênquima testicular foram obtidas por fotomicroscopia utilizando software  
187 ZEN-2012/Zeiss, e as análises morfométricas foram realizadas através do software Image J,  
188 versão 1.4 (NIH, Bethesda, USA), carregado com “plugin” próprio. Para medir o diâmetro  
189 tubular e a altura do epitélio seminífero, foram selecionados aleatoriamente por animal, 30  
190 secções transversais de túbulos, com contornos mais circulares possíveis.

191 As proporções volumétricas dos túbulos e intertúbulo foram estimadas superpondo um  
192 sistema de grade teste com 432 intersecções por animal, em aumento de 400X. Para cada  
193 animal foram analisados 15 campos, escolhidos ao acaso para um total de 6480 intersecções.

194 O comprimento total do túbulo seminífero (CTS) por testículo, expresso em metros, foi  
195 estimado a partir do volume ocupado pelos túbulos seminíferos no testículo (VTS) e do  
196 diâmetro tubular médio obtido para cada animal, segundo a fórmula (Attal e Courot, 1963;  
197 Dorst e Sajonski, 1974):

198

$$199 \quad CTS = \frac{\text{Volume do tubulo seminífero}}{\pi R^2}$$

200

201 Onde  $R = \text{diâmetro tubular}/2$ . O CTS por grama de testículo corresponde à razão entre o  
202 comprimento tubular total e o peso do testículo.

203 Considerando a retração tecidual devido ao processamento histológico na parafina, os  
 204 valores de diâmetro tubular, altura do epitélio seminífero e comprimento do túbulo seminífero  
 205 foram corrigidos para o valor de retração de 15%, segundo França, (1991).

206

### 207 **Quantificação celular e produção espermática diária (PED)**

208 Para a quantificação celular, em cada animal, 10 secções transversais de túbulos seminíferos  
 209 no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero foram analisadas. Os seguintes tipos celulares  
 210 caracterizam o estágio 1 de ratos (*Rattus norvegicus*): espermatogônias, espermatócitos  
 211 primários em zigóteno e em paquíteno, espermátides arredondadas e célula de Sertoli. Foram  
 212 contabilizados e medidos os diâmetros dos núcleos das espermátides arredondadas e dos  
 213 nucléolos das células de Sertoli.

214 A contagem obtida para cada tipo celular foi corrigida para o diâmetro nuclear médio  
 215 (espermátide arredondada) ou diâmetro nucleolar médio (célula de Sertoli) e a espessura do  
 216 corte, utilizando-se a seguinte fórmula de Amann e Almquist (1962):

217

$$218 \quad \text{Número Corrigido} = \frac{\text{Contagem obtida} \times \text{espessura do corte}}{\text{Espessura do corte} + \sqrt{\left(\frac{\text{DM}}{2}\right)^2 - \left(\frac{\text{DM}}{4}\right)^4}}$$

219

220 Onde o diâmetro nuclear médio (DM) tanto pode representar a média das medidas dos  
 221 diâmetros de 30 núcleos de espermátides arredondadas, como também a média das medidas dos  
 222 diâmetros de 30 nucléolos de células de Sertoli, para cada animal.

223 A estimativa do número de células de Sertoli foi realizada a partir do número corrigido de  
 224 células de Sertoli por secção transversal de túbulo seminífero no estágio 1 e o CTS por testículo,  
 225 segundo a fórmula empregada por Hochereau-De-Reviere e Lincoln (1978):

226

$$227 \quad \text{N}^{\circ} \text{ de Cél. de Sertoli} = \frac{\text{CTS por test } (\mu\text{m}) \times \text{N}^{\circ} \text{ corrig. de nucleolo de Sertoli}}{\text{espessura do corte } (\mu\text{m})}$$

228

229 A partir deste cálculo e do peso bruto do testículo, foi estimado o número de células de  
230 Sertoli por grama de testículo.

231 O cálculo da produção espermática diária (PED) total foi obtido a partir da histologia  
232 quantitativa dos testículos, segundo Sharma e Grupta (1980) utilizando-se a seguinte fórmula:

233

$$234 \quad \text{PED} = \frac{\text{pop. cel. Sertoli} \times \text{n}^{\circ} \text{ de espermat. arred. no estadio 1} \times \text{freq. estadio 1}}{\text{espessura do corte } (\mu\text{m})}$$

235

236 Onde: frequência do estágio 1 = 7,98% (Clermont e Harvey, 1965).

237 Os resultados foram expressos em produção espermática diária por testículo e por grama de  
238 testículo.

239

#### 240 **Análise de células de Leydig**

241 Realizou-se uma proporção volumétrica de células de Leydig superpondo um sistema de  
242 grade teste de 432 intersecções até a obtenção de 1000 pontos entre citoplasma e núcleo. As  
243 imagens de trinta núcleos de células de Leydig para cada animal foram digitalizadas com  
244 aumento final de 1000x e o diâmetro nuclear médio destas células foi obtido utilizando-se o  
245 software Image J.

246 Os núcleos medidos foram aqueles que se apresentavam o mais esférico possível e com  
247 cromatina perinuclear e nucléolos bastante evidentes. A partir dos dados acima obtidos e  
248 aplicando-se as fórmulas abaixo, foi calculado o volume nuclear, o volume do citoplasma e,  
249 conseqüentemente, o volume de cada célula de Leydig, por animal. Estes valores foram  
250 expressos em micrômetro cúbico.

251

252 
$$\text{Vol. Nuclear de Leydig} = \frac{4}{3}\pi R^3$$

253 
$$\text{Vol. citoplasmático de Leydig} = \frac{\% \text{ citoplasma} \times \text{vol. nuclear de leydig}}{\% \text{ núcleo}}$$

254 
$$\text{Volume célula de Leydig} = \text{volume nuclear} + \text{volume citoplasmático}$$

255

256 Onde R = raio nuclear.

257 De posse do volume ( $\mu\text{m}^3$ ) das células de Leydig, da proporção volumétrica (%) das  
258 mesmas no testículo e do volume total (ml) ocupado por estas células no testículo, calculou-se  
259 o número de células de Leydig por testículo e por grama de testículo, em cada animal.

260

### 261 **Análise estatística**

262 Os resultados obtidos foram analisados com o auxílio do programa “Excel for Windows”,  
263 os dados foram representados em termos média e erro padrão. O teste estatístico utilizado foi o  
264 ANOVA, através do programa “R Core Team (2012)”. Os valores de  $p < 0,05$  foram  
265 considerados significantes.

266

### 267 **RESULTADO E DISCUSSÃO**

268 Na tabela 1 é possível verificar que ao final do experimento o grupo SEAA  
269 (sedentário+EAA) apresentou o peso corporal menor que o grupo S (sedentário), enquanto que  
270 o T (treinado) adquiriu maior massa ponderal durante o experimento. Entretanto o grupo TEAA  
271 (treinado+EAA) teve o mesmo peso corporal médio do grupo S.

272 A literatura ainda é controversa no que diz respeito à influência da EAA sobre o peso  
273 corporal. O resultado obtido neste estudo mostra que o tratamento com o Durateston® teve  
274 efeito negativo ( $p < 0,05$ ) sobre o peso corporal somente no grupo sedentário (SEAA). Sabe-se

275 que o EAA estimula a síntese de proteína e o aumento da retenção hídrica, que pode levar ao  
276 ganho de peso corporal, entretanto níveis excessivos destas substâncias podem inibir o  
277 crescimento corporal e o ganho de peso (Cunha et al., 2006; Carson et al., 2002). Segundo Faria  
278 et al. (2012) a dosagem ideal do decanoato de nandrolona para o aumento máximo do peso  
279 corporal é 2,0mg/kg. Doses maiores começam a apresentar toxicidade, promovendo redução do  
280 peso. Estes achados indicam que provavelmente a redução do peso corporal observada no grupo  
281 sedentário e tratado (SEAA) deste protocolo se deve a uma hiperdosagem do Durateston®  
282 (5mg/kg) administrada aos animais.

283 O protocolo de natação utilizado pelos grupos treinados (T e TEAA) foi indicado por  
284 Almeida et al. (2009) como treino de resistência. Onde os ratos adaptados ao meio líquido,  
285 suportaram sobrecargas equivalentes a 2% do peso corporal. Os animais do grupo T  
286 apresentaram o maior peso corporal ao final do experimento, em relação aos demais grupos (S,  
287 SEAA e TEAA). Estando este resultado de acordo com a literatura que informa que o aumento  
288 da massa muscular é um dos mais marcantes efeitos dos exercícios resistidos. O estímulo básico  
289 para o aumento do volume dos músculos esqueléticos é a sobrecarga de tensão, que ocorre  
290 sempre que a contração muscular é realizada contra alguma resistência. Nessa situação ocorre  
291 o catabolismo das fibras musculares durante a atividade, o que leva ao aumento de proteínas  
292 contráteis no sarcoplasma durante o período de recuperação, caracterizando o processo de  
293 hipertrofia (Ratamess et al., 2009).

294 Não houve diferença no peso corporal entre os grupos S e TEAA, ao final do  
295 experimento. Este resultado permite sugerir que houve uma superposição dos efeitos  
296 desencadeados pela natação e tratamento com o EAA nos animais do grupo TEAA. Onde o  
297 aumento do peso corporal esperado pelo treinamento com natação foi debelado pelo tratamento  
298 com uma hiperdose do Durateston® (5mg/kg).

299 O resultado obtido para o peso corporal no presente trabalho foi semelhante ao  
300 observado no protocolo experimental de Lunz et al. (2006). Entretanto este último não  
301 constatou alteração significativa no peso corporal dos grupos experimentais (sedentário,  
302 sedentário+nandrolona, treinado, treinado+nandrolona), provavelmente devido ao número de  
303 animais de cada grupo (6 ratos) e ao tipo de treinamento físico. Lunz et al. (2006) investigaram  
304 os efeitos do exercício e do EAA sobre a expressão de HSP72 cardíaca, onde os animais dos  
305 grupos tratados com EAA receberam uma injeção intramuscular por semana (6,5mg/kg de peso  
306 corporal) de decanoato de nandrolona, e os grupos treinados foram submetidos a um exercício  
307 progressivo em esteira, por 8 semanas.

308 Na tabela 1 observa-se que os pesos médios e líquidos dos testículos dos animais do  
309 grupo tratados com o Durateston® (SEAA e TEAA) foram menores ( $P<0,05$ ) em relação aos  
310 dos grupos não tratados com o referido esteróide anabolizante (S e T). O índice  
311 gonadossomático (IGS), que determina o percentual de massa corpórea alocada no testículo,  
312 teve redução significativa ( $p<0,05$ ) nos animais dos grupos tratados com o Durateston® (SEAA  
313 e TEAA) quando comparado aos grupos não tratados (S e T). Fato justificado pela redução do  
314 peso testicular observado nos animais dos grupos SEAA e TEAA. Entre os grupos tratados com  
315 o Durateston®, o grupo que treinou (TEAA) apresentou um peso testicular e o IGS  
316 significativamente ( $p<0,05$ ) menor que o grupo não treinado (SEAA).

317 Redução do peso testicular após a exposição ao EAA é o efeito esperado, já relatado  
318 em outras investigações (Noorafshan et al., 2005; Shokriet al., 2010; Mutalip et al., 2013),  
319 sendo também observado neste estudo. Reduções significativas dos pesos dos testículos foram  
320 observados em grupos tratados com diferentes EAA, tais como: stanozolol, testosterona e  
321 nandrolona (Mutalip et al., 2013). Segundo Kicman (2008), a diferença no tamanho do testículo  
322 é basicamente dependente da estrutura molecular do EAA sintético utilizado.

323 Shokri et al (2010), observaram que ratos machos treinados com natação e tratados com  
324 decanoato de nandrolona (10mg/kg), por 8 semanas, apresentaram redução significativa  
325 ( $p < 0,05$ ) do peso testicular em relação ao grupo controle, de acordo com os nossos resultados.  
326 Entretanto o peso do epidídimo encontrado por Shokri et al (2010) estava reduzido ao final do  
327 experimento, enquanto que nos nossos resultados o peso do epidídimo não apresentou alteração  
328 nos grupos TEAA. Os grupos S, SEAA, T e TEAA apresentaram pesos epididimários médios  
329 equivalentes (Tab. 1). É provável que a ausência de alteração no peso epididimário seja  
330 decorrente da dose do Durateston® utilizado (5mg/kg) neste protocolo, ter sido a metade da  
331 utilizada nos experimentos de Shokri et al (2010).

332 A variação no peso testicular observado nos animais experimentais desta investigação  
333 sinalizam para a necessidade da análise morfológica qualitativa dos testículos. Através da  
334 histologia testicular dos ratos dos quatro grupos experimentais (S, SEAA, T e TEAA) foi  
335 possível verificar características usuais nos túbulos seminíferos, com 4-6 camadas de células  
336 espermatogênicas, túnica própria limitando o túbulo e apoiando múltiplas células de Sertoli,  
337 lume tubular marcado pela presença de grande quantidade de espermátides alongadas (Figs. 1,  
338 2, 4, 6). A região intertubular apresenta-se bem característica, com presença de vasos, espaços  
339 linfáticos, células de Leydig e outras células do conjuntivo. Entretanto nos grupos SEAA, T e  
340 TEAA também foram detectados secções transversais de túbulos seminíferos com  
341 características morfológicas anormais (Figs. 3, 5, 7). Nestes túbulos o epitélio seminífero  
342 apresentavam graus variados de vacuolizações, número menor de camadas de células  
343 espermatogênicas, tamanhos variados de lume tubular. Os grupos experimentais SEAA e  
344 TEAA apresentaram secções com os compartimentos intertubulares portando um menos  
345 número de células (Fig. 3 e 7)

346 Mutalip et al (2013), observaram através da análise histológica dos testículos de ratos  
347 tratados com testosterona, nandrolona e estanozolol, que os túbulos seminíferos apresentaram

348 diferenças no tamanho e na forma, certamente resultante de anormalidade das funções  
349 testiculares. Mesquita et al. (2009), verificaram que ratos submetidos a natação, por 20 minutos,  
350 durante cinco dias por semana, do 120º até 180º dia de idade, apresentavam a estrutura do túbulo  
351 seminífero íntegra, caracterizada pela presença de várias camadas de células germinativas.  
352 Shokri et al (2010), realizaram avaliação histopatológica da espermatogênese de ratos  
353 submetidos a natação e ao tratamento com decanoato de nandrolona (10mg/kg), constatando  
354 desde arquitetura normal nos túbulos seminíferos, com túbulos organizados e espermatogênese  
355 completa, até túbulos sem células germinativas e sem células de Sertoli; constatando também  
356 túbulos com diminuição significativa no número de camadas de células germinativas.

357 Análises morfométricas foram procedimentos complementares para o entendimento das  
358 alterações morfológicas no parênquima testicular, observados nos animais sob o efeito da  
359 natação e do Durateston®, em separado (SEAA e T) ou associado (TEAA).

360 Em relação às características volumétricas do parênquima testicular (Tab. 2), não houve  
361 variação no percentual de túbulo seminífero, nem entre os seus componentes (epitélio  
362 seminífero, túnica própria ou lume tubular), decorrente ou do tratamento com o Durateston®,  
363 ou do treinamento, ou ainda da associação do treinamento e tratamento com o esteróide  
364 anabólico. O compartimento intertubular, juntamente com dois dos seus componentes (vasos  
365 sanguíneos e espaços linfáticos) não sofreram alterações proporcionais significativas em  
366 decorrência do treinamento e/ou tratamento com o Durateston®. Entretanto no compartimento  
367 intertubular houve uma redução ( $p < 0,05$ ) na proporção de células de Leydig e outras células do  
368 conjuntivo nos grupos SEAA (43% e 34%, respectivamente) e TEAA (45% e 53%,  
369 respectivamente), em relação aos grupos S e T.

370 Os resultados obtidos por Feinberg et al (1997) mostraram diferença marcante no  
371 interstício de ratos tratados com propionato de testosterona (1mg/cc), sendo constatado células  
372 de Leydig com morfologia irregular e em menor número. Este mesmo resultado foi observado

373 por Naraghi et al (2010) em ratos Wistar adultos tratados com decanoato de nandrolona  
374 (10mg/kg) e submetidos a treinamento por natação. Naraghi et al (2010) confirmaram por  
375 microscopia eletrônica, células de Leydig apoptóticas associadas com citoplasma vacuolizado.  
376 Entretanto os resultados para a proporção volumétrica (Tab. 2) e população (Tab. 3) de Células  
377 de Leydig observados neste protocolo experimental se contrapõe parcialmente aos resultados  
378 anteriores descritos, visto que nos grupos SEAA e TEAA embora a proporção volumétrica de  
379 células de Leydig (Tab. 2) tenha apresentado redução, houve um aumento da população destas  
380 células por grama de testículo (Tab. 3).

381 A tabela 3 apresenta o volume e a população das células de Leydig de ratos sedentários  
382 e submetidos a natação, tratados ou não com Durateston®. É observado que o tratamento com  
383 o esteróide anabolizante reduziu tanto o volume testicular ocupado por células de Leydig,  
384 quanto o volume da célula de Leydig. Entretanto a população de células de Leydig por testículo  
385 não foi alterada significativamente entre os grupos experimentais (S, SEAA, T e TEAA). Já o  
386 número destas células por grama de testículo, foi 60% ( $p < 0,05$ ) maior nos grupos tratados com  
387 o Durateston® (SEAA e TEAA) em relação aos grupos não tratados (S e T).

388 A célula de Leydig foi expressivamente alterada pelo tratamento com o Durateston®  
389 (5mg/kg) ou por este tratamento associado ao treinamento com natação. Esta conclusão foi  
390 constatada no volume ocupado pelas células de Leydig no parênquima testicular e no volume  
391 reduzido da célula de Leydig dos animais do grupos SEAA e TEAA, observados na tabela 3,  
392 bem como pelos resultados obtidos por Feinberg et al. (1997), com população de células de  
393 Leydig, e por Naraghi et al. (2010), com ultraestrutura de célula de Leydig, em animais tratados  
394 com anabolizante associado ou não a atividade física.

395 As populações de Células de Leydig por testículo observadas nos grupos experimentais  
396 (S, SEAA, T e TEAA) não apresentaram alterações significativas (Tab. 3). Entretanto pode-se  
397 constatar um aumento na população das células de Leydig nos grupos SEAA e TEAA, quando

398 relacionamos o número destas células por gramas de testículo. Estes resultados sugerem que  
399 existe uma compactação das células de Leydig nos grupos tratados com o Durateston®,  
400 associado ou não com a natação (SEAA e TEAA), em decorrência da redução do peso testicular  
401 nestes animais.

402 Embora não tenha sido verificado alterações volumétricas no túbulo seminífero (Tab. 2)  
403 nos grupos S, SEAA, T e TEAA, este compartimento foi submetidos a análises morfométricas  
404 específicas. Pelos valores expostos na tabela 4 se observa que o tratamento com Durateston®  
405 não alterou o diâmetro do túbulo seminífero de ratos sedentários (SEAA), em relação ao grupo  
406 S. Entretanto o protocolo experimental de natação desencadeou um aumento de quase 5%  
407 ( $p < 0,05$ ) no diâmetro tubular de animais não tratados (T), e uma redução de 10% ( $p < 0,05$ ) nos  
408 animais tratados com Durateston® (TEAA), quando comparados com os grupos sedentários (S  
409 e SEAA). Verifica-se ainda que a altura do epitélio seminífero do grupo T aumentou 10%  
410 ( $p < 0,05$ ) em relação ao grupo S, enquanto nos grupos SEAA e TEAA não sofreram alterações  
411 significativas. O comprimento do túbulo seminífero apresentou redução de 18% apenas no  
412 grupo de animais submetidos ao protocolo de natação associado ao tratamento com  
413 Durateston® (TEAA) em relação ao grupo S. É possível verificar que apenas o tratamento com  
414 o anabolizante (SEAA) ou o protocolo de natação (T), tendem ( $p < 0,05$ ) a reduzir o  
415 comprimento do túbulo seminífero.

416 Noorafshan et al (2005) investigaram a ação de doses distintas do decanoato de  
417 nandrolona (3mg/kg e 10mg/kg) em túbulos seminíferos de ratos adultos, tratados uma vez por  
418 semana, por 14 semanas. Os seus resultados mostraram que o comprimento de túbulo  
419 seminífero diminuiu em média 31% nos animais que receberam a maior dose do decanoato de  
420 nandrolona em comparação com o grupo controle, e 21% em comparação com os ratos que  
421 receberam a menor dose esteróide anabolizante. Comparando com resultados do Noorafshan et  
422 al (2005), podemos sugerir que os nossos resultados não apresentaram redução significativa no

423 comprimento dos túbulos seminíferos dos animais sedentários e tratados com Durateston®  
424 (SEAA) em relação ao grupo sedentário sem esteróide anabolizante, devido ao menor tempo de  
425 tratamento (6 semanas) e a dose utilizada (Durateston®, 5mg/kg).

426 Segundo Sinha-Hikim et al (1989), o diâmetro tubular possui correlação positiva com a  
427 atividade espermatogênica. O diâmetro do túbulo seminífero não revelou nenhuma diferença  
428 significativa entre os grupos S e SEAA, estando de acordo com os relatos de Noorafshan et al.  
429 (2005). Entretanto Ferrari et al (2013), relatam que ratos adultos tratados semanalmente com  
430 decaonato de nandrolona (2,5mg/kg), por 05 semanas, apresentaram redução do diâmetro do  
431 túbulo seminífero e do epitélio seminífero, em discordância com os resultados dos grupos S e  
432 SEAA, que apresentaram diâmetro do túbulo seminífero e altura do epitélio equivalentes.

433 A ação da natação no túbulo seminífero é relatado no trabalho de Mesquita et al (2013)  
434 por não produzir nenhuma alteração no diâmetro do túbulo seminífero e na altura do epitélio  
435 seminífero de ratos adultos submetidos ao treinamento por 8 semanas consecutivas. Este relato  
436 não condiz com os nossos resultados observados nos animais do grupo T, que apresentaram  
437 aumento significativo do diâmetro tubular e altura do epitélio semífero, sem, no entanto alterar  
438 o comprimento do túbulo seminífero, que apresentava-se equivalente ao do grupo S.

439 Ratos adultos treinados em esteira ergométrica por 8 semanas e tratados com decanoato  
440 de nandrolona (2,5mg/kg) durante a metade final do treinamento, apresentaram redução  
441 significativa do diâmetro tubular e altura do epitélio seminífero, entretanto tiveram um aumento  
442 do comprimento do túbulo seminífero em relação aos animais do grupo controle (Foletto et al.,  
443 2010). Nos resultados do presente estudo apenas o comprimento do túbulo seminífero  
444 apresentou-se em discordância, visto que o mesmo foi significativamente menor nos animais  
445 do grupo TEAA.

446 As análises histomorfométricas de testículos já realizadas neste trabalho nos permite  
447 concordar com os autores que apontam os esteróides anabolizantes androgênicos, como indutor

448 do hipogonadismo em ratos adultos normais (Rahnema et al., 2014). Entretanto a população  
449 celular no túbulo seminífero e a produção espermática diária apresentadas na tabela 4 foram  
450 examinadas para comprovar o resultado promovido pelo hipogonadismo no rato macho.

451 Pelos resultados apresentados na Tabela 5, observa-se que o número de células de  
452 Sertoli por secção transversal de túbulo seminífero no estágio 1 foi 13,6% menor no grupo T  
453 em relação ao grupo S. Entretanto não foi constatado diferença neste parâmetro nos grupos  
454 tratados com Durateston® (SEAA e TEAA). Na tabela 5 também é verificado aumento  
455 significativo no número de espermátides arredondadas, por secção transversal de túbulo  
456 seminífero no estágio 1, nos grupos submetidos a natação (T e TEAA) em relação aos grupos  
457 sedentários (S e SEAA). Contudo é notório que no grupo TEAA, onde ocorre associação entre  
458 natação e tratamento com Durateston®, houve um maior aumento no número das espermátides  
459 arredondadas (16%;  $p < 0,05$ ) em relação ao grupo sedentário (S). O índice de célula de Sertoli  
460 (ICS) que representa a razão celular entre número de células de Sertoli e as espermátides  
461 arredondadas, apresentou-se maior nos grupos treinados pela natação (T e TEAA) do que os  
462 não treinados (S e SEAA) ( $p < 0,05$ ).

463 Na tabela 5 a população de células de Sertoli por testículo apresenta-se menor nos  
464 grupos SEAA (17%), T (21%) e TEAA (21%) em relação ao grupo S ( $p < 0,05$ ). A população  
465 de células de Sertoli por grama de testículo foi a mesma entre os grupos não treinados (S e  
466 SEAA), 20% menor no grupo T e 26% maior no grupo TEAA, ambos em relação ao grupo S.

467 A produção espermática diária por testículo não diferiu entre os grupos sedentário (S),  
468 treinado (T) e treinado+Durateston® (TEAA), entretanto foi 20% menor no grupo  
469 sedentário+Durateston® (SEAA) do que no grupo S. Já a produção espermática diária por  
470 grama de testículo não diferiu entre os grupos sedentários (S e SEAA), foi 27% menor no grupo  
471 treinado (T) e 50% maior no grupo treinado+ DURATESTON® (TEAA), ambos em relação  
472 ao grupo sedentário (S).

473 Folleto et al. (2010), observaram que ratos treinados em esteira ergométrica, tratados ou  
474 não com decanoato de nandrolona (2,5mg/kg), não apresentaram alteração na população de  
475 células de Sertoli por secção transversal de túbulo seminífero no estágio 1 do ciclo do epitélio  
476 seminífero, entretanto foi constatado aumento no número de espermátides arredondadas nos  
477 animais treinados e tratados. Estes mesmos resultados foram observados nesta investigação que  
478 utilizou o protocolo de natação como treinamento e que tratou os animais com Durateston®  
479 (5mg/kg).

480 O índice de células de Sertoli (ICS), que estima a eficiência destas células, aumentou  
481 nos animais treinados com natação, tratados (TEAA) e não tratados (T) com Durateston®, em  
482 relação aos grupos sedentários (S e SEAA). O que condiz com o maior número de  
483 espermátides arredondadas encontradas nos dois grupos treinados (T e TEAA). No entanto estes  
484 resultados não estão de acordo com os relatos de Folleto et al. (2010), que observaram ICS  
485 menor nos animais treinados, possivelmente pelo fato de terem sido treinados em esteira  
486 ergométrica.

487 Através dos dados de população de célula de Sertoli por testículo observados na tabela  
488 5 podemos sugerir que o tratamento com Durateston® (SEAA), a natação (T) ou a associação  
489 do Durateston® com natação (TEAA), promovem equivalente redução no número destas  
490 células, em relação ao grupo sedentário (S). Entretanto ao analisarmos a população de células  
491 de Sertoli por grama de testículo é possível sugerir que o número de células de Sertoli foi  
492 reduzido e agrupado nos animais do grupo TEAA.

493 A finalidade da espermatogênese é a produção de espermatozóides genética,  
494 morfológica e fisiologicamente viáveis. Nesta investigação verificamos que a produção  
495 espermática diária por testículo (Tab. 5) foi reduzida apenas nos animais sedentário e tratados  
496 com o Durteston® (SEAA). Entretanto podemos observar que o grupo TEAA apresentou a  
497 produção espermática diária por grama de testículo maior que nos outros grupos experimentais

498 (S, SEAA e T), sugerindo um esforço maior por parte dos componentes testiculares para  
499 suplantar o estresse sofrido pelo tratamento com o Durateston® e pelo treinamento por natação.  
500 Ainda assim não podemos garantir a qualidade dos espermatozoides produzidos, visto que Saki  
501 et al (2009), demonstraram que natação forçada em ratos Wistar adultos, durante o período de  
502 um ciclo espermatogênico, entre 48 e 53 dias, promove diminuição significativa do número, da  
503 capacidade de fertilização e da motilidade do espermatozoides. Shokri et al. (2009), relataram  
504 que parâmetros de fertilidades, tais como contagem de espermatozoides, motilidade, viabilidade  
505 e morfologia normal, foram significativamente mais baixa em ratos treinados com natação  
506 (tratados ou não com decanoato de nandrolona). É amplamente conhecido que a administração  
507 de andrógenos exógenos bloqueia a produção sérica dos hormônios luteinizantes (LH) e folículo  
508 estimulante (FSH) tanto em humanos quanto em ratos (Torres-Calleja et al., 2001). Por outro  
509 lado também têm-se verificado que o treinamento físico de resistência provoca a redução do  
510 fluxo sanguíneo testicular, além de causar redução na secreção de testosterona, fatores que  
511 afetam diversas etapas da espermatogênese (Hacney, 2001). Uma vez administrado, o  
512 andrógeno exógeno atua diretamente no eixo hipotálamo-hipófise-gonadal por meio de  
513 feedback negativo resultando em interrupção da produção de testosterona endógena (Feinberg  
514 et al., 1997). Como consequência desse bloqueio os níveis de testosterona intratesticular são  
515 drasticamente reduzidos resultando em um quadro de hipogonadismo (Ludwig, 1950). Este  
516 quadro assemelha-se ao presente estudo uma vez que diversos parâmetros, biométricos e  
517 morfométricos, de ratos adultos foram alterados, corroborando com o quadro de inibição da  
518 esteroidogênese testicular.

## 519 **CONCLUSÃO**

520 Os resultados evidenciam que o efeito do treinamento e do tratamento com  
521 Durateston®, em separado ou associado, produzem alterações morfológicas e morfométricas  
522 significativas no testículo, embora a produção espermática diária não tenha sido alterada. Pode-

523 se sugerir que o testículo, sob condição adversa, tem a capacidade de se reorganizar de forma a  
524 garantir a produção de espermatozoides em quantidade normal, no entanto estudos mais  
525 aprofundados sobre a viabilidade e normalidade do espermatozoide precisam ser  
526 desenvolvidos.

527

## 528 **AGRADECIMENTOS**

529 Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão  
530 de bolsa de estudo durante a realização do mestrado.

## 531 **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

532 Almeida PWM, Gomes-Filho A, Ferreira A J, Rodrigues CEM, Dias-Peixoto MF, Russo RC,  
533 ... e Pussieldi GA (2009) Swim training suppresses tumor growth in mice. *Journal of Applied*  
534 *Physiology*, 107: 261-265.

535 Amann RP, Kavanaugh JF, Griel Jr, LC, e Voglmayr, JK (1974) Sperm production of Holstein  
536 bulls determined from testicular spermatid reserves, after cannulation of rete testis or vas  
537 deferens, and by daily ejaculation. *Journal of dairy science*, 57: 93-99.

538 Attal J, Courot M, Richetin C, e Pisselet C (1963) Développement testiculaire et établissement  
539 de la spermatogénèse chez le taureau. In: *Annales de biologie animale, biochimie, biophysique*  
540 p. 219-241.

541 Carson JA, Lee WJ, Mcclung J e Hand GA (2002) Steroid receptor concentration in aged rat  
542 hind limb muscle: effect of anabolic steroid administration. *J Appl Physiol*, 93:242-50.

543 Clark AS, e Henderson LP (2003) Behavioral and physiological responses to anabolic-  
544 androgenic steroids. *Neuroscience e Biobehavioral Reviews*, 27: 413-436.

545 Clark AS, Harrold EV e Fast AS (1997) Anabolic-androgenic steroid effects on the sexual  
546 behavior of intact male rats. *Horm Behav*, 31:35-46.

547 Clermont Y e Harvey SC (1965) Duration of the cycle of the seminiferous epithelium of normal,  
548 hypophysectomized and hypophysectomized-hormone treated albino rats. *Endocrinology*, 76:  
549 80-89.

550 Cunha TS, Tanno AP, Marcondes FK, Perez SE e Selistre-Araújo HS (2006) Nandrolone  
551 administration does not promote hypertrophy of soleus muscle in rats. *Arq.bras. endocrinol.*  
552 *metab*, 50: 532-540.

- 553 Cunha TS, Tanno AP, Moura MJCS e Marcondes FK (2005) Relation between anabolic  
554 androgenic steroid administration, aerobic physical training and glycogen  
555 supercompensation. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, 11, 187-192.
- 556 Dorst V.J e Sajonski H (1974) Morphometrische untersuchunhen am tubulussystem des  
557 schweinehodens während der postnatalen entwicklug. *Monatsh.Vet, Med*, 29: 650- 652.
- 558 Dotson JL e Brown RT (2007) The history of the development of anabolic-androgenic  
559 steroids. *Pediatric Clinics of North America*, 54: 761-769.
- 560 Fantoni D, Cortopassi S e Silva L (1994) Avaliação do uso de romifidina como sedativo em  
561 eqüinos. *Ars Veterinaria*, 10: 208.
- 562 Faria PP, Oliveira CGA, Souza AD, Benedito MG e Thomé MPM (2012) Avaliação de  
563 parâmetros físicos e biológicos de ratos wistar após administração de decanoato de nandrolona.  
564 *Acta Biomedica Brasiliensia*, 3:26-37.
- 565 Feinberg MJ, Lumia AR e McGinnis MY (1997) The effect of anabolic-androgenic steroids on  
566 sexual behavior and reproductive tissues in male rats. *Physiol Behav*, 62: 23–30.
- 567 Ferrari F, De Paiva Foletto M, De Moraes SMF, Peres SB, Segatelli TM e Da Costa CEM  
568 (2013) Testis morphophysiology of rats treated with nandrolone decanoate and submitted to  
569 physical training. *Acta Scientiarum. Health Science*, 35: 161-167.
- 570 Foletto MP, Da Costa CEM, Ferrari F, Franzói-de-Moraes SM, e Segatelli TM (2009) Effect of  
571 the nandrolone decanoate on the efficiency of spermatogenesis of sedentary rats and rats  
572 subjected to physical training. *Acta Scientiarum. Health Science*, 32: 17-22.
- 573 França LR (1991) Análise morfofuncional da espermatogênese de suínos adultos da raça  
574 Piau. DS Thesis, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil.
- 575 Hackney AC (2001) Endurance exercise training and reproductive endocrine dysfunction in  
576 men: alterations in the hypothalamic-pituitary-testicular axis. *Curr Pharm Des*, 7:261–73.
- 577 Hikim AS, Amador AG, Klemcke HG, Bartke A e Russell LD (1989) Correlative Morphology  
578 and Endocrinology of Sertoli Cells in Hamster Testes in Active and Inactive States  
579 Spermatogenesis\*. *Endocrinology*,125:1829-1843.
- 580 Hochereau-de Reviers MT e Lincoln GA (1978) Seasonal variation in the histology of the testis  
581 of the red deer.*Cervus elephus*. *J Reprod Fertil Suppl*, 54:209–213
- 582 Janjic MM, Stojkov NJ, Andric SA e Kostic TS (2012) Anabolic–androgenic steroids induce  
583 apoptosis and NOS2 (nitric-oxide synthase 2) in adult rat Leydig cells following in vivo  
584 exposure. *Reproductive Toxicology*, 34: 686-693.
- 585 Karbalay-Doust S, Noorafshan A, Ardekani FM, Mirkhani H e Baker G (2007) The reversibility  
586 of sperm quality after discontinuing nandrolone decanoate in adult male rats. *Asian journal of  
587 andrology*, 9: 235-239.
- 588 Kicman AT (2008) Pharmacology of anabolic steroids. *Br J Pharmacol*, 154: 502-521.
- 589 Koskinen E, Andersson M, Katila T (1997) Effect of 19-norandrostenololy Laurate on  
590 testicular growth in colts. *Acta Vet Scand*, 38:51–7.
- 591

- 592 Kostic TS, Stojkov NJ, Bjelic MM, Mihajlovic AI, Janjic MM e Andric SA (2011)  
593 Pharmacological doses of testosterone up-regulated androgen receptor (AR) and 3-beta-  
594 hydroxysteroid dehydrogenase/delta-5-delta-4 isomerase (3 $\beta$ HSD) and impaired Leydig cells  
595 steroidogenesis in adult rat. *Toxicological Sciences*, kfr063.  
596
- 597 Latendresse JR, Warbritton AR, Jonassen H, e Creasy DM (2002) Fixation of testes and eyes  
598 using a modified Davidson's fluid: comparison with Bouin's fluid and conventional Davidson's  
599 fluid. *Toxicologic Pathology*, 30:524-533.
- 600 Ludwig DJ (1950) The effect of androgen on spermatogenesis. *Endocrinology*, 46:453-481.
- 601 Lunz W, Oliveira EC, Neves MT, Fontes EP, Dias CM e Natali AJ (2006) Anabolic steroid-  
602 and exercise-induced cardiac stress protein (HSP72) in the rat. *Braz J Med Biol Res*, 39: 889-  
603 93.
- 604 Mesquita SDFP, Barbieri MF, Fernandes EV, Andrade FG e Arrebola NR (2012) Effects of  
605 swimming on the testicular histomorphology of alcoholized rats. *Acta Scientiarum. Health  
606 Science*, 35:37-42.  
607
- 608 Mutalip SSM, Singh GKS, Shah AM, Mohamad M, Mani V e Hussin SN (2013) Histological  
609 changes in testes of rats treated with testosterone, nandrolone, and stanozolol. *Iran J Reprod  
610 Med*, 11: 653-658.
- 611 Naraghi MA, Abolhasani F, Kashani I, Anarkooli IJ, Hemadi M, Azami A, ... e Shokri, S (2010)  
612 The effects of swimming exercise and supraphysiological doses of nandrolone decanoate on  
613 the testis in adult male rats: a transmission electron microscope study. *Folia morphologica*, 69:  
614 138-146.
- 615 Noorafshan A, Karbalay-Doust S e Ardekani FM (2005) High doses of nandrolone decanoate  
616 reduce volume of testis and length of seminiferous tubules in rats. *APMIS*, 113: 122-125.
- 617 Pope HG, e Katz DL (1994) Psychiatric and medical effects of anabolic-androgenic steroid use:  
618 a controlled study of 160 athletes. *Archives of general psychiatry*, 51: 375-382.
- 619 Rahnema CD, Lipshultz LI, Crosnoe LE, Kovac JR, e Kim ED (2014) Anabolic steroid-  
620 induced hypogonadism: diagnosis and treatment. *Fertility and sterility*, 101: 1271-1279.
- 621 Rasband WS e ImageJ US (2008) Bethesda, Md. USA: ImageJ, US National Institutes of  
622 Health, URL <http://rsb.info.nih.gov/ij>.
- 623 Ratamess NA, Alvar BA... e Eyetoch TK (2009) Progression models in resistance training for  
624 healthy adults. *Med Sci Sports Exerc Position Stand* 2009.
- 625 Saki G, Rahim F e Alizadeh K (2009) Effect of forced swimming stress on count, motility and  
626 fertilization capacity of the sperm in adult rats. *Journal of human reproductive sciences*, 2: 72.
- 627 Sharma AK, e Gupta RC (1980) Duration of seminiferous epithelial cycle in buffalo bulls  
628 (*Bubalus bubalis*). *Animal Reproduction Science*, 3:217-224.
- 629 Shokri S, Aitken RJ, Abdolvahabi M, Abolhasani F, Ghasemi FM, Kashani I, ...e Barbarestani  
630 M (2010) Exercise and supraphysiological dose of nandrolone deconoate increase apoptosis in  
631 spermatogenic cells. *Basic e clinical pharmacology e toxicology*, 106: 324-330.
- 632 Team RC (2012) R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation  
633 for Statistical Computing, Vienna, Austria, ISBN 3-900051-07-0.

634 Torres-Calleja J, Gonzalez-Unzaga M, De-Celis-Carrillo R, Calzada-Sanchez L e Pedron N  
 635 (2001) Effect of androgenic anabolic steroids on sperm quality and serum hormone levels in  
 636 adult male bodybuilders. Life sciences, 68:1769-1774.

637 Wroblewska AM (1997) Androgenic-anabolic steroids and body dysmorphia in young  
 638 men. Journal of Psychosomatic research, 42:225-234.

639

640

641

642

643

644

645 Tabela 1. Efeito do decanoato de nandrolona e/ou natação em parâmetros biométricos de ratos Wistar adultos (90  
 646 dias). Grupos: Sedentário (S), Sedentário+EAA (SEAA), Treinado (T), Treinado+EAA (TEAA).

Parâmetros	Grupos Experimentais			
	S (n=10)	SEAA (n=10)	T (n=10)	TEAA (n=10)
Peso corporal (g)	396,4±10,2 <sup>ab</sup>	376,4±10,0 <sup>a</sup>	417,3±8,5 <sup>b</sup>	395,8±9,6 <sup>ab</sup>
Peso médio do testículo (g)	1,70±0,04 <sup>a</sup>	1,33±0,04 <sup>b</sup>	1,68±0,06 <sup>a</sup>	1,12±0,07 <sup>c</sup>
Peso líquido do testículo (g)	1,59±0,03 <sup>a</sup>	1,25±0,04 <sup>b</sup>	1,57±0,06 <sup>a</sup>	1,04±0,07 <sup>c</sup>
IGS (%)	0,43±0,01 <sup>a</sup>	0,36±0,09 <sup>b</sup>	0,40±0,01 <sup>a</sup>	0,29±0,02 <sup>c</sup>
Peso do epidídimo (g)	0,70±0,02 <sup>a</sup>	0,74±0,28 <sup>a</sup>	0,70±0,21 <sup>a</sup>	0,70±0,32 <sup>a</sup>

647 n = Número de animais; IGS (%) = índice gonadossomático. Médias seguidas por letras distintas na mesma linha  
 648 diferem entre si (p<0,05).

649

650

651

652

653

654

655

656

657

658

659

660

661 Tabela 2. Efeito do decanoato de nandrolona e/ou natação na proporção volumétrica (%) dos componentes  
 662 testiculares em testículo de ratos Wistar adultos (90 dias). Grupos: Sedentário (S), Sedentário+EAA (SEAA),  
 663 Treinado (T), Treinado+EAA (TEAA).

%	Grupos Experimentais			
	S (n=10)	SEAA (n=10)	T (n=10)	TEAA (n=10)
Túbulo seminífero	81,4±2,6	86,9±3,4	82,8±0,5	84,2±2,9
Epitélio seminífero	67,3±1,7	70,5±2,1	66,2±0,8	67,6±1,4
Túnica própria	1,77±0,08	2,03±0,10	1,73±0,11	1,96±0,27
Lume	12,3±0,8	14,4±1,2	14,8±0,5	14,6±1,2
Intertúbulo	18,7±2,1	13,2±1,8	17,5±1,4	16,0±2,1
Células de Leydig	4,83±0,36 <sup>a</sup>	2,77±0,29 <sup>b</sup>	4,62±0,22 <sup>a</sup>	2,68±0,38 <sup>b</sup>
Célula do conjuntivo	0,35±0,04 <sup>a</sup>	0,23±0,03 <sup>ab</sup>	0,25±0,01 <sup>ab</sup>	0,15±0,04 <sup>b</sup>
Vaso	1,31±0,16	1,51±0,25	1,19±0,16	1,37±0,21
Espaço linfático	12,2±1,6	8,7±1,3	11,4±1,0	11,8±1,4

664 n = Número de animais. Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem entre si (p<0,05).

665

666

667

668

669

670

671

672

673

674 Tabela 3. Efeito do decanoato de nandrolona e/ou natação na morfometria das células de Leydig em testículo de  
 675 ratos Wistar adultos (90 dias). Grupos: Sedentário (S), Sedentário+EAA (SEAA), Treinado (T), Treinado+EAA  
 676 (TEAA).

Parâmetros	Grupos Experimentais			
	S (n=10)	SEAA (n=10)	T (n=10)	TEAA (n=10)
Volume CL no testículo (ml)	0,077±0,004 <sup>a</sup>	0,033±0,002 <sup>b</sup>	0,072±0,003 <sup>a</sup>	0,026±0,001 <sup>c</sup>
Volume da CL (µm <sup>3</sup> )	586,9±57,5 <sup>a</sup>	180,2±31,1 <sup>b</sup>	564,2±45,9 <sup>a</sup>	210,6±24,6 <sup>b</sup>
População de CL/test (x10 <sup>6</sup> )	140,4±11,6	176,1±19,0	132,7±9,2	130,1±9,5
População de CL/g test (x10 <sup>6</sup> )	87,9±6,5 <sup>a</sup>	140,1±13,1 <sup>b</sup>	86,5±7,9 <sup>a</sup>	137,6±23,5 <sup>b</sup>

677 n = Número de animais; CL = célula de Leydig; Test = testículo; test = testículo; g test = grama de testículo.

678 Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem entre si (p<0,05).

679

680

681

682

683

684

685

686

687

688

689

690

691

692

693 Tabela 4. Efeito do decanoato de nandrolona e/ou natação em parâmetros morfológico do túbulo seminífero de  
 694 ratos Wistar adultos (90 dias). Grupos: Sedentário (S), Sedentário+EAA (SEAA), Treinado (T), Treinado+EAA  
 695 (TEAA).

Parâmetros	Grupos Experimentais			
	S (n=10)	SEAA (n=10)	T (n=10)	TEAA (n=10)
Diâmetro tubular ( $\mu\text{m}$ )	268,6 $\pm$ 3,3 <sup>a</sup>	268,2 $\pm$ 6,8 <sup>a</sup>	279,3 $\pm$ 3,1 <sup>b</sup>	242,9 $\pm$ 9,6 <sup>c</sup>
Altura do epitélio seminífero ( $\mu\text{m}$ )	73,2 $\pm$ 1,0 <sup>a</sup>	71,4 $\pm$ 2,04 <sup>a</sup>	81,2 $\pm$ 1,6 <sup>b</sup>	73,3 $\pm$ 2,7 <sup>a</sup>
Comprimento total de TS (m)	24,6 $\pm$ 1,0 <sup>a</sup>	21,3 $\pm$ 1,6 <sup>ab</sup>	22,5 $\pm$ 0,48 <sup>ab</sup>	20,18 $\pm$ 0,96 <sup>b</sup>

696 n = Número de animais; TS = túbulo seminífero; PED = produção espermiática diária; CS = célula de Sertoli.

697 Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem entre si ( $p < 0,05$ ).

698

699

700

701

702

703

704

705

706

707

708

709

710

711 Tabela 5. Efeito do decanoato de nandrolona e/ou natação sobre população corrigida\* de células de Sertoli e  
 712 espermatídes arredondadas por secção transversal de túbulo seminífero no estágio 1, índice de célula de Sertoli  
 713 (ICS), população de células de Sertoli e produção espermiática diária (PED) de ratos Wistar adultos (90 dias).  
 714 Grupos: Sedentário (S), Sedentário+EAA (SEAA), Treinado (T), Treinado+EAA (TEAA).

Parâmetros	Grupos Experimentais			
	S	SEAA	T	TEAA
	(n=10)	(n=10)	(n=10)	(n=10)
CS/secção transversal de TS	14,6±0,4 <sup>a</sup>	13,8±0,6 <sup>ab</sup>	12,6±0,4 <sup>b</sup>	14,1±0,5 <sup>ab</sup>
SPDAr/secção transversal de TS	81,6±2,2 <sup>a</sup>	74,8±4,7 <sup>a</sup>	89,4±2,4 <sup>b</sup>	94,5±1,8 <sup>c</sup>
ICS	5,6±0,2 <sup>a</sup>	5,4±0,3 <sup>a</sup>	7,1±0,2 <sup>b</sup>	6,8±0,3 <sup>b</sup>
População de CS/test (x10 <sup>6</sup> )	71,9±4,2 <sup>a</sup>	59,5±6,2 <sup>b</sup>	56,6±1,9 <sup>b</sup>	56,8±3, <sup>8b</sup>
População de CS/g test (x10 <sup>6</sup> )	45,2±2,2 <sup>a</sup>	47,2±3,9 <sup>a</sup>	36,3±1,1 <sup>b</sup>	56,9±5,5 <sup>c</sup>
PED/test (x10 <sup>7</sup> )	89,6±5,1 <sup>a</sup>	71,3±8,1 <sup>b</sup>	90,0±3,5 <sup>a</sup>	84,7±3,4 <sup>a</sup>
PED/g test (x10 <sup>7</sup> )	52,7±2,7 <sup>a</sup>	53,1±4,9 <sup>a</sup>	54,0±1,2 <sup>a</sup>	79,6±6,7 <sup>c</sup>

715 \*Números corrigidos segundo fórmula de Abercrombie (1946) modificada por Amann e Almquist (1962). n =  
 716 Número de animais; CS = célula de Sertoli; TS = túbulo seminífero; SPDAr = espermatíde arredondada; ICS =  
 717 índice de célula de Sertoli; test = testículo; g test = grama de testículo; PED = produção espermiática diária. Médias  
 718 seguidas por letras distintas na mesma linha diferem entre si (p<0,05).

719

720

721

722

723

724

725

726

727

728

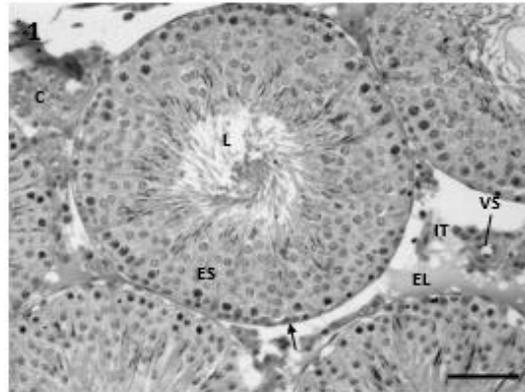
729

730

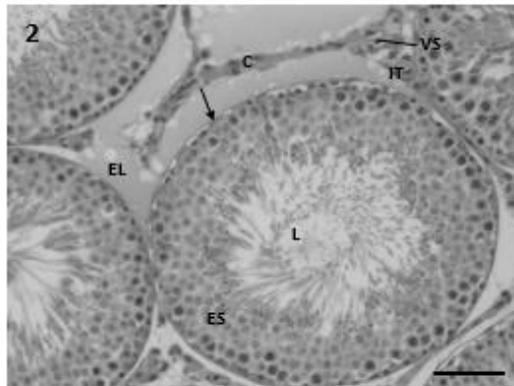
731

732

733



734



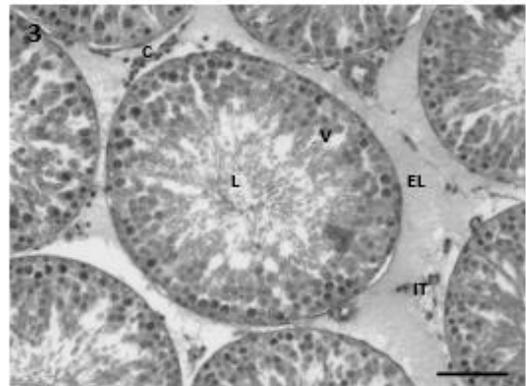
735

736

737

738

739



740

741

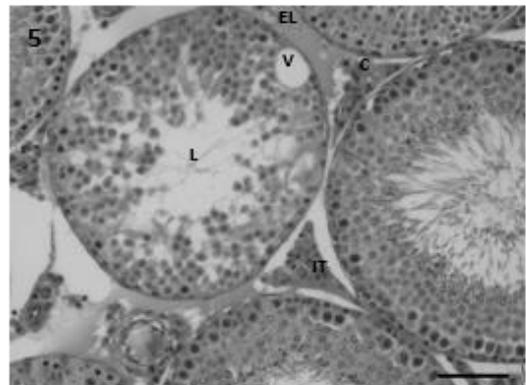
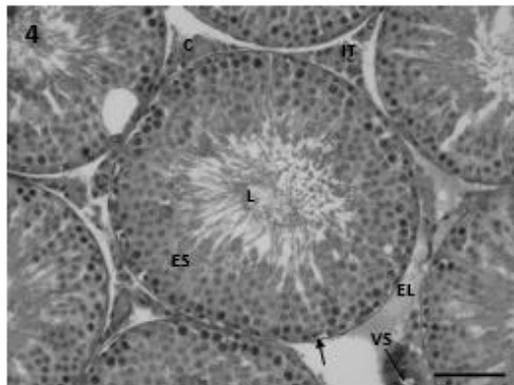
742

743

744

745

746



747 PRANCHA: Fotomicrografia de seções de testículos de ratos Wistar adultos sob o efeito do decanoato de

748 nandrolona e/ou natação. Figura 1: Grupos Sedentário (S); Figuras 2 e 3: Grupo Sedentário+EAA (SEAA); Figura

749 4 e 5: Grupo Treinado (T); Figura 6 e 7: Treinado+EAA (TEAA). Nos túbulos seminíferos identificam-se o epitélio

750 seminífero (ES), a túnica própria (seta) e o lume tubular (L). No intertúbulo (IT) observa-se vasos sanguíneos

751 (VS), espaço linfático (EL) e células do interstício (C). Em alguns túbulos seminíferos dos grupos SEAA, T e TEA

752 verifica-se a presença de vacúolos (V). Barra = 60  $\mu$ m.

## 5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitem concluir:

- A associação entre treinamento físico e anabolizantes não alteram o peso corporal dos animais, enquanto o Treinamento e a administração Durateston® individualmente alteram o peso corporal dos animais de forma antagônica.
- A administração de doses suprafisiológicas de Durateston® e a sua associação com treinamento físico afetam os pesos testiculares médio e líquido além do índice gonadossomático de ratos adultos.
- Administração isolada de Durateston® ou associação ao treinamento físico são capazes de alterar a proporção volumétrica, o volume individual e o volume ocupado no testículo pelas células de Leydig, além de células do conjuntivo no compartimento intertubular.
- O treinamento, o Durateston® e a associação de ambos não afetam a população de células de Leydig por testículo, embora a Administração de Durateston® e a associação com treinamento afetam a população de células de Leydig por grama de testículo.
- O treinamento físico isolado e a associação do treinamento com Durateston® afetam o diâmetro tubular de formas opostas, enquanto a administração de Durateston® não promove alterações no diâmetro tubular.
- Houve alteração no comprimento do túbulo seminífero por testículo devido ao treinamento e administração de Durateston®, no entanto o efeito mais drástico é verificada na associação de ambos.
- O tratamento com Durateston®, o treinamento ou a associação de ambos afetam a população de células de Sertoli por testículo.
- A interferência da associação entre Durateston® e treinamento afeta número de espermátides arredondadas por secção transversal, o Índice de Células de Sertoli e a população de células de sertoli por grama de testículo promovendo agrupamento das mesmas.
- A administração isolada de Durateston® afeta a produção espermática diária por testículo enquanto, o treinamento afeta a produção espermática por grama de testículo.
- O testículo de ratos submetidos a ciclos de Durateston® e natação tendem a organizar-se de modo a manter a produção espermática diária por grama de testículo.

## REFERÊNCIAS

- AHTIAINEN, J.P., HULMI, J.J., KRAEMER, W.J., LEHTI, M., NYMAN, K., SELÄNNE, H., ALEN, M., PAKARINEN, A., KOMULAINEN, J., KOVANEN, V., MERO, A.A., HÄKKINEN, K. Heavy resistance exercise training and skeletal muscle androgen receptor expression in younger and older men. **Steroids**, n. 1, v. 76, p. 183-192, 2011.
- AHTIAINEN, J.P., LEHTI, M., HULMI, J.J., KRAEMER, W.J., ALEN, M., NYMAN, K., SELÄNNE, H., PAKARINEN, A., KOMULAINEN, J., KOVANEN, V., MERO, A.A., HÄKKINEN, K. Recovery after heavy resistance exercise and skeletal muscle androgen receptor and insulin-like growth factor-I isoform expression in strength trained men. **The Journal of Strength e Conditioning Research**, n. 3, v. 25, p. 767-777, 2011.
- AIRE, T.A., OLOWOKO-OKORUM, M.O., QYENI, J.S. The seminiferous epithelium in the guinea fowl (*Numida meleagris*). **Cell and Tissue Research**, n.2, v.205, p. 319-325. 1980
- AMANN, R.P. A review of anatomy and physiology of the stallion. **J. Equine Vet, Sci.**, p. 83-105, 1981a.
- AMANN, R.P., ALMQUIST, J.O. Reproductive capacity of dairy bulls. VIII. Direct and indirect measurement of testicular sperm production. **J. Dairy Sci**, n.6, v. 45, p. 774-781, 1962.
- AMANN, R.P., SCHANBACHER, B.D. Physiology of male reproduction. **J. Anim. Sci. Suppl**, n.2, v. 57, p. 380-403, 1983.
- BAHRKE MS, YESALIS CE. Abuse of anabolic androgenic steroids and related substances in sport and exercise. *Curr Opin Pharmacol*. 2004 Dec;4(6):614-20. Review. PubMed PMID: 15525553.
- BAHRKE, M.S., YESALIS, C.E. Abuse of anabolic androgenic steroids and related substances in sport and exercise. **Current opinion in pharmacology**, n. 6, v. 4, p. 614-620, 2004.
- BALARINI, M.K., PAULA, T.A.R., MATTA, S.L.P., PEIXOTO, J.V., GUIÃO-LEITE, F.L., ROSSI JR, J.L., CZERMAK JR, A.C., WALKER, N.J. Stages and duration of the cycle of the seminiferous epithelium in oncilla (*Leopardus tigrinus*, SCHREBER, 1775). **Theriogenology**, n.5, v. 77, p. 873-880, 2011.
- BARCELOUX, D.G. Anabolic-Androgenic Steroids. **Medical Toxicology of Drug Abuse: Synthesized Chemicals and Psychoactive Plants**, p. 275-294, 2013.
- BARCELOUX, D.G. Medical toxicology of drug abuse: synthesized chemicals and psychoactive plants. **John Wiley e Sons**, 2012.
- BARDIN, C. W. Pituitary-testicular axis. **Reproductive Endocrinology**, v. 3, 1986.
- BARDIN, C. Wayne. The anabolic action of testosterone. **The New England journal of medicine**, n. 1, v. 335, p. 52-53, 1996.
- BARDIN, C.W. Androgens: early attempts to evaluate Leydig cell function in man. In: PAYNE, A.H., HARDY, M.P., RUSSELL, L.D. (Eds). The Leydig cell. Viena: **Cache River Press**, p. 31-42, 1996.
- BASCOM, K.F., OESTRUD, H.L. Quantitative studies of testicle. II. Pattern and total tubule length in the testicles of certain common mammals. **Anat. Rec**, n.2, v.31, p. 159-169, 1925.
- BERNDTSON, W.E. Methods for quantifying mammalian spermatogenesis: a review. **J. Anim Sci**, n.5, v.44, p.818-883, 1977.

- BHASIN, S et al. Testosterone Replacement Increases Fat-Free Mass and Muscle Size in Hypogonadal Men 1. **The Journal of Clinical Endocrinology e Metabolism**, v. 82, n. 2, p. 407-413, 1997.
- BHASIN, S., STORER, T.W., BERMAN, N., CALLEGARI, C., CLEVINGER, B., PHILLIPS, J., BUNNELL, T.J., TRICKER, R., SHIRAZI, A., CASABURI, R. The effects of supraphysiologic doses of testosterone on muscle size and strength in normal men. **New England Journal of Medicine**, n. 1, v. 335, p. 1-7, 1996.
- BHASIN, S., WOODHOUSE, L., CASABURI, R., SINGH, A. B., BHASIN, D., BERMAN, N., ...e STORER, T. W. Testosterone dose-response relationships in healthy young men. **American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism**, n. 6, v. 281, , p. E1172, 2001.
- BITTENCOURT, V.L., PAULA, T.A.R., MATTA, S.L.P., FONSECA, C.C., COSTA, D.S., BENJAMIN, L.A., COSTA, E.P. The seminiferous epithelium cycle and daily spermatoc production in the adult maned wolf (*Chrysocyon brahyuros*, Illiger, 1811). **Micron** n.6,v.38, p. 548-589, 2007.
- BLUE, J.G., LOMBARDO, J.A. Steroids and steroid-like compounds. **Clinics in Sports Medicine**, n. 3, v. 18, p. 667-689, 1999.
- BOWERS, L.D. Abuse of performance-enhancing drugs in sport. **Therapeutic drug monitoring**, n. 1, v. 24, p. 178-181, 2002.
- BOWERS, L.D., CLARK, R.V., SHACKLETON, C. H.L. A half-century of anabolic steroids in sport. **Steroids**, n. 3, v.74, p. 285-287, 2009.
- BROOKS, G. A., FAHEY, T. D., e WHITE, T. P. Exercise physiology: Human bioenergetics and its applications. **Mayfield publishing company**, 1996.
- CANALI, E.S., KRUEL, L.F.M. Respostas hormonais ao exercício. **Rev paul educ fís**, n. 2, v. 15, p. 141-53, 2001.
- CAPEL, B. The battle of sexes. **Merch.Dev**, n.1, v. 92, p. 89 -103, 2000.
- CARREAU, S., GENISEL, C., BILINSKA, B., LEVALLET, J. Sources of oestrogen in the testis and reproductive tract of the male. **Int. J. Andrl**, n. 4, v. 22, p. 211-223, 1999.
- CHENG, C.Y., MRUK, D.D. Cell junction dynamics in the testis: Sertoli-germ cell interactions and male contraceptive development. **Physiol. Rev**, n.4, v. 82, p. 825-74. 2002
- CHIARINI-GARCIA, H., RUSSELL, L.D. High-resolution light microscopic characterization of mouse spermatogonia. **Biol. Reprod**, n.4, v.65, p.1170-78, 2001.
- CLARK, A.S., HARROLD, E.V., FAST, A.S. Anabolic-androgenic steroid effects on the sexual behavior of intact male rats. **Hormones and behavior**, v. 31, n. 1, p. 35-46, 1997.
- CLERMONT, Y. Kinetics of spermatogenesis in mammals: seminiferous epithelium cycle and spermatogonial review. **Physiol. Rev**, v.52, p.198- 236. 1972.
- CLERMONT, Y., LEBLOND, C.P. Spermiogenesis of man, monkey, ram and other mammals as shown by the ‘‘periodic acid-Schiff’’ technique. **Amer J Anat**, v.96, p. 229–253. 1955
- CONCEIÇÃO, C. A., WANDER, F. S., MASSILI, L. P., VIANNA, L. A. F., GONÇALVES, D. M., e FOSSATI, G. Uso de anabolizantes entre praticantes de musculação em academias. **Revista Pesquisa Médica**, v. 33, p. 103-16, 1999.

CONWAY, A. J., HANDELSMAN, D. J., LORDING, D. W., STUCKEY, B., e ZAJAC, J. D. Use, misuse and abuse of androgens. The Endocrine Society of Australia consensus guidelines for androgen prescribing. **The Medical Journal of Australia**, n. 5, v. 172, p. 220-224, 2000.

CORRIGAN, A. Brian et al. Dehydroepiandrosterone and sport. **Medical journal of Australia**, v. 171, p. 206-208, 1999.

COSTA, G.M.J., CHIARINI-GRACIA, H., MORATO, R.G., ALVARENGA, R.L.L.S., FRANÇA, L.R. Duration of spermatogenesis and daily sperm production in the jaguar. **Theriogenology**, n.7, v.70, p.1136-1146, 2008.

COWART, V.S. Ethical, as well as physiological, questions continue to arise over athletes' steroid abuse. **JAMA**, n. 23, v. 261, p. 3362-3367, 1989.

CREWETHER, B., KEOGH, J., CRONIN, J., COOK, C. Possible stimuli for strength and power adaptation. **Sports medicine**, n. 3, v. 36, p. 215-238, 2006.

DA SILVA, P. R. P., DANIELSKI, R., CZEPIELEWSKI, M. A. Esteróides anabolizantes no esporte. **Rev Bras Med Esporte**, n. 6, v. 8, p. 235-43, 2002.

DE ROOIJ, D.G., RUSSELL, L.D. All you wanted to know about spermatogenesis but were afraid to ask. **J Androl**, v.21, p. 776-798, 2000

DE ROSE, E.H., Nóbrega, ACL. Drogas lícitas e ilícitas. **Ghorayeb N, Barros T. O Exercício. São Paulo: Atheneu**, 1999.

DE SOUZA, G. L., HALLAK, J. Anabolic steroids and male infertility: a comprehensive review. **BJU international**, v. 108, n. 11, p. 1860-1865, 2011.

DE SOUZA, G.L., HALLAK, J. Anabolic steroids and male infertility: a comprehensive review. **BJU international**, n. 11, v. 108, p. 1860-1865, 2011

DI LUIGI, L., BALDARI, C., SGRO`, P., EMERENZIANI, G.P., GALLOTTA, M.C., BIANCHINI, S., ROMANELLI, F., PIGOZZI, F., LENZI, A., GUIDETTI, L. The type 5 phosphodiesterase inhibitor tadalafil influences salivary cortisol, testosterone, and dehydroepiandrosterone sulphate responses to maximal exercise in healthy man. **The Journal of Clinical Endocrinology e Metabolism**, v. 93, n. 9, p. 3510-3514, 2008.

DI LUIGI, L., GUIDETTI, L., BALDARI, C., FABBRI, A., MORETTI, C., e ROMANELLI, F. Physical stress and qualitative gonadotropin secretion: LH biological activity at rest and after exercise in trained and untrained men. **International journal of sports medicine**, n. 5, v. 23, p. 307-312, 2002.

DI LUIGI, L., ROMANELLI, F., SGRÒ, P., e LENZI, A. Andrological aspects of physical exercise and sport medicine. **Endocrine**, v. 42, n. 2, p. 278-284, 2012.

DYM, M. Spermatogonial stem cells of the testis. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, n.24, v.91, p.11298-11302, 1994.

EBERLING, P., KOIVISTO, V.A. Physiological importance of dehydroepiandrosterone. **The Lancet**, n. 8911, v. 343, p. 1479-1481, 1994.

ELLENDER, L., LINDER, M.M. Sports pharmacology and ergogenic aids. **Primary Care: Clinics in Office Practice**, n. 1, v. 32, p. 277-292, 2005.

EVANS, N.A. Current concepts in anabolic-androgenic steroids. **The American Journal of Sports Medicine**, n. 2, v. 32, p. 534-542, 2004.

- FAHRNER, C.L., HACKNEY, A.C. Effects of endurance exercise on free testosterone concentration and the binding affinity of sex hormone binding globulin (SHBG). **International journal of sports medicine**, n. 01, v. 19, p. 12-15, 1998.
- FAWCETT, D.W., NEAVES, W.B., FLORES, M.N. Comparative observations on intertubular lymphatics and the organization of the interstitial tissue of the mammalian testis. **Biol. Reprod.**, n. 9, p. 500-532, 1973.
- FEINBERG, M.J., LUMIA, A.R., MCGINNIS, M.Y. The effect of anabolic-androgenic steroids on sexual behavior and reproductive tissues in male rats. **Physiology e behavior**, n. 1, v. 62, p. 23-30, 1997.
- FENICHEL, G.M., GRIGGS, R.C., KISSEL, J., KRAMER, T.I., MENDELL, J.R., MOXLEY, R.T., et al. A randomized efficacy and safety trial of oxandrolone in the treatment of Duchenne dystrophy. **Neurology**, v. 56, n. 8, p. 1075-1079, 2001.
- FERREIRA, U. M. G., FERREIRA, A. D. C. D., AZEVEDO, A. M. P., DE MEDEIROS, R. L., DA SILVA, C. A. B. Esteróides anabólicos androgênicos. **Revista Brasileira em Promoção da Saúde**, v. 20, n. 4, p. 267-275, 2007.
- FERREIRA, U.M.G., FERREIRA, A.D.C.D., AZEVEDO, A.M.P., DA SILVA, C.A.B. Esteróides anabólicos androgênicos **Revista Brasileira em Promoção da Saúde**, n. 4, v. 20, p. 267-275, 2012.
- FRANÇA, L.R. Análise morfofuncional da espermatogênese de suínos adultos da raça Piau. Belo Horizonte: UFMG, 1991, 180p. Tese (Doutorado em Morfologia). Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, 1991.
- FRANÇA, L.R., CARDOSO, F.M. Duration of spermatogenesis and sperm transit time through the epididymis in the Piau boar. **Tissue Cell**, n. 3, v. 31, p. 274-280, 1999.
- FRANÇA, L.R., GOSH, S., YE, SHI-JUN, RUSSEL, L.D. Surface and surface-to-volume relationships of the Sertoli cell during the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. **Biol. Reprod.**, v.49, p.1215-1228, 1993.
- FRANCA, L.R., HESS, R.A. Structure of the Sertoli cell. In: SKINNER, M., GRISWOLD, M. (Eds). Sertoli cell Biology. San Diego - California: **Elsevier Academic Press**, p. 19-40, 2005.
- FRANÇA, L.R., JACKSON, A., RUSSELL, L.D. Hormone sensitivity of germ cells in stage XIV and in stage I of the rat spermatogenic cycle. **Tiss. Cell**, n. 26, p. 375-383, 1994
- FRANÇA, L.R., OGAWA, T., AVARBOCK, M.R., BRINSTER, R.L., RUSSELL L.D. Germ cell genotype controls cell cycle during spermatogenesis in the rat. **Biol Reprod**, v.59, p. 1371-1377, 1998a
- FRANÇA, L.R., RUSSELL, L.D. The testis of domestic animals. In: REGADERA, J., MARTINEZ GARCIA (Eds.). Male reproduction: a multidisciplinary overview. Madrid: **Churchill Livingstone**, Cap. 16, p.197-219. 1998.
- FRANÇA, L.R., RUSSELL, L.D. The testis of domestic animals. In: REGADERA, J., MARTINEZ GARCIA (Eds.). Male reproduction: a multidisciplinary overview. Madrid: **Churchill Livingstone**, Cap. 16, p.197-219. 1998.
- FRANCA, L.R.; HESS, R.A., COOKE, P.S., RUSSEL, L.D. Neonatal hypothyroidism causes delayed cell maturation in rats treated with propylthiouracil: Evidence that Sertoli cell controls testis growth. **Anat. Rec.**, v. 242, p. 57-69, 1995.
- GHAPHERY, N.A. Performance-enhancing drugs. **The orthopedic clinics of North America**, n. 3, v. 26, p. 433-442, 1995.

- GHAPHERY, N.A. Performance-enhancing drugs. **The orthopedic clinics of North America**, v. 26, n. 3, p. 433-442, 1995.
- GODINHO, C.L. Análise histométrica do testículo e duração da espermatogênese em gatos (*Felis domestica*) sexualmente maduros. Dissertação Mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais. 80p, 1999.
- GOMES, O et al. Hipogonadismo secundários –caso clínico. *Casos Clínicos.*, v.12, n.1, p.32-36, 2005
- GRANDYS, M., MAJERCZAK, J., DUDA, K., ZAPART-BUKOWSKA, J., KULPA, J., e ZOLADZ, J. A. Endurance training of moderate intensity increases testosterone concentration in young, healthy men. **International journal of sports medicine**, n. 07, v. 30, p. 489-495, 2009.
- GRISWOLD, M.D. Interaction between germ cells and Sertoli cells in the testis. **Biol. Reprod**, v.52, p.211-216, 1995.
- GUIÃO-LEITE, F.L., PAULA, T.A.R., MATTA, S.L.P., FONSECA, C.S., DAS NEVES, M.T., BARROS, J.B.G. Cycle and duration of the seminiferous epithelium in puma ( *Puma concolor*), **Animal Reproduct Scienc**, v. 91, p.307-316, 2006.
- GUYTON, AC; HALL,J.E. Tratado de Fisiologia Médica. Rio de Janeiro. GuanabaroKoogan S.A., 2002.
- HACKNEY, A.C. Endurance training and testosterone levels. **Sports Medicine**, n. 2, v. 8, p. 117-127, 1989.
- HACKNEY, A. C. Effects of endurance exercise on the reproductive system of men: the “exercise-hypogonadal male condition”. **Journal of endocrinological investigation**, n. 10, v. 31, p. 932-938, 2008.
- HACKNEY, A.C. Stress and the neuroendocrine system: the role of exercise as a stressor and modifier of stress. 2006.
- HACKNEY, A.C., The male reproductive system and endurance exercise. **Medicine and science in sports and exercise**, n. 2, v. 28, p. 180-189, 1996.
- HARTGENS, F., KUIPERS, H. Effects of androgenic-anabolic steroids in athletes. **Sports Medicine**, n. 8, v. 34, p. 513-554, 2004.
- HASANI-RANJBAR, Shirin et al. Time course responses of serum GH, insulin, IGF-1, IGFBP1, and IGFBP3 concentrations after heavy resistance exercise in trained and untrained men. **Endocrine**, v. 41, n. 1, p. 144-151, 2012.
- HERSHBERGER, L. G., SHIPLEY, E. G., MEYER, R. K. Myotrophic activity of 19-nortestosterone and other steroids determined by modified levator ani muscle method. *Experimental Biology and Medicine*, v. 83, n. 1, p. 175-180, 1953.
- HESS, R.A., De FRANCA, L.R. Spermatogenesis and cycle of the seminiferous epithelium. In: **Molecular mechanisms in spermatogenesis**. Springer New York, 2009. p. 1-15. HESS, D.R. Nebulizers: Principles and Performance. **Respir.Care**, n.45 v, 6.p.609–622, 2000.
- HOBERMAN, J.M., YESALIS, C.E. The history of synthetic testosterone. **Scientific American**, p. 76-81, 1995.
- ILIO, K.Y., HESS, R.A. Structure and function of the ductile efferents: a review. **Microsc.Research.Techn**, v.29, p. 432-467, 1994.

- INOUE, K., YAMASAKI, S., FUSHIKI, T., OKADA, Y., e SUGIMOTO, E. Androgen receptor antagonist suppresses exercise-induced hypertrophy of skeletal muscle. *European journal of applied physiology and occupational physiology*, v. 69, n. 1, p. 88-91, 1994.
- IRIART, J.A.B., ANDRADE, T.M. Musculação, uso de esteróides anabolizantes e percepção de risco entre jovens fisiculturistas de um bairro popular de Salvador, Bahia, Brasil. *Caderno de Saúde Pública*. Rio de Janeiro, n.5, v.18, 1379-87, 2002.
- JOHNSON, L., VARNER, D.D., ROBERTS, M.E. et al. Efficiency of spermatogenesis: a comparative approach. *Anim. Reprod Sci*, v. 60-61, p.471-480, 2000
- KADI, F. Adaptation of human skeletal muscle to training and anabolic steroids. 2000.
- KANAYAMA, G., BROWER, K. J., WOOD, R. I., HUDSON, J. I., e POPE JR, H. G. Anabolic-androgenic steroid dependence: an emerging disorder. *Addiction*, v. 104, n. 12, p. 1966-1978, 2009.
- KANAYAMA, G., GRUBER, A. J., POPE JR, H. G., BOROWIECKI, J. J., e HUDSON, J. I. Over-the-counter drug use in gymnasiums: an underrecognized substance abuse problem?. *Psychotherapy and psychosomatics*, n. 3, v. 70, p. 137-140, 2001.
- KARL, J., CAPEL, B. Sertoli cells of the mouse testis originate from the coelomic epithelium. In: *Developmental biology*. Academic Press, v.203, p.323-333. 1998.
- KLUG, K.M. Steroids in Sports: Adolescent Use, Abuse, Education and Treatment, *Journal of Addictive Disorders*, p. 1-9, 2004.
- KRAEMER, W. J., e RATAMESS, N. A., NICHOLAS A. Hormonal responses and adaptations to resistance exercise and training. *Sports Medicine*, v. 35, n. 4, p. 339-361, 2005.
- KUHN, C.M. Anabolic steroids. *Recent progress in hormone research*, v. 57, p. 411-434, 2002.
- LEBLOND, C.P., CLERMONT, Y. Definition of the stages of the seminiferous epithelium in the rat. *Ann. N. Y. Acad. Sci*, v.55, p.548-573, 1952.
- LEHMANN, M., FOSTER, C., e KEUL, J. Joseph. Overtraining in endurance athletes: a brief review. *Medicine e Science in Sports e Exercise*, 1993.
- LISE, M. L. Z., DA GAMA E SILVA, T. S., FERIGOLO, M., BARROS, H. M. T. O abuso de esteróides anabólico-androgênicos em atletismo. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v. 45, n. 4, p. 364-370, 1999.
- MARAVELIAS, C., DONA, A., STEFANIDOU, M., SPILIOPOULOU, C. Adverse effects of anabolic steroids in athletes: a constant threat. *Toxicology letters*, n. 3, v. 158, p. 167-175, 2005.
- MEGA MARTINS, C., H CARIJÓ, F., DE ALMEIDA, M. C., DA SILVEIRA, M., XN MIRAILH, M., MONTEIRO PEIXOTO, M.,... e SHOLL-FRANCO, A Efeitos psicológicos do abuso de anabolizantes: Psychological effects of the anabolics abuse. *Ciências e Cognição*, v. 5, n. 1, p. 84-91, 2005.
- MELIA, P., PIPE, A., GREENBERG, L. The use of anabolic-androgenic steroids by Canadian students. *Clinical Journal of Sport Medicine*, v. 6, n. 1, p. 9-14, 1996.
- MENDIS – HANDAGAMA, S.M., ARIYARATNE, H.B. Differentiation of the adult Leydig cell population in the postnatal testis. *Biol reproduct*, n.3, v. 65, p. 660-71, 2001.

MINISTÉRIO DA JUSTIÇA (BR). Conselho Federal de Entorpecentes. Processo no. 08000.003408/95-25. Confederação Brasileira de Culturismo e Musculação. Ofício n.: 201, CONFEN; 1998.

MIRANDA, J.R. Efeitos do tratamento neonatal com 6-N-Propil-2-Tiouracil (PTU) e FSH na proliferação das células de Sertoli e função testicular em ratos Wistar adultos. Dissertação (mestrado em Medicina Veterinária) - UFMG, 75p., 2002.

MORSE, H. C., HORIKE, N., ROWLEY, M. J., e HELLER, C. G. Testosterone concentrations in testes of normal men: effects of testosterone propionate administration. **The Journal of Clinical Endocrinology e Metabolism**, n. 6, v. 37, p. 882-886, 1973.

NEVES, E.S., CHIARINI-GARCIA, H., FRANÇA, L.R. Comparative testis morphometry and seminiferous epithelium cycle length in donkeys and mules. **Biology of Reproduction**, n.1, v.67, p. 247-255, 2002.

NEWSHOLME, E.A., LEECH, A.R. **Biochemistry for the medical sciences**. Chichester: Wiley, 1983.

NOORAFSHAN, A., KARBALAY-DOUST, S., ARDEKANI, F.M. High doses of nandrolone decanoate reduce volume of testis and length of seminiferous tubules in rats. **APMIS**, v.113, 122-125, 2005.

ORTH, J.M. Proliferation of Sertoli cells in fetal and postnatal rats: a quantitative autoradiographic study. **Anato.Rec**, n.4 v.203, p.485-492, 1982.

ORTH, J.M., GUNSALUS, G.L., LAMPERTI, A.A. Evidence from Sertoli cell-depleted rats indicates that spermatid in adults depends on numbers of Sertoli cells produced during perinatal development. **Endocrinology**, n.3, v.122, p.787-794, 1988.

PAULA, T.A.R., CHIARINI-GARCIA, H., FRANÇA, L.R. Seminiferous epithelium cycle and its duration in capybaras (*Hydrocoerus hydrochaeris*). **Tiss. Cell**, n.3, v.31, p.327-334, 1999.

PELLINIEMI, L.J., KUOPIO, T., FROJDMAN, K. The cell biology and function of the fetal Leydig cell. In: PAYNE, A.H., HARDY, M.P., RUSSELL, L.D. (Eds). *The Leydig Cell*. Ed. Cache River Press. Vienna. 143-157. 1996

PLANT, T.M., MARSHALL, G.R. The Functional Significance of FSH in Spermatogenesis and the Control of Its Secretion in Male Primates. **Endocrine rev**, n.6, v.22, p.764-786, 2001.

PROKOP, L. The struggle against doping and its history. **The journal of sports medicine and physical fitness**, v. 10, n. 1, p. 45-48, 1970.

RAGLIN, J., BARZDUKAS, A. Overtraining in athletes: the challenge of prevention. A consensus statement. **ACSMS HEALTH e FITNESS JOURNAL**, v. 3, n. 2, p. 27-31, 1999.

RIBEIRO, P.C.P. O uso indevido de substâncias: esteróides anabolizantes e energéticos. **Adolescencia Latinoamericana**, v. 1414, n. 7130/2, p. 97-101, 2001.

ROCHA, D.C.M., DEBELJUK, L., FRANÇA, L.R. Exposure to constant light during testis development increases daily sperm production in adult Wistar rats. **Tiss.Cell**, n.3, v.31, p.372-379, 1999.

ROOSEN-RUNGE, E.C. The process of spermatogenesis in mammals. **Cambridge: University Press**, p-214, 1977.

ROOSEN-RUNGE, E.C., GIESEL Jr, L.O. Quantitative studies on spermatogenesis in the albino rat. **Am. J. Anat.** n.1, v.87, p.1-30. 1950.

ROSENFELD, R.G. et al. Six-year results of a randomized, prospective trial of human growth hormone and oxandrolone in Turner syndrome. **The Journal of pediatrics**, n. 1, v. 121, p. 49-55, 1992.

RUSSELL, L. D., REN, H. P., SINHA- HIKIM, I., SCHULZE, W., SINHA-HIKIM, A. P. A comparative study in twelve mammalian species of volume densities, volumes, and numerical densities of selected testis components, emphasizing those related to the Sertoli cell. **Amer. J. Anat**, n.1,v. 188, p.21-30, 1990b

RUSSELL, L.D., CORBIN, T.J., BORG, K.E., et al. Recombinant human follicle-stimulating hormone is capable of exerting a biological effect in the adult hypophysectomized rat by reducing the numbers of degenerating germ cells. **Endocrinology**, n.5, v. 133, p.2062-2070. 1993

RUSSELL, L.D., ETTLIN, R.A., SINHA-HIKIM, A.P., CLEGG, E.D. Histological and histopathological evaluation of the testis. Clearwater: Cache River Press, 1990a.

RUSSELL, L.D., PETERSON, R.N. Determination of the elongate spermatid-Sertoli cell ratio in various mammals. **Journal of reproduction and fertility**, n. 2, v. 70, p. 635-641, 1984.

RUSSELL, L.D; SINHA-HIKIM, AP; GHOSH, S. et al. Structure-function relationships in somatic cells of the testis and accessory reproductive glands. In: BARTKE, A (Eds). Function of somatic cells in the testis. New York: Springer-Verlag. 1994.

RUSSELL, LD; ETTLIN, RA; SINHA-HIKIM, AP; CLEGG, ED. Histological and histopathological evaluation of the testis. Clearwater: Cache River Press. 1990.

SCHLATT, S., MEINHARDT, A. AND NIESCHLAG, E. Paracrine regulation of cellular interactions in the testis: factors in search of a function. **Eur J. Endocrinol**, n.1, v.137, p.107-117, 1997.

SCOTT, D. M., WAGNER, J. C., e BARLOW, T. W. Anabolic steroid use among adolescents in Nebraska schools. **American journal of health-system pharmacy**, v. 53, n. 17, p. 2068-2072, 1996.

SETCHELL, B.P. Male reproductive organs and semen. In: CUPPS, P.T. (Ed.). Reproduction in Domestic Animals. San Diego: Academic Press, 1991, p.221-249.

SHAHIDI, N.T. A review of the chemistry, biological action, and clinical applications of anabolic-androgenic steroids. **Clinical therapeutics**, n. 9, v. 23, p. 1355-1390, 2001.

SHANGOLD, M.M. Exercise and the adult female: hormonal and endocrine effects. **Exercise and sport sciences reviews**, v. 12, n. 1, p. 53-80, 1984.

SHARPE, RM. Regulation of spermatogenesis. In: KNOBIL, E; NEIL, JD. (Eds). The physiology of reproduction. New York: Raven Press. p.1363-1434. 1994.

SHOKRI, S. et al. Exercise and supraphysiological dose of nandrolone deconoate increase apoptosis in spermatogenic cells. **Basic e clinical pharmacology e toxicology**, v. 106, n. 4, p. 324-330, 2010.

SINHA-HIKIM, A.P., AMADOR, A.G., KLEMCKE, H.G. et al. .Correlative morphology and endocrinology of Sertoli cells in hamster testis in active and inactive states of spermatogenesis.**Endocrinology**,n.4, v.125, p.1829-1843, 1989.

SMITH, E.L, HILL, R.L, LEHMAN, I.R, LEFKOWITZ, R.J, HANDLER, P., WHITE, A. *Bioquímica: mamíferos*. 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1985

- SMURAWA, T.M., CONGENI, J.A. Testosterone precursors: use and abuse in pediatric athletes. **Pediatric Clinics of North America**, v. 54, n. 4, p. 787-796, 2007.
- SNYDER, P.J. et al. Effect of Testosterone Treatment on Body Composition and Muscle Strength in Men Over 65 Years of Age 1. **The Journal of Clinical Endocrinology e Metabolism**, v. 84, n. 8, p. 2647-2653, 1999.
- THEIN, L. A.; THEIN J. M.; LANDRY G. L. Ergogenic aids, **American Physical Therapy Association**, v. 75, n. 5 p. 426-439, 1995.
- TODD, T. Anabolic Steroids: The Gremlins of Sport, **Journal of Sport History**, v. 14, n. 1 p. 87-107, 1987.
- URBAN, R. J., BODENBURG, Y. H., GILKISON, C. H. A. R. L. E. S., FOXWORTH, J. U. D. Y., COGGAN, A. R., WOLFE, R. R., e FERRANDO, A. Testosterone administration to elderly men increases skeletal muscle strength and protein synthesis. **American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism**, v. 32, n. 5, p. E820, 1995.
- WHEELER, G. D., WALL, S. R., BELCASTRO, A. N., CUMMING, D. C. Reduced serum testosterone and prolactin levels in male distance runners. **Jama**, n. 4, v. 252, p. 514-516, 1984.
- WILSON, J. D. Androgens. **Goodman and Gilman's Experimental Basis of Therapeutics**. New York, NY: McGraw-Hill, p. 1441-1457, 1996.
- WING, T.Y., CHRISTENSEN, A.K. Morphometric studies on rat seminiferous tubules. **Am. J. Anat**, n.1, v.165, p.13-25, 1982.
- WOOD, R.I. Reinforcing aspects of androgens. **Physiology e behavior**, v. 83, n. 2, p. 279-289, 2004.
- WROBLEWSKA, A.M. Androgenic-anabolic steroids and body dysmorphia in young men. **Journal of Psychosomatic research**, v. 42, n. 3, p. 225-234, 1997.
- YE, S.J., YING, L., GHOSH, S. et al. Sertoli cell cycle: a re-examination of the structural changes during the cycle of the seminiferous epithelium of the rat. **Anat. Rec**, n.2, v.237, p.187-98, 1993.
- YESALIS, Charles E. et al. Anabolic-androgenic steroid use in the United States. **Jama**, v. 270, n. 10, p. 1217-1221, 1993.
- YOSHIDA, E.M., KARIM, M.A., SHAIKH, J.F., SOOS, J.G., ERB, S.R. At what price, glory? Severe cholestasis and acute renal failure in an athlete abusing stanozolol. **CMAJ: Canadian Medical Association Journal**, v. 151, n. 6, p. 791, 1994.

## ANEXOS

### Submissões

- » [Submissões Online](#)
- » [Diretrizes para Autores](#)
- » [Política de Privacidade](#)

### Submissões Online

Já possui um login/senha de acesso à revista Ceres?

[ACESSO](#)

Não tem login/senha?

[ACESSE A PÁGINA DE CADASTRO](#)

O cadastro no sistema e posterior acesso, por meio de login e senha, são obrigatórios para a submissão de trabalhos, bem como para acompanhar o processo editorial em curso.

### Diretrizes para Autores

#### Formatação

- O texto deve ser digitado em Microsoft Word (versão 97-2003), justificado, em espaço duplo, fonte Times New Roman, tamanho 12.
- O formato da página deverá ser A4, com margens de 3 cm.
- As páginas devem apresentar linhas numeradas sequencialmente (a numeração é feita da seguinte forma: layout da página / número de linhas / contínuo).

#### Paginação

- Os artigos devem ter, **no máximo**, 25 páginas, incluindo-se as referências, **figuras e tabelas**.
- As comunicações devem ter, **no máximo**, 15 páginas, incluindo-se as referências, figuras e tabelas.

#### Autoria

Os artigos e comunicações devem ter, no máximo, seis autores. Para trabalhos com mais autores, é necessário que o autor correspondente envie um e-mail para a Revista Ceres (ceres.normas@ufv.br), esclarecendo a contribuição de cada um deles no artigo. Fica a critério da Comissão Editorial julgar se a justificativa procede, ou não.

### Seções de Artigos e Comunicações

#### Título

Deverá ter no máximo 20 palavras, centralizadas e em negrito. Apenas a primeira palavra com a letra inicial em maiúscula e as demais em minúscula, exceto em casos pertinentes (p. ex., nomes científicos; *Phaseolus vulgaris*). Se necessário, introduzir

nota de rodapé, ao seu final, usando algarismo arábico sobrescrito. (veja o item rodapé)

### **Nomes dos autores**

Os nomes dos autores devem ser listados, sem abreviações, em sequência, separados por vírgula, centralizados abaixo do título, aplicando-se itálico, utilizando-se letras maiúsculas/ minúsculas. Para cada autor deverá ser colocada uma nota de rodapé. O autor correspondente será sempre aquele que submeter o artigo.

Exemplo:

Maria Célia da Silva<sup>2</sup>, Antônio José da Silva<sup>3</sup>, Ana Maria da Silva<sup>4</sup>, Simone da Silva Fonseca<sup>5</sup>

### **Rodapé**

A primeira nota deve fornecer informações sobre o trabalho (se foi extraído de tese, dissertação, etc., e fonte financiadora) e as demais, informações sobre cada um dos autores, obedecendo à seguinte pontuação: formação, titulação máxima. Departamento, instituição, endereço comercial (rua, número, bairro, CEP, cidade, estado, país) e e-mail. A nota referente ao autor correspondente deverá conter, além do e-mail, um número de telefone para contato. Não utilizar abreviações para nenhuma informação do rodapé.

Exemplo:

<sup>1</sup>Este trabalho é parte da dissertação de mestrado da primeira autora.

<sup>2</sup>Engenheira-Agrônoma, Doutora. Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Campus Viçosa, Avenida Peter Henry Rolfs, s/n, 36570-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. (31) 3891-0000. maria@ufv.br (autora para correspondência).

### **Resumo**

A palavra "RESUMO" deve ser escrita em letras maiúsculas, alinhada à esquerda e ter aplicação de negrito. Essa seção deve conter no máximo 250 palavras e ter apenas um parágrafo. O texto do resumo deve conter, em linhas gerais, a hipótese, os objetivos, material e métodos utilizados, resultados expressivos alcançados e a conclusão. O resumo deve ser iniciado na linha subsequente ao título dessa seção.

### **Palavras-chave**

As palavras-chave devem ter um número mínimo de três e máximo de seis palavras e devem ser citadas em parágrafo subsequente ao resumo. Devem ser grafadas com inicial minúscula (exceto os nomes científicos) e separadas por vírgula, preferencialmente sem repetir palavras contidas no título do trabalho.

### **Abstract / Resúmen**

A palavra "ABSTRACT" deve ser escrita em letras maiúsculas, alinhada à esquerda e

ter aplicação de negrito. Na linha subsequente, deve-se inserir o título (em inglês ou espanhol) centralizado e com aplicação de negrito. O Abstract e o Resumen devem corresponder ao resumo.

### **Key words / Palabras clave**

As "Key words" devem ser citadas em parágrafo subsequente ao "Abstract" e ser separadas por vírgula. Devem corresponder às palavras-chave.

### **Introdução**

O título dessa seção, "INTRODUÇÃO", deve ser escrito em letras maiúsculas, alinhado à esquerda. A introdução deve ater-se ao problema do trabalho em pauta, situando o leitor quanto à sua importância, hipótese da pesquisa e os objetivos, estando estes últimos claramente expressos ao final da introdução.

### **Material e Métodos**

O título dessa seção, "MATERIAL E MÉTODOS", deve ser escrito em letras maiúsculas, alinhado à esquerda. A seção "Material e Métodos" deve ser redigida com detalhes suficientes para que o trabalho possa ser repetido. A Revista CERES requer que estejam especificados no artigo os procedimentos estatísticos, incluindo: o delineamento utilizado, o número de repetições e a técnica estatística empregada. Quando não houver delineamento, o artigo deve descrever claramente como foi feita a condução da pesquisa, e qual a técnica estatística utilizada para a análise dos dados. Quando os tratamentos se constituírem de fatores quantitativos com três ou mais níveis, as variáveis de resposta devem ser submetidas à análise de regressão. Se for de interesse comparar os níveis com o padrão ou testemunha, o teste adotado deve ser o Dunnett. Casos excepcionais serão avaliados pela Comissão Editorial. Trabalhos envolvendo experimentação animal ou humana devem explicitar no primeiro parágrafo o protocolo de aprovação do Comitê e Ética em Experimentação Animal ou Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humano.

### **Resultados e Discussão**

O título da seção, "RESULTADOS E DISCUSSÃO", deve ser escrito em letras maiúsculas, alinhado à esquerda. O texto deve ser claro e conciso, apoiado na literatura pertinente. Resultados e Discussão são seções que podem vir juntas ou separadas.

Obs: As seções **Material e Métodos** e **Resultados e Discussão** poderão conter subseções, indicadas por subtítulos escritos em itálico e negrito, iniciados por letra maiúscula e centralizados.

### **Conclusões**

O título da seção "CONCLUSÕES" deve ser escrito em letras maiúsculas, alinhado à esquerda. As conclusões devem ser concisas e derivadas dos dados apresentados e discutidos.

### **Referências**

O título da seção "REFERÊNCIAS" deve ser escrito em letras maiúsculas, alinhado à esquerda. As referências devem ser listadas por ordem alfabética. Seguem os exemplos:

**a) Artigos de periódicos:**

Anselme KL (2000) Review: Osteoblast adhesion on biomaterials. *Biomaterials*, 21:667-681.  
Davies JE e Baldan N (1997) Scan electron microscopy of the bone-bioactive implant interface. *Journal of Biomedical Material Research*, 36:429-440.  
Conz MB, Granjeiro JM e Soares GA (2005) Physicochemical characterization of six commercial hydroxyapatites for medical-dental applications on bone graft. *Journal of Applied Oral Sciences*, 13:136-140.

**b) Livros:**

Orefice RL, Pereira MM e Mansur HS (2006) *Biomateriais: Fundamentos e aplicações*. 3ª ed. Rio de Janeiro, Cultura Médica. 538p.

**c) Capítulos de livros:**

Costa EF, Brito RAL e Silva EM (1994) Cálculos e manejo da quimigação nos sistemas pressurizados. In: Costa EF, Vieira RF e Viana PA (Eds.) *Quimigação: Aplicação de produtos químicos e biológicos via irrigação*. Brasília, EMBRAPA. p.183-200.

**d) Trabalhos em anais de congresso:**

Junqueira Netto A, Sediyaama T, Sediyaama CS e Rezende PM (1982) Análise de adaptabilidade e estabilidade de dezesseis cultivares de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) em seis municípios do sul de Minas Gerais. In: 1ª Reunião Nacional de Pesquisa de Feijão, Goiânia. Anais, EMBRAPA/CNPAF. p.47-48.

**e) Teses e dissertações:**

Wutke EB (1998) Desempenho do feijoeiro em rotação com milho e adubos verdes. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba. 146p.

**f) CD-ROM:**

França MHC e Omar JHDH (2004) Estimativa da função de produção do arroz no estado do Rio Grande do Sul: 1969 a 1999. In: 2º Encontro de Economia Gaúcha, Porto Alegre. Anais, FEE. CD-ROM.

**g) Internet:**

Darolt MR e Skora Neto F (2002) Sistema de plantio direto em agricultura orgânica. Disponível em: . Acessado em: 23 de abril de 2009.

**h) Boletim técnico:**

Bastos DC, Scarpore Filho JA, Fatinansi JC, Pio R e Spósito MB (2004) A cultura da lichia. Piracicaba, DIBD/ESALQ. 23p. (Boletim técnico, 26).

#### **i) Programas estatísticos:**

R development core team (2010) R: A Language and environment for statistical computing. Vienna, R Foundation for Statistical Computing. Disponível em: . Acessado em: 01 de janeiro de 2012.

SAS Institute Inc. (2002) Statistical Analysis System user's guide. Version 9.0. Cary, Statistical Analysis System Institute. 513p.

Universidade Federal de Viçosa (2007) SAEG: Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas. Versão 9.1. Viçosa, Fundação Arthur Bernardes. CD-ROM.

No texto, citar as referências nos formatos: (Autor, Ano), (Autor e Autor, Ano), (Autor et al., Ano) ou (Silva, 1999; Arariki e Borges, 2003; Santos et al., 2007), sempre em ordem cronológica ascendente. A referência deve ser citada ao final de um período que expresse uma idéia completa. Quando os nomes dos autores forem parte integrante do texto, menciona-se a data da publicação citada entre parênteses, logo após o nome do autor, conforme exemplos: Fontes (1999), Borges e Loreno (2007), Batista et al. (2005).

#### **Citação de citação**

Todo esforço deve ser empreendido para se consultar o documento original. Entretanto, nem sempre é possível. Nesse caso, pode-se reproduzir informação já citada por outros autores. Pode-se adotar o seguinte procedimento: no texto, citar o sobrenome do autor do documento não consultado com o ano de publicação, seguido da expressão citado por e o sobrenome do autor do documento consultado com o ano de publicação; na listagem das referências deve-se incluir a referência completa da fonte consultada.

#### **Comunicação pessoal**

Não faz parte da lista de referências, sendo colocada apenas em nota de rodapé. Coloca-se o sobrenome do autor seguido da expressão "comunicação pessoal", a data da comunicação, nome, estado e país da Instituição ao qual o autor é vinculado.

#### **Financiamento e apoio**

Os autores devem informar se receberam financiamento ou apoio de instituições de incentivo à pesquisa.

#### **Normas para figuras e tabelas**

As figuras e tabelas devem ser posicionadas após as referências, uma em cada página, e ser numeradas com algarismos arábicos, ficando a legenda posicionada abaixo nas figuras e acima nas tabelas.

Figuras e tabelas não devem repetir os mesmos dados. Figuras submetidas em formato eletrônico devem apresentar resolução mínima de 300 dpi, em formato TIFF ou JPG.

Toda ilustração que já tenha sido publicada deve conter, abaixo da legenda, dados sobre a fonte (autor, data) de onde foi extraída.

A referência bibliográfica completa relativa à fonte da ilustração deve figurar na seção Referências. As despesas de impressão de ilustrações coloridas correrão por conta dos autores.

### **Tabela**

O termo refere-se ao conjunto de dados alfanuméricos ordenados em linhas e colunas. Deve ser construída apenas com linhas horizontais de separação no cabeçalho e ao final da tabela. A legenda recebe inicialmente a palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismo arábico e é referida no texto como Tabela.

### **Figura**

O termo refere-se a qualquer ilustração constituída ou que apresente linhas e pontos: desenho, fotografia, gráfico, fluxograma, esquema, etc. Os desenhos, gráficos, etc. devem ser bem nítidos. As legendas recebem inicialmente a palavra Figura, seguida do número de ordem em algarismo arábico e é referida no texto como Figura.

## **DECLARAÇÃO DE ORIGINALIDADE E CESSÃO DOS DIREITOS AUTORAIS**

Esta declaração é de envio obrigatório e deverá ser anexada em “documentos suplementares”. Ela deverá ser impressa, assinada por todos os autores e digitalizada. Caso não seja possível enviar um único documento com as assinaturas de todos os autores, poderá ser enviada uma declaração para cada autor. **Assinaturas eletrônicas não serão aceitas.** Modelo da declaração.

### **Condições para submissão**

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1. A contribuição deste trabalho é original e inédita e ele não está sendo avaliado por outra revista.
2. Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word, versão 97-2003, e o nome do arquivo é o número do CPF do autor correspondente.
3. O texto está formatado com espaçamento duplo, fonte Times New Roman, tamanho 12 e margens de 3 cm.
4. O título tem no máximo 20 palavras e o resumo, 250.
5. As notas de rodapé e as referências seguem as exigências contidas nas Normas para os Autores.
6. As figuras e tabelas não estão inseridas no corpo do texto, estão localizadas após as referências, uma em cada página.
7. Os artigos têm no máximo 25 páginas, contando com as referências, tabelas e figuras.
8. As comunicações têm no máximo 15 páginas, contando com as referências, tabelas e figuras.

9. Foi anexada em "Documentos Suplementares" a Declaração de Originalidade e Cessão de Direitos Autorais devidamente assinada por todos os autores do trabalho.

**Política de Privacidade**

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceiros.

ISSN: 2177-3491