

EFEITO DO EXERCÍCIO CRÔNICO VOLUNTÁRIO E DO SEDENTARISMO, COM E SEM O USO DO ESTERÓIDE ANABÓLICO NANDROLONA, SOBRE OS COMPONENTES DO PARÊNQUIMA TESTICULAR DE RATOS ADULTOS¹

Patrícia Coutinho de Souza²
Tarcízio Antônio Rego de Paula³
Antônio José Natali⁴
Sérgio Luiz Pinto da Matta⁶
Deiler Sampaio Costa⁵
Cláudio Cesar Fonseca³
Priscilla Sarti³

RESUMO

Objetivou-se com esta pesquisa avaliar os efeitos do exercício de endurance crônico voluntário e o sedentarismo, com e sem o uso de nandrolona, sobre os componentes do parênquima testicular de ratos adultos. Utilizaram-se 24 animais, divididos em quatro grupos (n=6/grupo), assim designados: G1: exercício e aplicação de andrógeno, G2: exercício sem aplicação de andrógeno, G3: sedentário e aplicação de andrógeno e G4: sedentário sem aplicação de andrógeno. Grupos sedentários tiveram massa corporal superior aos dos grupos de exercício voluntário, tendo o uso da nandrolona significativamente potencializado o ganho de peso. O peso médio dos testículos, glândulas vesiculares e o índice gonadossomático dos animais dos grupos que receberam nandrolona foram drasticamente reduzidos. O exercício físico antes da nandrolona tem influência real e significativa de redução nos percentuais totais e relativos de células de Leydig. O

¹ Aceito para publicação em 14.01.2005.

² Estudante do curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa/UFV.

³ Departamento de Veterinária da UFV. 36570-000 Viçosa, MG. E-mail: tarcizio@ufv.br

⁴ Departamento de Educação Física da UFV.

⁵ Universidade Estadual do Norte Fluminense, 28015-620 Campos dos Goytacazes, RJ.

⁶ Departamento de Biologia Geral da UFV.

percentual de túbulos seminíferos, além de seu diâmetro e altura epitelial, não diferiu entre os tratamentos, porém observou-se que a nandrolona influenciou negativa e significativamente o volume total de túbulos seminíferos, o comprimento total de túbulos e o índice tubulossomático. Concluiu-se que a nandrolona atuou de forma negativa sobre os parâmetros quantitativos dos túbulos seminíferos, enquanto o exercício físico atuou sobre as células de Leydig.

Palavras-chaves: nandrolona, exercício físico, testículo, ratos.

ABSTRACT

This research aimed to evaluate the effect of voluntary chronic endurance exercise and sedentarism, with and without the use of nandrolon, on the testicular parenchyma components of adult rats. Twenty-four animals were divided into four groups (n=6) assigned as follows: G1: exercise and application of androgen, G2: exercise without androgen application, G3: sedentarism and application of androgen and G4: sedentarism without androgen application. The sedentary groups had greater body mass than the exercise groups and the use of nandrolon significantly increased body mass. The average weight of the testicules, vesicular glands and gonadosomatic index of the animals in the groups receiving nandrolon reduced drastically. Physical exercise rather than nandrolon, had a real and significant influence on the reduction of the total and relative percentages of Leydig cells. The percentage of seminiferous tubules, their diameter and epithelial height did not differ between the treatments; however, nandrolon was found to significantly influence the total volume of seminiferous tubules, the total length of tubules and the tubulosomatic index. It was concluded that nandrolon had a negative effect on the quantitative parameters of seminiferous tubules while physical exercise affected the Leydig cells.

Key words: nandrolon, physical exercise, testicule, rats.

INTRODUÇÃO

Os esteróides anabólicos são derivados sintéticos da testosterona e foram originalmente desenvolvidos com a expectativa de potencializar seus efeitos anabólicos em detrimento dos efeitos androgênicos. Nesse sentido, cerca de 60 moléculas diferentes já foram sintetizadas, entretanto, o objetivo principal ainda não foi totalmente alcançado em nenhuma delas (4).

A nandrolona é um esteróide anabólico injetável, pertencente à classe dos derivados da 19-nor-testosterona. Apesar de terem várias indicações clínicas, como em casos de disfunções gonadais no homem, osteoporose, retardo pubertário masculino e em alguns distúrbios sanguíneos (21), atletas e adolescentes têm utilizado amplamente os esteróides anabólicos de forma indiscriminada, com o propósito de aumento da massa e força musculares (12, 26). Os anabólicos androgênicos esteroidais aumentam a fixação de nitrogênio e deposição de

proteínas musculares (44), o que beneficia a hipertrofia muscular. Entretanto, quando estas drogas são usadas sem critério, atuam negativamente sobre a morfofisiologia dos órgãos reprodutivos (18) e de tecidos vitais, como o cardíaco e o hepático (28).

O exercício físico também tem efeitos hipertróficos sobre os músculos esqueléticos (29, 43) e cardíacos (42, 30), além de aumentar a força muscular, a densidade óssea (38) e melhorar a performance do indivíduo (24, 43). Porém, em excesso, como qualquer fator estressor, aumenta a atividade funcional de neurônios serotoninérgicos, que podem estar envolvidos na inibição da secreção de testosterona endógena (41). A estimulação do sistema hipotálamo-hipófise-adrenocortical por agentes estressores coincide frequentemente com a diminuição plasmática dos níveis de LH e testosterona em ratos, búfalos, touros, garanhões, suínos, macacos rhesus e no homem, caracterizando interação direta deste sistema com o eixo hipotálamo-hipófise-testículo (22).

A testosterona é essencial para a manutenção da espermatogênese normal em animais adultos (35, 39, 37), sendo para isto seu nível no fluido intersticial testicular mantido significativamente maior do que no sangue, através de um arranjo vascular linfático específico (37) e de uma produção profusa de proteína ligadora de andrógeno (ABP) (40). Embora o mecanismo de ação da testosterona sobre o processo espermatogênico não seja totalmente entendido, seus efeitos estimulatórios são evidentemente indiretos, visto sua ligação exclusiva com células testiculares somáticas (46).

Opióides endógenos (β -endorfina), CRF (fator liberador de corticotrofina), AVP (arginina-vasopressina) e NE (norepinefrina) são alguns dos produtos liberados em resposta a efeitos estressores, como os causados pelo exercício físico excessivo, e todos atuam negativamente sobre o processo espermatogênico (41, 22). Da mesma forma, o uso de andrógenos exógenos pode alterar o eixo hipotálamo-hipófise-gônadas por meio de mecanismos de *feedback* negativo, e o uso desses hormônios leva a um decréscimo de aproximadamente 50% da concentração de LH e 75% da concentração de FSH circulante, o que causa diminuição da concentração plasmática de testosterona, a níveis incompatíveis com a manutenção da espermatogênese (14, 20).

Os efeitos da utilização indiscriminada de esteróides anabolizantes sobre a espermatogênese e produção espermática ainda são controversos. Holma (19) relatou ocorrência de azoospermia em atletas que tinham usado esteróides anabólicos androgênicos. Por outro lado, Knuth et al. (23) não encontraram alteração no processo espermatogênico de usuários daqueles hormônios.

O presente trabalho teve por objetivo observar a influência do exercício de endurance crônico voluntário e sedentarismo, com e sem o uso de andrógeno anabólico, sobre parâmetros morfofisiológicos dos testículos em ratos adultos.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se 24 ratos Wistar adultos, divididos em quatro grupos (n=6/grupo), assim submetidos: grupo 1- exercício e aplicação de andrógeno; grupo 2- exercício sem aplicação de andrógeno; grupo 3- sedentário e aplicação de andrógeno; e grupo 4- sedentário sem aplicação de andrógeno. Os animais foram alojados em gaiolas individuais, tendo os grupos 1 e 2 livre acesso à roda de corrida voluntária acoplada à gaiola, a qual foi utilizada extensiva e rotineiramente por todos os animais. Água e ração foram oferecidas *ad libitum*, e as gaiolas foram mantidas em ambiente com temperatura média de 25°C e regime de luminosidade de 12 horas de escuridão e 12 de claridade. O período experimental foi de seis semanas. No primeiro dia de cada semana os animais receberam uma injeção de 0,5 mg de nandrolona (esteróide anabólico derivado da 19-nortestosterona), via intramuscular (grupos 1 e 3), ou o mesmo volume de óleo mineral (grupos 2 e 4), pela mesma via.

Ao final do experimento, os animais foram anestesiados com éter sulfúrico, pesados e, por meio de toracotomia, a artéria aorta descendente foi canulada e a veia cava caudal seccionada. Realizou-se então uma perfusão de todo metâmero caudal, com solução salina contendo heparina (125 UI/litro) e em seguida com solução de glutaraldeído a 4%, em tampão fosfato 0,1 mol.L⁻¹, pH 7,4. Após esse procedimento, os testículos e as glândulas vesiculares foram removidos e seus respectivos pesos aferidos por balança digital com precisão de centésimos de grama. Fragmentos do parênquima testicular, com até 3 mm de espessura, foram colhidos na região intermédia de um dos testículos e imediatamente imersos em solução de glutaraldeído a 5% em tampão fosfato 0,1 mol.L⁻¹, pH 7,4, onde permaneceram por duas horas. Quando necessário, os fragmentos foram armazenados no mesmo tampão, à temperatura de 4 °C, para posterior análise. Após a desidratação, em série crescente de álcoois, os fragmentos foram incluídos em resina plástica à base de glicol metacrilato, conforme rotina. Foram obtidos cortes histológicos de 3 µm de espessura, que foram corados com azul de toluidina-borato de sódio a 1%.

A proporção volumétrica de células de Leydig e túbulos seminíferos foi obtida pelo método histométrico, em que uma grátícula contendo 441 pontos é projetada sobre 20 campos aleatórios, computando-se os pontos coincidentes sobre estes componentes do parênquima testicular. O diâmetro médio dos túbulos seminíferos foi obtido a partir da medida do diâmetro de 20 secções transversais circulares de túbulos em cada testículo, independentemente do estágio em que se encontravam. As mensurações foram feitas com o auxílio de ocular micrométrica 10 X e objetiva de 10 X. Na mesma secção em que se obteve o diâmetro tubular, também foi medida a altura do epitélio seminífero, considerando-se desde

a membrana basal até a borda luminal. Duas anotações foram obtidas de cada secção transversal, considerando-se como medida representativa a média das duas.

Devido ao formato cilíndrico do túbulo seminífero, o cálculo do seu comprimento foi baseado na fórmula: comprimento = volume/área da base. O volume foi calculado previamente pela proporção volumétrica de túbulos seminíferos no volume testicular, e a área da base correspondeu à área da secção transversal do túbulo seminífero (πr^2), considerando o raio (r) metade do diâmetro médio.

Por meio do peso de ambos os testículos foi possível o cálculo do índice gonadossomático, o qual refere-se ao percentual de massa corporal alocado em gônadas. Já para o cálculo do índice tubulossomático e Leydigossomático, inferiu-se ao índice anterior a proporção volumétrica correspondente aos túbulos seminíferos e às células de Leydig, respectivamente.

As médias dos resultados foram avaliadas pela análise de variância e comparadas pelo teste *t* student, adotando-se um nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O peso corporal médio dos animais do grupo submetido ao exercício e sem a aplicação de nandrolona foi significativamente menor que o daqueles sedentários e com aplicação de nandrolona ($P < 0,05$). Ambos, porém, não diferiram dos demais grupos (Quadro 1). Percebe-se que os grupos sedentários tiveram massa corporal superior à dos grupos de exercício voluntário, tendo o uso da nandrolona significativamente potencializado o ganho de peso ao final do período experimental (Quadro 1). Bates et al. (1) e Feinberg et al. (8) não encontraram diferença no peso corporal de ratos machos que receberam andrógenos anabólicos esteroidais, quando comparados com o grupo controle. Por outro lado, o peso médio testicular dos animais dos grupos que receberam nandrolona foi significativamente reduzido em relação ao dos demais grupos (Quadro 1), e da mesma maneira, o índice gonadossomático, que se refere ao percentual da massa corporal alocada em ambos os testículos, foi significativamente inferior nos animais tratados com nandrolona (Quadro 1).

A ação dos andrógenos exógenos sobre a função do eixo hipotálamo-hipófise-gônadas reduzindo os níveis de testosterona tem sido relatada por vários pesquisadores (40, 8, 4). A manutenção do processo espermatogênico é uma dependência direta da testosterona testicular, e animais experimentalmente submetidos a baixos níveis de testosterona são capazes de manter apenas qualitativamente o processo espermatogênico (39). Neste sentido, a diminuição relativa e total na massa testicular dos

animais tratados com nandrolona, no presente experimento, parece refletir uma influência negativa desta sobre o eixo hipotálamo-hipófise-gônadas e, conseqüentemente, na secreção de testosterona testicular. A maior evidência neste sentido é a diminuição significativa do peso das glândulas vesiculares, verificada nos animais tratados (Quadro 1), os quais refletem diretamente os níveis séricos de testosterona endógena, uma vez que são totalmente dependentes desta para seu funcionamento (9).

Em camundongos adultos, o exercício físico crônico, promovido pelo uso voluntário de roda de corrida, influenciou significativamente no aumento do peso das glândulas adrenais e dos níveis séricos de corticóides, levando ainda a mudanças complexas e adaptativas no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (6). Segundo Manna et al. (27), o exercício físico intenso significativamente reduz, em ratos Wistar adultos, os níveis plasmáticos de testosterona e hormônio luteinizante. Estes mesmos autores descrevem uma diminuição significativa do índice gonadossomático e do peso das glândulas vesiculares. Já no presente experimento, o exercício físico não influenciou de maneira significativa esses últimos dados.

QUADRO 1 - Peso corporal, peso médio de ambos os testículos, peso das glândulas vesiculares e índice gonadossomático de ratos adultos em diferentes tratamentos de exercício e aplicação de nandrolona

Grupos	Peso corporal (g)	Peso médio dos testículos (g)	Índice gonadossomático (%)	Peso das glândulas vesiculares (g)
G1	339,04 ^{AB} ± 35,82	1,93 ^A ± 0,15	0,57 ^B ± 0,01	0,36 ^A ± 1,12
G2	301,75 ^B ± 44,69	2,44 ^B ± 0,11	0,84 ^C ± 0,05	1,22 ^B ± 0,25
G3	389,44 ^A ± 26,99	1,94 ^A ± 0,18	0,49 ^A ± 0,03	0,40 ^A ± 0,06
G4	352,29 ^{AB} ± 28,94	2,74 ^B ± 0,35	0,77 ^C ± 0,10	1,25 ^B ± 0,23 ^B

G1: Exercício com aplicação de andrógeno; G2: Exercício sem aplicação de andrógeno; G3: Sedentário com aplicação de andrógeno; e G4: Sedentário sem aplicação de andrógeno.
* Letras diferentes na mesma coluna representam valores significativamente diferentes P<0,05.

A porção endócrina do testículo de mamíferos é representada pelas células de Leydig as quais, juntamente com células conjuntivas, leucócitos, vasos sangüíneos e linfáticos, formam o espaço intertubular ou tecido intertubular (36). O arranjo e proporção destes componentes variam nas diferentes espécies de mamíferos e formam mecanismos que mantêm o nível de testosterona, principal produto da célula de Leydig, duas a três vezes maiores no fluido intersticial do que nos vasos sangüíneos testiculares e de 40 a 250 vezes maiores nestes em relação ao sangue periférico (40). Estudos correlacionando a estrutura e a função das células de Leydig entre diferentes espécies de mamíferos mostraram que variações

na secreção de testosterona resultam de diferenças interespecíficas na capacidade produtiva desta célula (7), uma vez que esta capacidade está altamente associada com as diferentes quantidades de retículo endoplasmático liso presente nesta célula nas diferentes espécies (47). Dentre os indivíduos de uma mesma espécie, as variações observadas no volume das células de Leydig, refletem variações individuais e mesmo intratesticulares da produção de testosterona (5).

O percentual de células de Leydig no parênquima testicular e o índice Leydigossomático, percentual de massa corporal alocado em células de Leydig, nos ratos sedentários sem aplicação de andrógeno, permaneceram próximos aos valores descritos para estes parâmetros na literatura em ratos Wistar (36). Os demais grupos apresentaram valores inferiores, sendo estes significativamente menores apenas nos grupos submetidos ao exercício físico (Quadro 2), ou seja, o exercício físico antes que a nandrolona apresentou influência real e significativa de redução nos percentuais totais e relativos de células de Leydig. Grokett et al. (15) relataram que altas doses de andrógenos anabólicos esteroidais causaram grande redução do número de células de Leydig em ratos. Em nossos achados, a nandrolona, na dose utilizada, somente em associação ao exercício físico foi capaz de diminuir significativamente o volume total destas células em relação ao grupo sedentário sem a aplicação de andrógeno (Quadro 2). Da mesma forma que o observado para valores percentuais, o volume total de células de Leydig foi negativa e significativamente influenciado pelo exercício físico, independentemente do uso de nandrolona (Quadro 2).

A implicação negativa do exercício físico na volumetria das células de Leydig, no presente experimento, possivelmente está associada ao seu efeito estressor (22). Os componentes do sistema nervoso central relacionados com o estresse estão localizados no hipotálamo e no tronco encefálico em núcleos neuronais secretores de CRF (fator liberador de corticotrofina), AVP (arginina-vasopressina) e NE (noraepinefrina); e os componentes do sistema nervoso periférico relacionados com o estresse são o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA), o sistema eferente simpático/adrenomedular e os componentes do sistema parassimpático (3). A supressão do eixo reprodutivo ocorre pela ativação simultânea do eixo HHA e do sistema simpático-adrenomedular, por meio dos produtos liberados por estes dois sistemas (22, 2, 3). Estes produtos, além de agirem primariamente sobre os componentes hipotalâmico-hipofisário, podem agir diretamente nas células de Leydig, bloqueando a esteroidogênese (2).

Altas doses de propionato de testosterona reduziram drasticamente o tamanho das células de Leydig, provocando formas irregulares e núcleos picnóticos no testículo de ratos (25, 15). Em nossos estudos não foram

observadas alterações morfológicas nestas células com o uso semanal de nandrolona na dose de 0,5 mg/animal.

QUADRO 2 - Proporção volumétrica (%) e volumes de túbulo seminífero e células de Leydig, índice tubulossomático e índice Leydigossomático em ratos adultos submetidos a diferentes tratamentos de exercício e aplicação de andrógenos						
Grupos	% túbulo seminífero	Volume total de túbulos seminíferos (ml)	% células de Leydig	Volume total de células de Leydig (ml)	Índice túbulo-somático %	Índice Leydigossomático %
G1	85,38 ± 1,96	1,53 ^A ± 0,18	1,30 ^A ± 0,64	0,024 ^A ± 0,01	0,49 ^A ± 0,05	0,007 ^A ± 0,003
G2	82,92 ± 4,88	1,95 ^B ± 0,19	1,16 ^A ± 0,53	0,026 ^A ± 0,01	0,63 ^B ± 0,04	0,0092 ^A ± 0,003
G3	85,20 ± 5,08	1,50 ^A ± 0,15	1,72 ^{AB} ± 0,59	0,034 ^{AB} ± 0,02	0,40 ^A ± 0,03	0,0096 ^{AB} ± 0,007
G4	83,91 ± 3,69	2,23 ^B ± 0,17	2,45 ^B ± 0,85	0,066 ^B ± 0,02	0,67 ^B ± 0,06	0,019 ^B ± 0,007

G1: Exercício com aplicação de andrógeno; G2: Exercício sem aplicação de andrógeno; G3: Sedentário com aplicação de andrógeno e G4: Sedentário sem aplicação de andrógeno.
* Letras diferentes na mesma coluna representam valores significativamente diferentes P<0,05.

O túbulo seminífero é o componente gametogênico testicular, sendo, para a grande maioria das espécies, o principal componente do parênquima testicular. Desta forma, a massa testicular reflete diretamente a produção espermática (11). O índice tubulossomático é um parâmetro proposto para se quantificar o investimento percentual corporal em túbulos seminíferos, permitindo, desta forma, a comparação intra e interespecífica em animais de tamanho corporal diferentes (16). O percentual médio ocupado por túbulos seminíferos nos testículos dos animais no presente experimento não variou em nenhum tratamento, porém ao se avaliarem o volume total de túbulos seminíferos e o índice tubulossomático, observou-se que a nandrolona influenciou negativa e significativamente estes parâmetros (Quadro 2).

O diâmetro médio do túbulo seminífero é uma abordagem classicamente utilizada como indicador da atividade espermatogênica, em pesquisas envolvendo a função testicular (11). Como exemplo, podem ser citados estudos abordando este parâmetro com o intuito de estabelecer o período de puberdade e maturidade sexual (10), observar a influência sazonal na espermatogênese (32), os efeitos da idade avançada (45, 24, 31, 33), e estudos toxicológicos (17). O valor do diâmetro médio tubular

tipicamente observado para a maioria dos animais varia de 180 a 300 μm (35), enquanto a altura média do epitélio seminífero, de 60 a 100 μm (11). Diversos fatores contribuem para a constituição do diâmetro do túbulo e altura do epitélio tubular, dentre os quais podem ser citados: número de camadas de células mióides que constituem a túnica própria; tamanho e população das células de Sertoli e células espermatogênicas; e secreção de fluido pelas células de Sertoli (34). Na presente pesquisa não houve diferença significativa entre o diâmetro e da altura do epitélio tubular nos quatro grupos testados (Quadro 3), sugerindo que os fatores supracitados não sofreram alterações significativas, apesar da administração de nandrolona e do exercício físico voluntário. Já Freshman et al. (1990) observaram tendência de diminuição do diâmetro médio dos túbulos seminíferos com a administração exógena de andrógeno (metil-testosterona), via oral por 90 dias, em cães greyhounds.

QUADRO 3 - Diâmetro tubular, altura do epitélio seminífero e comprimento dos túbulos seminíferos em ratos adultos em diferentes tratamentos de exercício e aplicação de nandrolona				
Grupos	Diâmetro do túbulo seminífero (μm)	Altura do epitélio seminífero (μm)	Comprimento total de túbulos seminíferos em ambos os testículos (m)	Comprimento de túbulos seminíferos por grama de testículo (m)
G1	267,54 \pm 13,80	81,42 \pm 5,88	2813 ^A \pm 489	1578 \pm 376
G2	280,16 \pm 11,07	87,32 \pm 6,16	3171 ^{AB} \pm 411	1301 \pm 148
G3	270,92 \pm 17,95	83,76 \pm 5,77	2609 ^A \pm 171	1355 \pm 172
G4	269,23 \pm 14,71	83,58 \pm 5,38	3955 ^B \pm 572	1412 \pm 189

Os valores são apresentados como médias \pm desvio padrão.
 G1: Exercício com aplicação de andrógeno; G2: Exercício sem aplicação de andrógeno; G3: Sedentário com aplicação de andrógeno; e G4: Sedentário sem aplicação de andrógeno.
 * Letras diferentes na mesma coluna representam valores significativamente diferentes $P < 0,05$.

O comprimento dos túbulos seminíferos é diretamente dependente do volume total de túbulos seminíferos e do diâmetro tubular. No presente experimento, a metragem de túbulos seminíferos por grama de testículo não variou entre os grupos experimentais e controle. Porém, a quantidade total de túbulos seminíferos em ambos os testículos foi significativamente menor nos animais submetidos ao exercício físico (Quadro 3).

CONCLUSÕES

1) A administração semanal de 0,5 mg de nandrolona durante um período de seis semanas atua, de forma negativa, sobre parâmetros quantitativos do túbulo seminífero de ratos wistar adultos.

2) O exercício físico crônico voluntário significativamente diminui os parâmetros volumétricos totais e relativos das células de Leydig.

REFERÊNCIAS

1. BATES, P.C.; CHEW, L.F. & MILLWARD, D.J. Effects of the anabolic steroid stanozolo on growth and protein metabolism in the rat. *J. Endocr.* 114:373-81, 1987.
2. CALOGERO, A.E.; BAGDY, G. & D'AGATA, R. Mechanism of stress on reproduction. *Annals New York Academy of Science.* 814:364-67, 1997.
3. CHROUSOS, G.P. Stressors, stress, and neuroendocrine integration of the adaptative response. *Annals New York Academy of Science,* 581:311-35, 1998.
4. CLARK, A.S. & HENDERSON, L.P. Behavioral and physiological responses to anabolic-androgenic steroids *Neurosci. Biobehav Rev.* 27:413 -36, 2003.
5. De KRETZER, D. M. Local regulation of testicular function. *Int. Rev. Cytol.* 109: 89 - 111, 1987.
6. DROSTE, S.K; GESING, A; ULBRICHT, S; MÜLLER, M.B; LINTHORST, A.C.E; & REUL, J.M.H. M. Effects of long-term voluntary exercise on the mouse hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. *Endocrinology.* 144 (7):3012-23. 2003.
7. EWING, L.L.; ZIRKIN, B.R.; COCHRAN, R.C.; KROMANN, N.; PETERS, C. & RUIZ-BRAVO, N. Testosterone secretion by rat, rabbit, guinea pig, dog and hamster testes perfused in vitro: correlation with Leydig cell mass. *Endocrinology.* 105(5):1135-42. 1979.
8. FEINBERG, M.J.; LUMIA, A.R. & MCGINNIS, M.Y. The effect of anabolic-androgenic steroids on sexual behaviour and reproductive tissues in male rat. *Physiol. Behav.* 62:23-30, 1997.
9. FOURNIER, D.S. & THIBAUT, C. Acquisition of sperm fertilizing ability: epididimal maturation, accessory glands and capacitation. In: Thibault, C.; Levasseur, M.; Hunter, R. H. F.(eds.) *Reproduction in mammals and man, Eclipses, Paris.* 1993. p. 257-80.
10. FRANÇA, L.R. & CARDOSO, F.M. Duration of spermatogenesis and sperm transit time through the epididymis in the piau boar. *Tiss. Cell.* 30:573-82, 1998.
11. FRANÇA, L.R. & RUSSELL, L.D. The testis of domestic animals. In: Regadera, J., Martinez-Garcia (eds.). *Male reproduction. A multidisciplinary overview.* Churchill Livingstone, Madrid, p. 197-219, 1998.
12. FRANKE, W.W. & BERENDONK B. Hormonal doping and androgenization of athletes: a secret program of the German Democratic Republic government. *Clin Chem.* 43:1262-79, 1997.
13. FRESHMAN, J.L.; OLSON, P.N.; AMANN, R.P.; CARLSON, E.D.; TWEDT, D.C. & BOWEN, R.A. The effects of methyltestosterone on reproduction function in male greyhounds. *Theriogenology.* 33:(5):1057-69, 1990.
14. GREGORY, K.E. & FORD, J.J., Effects of late castration, Zeranol and breed group on growth, feed efficiency and carcass characteristic of late maturing bovine female. *J. Anim. Sci.* 56:771-80, 1983.
15. GROKETT, B.H.; AHMAD, N. & WARREN, D.W. The effect of an anabolic steroid (oxandrolone) on reproductive development in the male rat. *Acta Endocrinol.* 126:173-78, 1992.

16. GUIÃO-LEITE, F.L. Análise morfológica do testículo e do processo espermatogênico da onça parda (*Puma concolor*, Wozencraft, 1993) adulta. Viçosa, MG, Universidade Federal de Viçosa, 2002. 68p. (Tese de Mestrado).
17. HESS, R.A.; COOKE, P.S. & BUNICK, D., et al. Adult testicular enlargement induced by neonatal hypothyroidism is accompanied by increased Sertoli cell and germ cell numbers. *Endocrinology*. 132:2607-13, 1993.
18. HICKSON, R.C.; BAL, K.L. & FALDUTO, M.T. Adverse effects of anabolic steroids. *Med. Toxicol. Adverse Drug Exp.* 4:254-71, 1989.
19. HOLMA, P.K. Effects of an anabolic steroid (methandienone) on spermatogenesis. *Contraception*. 15: 151-62, 1977.
20. JUNIEWICS, P.E.; WELSN, T.H. & JOHNSON, B.H. Effects of Zeranol upon bovine testicular function. *Theriogenology*. 23:565-582, 1985.
21. KENNEDY, M.C. Anabolic steroid abuse and toxicology. *Aust. N. Z. J. Med.* 22:374-81, 1992.
22. KNOL, B.W. Stress and endocrine hypothalamus-pituitary-testis system: a review. *The Veterinary Quarterly*. 13:104-14, 1991.
23. KNUTH, U.A.; MANIERA, H. & NIESCHLAG, E. Anabolic steroids and semen parameters in bodybuilders. *Fert. Steril.* 52:1041-47, 1989.
24. LAMBERT, M.I. & NOAKES, T.D. Spontaneous running increases VO_2 max and running performance in rats. *J. Appl. Physiol.* 68:400-3, 1990.
25. LUDWIG, D.J. The effect of androgen on spermatogenesis. *Endocrinol.* 46:453-81, 1950.
26. LUKAS, S.E. Current perspectives on anabolic-androgenic steroid abuse. *Trends Pharmacol Sci.* 14:61-8, 1993.
27. MANNA, I; JANA, K & SAMANTA, P.K. Effect of intensive exercise induced testicular atrophic and steroidogenic disorders in mature male Wistar strain rats: a correlative approach to oxidative stress. 178(1):33-40, 2003
28. MELCHERT, R.B. & WELDER, A.A. Cardiovascular effects of androgenic-anabolic steroids. *Med. Sci. Sports Exerc.* 27:1252-62, 1995.
29. MUNOZ, K.A; ANNESTAD, A & TISCHLER, M.E., et al. Skeletal muscle protein content and synthesis after voluntary running and subsequent unweighting. *Metabolism*. 43:994-9, 1994.
30. NATALI, A.J.; HARRISON, S.M. & TURNER, D.L., et al. Regional effects of voluntary exercise on cell size and contraction-frequency responses in rat cardiac myocytes. *J. Exp. Biol.* 204:1191-9, 2001.
31. NIPKEN, C. & WROBEL, K.H. A quantitative morphological study of age-related changes in the donkey testis in the period between puberty and senium. *Andrologia*. 29(3):149-161, 1997.
32. PARREIRA, G.G. & CARDOSO, F.M. Biologia reprodutiva de machos *Bolomys Lasius Lund*, 1841 (Rodentia, Cricetidae). I. Morfologia da espermatogênese e ciclo do epitélio seminífero. *Rev. Brasil. Biol.* 51:639-46, 1991.
33. PAULA, T.A.R. & CARDOSO, F.M. Alterações etárias na espermatogênese do cão. I. Análise histométrica. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 46(1):19-30, 1994.
34. PAULA, T.A.R. Avaliação Histológica e Funcional do Testículo de Capivaras Adultas (*Hydrochoerus hydrochaeris*). Belo Horizonte – MG, Instituto de Ciências Biológicas. Universidade Federal de Minas Gerais, 1999. 84p. (Tese de Doutorado).
35. ROOSEN-RUNGE, E.C. The process of spermatogenesis in animals. Ed. Cambridge: University Press. 1977. 325p.
36. RUSSELL, L.D. & FRANÇA, L.R. Building a testis. *Tissue and Cell*. 27:(2):129-47, 1995.
37. RUSSELL, L.D. Mammalian Leydig cell structure. In: Payne, A.H., Hardy, M.P., Russell, L.D. (eds). *The Leydig cell*. Cache River Press. Vienna, IL. 1996. p. 43-96.

38. SAINO, H.; AARON, J. & E. SHAHTAHERI, S.M. The effect of voluntary exercise on bone mass and connectivity in the femoral neck of young rats. *Calcif. Tiss. Int.* 64(1):66, 1999.
39. SHARPE, R.M. Testosterone and spermatogenesis. *J. Endocr.* 113:1-2, 1987.
40. SHARPE, R.M. Regulation of spermatogenesis. In: Knobil, E., Neil, J. D. (eds) *The physiology of reproduction*, 2ed. New York, Raven Press, 1994. p. 1363-434.
41. TIJANERO, J.C.; FABBRI, A. & DUFAU, M.L. Regulation of corticotropin-releasing factor secretion from Leydig cells by serotonin. *Endocrinology.* 130:1780-8, 1992.
42. TURPEINEN, A. K.; KUIKKA, J. T. & VANNINEN, E. Athletic heart: a metabolic, anatomical, and functional study. *Med. Sci. Sports Exerc.* 28:33-40, 1996.
43. VAN ZYL, C.G.; NOAKES, T.D. & LAMBERT, M.I. Anabolic-androgenic steroid increases running endurance in rats. *Med. Sci. Sports Exerc.* 27:1385-9, 1995.
44. VANDERMERT, W.; BERGER, L.L. & McREITH, F.R. Influence of Zeranol implants on growth, behavior and carcass traits in Angus and Limousin bulls and steers. *J. Anim. Sci.* 61:310-19, 1985.
45. WANG, C.; LEUNG, A. & SINHA-HIKIM A.P. Reproductive aging in the male brown-norway rat: a model for human. *Endocrinology.* 133(6):2773-81, 1993.
46. WEINBAUER, G.F. & WESSELS, J. Paracrine control of spermatogenesis. *Andrologia* 31:149-262. 1999.
47. ZIRKIN, B.R.; EWING, L.L.; KROMANN, N. & COCHRAN, R.C. Testosterone secretion by rat, rabbit, guinea pig, dog, and hamster testes perfused *in vitro*: Correlation with Leydig cell ultrastructure. *Endocrinology.* 107:1867-74, 1980.