

**Exercícios resistidos e uso de decanoato de nandrolona e a alteração do epidídimo de ratos adultos e idosos****Resistance training and the use of nandrolone decanoate change epididymis in adult and aged rats**

DOI:10.34117/bjdv6n10-274

Recebimento dos originais: 13/09/2020

Aceitação para publicação: 14/10/2020

**Lana Brandl**

Mestre

Instituição: Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE)

Endereço: Rua Alagoas, n.519. Marechal Candido Rondon, Paraná, Brasil.

E-mail: lana\_bran@yahoo.com.br

**Celia C L Beu**

Doutora

Instituição: Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE)

Endereço: R. Universitária, 1619 – Universitário. Cascavel, Paraná, Brasil.

E-mail: celiabeu@yahoo.com

**Raquel Fantin Domeniconi**

Doutora

Instituição: Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus Botucatu.

Endereço: Rua Prof. Dr. Antônio Celso Wagner Zanin, n. 250 – Botucatu, São Paulo, Brasil.

E-mail: rdomeniconi@ibb.unesp.br

**Talita M Santos**

Doutora

Instituição: Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus Botucatu.

Endereço: Rua Prof. Dr. Antônio Celso Wagner Zanin, n. 250 – Botucatu, São Paulo, Brasil

E-mail: talita\_mellosantos@yahoo.com.br

**Suellen Ribeiro da Silva Scarton**

Mestre

Instituição: Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus Botucatu.

Endereço: Rua Prof. Dr. Antônio Celso Wagner Zanin, n. 250 – Botucatu, São Paulo, Brasil

**RESUMO**

**Introdução:** O sistema genital masculino é alvo de estudos por ser sensível a mudanças na concentração de androgênios, e esses são alterados em algumas situações como: exercício, uso de anabolizantes (EAAs) e o envelhecimento. Um dos órgãos androgênio-dependentes é o epidídimo. **Objetivo:** Verificar se o tratamento com EAAs associado ou não a exercício físico, em ratos Sprague-Dawley altera a morfologia e morfometria do Epidídimo em ratos adultos e seus efeitos crônicos em idosos. **Métodos:** Foram analisados epidídimos de 56 ratos Sprague-Dawley, virgens, com 13 semanas de vida ao início do experimento, separados em oito grupos com sete animais cada: GC - adultos e sedentários; GCi - idosos e sedentários; GN - adultos, sedentários, tratados com EAA; GNi - idosos, sedentários, tratados com EAA; GE - adultos tratados com exercício; GEi - idosos tratados com exercício; GNE - adultos, exercício e tratamento com EAA; GNEi - idosos, exercício e tratamento com EAA. Os animais adultos foram eutanasiados com 150 dias, os idosos, 330 dias. O treinamento realizado foi através de saltos na água, com sobrecarga. A administração de EAAs ocorreu pela aplicação intramuscular de Decanoato de Nandrolona (10 mg/kg/semana). Amostras epididimárias passaram pela rotina histológica de hematoxilina e eosina para análise morfológica e morfométrica. **Resultados:** O GE apresentou diâmetro de ducto menor quando comparados ao controle, já o GN e GNE, tiveram diâmetro de ducto e a altura epitelial aumentados comparando-os com o controle, sendo estas alterações principalmente nos segmentos mais iniciais do epidídimo. Já os grupos idosos tenderam a retornar a normalidade, a não ser na cauda, do GNEi. Também foram encontrados indícios inflamatórios no tecido dos grupos experimentais (GN, GE, GNE e GCi) e ainda, debris de células da linhagem germinativa no interior do lúmen de GN e GNEi. **Conclusão:** Tanto o tratamento na fase adulta com exercício, quanto à utilização de EAAs altera parâmetros morfométricos e morfológicos do epidídimo, e seu efeito crônico pode ser diminuído com a idade.

**Palavras-chave:** Morfologia, ductos espermáticos, esteroides androgênicos anabolizantes, exercício físico, idade.

**ABSTRACT**

**Introduction:** The male reproductive system is subject of studies to be sensitive to changes in androgens concentration, and these are changed in some situations such as exercise, use of anabolic steroids (AAS) and age. One of androgen-dependent organs is the epididymis. **Objective:** To determine if the treatment with AAS associated or not to exercise, in Sprague-Dawley rats alters the morphology of the epididymis in adult rats and its chronic effects in the elderly. **Methods:** It was analyze epididymis of 56 Sprague-Dawley rats, virgins, with 13 weeks old; they were divided into eight groups with seven animals each: GC - adults and sedentary; GCi - elderly and sedentary; GN - adults, sedentary treated with AAS; GNi - elderly, sedentary treated with AAS; GE - adults treated with exercise; GEi - elderly treated with exercise; GNE - adults, exercise and treatment with AAS; GNEi - elderly, exercise and treatment with AAS. The training was conducted by jumping in the water with overload. The AAS administration occurred by intramuscular injection of nandrolone decanoate (10 mg/kg/week). Epididymal samples passed by histological routine of hematoxylin and eosin for morphological and morphometric analysis. **Results:** The duct diameters was lower when compared GE to other groups, and GN and GNE, had diameter and epithelial height increased compared to GC. The aged groups tended to return to normal. There was also inflammatory signs in the tissue of the experimental groups (GN, GE, GNE and GCI).

**Keywords:** morphology, spermatic ducts, anabolic androgenic steroids, exercise, age.

**1 INTRODUÇÃO**

Existem queixas de inadequação e insatisfação com a beleza nos dias atuais e a busca por ela - impositiva e padronizada - também é constante, principalmente quando associada ao envelhecimento (Veiga, 2006). O ideal de beleza, principalmente para os homens, são músculos bem aparentes e hipertrofiados. Para essa finalidade, os exercícios mais utilizados são os resistidos, os quais podem ser realizados com o peso do próprio corpo, com sobrecarga externa (como os aparelhos e pesos na academia) ou até mesmo em meio aquático, onde se utiliza da força de arrasto ou a resistência da água ao movimento para criar a sobrecarga (Conley; Rozenek, 2001; Handelsman, 2006), sendo esse último muito utilizado em pesquisas experimentais já que é de fácil realização e efetivo para essa finalidade (Gaffuri et al., 2011; Kunz et al., 2013; Melo et al., 2015).

Muitas vezes, a busca por resultados rápidos de hipertrofia muscular, ou o biótipo inadequado, fazem o indivíduo recorrer ao uso de Esteroides Androgênicos Anabolizantes (EAAs). Estes são derivados sintéticos da testosterona e, embora possam ser usados em tratamentos de deficiências androgênicas, seu uso de forma não terapêutica tem aumentado em todos os países do mundo, tais como Estados Unidos (utilizado por 4 a 6% de estudantes do sexo masculino do ensino médio) e Brasil (9 a 19% em academias no Brasil, e em 67% em atletas de elite dos sexos masculino e feminino) (Araújo et al., 2002; Boyce, 2003; Evans, 2004; Manna et al., 2004; Silva; Moreau, 2003, Silva et al., 2007).

Essas situações, exercício resistido e EAAs, combinadas ou não, bem como estados fisiológicos, como o envelhecimento, influenciam as concentrações de androgênios como a testosterona e afetam diretamente os órgãos do sistema genital masculino, que são androgênio-dependentes, podendo influenciar na fertilidade masculina (Handelsman, 2006; Manna et al., 2004; Melnik et al., 2007).

Um dos órgãos androgênio-dependentes e essencial para a reprodução é o epidídimo, caracterizado por ser um tubo único, altamente enovelado e dividido em quatro partes: segmento inicial, cabeça, corpo e cauda (Benoit, 1926). É um órgão importante por ter as funções de proteção, manutenção, armazenamento, maturação e capacitação dos espermatozoides, assim possibilita que estes gametas adquiram motilidade e capacidade potencial de fertilizar oócitos (Serre; Robaire, 1998; Setchell; Breed, 2006).

O epitélio epididimário é pseudoestratificado, estereociliado, composto por células: principais, delgadas, apicais, basais, halo (linfócitos intraepiteliais) e claras, e suas distribuições são espécie-específicas (Setchell; Breed, 2006) e segmento-específicas podendo estar presentes em uma

região (segmento inicial: células apicais e delgadas), várias regiões (cabeça, corpo e cauda: células claras), ou de todas as regiões (células principais, halo e basais) (Robaire et al., 2006).

Assim, sabendo da importância do epidídimo para a fertilidade, e que ele pode ser afetado pelo exercício, EAAs e a idade, o presente estudo foi realizado e investigou, ineditamente, os efeitos da interação entre o uso abusivo de um EAA associado ou não à prática de exercício físico, na morfologia do epidídimo de ratos adultos e seus efeitos crônicos em ratos idosos. Neste sentido, o objetivo deste estudo foi: Verificar se o tratamento com EAAs e com exercício físico em meio aquático, em ratos Sprague-Dawley, altera a morfologia do epidídimo na fase adulta e se há efeitos crônicos com o envelhecimento.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 56 ratos Sprague-Dawley, virgens e com 13 semanas de idade. Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas com um animal por gaiola, alimentados com ração para ratos Nuvilab® (Nuvital, Colombo, PR, Brasil) e água *ad libitum*, e sob condições adequadas de luminosidade (ciclo claro/escuro 12 horas) e temperatura (23 à 25°C).

### 2.1 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os animais foram divididos em oito grupos, sendo: Grupo Controle (GC), Grupo Nandrolona (GN), Grupo exercício (GE), Grupo Nandrolona/Exercício (GNE), Grupo Controle idoso (GCi), Grupo Nandrolona idoso (GNi), Grupo Exercício idoso (GEi), Grupo Nandrolona/Exercício idoso (GNEi). Cada grupo tinha sete animais, número baseado em pesquisas recentes previamente realizadas (Foletto et.al., 2010; Martinez, 2013; Oda; El-Ashmawy, 2012). Os animais adultos foram eutanasiados por decapitação aos 150 dias de idade e idosos, aos 330 dias.

Somente na fase adulta (a partir dos 91 dias até 150 dias de idade), os animais foram tratados com EAAS (GN, GNi, GNE, GNEi) e submetidos a exercícios físicos (GE, GEi, GNE e GNEi) (Tabela 1).

Tabela 1: Esquematização da separação dos grupos experimentais

| GRUPO | Fase da vida | Exercício Físico | Tratamento com EAA | Número de ratos |
|-------|--------------|------------------|--------------------|-----------------|
| GC    | Adulto       | Sedentário       | Não                | 7               |
| GCI   | Idoso        | Sedentário       | Não                | 7               |
| GN    | Adulto       | Sedentário       | Sim                | 7               |
| GNi   | Idoso        | Sedentário       | Sim                | 7               |
| GE    | Adulto       | Exercício        | Não                | 7               |
| GEi   | Idoso        | Exercício        | Não                | 7               |
| GNE   | Adulto       | Exercício        | Sim                | 7               |
| GNEi  | Idoso        | Exercício        | Sim                | 7               |

Fonte: autores

## 2.2 APLICAÇÃO DO EAA

A administração de Decanoato de Nandrolona (Deca Durabolin®, Schering-Plough, Campinas, SP, Brasil) foi realizada na fase adulta, por injeções intramusculares (10 mg/kg/semana) conforme protocolo realizado por Shokri et al. (2009), sendo aplicadas doses de cinco mg/Kg de peso corpóreo, duas vezes por semana, ao longo de oito semanas, a partir do momento que atingiram 13 semanas de idade. O restante dos grupos recebeu uma injeção intramuscular de substância placebo (0,2 mL/Kg peso corpóreo de propilenoglicol).

## 2.3 TREINAMENTO FÍSICO RESISTIDO ATRAVÉS DE SALTOS EM MEIO AQUÁTICO

Os animais dos grupos (GE, GEi, GNE e GNEi) foram submetidos a sessões de saltos em cilindro (38 cm de profundidade) de PVC, colocado dentro de um tanque contendo água a 30°C (Harri; Kuusela, 1986). Neste protocolo, coletes de velcro com pesos foram acoplados ao tórax dos animais para provocar submersão e estimular impulsão dos mesmos à superfície; cada impulso foi contabilizado como um salto. A adaptação foi realizada por cinco dias antes de iniciar o período de exercício propriamente dito; na adaptação foram realizadas duas séries de cincosaltos, as quais foram aumentadas progressivamente, até atingirem quatro séries com 10 saltos (Tabela 2).

O treinamento físico, juntamente com o período de adaptação, teve duração de oito semanas consecutivas. As sessões de saltos foram realizadas três dias por semana, entre 13:00 h e 15:00 h. Em cada sessão, eram feitas quatro séries de dez saltos cada (40 saltos), com aumento progressivo de peso (de 50% a 70% do peso corporal, Tabela 2). Entre as séries foram feitos intervalos de 60 segundos, durante os quais o animal era retirado da água e mantido em repouso.

Tabela 2: Aumento da sobrecarga conforme dias de treinamento na água

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

Fonte: autores

Os animais dos grupos sedentários, também tiveram contato com a água, a 30°C em local raso, sem fazer esforço físico e ficaram o mesmo período que os grupos que fizeram treinamento.

## 2.4 PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO

Os animais adultos foram eutanasiados 48 horas após a última sessão de saltos (150 dias); os idosos, 180 dias após os adultos. Os animais foram dessensibilizados em câmara de CO<sub>2</sub> e depois guilhotinados. Os epidídimos foram retirados, reduzidos e destinados à rotina histológica. Para isso, as amostras foram pré-fixadas em Bouin, o qual foi constantemente gotejado sobre os tecidos. Após a pré-fixação, os fragmentos de tecidos foram imersos em formalina 10% por 24 horas, lavados em álcool 70%, desidratados, diafanizados, embebidos em paraplástico (Paraplast Plus, ST. Louis, MO, USA), para posteriormente serem seccionados a 4 µm de espessura para confecção das lâminas histológicas.

As secções histológicas, foram submetidas ao protocolo de coloração por hematoxilina-eosina e analisadas quanto à integralidade epitelial e intersticial, assim como quanto a sua morfometria. As lâminas foram examinadas em microscópio *Primo Star Zeiss*® (Zeiss, Oberkochen, Alemanha) e fotodocumentadas em microscópio *Olympus BX60*® (Olympus Corporation, Tokyo, Japão).

As análises morfométricas (n = 3 cada grupo) (Serre; Robaire, 1998) foram realizadas para avaliação da altura epitelial e diâmetro luminal, nesses casos, foram mensuradas pelo menos 20 secções de túbulo/animal/região. Todos esses parâmetros foram mensurados através do programa *ImageProPlus 6.0*®.

## 2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os valores obtidos, em todos os casos, passaram pelos testes de *Shapiro wilk* e teste de homogeneidade de variâncias (teste F). Para os valores normais e paramétricos, foi utilizado o teste

*T student* para comparação entre os grupos. Para dados que não seguiram a normalidade, o teste comparativo entre grupos foi o de *Willcoxon*. Nos animais adultos, todos os grupos foram comparados com o controle adulto. Nos grupos idosos, o teste foi aplicado para cada grupo comparando-o com o grupo adulto relacionado (GCi com GC, GNi com GN, GEi com GE e GNEi com GNE). As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando  $p < 0,05$ . A análise foi feita através do programa R i386 versão 3.1.0 (R Core Team, 2015).

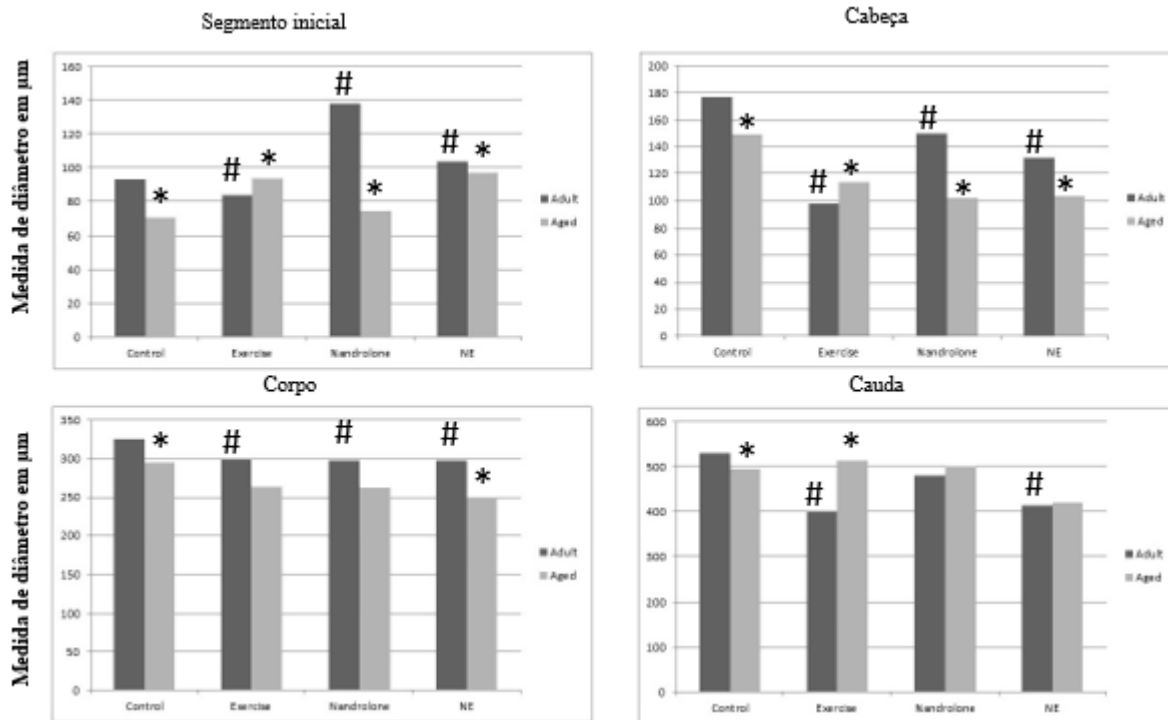
### 3 RESULTADOS

Os resultados das análises morfológicas e morfométricas mostraram que ocorreram mudanças significativas, em pelo menos uma das regiões do epidídimo, nos animais de todos os grupos estudados.

O diâmetro do ducto epididimário dos animais adultos sofreu alterações em todos os tratamentos (GE, GN, GNE) (FIGURA 1). No exercício, observou-se diminuição do diâmetro de ducto em todas as regiões (segmento inicial, cabeça, corpo e cauda) (FIGURA 1, 3B e 3E). Entretanto o tratamento com Nandrolona e Nandrolona/exercício, aumentou o diâmetro de ducto apenas no segmento inicial (FIGURA 1).

Nos grupos idosos (GCi, GNi, GNEi), ocorreu diminuição do diâmetro luminal (FIGURA 1 e 4B), exceto no exercício, no qual houve aumento dessa variável no segmento inicial (FIGURA 3F), cabeça e cauda do epidídimo (FIGURA 1).

Figura 1: Comparação do diâmetro de ducto epididimário dos grupos adultos e idosos. \*  $p < 0.05$ : comparando grupo idoso com o grupo adulto de mesma variável. #  $p < 0.05$ : comparando os grupos adultos experimentais com o controle.

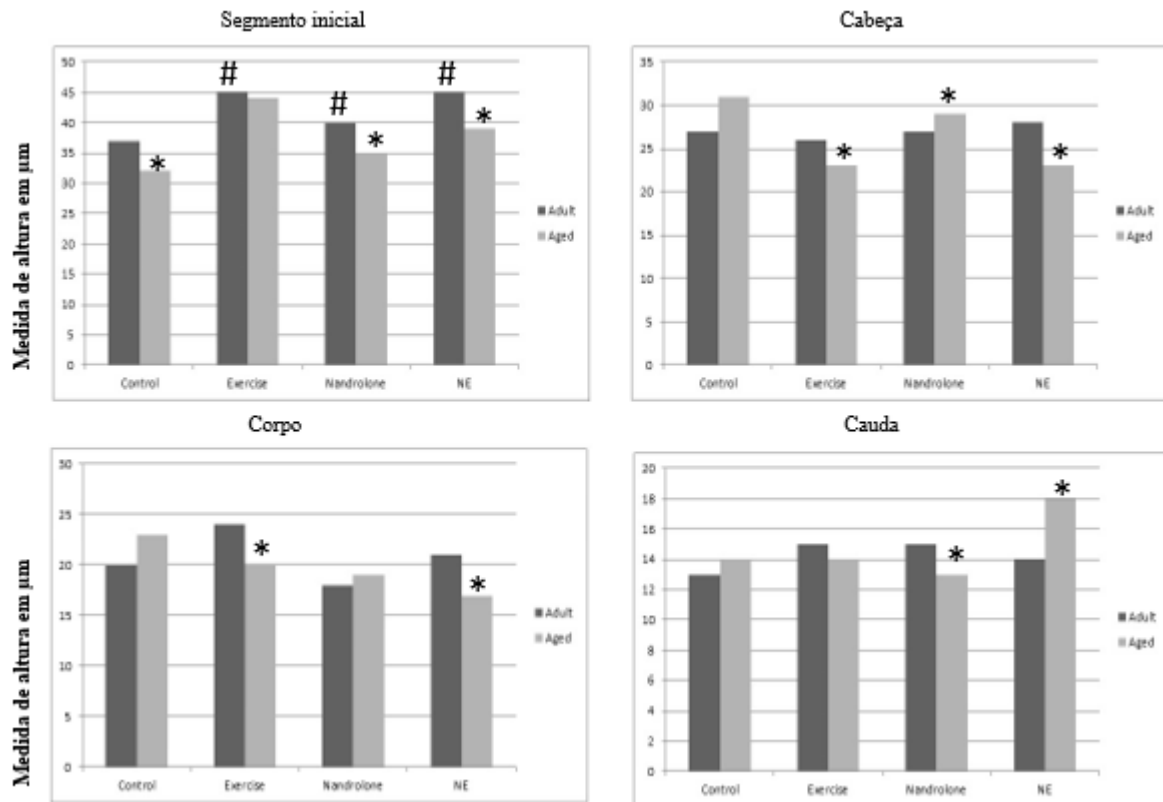


Fonte: Autores

Os resultados das análises de altura epitelial, nos grupos adultos, mostraram que houve aumento da altura do epitélio do segmento inicial nos animais do GE, GN e GNE (FIGURA 2, FIGURA 3). Nos animais idosos (GCi, GEi, GNi, GNEi), na maioria das análises houve diminuição da altura epitelial, em relação ao grupo adulto de mesma variável, porém a altura do epitélio aumentou na cauda do grupo GNEi (FIGURA 2). Os animais adultos tratados com nandrolona (GN) tiveram aumento do diâmetro e da altura epitelial concomitantemente (FIGURAS 1 e 2).



Figura 2: Comparação da altura epithelial nos grupos adultos e idosos. \*  $p < 0.05$ : comparando grupo idoso com o grupo adulto de mesma variável. #  $p < 0.05$ : comparando os grupos adultos experimentais com o controle.



Nas figuras 3D (GNE) e 4C (GN) e 4D (GNi) pode-se observar, indicadas com setas, células halo, consideradas linfócitos intra-epiteliais. Essas células estão em maior quantidade nesses grupos, que é indicativo de atividade inflamatória.

Foram observadas alterações morfológicas também em GN e GNEi quanto a presença de debris celulares no lúmen dos segmentos proximais do epidídimo. Esses corpos celulares indicam que células da linhagem germinativa foram desprendidas do epitélio seminífero. Pode-se observar na figura 5A (Grupo Nandrolona), onde na cabeça do epidídimo estão indicados os debris celulares, assim como em GNEi (Figura 5B).

Figura 3: Fotomicrografia das secções transversais do segmento inicial do epidídimo dos animais dos grupos controle – GC (A, C), exercício – GE (B, E), nandrolona/exercício – GNE (D), exercício/idoso – GEi (F). Notar: Aumento da altura eptelial no segmento inicial em GNE (D) comparado com GC (C) e o aumento de diâmetro em GEi (F) comparado com GE (E). São indicados: Segmento inicial (SI), cabeça do epidídimo (CB), células halo (→), considerados linfócitos epiteliais, indicativa de atividade inflamatória; altura eptelial (↔); diâmetro do ducto ({}), lúmen (Lu); interstício (i). Coloração de Hematoxilina e Eosima.

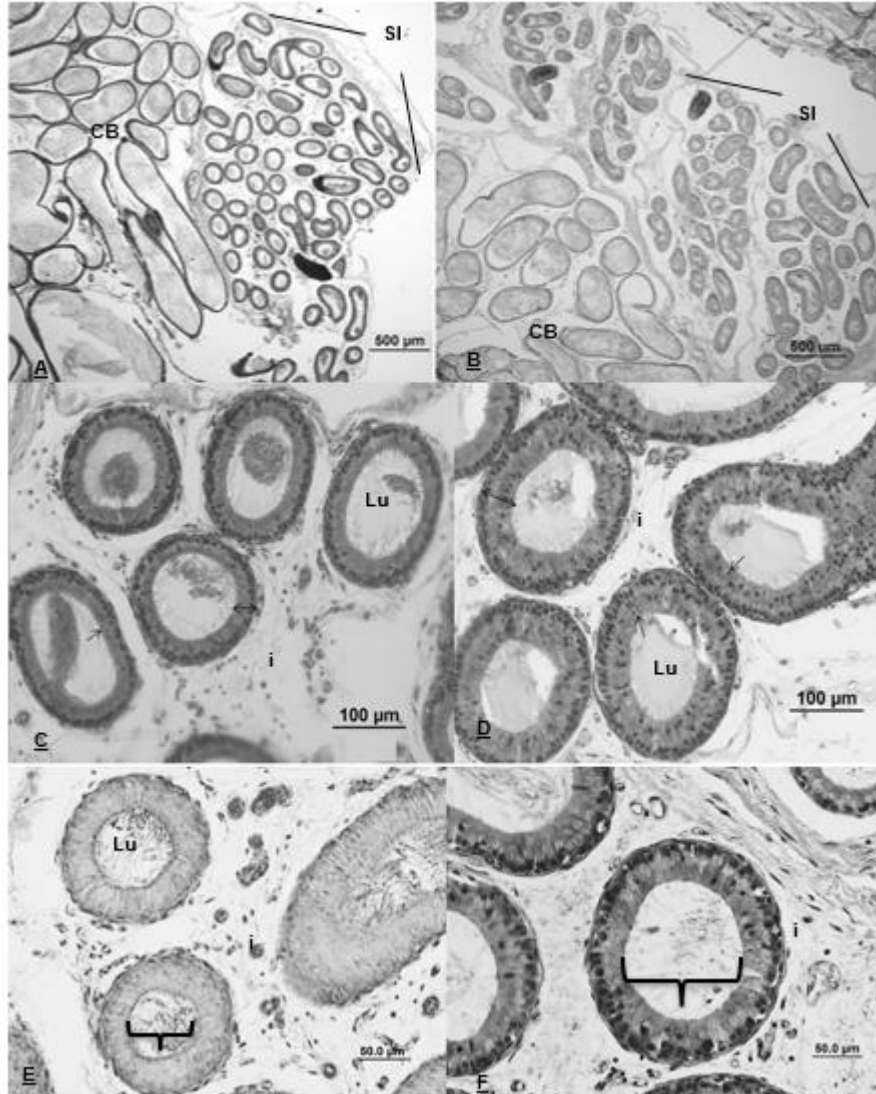
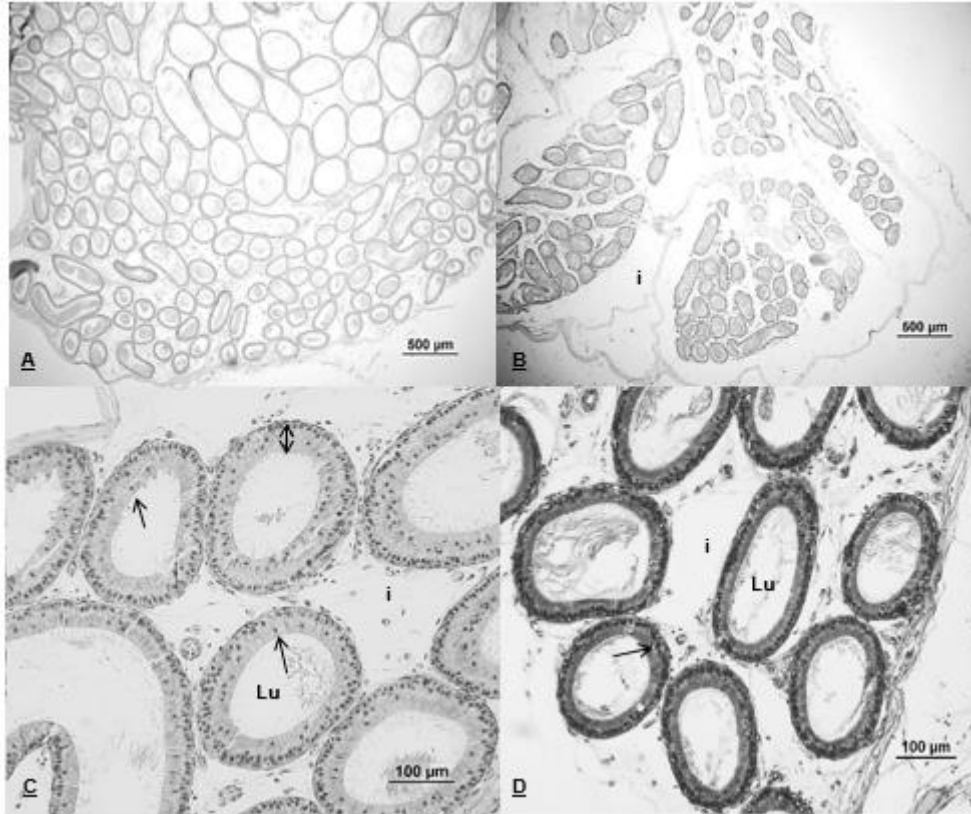
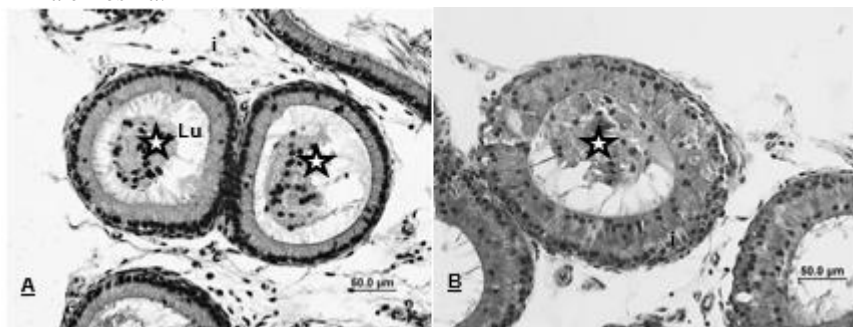


Figura 4: Fotomicrografia de secções transversais do epidídimo de ratos Sprague-Dawley, mostrando segmento inicial, cabeça e parte proximal do corpo do Grupo Controle - GC (A) em comparação a Grupo Controle idoso - GCi (B), onde nota-se involução do epitélio. E em detalhe, segmento inicial do Grupo Nandrolona - GN (C) e Grupo Nandrolona idoso - GNi (D), onde há aumento da altura epitelial em C, e a diminuição, aproximando-se do normal em D. São indicadas células halo (→), consideradas linfócitos intraepiteliais, indicativa de atividade inflamatória; Lúmen (Lu); interstício(i). Coloração de Hematoxilina e Eosina.



Fonte: Autores

Figure 5: Fotomicrografias de secções transversais da cabeça do epidídimo do animal de Grupo Nandrolona - GN (A) e segmento inicial do Grupo Nandrolona/exercício idoso - GNEi (B). São indicados: Debris de células da linhagem germinativa (estrela) no GN e GNEi; Lúmen (Lu); interstício (i); coloração Hematoxilina e Eosina.

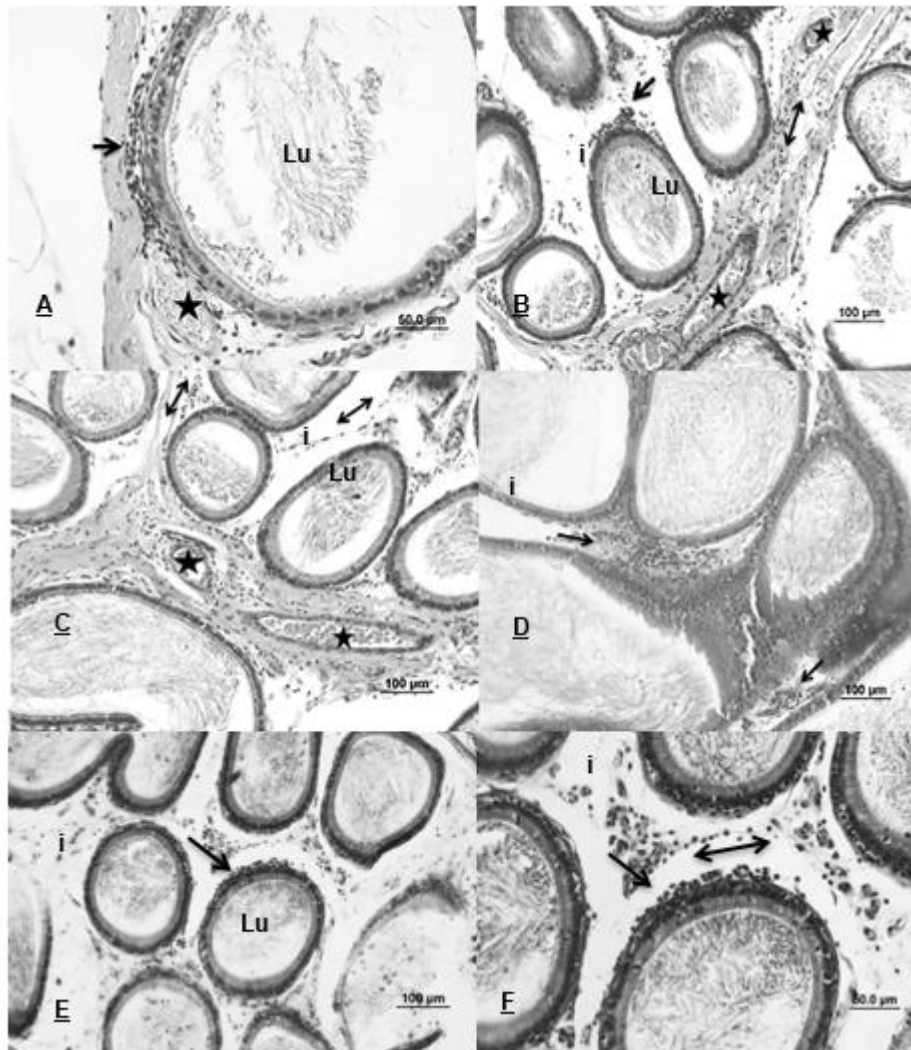


Fonte: Autores

Infiltrados intersticiais em GN e GNE, GE e GCi (Figura 6), também indicam atividade inflamatória no interstício. Além dos conjuntos leucocitários, pode-se observar um padrão de

movimentação dessas células, que formam “trilhas” a partir dos vasos sanguíneos em direção ao epitélio, indicadas com setas duplas nas figuras 6B, 6C e 6F.

Figura 6. Fotomicrografia, corte transversal de epidídimo de rato Sprague-Dawley dos grupos: Grupo Nandrolona - GN (A) cabeça transição com corpo, Grupo Nandrolona/Exercício - GNE (em B e C) cabeça e corpo, Grupo Exercício - GE (em D) corpo e Grupo Controle idoso - GCi (E e no detalhe, F) cabeça. São indicados: vasos sanguíneos (estrelas); infiltrações linfocitárias focais (→); padrão de movimento de migração dos linfócitos (↔), Lúmen (Lu), interstício (i), coloração de Hematoxilina e Eosina.



Fonte: Autores



**4 DISCUSSÃO**

O diâmetro do ducto e a altura epitelial têm sido utilizados como parâmetros de análises morfométricas para estudo do epitélio epididimário em diversas pesquisas, pois podem indicar a involução ou integridade do mesmo e o aumento ou diminuição do fluido luminal (mudanças hidrodinâmicas) (Fawcett; Hoffer, 1979; Ferreira, 2013; Setchell; Breed, 2006; Smithwick; Young, 2001).

Os achados desse estudo mostram que todos os tratamentos (exercício, nandrolona, exercício/nandrolona) causaram efeitos nas dimensões morfométricas e na morfologia do epitélio do epidídimo de ratos adultos e idosos. Nos grupos idosos, principalmente no segmento inicial, a diminuição da altura epitelial em relação ao grupo adulto homólogo pode ser atribuída à redução da concentração de androgênios que pode ocorrer nessa fase. Serre; Robaire (1998) mostraram redução do epitélio epididimário com o aumento da idade, de maneira mais acentuada em ratos do grupo mais idoso, e associaram esta alteração à diminuição da concentração de androgênios endógenos.

Pôde-se observar que os grupos idosos, do presente estudo, tendem a ter níveis morfométricos normais (GC) quando comparados aos seus grupos adultos (com variável comum) (FIGURAS 1 e 2). Estes resultados são concordantes com aqueles apresentados por Melo et al. (2015), a partir de estudo, realizado com os mesmos animais, e mesmas condições, cujo órgão-alvo foi a próstata.

Além da diminuição de androgênios, também pôde-se relacionar o aumento do *stress* oxidativo com o avanço da idade, na qual as células se encontram num estado crônico dessa condição, como consequência do desequilíbrio entre os pró-oxidantes e o sistema de defesa antioxidante (Muller et al., 2007). O que também pode ser a explicação das mudanças estruturais ocorridas no GEi com relação à diminuição da altura epitelial na cabeça e corpo em comparação com GE, no qual, a somatória de fatores (diminuição de testosterona endógena e *stress* oxidativo relacionado à idade e os mesmos fatores relacionados ao exercício) podem ter causado essas alterações (Kalani et al., 2006).

Os efeitos de exercícios sobre os processos reprodutivos não são conclusivos, pois há divergências na literatura, sem fazer abordagem à morfologia do epitélio epididimário (Fawcett, Hoffer, 1979; Kalani et al., 2006; Zhao et al., 2013). Alguns estudos experimentais mostram os benefícios do exercício, inclusive na diminuição do *stress* oxidativo tanto na fase jovem, quanto no envelhecimento (Kalani et al., 2006), diferindo dos resultados obtidos no presente estudo. Pode-se observar que quando realizado exercício, houve diminuição considerável no diâmetro de ducto epididimário, principalmente nas regiões proximais, que podem ter ocorrido devido ao *stress*

oxidativo resultante do exercício realizado neste estudo, podendo influenciar na fertilidade de maneira a prejudicar a qualidade espermática (Safarinejad et al., 2009).

Shokri et al. (2014) relataram danos relacionados ao exercício de corrida, nos espermatozoides epididimários (diminuição, apoptose e danos do DNA), devido ao acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS). Zhao et al. (2013) relataram que exercícios extenuantes representam um desafio à homeostase, já que o excesso e a intensidade deles podem ser prejudiciais, pois resultam em geração de ROS que excede a capacidade celular anti-oxidativa. Possibilidade que explica nossos achados, relacionados ao exercício de resistência empregado no presente estudo.

O exercício também pode ter causado alteração hidrodinâmica, pois, através do *stress* oxidativo e mudança da concentração de testosterona endógena, interfere na qualidade do sêmen. A diminuição do fluido luminal e, conseqüentemente, da pressão intraluminal, são alterações hidrodinâmicas que resultam em diminuição do diâmetro luminal e aumento da altura epitelial (Fawcett; Hoffer, 1979); hipótese que pode explicar os resultados observados no segmento inicial do epidídimo dos ratos do GE.

Assim como os exercícios já relatados, os EAAs também causam danos ao DNA espermático, levando grande parte dos espermatozoides à morte ou inviabilidade; e esses danos pioram quando há combinação de exercícios de corrida com anabolizantes (Shokri et al., 2014). Contrapondo esses resultados, o estudo de Foletto et al. (2010) mostra que o tratamento com EAAs (0,5mg/kg-1 de massa corporal) causa redução da eficiência da espermatogênese, no entanto, o treinamento físico (corrida), quando associado, compensa a ação do anabolizante, mantendo o processo de espermatogênese normal.

O aumento do diâmetro e da altura epitelial, nos grupos tratados com EAAs (em relação ao grupo controle), podem indicar hipertrofia no tecido, a qual teria ocorrido devido ao aumento de androgênios circulantes, pois sabe-se que essas substâncias apresentam efeitos que estimulam o anabolismo proteico, além de promoverem ação androgênica (Boyce, 2003; Evans, 2004); o que ocorreu em maior parte no segmento inicial por ser esse, o mais vascularizado e por ser o local de maior concentração de receptores de androgênios (Patrão et al., 2009).

Essa possível contribuição dos EAAs para o aumento do epitélio epididimário pode ser explicada com base no estudo de FAWCETT; HOFFER (1979) em ratos. Nesse trabalho, os autores interromperam o fluxo do fluido seminal, por orquidectomia ou por ligação dos ductos eferentes e, depois ministraram doses supra-fisiológicas injetáveis de EAAs (50, 100 e 500 µg/dia) que foram suficientes para promover a recuperação do tecido epididimário que sofreu regressão.

Alterações morfológicas, como debris celulares no interior do lúmen epididimário foram encontradas nos grupos GN e GNEi no segmento-inicial e cabeça do órgão. Debris celulares no lúmen epididimário indicam perda de células da linhagem espermatogênica, ocorrida nos testículos, indicando danos também nesse órgão (Shokri et al., 2009; Lanning, 2002). Esses danos podem ser associados à administração exógena do decanoato de nandrolona (0,5mg/kg-1 de massa corporal), o qual provoca disfunção na produção endógena dos hormônios gonadotróficos (FSH e LH) e de testosterona, podendo ocorrer diminuição do peso do testículo em ratos sedentários que receberam nandrolona e ratos treinados com corrida/nandrolona (Ferrari et al., 2013).

Os infiltrados inflamatórios intersticiais nos grupos GN, GNE e GE, assim como GCi também colocam a Nandrolona, o exercício e a idade como disruptores do tecido. Esses resultados assemelham-se ao estudo de Smithwick; Young (2001), que encontraram infiltrados leucocitários intersticiais no epidídimo quando fizeram privação de androgênios em chimpanzés. Flickinger et al. (1990) também relataram infiltrados leucocitários em ratos *Lewis*, após vasectomia, indicando que, além das características inflamatórias no epitélio, há alterações no interstício, que poderiam ser causadas pelo distúrbio fisiológico da alteração de androgênios sistêmicos em todas as situações mencionadas.

## 5 CONCLUSÃO

Conclui-se que o tanto o tratamento na fase adulta com exercício, quanto à utilização de EAAs altera parâmetros morfométricos e morfológicos do epidídimo, e que seu efeito crônico pode ser diminuído com a idade devido à perda do efeito dessas variáveis, resultando na recuperação do órgão.

Esse estudo foi limitado no sentido de observar alterações durante outras fases da vida do animal (entre os 150 e 330 dias) para acompanhar a recuperação do tecido, assim como as dosagens de androgênios, que auxiliariam nas explicações dos resultados que aconteceram nos grupos experimentais.

**REFERÊNCIAS**

Veiga AP. A institucionalização da beleza no universo feminino. IGT na rede. 2006;3(5):1-9.

Conley M.S.; Rozenek R. Position Statement: Health Aspects of Resistance Exercise and Training. *Strength Cond J.* 2001; 23(6):9-23.

Handelsman DJ. Aging in the Hypothalamic–Pituitary–Testicular Axis.in: Knobil and Neill’s *Physiology of Reproduction*, Third Edition edited by Jimmy D. Neill. New York: Elsevier © 2006. p. 2698-2728

Kunz RI, Coradini, JG, Rondon CLR, Brancalhão, RMC, Bertolini, GRF, Ribeiro, LFC. Efeitos da imobilização e remobilização pela combinação natação e salto em meio aquático, sobre a morfologia do músculo tibial anterior de ratos. *Ci. Biol. Saúde.* 2013; 19(2):123-9.

Gaffuri J, Meireles A, Rocha BP, Rosa CT, Artifon EL, Silva LI, Moreira NB, Bertolini GRF. Avaliação do Exercício Físico Como Fator de Analgesia em Um Modelo Experimental de Cialgia. *Rev Bras Med Esporte.* 2011;17(2):115-8.

Melo JS, Gomes FC, Pinheiro PFF, Pereira S, Scanaro WR, Fávoro WJ, Domeniconi RF. The effects of high doses of nandrolone decanoate and exercise on prostate microvasculature of adult and older rats. *Life Sciences.* 2015;121(15):16–21.

Araújo, LR, Andreolo J, Silva MS. Utilização de suplemento alimentar e anabolizante por praticantes de musculação em academias de Goiânia-GO. *Rev. Bras. Ciênc. Mov.* 2002;10(3):13-18.

Boyce EG. Use and effectiveness of performance-enhancing substances. *J. Pharm. Pract.* 2003;16(1);22-36.

Evans NA. Currents concepts in anabolic-androgenic esterooids. *Am. J. Sports Med.* 2004;23(2):534-42.

Silva ISMF, Moreau RLM. Uso de esteróides anabólicos androgênicos por praticantes de musculação de grandes academias da cidade de São Paulo. *Rev. Bras. Ciênc. Farm.* 2003;39(3):327-33.

Silva PRP, Machado Junior LC, Figueiredo VC, Cioffi AP, Prestes MC, Czepielewski MA. Prevalência do uso de agentes anabólicos, em praticantes de musculação de Porto Alegre. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.* 2007;51(1):104-10.

Manna I, Jana K, Samanta PK. Effect of different intensities of swimming exercise on testicular oxidative stress and reproductive dysfunction in mature male albino Wistar rats. *Indian J Exp Biol.* 2004; 42(8):816-822.

Melnik B, Jansen T, Grabbe S. Abuse of anabolic-androgenic steroids and bodybuilding acne: an underestimated health problem. *J. Dtsch. Dermatol. Ges.* 2007; 5(2):110-117.



- Benoit MJ. Recherches anatomiques, cytologiques et histophysiques sur les voies excrétrices du testicule chez les mammifères. *Archs. Anat. Histol. Embryol.* 1926;5(1):173-412.
- Serre V, Robaire B. Segment-Specific Morphological Changes in Aging Brown Norway Rat Epididymis. *Biol. Reprod.* 1998;58(2):497-513.
- Setchell PB, Breed WG. Anatomy, Vasculature and Innervation of the Male Reproductive Tract. In: Knobil and Neill's *Physiology of Reproduction*. Third Edition edited by Jimmy D. Neill, New York: Elsevier, 2006. p.771-825.
- Robaire B, Hinton BT, Orgebin-Crist MC. The epididymis. In: Knobil and Neill's *Physiology of Reproduction*. Third Edition edited by Jimmy D. Neill, New York: Elsevier, 2006. p.1071-148.
- Foletto MP, Costa CEM, Ferrari F, Moraes SMF, Segatelli TM. Effect of the nandrolone decanoate on the efficiency of spermatogenesis of sedentary rats and rats subjected to physical training. *Acta Sci. Health Sci.* 2010;32(1):17-22.
- Martinez, C. S. Efeito da exposição crônica ao cloreto de mercúrio (HGCL2) no sistema reprodutor de ratos machos. Uruguaiana-RS. Dissertação de Mestrado em Universidade Federal do Pampa, 2013.
- Oda, SS, El-Ashmawy IM. Adverse effects of the anabolic steroid, boldenone undecylenate, on reproductive functions of male rabbits. *Int. J. Exp. Path.* 2012;93(3):172-8.
- Harri M, Kuusela P. Is swimming exercise or cold exposure for rats? *Acta Physiol. Scand.* 1986;126(6):189-97.
- Shokri, S. et al. Exercise and Supraphysiological Dose of Nandrolone Decanoate Increase Apoptosis in Spermatogenic Cells. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2009;106(1):324-30.
- Fawcett DW, Hoffer AP. Failure of exogenous androgen to prevent regression of the initial segments of the rat epididymis after efferent duct ligation or orchidectomy. *Biol. Reprod.* 1979; 20(1):162-81.
- Ferreira LE. Expressão de aquaporinas (AQPs 1 e 9) nos ductos eferentes e epidídimo de ratos wistar com obesidade induzida por dieta de cafeteria. Cascavel, Pr. Dissertação de Mestrado em Biociência e Saúde, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2013.
- Smithwick EB, Young LG. Histological effects of androgen deprivation on the adult chimpanzee epididymis. *Tissue Cell.* 2001;33(5):450-61.
- Melo Neto JS. et al. The effects of high doses of nandrolone decanoate and exercise on prostate microvasculature of adult and older rats. *Life Sciences.* 2015;121(1):16-21.
- Muller FL, Lustgarten MS, Jang Y, Richardson A, Remmen HV. Trends in oxidative aging theories. *Free Radical Bio Med.* 2007;43(4):477-503.
- Safarinejad MR, Azma K, Kolahi AA. The effects of intensive, long-term treadmill running on reproductive hormones, hypothalamus-pituitary-testis axis, and semen quality: a randomized controlled study. *J. Endocrinol.* 2009;200(3): 259-71.

Kalani R, Judge S, Carter C, Pahor M, Leeuwenburgh C. Effects of caloric restriction and exercise on age-related, chronic inflammation assessed by C reactive protein and interleukin-6. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2006;61:211–7.

Zhao et al. Effect of moderate exercise over different phases on age-related physiological dysfunction in testes of SAMP8 mice. *Exp Geront.* 2013; 48 (1):869–80.

Patrão MTCC, Silva EJR, Avellar MCW. Androgens and the male reproductive tract: an overview of classical roles and current perspectives. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.* 2009; 53(8).

Shokri et al. Combination of running exercise and high dose of anabolic androgenic steroid, nandrolone decanoate, increases protamine deficiency and DNA damage in rat spermatozoa *Andrologia* 2014; 46(1) 184–90.

Lanning LL. Recommended Approaches for the Evaluation of Testicular and Epididymal Toxicity. *Exp Toxicol Pathol.* 2002;30(4):507–50.

Ferrari et al. Testis morphophysiology of rats treated with nandrolone decanoate and submitted to physical training *Acta Sci. Health Sci.* 2013;35(2):161-7.

Flickinger CJ et al. Inflammatory changes in the epididymis after vasectomy in the Lewis rat. *Biol. Reprod.*1990; 43(1):34-45.