

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS  
CÂMPUS BOTUCATU**

***EFEITOS DA INTERAÇÃO ENTRE O USO DE DOSES  
SUPRAFARMACOLÓGICAS DE DECANOATO DE NANDROLONA E DO  
EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE A PRÓSTATA DE RATOS ADULTOS***

***CAROLINE GUEDES CORRÊA DE TOLEDO***

**Botucatu - SP  
2009**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS  
CÂMPUS BOTUCATU**

***EFEITOS DA INTERAÇÃO ENTRE O USO DE DOSES  
SUPRAFARMACOLÓGICAS DE DECANOATO DE NANDROLONA E DO  
EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE A PRÓSTATA DE RATOS ADULTOS***

***Caroline Guedes Corrêa De Toledo  
Orientadora: Patrícia Fernanda Felipe Pinheiro***

Artigo científico apresentado ao Departamento de Anatomia - IBB-UNESP, como parte das atividades de conclusão de curso para a obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas – Modalidade Médica.

**Botucatu - SP  
2009**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO  
DA INFORMAÇÃO  
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
*BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: SELMA MARIA DE JESUS*

Toledo, Caroline Guedes Corrêa de.

Efeitos da interação entre o uso de doses suprafarmacológicas de decanoato de nandrolona e do exercício físico sobre a próstata de ratos adultos / Caroline Guedes Correa de Toledo. - Botucatu [s.n], 2009.

Trabalho de conclusão (bacharelado – Ciências Biológicas – Modalidade Médica) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu, 2009

Orientadora: Patrícia Fernanda Felipe Pinheiro

1. Próstata - Câncer - Aspectos farmacológicos - Estudos experimentais
2. Exercícios físicos
3. Hormônios esteroidianos

Palavras-chave: Esteróides anabólico-androgênicos; Imunohistoquímica; Proliferação celular; Próstata

**Resumo:** Os hormônios esteróides anabólico-androgênicos (EAA) compreendem a testosterona e seus derivados. Atletas e não atletas interessados em aumentar o desempenho esportivo, a força, a aparência física e a massa muscular têm utilizado esteróides anabólico-androgênicos sintéticos (EAAs) sem indicação médica. O uso de EAAs pode causar câncer de próstata, doença coronariana e esterilidade. No presente trabalho, avaliou-se os efeitos de altas doses de decanoato de nandrolona, do exercício físico resistido e da interação desses fatores sobre os lobos prostáticos de ratos machos adultos. Vinte ratos foram divididos aleatoriamente em quatro grupos experimentais e tratados e pesados por oito semanas: Esteróide + Exercício (EE), Sedentário + Esteróide (ES), Veículo + Exercício (VE) e Veículo + Sedentário (VS). Eles receberam injeção i.m de decanoato de nandrolona (5mg/Kg) e veículo (propilenoglicol) (0,2 mL/Kg). O peso absoluto corpóreo e do lobo ventral da próstata foi aferido. Os lobos prostáticos foram coletados, dissecados e processados, empregando-se técnicas microscópicas (histológicas, histoquímicas e imunohistoquímicas) e morfométricas. Os dados foram analisados por ANOVA bifatorial e Tukey ( $p < 0,05$ ). Alterações estatisticamente significativas nas massas corpórea, do lobo ventral, no índice de proliferação celular, na população de células basais e na análise dos volumes relativos dos componentes prostáticos (epitélio, estroma e lúmen) foram observadas. O decanoato de nandrolona determinou o aumento da proliferação celular, sugerindo o desenvolvimento da hiperplasia hormonal. De modo geral, as respostas não foram homogêneas para os parâmetros analisados, visto que os tecidos apresentam níveis de expressão de receptores de andrógenos, afinidade de ligação e vias metabólicas de conversão do EAAs locais distintas. Concluiu-se que houve interação dos efeitos do uso de doses suprafsiológicas de decanoato de nandrolona com a prática o exercício físico resistido. Os produtos da metabolização do decanoato de nandrolona foram determinantes no desenvolvimento da hiperplasia epitelial.

**Palavras-chave:** esteróides anabólico-androgênicos, próstata, imunohistoquímica, proliferação celular, rato.

## ***Introdução***

A testosterona, juntamente com outros andrógenos naturais, induz a expressão de características sexuais no homem (efeitos androgênicos ou masculinizantes) e estimula a síntese e o aumento de proteínas presentes nos músculos estriados esqueléticos (efeitos miotróficos ou anabólicos) (Mooradian, et al., 1987). Devido ao seu efeito anabólico, a testosterona e os vários derivados sintéticos dos esteróides sexuais, coletivamente denominados de esteróides anabólico-androgênicos (EAA), têm sido utilizados por décadas para aumentar a massa muscular, a força e o desempenho na prática de esportes (Dohle *et al.*, 2003).

Os EAA exercem suas ações pela ativação da expressão gênica através da ligação com o receptor nuclear de andrógeno (Carson III & Rittmaster, 2003). Na próstata, os andrógenos atuam na manutenção da homeostase, estimulando o processo de proliferação celular e inibindo a morte celular (apoptose) (Niu et al., 2001), sugerindo a existência de um mecanismo biológico que evitaria um possível crescimento patológico (Gao & Isaacs, 2001). A diferenciação epitelial prostática e o controle na expressão do receptor de andrógeno, processos considerados chave na formação do câncer prostático (Maitland, 2003) são regulados integralmente pelos níveis de andrógenos circulantes.

Segundo Sugimura et al. (1986), os andrógenos exercem efeitos diretos e indiretos sobre o epitélio prostático. Os efeitos indiretos são mediados, via parácina, através de fatores de crescimento secretados pelo estroma que é sensível aos andrógenos (Sugimura et al., 1996). Herr et al. (2007) descreveram os efeitos diretos dos andrógenos em uma população de células epiteliais prostáticas amplificadas transitórias (*transiently amplifying population* "TAP"). A presença de um receptor funcional de andrógeno na TAP, uma subpopulação independente de andrógeno, pode ter particular significado clínico na resistência do câncer prostático.

Os EAA sintéticos (EAAs) e seus metabólitos atuam em vários tecidos alvos de forma similar aos EAA endógenos. O uso ilícito dos EAAs promove o crescimento de estudos sobre os efeitos colaterais, que perpassam desde conseqüências neuropsicológicas, (Bahrke et al., 1996), alterações da libido, aumento do reforço positivo para procura de drogas de abuso como os opióides (Wood et al., 2008) e de consumo de álcool (Lindqvist, et al., 2001). Alterações físicas, como ginecomastia masculina (LaBree, 1991) e morfológicas como redução do volume nos testículos, alterações morfofisiológicas na glândula prostática e o possível surgimento câncer prostático (Froehner, *et al.*, 1999), estão associadas á disfunção endócrina causada pelo uso dessas drogas sintéticas combinado ou não com a prática de atividade física.

Segundo Friedenreich & Thune (2001), no mínimo quatro mecanismos biológicos relacionados à prática atividade física regular tem sido considerados como fatores que possam exercer efeitos diretos sobre a diminuição do risco de câncer na próstata. Esses mecanismos estão associados as alterações nos níveis plasmáticos de hormônios anabólico-androgênicos circulantes, no balanço energético, na função imune e nos mecanismos de defesa antioxidantes.

Dessa forma, o presente trabalho tem como objetivos investigar possíveis alterações na próstata do rato adulto sob ação do uso de doses suprafsiológicas de EAAs associados ou não ao exercício físico.

## ***Material e Métodos***

### ***Animais***

Foram utilizados 20 ratos albinos (*Rattus norvegicus albinus*) da linhagem *Wistar* adultos (três meses de idade), do sexo masculino, proveniente do Biotério do Departamento de Anatomia, Instituto de Biociências, UNESP - *Campus* de Botucatu. Quatro grupos experimentais foram formados: (1º) Grupo esteróide exercício (EE); (2º) Grupo veículo exercício (VE); (3º) Grupo esteróide sedentário (ES) e (4º) Grupo veículo sedentário (VS). Durante o estudo, os animais receberam dieta sólida (ração Nuvilab<sup>®</sup>) e água *ad libitum*, sendo alojados em caixas individuais com fundo sólido, forradas com maravalha, em sala com luminosidade (12h de luz e 12h de escuro) e temperatura (20 à 25°C) controladas. O protocolo experimental seguiu os princípios éticos em pesquisa animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) (Protocolo 30/07-CEEA/IBB).

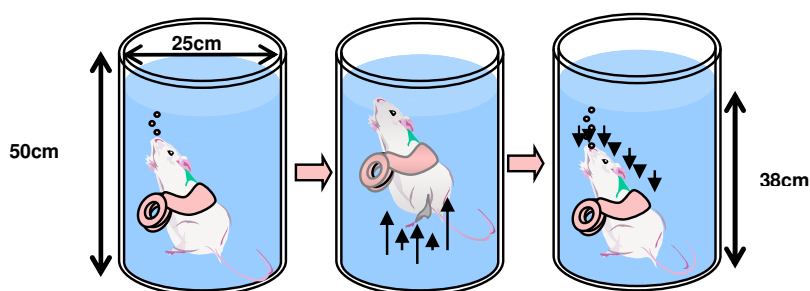
### ***Tratamento***

Os animais do grupo EE e ES receberam injeções intramusculares (i.m.) de decanoato de nandrolona (5mg/Kg peso corpóreo de Deca Durabolin<sup>®</sup>, Organon, Brasil), duas vezes por semana entre às 7:30 e 8:00 h. Segundo Pope & Katz (1988), 5mg/Kg de decanoato de nandrolona equivale a dose abusiva administrada a atletas (8mg/Kg peso corpóreo/semana) (10 a 100 vezes maior que a dose terapêutica). No presente estudo foi utilizada uma dose aproximadamente 65 vezes maior que a indicada (Norton *et al.*, 2000). Os animais do grupo VE e VS receberam injeções i.m. de veículo (0,2 mL/Kg peso corpóreo de propilenoglicol), duas vezes por semana entre às 7:30 e 8:00 h. As aplicações foram realizadas no membro posterior dos animais alternado-se os antímeros (esquerdo e direito) a cada injeção i.m. O período de tratamento dos animais foi de 8 semanas. Esse intervalo de tempo supera o período

de ocorrência de uma espermatogênese no rato albino (aproximadamente 49 dias) (Kolasa *et al.*, 2004).

### ***Programa de Treinamento – Exercício físico resistido através de saltos em meio líquido***

Os animais foram submetidos a sessões de saltos em cilindro de PVC, contendo água a 30°C (Harri & Kuusela, 1986) a uma profundidade de 38 cm (Figura 1).



***Figura 1: Esquema ilustrando o treinamento físico dos animais.***

Uma semana antes do início da aplicação, os ratos dos grupos EE e VE foram submetidos a uma adaptação ao exercício físico em meio líquido durante cinco dias. A sobrecarga de peso foi colocada na região anterior do tórax dos animais através de um colete.

O programa de treinamento físico ocorreu durante oito semanas consecutivas. As sessões de saltos em meio líquido com sobrecarga de peso foram realizadas três dias por semana, entre às 13:00 e 15:00h. Em cada sessão, realizaram-se quatro séries de dez saltos cada, sendo que no decorrer do tratamento a sobrecarga de peso foi aumentada (Tabela 1). Entre as séries houve intervalo de 60 segundos, durante o qual o animal foi retirado da água e mantido em repouso.



Tabela 1: Protocolo de treinamento físico anaeróbio.

<b>Dia de treinamento</b>	<b>Treinamento Sobrecarga - (% Peso corporal)</b>
<i>1º</i>	<i>2 séries de 5 saltos (50%)</i>
<i>2º</i>	<i>3 séries de 5 saltos (50%)</i>
<i>3º</i>	<i>4 séries de 5 saltos (50%)</i>
<i>4º</i>	<i>4 séries de 7 saltos (50%)</i>
<i>5º</i>	<i>4 séries de 9 saltos (50%)</i>
<i>6º ao 20º</i>	<i>4 séries de 10 saltos (50%)</i>
<i>21º ao 35º</i>	<i>4 séries de 10 saltos (60%)</i>
<i>36º ao 54º</i>	<i>4 séries de 10 saltos (70%)</i>

### ***Eutanásia***

Após 48 horas (Nakatani *et al.*, 1997; Griewe *et al.*, 1999) da última sessão de saltos, cinco ratos de cada grupo (EE, ES, VE e VS) foram anestesiados com éter etílico. e submetidos à perfusão com Bouin através do ventrículo esquerdo do coração. Foi injetado intraperitonealmente dose de heparina de 130 UI/Kg de peso corpóreo do animal, 15 minutos antes do início da perfusão (Sprando, 1990).

### ***Microscopia de Luz***

Após a perfusão, realizou-se laparotomia abdômino-pélvica e o complexo uretro-prostático foi dissecado, coletado e fixado em Bouin por 24h, lavados em álcool 70%, desidratados, diafanizados, incluídos em paraplástico e cortados com 4µm de espessura. Foram obtidas coleções de lâminas de cortes seriados transversais. Os cortes foram corados com Tricrômico de Masson (TMa), Hematoxilina-Eosina (HE) e Reticulina de Gömöri (R). As lâminas foram analisadas e fotografadas em fotomicroscópio Axiophot – 2 com câmera digital, modelo AxioCam HR, Zeiss do Departamento de Anatomia, Instituto de Biociências – UNESP - *Campus* de Botucatu.

### ***Análise das células NE - Método argirófilo de Grimelius (1968)***

Do material fixado com solução de formaldeído a 10% e solução de Bouin e incluído em paraplástico, foram obtidas coleções de lâminas com cortes da próstata de 4µm de espessura. Através do método argirófilo de Grimelius (1968), as células NE foram evidenciadas, analisadas.

### ***Análise imunohistoquímica***

Do material fixado com solução de formaldeído a 10% e solução de Bouin e incluído em paraplástico, foram obtidas coleções de lâminas com cortes da próstata de 4µm de espessura. Os cortes histológicos foram colocados em lâminas silanizadas da DAKO<sup>®</sup> CYT, desparafinizados em xilol e álcool e lavados em tampão fosfato (PBS). Em seguida, as lâminas foram colocadas em solução de água oxigenada a 3% em metanol durante 30 minutos. A seguir, as lâminas foram colocadas no forno de microondas a 700-800W, durante 15 minutos, divididos em 4 ciclos em tampão citrato de sódio a 0,01M, pH 6,0. A cada ciclo a cuba de lâminas foi completada com a solução tampão citrato de sódio a 0,01M, pH 6,0. As lâminas que foram incubadas com anticorpo anti-Ki67 foram colocadas em tampão citrato de sódio a 0,01M, pH 6,0 em uma *panela de pressão* e submetidas à alta pressão e temperatura por 25 minutos. Na etapa seguinte, as seções foram submetidas à reação com os anticorpos primários específicos (tabela 2) e incubadas em câmara úmida durante a noite a 4°C em geladeira. Após a incubação, as lâminas foram lavadas em tampão PBS e durante 1h, à temperatura ambiente, as seções foram incubadas com anticorpo secundário (*Biotinylated Rabbit Anti-Mouse Immunoglobulins - DAKO<sup>®</sup> CYT*). Após essa etapa, as lâminas foram lavadas com PBS e submetidas à solução de avidina-biotina-peroxidase (*StreptABComplex DAKO<sup>®</sup> CYT*) por 45 minutos. Em seguida, as lâminas foram lavadas em PBS e submetidas à diaminobenzidina (DAB) (di-amino-benzidine-Sigma<sup>®</sup>) por 5 minutos. A seguir, as lâminas

foram lavadas em água de torneira e contrastadas com hematoxilina de Harris. Durante a realização da técnica foram obtidos controles positivos e negativos. As lâminas foram analisadas e fotografadas em fotomicroscópio AXIOPHOT – 2 com câmera digital, modelo AxioCam HR, Zeiss, do Departamento de Anatomia, Instituto de Biociências – UNESP - *Campus* de Botucatu.

Tabela 2 – Características dos anticorpos utilizados.

<i>Anticorpos</i>	<i>Especificidade</i>	<i>Espécie hospedeira</i>	<i>Diluição</i>	<i>Clone</i>	<i>Fonte</i>
<b><i>Primário</i></b>					
					Dako Cyt®
<i>Proteína p63</i>	Células basais	Camundongo (monoclonal)	1/50	4A4	Novocastra Laboratories Ltd®
<i>Citoqueratina 18 (CK 18)</i>	Células luminais	Camundongo (monoclonal)	1/20	DC-10	Novocastra Laboratories Ltd®
<i>Citoqueratina 19 (CK 19)</i>	Células intermediárias	Camundongo (monoclonal)	1/100	B170	Novocastra Laboratories Ltd®
<i>Ki67</i>	Proliferação Celular	Camundongo (monoclonal)	1/100	MIB-1	Dako Cyt®
<i>Serotonina (5-HT)</i>	Células NE	Camundongo (monoclonal)	1/100	5HT-H209	
<b><i>Secundário</i></b>					
	Anti-camundongo	Coelho (monoclonal)	1/100		Dako Cyt®

### ***Análise morfométrico-estereológica***

As porcentagens dos índices de núcleos Ki-67 positivos e de células basais (núcleos p63 positivos) foram calculadas em cada secção selecionada dos grupos estudados, usando as seguintes fórmulas:

- ***Índice de proliferação celular*** = nº de núcleos Ki67<sup>+</sup>/total de núcleos ou células (marcadas e não marcadas) x 100;
- ***Índice de células basais*** = nº de núcleos p63<sup>+</sup>/ total de núcleos ou células (marcadas e não marcadas) x 100;

A contagem de células de cada variável descrita foi realizada através do programa de análise de imagens AxioVision (Zeiss) em oito a dez secções. No total, 1000 células epiteliais foram avaliadas e contadas. Os núcleos marcados foram considerados positivos quando a coloração apresentou-se uniforme e intensa.

Para a análise estereológica foram utilizadas duas lâminas, coradas com tricrômico de Masson, obtidas dos 5 animais de cada grupo experimental. Através do programa de análise de imagens AxioVision (Zeiss) capturou-se 36 campos histológicos (imagens) de cada animal (Tabela 3). As imagens foram avaliadas através da análise morfométrico-estereológica descrita por Weibel (1978) utilizando uma grade de 168 pontos. Desta forma, obteve-se o volume relativo do epitélio, do estroma e do lúmen da próstata da cobaia durante o desenvolvimento pós-natal.

Tabela 3 – Esquema de captura de imagens por animal de cada grupo experimental estudado.

<i>Grupo experimental<sup>1</sup></i>		<i>Captura de imagens por animal</i>		
<i>VE</i>	<i>Animal 1</i>	<i>Lâmina 1</i>	<i>1ª secção</i>	<i>18 campos</i>
			<i>2ª secção</i>	
			<i>3ª secção</i>	
		<i>Lâmina 2</i>	<i>1ª secção</i>	<i>18 campos</i>
			<i>2ª secção</i>	
			<i>3ª secção</i>	

<sup>1</sup> A avaliação apresentada foi adotada para os 5 animais de cada grupo experimental.

### *Análise Estatística*

O estudo estatístico das variáveis descritas foi realizado através da técnica da análise de variância em experimentos inteiramente casualizados. A técnica de análise foi complementada com o teste de comparações múltiplas de Tukey para contraste entre médias dos grupos. Os resultados foram apresentados figuras e tabelas e todas as conclusões estatísticas foram realizadas em nível de 5% de significância. Detalhes a respeito da metodologia empregada podem ser encontrados em Banzatto & Kronka (1989).

## Resultados

A massa corpórea ao final do período experimental diferiu significativamente nos grupos tratados com EAA quando comparados aos grupos que receberam veículo, bem como entre os grupos submetidos ao exercício físico comparado aos grupos sedentários. No entanto, não se observou efeito na interação entre esses fatores (Tabela 4).

Tabela 4: Média e desvio-padrão da massa corpórea (g) durante o período experimental dos ratos dos grupos VE, VS, ES e EE.

Variável	Tratamento	Atividade	
		Sedentário	Exercício
Massa corpórea	Veículo	480,74±16,44aA	461,13±10,67aA
	Esteróide	452,02±9,03bB	444,74±9,19bB

Letras minúsculas = comparação dos grupos quanto aos tratamentos; Letras maiúsculas = comparação dos grupos quanto às atividades; p<0,05.

O lobo ventral da próstata apresentou massa significativamente maior nos grupos que receberam altas doses de decanoato de nandrolona independente da realização ou não de exercício físico. Não se registrou os efeitos da interação entre o uso de EAA com a prática de exercício físico (Tabela 5).

Tabela 5: Média e desvio-padrão da massa do lobo ventral da próstata dos ratos dos grupos VE, VS, ES e EE.

Variável	Tratamento	Atividade	
		Sedentário	Exercício
Massa do lobo ventral da próstata	Veículo	0,746±0,121bA	0,694±0,213bA
	Esteróide	1,066±0,297aA	1,099±0,314aA

Letras minúsculas = comparação dos grupos quanto aos tratamentos; Letras maiúsculas = comparação dos grupos quanto às atividades; p<0,05.

Alterações morfológicas focais foram observadas nos ratos dos grupos tratados com 5mg/Kg peso corpóreo de Deca Durabolin<sup>®</sup> durante oito semanas, independente da prática ou não de exercício físico.

Processos de inflamação (prostatite) do tipo agudo foram observados nos lobos laterais dos animais tratados com decanoato de nandrolona; enquanto a inflamação crônica foi encontrada nos lobos ventrais dos grupos ES e EE. A prostatite aguda caracterizou-se pela grande quantidade de linfócitos e células inflamatórias mononucleares no lúmen dos ácinos. Na prostatite crônica dos lobos ventrais registrou-se a presença de linfócitos no estroma acompanhado pela proliferação epitelial reativa à inflamação (Figura 3).

Em alguns ácinos prostáticos ventrais dos grupos EE e ES, observou-se alteração na relação epitélio-estroma dada pela invasão do estroma em direção ao compartimento epitelial (Tabela 3) (Figura 3). Focos de degeneração epitelial em células luminais foram observados em algumas secções histológicas (Figura 3).

A reatividade imunohistoquímica para o Ki-67 esteve distribuída pelos núcleos e nucléolos das células epiteliais prostáticas dos três lobos de todos os grupos estudados.

No lobo ventral e no lobo lateral o índice de células positivas para o Ki-67 sofreu alteração frente aos efeitos da interação do decanoato de nandrolona associado à prática de exercício físico. O índice de células positivas para o Ki-67 foi significativamente maior no grupo EE em comparação ao grupo ES. O grupo VE apresentou índice significativamente maior em relação ao seu controle, o grupo VS. A prática do exercício físico resistido, combinada ou não, ao tratamento com esteróide aumentou significativamente o índice de proliferação celular (Tabela 5).

No lobo dorsal, os resultados da análise semi-quantitativa da porcentagem do índice de células Ki-67 positivas mostraram-se influenciados apenas pelo efeito do tratamento com decanoato de nandrolona. Os indivíduos do grupo ES e EE apresentaram índice de proliferação celular significativamente maior em comparação aos animais dos grupos VS e VE (Tabela 5).

A imunomarcção positiva para a proteína p63 foi restrita ao compartimento basal do epitélio prostático dos três lobos avaliados. As células basais, com formas variando de triangulares a alongadas, localizaram-se dispersas entre as células luminais. Esta relação topográfica permitiu distinguir dois compartimentos nos três lobos: o basal e o luminal ou secretor (Figuras 2, 4, 5 e 6).

Nos lobos ventral, lateral e dorsal da próstata os índices de células p63 positivas apresentaram diferenças estatisticamente significativas nos grupos que receberam decanoato de nandrolona independente da prática de exercício físico (Tabela 5).

No lobo lateral, os grupos tratados com decanoato de nandrolona mostraram diferenças significativas no índice de células p63 positivas independente da prática ou não da atividade física. (Tabela 5). Observou-se que no lúmen dos ácinos dos lobos dorsais células descamadas com marcação positivas para a proteína p63 e células com fenótipo apoptótico (Figura 5).

O compartimento epitelial luminal (secretor) dos lobos ventral e dorsal apresentou células colunares altas enquanto o compartimento luminal do epitélio do lobo lateral apresentou-se com formas colunares baixas a cúbicas com a presença de células binucleadas (Figura 4).

A investigação da CK 18, marcador típico de células luminais e da CK 19, marcador típico de subpopulação de células intermediárias, ou seja, em processo de diferenciação celular, mostrou-se negativa na análise de todos os lobos prostáticos.

Os métodos argirófilo de Grimelius e imunohistoquímico para identificação de células positivas para serotonina não marcaram a população de células neuroendócrinas nos epitélios prostáticos dos grupos estudados.

A análise semi-quantitativa (porcentagem do volume relativo) do epitélio, do estroma e do lúmen caracterizou-se por apresentar respostas diferentes entre os lobos prostáticos dos grupos experimentais estudados (Tabela 6).

No lobo ventral, o epitélio e o estroma apresentaram alterações frente ao protocolo experimental adotado. Registrou-se diferença significativa no volume relativo do epitélio entre os grupos VE e EE. Houve diminuição do volume do relativo do epitélio do grupo EE em relação ao grupo VE. A análise estatística revelou que os volumes relativos do estroma dos animais dos grupos VS e VE foram significativamente maiores quando comparados aos animais do grupo EE e ES (Tabela 7).

No lobo lateral foram registradas alterações no volume relativo do estroma. Os animais do grupo VS e VE apresentaram volume do estroma significativamente maior comparado aos do grupo ES e EE. (Tabela 7).

No lobo lateral os animais do grupo ES e EE apresentaram volume do lúmen significativamente maior comparado aos do grupo VS e VE. (Tabela 7).



Tabela 6: Média e desvio-padrão da porcentagem dos índices de células epiteliais Ki-67 e p63 positivas dos lobos prostáticos dos grupos VE, VS, ES e EE.

<b>LOBO VENTRAL</b>			
<i>Variáveis</i>	<i>Tratamento</i>	<i>Atividade</i>	
		<i>Sedentário</i>	<i>Exercício</i>
<i>Índice de Proliferação Celular (%)</i>	<i>Veículo</i>	0,87±0,21bB	2,00±1,13bA
	<i>Esteróide</i>	2,53±0,35aB	3,95±1,48 aA
<i>Índice de Células Basais (%)</i>	<i>Veículo</i>	1,79±0,09b	1,96±0,72b
	<i>Esteróide</i>	2,56±0,06a	3,09±0,70a
<b>LOBO LATERAL</b>			
<i>Variáveis</i>	<i>Tratamento</i>	<i>Atividade</i>	
		<i>Sedentário</i>	<i>Exercício</i>
<i>Índice de Proliferação Celular (%)</i>	<i>Veículo</i>	0,87±0,24bB	1,02±0,12bA
	<i>Esteróide</i>	1,84±0,13aB	2,20±0,10aA
<i>Índice de Células Basais (%)</i>	<i>Veículo</i>	6,46±1,34b	5,26±2,00b
	<i>Esteróide</i>	9,53±2,40a	9,52±14,90a
<b>LOBO DORSAL</b>			
<i>Variáveis</i>	<i>Tratamento</i>	<i>Atividade</i>	
		<i>Sedentário</i>	<i>Exercício</i>
<i>Índice de Proliferação Celular (%)</i>	<i>Veículo</i>	1,67±0,71b	1,08±0,23b
	<i>Esteróide</i>	2,48±0,75a	3,45±1,63a
<i>Índice de Células Basais (%)</i>	<i>Veículo</i>	10,78±1,93b	10,50±3,42b
	<i>Esteróide</i>	14,90±3,35a	16,20±1,72a

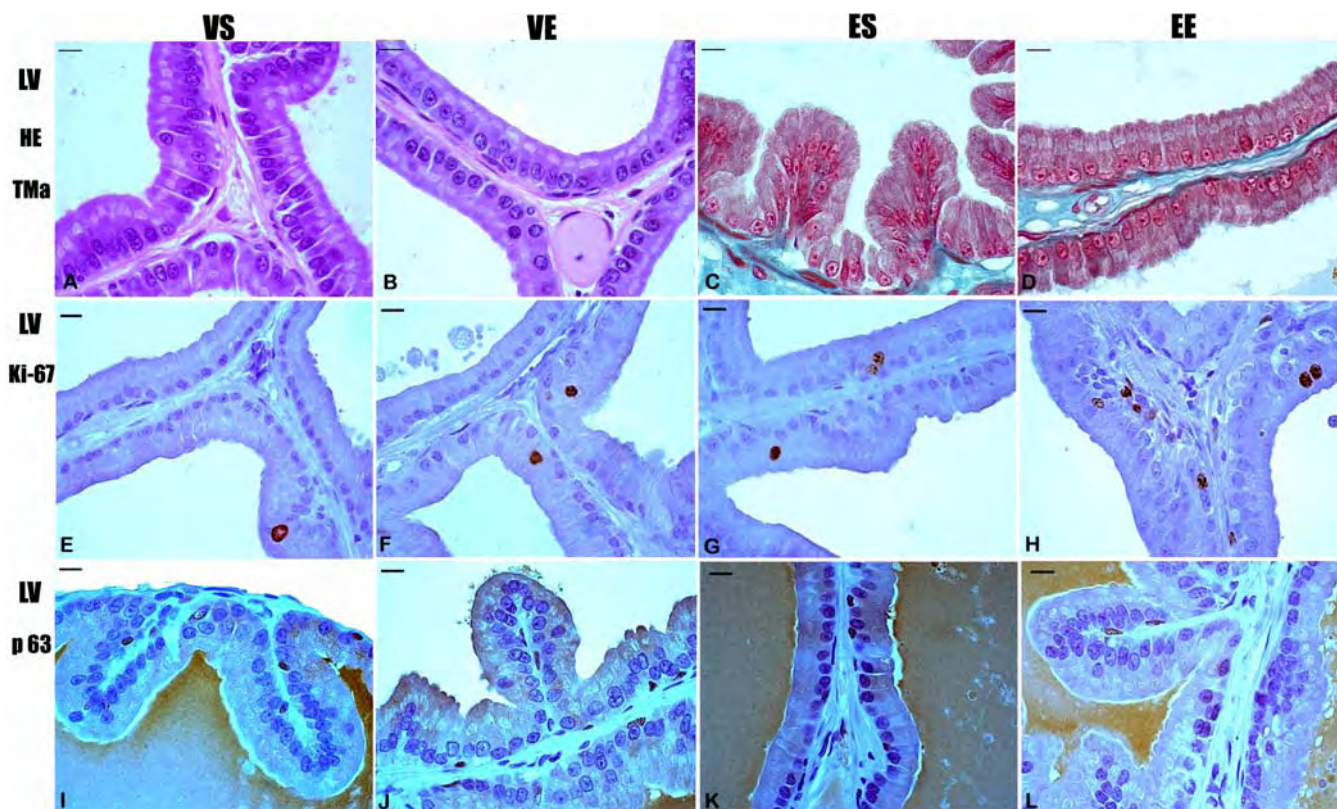
Letras minúsculas = comparação dos grupos quanto aos tratamentos; Letras maiúsculas = comparação dos grupos quanto às atividades; p<0,05.

Tabela 7: Média e desvio-padrão da porcentagem (%) dos volumes relativos do epitélio, do estroma e do lúmen dos lobos prostáticos dos grupos VE, VS, ES e EE.

<b>LOBO VENTRAL</b>			
<b>Variáveis</b>	<b>Tratamento</b>	<b>Atividade</b>	
		<b>Sedentário</b>	<b>Exercício</b>
<b>Volume Relativo Ep (%)</b>	<b>Veículo</b>	28,73±4,41aA	32,07±1,62aA
	<b>Esteróide</b>	31,77±2,72aA	26,43±4,82bA
<b>Volume Relativo Es (%)</b>	<b>Veículo</b>	14,27±2,19b	14,15±3,75b
	<b>Esteróide</b>	19,31±2,14a	20,75±5,84a
<b>Volume Relativo Lu (%)</b>	<b>Veículo</b>	57,00±2,98	53,79±3,34
	<b>Esteróide</b>	48,92±2,74	52,82±9,56
<b>LOBO LATERAL</b>			
<b>Variáveis</b>	<b>Tratamento</b>	<b>Atividade</b>	
		<b>Sedentário</b>	<b>Exercício</b>
<b>Volume Relativo Ep (%)</b>	<b>Veículo</b>	34,31±6,25	33,15±2,47
	<b>Esteróide</b>	34,17±4,57	39,15±1,91
<b>Volume Relativo Es (%)</b>	<b>Veículo</b>	22,38±3,40a	22,00±0,93a
	<b>Esteróide</b>	20,29±1,86b	18,11±1,91b
<b>Volume Relativo Lu (%)</b>	<b>Veículo</b>	43,31±3,91	44,85±2,37
	<b>Esteróide</b>	45,54±3,27	42,74±3,51
<b>LOBO DORSAL</b>			
<b>Variáveis</b>	<b>Tratamento</b>	<b>Atividade</b>	
		<b>Sedentário</b>	<b>Exercício</b>
<b>Volume Relativo Ep (%)</b>	<b>Veículo</b>	28,77±3,13	25,68±4,64
	<b>Esteróide</b>	24,35±1,57	24,01±6,34
<b>Volume Relativo Es (%)</b>	<b>Veículo</b>	29,06±4,17	33,10±8,65
	<b>Esteróide</b>	26,67±2,19	27,19±9,14
<b>Volume Relativo Lu (%)</b>	<b>Veículo</b>	42,17±7,31b	41,22±6,94b
	<b>Esteróide</b>	48,98±2,96a	48,79±6,77a

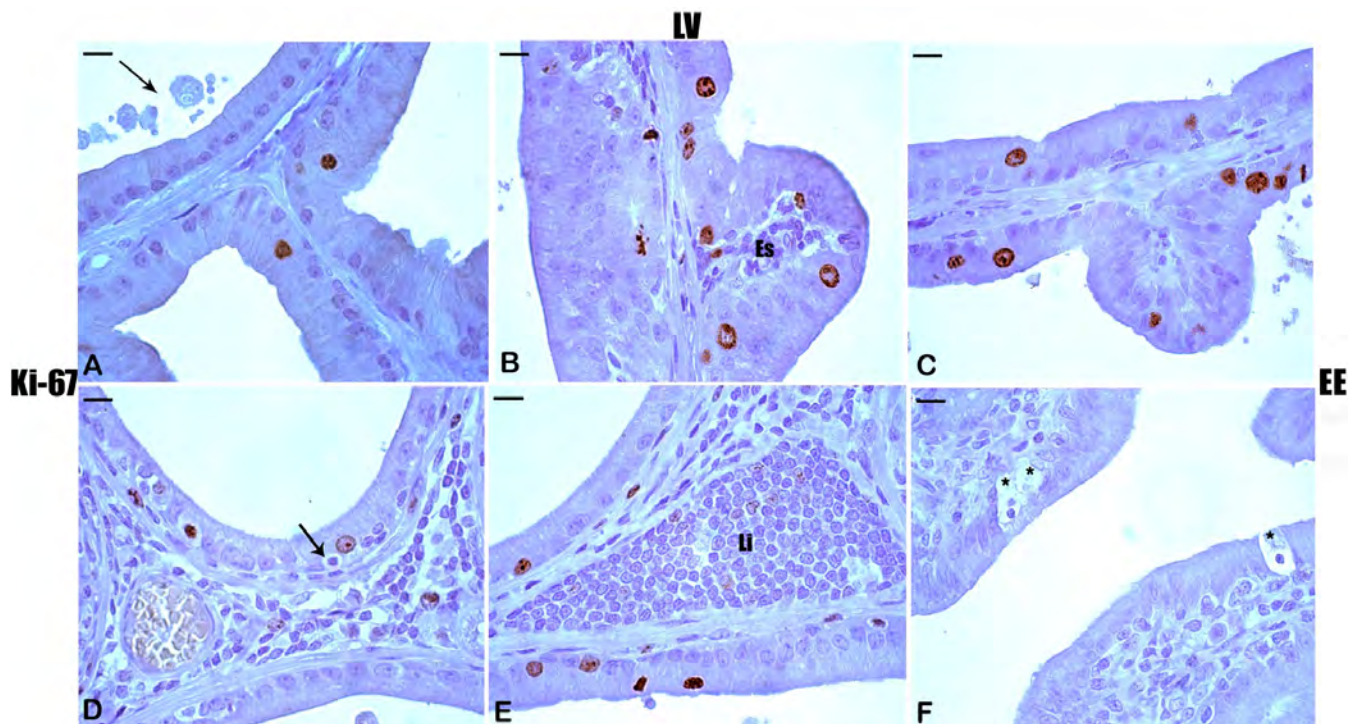
Letras minúsculas = comparação dos grupos quanto aos tratamentos; Letras maiúsculas = comparação dos grupos quanto às atividades; p<0,05.

Figura 2



**Figura 2:** Epitélio do lobo ventral da próstata (A) e (B): Grupos VS e VE respectivamente. Coloração: HE. Barra = 10  $\mu$ m. (C) e (D). Grupos ES e EE respectivamente. Coloração: TMa. (E) a (H) Imunomarcação das células Ki-67 positivas. Barra = 10  $\mu$ m. Os grupos ES (G) e EE (H) apresentaram maior população de células marcadas. (I) a (L) Imunomarcação das células p63 positivas. Barra = 10  $\mu$ m. Os grupos ES (K) e EE (L) apresentaram maior população de células basais. Observação: Detalhe da coloração marrom (marcação positiva).

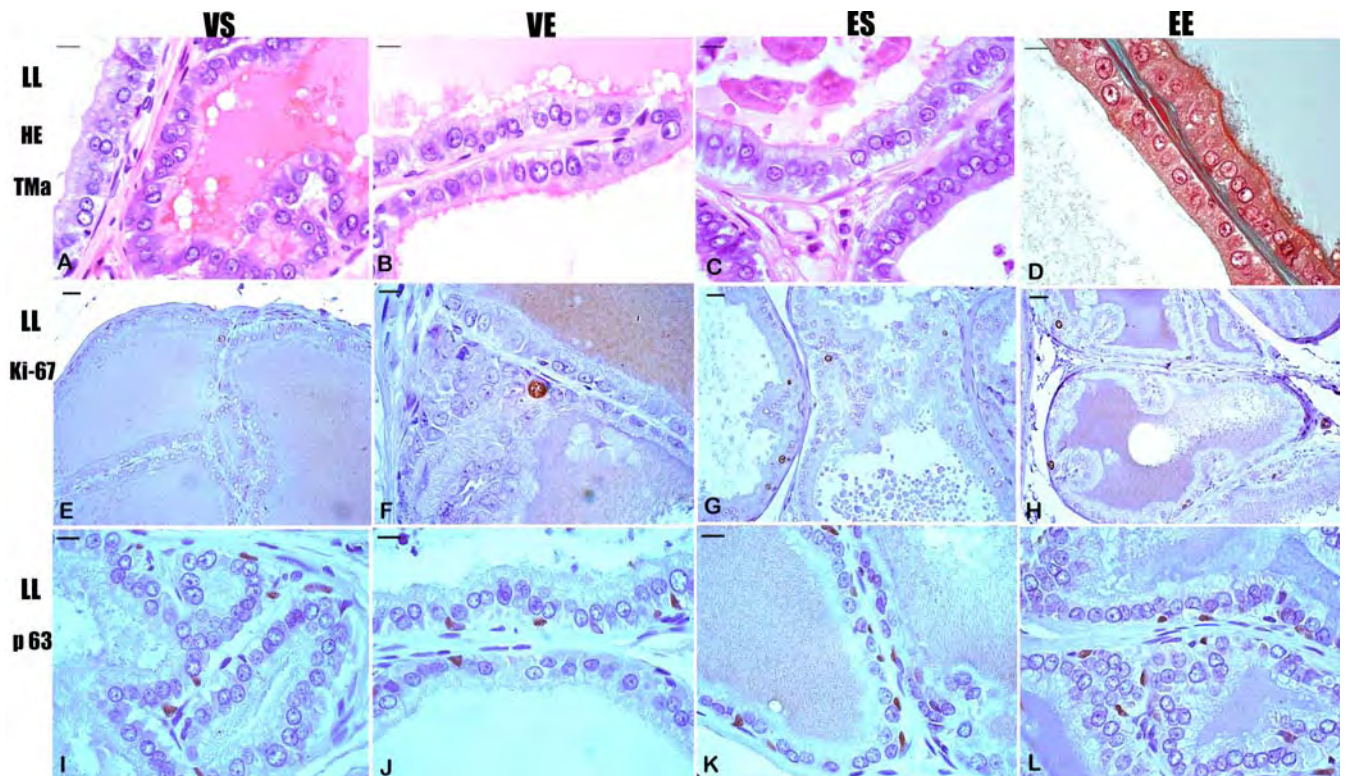
Figura 3



**Figura 3:** Epitélio do lobo ventral da próstata. (A) a (F) Grupo EE. Note os vários núcleos em proliferação celular. (A) “Restos (*debris*) celulares” no lúmen do ácino. Barra = 10  $\mu\text{m}$ . (B) Estroma projetado em direção ao compartimento epitelial (ES). Barra = 10  $\mu\text{m}$ . (C) Epitélio reativo. Alta densidade de células em proliferação celular. Barra = 10  $\mu\text{m}$ . (D) Célula em apoptose (seta). Note a densidade celular no estroma. Característica de prostatite crônica. Barra = 10  $\mu\text{m}$ . (E) Prostatite crônica. Estroma com alta densidade de linfócitos em proliferação. Observe a marcação positiva do Ki-67 nos linfócitos. Barra = 10  $\mu\text{m}$ . (F) Prostatite crônica. Células em degeneração (asterisco). Barra = 10  $\mu\text{m}$ . Observação: Detalhe da coloração marrom (marcação positiva).

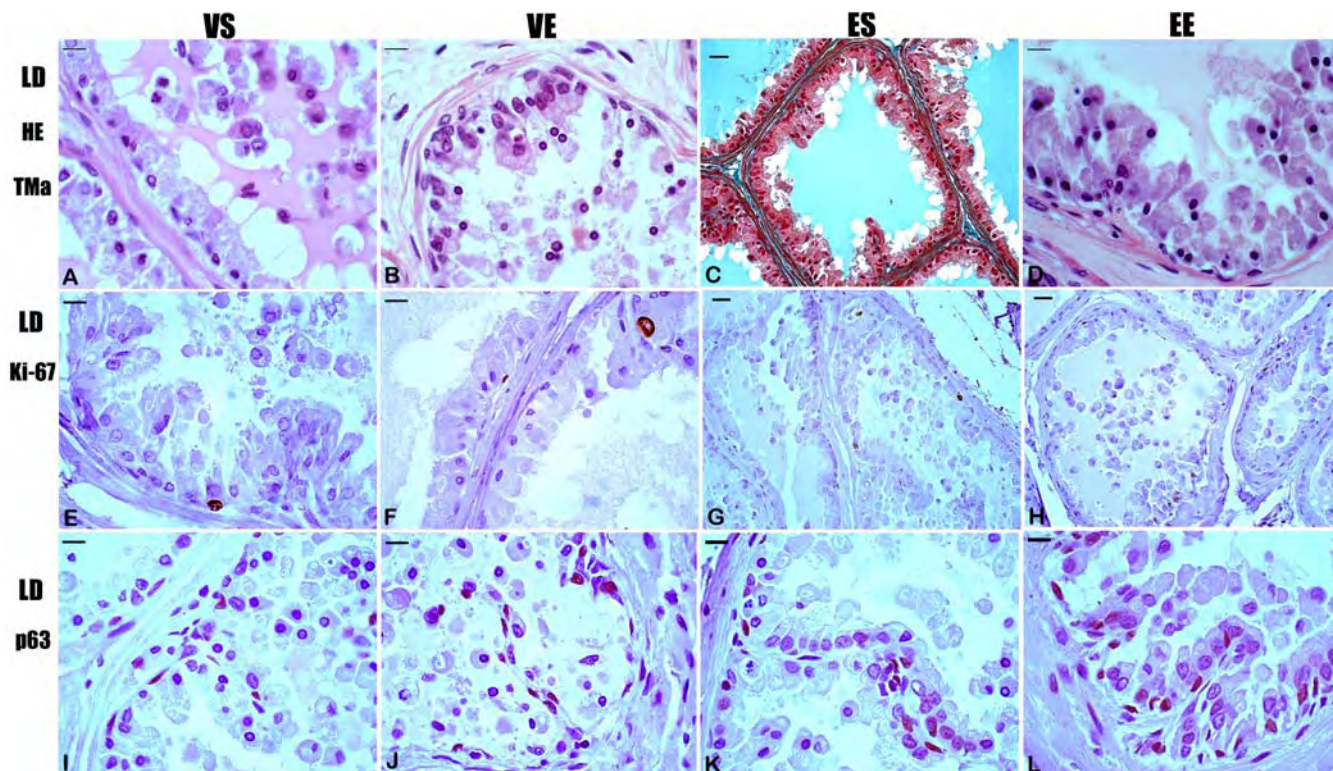


Figura 4



**Figura 4:** Epitélio do lobo lateral da próstata. (A) e (B): Grupos VS e VE respectivamente. Coloração: HE. Barra = 10  $\mu$ m. (C) e (D): Grupos ES e EE respectivamente. Colorações: HE e TMa. Barra = 10  $\mu$ m. (E) a (H) Imunomarcagem das células Ki-67 positivas. (E), (G) e (H) Barra = 20  $\mu$ m. (F) Barra = 10  $\mu$ m. Os grupos ES (G) e EE (H) apresentaram maior população de células marcadas. (I) a (L) Imunomarcagem das células p63 positivas. Note as formas celulares das células basais variando de triangular a alongada. Barra = 10  $\mu$ m. Os grupos ES (G) e EE (H) apresentaram maior população de células basais. Observação: Detalhe da coloração marrom (marcação positiva).

Figura 5



**Figura 5:** Epitélio do lobo dorsal da próstata. (A) a (B): Grupos VS e VE respectivamente. Coloração: HE. Barra = 10  $\mu$ m. (C) a (D): Grupos ES e EE respectivamente. Colorações: TMa. E HE. (C) Barra = 20  $\mu$ m e (D) Barra = 10  $\mu$ m. (E) a (H) Imunomarcção das células Ki-67 positivas. (E) e (F) Barra = 10  $\mu$ m. (G) e (H) Barra = 20  $\mu$ m. Os grupos ES (G) e EE (H) apresentaram maior população de células marcadas. (I) a (L) Imunomarcção das células p63 positivas. Barra = 10  $\mu$ m. Os grupos ES (G) e EE (H) apresentaram maior população de células basais. Observação: Detalhe da coloração marrom (marcação positiva).

### ***Discussão***

Na literatura científica especializada, observa-se relatos de estudos sobre os efeitos da administração de doses suprafarmacológicas de EAAs associados ou não a prática de exercício físico (Ferrández *et al.*, 1996; Cunha *et al.*, 2006; Karbalay-Doust & Noorafshan, 2006). Porém, encontra-se poucos registros de estudos experimentais e de avaliações epidemiológicas sobre as possíveis alterações morfofisiológicas na próstata frente ao uso abusivo de EAAs combinado ou não a prática de exercício físico.

Dessa forma, o presente trabalho relata os efeitos da administração de doses suprafisiológicas de decanoato de nandrolona, do exercício físico resistido e da interação dos efeitos sobre as massas corpórea e do lobo ventral da próstata e sobre o epitélio prostático dos lobos ventral, lateral e dorsal.

A revisão atual literatura apresenta algumas combinações de protocolos experimentais que combinam doses e modelos de aplicação dos EAAs associados ou não à prática de exercícios físicos. Neste estudo foi apresentada a proposta de protocolo que pode ser considerada representativa da administração de decanoato de nandrolona em atletas que praticam atividades físicas de resistência. Segundo Pope & Katz (1988), 5mg/Kg de decanoato de nandrolona equivale a dose abusiva administrada a atletas (8mg/Kg peso corpóreo/semana) (10 a 100 vezes maior que a dose terapêutica). No presente estudo foi utilizada uma dose aproximadamente 65 vezes maior que a indicada (Norton *et al.*, 2000).

O primeiro parâmetro avaliado no estudo foi o comportamento do ganho de massa corpórea durante o período experimental de oito semanas. Segundo a análise estatística, 70% da redução no ganho da massa corpórea dos ratos dos grupos EE e ES durante o intervalo experimental foi devido à administração do decanoato de nandrolona. Bauman *et al.*, (1988) consideraram que o aumento da massa corpórea é inibido por doses suprafisiológicas de EAA. Os possíveis mecanismos envolvidos com a redução no ganho de massa estariam relacionados

à redução da produção dos níveis normais de testosterona endógena, à excessiva conversão de testosterona em estradiol, bem como o aumento da oxidação lipídica (Hickson *et al.*, 1986, Ryan, 1981, Guzman *et al.*, 1991). Outros autores atribuem que o ganho de massa reduzido resultaria da diminuição de apetite (Hickson *et al.*, 1986), sendo o decanoato de nandrolona um dos principais EAAs supressores da ingestão de alimento (Tseng *et al.*, 1994). Por outro lado, Gentry & Wade (1976) relataram que altas doses de propionato de testosterona administradas em ratos machos castrados estimularam o aumento na ingestão de alimentos. Os ratos submetidos à realização do exercício físico (EE e VE) independente da administração de decanoato de nandrolona apresentaram menor aumento na massa corpórea em relação aos ratos sedentários.

A diferença encontrada na massa corporal entre ratos treinados ou não pode ser explicada pela intensa utilização de lipídeos durante a fase de recuperação pós-exercício (Yoshioka *et al.*, 2001) e pelo aumento do metabolismo energético basal, que gera maior gasto calórico com redução da gordura corporal (Hunter *et al.*, 1998). No presente trabalho apenas 25% da alteração da massa corporal decorreu da prática de exercício físico. Esses dados estão de acordo com os relatos de Mingotti *et al.* (2003), que ao avaliarem a massa corpórea de ratos submetidos ao estresse por exercício físico em relação aos seus controles não observaram diferença significativa nesse parâmetro. É interessante notar que apesar da redução do ganho de massa estar atribuída a relação existente entre o metabolismo lipídico com o uso decanoato de nandrolona e com a prática de exercício físico, não se observou efeito de interação entre esses fatores. Provavelmente, essa resposta encontrada possa estar envolvendo vias metabólicas distintas.

Uma das alterações significativas do tratamento com andrógenos é o potencial efeito sob a hiperplasia benigna e o câncer prostático (Froehner, *et al.*, 1999; Cook & Kepler, 2004). Karbalay-Doust & Noorafsham (2006) observaram decréscimo na massa e no volume da



próstata de ratos após 14 semanas de administração de altas doses decanoato de nandrolona. Em contraposição, Tseng *et al.* (1994) reportaram aumento nas massas da próstata e da vesícula seminal após a administração de decanoato de nandrolona em ratos hipertensivos. Takahashi *et al.*, 2004, relataram alterações hipertróficas macroscópicas e microscópicas na próstata de ratos tratados com decanoato de nandrolona e com uma associação de EAAs (acetato de metenolona, dromostanolona e decanoato de nandrolona). No presente relato, 94,45% do aumento observado na massa da próstata foi decorrente da ação androgênica do decanoato de nandrolona. O aumento da massa gerou hipertrofia macroscópica que pode ser explicada pela presença de altos níveis receptores androgênicos locais.

Os efeitos dos andrógenos sobre o crescimento e a proliferação celular na próstata de rato têm recebido considerável atenção por muitos anos (Bruchovsky *et al.*, 1975; English *et al.*; 1985; Berry & Isaacs, 1987). Sabe-se que os três lobos da próstata do rato apresentam diferenças anatômicas (Price, 1961; Price, 1963; Jesick & Holland, 1962) e bioquímicas (Wilson *et al.*, 1981, Lee *et al.*, 1985, Prins & Birch, 1992), podendo exibir respostas distintas frente a ações dos hormônios anabólico-androgênicos.

No presente trabalho, em nível microscópico, investigou-se a ação do EAAs sobre os lobos ventral, lateral e dorsal da próstata de ratos submetidos ou não a prática de exercício físico resistido. Foram avaliadas as respostas proliferativa dos epitélios, a população de células basais e os volumes do epitélio, do estroma e do lúmen dos ácinos prostáticos.

Nessa investigação foram consideradas as ações sinérgicas do esteróide decanoato de nandrolona sobre os tecidos avaliados, sobre o eixo hipotálamo-hipófise-testículo (HHT) e sobre a prática de exercício físico (Friedenreich & Thume, 2001; Dohle *et al.*, 2003).

A ação combinada da administração exógena de EAAs com o estresse decorrente do exercício físico atua no eixo HHT inibindo a secreção de FSH e LH. Embora o nível sérico de EAA esteja alto em virtude do uso do decanoato de nandrolona EAAs, essas concentrações,

segundo Dohle et al. (2003), mostram-se reduzidas para a manutenção da espermatogênese, o que acarreta hipogonadismo nos usuários com subsequente atrofia testicular.

A atividade física é considerada um fator que influencia diminuição do risco de câncer na próstata (Friedenreich & Thume, 2001). O exercício físico pode influenciar a carcinogênese na próstata pela supressão da diidrotestosterona (DHT) via inibição da enzima 5 $\alpha$ -redutase- (Brawley et al., 1994). Sabe-se que a DHT promove o desenvolvimento de células prostáticas e da hipertrofia prostática benigna e que ela possivelmente age como um fator promotor do câncer prostático (Aakvaag A, 1978).

A influência da atividade física sobre o balanço energético e a prevenção da obesidade e do ganho de peso configura como outro fator de atuação sobre o risco ao câncer, (Carroll, 1998; Bosland et al., 1999). A obesidade parece aumentar o risco de câncer na próstata (Carroll, 1998), possivelmente por diminuir os níveis de hormônio ligado a globulinas levando ao aumento de estrógenos e testosterona circulante (Siiteri, 1987).

Alterações na atividade dos macrófagos, nas células *natural killer* (NK), neutrófilos, e na regulação de citocinas, e na produção de agentes anti-oxidantes também configuram como fatores de risco importante em neoplasias também são eventos biológicos resultantes da ação do exercício físico (Marnett, 1987; Lee, 1995; Shephard & Shek, 1995., Nieman, 1997).

Os resultados das análises microscópicas mostram os efeitos da influência do decanoato de nandrolona e do exercício físico sobre os lobos prostáticos. As alterações encontradas, possivelmente, são resultantes dos diferentes níveis de expressão de receptores de andrógenos, de afinidade de ligação e de vias metabólicas locais distintas nos tecidos epitelial e estromal.

A análise do índice de células positivas para Ki-67 apresentou-se aumento significativo todos os epitélios prostáticos estudados de ratos tratados com decanoato de nandrolona. O exercício físico resistido influenciou significativamente o aumento da

proliferação celular nos epitélios dos lobos ventral e lateral independente do tratamento com decanoato de nandrolona. O exercício no grupo VE influenciou o aumento da proliferação celular em 43,50% no lobo ventral em relação ao seu controle. O grupo EE registrou o aumento na proliferação celular de 64,05% no lobo ventral em comparação ao grupo ES. No lobo lateral obteve o aumento de 85,29% da proliferação celular no grupo VE em relação ao VS. Nos indivíduos tratados com decanoato de nandrolona observou-se que o exercício físico influenciou no aumento de 83,63% na proliferação celular em relação ao grupo ES. Apesar do lobo dorsal não ter apresentado estatisticamente o aumento de células positivas para o Ki-67, os resultados indicam uma tendência de aumento na proliferação celular nos animais dos grupos VE e EE quando comparados aos seus respectivos controles.

Segundo Kyprianou et al. (1994) o desbalanceamento a favor da proliferação celular é promove o desenvolvimento da hiperplasia prostática benigna (HPB). Carson III & Ritmaster (2003) reportaram que os mecanismos patológicos e fisiológicos do surgimento da HPB não estão totalmente estabelecidos, mas evidências descrevem a importância dos hormônios esteróides, entre eles a DHT. Especificamente, estudos em humanos e em animais sugerem que o desenvolvimento da HPB acarreta a ruptura da homeostasia regulada pela DHT entre a proliferação celular e a morte celular programada (apoptose), onde o processo proliferativo predomina sobre a apoptose que é inibida. A DHT e os estrógenos circulantes atuar similarmente sobre os processos proliferativos e apoptóticos (Carson III & Ritmaster, 2003). Diante de tais discussões e baseado nas ações sinérgicas do decanoato de nandrolona em relação aos andrógenos endógenos e na excessiva conversão de testosterona em estradiol observada nos modelos experimentais tratados com EAAs (Hickson *et al.*, 1986, Ryan, 1981, Guzman *et al.*, 1991), infere-se que os aumentos registrados nos índices de proliferação celular estejam relacionados ao desenvolvimento de uma hiperplasia hormonal.

O índice de células p63 positivas aumentou significativamente nos grupos tratados com decanoato de nandrolona independente da prática do exercício físico. No lobo ventral registrou-se 69,9% de aumento significativo de células basais no grupo ES em relação ao VS, enquanto o grupo EE apresentou o aumento estatisticamente significativo de 63,4% em comparação ao grupo VE. No lobo lateral observou-se 67,8% de aumento de células basais no grupo ES em comparação ao VS e 55,3% de aumento de células basais do grupo EE em relação ao VE.

De acordo com a literatura, as células basais se caracterizam pela alta expressão de p63, de citoqueratinas 5/6 e 14, do fator anti-apoptótico Bcl2 e do receptor do fator de crescimento epidermal (EGFR) (McDonnel et al., 1992; De Marzo et al., 1998, Xue et al. 2001a). Várias linhas de evidências sugerem que as células secretoras derivem do compartimento basal. As células p63 positivas são requeridas na manutenção das linhagens celulares da próstata (Signoretti et al., 2005). Nos humanos, o de fator de crescimento epidermal (EGF) é fortemente influenciado pela DHT (Carson III & Rittmaster, 2003). Mottram & George (2000) relataram que a enzima 5 $\alpha$ -redutase converte o decanoato de nandrolona no metabólito androgênico denominado “*diidro*” *nandrolona*, o qual apresenta afinidade pelo receptor de andrógeno. Diante de tais evidências e baseado na alta expressão do EGFR nas células basais, infere-se que o aumento dos índices da população de células basais dos grupos EE e ES possa estar relacionado com o possível aumento na produção do EGF estimulado pela “*diidro*” *nandrolona*.

O estudo estereológico das proporções relativas do epitélio, do estroma e do lúmen dos lobos prostáticos dos grupos experimentais VS, VE, EE e ES apresentou respostas variadas. A hiperplasia epitelial do lobo ventral influenciada pelo tratamento com decanoato de nandrolona foi acompanhada pelo aumento do volume relativo do estroma. No lobo lateral, apenas o estroma apresentou alteração estatisticamente significativa. Houve redução do

volume estromal nos animais ES e EE quando comparados aos animais VS e VE. A influência do decanoato de nandrolona no volume relativo do lúmen foi registrada no lobo dorsal, sendo que os grupos ES e EE obtiveram maior volume do que os grupos VS e VE.

Karbalay-Coust & Noorafshan (2006), em estudo estereológico que avaliou os efeitos do decanoato de nandrolona sobre a próstata do rato, relataram a diminuição do volume total das glândulas, do epitélio, dos fluidos e dos feixes de fibras colágenas. Esses resultados, segundo os autores, são atribuídos as vias distintas de ação dos EAAs nos tecidos prostáticos. Considerando as características bioquímicas de cada lobo prostático estudado, acredita-se que a variabilidade dos resultados das proporções teciduais estudadas possa estar relacionada a algum mecanismo compensatório.

Processos inflamatórios focais característicos de prostatite aguda e crônica foram encontrados nos ratos do grupo EE. Segundo Honda et al. (1988) e Mills et al. (1989), história de prostatite pode ser considerada um fator de risco ao surgimento de câncer. A inflamação na próstata nos lobos ventral e lateral de ratos freqüentemente está associada a altos níveis de estrógenos circulantes (Stocker et al, 1999). Os processos infamatórios observados pode ter relação direta com a conversão do EAAs em estradiol pela ação da aromatase (Mottram & George, 2000).

Os resultados discutidos mostraram que o uso de doses suprafsiológicas de decanoato de nandrolona combinado ou não a prática de exercício físico resistido não foram homogêneos para os parâmetros analisados, visto que os tecidos apresentam níveis de expressão de receptores de andrógenos, afinidade de ligação e vias metabólicas de conversão do EAAs distintas. Conclui-se que houve interação dos efeitos do uso de doses suprafsiológicas de decanoato de nandrolona com a prática o exercício físico resistido. Os produtos da metabolização do decanoato de nandrolona foram determinantes no desenvolvimento da hiperplasia epitelial.

***Referências Bibliográficas***

Aakvaag A, Sand T, Opstad PK, Fonnum F. Hormonal changes in serum in young men during prolonged physical strain. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1978 Oct 20; 39(4):283-91.

Bahrke MS, Yesalis CE 3rd, Wright JE .Psychological and behavioural effects of endogenous testosterone and anabolic-androgenic steroids. An update. *Sports Med.* 1996 Dec; 22(6):367-90

Banzatto AD, Kronka SN. Experimentação agrícola. Jaboticabal: Funep, 1989. 247p. Bauman DH, Rickerson JT, Britt AL. A comparison of body and organ weights, physiologic parameters, and pathologic changes in target organs of rats given combinations of exercise, anabolic hormone, and protein supplementation. *Am J Sports Med* 1988; 4:397-402.

Berry SJ, Isaacs JT. Comparative aspects of prostatic growth and androgen metabolism with aging in the dog versus the rat, *Endocrinology.* 1984 Feb; 114(2):511-20.

Bosland MC, Oakley-Girvan I, Whittemore AS. Dietary fat, calories, and prostate cancer risk. *J Natl Cancer Inst.* 1999 Mar 17; 1(6):489-91.

Brawley OW, Ford LG, Thompson I, Perlman JA, Kramer BS. 5-Alpha-reductase inhibition and prostate cancer prevention. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1994 Mar; 3(2):177-82.

Bruchovsky N, Lesser B, Van Doorn E, Craven S. Hormonal effects on cell proliferation in rat prostate. *Vitam Horm.* 1975; 33:61-102.

Carroll KK. Obesity as a risk factor for certain types of cancer. *Lipids.* 1998 Nov; 33(11):1055-9.

Carson III C & Rittmaster R. The role of dihydrotestosterone in benign prostatic hyperplasia. *Urology*, 2003, v.61 (suppl 4A), p.1-7.

Cook CE, Kepler JA. 7 $\alpha$ , 11 $\beta$ -Dimetil-19-nortestosterone: a potent and selective androgen response modulator with prostate-sparing properties. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2004; 15: 123-16.

Cunha TS, Tanno AP, Marcondes FK, Perez SEA, Araújo HSS. A administração de nandrolona não promove hipertrofia do músculo sóleo em ratos. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2006; 50:532-40.

De Marzo AM, Meeker AK, Epstein JI, Coffey DS. Prostate stem cell compartments: expression of the cell cycle inhibitor p27Kip1 in normal, hyperplastic, and neoplastic cells. *Am J Pathol*. 1998 Sep; 153 (3):911-9.

Dohle GR, Smit M, Weber RFA. Androgens and male fertility. *World J Urol*. 2003; 21:341-45.

English HF, Drago JR, Santen RJ. Cellular response to androgen depletion and repletion in the rat ventral prostate: autoradiography and morphometric analysis. *Prostate*. 1985; 7(1):41-51.

Ferrández MD, Fuente M.de la, Fernández E. Manso R. Anabolic steroids and lymphocyte function in sedentary and exercise trained rats. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol* 1996; 59(2):225-32.

Friedenreich CM, Thune I. A review of physical activity and prostate cancer risk. *Cancer Causes Control*. 2001 Jun; 12(5):461-75.

Froehner M, Fischer R, Leike S, Hakenberg OW, Noack B, Wirth MP. Intratesticular leiomyosarcom in a young man after high dose with oral-turinabol. *Cancer* 1999; 86(8):1571-75.

Gao J, Arnold JT, Isaacs JT. Conversion from a paracrine to an autocrine mechanism of androgen-stimulated growth during malignant transformation of prostatic epithelial cells. *Cancer Res.* 2001 Jul 1; 61(13):5038-44.

Gentry RT, Wade GN. Androgenic control of food intake and body weight in male rats. *J Comp Physiol Psychol* 1976; 90(1):18-25.

Grimelius L. A silver nitrate stain for alpha 2 cells in human pancreatic islets. *Acta Societa Medica Uppsala*, v.73, p.243, 1968.

Guzmán M, Saborido A, Castro J, Molano F, Meigas. Treatment with anabolic steroids increases the activity of the mitochondrial outer carnitin palmitoyltransferase in rat liver and fast-twitch muscle. *Biochem Pharm* 1991; 41:833-5.

Harri M, Kuusela P. Anabolic steroids and training. *Clinics in Sports Medicine.* 1986, 5: 461-69.

Heer R, Robson CN, Shenton BK, Leung HY. The role of androgen in determining differentiation and regulation of androgen receptor expression in the human prostatic epithelium transient amplifying population. *Cell Physiol.* 2007 Sep; 212(3):572-8. Erratum in: *J Cell Physiol.* 2008 Apr;2 (1):283-4.

Hickson RC, Kurowski TG. Anabolic Steroids and training. *Clin Sports Med* 1986; 3:461- 9.

Honda GD, Bernstein L, Ross RK, Greenland S, Gerkins V, Henderson BE. Vasectomy, cigarette smoking, and age at first sexual intercourse as risk factors for prostate cancer in middle-aged men. *Br J Cancer.* 1988 Mar; 57(3):326-31.

Hunter GR, Weinsier RL, Bamman MM, Larson DE. A role for high intensity exercise on



energy balance and weight control. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1998; 22(6):489-93.

Jesik CJ, Holland JM, Lee C. An anatomic and histologic study of the rat prostate. *Prostate*. 1982; 3(1):81-97.

Karbalay-Doust S, Noorafshan A. Stereological study of the effects of nandrolone decanoate on the rat prostate. *Micron*. 2006; 37:617-23.

Kolasa A, Marchlewicz M, Venda-Rozewicka L, Wiszniewska, B. Morphology of the testis and the epididymis in rats with dihydrotestosterone (DHT) deficiency. *Rock. Akad. Med. Białymst*. 2004, 49: 117-9.

Kyprianou N. Apoptosis: therapeutic significance in the treatment of androgen-dependent and androgen-independent prostate cancer. *World J Urol*. 1994; 12(6):299-303

LaBree M. A review of anabolic steroids: uses and effects. *J Sports Med Phys Fitness*. 1991 Dec; 31(4):618-26. Lee IM. Exercise and physical health: cancer and immune function. *Res Q Exerc Sport*. 1995 Dec; 66 (4):286-91.

Lindqvist AS, Johansson-Steensland P, Nyberg F, Fahlke C. Anabolic androgenic steroid affects competitive behaviour, behavioural response to ethanol and brain serotonin levels. 1: *Behav Brain Res*. 2002 Jun 15; 133(1):21-9.

Maitland NJ. Exploitation of prostate gene expression to develop targeted therapies. *Acta Biomed*. 2003 Aug; 74(2):105-6.

Marnett LJ. Peroxyl free radicals: potential mediators of tumor initiation and promotion. *Carcinogenesis*. 1987 Oct; 8(10):1365-73.

McDonnell, TJ, Troncoso P, Brisbay SM, Logothetis C, Chung LW, Hsieh JT, Tu SM, *et al.* Expression of the protooncogene bcl-2 in the prostate and its association with emergence of androgen-independent prostate cancer. 1992. *Cancer Res* 52:6940-44.

Mills PK, Beeson WL, Phillips RL, Fraser GE. Dietary habits and breast cancer incidence among Seventh-day Adventists. *Cancer*. 1989 Aug 1; 64(3):582-90.

Mingotti GZ, Pereira RN, Monteiro CMR. Fertility of male adult rats submitted to forced swimming stress. *Braz J Med Biol Res* 2003; 36(5):677-681.

Mooradian AD, Morley JE, Korenman SG. Biological actions of androgens. *Endocr Rev*. 1987 Feb; 8(1):1-28.

Mottram DR, George AJ. Anabolic steroids. *Baillieres Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2000 Mar; 4(1):55-69.

Nieman DC. Exercise immunology: practical applications. *Int J Sports Med*. 1997 Mar; 18 Suppl 1:S91-100.

Niu Y, Xu Y, Zhang J, *et al.* Proliferation and differentiation of prostatic stromal cells. *BJU Int*. 2001, 87: 386-93.

Norton GR, Trifunovic B, Woodiwiss AJ. Attenuated beta-adrenoceptor-mediated cardiac contractile responses following androgenic steroid administration to sedentary rats. *Eur. J. Appl. Physiol*. 2000, 81: 310-6.

Norton GR, Trifunovic B, Woodiwiss AJ. Attenuated beta-adrenoceptor-mediated cardiac contractile responses following androgenic steroid administration to sedentary rats. *Eur. J. Appl. Physiol*. 2000, 81: 310-6.

Pope HG Jr, Katz DL. Affective and psychotic symptoms associated with anabolic use. *Arch. Gen. Psychiatry.* 1988, 145: 487-90.

Pope HG Jr, Katz DL. Affective and psychotic symptoms associated with anabolic use. *Arch. Gen. Psychiatry.* 1988, 145: 487-90.

Price D, Williams-Ashman HG. The accessory reproductive glands of mammals. In: *Sex and Internal Secretions.* Baltimore, MD: Williams and Wilkins; 1961: 366-448.

Price D. Comparative aspects of development and structure in the prostate. In: Vollmer EP (ed.), *NCI Monograph: Biology of the Prostate and Related Tissues.* Bethesda, MD: U.S. Government Printing Office, 1963:1-27

Prins GS, Birch L. Immunocytochemical analysis of androgen receptor along the ducts of the separate rat prostate lobes after androgen withdrawal and replacement. *Endocrinology.* 1993 Jan; 132(1):169-78.

Ryan AJ. Anabolic Steroids are fool's gold. *Federation Proceedings* 1981; 12: 2682-8.

Shephard RJ, Shek PN. Heavy exercise, nutrition and immune function: is there a connection? *Int J Sports Med.* 1995 Nov; 16(8):491-7.

Signoretti S, Pires MM, Lindauer M, Horner JW, Grisanzio C, Dhar S, Majumder P, McKeon F, Kantoff PW, Sellers WR, Loda M. p63 regulates commitment to the prostate cell lineage. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005 Aug 9; 102(32):11355-60. Epub 2005 Jul 28. Siiteri PK, Adipose tissue as a source of hormones. *Am J Clin Nutr.* 1987 Jan; 45(1 Suppl):277-82.

Sprando, R. L. Perfusion of the rat testis through the heart using heparin. In: RUSSELL, L. D. ETTLIN, R. A. HIKKIM, A. P. S. CLEGG, E. D. *Histological and histopathological evaluation of the testis.* Clearwater: Cache River, 1990. p. 277-80.

Stoker TE, Robinette CL, Cooper RL. Perinatal exposure to estrogenic compounds and the subsequent effects on the prostate of the adult rat: evaluation of inflammation in the ventral and lateral lobes. *Reprod Toxicol.* 1999 Nov-Dec; 13(6): 463-72.

Sugimura Y, Cunha GR, Donjacour AA. Morphogenesis of ductal networks in the mouse prostate. *Biol Reprod.* 1986 Jun; 34(5):961-71.

Takahashi M, Tatsugi Y, Kohno T. Endocrinological and pathological effects of anabolicandrogenic steroids in male rats. *Endocrine Journal.* 2004; 51:425-34.

Tseng YT, Rockhold RW, Hoskins B, Ho IK. Cardiovascular toxicities of nandrolone and cocaine in spontaneously hipertensive rats. *Fundamental and Applied Toxicology* 1994; 22:113-21.

Weibel E R. Principles and methods for the morphometric study of the lung and other organs. *Laboratory Investigation*, 1978; 12:131-55.

Wood RI. Anabolic-androgenic steroid dependence? Insights from animals and humans. *Front Neuroendocrinol.* 2008 Oct; 29(4):490-506. Epub 2008 Jan 3.

Xue Y, Smedts F, Ruijter ET, Debruyne FM, de la Rosette JJ, Schalken JA. Branching activity in the human prostate: a closer look at the structure of small glandular buds. *Eur Urol.* 2001 Feb; 9(2):222-31.

Yoshioka M, Doucet E, St-Pierre S, Almerás N, Richard D, Labrie A, Després JP, Bouchard C, Tremblay A. Impact of high-intensity exercise on energy expenditure, lipid oxidation and body fatness. *International Journal of Obesity* 2001; 5:332-39.

***Patricia Fernanda Felipe Pinheiro***

*Profa. Assist. Dra. do Depto. de Anatomia – IBB/UNESP – [pinheiro@ibb.unesp.br](mailto:pinheiro@ibb.unesp.br)*

***Caroline Guedes Corrêa de Toledo***

*Estagiária de Iniciação Científica do Depto. de Anatomia – IBB/UNESP – [cathatoledo@hotmail.com](mailto:cathatoledo@hotmail.com)*