

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ – CAMPUS DE CASCAVEL
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM BIOCÊNCIAS E
SAÚDE – NÍVEL MESTRADO

LANA BRANDL

**ANÁLISES MORFOLÓGICAS DO EPIDÍDIMO DE RATOS ADULTOS E IDOSOS
APÓS O TRATAMENTO COM DOSES SUPRAFISIOLÓGICAS DE DECANOATO
DE NANDROLONA E O EXERCÍCIO RESISTIDO EM MEIO AQUÁTICO**

CASCAVEL-PR

Março/2016

LANA BRANDL

**ANÁLISES MORFOLÓGICAS DO EPIDÍDIMO DE RATOS ADULTOS E IDOSOS
APÓS O TRATAMENTO COM DOSES SUPRAFISIOLÓGICAS DE DECANOATO DE
NANDROLONA E O EXERCÍCIO RESISTIDO EM MEIO AQUÁTICO**

DISSERTAÇÃO apresentada ao Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Biociências e Saúde – Nível Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biociências e Saúde.

**Área de concentração: Fatores que
Influenciam a Morfofisiologia Orgânica**

ORIENTADORA: Prof^a Dr^a Célia Cristina Leme
Beu

CO-ORIENTADORA: Prof^a Dr^a Raquel F.
Domeniconi

CASCADEL-PR

Março/2016

FOLHA DE APROVAÇÃO

LANA BRANDL

**ANÁLISES MORFOLÓGICAS DO EPIDÍDIMO DE RATOS PÓS-
PÚBERES E IDOSOS APÓS O TRATAMENTO COM DOSES
SUPRAFISIOLÓGICAS DE DECANOATO DE NANDROLONA E O
EXERCÍCIO RESISTIDO EM MEIO AQUÁTICO**

Essa dissertação foi julgada adequada para obtenção do título de Mestre em Biociências e Saúde e aprovada em sua forma final pela Orientadora e pela Banca Examinadora.

Orientadora: Prof^a Dr^a Célia Cristina Leme Beu
UNIOESTE

Prof^a Dr^a Lucinéia de Fátima Chasko Ribeiro
UNIOESTE

Prof^a Dr^a Glaura Scantamburlo A. Fernandes
UEL

CASCAVEL- PR

Março/2016

AGRADECIMENTOS

Meus agradecimentos vão a todos que participaram desse trabalho, desde sua coleta em Botucatu (UNESP), onde fui muito bem recebida e aprendi coisas que ficarão comigo sempre. Agradecimento especial à Thalita e Prof^a Raquel, pela recepção e pelos ensinamentos. Assim como aos integrantes do LABEM (UNIOESTE-Cascavel), especialmente Suellen, Caroline, Ana e Bruno.

Minhas colegas e amigas “mesclandas” (bem interdisciplinares) Bruna, Angélica, Keli, Ani, Lizy que me ajudaram dentro e fora de sala de aula.

Muito obrigada a todo corpo docente, que estava sempre disposto a me ajudar e ensinar quando fosse necessário. Ao professor Edson que conseguiu ensinar estatística de maneira não tão assustadora, e, é claro, à minha orientadora, sempre muito paciente e prestativa Professora Célia, que me acompanhou também na graduação e demonstrou que o aprendizado vem com o esforço, mas que este pode também ser divertido.

Agradeço à minha família principalmente pela compreensão da minha ausência. Ao Luis que me acolheu na sua vida mesmo em um momento de pouco tempo livre e muito trabalho; meus avós, tios, primos, pai, irmã e mãe co-orientadora. Vocês me ensinaram o valor da educação e a repassar o conhecimento adquirido, ajudando não só a formar um profissional (da área que for), mas formar seres humanos.

Agradeço também ao Dartel e a Graça, pela compreensão de minhas faltas ao trabalho e por ceder as aulas para o estágio de docência; a todos pacientes da clínica que entenderam a importância do estudo para mim e me incentivam a continuar sempre, em especial à Itamara, Angela, Edward e André. Obrigada as minhas colegas de trabalho por segurarem as pontas para mim diversas vezes, Pamela e Caroline.

Meu muito obrigado aos meus amigos queridos, que vibraram todas as conquistas comigo e me impulsionaram quando havia momentos mais difíceis: Thelma, Mariana, Massao, Claudio e Thais.

A ajuda de todos foi muito importante para mim nessa experiência enriquecedora que ficará guardada comigo para sempre. Obrigada!

RESUMO

Atualmente, a procura pela beleza estética, tem causado problemas de saúde associados ao uso de esteroides androgênicos anabolizantes (EAAs) e até mesmo a exercícios físicos intensos. O sistema genital masculino é alvo de estudos por ser sensível a mudanças na concentração desse tipo de hormônio; essas alterações também podem ocorrer com o aumento da idade, influenciando órgãos androgênio-dependentes, como o epidídimo. Nesse sentido, objetivou-se com esse estudo, verificar se o tratamento com EAAs associado ou não ao exercício físico resistido, em ratos Sprague-Dawley, altera a morfologia do Epidídimo em ratos adultos e seus efeitos a longo prazo em idosos. Foram analisadas todas as porções dos epidídimos (segmento inicial, cabeça, corpo e cauda) de 56 ratos, virgens, da linhagem Sprague-Dawley (com 13 semanas de vida ao iniciarem o 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. O treinamento realizado foi exercício resistido em meio aquático (através de saltos na água, com sobrecarga) com duração de oito semanas (três vezes na semana). A administração de EAAs ocorreu pela aplicação intramuscular de Decanoato de Nandrolona (10 mg/kg/semana) também durante oito semanas (duas vezes na semana). Amostras epididimárias passaram pela rotina histológica de hematoxilina e eosina para análise morfológica e morfométrica. Os resultados mostraram alterações significativas nos diâmetros de ductos, sendo que o GE foi menor quando comparado ao controle, e, nos grupos em que foram utilizados anabolizantes, tiveram diâmetro aumentado significativamente, e essas alterações ocorreram principalmente nos segmentos mais iniciais. A altura epitelial, no segmento inicial, também foi maior nos grupos em que foi utilizado anabolizante. Os grupos idosos tenderam a retornar a normalidade, aumentando os parâmetros de altura e diâmetro quando esses estavam diminuídos, e diminuindo-os quando estavam aumentados em comparação ao grupo adulto relacionado (com variável em comum), a não ser na cauda, do GNEi, em que houve aumento significativo. Achados morfológicos indicaram presença de debris celulares em lúmen (GN e GNEi) e infiltrados intersticiais (GN, GNE, GE e GCi). Conforme os resultados desse estudo, pôde-se concluir que 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.

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

ABSTRACT

Nowadays, the search for beauty, has caused health problems associated with the use of anabolic androgenic steroid (AAS) and even strenuous exercise, and the male reproductive system is the subject of studies to be sensitive to changes in the concentration of this type of hormone; these changes may also occur with increasing age, causing changes in androgen-dependent organs, like the epididymis. This study aimed to verify if 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. The training was conducted by jumping into the water, weighing overloading, being considered as resistance exercise in water. The AAS administration occurred by intramuscular injection of nandrolone decanoate (10 mg / kg / week). Epididymal samples were subjected by histological routine of hematoxylin and eosin for morphological and morphometric analysis. It was analyze all parts of the epididymis (initial segment, caput, corpus and cauda) of 56 Sprague-Dawley rats, virgins, with 13 weeks old, 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 results show significant changes in duct diameters; the GE was lower when compared to other groups, and the groups that were used anabolic steroids, had a larger diameter than the other, and these changes occurred mainly in the initial segments. The epithelial height in the initial segment was also considered higher in the groups that administered AAS. The elderly groups tend to return to normal, increasing the parameters of epithelial height and diameter when these were decreased, and lowering them when they were enlarged when compared with the related adult group (with common variable), except at the tail of GNEi. As the results of this study, we can conclude that both treatment in adulthood, with exercise and the use of AAS, changes morphometric and morphological parameters of the epididymis, and its chronic effects can be diminished with age.

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

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	14
2.1	Geral	14
2.2	Específicos.....	14
3	REVISÃO DE LITERATURA	15
3.1	Os fatores sociais e uso de EAAs.....	15
3.2	Sistema genital masculino	16
3.2.1	Epidídimo	17
3.3	Fatores que influenciam a fertilidade	21
3.3.1	Esteróides Androgênicos Anabolizantes (EAAs)	23
3.3.2	Alterações decorrentes do exercício físico no sistema genital masculino	24
3.3.3	Alterações decorrentes do avanço da idade no sistema genital masculino...25	
4	REFERÊNCIAS.....	27
5	Artigo científico	34
6	ANEXOS	60

LISTA DE FIGURAS

Figuras da revisão bibliográfica:

Figura 1: Regiões do epidídimo.....	20
Figura 2: Fotomicrografia das regiões do epidídimo.....	20
Figura 3: Ação da testosterona na célula.....	22

Figuras do artigo:

Figura 1. Gráficos de comparação de diâmetro de ducto	45
Figura 2. Gráficos de comparação de altura epitelial.....	46
Figura 3. Fotomicrografia para comparação de diâmetro de ducto.....	47
Figura 4. Fotomicrografia para comparação de altura epitelial.....	48
Figura 5. Fotomicrografia indicando debris celulares no lúmen.....	50
Figura 6. Fotomicrografia indicando alterações inflamatórias.....	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Grupos Controle e Experimentais.....	41
Tabela 2: Aumento da sobrecarga conforme dias de treinamento na água.....	42

LISTA DE ABREVIATURAS

μm – Micrômetro

ACTH - Hormônio adrenocorticotrópico

ATP-CP – Adenosina tri-fosfato associada à fosfocreatina

CEMIB - Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica

DHEA – Desidroepiandrosterona

DHT - Diidrotestosterona

EAs – Esteróides Androgênicos Anabolizantes

GC – Grupo Controle

GE – Grupo Exercício

GN – Grupo Nandrolona

GNE – Grupo Nandrolona/Exercício

GnRH - Hormônio liberador de gonadotrofinas

HE – Hematoxilina e Eosina

IBB – Instituto de Biociências de Botucatu

LABEF - Laboratório de Biologia Estrutural e Funcional

LABEM - Laboratório Experimental de Morfologia

LH – Hormônio Luteinizante

UNICAMP - Universidade Estadual de Campinas

UNESP – Universidade Estadual de São Paulo

1 INTRODUÇÃO

A beleza, antes considerada atributo natural, hoje é vista como produto de consumo, o qual pode ser modificado conforme ideais pessoais ou mesmo impostos pela sociedade. O efeito colateral da busca pela “beleza imposta” pode ser a extirpação da autoestima, que resulta em quadros como a depressão e distúrbios alimentares que geralmente levam ao sofrimento. Existem queixas de inadequação e insatisfação com a beleza nos dias de hoje e a busca por ela - impositiva e padronizada - também é constante, principalmente quando associada ao envelhecimento. A maioria percebe o corpo como um obstáculo aos padrões atuais, usando academias, dietas restritivas, operações plásticas e até artifícios farmacológicos como drogas anabolizantes e exercícios extenuantes para alcançar o ideal de beleza imposto pela sociedade e para não deixar-se envelhecer esteticamente (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 utiliza-se da força de arrasto ou a resistência da água ao movimento para criar a sobrecarga (CONLEY; ROZENEK, 2001, HERBERT et al. 2009).

Muitas vezes, a inadequação do biótipo, ou até mesmo a pressa para alcançar o objetivo de um corpo perfeito, faz com que o exercício não seja o suficiente, e alguns artifícios farmacológicos sejam utilizados, como os anabolizantes (CARDOSO, 2008). O uso destes fármacos, de forma não terapêutica, tem aumentado em todos os países do mundo, tornando-se assim, um problema de saúde pública, por serem promotores de doenças e trazerem risco à vida (IRIART; CHAVES; ORLEANS, 2009). Nos Estados Unidos, 4 a 6% de estudantes do sexo masculino, do ensino médio, admitiram ter usado desse artifício para fins estéticos. Na população jovem, em geral, a incidência é de 0,5% a 3% em garotas, com idade entre 15 e 19 anos, e 1 a 12% em rapazes de mesma idade e, ainda, de 67% em atletas de elite dos sexos masculino e feminino (BOYCE, 2003; EVANS, 2004; FORTUNATO; ROSENTHAL; CARVALHO, 2007).

No Brasil, estudos em alguns Estados, como São Paulo, Rio Grande do Sul e Goiás relataram alta prevalência (9 a 19%) do uso de esteroides em academias de musculação por homens e mulheres, sendo ainda maior (cerca de quatro vezes) no sexo masculino (ARAÚJO; ANDREOLO; SILVA, 2002; SILVA et al., 2007; SILVA; MOREAU, 2003).

Os anabolizantes, ou esteroides androgênicos anabolizantes (EAAs), são derivados sintéticos da testosterona e estimulam a síntese de proteínas (efeito anabólico), com isso ajudam na formação de tecido muscular, aumentando assim a massa muscular, também denominada “massa magra”, que é o procurado esteticamente. No corpo humano do indivíduo do sexo masculino, a testosterona é produzida, naturalmente, pelos testículos e pelo córtex da glândula suprarrenal; esse esteroide promove e mantém as características sexuais associadas à masculinidade, incluindo o sistema genital e atua sobre as características sexuais secundárias e fertilidade (SILVA; DANIELSKI; CZEPIELEWSKI, 2002).

O uso abusivo de EAA, no sexo masculino, está associado a diversos efeitos colaterais nocivos à saúde, sendo fator de risco cardiovascular pois leva à hipertrofia ventricular, hipertensão arterial, arritmia, trombose e infarto (EVANS, 2004). No sistema genital, leva à atrofia testicular, alterações na morfologia e funcionalidade dos espermatozoides e, como consequência, problemas de fertilidade pela diminuição de androgênios endógenos (como a testosterona), por mecanismos fisiológicos de *feedback* (MELNIK; JANSEN; GRABBE, 2007).

Essa queda das concentrações de androgênios endógenos também ocorre com o envelhecimento, e, juntamente com a diminuição de antioxidantes intracelulares e da atividade de enzimas supressoras de radicais livres, podem levar a lesões em órgãos importantes do sistema genital masculino, entre essas, inflamação no epitélio de órgãos desse sistema (CRAN; JONES, 1980; HANDELSMAN, 2006; SERRE; ROBAIRE, 1998).

Um dos órgãos responsáveis pela fertilidade que pode sofrer modificações pelos mecanismos supracitados é o epidídimo (SERRE; ROBAIRE, 1998). Esse órgão da via espermática é um ducto único, altamente enovelado e andrógeno-dependente, cujas funções são transportar, maturar, manter, proteger e armazenar os espermatozoides, por isso é considerado essencial para os processos reprodutivos. A fim de que tais funções sejam eficientemente realizadas, é necessário que haja integridade do seu epitélio, dependente de concentrações

adequadas de hormônios, tais como os androgênios (HERMO; SMITH, 2011; ROBAIRE et al., 2007).

Por esses fatores, parece ser relevante entender como o uso de EAA e o exercício físico na fase adulta, podem alterar a estrutura e função do epidídimo, na vida adulta e também no processo de envelhecimento, uma vez que há mudanças estruturais em diversas regiões do sistema genital, inclusive com inviabilidade dos espermatozoides e danos no DNA (MARTINEZ, 2013; OLIVEIRA et al., 2005; POULSEN; LOFT; VISTISEN, 1996; SILVA, 2007; SERRE; ROBAIRE, 1998).

Sendo esse um órgão-alvo em modelos experimentais, tais como em ratos, para simular e estudar as mais diversas condições que podem influenciar a morfologia do epidídimo (FOLLETO et al., 2010; MARTINEZ, 2013; ODA; EL-ASHMAWY, 2012; PALMER, et al., 2012; SETCHELL; BREED, 2006), esse estudo 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 idosos.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Verificar se o tratamento com EAAs e sua associação ao exercício resistido em meio aquático, em ratos Sprague-Dawley, altera a morfologia do epidídimo na fase adulta e seus efeitos crônicos com o envelhecimento.

2.2 Específicos

- Verificar se há alterações na altura epitelial e diâmetro luminal epididimário nos animais tratados com EAAs, exercício e envelhecidos.
- Comparar os efeitos, a longo prazo da utilização de EAA e exercício resistido em meio aquático em ratos envelhecidos e na fase adulta quanto à altura epitelial e diâmetro de ducto.
- Demonstrar alterações inflamatórias no epitélio do epidídimo, assim como em regiões intersticiais circundantes, decorrentes dos tratamentos.

3 REVISÃO DE LITERATURA

O capítulo Revisão de Literatura tem por objetivo apresentar referencial teórico do objeto de estudo. Inicialmente serão abordados os fatores sociais e o uso de EAAs, na sequência o sistema genital masculino, especialmente o epidídimo, para adentrar nos fatores que influenciam a fertilidade, mais especificamente, os EAAs e as alterações decorrentes dos exercícios e idade.

3.1 Os fatores sociais e a prática de exercícios e uso de EAAs

Atualmente, na nossa cultura e sociedade pode-se perceber vários tipos de estereótipos, tanto na maneira de vestir-se, comportar-se e até alimentar-se. Seguindo essa linha, com estereótipo para o corpo não seria diferente. São impostas as imagens de mulheres magras e bem esguias, e homens musculosos com corpos bem definidos.

As pessoas estão, cada vez mais, sendo influenciadas pelas mídias, como a televisão e a *internet*, para que sejam ou ajam de determinada maneira e quando não conseguem atingir os objetivos impostos por tais influências, acabam tendo problemas mais graves, como depressão e distúrbios alimentares. No caso dos homens, seu corpo, conforme idealizado pela mídia, deve ser construído através da imagem de um homem viril e com músculos hipertrofiados, o que não é natural para a maioria dos biótipos, sendo assim, fazem o uso de cirurgias, fármacos como anabolizantes e exercícios extenuantes, para atingir tal objetivo (OSORIO, 2011; VEIGA, 2006).

A prática de exercício é utilizada normalmente como meio de qualidade de vida, mas esse conceito pode ser distorcido pelos padrões de beleza, o que muitas vezes faz com que as pessoas esqueçam sua individualidade em relação ao seu biótipo e comecem a realizar o exercício de forma extenuante, principalmente quando o objetivo é a hipertrofia. Para essa finalidade, o exercício resistido é considerado ideal, pois tem como objetivo principal o ganho de força e, conseqüentemente, de massa muscular (CARDOSO, F.F, 2008; CONLEY; ROZENEK, 2001; HERBERT et al. 2009).

O exercício resistido pode ser praticado de várias maneiras, desde que haja uma sobrecarga, a qual pode ser o peso do próprio corpo, exercícios aquáticos (por

meio da resistência da água ao movimento e, também, da força de arrasto) ou, ainda, exercícios com pesos externos como os utilizados nas academias (CONLEY; ROZENE, 2001; HERBERT et al., 2009)

Com o fim de ter o corpo musculoso o mais rápido possível, algumas pessoas procuram as academias de musculação e algumas dessas que deveriam ser o local para aprimorar a saúde, acabam tornando-se locais de idolatria ao corpo e incentivam o uso de anabolizantes, principalmente aos jovens que estão em busca de *status* social. São esses indivíduos jovens, que estão em idade produtiva, que acabam sofrendo com os efeitos colaterais do uso de EAAs (ESTEVÃO; BAGRICHEVSKI, 2004).

Quando a busca da manutenção da juventude e da beleza está associada ao prejuízo à saúde, como é o caso dos anabolizantes, vale a pena investigar a relação entre o “custo e o benefício” deste artifício muito usado pela sociedade. Não há um dado concreto sobre os internamentos para o tratamento de efeitos adversos causados por anabolizantes, mas eles estão sendo associados à ocorrência de graves eventos cardiovasculares em jovens, além de infecções focais e sistêmicas, pelo uso de agulhas não esterilizadas. Ainda, há efeitos adversos sobre a saúde mental, como irritabilidade, aumento da agressividade (em estudos com animais e humanos) chegando a consequências bem mais graves, como suicídios e assassinatos (BOFF, 2010).

Um dos efeitos mais estudados, causados por anabolizantes, é no sistema genital masculino, pois sem sua correta fisiologia e morfologia, a fertilidade e, conseqüentemente, a reprodução, ficam prejudicadas, assim como a saúde do próprio organismo, como nas ocorrências de carcinoma prostático, dor e dificuldade para urinar e atrofia de testículos, além de outros a serem estudados (VENÂNCIO et al., 2010).

3.2 Sistema genital masculino

A função do sistema genital, em todas as espécies, é proporcionar um ambiente perfeito para a formação, transporte, proteção e maturação de células germinativas, por isso a homeostase, assim como a qualidade das estruturas, é fundamental. Os órgãos sistema genital masculino, homólogos em humanos e ratos são: testículos, escroto, epidídimos, ductos deferentes, glândulas acessórias (próstata, glândulas seminais e bulbo-uretrais) e pênis (PERES, 2009).

No testículo ocorre a formação dos gametas masculinos (espermatogênese), especificamente nos túbulos seminíferos. Esse órgão, além de gônada, também é uma glândula endócrina na qual a testosterona é produzida pelas células de Leydig, localizadas no compartimento intersticial (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999; MARIEB, 1998). O produto final da espermatogênese são espermatozoides imaturos, que para tornarem-se aptos à fecundação, precisam passar pelos ductos da via espermática, como o epidídimo, órgão no qual irão adquirir a capacidade de fecundar oócito (CREASY; FOSTER, 2002). Por ser este o órgão objeto deste estudo, passa-se a descrevê-lo com maior propriedade.

3.2.1 Epidídimo

O epidídimo é um dos órgãos do sistema genital masculino; compõe a via espermática e é caracterizado por ser um tubo único, altamente enovelado e dividido em quatro porções com base em características histológicas, sendo elas: segmento inicial, cabeça, corpo e cauda (BENOIT, 1926). Outra divisão, que é bem representada por Setchell; Breed (2006), mostra o órgão dividido em inúmeras regiões a partir dos ductos eferentes (1A), 1B, 1C, 1D (referentes ao segmento inicial), 2A e 2B (cabeça), 3A, 3B e 3C (corpo), 4A, 4B e 4C (cauda) até deferente 5 e 6 (FIGURA 1). Está localizado na bolsa testicular, entre os ductos eferentes e ducto deferente (ROBAIRE; HINTON, ORGEBIN-CRIST, 2006). Contudo não é somente um tubo transportador da via espermática, tem outras importantes funções na proteção, manutenção, armazenamento, maturação e capacitação dos espermatozoides; assim possibilita que os gametas adquiram motilidade e capacidade potencial de fertilizar oócitos; seu epitélio atua na absorção, síntese e metabolismo de substâncias essenciais para a suas funções e para os espermatozoides (SERRE; ROBAIRE, 1998; SETCHELL; BREED, 2006).

A complexidade desse órgão pode ser indicada pelas células que o compõe em suas diferentes regiões, pois cada uma delas tem propriedades distintas e morfologias diferentes, de acordo suas respectivas funções. A capacidade de motilidade e aquisição da função fértil, assim como a integralidade dos espermatozoides se dão através de absorção de substâncias do interior do túbulo e secreções celulares em todas as regiões do epidídimo (JONES; MURDOCH, 1996; ROBAIRE; HINTON; ORGEBIN-CRIST, 2006). Ainda, segundo Patrão; Silva; Avellar (2009), a regulação fisiológica e desenvolvimento do epidídimo dependem

de androgênios para que possam manter as células germinativas potencialmente capacitadas, sendo que quando o hormônio não está presente, são observadas regiões de morte celular e apoptose, o que diminui a eficiência do tecido epididimário de suas funções na fertilidade.

O epitélio epididimário é pseudoestratificado, estereociliado, composto por vários tipos celulares, como as células: principais, halo, delgadas, apicais, claras e basais, 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 em todas as regiões (células principais, halo e basais) (ROBAIRE; HINTON; ORGEBIN-CRIST, 2006).

As células principais formam a maior parte do epitélio do ducto (65% a 80%), secretam substâncias essenciais para os espermatozoides no lúmen; essas células são cilíndricas a pavimentosas em humanos, e cilíndricas a cúbicas baixas em ratos (SERRE; ROBAIRE, 1998), na sua parte apical apresentam estereocílios que diminuem em altura conforme o ducto torna-se distal ao testículo. No citoplasma supranuclear, das células principais, há complexos de Golgi bem desenvolvidos; enquanto que o retículo endoplasmático rugoso bem desenvolvido está localizado no citoplasma infranuclear. No citoplasma também há várias vesículas e corpos multivesiculares. Esse conjunto de características indica capacidade secretória e absorptiva das células principais (FAWCETT; HOFFER, 1979; SUN; FLICKNGER, 1979).

Células claras têm inúmeras vesículas de vários tamanhos em sua região apical, lisossomos em uma região intermediária e gotículas lipídicas na base. Sugere-se, que essas células têm função de retirar material do lúmen do ducto e, também, contribuem para a acidificação do lúmen epididimário, juntamente com as células delgadas; essa acidificação coloca os espermatozoides em estado de repouso antes da ejaculação (BRETON et al., 1996; ROBAIRE; VIGER, 1995). As células apicais não têm contato com a base do epitélio, e seu núcleo varia de oval a esférico; contêm vacúolos e vesículas de endocitose como as células claras, mas são menores (HERMO; ADAMALI; ANDONIAN, 2000).

As células halo são encontradas em todas as regiões epididimárias e são consideradas monócitos ou linfócitos intra-epiteliais. Serre; Robaire (1998) relataram que há aumento do número dessas células em situações estressoras para o órgão,

como o envelhecimento. As células basais, também são encontradas em todos os segmentos do epidídimo e repousam sobre a membrana basal sem alcançar o lúmen; são pequenas e alongadas e parecem ter certo papel na desintoxicação nesse órgão (ROBAIRE; VIGER, 1995).

No epidídimo há um segmento inicial característico em todos os mamíferos cujo epitélio é alto com o lúmen vazio ou contendo poucos espermatozoides. Há redução da altura das células epiteliais que revestem o ducto conforme ele torna-se distal; o lúmen alarga-se, a partir do segmento inicial para a cauda do epidídimo e há aumento da concentração de espermatozoides e na quantidade de músculo liso em torno do ducto (ROBAIRE; HINTON; ORGEBIN-CRIST, 2006) (Figura 1 e 2).

Nos mamíferos, o epidídimo desempenha múltiplas funções como a reabsorção dos fluidos da rede testicular, o transporte de espermatozoides, a eliminação de gametas defeituosos, a maturação dos espermatozoides, bem como sua proteção e armazenamento (SULLIVAN et al., 2005). Segundo estudos de Klaassen; Watkins (2001), Oliveira et al. (2005) e Silva (2007) numerosas substâncias químicas podem interferir nestes processos, alterando-os, e podendo produzir efeitos adversos, interferindo tanto na morfofisiologia do órgão quanto na fertilidade.

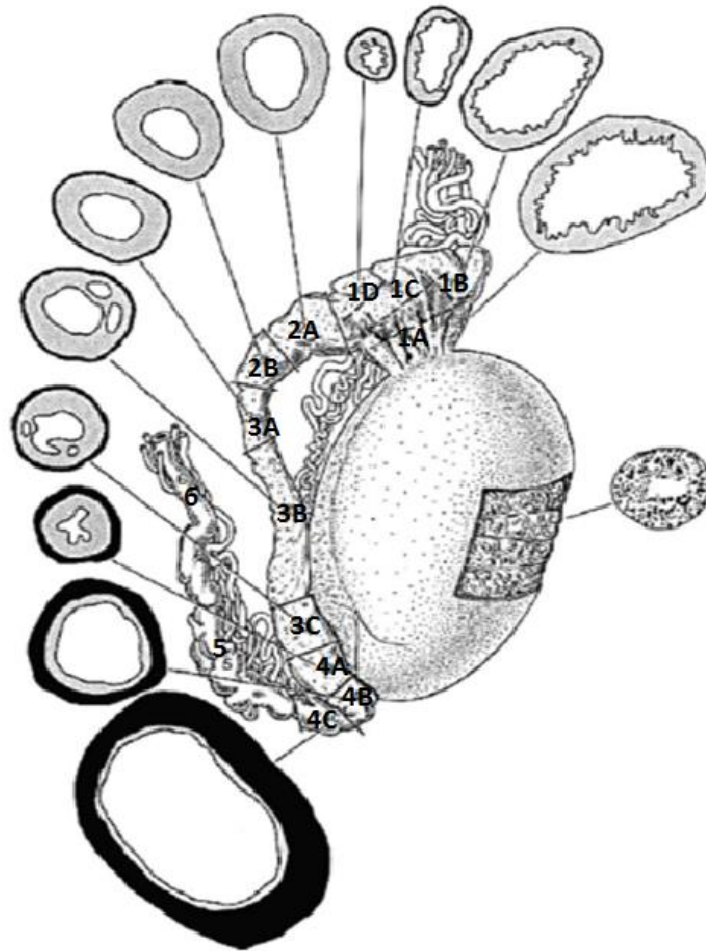


Figura 1: Regiões do epidídimo. Imagem representativa do testículo, ductos eferentes (1A), segmento inicial (1B, 1C, 1D), cabeça (2A, 2B), corpo (3A, 3B, 3C), cauda (4A, 4B, 4C, e ducto deferente (5 e 6) (SETCHELL; BREED, 2006).

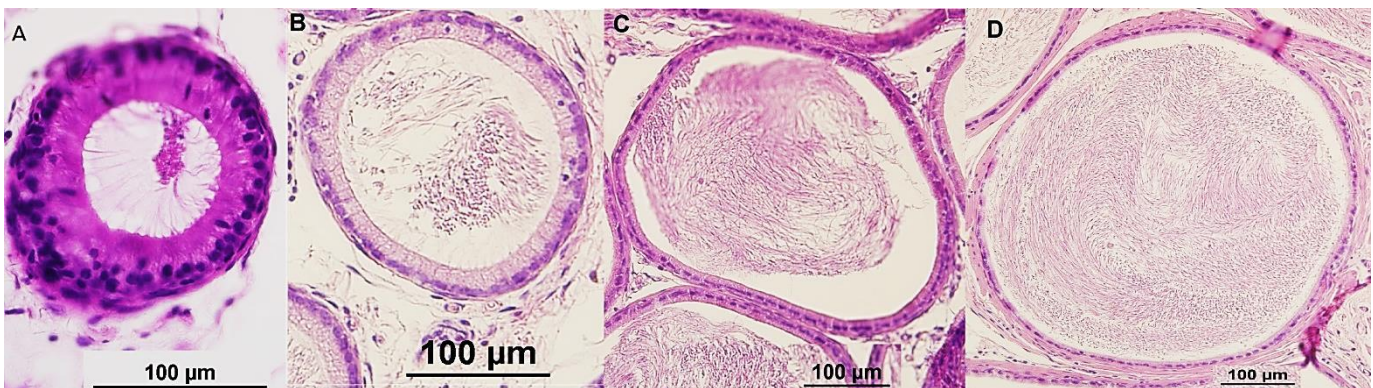


Figura 2: Fotomicrografia de regiões do epidídimo mostrando as diferenças morfológicas no ducto do epidídimo normal: segmento inicial (2A), cabeça (2B), corpo (2C) e cauda (2D). Nota-se em A uma maior altura epitelial e menor diâmetro de ducto, e conforme torna-se distal, a altura epitelial diminui enquanto há maior diâmetro de ducto.

3.3 Fatores que influenciam a fertilidade

A fertilidade humana é um tema de grande importância, uma vez que a sua redução tem-se revelado um problema mundial, atingindo cerca de 8 a 15% da população. Crê-se que o fator masculino esteja presente em cerca de metade dos casos, tendo esse fato sido já comprovado através de estudos clínicos e epidemiológicos (PARADA et al., 2004; WHO, 2010). Devido à crescente exposição à poluentes, substâncias químicas e farmacológicas, inclusive dos ambientes de trabalho, a redução da fertilidade masculina na população humana é um dado comprovado e com tendência a aumentar (SILVA, 2007).

Martinez (2013), Oliveira et al., (2005b) e Silva (2007) relataram que ratos expostos a algumas substâncias químicas como mercúrio, arsênio e chumbo podem ter sua fertilidade reduzida, devido tanto a alterações estruturais, quanto alterações na expressão proteica. Mudanças estruturais nos órgãos do sistema genital masculino também podem ocorrer com o envelhecimento (SERRE; ROBAIRE, 1998) e a obesidade (FERREIRA, 2013; MATA, 2014), podendo alterar também a expressão de proteínas específicas importantes para a manutenção da correta fisiologia e do ambiente luminal no qual os espermatozoides estão imersos e sofrem a maturação e, possivelmente, oferecer riscos à fertilidade (PALMER et al. 2012).

A eficiência e funcionamento correto do sistema genital masculino, inclusive epidídimo, depende de concentrações ideais de androgênios, como a testosterona, visto que são órgãos andrógeno-dependentes (FERNANDEZ et al., 2008). A utilização de meios exógenos desse hormônio, indiscriminadamente, pode diminuir suas concentrações endógenas por mecanismos de *feedback* negativo (FOLETTTO et al., 2010).

A testosterona (um hormônio esteroide anabolizante - EAA) é formada a partir de colesterol. Hormônios esteroides são produzidos naturalmente no corpo humano, nas gônadas (ovário e testículo) e, em ambos os sexos, há produção no córtex da glândula suprarrenal, controlada pelo hormônio adrenocorticotrópico (ACTH). Essa via de formação da testosterona, na glândula suprarrenal, começa pela clivagem oxidativa da cadeia lateral do colesterol, formando a pregnenolona e, a partir dela, vários compostos esteroides incluindo a desidroepiandrosterona (DHEA) e androstenodiona que também são precursores da testosterona e considerados androgênios fracos (MARQUES; PEREIRA; AQUINO, 2003).

Há síntese desse hormônio em pequena quantidade no ovário (cerca de oito vezes menor que no homem) (SILVA, 2007). No testículo, a produção do hormônio pelas células de Leydig é controlada pelo LH (hormônio luteinizante) liberado pela hipófise, que por sua vez é controlado pelo GnRH (hormônio liberador de gonadotrofinas) secretado pelo hipotálamo (RANG; DALE; RITTER, 1997); e esses EAAs, como a testosterona, têm a função de promover e manter as características sexuais associadas à masculinidade (SILVA, 2007).

A ação da testosterona no organismo é explicada através da Figura 3, que mostra como esse elemento atravessa a membrana plasmática para, junto ao seu receptor, transformar-se em sua forma ativa, a diidrotestosterona (DHT), que chega ao núcleo celular para que ocorra a síntese proteica.

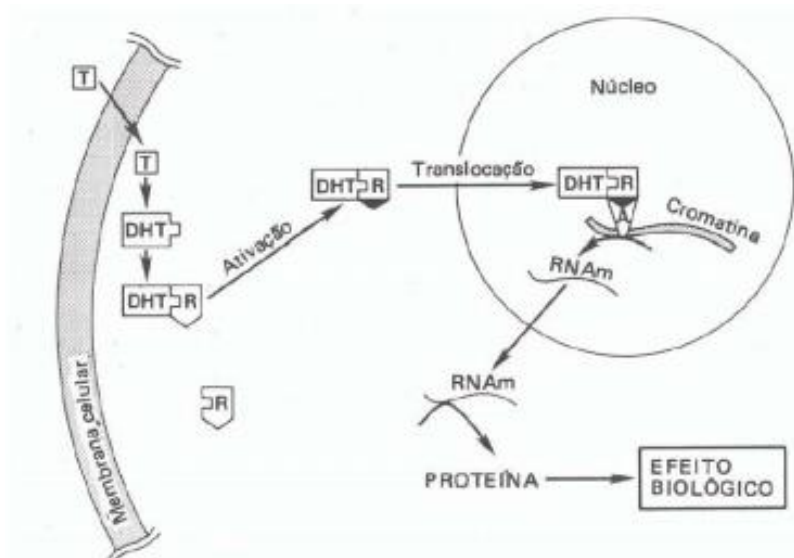


Figura 3: Ação da testosterona na célula.

Fonte: HEDGE, G. A; COLBY, H. D. ; GOODMAN, R. L.; (apud Osorio, 2011: p.10).

3.3.1 Esteróides Androgênicos Anabolizantes (EAAs)

Os derivados sintéticos da testosterona podem ser usados em tratamentos de deficiências androgênicas como hipogonadismo e de retardo da puberdade e crescimento (BHASIN et al., 1997); também no tratamento da osteoporose, de algumas anemias (CORRIGAN, 1999), em situações de obesidade e até em doenças cardiovasculares (ENGLISH et al., 2000). No sistema muscular, ajuda a tratar sarcopenias desenvolvidas por diversos fatores tais como cirrose, síndrome

da imunodeficiência adquirida e doenças pulmonares obstrutivas crônicas (SILVA; DANIELSKI, CZEPIELEWSKI, 2002).

A molécula de testosterona sozinha é muito susceptível à metabolização, que pode levar a sua inativação, assim ela é modificada adicionando-se um radical alquila para hormônios administrados oralmente e adicionado um éster para as drogas injetáveis. Mais recentemente, adesivos transdérmicos e *sprays* nasais têm sido utilizados (SILVA, DANIELSKI, CZEPIELEWSKI, 2002; FORTUNATO, ROSENTHAL; CARVALHO, 2007)

Os EAAs sintéticos da testosterona podem ser modificados a fim de potencializar sua atividade anabólica, de maneira a resultar em hipertrofia muscular, ao invés de atuar na atividade androgênica, e assim, produzem efeitos como síntese proteica, crescimento da fibra muscular e eritropoiese (MOTTRAM; GEORGE, 2000; SHAHIDI, 2001). Quando usados para essa finalidade, tanto com a prática de atividade física quanto sem ela, mas em doses muito maiores que as fisiológicas, podem resultar em efeitos colaterais e prejuízos para a saúde, tais como: problemas cardíacos, aumento da agressividade e diminuição no tamanho e peso do testículo, o que altera a fertilidade, uma vez que causa prejuízos na produção e morfologia dos espermatozoides conforme relatados em ratos tratados com decanoato de nandrolona (FOLETTTO et al., 2010).

Além disso, os efeitos dos anabolizantes sobre a síntese proteica influenciam o metabolismo e estimulam a formação de tecidos, assim como seu crescimento, não só no músculo, como em todos os órgãos do sistema genital masculino (WEINECK, 2005; FORTUNATO; ROSENTHAL; CARVALHO, 2007).

Relativo a morfologia do epidídimo, como nos demais órgãos genitais masculinos, os androgênios também são importantes. Estudos mostram que a supressão de testosterona resulta em diminuição do diâmetro luminal e da altura epitelial e depois que doses fisiológicas são administradas, essas mudanças são revertidas quase totalmente (ROBAIRE; HAMZEH, 2011). Por outro lado, quando as doses de esteroides androgênios são maiores que as fisiológicas, ocorre diminuição ou perda total de espermatozoides maturados no interior do lúmen do epidídimo e, ainda, presença de células germinativas degradadas na cauda do epidídimo (ODA; EL-ASHMAWY, 2012).

Essas consequências morfológicas podem ser explicadas pelo mecanismo de retroalimentação negativa, em que uma administração exógena de EAAs, aumenta

suas concentrações circulantes, e isso é um sinal para que o hipotálamo diminua a secreção GnRH (hormônio liberador de Gonadotrofina) e a hipófise, o LH (hormônio luteinizante), o que diminui a produção de testosterona endógena pelas células de Leydig (DOHLE; SMIT; WEBER, 2003; SHAHIDI, 2001; WEINECK, 2005).

Apesar desses efeitos, foi relatado um efeito compensador do exercício físico em relação à espermatogênese, depois de tratamento com doses supra fisiológicas de decanoato de nandrolona (um dos EAAs mais utilizados); mostrando assim, que a atividade física regular e programada pode reverter efeitos negativos causados por esteroides na morfologia dos órgãos reprodutivos, provavelmente por elevarem as concentrações da testosterona endógena (FOLETTTO et al, 2010).

3.3.2 Alterações no sistema genital masculino decorrentes do exercício físico

Alguns autores tratam que as mudanças que ocorrem na função reprodutiva de homens que praticam exercício físico não estão bem estabelecidas e que elas podem variar de acordo com a intensidade e duração do exercício, visto que ele pode alterar as concentrações de testosterona, e então, influenciar órgãos como o epidídimo tanto na fisiologia como na morfologia (CHATURAPANICH; CHAIYAKUL; VERAWATNAPAKUL, 2012; HACKNEY, 2001; HU et al., 2014; PATRÃO; SILVA; AVELLAR, 2009).

Um programa de exercícios de *endurance* tem o objetivo de desenvolver o metabolismo aeróbico com atividades de moderada intensidade, longa duração e praticamente sem repouso durante sua execução (HOLLOSZY; BOOTH, 1976). Nesse tipo de exercício, o corpo trabalha constantemente, numa atividade física generalizada, com ênfase no desenvolvimento cardiorrespiratório, absorvendo oxigênio nos pulmões, o qual é transportado para os músculos que estão em constantes contrações e, utilizá-lo pelas vias metabólicas oxidativas (TUBINO, 1979), dessa maneira, não desenvolve a musculatura de maneira a hipertrofia-la, pois utiliza-se do metabolismo aeróbico que tende a desenvolver diferente tipo de fibra muscular (fibra lenta) (PAULO; FORJAZ, 2001).

O exercício de *endurance* parece promover uma crescente concentração de testosterona no sangue, que por sua vez pode ter efeito sobre os segmentos do sistema genital masculino (GRANDYS; MAJERCZAK; DUDA, 2009) podendo aumentar significativamente o peso do epidídimo, glândulas seminais e próstata,

sem que essas alterações sejam prejudiciais à saúde ou à fertilidade (CHATURAPANICH, CHAIYAKUL; VERAWATNAPAKUL, 2012).

Entretanto, Smilios et al. (2005) afirmaram o contrário, que não há alterações na testosterona com esse tipo de treinamento. E ainda há pesquisas que afirmam que essas concentrações são diminuídas em treinamentos de *endurance* (CUMMING, 1984; HACKNEY; SINNING; BRUOT, 1988; WHEELER; WALL; BELCASTRO).

Treinamentos que focam a hipertrofia concentram-se no ganho de força muscular utilizando-se predominantemente de vias metabólicas de glicogenólise, glicólise e pelo desdobramento do ATP-CP (diferente dos exercícios de resistência), o que atinge tipo de musculatura rápida (ou de força). Para essa finalidade, o tipo de sobrecarga não é o aumento do tempo do exercício, e sim o aumento do peso ou do esforço necessário para realizar a atividade (BUCCI, et al., 2005).

A sobrecarga para os exercícios resistidos também pode ser realizada em meio aquático, sendo esse o meio escolhido para diversas pesquisas experimentais, pois é de fácil realização, e efetivo para essa finalidade (KUNZ et al., 2013; GAFFURI et al., 2011; MELO et al., 2015). Para resultados mais rápidos, as cargas têm que ser próximas ao máximo de força; para isso os exercícios são de alta intensidade, os quais podem diminuir a concentração do hormônio sexual masculino, prejudicar a qualidade do espermatozoide e, ainda, diminuir os índices somáticos de testículos, epidídimos, glândulas seminais e próstata (MANNA; JANNA; SAMANTA, 2003; MANNA; JANNA; SAMANTA, 2004; SAFARINEJAD; AZMAL; KOLAH, 2009).

Também há estudos como o de Tremblay; Copeland; Van Helder (2004), que afirmam que os treinamentos de alta intensidade (exercícios resistidos) aumentam as concentrações de testosterona endógena, o que pode ajudar a minimizar os efeitos da diminuição desse mesmo hormônio, sendo essa situação normal com o avanço na idade.

3.3.3 Alterações decorrentes do avanço da idade no sistema genital masculino

No homem, embora haja variações entre os indivíduos, há um declínio progressivo nas concentrações circulantes de testosterona e dehidroepiandrosterona (DHEA - precursor de hormônios sexuais), o qual é acompanhado por um acréscimo na conversão de androgênios em estrogênios,

resultando em um desequilíbrio em favor destes últimos com a idade (SRINIVASAN et al., 1995), somando-se também a queda nos níveis de DHT epitelial (BANERJEE et al., 2000).

Assim como todos os tecidos do corpo, o sistema genital masculino também sofre mudanças com o passar do tempo, há exemplos como: a diminuição gradual no percentual de túbulos seminíferos normais, a contagem total de espermatozoides, bem como a capacidade de células de Leydig a produzir testosterona (WANG et al., 1993; WRIGHT et al., 1993; ZIRKIN, 1993).

A manutenção da estrutura e função do epidídimo são dependentes de androgênio, sendo assim, com a idade podem sofrer alterações como as demonstradas por Serre; Robaire (1998): há diminuição significativa no peso da cauda, assim como a altura epitelial e o diâmetro luminal tendem a diminuir. Ainda foram observados no estudo o polimorfismo dos lisossomos, presença de vacúolos gigantes, espermiofagia, e a ativação do sistema imune (SERRE; ROBAIRE, 1998).

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, L. R.; ANDREOLO, J; SILVA, M. S. Utilização de suplemento alimentar e anabolizante por praticantes de musculação em academias de Goiânia-GO. **Rev. Bras. Ciênc. Mov.** v. 10, p. 13-18, 2002.
- BENOIT, M. J. Recherches anatomiques, cytologiques et histophysologiques sur les voies excrétrices du testicule chez les mammifères. **Archs. Anat. Histol. Embryol**, v. 5, p. 173-412, 1926.
- BHASIN, S. et al. Testosterone replacement increases fat-free mass and muscle size in hypogonadal men. **J. Clin. Endocrinol. Metab**, v. 82, p. 407-413, 1997.
- BOFF SR. Esteróides anabólicos e exercício: Ação e efeitos colaterais. **R. bras. Ciênc. e Mov.** v.18(1), p.81-88, 2010.
- BOYCE, E. G. Use and effectiveness of performance-enhancing substances. **J. Pharm. Pract**, v. 16, p. 22-36, 2003.
- BRENTON, S.; SMITH, P. J.; LUI, B.; BROWN, D. Acidification of male reproductive tract by a proton pumping (H⁺)-ATPase. **Nat. Med.**, v. 2, p. 470-472, 1996.
- BUCCI, M. et al. Efeitos do treinamento concomitante hipertrofia e endurance no músculo esquelético. **R. bras. Ci e Mov.** v.13, n.1, p. 17-28, 2005.
- CARDOSO, F.F. **Aspectos reprodutivos e sociais e resistência óssea em ratos machos submetidos ao exercício físico e/ou a um anabolizante esteroide.** Monografia - UNESP - Departamento de Farmacologia do Instituto de Biociências, Botucatu, 2008.
- CHATURAPANICH, G.; CHAIYAKUL, S.; VERAWATNAPAKUL, V.; YIMLAMAI, T.; PHOLPRAMOOL, C. Enhancement of aphrodisiac activity in male rats by ethanol extract of *Kaempferia parviflora* and exercise training. **Andrologia**, v. 44, p. 323–328, 2012.
- CONLEY, M.S.; ROZENEK, R. Position Statement: Health Aspects of Resistance Exercise and Training. **Strength and Conditioning Journal**. v. 23, p.9-23, 2001.
- CORRIGAN, B. Dehydroepiandrosterone and sport. **Med. J. Aust.**, v. 171, p. 206-208, 1999.
- CRAN, D. G.; JONES, R. Aging Male Reproductive System: Changes in the Epididymis. **Exp. Geront.** v. 15, p. 93-101, 1980.
- CREASY, D. M., FOSTER, P. M. D. **Handbook of toxicologic pathology**, v. 2. London: Academic Press, 2002.

DOHLE, G.R., SMIT, M., WEBER, R.F. Androgens and male fertility. **World J. Urol.**, v.21, n.5, p.341-345, 2003.

ENGLISH, K. M.; STEEDS, R. P.; JONES, T. H.; DIVER, M. J.; CHANNER, K. S. Low-dose transdermal testosterone therapy improves angina threshold in men with chronic stable angina: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. **Circulation**, v. 102, p. 1906-1911, 2000.

ESTEVIÃO, A.; BAGRICHEVSKY, M. Cultura da “corpolatria” e body-building: notas para reflexão. **Revista Mackenzie de Educação Física e Esporte**, v.3 p.13-25, 2004.

EVANS, N. A. Currents concepts in anabolic-androgenic esterooids. **Am. J. Sports Med.**,v. 23, p. 534-542, 2004.

FAWCETT, D. W.; HOFFER, A. P. Failure of exogenous androgen to prevent regression of the initial segments of the rat epididymis after efferent duct ligation or orchidectomy. **Biol. Reprod.**, v. 20, p.162-181, 1979.

FERNANDEZ, C.D.; PORTO, E. M.; ARENA, A.C.; KEMPINAS, W. D. E. G..Effects of altered epididymal sperm transit time on sperm quality. **Int J Androl.** v. 31, p. 427-437,2008.

FERREIRA, L. E. **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.

FOLETTTO, M. P. COSTA, C. E. M.; FERRARI, F.; MORAES, S. M. F; SEGATELLI, T. M. Effect of the nandrolone decanoate on the efficiency of spermatogenesis of sedentary rats and rats subjected to physical training. **Acta Sci. Health Sci.**, Maringá, v. 32, p. 17-22, 2010.

FORTUNATO, R. S.; ROSENTHAL, D.; CARVALHO, D. P. Abuso de esteróides anabolizantes e seu impacto sobre a função tireóidea. **Arq. Bras. Endoc. Metab.** São Paulo, v. 51, p. 1417-1424, 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abem/v51n9/01.pdf>.>Acesso em: Outubro, 2014.

GAFFURI, J. et al. Avaliação do Exercício Físico Como Fator de Analgesia em Um Modelo Experimental de Cialgia. **Rev Bras Med Esporte.** v.17, n. 2, 2011.

GRANDYS, M.; MAJERCZAK, J.; DUDA, K.; ZAPART-BUKOWSKA, J.; KULPA, J.; ZOLADZ, J. A. Endurance training of moderate intensity increases testosterone concentration in young healthy men. **Int. J. Sports Med.**, v. 30, p. 489–495, 2009.

HACKNEY A. C.; SINNING, W.E.; BRUOT, B.C. Reproductive hormonal profiles of endurance-trained and untrained males. **Med Sci Sports Exerc.** v.20, p. 60–65, 1988.

HACKNEY, A. C. Endurance exercise training and reproductive endocrine dysfunction in men: alterations in the hypothalamic– pituitary–testicular axis. **Cur, Pharm. Des.**, v. 4, p. 261–273, 2001.

HAKKINEN, K.; PAKARINEN, A.; ALEN, M.; KAUKANEN, H.; KOMI, P. V. Neuromuscular and hormonal adaptations in athletes to strength training in two years. **J Appl Physiol**, v.65, p. 2406–2412, 1988.

HARRI, M.; KUUSELA, P. Is swimming exercise or cold exposure for rats? **Acta Physiol. Scand.**, v. 126, p. 189-197, 1986.

HEDGE, G. A; COLBY, H. D. ; GOODMAN, R. L. **Fisiologia endócrina clínica**. São Paulo: Interlivros Edições Ltda, p.151-175, 1988.

HERMO, L.; ADAMALI, H. I.; ANDONIAN, S. Immunolocalization of Ca II and Hp V-ATPase in epithelial cells of the mouse and rat epididymis. **J. Androl.**, v. 21, p.376-391, 2000.

HERMO, L.; SMITH, C. E. Thirsty Business: Cell, Region, and Membrane Specificity of Aquaporins in the Testis, Efferent Ducts, and Epididymis and Factors Regulating Their Expression. **J. Androl.**, v. 32, p. 565–575, 2011.

HEVERT, S.; BARROS FILHO T. E. P.; XAVIER, R.; PARDINI JUNIOR A. G. Ortopedia e Traumatologia: Princípios e Prática. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

HOLLOSZY, J. O.; BOOTH, F. W. Biochemical Adaptations to Endurance Exercise in Muscle. **Ann. Rev. Phys.**, v. 9, p. 273-291, 1976.

IRIART, J. A. B.; CHAVES, J. C.; ORLEANS, R. G. Body cult and use of anabolic steroids by Bodybuilders. **Cad. Saúde Públ.** Rio de Janeiro, n. 25, v. 4, p. 773-782, 2009

JONES, R. C.; MURDOCH, R. N. Regulation of the motility and metabolism of spermatozoa for storage in the epididymis of eutheran and marsupial mammals. **Reprod. Fertil. Dev.**, v.4, n. 8, p. 553-568, 1996.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**, 9 ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1999.

KLAASSEN, C. D.; WALKINS, J. B. Princípios gerais de toxicologia. In: SANCHO, L. **Toxicologia: a ciência básica dos tóxicos**. 5 ed. Lisboa: McGraw-Hill, 2001.

KUNZ, R. I. et al. Efeitos da imobilização e remobilização pela combinação natação e salto em meio aquático, sobre a morfologia do músculo tibial anterior de ratos. **Publ. UEPG Ciências Biol. Saúde**. v.19, n.2, p. 123-129, jul./dez. 2013.

MANNA, I.; JANA, K.; SAMANTA, P. K. Effect of intensive exercise-induced testicular gametogenic and steroidogenic disorders in mature male Wistar strain rats: a correlative approach to oxidative stress. **Acta Physiol. Scand.**, v. 178, p. 33–40, 2003.

- MANNA, I.; JANA, K.; SAMANTA, P. K. Effect of different intensities of swimming exercise on testicular oxidative stress and reproductive dysfunction in mature male albino Wistar rats. **Indian J Exp Biol.** v. 42, p.816-822, 2004
- MARIEB, E. N. The reproductive system. In: **Human anatomy and physiology.** 6 ed. San Francisco CA: Editora Pearson Benjamin Cummings, 1998.
- MARQUES, M. A. S.; PEREIRA, H. M. G.; AQUINO NETO, F. R. Controle de dopagem de anabolizantes: o perfil esteroidal e suas regulações. **Rev Bras Med Esporte**, v. 9, p. 15-24, 2003.
- 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.
- MATA, P. T. G. **Influência da dieta de cafeteria sobre a morfologia e expressão de il6 e aquaporinas 1 e 9 no epidídimo de ratos wistar.** Cascavel, Pr. Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Biociências e Saúde - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2014.
- MELNIK, B.; JANSEN, T.; GRABBE, S. Abuse of anabolic-androgenic steroids and bodybuilding acne: an underestimated health problem. **J. Dtsch. Dermatol. Ges.**, v.5, p. 110-117, 2007.
- MELO NETO, J. S. et al. The effects of high doses of nandrolone decanoate and exercise on prostate microvasculature of adult and older rats. **Life Sciences.** v. 121 p. 16–21, 2015.
- MOTTRAM, D. R.; GEORGE, A. J. Anabolic steroids. **Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 14, p. 55–69, 2000.
- ODA, S. S.; EL-ASHMAWY, I. M. Adverse effects of the anabolic steroid, boldenone undecylenate, on reproductive functions of male rabbits. **Int. J. Exp. Path.**,v. 93, p. 172–178, 2012.
- OLIVEIRA, C. A.; CARNES, K.; FRANÇA, L. R.; HERMO, L.; HESS, R. A. Aquaporin-1 and -9 are differentially regulated by oestrogen in the efferent ductile epithelium and initial segment of the epididymis. **Biol. Cell.**, v. 97, p. 385-395, 2005a.
- OLIVEIRA, R. J.; OLIVA, S. U.; DAROZ, G. A.; RÚBIO, E.M. Avaliação da fertilidade e de possíveis defeitos estruturais externos sobre a prole de ratos machos expostos cronicamente ao arsênio. **Rev. Bras. Toxicol.** v. 18, p. 57-61, 2005b.
- OSÓRIO, L. F. B. Os esteroides anabolizantes e a sociedade. Brasília, DF. Monografia apresentada no Instituto de Química da Universidade de Brasília, 2011.

PALMER, N. O.; BAKOS, H. W.; OWENS, J. A.; SETCHELL, B. P.; LANE, M. Diet and exercise in an obese mouse fed a high-fat diet improve metabolic health and reverse perturbed sperm function. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.** v. 302, p. 768-780, 2012.

PARADA, B.; REQUIXA, A.; FIGUEIREDO, A.; MOTA, A. Infertilidade Masculina e Factores Ambientais. **Acta Urol.** v. 21, p. 9-15, 2004.

PATRÃO, M. T. C. C.; SILVA, E. J. R.; AVELLAR, M. C. W. Androgens and the male reproductive tract: an overview of classical roles and current perspectives. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 53, n. 8, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302009000800006>. Acesso em: jun. 2014.

PAULO, A. C.; FORJAZ, C. L. de M. Treinamento Físico de *Endurance* e de Força Máxima: Adaptações Cardiovasculares e relações com a *Performance* Esportiva. **Rev. Bras. Cienc. Esporte.** v. 22, n. 2, p. 99-114, 2001.

PERES, M.A. **Influencia da Distrofia muscular de Golden Retriever (GRMD) na viabilidade espermática e nas características morfológicas do aparelho reprodutor masculino.** São Paulo, SP. Tese de Doutorado da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, 2009.

POULSEN, H.E.; LOFT, S.; VISTISEN, K. Extreme exercise and oxidative DNA modification. **J. Sports Sci.** v.14, p. 343–346, 1996.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. **Farmacologia.** 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. p.422, 423

ROBAIRE, B.; HAMZEH, M. Androgen Action in the Epididymis. **J. Androl.** v. 32, p. 592-599, 2011.

ROBAIRE, B.; HINTON, B. T.; ORGEBIN-CRIST, M. C. The epididymis. In: Knobil, E.; Neill, J., (org). **Physiol. Reprod.** New York: Elsevier, 2006.

ROBAIRE, B.; SEENUNDUN, S.; HAMZEH, M.; LAMOUR, S. A.. Androgenic regulation of novel genes in the epididymis. **Asian J. Androl.** v. 9, p. 545-553, 2007.

ROBAIRE, B., VIGER, R. S. Regulation of epididymal epithelial cell functions. **Biol. Reprod.** v. 52, p. 226-236, 1995.

SERRE, V.; ROBAIRE, B. Segment-Specific Morphological Changes in Aging Brown Norway Rat Epididymis. **Biol. Reprod.** v. 58, p. 497-513, 1998.

SETCHELL, P. B.; BREED, W. G. Anatomy, Vasculature and Innervation of the Male Reproductive Tract. In: **Knobil and Neill's Physiology of Reproduction.** 3 ed., New York: Elsevier, 2006.

SHAHIDI, N. T. A review of the chemistry, biological action, and clinical applications of anabolic-androgenic steroids. **Clin. Ther**, v. 23, p.1355–1390, 2001.

SHOKRI, S. et al. Exercise and Supraphysiological Dose of Nandrolone Decanoate Increase Apoptosis in Spermatogenic Cells. **Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.** v. 106, p. 324-330, 2009.

SILVA, I. S. M. F.; MOREAU, R. L. M. Uso de esteróides anabólicos androgênicos por praticantes de musculação de grandes academias da cidade de São Paulo. **Rev. Bras. Ciênc. Farm.** v. 39, p. 327-333, 2003.

SILVA, P. R. P.; DANIELSKI, R.; CZEPIELEWSKI, M. A. Esteróides Anabolizantes no Esporte. **Rev. Bras. Med. Esporte**, v. 8, n. 6. nov./dez., 2002. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbme/v8n6/v8n6a05.pdf>>. Acesso em: Maio, 2014.

SILVA, P. R. P.; MACHADO JUNIOR, L. C.; FIGUEIREDO, V. C.; CIOFFI, A. P.; PRESTES, M. C.; CZEPIELEWSKI, M. A. Prevalência do uso de agentes anabólicos, em praticantes de musculação de Porto Alegre. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.** n. 5, p. 104-110, 2007.

SILVA, T. A. **Avaliação do efeito do chumbo na qualidade espermática de humanos e de ratinhos**. Cidade do Porto, Portugal. Dissertação de Mestrado em Zoologia e Antropologia, Universidade do Porto, 2007.

SMILIOS, I.; PILIANIDIS, T.; SOTIROPOULOS, K.; ANTONAKIS, M.; TOKMAKIDIS, S. P. Short-term effects of selected exercise and load in contrast training on vertical jump performance. **J. Strength Cond. Res.**, v.19, n.1, p.135-139, 2005.

SULLIVAN, R.; SAEZ, F.; GIROUARD, J.; FRENETTE, G. Role of exosomes in sperm maturation during the transit along the male reproductive tract. **Blood Cells Mol. Dis.**, v. 35, p. 1-10, 2005.

SUN, E. L.; FLICKNGER, C. J. Development of cell types and of regional differences in the postnatal rat epididymis. **Am. J. Anat.**, v. 154, p. 27-55, 1979.

THOMAS, J. R.; NELSON, J. K. **Métodos de pesquisa em atividade física**. 3 ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2002.

TREMBLAY, M.S.; COPELAND, J.L.; VAN HELDER, W. Influence of exercise duration on post-exercise steroid hormone responses in trained males. **Eur. J. Appl. Physiol.**, v.94, n.5-6, p.505-513, 2005.

TUBINO, M. J. G. **Metodologia científica do treinamento desportivo**. Ibrasa: São Paulo, 1979.

VEIGA, A. P. **A institucionalização da beleza no universo feminino**. IGT na rede. v. 3, n. 5, 2006. Disponível em: <<http://www.igt.psc.br/revistas/seer/ojs/viewarticle.php?id=16&layout=html>>. Acesso em: Maio. 2014.

VENÂNCIO, D. P. et.al. Avaliação descritiva sobre o uso de esteroides anabolizantes e seu efeito sobre as variáveis bioquímicas e neuroendócrinas em indivíduos que praticam exercício resistido. **Rev Bras Med Esporte**. v.16, p. 191-195, 2010.

WEINECK, J. **Biologia do esporte**. Tradução: Luciano Prado. 7 ed. Barueri: Manole, 2005. P.595-604.

WHEELER, G.D.; WALL, S. R.; BELCASTRO, A.N.; CUMMING, D.C. Reduced serum testosterone and prolactin levels in male distance runners. **JAMA**, v.252, p.514–516, 1984.

World Health Organization – WHO. **Mother or nothing: the agony of infertility**. 2010.

5. ARTIGO CIENTÍFICO

Os resultados obtidos possibilitaram elaborar o artigo: “EXERCÍCIOS RESISTIDOS E USO DE DECANOATO DE NANDROLONA ALTERAM O EPIDÍDIMO DE RATOS ADULTOS E IDOSOS” submetido à Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports.

**EXERCÍCIOS RESISTIDOS E USO DE DECANOATO DE
NANDROLONA ALTERAM O EPIDÍDIMO DE RATOS ADULTOS E
IDOSOS**

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 que 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 the subject of studies to be sensitive to changes in the concentration of androgens, 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, and these changes occurred mainly in the initial segments. The

older age groups tended to return to normal, except for the cauda of the GNEi. 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.

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.

Objetivo: 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 seus efeitos crônicos com o envelhecimento.

MATERIAIS E MÉTODOS

Local e amostra:

As atividades de pesquisa foram realizadas no Laboratório de Pesquisa do Departamento de Anatomia, IBB-UNESP, Botucatu e no Laboratório Experimental de Morfologia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Cascavel, PR). Foram utilizados 56 ratos Sprague-Dawley, virgens com 13 semanas de idade, obtidos do Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica da Universidade Estadual de Campinas. 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).

Todos os procedimentos experimentais deste trabalho foram aprovados pelo Comitê de Ética de Experimentação Animal do IBB/UNESP (Protocolo nº 385).

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: Esquemática 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

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).

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 cinco

saltos, 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 (% Peso corporal)
1 ^o	2 séries de 5 saltos (50%)
2 ^o	3 séries de 5 saltos (50%)
3 ^o	4 séries de 5 saltos (50%)
4 ^o	4 séries de 7 saltos (50%)
5 ^o	4 séries de 9 saltos (50%)
6 ^o ao 20 ^o	4 séries de 10 saltos (50%)
21 ^o ao 35 ^o	4 séries de 10 saltos (60%)
36 ^o ao 54 ^o	4 séries de 10 saltos (70%)

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.

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 CO₂ 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*[®].

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).

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).

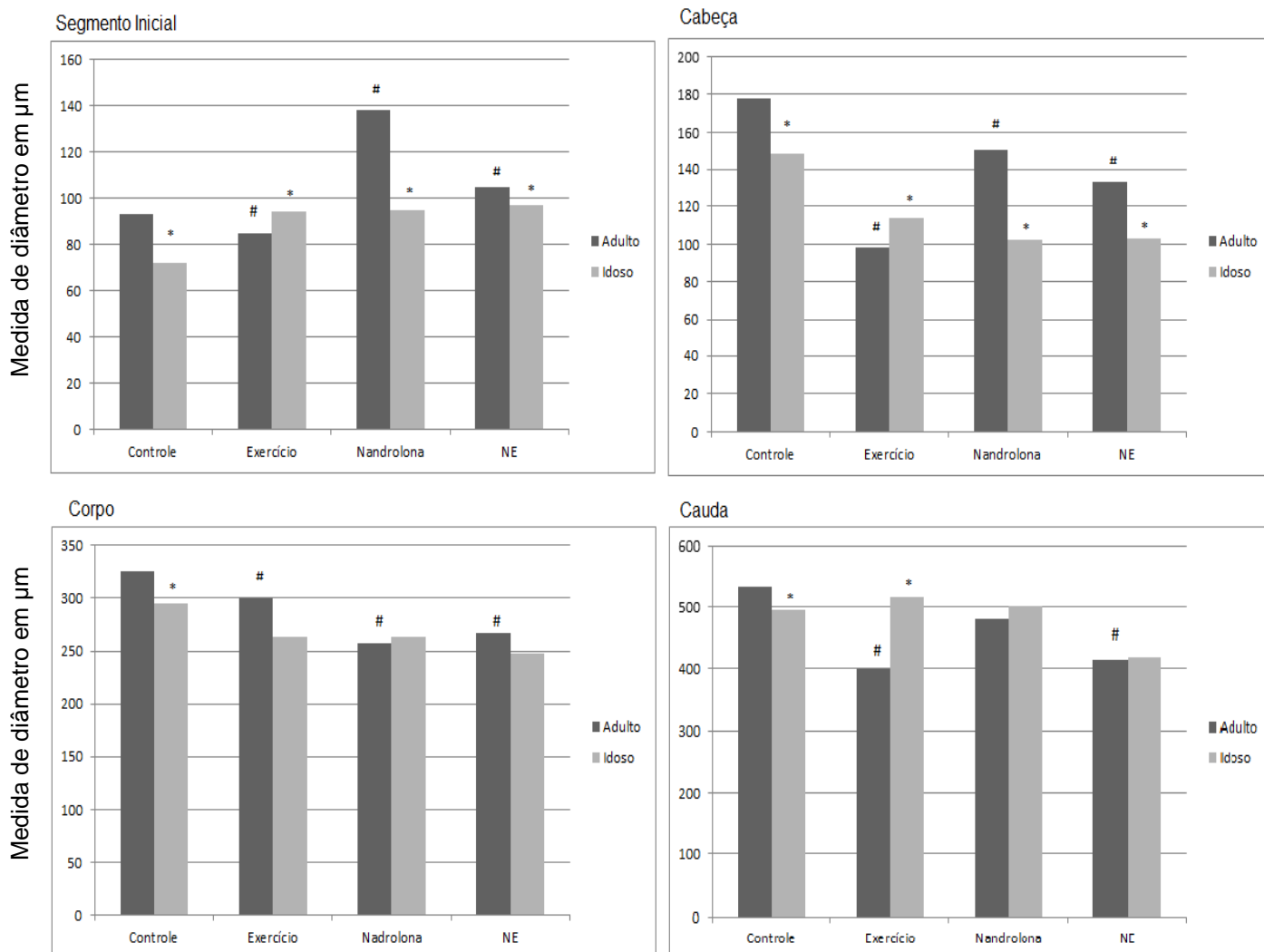


Figura 1: Comparação do Diâmetro de ducto epididimário dos grupos adultos e idosos. * $p < 0,05$, comparando grupo idoso com adulto de mesma variável. # $p < 0,05$: comparação dos Grupos adultos experimentais com o Controle.

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).

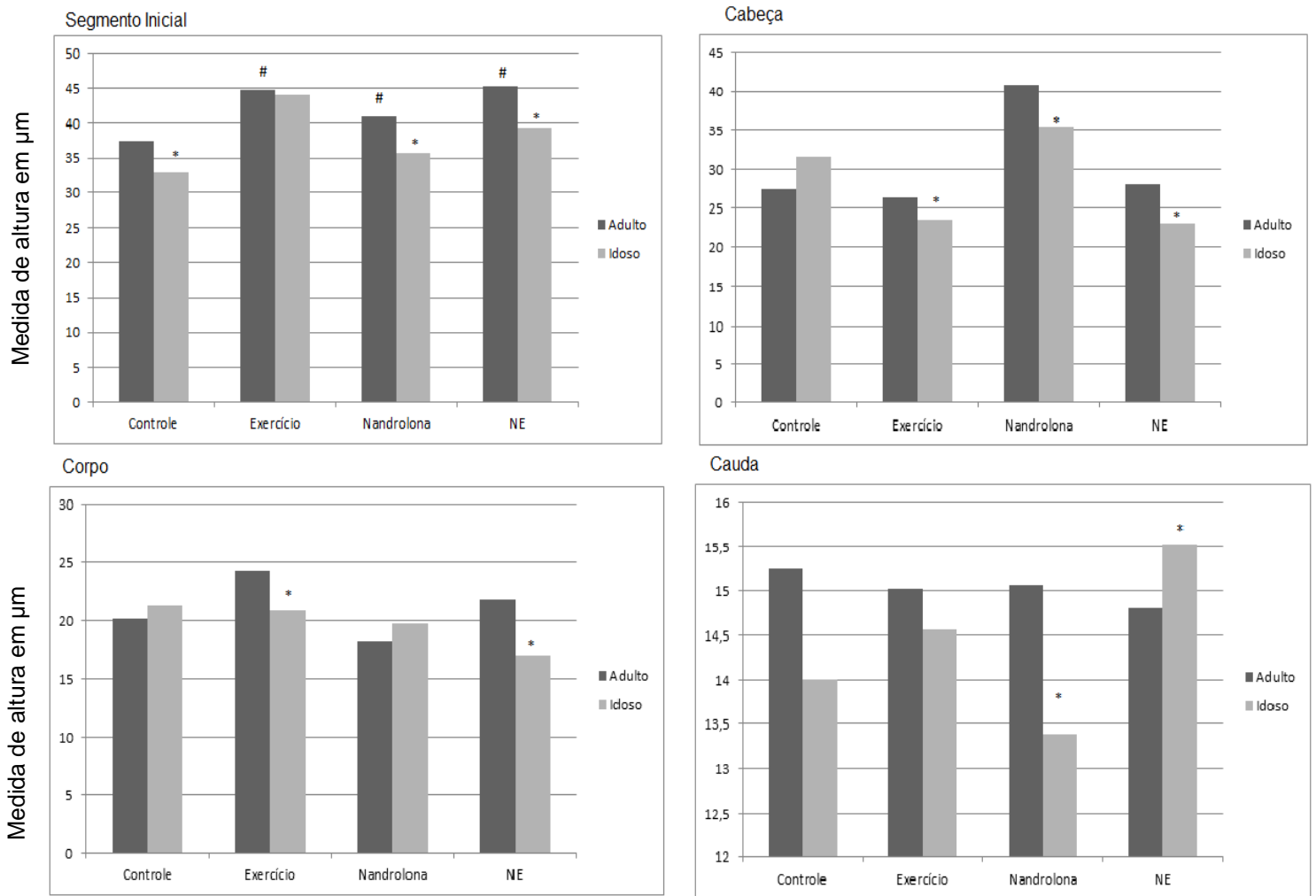


Figura 2: Comparação de Altura Epitelial nos grupos adultos e idosos. * $p < 0,05$, comparando grupo idoso com adulto de mesma variável. # $p < 0,05$: comparação dos Grupos adultos experimentais com o Controle.

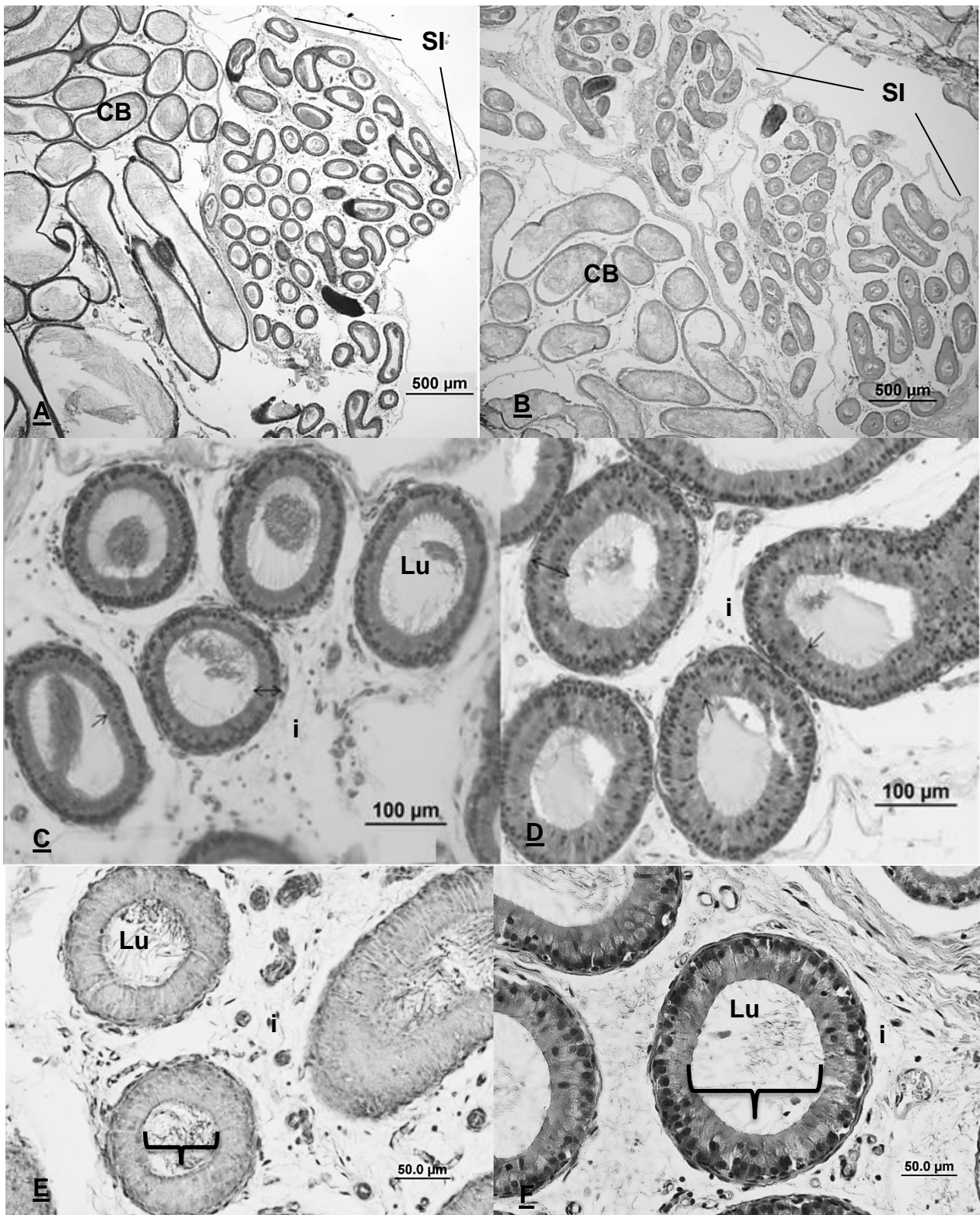


Figura 3: Fotomicrografias de seções transversais do segmento inicial do epidídimo dos animais dos Grupos controle – GC (A,C), exercício – GE (B,E), nandrolona/exercício - GNE (D), exercício idoso – GEi (F). Notar: aumento da altura epitelial no segmento inicial em GNE (D) comparado com GC (C) e aumento de diâmetro em GEi (F) comparado com GE (E). São indicados: segmento inicial (SI), cabeça do epidídimo (CB), células halo (→), consideradas linfócitos intraepiteliais, indicativa de atividade inflamatória; altura epitelial (↔); diâmetro do ducto ({), Lúmen (Lu); interstício(i). Coloração de Hematoxilina e Eosina.

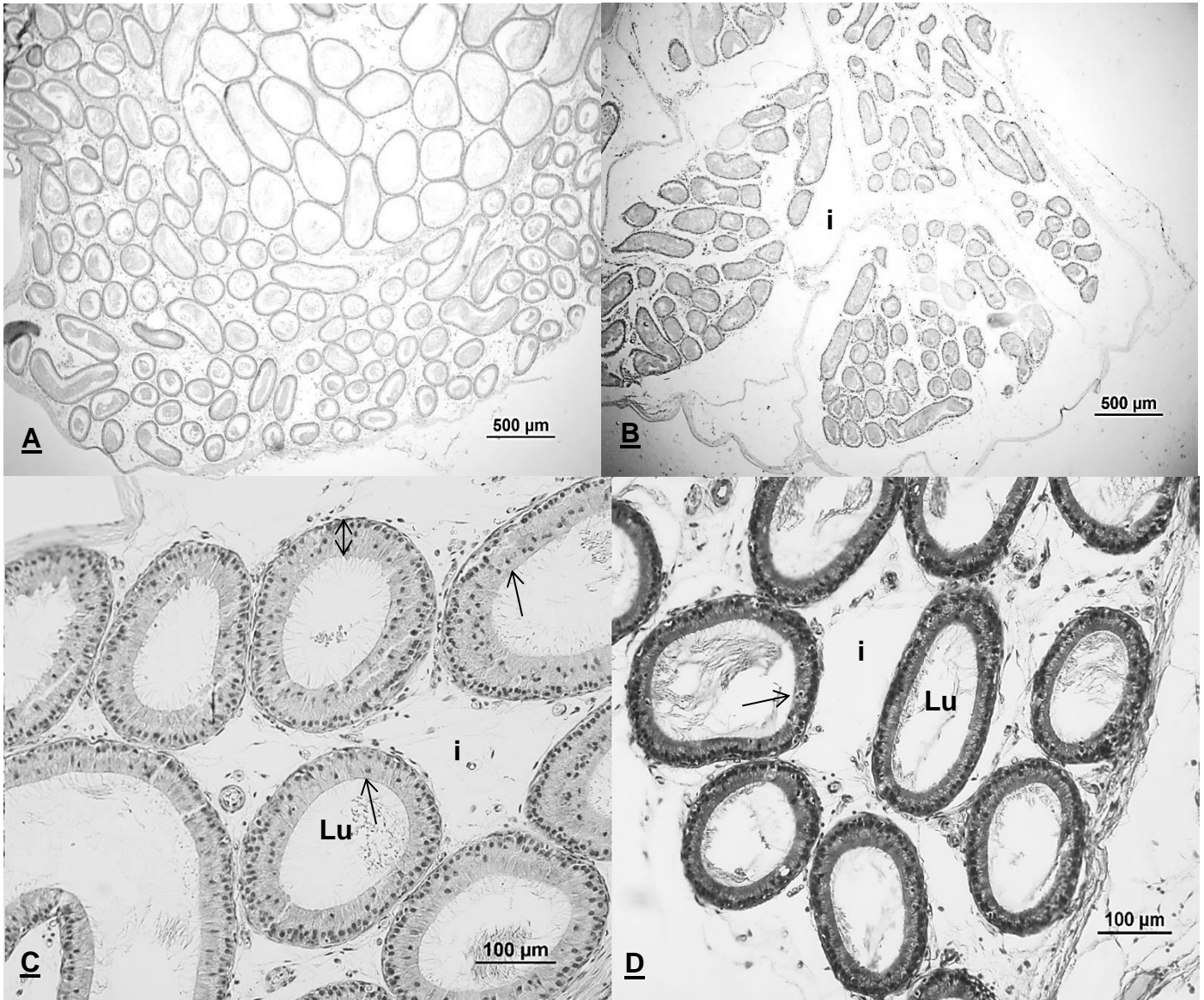


Figura 4: Fotomicrografia de secções transversais do epidídimo de ratos Sprague-Dawley, mostrando segmento inicial, cabeça e parte proximal do corpo do Grupo Controle - GC (A) em comparação a Grupo Controle idoso - GCi (B), onde nota-se involução do epitélio. E em detalhe, segmento inicial do Grupo Nandrolona - 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.

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).

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 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.

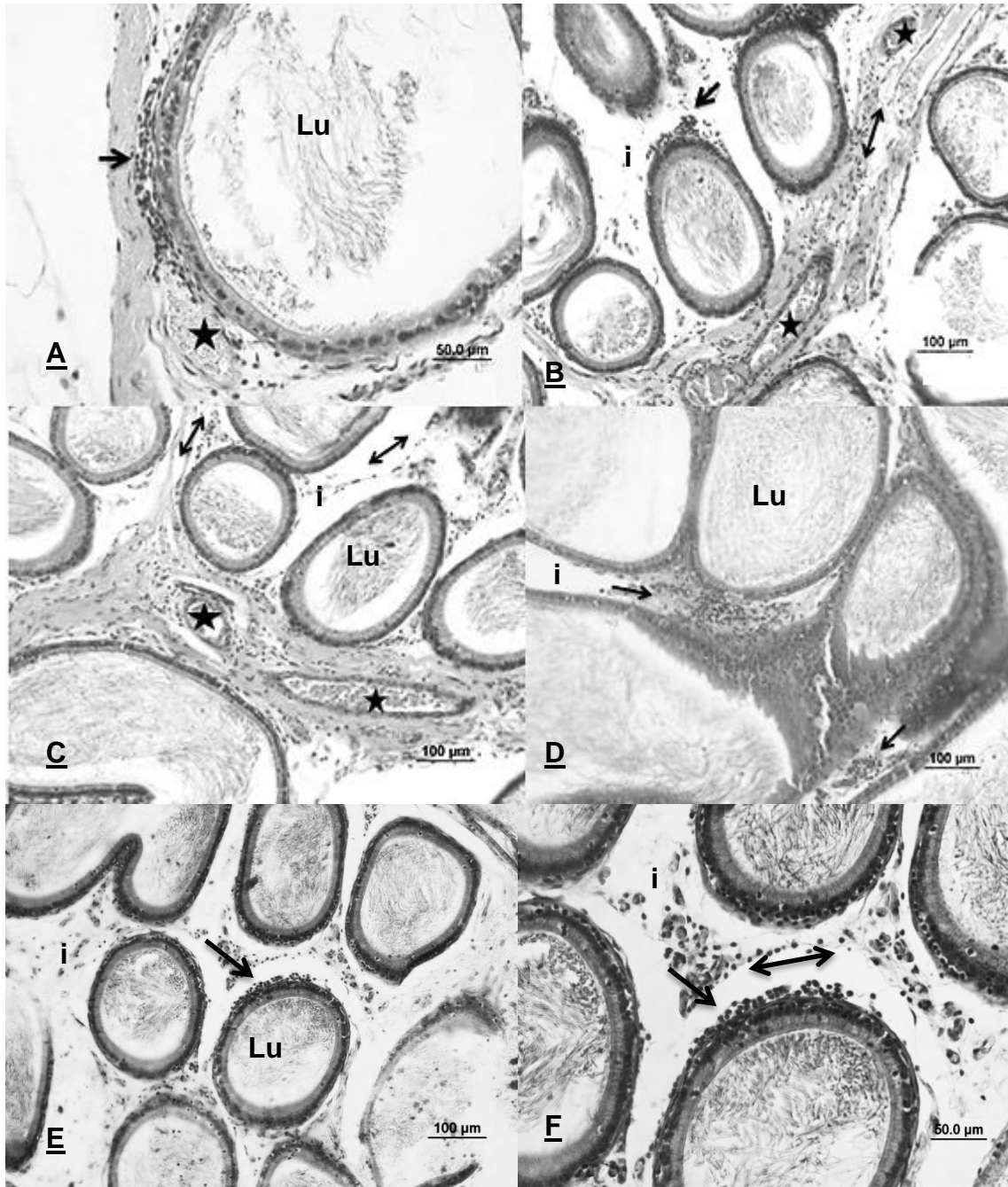


Figura 6. Fotomicrografia, corte transversal de epidídimo de rato Sprague-Dawley dos grupos: Grupo Nandrolona - GN (A) cabeça transição com corpo, Grupo Nandrolona/Exercício - GNE (em B e C) cabeça e corpo, Grupo Exercício - GE (em D) corpo e Grupo Controle idoso - GCi (E e no detalhe, F) cabeça. São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

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 ($0,5\text{mg/kg}^{-1}$ 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 ($0,5\text{mg/kg}^{-1}$ 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.

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:

1. Veiga AP. A institucionalização da beleza no universo feminino. IGT na rede. 2006;3(5):1-9.
2. Conley M.S.; Rozenek R. Position Statement: Health Aspects of Resistance Exercise and Training. *Strength Cond J.* 2001; 23(6):9-23.
3. 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
4. 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.
5. 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 Cíatalgia. *Rev Bras Med Esporte.* 2011;17(2):115-8.
6. Melo JS, Gomes FC, Pinheiro PFF, Pereira S, Scanaro WR, Fávaro 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.
7. 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.
8. Boyce EG. Use and effectiveness of performance-enhancing substances. *J. Pharm. Pract.* 2003;16(1);22-36.
9. Evans NA. Currents concepts in anabolic-androgenic esterooids. *Am. J. Sports Med.* 2004;23(2):534-42.
10. 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.
11. 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.
12. 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.

13. 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.
14. Benoit MJ. Recherches anatomiques, cytologiques et histophysologiques sur les voies excrétrices du testicule chez les mammifères. *Archs. Anat. Histol. Embryol.* 1926;5(1):173-412.
15. Serre V, Robaire B. Segment-Specific Morphological Changes in Aging Brown Norway Rat Epididymis. *Biol. Reprod.* 1998;58(2):497-513.
16. 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.
17. 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.
18. 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.
19. 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.
20. 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.
21. Harri M, Kuusela P. Is swimming exercise or cold exposure for rats? *Acta Physiol. Scand.* 1986;126(6):189-97.
22. 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.
23. 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.
24. 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.
25. Smithwick EB, Young LG. Histological effects of androgen deprivation on the adult chimpanzee epididymis. *Tissue Cell.* 2001;33(5):450-61.

26. 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.
27. Muller FL, Lustgarten MS, Jang Y, Richardson A, Remmen HV. Trends in oxidative aging theories. *Free Radical Bio Med*. 2007;43(4):477-503.
28. 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.
29. 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.
30. 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.
31. 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).
32. 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.
33. Lanning LL. Recommended Approaches for the Evaluation of Testicular and Epididymal Toxicity. *Exp Toxicol Pathol*. 2002;30(4):507–50.
34. 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.
35. Flickinger CJ et al. Inflammatory changes in the epididymis after vasectomy in the Lewis rat. *Biol. Reprod*. 1990; 43(1):34-45.

6. ANEXOS

Anexo A: aprovação do comitê de ética animal:



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



Certificado

Certificamos que o Protocolo nº **385-CEUA**, sobre “Efeitos da interação entre o uso de altas doses de Decanoato de Nandrolona e o exercício resistido durante a fase pós-púbere sobre a próstata de ratos em processo de envelhecimento”, sob a responsabilidade de **Raquel Fantin Domeniconi**, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado “Ad referendum” da **COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)**, nesta data.

Botucatu, 08 de março de 2012.



Prof.ª Dr.ª Patrícia Fernanda Felipe Pinheiro
Presidente da CEUA

Instituto de Biociências - Diretoria Técnica Acadêmica
Distrito da Rubião Júnior s/n CEP 18618-970 Botucatu SP Brasil
Tel 14 3811 6013/6014 fax 14 3815 3744 e-mail: dta@ibb.unesp.br

Anexo B: Normas da Revista Brasileira de Medicina do Esporte

Author Guidelines

Instructions to Authors

Articles accepted for publication will be published in our e-only section - and not in print.

Manuscripts should be submitted at [ScholarOne Manuscripts](#). Instructions for using the system can be found on the site. Furthermore, an author guide is available in the “User Tutorials” area of the site if assistance is needed.

Manuscripts can be submitted as either “original” or “review”. In addition, book reviews, abstracts of sports medicine interest, and announcement of consensus statements or meeting reviews and other topics of interest can be submitted to the “sports medicine update” section.

The submission should include a letter stating that the manuscript contains original material only that has not previously been published, and is not currently under consideration elsewhere, nor will be submitted elsewhere until a final decision has been made by the journal.

Please note that we now accept .doc and .docx files.

Copyright

If your paper is accepted, the author identified as the formal corresponding author for the paper will receive an email prompting them to login into Author Services; where via the Wiley Author Licensing Service (WALS) they will be able to complete the license agreement on behalf of all authors on the paper.

For authors signing the copyright transfer agreement

If the OnlineOpen option is not selected the corresponding author will be presented with the copyright transfer agreement (CTA) to sign. The terms and conditions of the CTA can be previewed in the samples associated with the Copyright FAQs below:

[CTA Terms and Conditions](#)

For authors choosing OnlineOpen

If the OnlineOpen option is selected the corresponding author will have a choice of the following Creative Commons License Open Access Agreements (OAA):

Creative Commons Attribution License OAA

Creative Commons Attribution Non-Commercial License OAA

Creative Commons Attribution Non-Commercial -NoDerivs License OAA

To preview the terms and conditions of these open access agreements please visit the Copyright FAQs hosted on [Wiley Author Services](#) and [Wiley Open Access](#).

If you select the OnlineOpen option and your research is funded by The Wellcome Trust and members of the Research Councils UK (RCUK) or the Austrian Science Fund (FWF) you will be given the opportunity to publish your article under a CC-BY license supporting you in complying with your Funder requirements. For more information on this policy and the Journal's compliant self-archiving policy please click [here](#).

Open Access

Open access publishing is available to authors of primary research articles who wish to make their article available to non-subscribers on publication, or whose funding agency requires grantees to archive the final version of their article. With OnlineOpen, the author, the author's funding agency, or the author's institution pays a fee to ensure that the article is made available to non-subscribers upon publication via Wiley Online Library, as well as deposited in the funding agency's preferred archive.

For more information on OnlineOpen including the full list of terms and conditions and the online order form please go [here](#).

Prior to acceptance there is no requirement to inform an Editorial Office that you intend to publish your paper OnlineOpen if you do not wish to. All OnlineOpen articles are treated in the same way as any other article. They go through the journal's standard peer-review process and will be accepted or rejected based on their own merit.

Manuscript Preparation

When preparing manuscripts for submission, authors should follow the style of the journal:

1. Manuscripts should be divided into:

- Title page (including contact name and address including phone, fax and e-mail, and with a title not exceeding 120 characters and a running head of not more than 45 characters)
- Abstract (less than 250 words)
- Keywords (3–8 words other than those mentioned in title or abstract)
- Introduction - Materials and methods (including statement that informed consent and local ethics committee approval has been provided for human studies)
- Results, discussion, perspective and acknowledgements (if any)
- References*
- Tables, figure legends and figures - units should be SI and metric

2. It is mandatory that all manuscripts include a brief perspective paragraph at the end of the discussion in which the findings are put into perspective in the relevant area of sports medicine. This includes reference to possible previous articles in this and other journals and the potential impact of the present findings. This paragraph should not exceed 200 words.

3. As a general rule, no more than 40 references should be cited in a full text original article (120 in reviews). References* should be cited in alphabetical order, regardless of chronology, and without numbers. In the text references should include the authors and the year of publication in parenthesis, e.g. (Saltin, 1998), except when the authors name is part of the sentence, e.g. "Saltin (1998) showed that...". When several references are cited together they should be in chronological order, separated by semicolons. When a referenced article is written by two authors both names should be included; for three or more authors the first name only is given, followed by "et al.". Unpublished material may be referred to sparingly in the text, by giving the author's name and initials followed by "unpublished observation" or "personal communication"; it should not appear in the list of references. References should be written in accordance with Index Medicus (e.g. Messner K. Meniscal regeneration or meniscal transplantation? Scand J Med Sci Sports 1999; 9: 162–167). References to book material should include book title, author, editors, publisher, publication year, and pages.

4. Tables should be typed on separate sheets numbered with Arabic numerals, and have self-explanatory headings. Authors are strongly recommended to include illustrative figures in their manuscripts instead of large tables. The detailed tables themselves can instead be submitted as '[supporting information](#)'.

5. Figures should have a title, be accompanied by a legend on a separate sheet and be self-explanatory.

Author material archive policy: Please note that unless specifically requested, Wiley-Blackwell will dispose of all hardcopy or electronic material submitted three months after publication. If you require the return of any material submitted, please inform the editorial office or production editor as soon as possible if you have not yet done so.

Proofs

The corresponding author will receive an email alert containing a link to a web site. A working e-mail address must therefore be provided for the corresponding author. The proof can be downloaded as a PDF (portable document format) file from this site. Acrobat Reader will be required in order to read this file. This software can be downloaded (free of charge) [here](#).

This will enable the file to be opened, read on screen and printed out in order for any corrections to be added. Further instructions will be sent with the proof. Hard copy proofs will be posted if no e-mail address is available. Excessive changes made by the author in the proofs, excluding typesetting errors, will be charged separately.

The *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports* is covered by Wiley-Blackwell's Early View Service. Early View articles are complete full-text articles published online in advance of their publication in a printed issue. Articles are therefore available as soon as they are ready, rather than having to wait for the next scheduled print issue. Early View articles are complete and final. They have been fully reviewed, revised and edited for publication, and the authors' final corrections have been incorporated. Because they are in final form, no changes can be made after online publication. The nature of Early View articles means that they do not yet have volume, issue or page numbers, so Early View articles cannot be cited in the traditional way. They are therefore given a Digital Object Identifier (DOI), which allows the article to be cited and tracked before it is allocated to an issue. After print publication, the DOI remains valid and can continue to be used to cite and access the article.

Online production tracking is available for your article through Wiley-Blackwell's **Author Services**. Author Services enables authors to track their article - once it has been accepted - through the production process to publication online and in print. Authors can check the status of their articles online and choose to receive automated e-mails at key stages of production so they don't need to contact the production editor to check on progress. Visit [Author Services](#) for more details on online production tracking and for a wealth of resources including FAQs and tips on article preparation, submission and more.

* We recommend the use of a tool such as [Reference Manager](#) for reference management and formatting. Reference Manager reference styles can be searched for [here](#).

Supporting Information

Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports Online gives authors the opportunity to include data that would be inappropriate or impractical to include in the printed version. These data may substantially enhance the importance of the research and may also be of benefit to readers. Authors are encouraged to include data such as videos, 3-D structures/images, large tables and any other supporting data too large for print publication. All supporting information must be submitted as 'supplementary files for review' with the original manuscript via ScholarOne Manuscripts. 'Supporting Information' will be made available alongside the online version (only) of the published article. Please note that supporting information will not be copy-edited or typeset, but be made available online in exactly the form it is received and approved. Supporting information guidelines including acceptable file formats and sizes are available [here](#).

Page Charges

Any article which exceeds 6 pages (in the final published version) will be charged. Excess pages, over and above 6 pages, must be paid for at a rate of GBP 165 per page. A page contains about 5,400 letters on average, space between words included (but not tables and figures).

Production Tracking

Online production tracking is now available for your article through Blackwell's Author Services. Author Services enables authors to track their article – once it has been accepted – through the production process to publication online and in print. Authors can check the status of their articles online and choose to receive automated e-mails at key stages of production. The author will receive an e-mail with a unique link that enables them to register and have their article automatically added to the system. Please ensure that a complete e-mail address is provided when submitting the manuscript. Visit [Author Services](#) for more details on online production tracking and for a wealth of resources including FAQs and tips on article preparation, submission and more.