



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

José de Ribamar Rodrigues Calixto


**Avaliação de alterações histopatológicas da próstata e séricas do
PSA em ratos tratados com N-Metil-N-Nitrosureia e testosterona**

Rio de Janeiro

2013

José de Ribamar Rodrigues Calixto

**Avaliação de alterações histopatológicas da próstata e séricas do PSA
em ratos tratados com N-Metil-N-Nitrosureia e testosterona**



Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Programa de Doutorado Interinstitucional realizado com a Universidade Federal do Maranhão.

Orientadora: Prof.^a Dra. Patrícia Cristina Lisboa da Silva

Coorientadora: Dra. Flávia Raquel Fernandes Nascimento

Rio de Janeiro

2013

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

C153 Calixto, José de Ribamar Rodrigues.
Avaliação de alterações histopatológicas da próstata e séricas do PSA em ratos tratados com N-Metil-N-Nitrosureia e testosterona / José de Ribamar Rodrigues Calixto. – 2013.
68 f. : il.

Orientadora: Patrícia Cristina Lisboa da Silva.
Coorientadora: Flávia Raquel Fernandes Nascimento.

Tese (Doutorado) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental. Programa de Doutorado Interinstitucional realizado com a Universidade Federal do Maranhão

1. Testosterona - Teses. 2. Carcinogênese – Teses. 3. Próstata – Câncer – Teses. 4. Metabolismo – Doenças – Teses. 5. Antígeno prostático específico – Teses. I. Silva, Patrícia Cristina Lisboa da. II. Nascimento, Flávia Raquel Fernandes. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. IV Título.

CDU 577.17

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

José de Ribamar Rodrigues Calixto

**Avaliação de alterações histopatológicas da próstata e séricas do PSA
em ratos tratados com N-Metil-N-Nitrosureia e testosterona**

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Programa de Doutorado Interinstitucional realizado com a Universidade Federal do Maranhão.

Aprovada em 25 de março de 2013.

Coorientadora: Dra. Flávia Raquel Fernandes Nascimento
Universidade Federal do Maranhão

Banca Examinadora:

Prof.^a Dra. Patrícia Cristina Lisbôa da Silva (Orientadora)
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof.^a Dra. Celly Cristina Alves do Nascimento Saba
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof.^a Dra. Elaine de Oliveira
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof.^a Dra. Maria do Rosário da Silva Ramos Costa
Universidade Federal do Maranhão

Prof.^a Dra. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento
Universidade Federal do Maranhão

Rio de Janeiro

2013

DEDICATÓRIA

Ao meu pai Waldemiro, que foi, é, e sempre será meu pai. Exemplo do que é ser homem honrado, sinto muito a sua falta, não pode esperar esse momento, mas sei que esteve e está ao meu lado me ajudando.

A minha mãe Djanira, meu tesouro de valor incalculável, meu cristal delicado e resistente.

A minha namorada, esposa e amante Wilma, amor da minha vida, nossos espíritos se fundiram há muito tempo.

Aos meus dois filhos Caio e Igor, motivos para melhorar como pessoa, pedaços de mim, meus orgulhos, espíritos do bem, pessoas iluminadas. Temos muito a construir.

AGRADECIMENTOS

A Deus que é fonte de todo o saber e luz.

A Profa. Dra. Flávia, amiga, exemplo, luz no caminho percorrido, fez com que a estrada fosse clara.

A Diêgo e Joleen, que estarão sempre no meu coração, sem eles o trabalho não teria saído do projeto.

A minha equipe de pesquisadores: Rafael, Vinicius, Sergio, Alessandra, Amanda, Fábio, Vezão, Lorena, Felipe, Caio e Igor.

A Profa. Dra. Ana Lucia Abreu Silva, Patologista Veterinária que fez os exames histopatológicos, muito obrigado.

Ao meu amigo Silvio e seu filho Leonardo, que desnudaram os cálculos estatísticos.

A Zé e Flávio, funcionários do Biotério

A UFMA, UERJ, FISCLINEX e todos que construíram este programa interinstitucional.

A Profa. Dra. Patrícia pela orientação.

A Profa. Dra. Rosário pela Coordenação.

A mente que se abre a uma nova idéia jamais voltará ao seu tamanho original.

Albert Einstein

RESUMO

CALIXTO, José de Ribamar Rodrigues. *Avaliação de alterações histopatológicas da próstata e séricas do PSA em ratos tratados com N-Metil-N-Nitrosureia e testosterona*. 2013. 68 f. Tese (Doutorado em Fisiopatologia Clínica e Experimental) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Universidade Federal do Maranhão, São Luiz, 2013.

A testosterona tem sido cada vez mais usada em homens na fase do envelhecimento como prevenção e tratamento de doenças metabólicas, melhora do desempenho sexual, proteção cardiovascular e manutenção da cognição. Porém ainda há conflito sobre seus efeitos na próstata com relação às doenças benignas e malignas. O presente estudo avaliou o efeito do tratamento com duas formas de testosterona sobre carcinoma de próstata induzido por N-Metil-N-Nitrosureia (NMU) a partir de análises histopatológicas e séricas do antígeno prostático específico (PSA). Para tal foram utilizados 80 ratos *Wistar* jovens, sadios, divididos em dois grupos (40 animais cada) tratados ou não com NMU intraperitoneal. Cada grupo foi dividido em quatro subgrupos iguais e tratados durante 16 semanas: 1) tratado com cipionato de testosterona a cada sete dias via intramuscular; 2) tratado com cipionato de testosterona a cada 14 dias via intramuscular; 3) tratado com undecanoato de testosterona oral diariamente; 4) tratado com óleo mineral. Após 16 semanas e tratamento, os níveis do PSA não alteraram em nenhum grupo ou subgrupo e não houve desenvolvimento de tumores em nenhum deles. Portanto, as duas formas distintas de testosterona associada ao uso de NMU em curto espaço de tempo por via intraperitoneal não alteraram as dosagens séricas do PSA e não induziram a formação de tumores na próstata em ratos *Wistar* jovens e saudáveis. As alterações histopatológicas acinares encontradas nas próstatas foram projeção, secreção, congestão e inflamação, e as epiteliais foram: epitélio normal, redução do epitélio e redução na altura do mesmo. Tais achados colaboram para que outros estudos sejam realizados de maneira a orientar o uso de testosterona na prática clínica diária sem receio de indução do câncer na próstata.

Palavras-chave: Testosterona. Ratos. Câncer de próstata. PSA. NMU.

ABSTRACT

Testosterone has been increasingly used in men during the aging process as prevention and treatment of metabolic diseases, improving sexual performance, cardiovascular protection and maintenance of cognition. But there are still conflicted about its effects in the prostate with respect to benign and malignant diseases. The present study evaluated the effect of treatment with two forms of testosterone on prostate carcinoma induced by N-methyl-N-nitrosourea (NMU) from pathological examinations and serum prostate-specific antigen (PSA). For this we used 80 young Wistar rats, healthy, divided into two groups (40 animals each) or not treated with intraperitoneal NMU. Each group was divided into four equal subgroups and treated for 16 weeks: 1) treated with testosterone cypionate every seven days intramuscularly, 2) treated with testosterone cypionate every 14 days intramuscularly, 3) treated with oral testosterone undecanoate daily, 4) treated with mineral oil. After 16 semnanas and treatment, PSA levels did not change in either group or sub-group and no tumor development in any of them. Therefore, two different forms of testosterone associated with the use of NMU in short time intraperitoneally did not affect the serum PSA and did not induce tumor formation in prostate in young healthy rats. Acinar histopathological changes were found in the prostates projection, secretion, congestion and inflammation, epithelial and were normal epithelium, epithelial reduction and reduction in height thereof. These findings collaborate to further studies are performed in order to guide the use of testosterone in daily clinical practice without fear of inducing prostate cancer.

Keywords: Testosterone. Mice. Prostate câncer. PSA. NMU.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Coleta de sangue pelo plexo retroorbitário com pipeta de Pasteur ...	35
Figura 2	– Laparotomia mediana e exposição do aparelho gênito urinário do rato.....	35
Figura 3	– Exposição do testículo e próstata do rato.....	36
Figura 4	– Exposição das vesículas seminais próstata e bexiga do rato.....	36
Figura 5	– Peça cirúrgica retirada do rato composta por testículos, epidídimos, ductos deferentes, próstata, vesículas seminais, bexiga e coto uretral peniano.....	36
Figura 6	– Epitélio dos ácinos prostáticos normal.....	38
Figura 7	– Redução do epitélio dos ácinos prostáticos.....	38
Figura 8	– Redução moderada da projeção do epitélio dos ácinos prostáticos..	39
Figura 9	– Redução severa da projeção do epitélio dos ácinos prostáticos	39

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	– Análise comparativa das médias dos pesos nos subgrupos do grupo TNMU. T unilateral $p = 0,2538$	37
Gráfico 2	– Análise comparativa das médias dos pesos nos subgrupos do grupo T. T unilateral $p = 0,0653$	37
Gráfico 3	– Comparação das médias das dosagens de PSA nos dois grupos analisados. T unilateral p -valor = $0,1334$	42
Gráfico 4	– Análise comparativa das médias do PSA nos subgrupos do grupo TNMU. Kruskal-Wallis = $p = 0,9542$	43
Gráfico 5	– Análise comparativa das médias do PSA nos subgrupos do grupo T. Kruskal-Wallis = $p = 0,3385$	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Usos da testosterona: formulação, administração, vantagens e desvantagens.....	21
Tabela 2	Distribuição dos grupos experimentais.....	30
Tabela 3	- Análise das alterações epiteliais encontradas nos grupos tratados com NMU + Testosterona ou somente testosterona	38
Tabela 4	- Frequência das alterações histopatológicas acinares encontradas nos grupos.....	40
Tabela 5	- Análise comparativa das alterações acinares encontradas entre o grupo TNMU e T.....	40
Tabela 6	- Análise estatística da relação entre a incidência das variáveis entre os subgrupos e o grupo controle no TNMU.....	41
Tabela 7	- Análise estatística da relação entre a incidência das variáveis entre os subgrupos e o grupo controle no T.....	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACP	Adenocarcinoma de próstata
ACT	Alfa1-antiquimiotripsina
ALT	Alanino amino transferase
AR	Receptor andrógeno
AST	Aspartato amino transferase
ATP	Adenosina trifosfato
COI	Comitê Olimpico Internacional
COX	Cicloxygenase.
CT	Cipionato de testosterona
CYP11A	Citocromo P450 11 A
CYP17A	Citocromo P450 17 A
CYP19A	Citocromo P450 19 A
DAEM	Deficiência androgênica do envelhecimento masculino
DHEA	Deidroepiandrosterona
DHT	Diidrotestosterona
DNA	Ácido desoxirribonucléico
EAA	Esteróides anabólicos androgênicos
ECLIA	Eletroquimioluminescencia
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EGFR	Fator de crescimento epidérmico
GGT	Gamaglutamiltransferase
GH	Hormônio do crescimento
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofinas
HBP	Hiperplasia benigna da próstata
HD	Hemodiálise
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HE	Hematoxilina e eosina
hKLK3	Kallicreina humana tipo três
HSD	3 β -hidrox-esteroide desidrogenases
HSD3B2	3 β -esteroide desidrogenase

IGF-1	Fator de crescimento similar a insulina
IL6	Interleucina 6
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LH	Hormônio luteinizante
LHRH	Hormônio liberador de hormônio
NMU	N-Metil-N-Nitrosureia
ng/dL	nanograma por decilitro
PAI-1	Plasminogênio 1
PAP	Fosfatase ácida prostática
PSA	Antígeno prostático específico
RNAm	Ácido ribo nucléico mensageiro
SHBG	Globulina ligadora de hormônios sexuais
SRD5A2	5-alfa redutase tipo II
TRT	Terapia de reposição com testosterona
T4	Tetraiodotironina
UT	Undecanoato de testosterona

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	14
1	REFERENCIAL TEÓRICO	16
1.1	Síntese da testosterona	16
1.1.2	Receptor androgênico	17
1.1.3	Sítios de ação androgênica	17
1.2	Deficiência androgênica	19
1.3	Reposição de testosterona	20
1.3.1	Esteróides andrógenos e anabolizantes	22
1.4	Testosterona e próstata	24
1.4.1	<u>Hiperplasia benigna da próstata e câncer da próstata</u>	24
1.4.2	PSA	25
2	OBJETIVOS	28
2.1	Geral	28
2.2	Específicos	28
3	MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1	Animais e distribuição dos grupos	29
3.2	Material farmacológico	30
3.2.1	<u>N-Metil-N-Nitrosureia</u>	31
3.2.2	<u>Undecanato de testosterona</u>	31
3.2.3	<u>Cipionato de testosterona</u>	31
3.3.1	Procedimentos	32
3.3.2	<u>Coleta de sangue, processamento e parâmetros de avaliação</u>	33
3.3	<u>Retirada da próstata</u>	33
3.4	Análise estatística	34
4	RESULTADOS	37
4.1	<u>Peso corporal</u>	37
4.2.	<u>Análise da próstata</u>	38
4.3	<u>Dosagem do PSA</u>	42
5	DISCUSSÃO	44
6	CONCLUSÃO	48
	REFERÊNCIAS	49
	ANEXO – Comissão de ética para o cuidado e uso de animais experimentais.	68

INTRODUÇÃO

A importância da testosterona na manutenção da virilidade, força física e comportamento masculino já é bem conhecida, desde a antiguidade, assim como a sua ausência como fator determinante de baixo vigor físico e sexual (KAUFMAN; VERMEULEN, 2005). Seu declínio sérico está associado à diminuição de energia, força muscular, função sexual, comportamento depressivo, redução da função cognitiva e massa óssea, semelhante ao que acontece com homens jovens portadores de hipogonadismo primário (MATSUMOTO, 2002). O desenvolvimento da síndrome metabólica composta por obesidade abdominal, resistência periférica a insulina, hipertensão arterial e dislipidemia, também interfere na etiologia da disfunção sexual erétil presente ao longo do envelhecimento masculino (BONACCORSI, 2001; GOOREN, 2010). Nessa etapa, o aumento da sarcopenia, a redução da densidade mineral óssea, as doenças cardiovasculares e o diabetes tipo II podem estar presentes (YASSIN et al., 2009; TRACZ et al., 2006; SAKUMA; YAMAGUCHI, 2012). A combinação de obesidade e diabetes aumenta a prevalência de concentrações subnormais de testosterona livre (DHINDSA et al., 2010), que pode ser revertido após terapia de reposição hormonal com testosterona, por possível diminuição da resistência periférica à insulina (NIGRO; CHRIST-CRAIN, 2012).

A reposição de testosterona em homens idosos tem sido associada à significativo aumento do risco de eventos prostáticos (CALOF et al., 2005; FERNÁNDEZ-BALSELLS et al., 2010). A relação danosa entre testosterona e a próstata é sustentada desde quando Charles Huggins em 1941, prêmio Nobel em Medicina, relatou por meio de evidências empíricas, que o “Câncer da próstata é hormônio responsivo”, criando um conceito de que testosterona baixa é protetora contra o câncer (HUGGINS apud JANNINI et al., 2011, p. 947).

Contrário a esse conceito, Shin et al. (2010), Xylinas et al. (2010) e Morgentaler (2011) concluíram que a terapia de reposição com testosterona, e a normalização dos seus níveis séricos, reduzem o risco de desenvolvimento do câncer de próstata, particularmente o de alto risco, sem variar os níveis séricos de antígeno prostático específico (PSA).

Homens com níveis séricos de PSA entre 2,6 e 4,0 ng/mL tem 22% de chance de detectar o câncer na próstata e, com isso reduzir a morbidade e mortalidade através de tratamentos mais precoces (CATALONA; SMITH; ORNSTEIN, 1997). Não há nenhum ponto de corte com alta sensibilidade e especificidade para monitoramento de homens saudáveis em relação ao câncer de próstata, mas sim, um contínuo risco em todos os valores de PSA (ABLIN et al., 1970; PAPSIDERO et al., 1980; THOMPSON et al., 2005). Por isso, vários modelos animais de indução, prevenção, proteção e detecção precoce do câncer da próstata usando a testosterona têm sido propostos (BOSLAND; PRINSEN, 1990; TAMANO et al., 1996; HOMMA et al., 1997; McCORMICK et al., 1998; BENTEL et al., 1999; RAO et al., 1999; GRUPTA et al., 2001; GREEN et al., 2001; LIMPENS et al., 2004; TAM; LEAV; HO, 2007; RIBEIRO et al., 2008; HARPER et al., 2009; VALKEMBURG; WILLIAMS, 2011).

Considerando-se que ainda há receio no uso da testosterona para o tratamento da deficiência androgênica no envelhecimento masculino e, são poucos os dados experimentais sobre seus efeitos no epitélio prostático e níveis séricos de PSA, usando doses semelhantes às usadas em seres humanos, tais questões motivaram a realização do presente trabalho.

1 REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 Síntese da testosterona

A testosterona é um hormônio derivado do colesterol após clivagem oxidativa da cadeia lateral do colesterol por CYP11A, um citocromo mitocondrial P450 oxidase, que leva a perda de seis átomos de carbono para dar pregnenolona. Na próxima etapa, dois átomos de carbono adicionais são removidos pela CYP17A, enzima presente no retículo endoplasmático, para a obtenção de uma variedade de esteróides. Além disso, o grupo 3-hidroxilo é oxidado pela 3 β -hidroxi-esteróide desidrogenase (HSD) para produzir androstenodiona. No passo final, o C-17-androstenodiona grupo ceto é reduzido em 17 β -hidroxiesteróide desidrogenase para produzir testosterona (PENNING, 2010; MIDZAK et al., 2011).

Após a síntese, a testosterona circula em grande parte ligada a duas proteínas do plasma, sendo que 40 a 50% ligada fracamente a albumina, 1 a 3% desacoplada, denominada testosterona livre. A soma destas duas é chamada de testosterona biodisponível. O restante (50 a 60%) está ligada por alta afinidade à globulina ligadora de hormônios sexuais (SHBG) (ARAÚJO et al., 2008; OHLSSON et al., 2011). Em média, após os 40 anos de idade, as concentrações séricas de SHBG aumentam simultaneamente na proporção de 1 a 2% a por ano, aumentando a ligação desta com a testosterona e reduzindo assim a disponibilidade da forma livre e ligada a albumina no mesmo percentual (KAUFMAN; VERMEULEN 2005; ARAÚJO; BARRON; PIKE, 2013).

A forma biodisponível atua nas células alvo, e 80% é convertida em um hormônio mais ativo, a diidrotestosterona (DHT), pelas enzimas 5-alfa-redutases tipo I, expressa na pele e fígado, e tipo II, expressa no trato urogenital e folículos pilosos. O restante é aromatizada em estradiol nos tecidos que expressam a aromatase. Os outros 20% da DHT circulante são produzidas diretamente por secreção testicular. A ação da testosterona é um complexo resultante da disponibilidade, concentração, metabolismo local e expressão dos receptores androgênicos e estrogênicos (GEORGE; RUSSELL; WILSON, 2010; KAUFMAN; VERMEULEN, 2005; McGRATH;

MCROBB; HEATHER, 2008; CORRADI et al., 2009; SAUVER et al., 2011; AZZOUNI et al., 2012; TRAISH; MORGENTALER, 2009).

1.1.2 Receptor androgênico

O receptor de andrógeno (AR) é uma proteína de ligação de alta afinidade que medeia a ação da testosterona e DHT na célula e pertence a superfamília dos receptores nucleares (NR) (LAVERY; BEVAN, 2011; WILSON, 2010). Para um bom desenvolvimento sexual masculino, durante a embriogênese e puberdade, ambos, andrógeno e AR, são necessários (BROWN et al., 1989; COLVARD et al., 1989).

A mutação no gene do AR leva ao desenvolvimento da síndrome de insensibilidade aos andrógenos, que é uma doença rara ligada ao cromossoma X, associada a uma variedade de fenótipos em indivíduos 46,XY (CORRÊA et al., 2005; MELO et al, 2005).

Os mais conhecidos inibidores de AR são os antiandrogênicos, usados no tratamento do câncer de próstata andrógeno dependente, que combina a inibição central do hormônio liberador de gonadotropina (GnRH) e do receptor periférico da testosterona (WILSON, 2010).

Os ARs são codificados por genes com função de biossíntese, ativação, inativação e transporte. Inicialmente identificados e descritos em número de quatro: o AR que é responsável pelo transporte; o 5-alfa redutase tipo II (*SRD5A2*) que codifica enzimas responsáveis pela conversão da testosterona em DHT; O *CYP17* que funciona como chave adicional para a esteroidogênese humana em outros sítios e o 3 β -esteróide desidrogenase (*HSD3B2*) envolvida na biossíntese da testosterona e metabolismo da DHT na próstata (HENDERSON; FIEGELSON, 2000).

1.1.3 Sítios de ação androgênica

A testosterona tem ação direta no estímulo da diferenciação pré-natal e desenvolvimento até a puberdade dos testículos, pênis, epidídimo, vesículas

seminais e próstata. Nos adultos, estimula a manutenção desses tecidos, inicia e mantém a espermatogênese, atua diretamente na libido, ereções noturnas e período de recuperação entre os intercursos sexuais. Melhora também o sono, a sensação de bem estar e o humor (SHABSIGH, 1997; ISIDORI et al., 2005; MONG et al., 2011; AMORE et al., 2012).

A testosterona atua também promovendo definição masculina de pêlos, produção de secreção sebácea da pele (WEBSTER, 2002), reduz a gordura visceral, os níveis de HDL e LDL, a resistência periférica a insulina e como consequência reduz os percentuais de gordura corpórea (MAGGIO et al., 2007; AURORA; PUNJABI, 2007; BARRETT-CONNOR et al., 2008; BASARIA et al., 2010; MURALEEDHARAN; JONES, 2010; SAAD; GOOREN, 2011; MONG et al., 2011; DHINDSA et al., 2010).

A redução da massa corporal gorda é acompanhada de aumento da massa magra, força muscular, tamanho das células musculares sem aumentar os seus números por estímulo da expressão direta e indireta do IGF-1. Promove o fechamento das epífises ósseas, aumentando a densidade mineral e estimulando a produção de células ósseas, interferindo diretamente na redução do risco de fraturas principalmente de quadril nos homens idosos (BELLIDO et al., 1995, BHASIN et al., 1996; WANG et al., 2004; SCHAAP et al., 2005; OTTENBACHER et al., 2006; WANG et al., 1996; OTTENBACHER et al., 2006; EMMELT-VONK et al., 2008; STANWORTH; JONES, 2008; BASSIL et al., 2009; DILLON et al., 2010; SHEFFIELD-MOORE et al., 2011; WINDAHL et al., 2011; SINNESAEEL et al., 2011).

Do ponto de vista hematológico, a testosterona possui ação pró-coagulante devido ao aumento da atividade dos receptores de tromboxano A, estimulando a tromboxano sintetase como a COX-1 e a COX-2, que são enzimas chaves na síntese de prostaglandinas além de modular a produção de óxido nítrico e fibrinogênio (WEBB et al., 2008; ARAÚJO et al., 2011; LOPES et al., 2012).

No fígado, a testosterona parece bloquear a ação da hepcidina, hormônio peptídico que regula a homeostase de ferro em seres humanos inibindo o seu transporte em toda a mucosa do intestino, impedindo a sua absorção excessiva e mantendo níveis normais dentro do corpo. Reduz ainda a síntese de SHBG e transferrina (GEBARA et al., 2002; MATSUMOTO, 2002; BACHMAN et al., 2010; HILD et al., 2010; SURAMPUDI; WANG; SWERDLOFF, 2012). No rim, estimula a

produção da eritropoietina, que na medula óssea, aumenta o número de células responsivas, aumentando assim o hematócrito (COVIELLO et al., 2008).

Na hemodinâmica, a ação androgênica reduz o débito cardíaco, o pico da pressão sistólica, a fração de ejeção e o consumo de oxigênio pelo miocárdio, fato este atribuído ao aumento da atividade da miosina ATP-ase 8, e a vasodilatação coronariana (GEBARA et al., 2002; SAAD et al., 2012; GRAHAM et al., 2006).

1.2 Deficiência androgênica

Existem críticas quanto ao termo “andropausa”, quando se refere ao envelhecimento masculino, pois não há parada na produção dos hormônios sexuais, mas sim um declínio na produção com o decorrer da idade. Assim a deficiência androgênica é também referida como DAEM (deficiência androgênica do envelhecimento masculino), que inclui a diminuição de outros hormônios como o do crescimento (GH), fator de crescimento similar a insulina (IGF-1), desidroepiandrosterona (DHEA) e melatonina. (MATSUMOTO, 1993; SWERDLOFF; WANG, 1993; MATSUMOTO, 2002; STANWORTH; JONES, 2008; SERRA et al., 2011).

O diagnóstico clínico de deficiência androgênica deve ser feito com base nos sintomas típicos, como diminuição da função erétil e da libido, do humor, da massa magra, da força muscular, da densidade mineral óssea, além de aumento da massa gorda na presença e declínio do nível sérico da testosterona (NIGRO; CHRIST-CRAIN, 2012).

O declínio da testosterona varia de 0,4 a 2,6% por ano com elevação progressiva da SHBG, iniciando de forma gradual e progressiva após a terceira década de vida, podendo resultar em um homem de 60 anos, uma perda de 20% e de 50% em homens com mais de 80 anos (ARAÚJO et al., 2011). A diminuição ocorre pela deficiência testicular, baixa produção da secreção hipotalâmica do GnRH e redução hipofisária do hormônio luteinizante (LH) (MATSUMOTO, 2002; ZIRKIN; TENOVER, 2012).

Os valores séricos de testosterona total são estabelecidos em diretrizes, sendo que a maioria aceita como valor normal acima de 300 ng/dl. Valores abaixo

de 200 ng/dL são considerados hipogonádicos e acima de 400 ng/dL dificilmente o são (ROY et al., 2002; TRAISH; GOLDSTEINC; KIMB, 2007).

Os homens hipogonádicos de início tardio têm sido associados a fatores de risco cardiovascular, síndrome metabólica, diabetes mellitus tipo 2, aumento de biomarcadores inflamatórios, dislipidemia, obesidade abdominal, os quais podem aumentar o risco de morte prematura por disfunção endotelial e aterosclerose (WOLIN et al., 2007; HAWKINS et al., 2008; MAGGIO; BASARIA, 2009; SÁ et al., 2009; GUNGOR et al., 2010; ARAÚJO; DIXON; SUAREZ, 2011; KIM et al., 2011; SAAD et al., 2012).

Em artigo de revisão, Miner e Seftel (2010) encontraram relação entre doença endotelial coronariana, disfunção erétil e hipogonadismo. Porém, a relação entre disfunção sexual erétil e níveis baixos de testosterona não é bem definida, havendo uma relação estreita entre obesidade, síndrome metabólica e disfunção sexual como causa e efeito indireto. Esta relação melhora em homens que fizeram reposição hormonal com testosterona (MAGGIO; BASARIA, 2009; MARBERGER; WILSON; RITTMASER, 2010).

1.3 Reposição de testosterona

O tratamento de reposição da testosterona (TRT) pode ser feita por meio de 4 vias de administração: oral, injetável, transdérmica e transmucosa. As formas de apresentação diferem em vários aspectos como segurança, liberação adequada da substância ativa, aplicação fácil, intervalo entre as doses, aspecto econômico, privacidade e contra indicações (BORST; MULLIGAN, 2007; KENNY et al., 2010) (Quadro 1).

As contra-indicações absolutas para a TRT são poucas: a presença de câncer de próstata não tratado com objetivo de cura, o câncer de mama em homens e o prolactinoma. As contra-indicações relativas para a TRT são para portadores de Síndrome de apneia do sono, hiperplasia prostática com sintomas severos e passado de doenças tromboembólicas (BORST; MULLIGAN, 2007; BASSIL; ALKAADE; MORLEY, 2009; MORGENTALER, 2011; CALOF et al., 2005).

As principais formas de apresentação para o TRT com suas vias de administração, vantagens e desvantagens são apresentadas na Tabela 1.

Formulação	Administração	Vantagens	Desvantagens
Undecanoato de testosterona	Oral 120-160 mg a cada 6h	Absorção através do sistema linfático, com redução do envolvimento hepático (mecanismo de primeira passagem). Administração cômoda.	Variações supra e subfisiológicas nos níveis e testosterona. Necessidade de várias doses diárias com consumo de comida gordurosa
Cipionato de testosterona	Intramuscular 50-400 mg, injeção a cada 2-3 semanas	Preparação de curta ação que permite a sua retirada em caso de efeitos adversos. Baixo custo.	Possível flutuação dos níveis de testosterona, dor local e consultas freqüentes
Enantato de testosterona	Intramuscular 50-400 mg, injeção a cada 2-3 semanas	Preparação de curta ação que permite a sua retirada em caso de efeitos adversos. Baixo custo.	Possível flutuação dos níveis de testosterona, dor local e consultas freqüentes
Propionato de testosterona	Intramuscular 25 a 50 mg de 2 a 3x por semana	Preparação de curta ação que permite a sua retirada em caso de efeitos adversos. Baixo custo	Possível flutuação dos níveis de testosterona, dor local e consultas freqüentes
Undecilato de testosterona	Intramuscular 1.000 mg, injeção a cada 10-14 semanas	Estabilização dos níveis de testosterona sem flutuação. Longa duração.	Preparação de longa ação, não pode ser retirado em casos de efeitos adversos
Testosterona transdérmica (não modificada)	Gel ou adesivos de pele com 2,5-5 mg, aplicação diária	Estabilização dos níveis de testosterona sem flutuações. Reproduz o ciclo circadiano	Irritação da pele no local de aplicação e risco de transferência interpessoal
Testosterona sublingual (não modificada)	Sublingual, doses diárias	Rápida absorção e obtenção de níveis fisiológicos	Irritação local sublingual
Testosterona bucal (não modificada)	Tablete bucal; 2 doses por dia	Rápida absorção e obtenção de níveis fisiológicos	Irritação e dor no local da aplicação
Bucilato de testosterona	Depósitos ou implantes subcutâneos – a cada 5 ou 7 meses	Longa duração e constantes níveis séricos de testosterona	Risco de infecção e extrusão dos implantes

Tabela 1 - Usos da testosterona: formulação, administração, vantagens e desvantagens
Adaptado de: Dohle (2012); Soares e Rhoden (2010)

1.3.1 Esteróides andrógenos e anabolizantes

Os esteróides andrógenos e anabolizantes (EAA) são uma família de hormônios que inclui a testosterona natural, e numerosos análogos sintéticos. Embora sem uma dissociação completa, foram atribuídos à testosterona, os efeitos designados como androgênicos e/ou anabólicos, nos respectivos tecidos-alvo. Os efeitos androgênicos são responsáveis pelo desenvolvimento do trato reprodutivo masculino e das características sexuais secundárias, assim como a manutenção da função reprodutiva e comportamento sexual (CHRISTIANSEN, 2001, AARON et al., 2010). Os efeitos anabólicos se referem ao estímulo da fixação do nitrogênio, causando um balanço nitrogenado positivo, por aumentar a síntese protéica em diversos tecidos, principalmente, volume e força muscular (KICMAN, 2008; KANAYAMA et al., 2010).

A molécula da testosterona sozinha não é eficiente quando injetada ou tomada oralmente, pois é muito susceptível a inativação rápida pelo fígado. Conseqüentemente, a estrutura química da testosterona teve que ser modificada para contornar esse problema. A molécula da testosterona foi alquilada na posição 17α para formar esteróides anabólicos orais (retardando o catabolismo hepático), e esterificada na posição 17β para formar esteróides anabólicos, injetáveis, mais lipofílicos que a testosterona. O derivado 17β é suspenso em óleo, o que permite maior tempo de concentração no corpo humano e mais recentemente foram desenvolvidos adesivos transdérmicos e *sprays* nasais, aumentando as opções legais e ilegais de uso do hormônio (KICMAN, 2008).

Usados de forma lícita, o efeito anabólico tem indicação na caquexia, estados de desnutrição severa, fases terminais de câncer, na perda muscular do idoso, na cicatrização de feridas, pós-operatório, algumas hepatites ligadas a estados de desnutrição, desordens pulmonares e queimaduras graves. Atua diretamente na expressão de ARs, aumentando o metabolismo intracelular, nos receptores de glicocorticoides, como efeito anti-catabólico, na redução da ansiedade e melhorando o perfil cognitivo (FRYE; SELIGA, 2001; BASARIA; WAHLSTROM; DOBS, 2001; GULLETT; HEBBAR; ZIEGLER, 2010; KICMAN, 2008).

O uso ilícito se faz pelos jovens que desejam melhorar rapidamente a aparência física ou atletas que querem atingir alta performance (AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE, 1978; LIPPI; FRANCHINI; GUIDI, 2008; HUSAK; IRSCHICK, 2009; DODGE; HOAGLAND, 2011). Para esse fim, a utilização dos esteróides anabolizantes foi inicialmente referida em levantadores de peso e outros atletas de força, nos anos 50, com objetivo de ganho de força e massa muscular, aliado à perda de gordura corpórea. Hoje tal prática é considerada como uma espécie de trapaça ou dopagem (KANAYAMA et al., 2010; KANAYAMA; HUDSON; POPE JR, 2010).

O *doping* é definido pelo Comitê Olímpico Internacional (COI), como:

Uso de uma substância (ou expediente ou método), que é potencialmente prejudicial para a saúde dos atletas e/ou capazes de aumentar o seu desempenho, ou a presença no organismo dos atletas de uma substância proibida ou evidência do seu uso ou evidência do uso de um método proibido. (ROGOL, 2010, p.2).

O uso cada vez mais precoce para esse fim tem acontecido nos últimos anos pelos jovens adolescentes e escolares, de ambos os sexos, sendo considerado um problema de saúde pública em alguns países pela associação a potenciais riscos cardíacos, hepáticos, imunológicos, endócrinos, tegumentares e psicológicos podendo levar até a síndrome de dependência (NIEMINEN et al., 1996; NILSSON et al., 2001; URHAUSEN; ALBERS; KINDERMANN, 2003; PAYNE; KOTWINSKI; MONTGOMERY, 2004; TAHTAMOUNI et al., 2008; FONTANA et al., 2008; SAMAHA, 2008; KANAYAMA et al., 2009; BISPO et al., 2009; KANAYAMA et al., 2010; BAGGINSH et al., 2010; ROTHMAN et al., 2011; HARMER, 2010; FAIGENBAUM et al., 1998; HARDT et al., 2012). A esses riscos se somam os efeitos adversos indesejáveis como fechamento prematuro das epífises ósseas nos jovens, atrofia da mama nas mulheres, ginecomastia nos homens, aumento da libido de difícil controle, aumento da agressão, irritabilidade, perfil destrutivo, depressão severa, potencial suicida, colestase, peliose e tumores hepáticos, supressão gonadal, atrofia testicular, amenorréia, esterilidade, hipertrofia do clitóris, acne e infecções severas no local da injeção da droga com possibilidade de intensa miolise (MARTIN; DAYYEH; CHUNG, 2008; KICMAN, 2008; FARKASH; SHABSHIN; PERRY, 2009; LAKSHMAN et al., 2010).

1.4 Testosterona e próstata

1.4.1 Hiperplasia benigna e câncer da próstata

Hipertrofia benigna da próstata (HBP) é o crescimento excessivo do epitélio e tecido fibromuscular da zona de transição e região periuretral. A patogênese da HBP é incerta, mas múltiplas teorias têm sido propostas, como a influência hereditária e interferência de andrógenos (KIM et al., 2011; BALK SP; KNUDSEN, 2008).

São inequívocas, as evidências de que a testosterona pode estimular o crescimento e agravar sintomas no homem com câncer de próstata localmente avançado ou metastático e que o tecido prostático é testosterona sensível (MOSTAGHEL; MONTGOMERY; NELSON, 2009; PIERORAZIO et al., 2010). Mas não há nenhuma evidência conclusiva de que terapia com testosterona aumenta o risco de desenvolver o câncer de próstata, hiperplasia prostática ou mesmo de conversão de um câncer de próstata subclínico em clinicamente detectável (DANBY, 2008; JANNINI et al., 2011; GUPTA et al., 2001; HARPER et al., 2009).

Estudos clínicos com pacientes portadores de câncer de próstata metastático resistente a castração, concluíram que altas doses de testosterona exógena podem ser administradas com segurança, atribuindo que progressão da doença estaria ligada a hiperexpressão de ARs e a fatores genéticos (SZMULEWITZ et al., 2009, BRUM; SPRITZER; BRENTANI, 2005; MORRIS et al., 2009; BOSLAND; MAHMOUD, 2011; BRUM; SPRITZER; BRENTANI, 2005).

A relação entre testosterona e câncer de próstata vem despertando grande interesse. Shin et al. (2010), em estudo de meta análise, concluíram que homens que possuem testosterona e IGF-1 cerca de 20% acima do valor de referência tem duas vezes mais chance de desenvolver câncer de próstata. Baixos níveis de testosterona elevam os níveis de LDL circulante que por sua vez é um indutor forte de proliferação e migração celular do câncer de próstata andrógeno independente (SEKINE et al., 2010). Agalliu et al. (2008) investigaram a relação entre uso de estatinas e o câncer de próstata, e constataram uma redução do risco relativo de ter câncer de próstata nos pacientes obesos que faziam uso de estatina. Solomon e Freeman (2011) concluíram que o colesterol é um fator de risco provável para

câncer de próstata agressivo e Dillard, Lin, Khan (2008) e Mostaghel et al. (2012) que câncer de próstata hormônio independente sintetizam altos níveis de colesterol.

Em contraponto as estatinas inibem a atividade de vários elementos reguladores celulares, bloqueando a síntese de colesterol, mas também afetam mecanismos reguladores da apoptose, proliferação celular, migração celular, e a resposta inflamatória, não havendo com isso critérios para prevenção do câncer de próstata nos homens hipogonádicos usando as estatinas (FOWKE et al., 2011; GREEN et al., 2001; NICHOLSON; RICKE, 2011).

A associação de baixos níveis de testosterona e altos níveis de colesterol, elevação da glicemia, aumento da resistência periférica a insulina, configurando síndrome metabólica, tem implicações fundamentais para a determinação do risco de câncer de próstata (CHU; FREEDLAND, 2001).

Outros estudos, porém, têm demonstrado que o risco de desenvolver câncer de próstata aumenta em homens com baixo nível de testosterona, pior prognóstico e alto grau de diferenciação e/ou estágio mais avançado. Uma possível explicação é que baixos níveis de testosterona não ativam os elementos para resposta de andrógenos promotores de PSA. Homens com baixos níveis de testosterona teriam maior período de latência antes do diagnóstico, porque seu PSA subiria mais lentamente (BOSLAND, 2006; EUFRÁSIO et al., 2010; RAMASAMY; FISHER; SCHLEGEL, 2012).

1.4.2 PSA

O Antígeno prostático específico (PSA) é uma glicoproteína, kallicreina humana tipo três (hKLLK3) de peso molecular igual a 34kd, produzida pelas células alveolares e do epitélio ductal da próstata, não sendo encontrado em qualquer outro tecido, tem meia vida sérica de dois a três dias. Não é encontrada em nenhum outro tecido. Cerca de 10% encontra-se na forma livre e 90% ligado a inibidores de protease como a alfa1-antiquimiotripsina (ACT-PSA). O PSA total representa a soma das duas formas. Encontra-se elevado na hipertrofia prostática benigna (HBP), na prostatite aguda ou crônica, no infarto da próstata e no adenocarcinoma de próstata (DIAMANDIS, 1995; KUMAR et al., 2000; YOUSEF et al., 2005; ALLARD et

al., 2010; KIM et al., 2011; CARTER et al., 1993; LIU et al., 2012; PAPSIDERO et al., 1980).

É amplamente utilizado na triagem, diagnóstico, estadiamento e monitoramento de pacientes com câncer da próstata (CATALONA; SMITH; ORNSTEIN, 1997; HINEV; ANAKIEVSKI; HADJIEV, 2012; SMITH; BIRTWISTLE, 2012). Tem relação inversa em homens com obesidade central e circunferência abdominal aumentada, elevado índice de massa corpórea sugerindo relação direta entre hipogonadismo, alto volume plasmático, hemodiluição e baixo PSA, dificultando assim o diagnóstico do câncer da próstata nos estágios iniciais (BAÑEZ et al., 2007; WERNY et al., 2007; PRICE et al., 2008; LOEB et al., 2009).

A fase inicial a detecção do câncer da próstata quando ainda não é perceptível pelo toque retal é PSA dependente, no entanto, valores entre 2 e 10 ng/mL ainda induzem a realização de biópsias desnecessárias (THOMPSON et al., 2011; SFOUNGARISTOS; PERIMENIS, 2012; CATALONA et al., 2011; KIM et al., 2011). Homens em uso de anti-inflamatórios não hormonais, estatinas e diuréticos tiazídicos têm os níveis de PSA reduzidos diminuindo em 10% a chance de diagnosticar o câncer de próstata no estágio inicial. Entre os usuários de aspirina, a redução dos níveis de PSA foi significativamente maior (SINGER; PALAPATTU; WIJNGAARDEN, 2008, FOWKE et al., 2009; CHANG; HARSHMAN; PRESTI JR, 2010).

Dos trabalhos iniciais de Huggins (1944) até os contrapontos de Morgentaler (2011), há uma relação controversa entre o declínio hormonal do envelhecimento masculino, doenças da próstata, reposição hormonal, níveis de testosterona e PSA (MATSUMOTO, 2002, SOARES; RHODEN, 2010; JANNINI et al. 2011; NIGRO; CRHIST-CRAIN, 2012).

1.5 Modelos de carcinogênese na próstata

Dos modelos animais, os cães são os únicos a mostrar neoplasia intra-epitelial (NIP) de alto grau e desenvolver câncer de próstata com alta frequência. Por outro lado, os ratos representam uma das poucas espécies que desenvolvem câncer

de próstata espontaneamente (LUCIA et al., 1998; JEET, RUSSELL; KHATRI, 2010). O desenvolvimento do câncer da próstata espontâneo é um evento relativamente raro na maioria dos modelos de roedores conhecidos. Como esta é uma doença relacionada ao envelhecimento, é especulado que a expectativa de vida desses animais experimentais pode ser demasiada curta para a instalação efetiva e evolução deste tipo de doença (LUCIA et al., 1998; HOMMA et al., 1997).

Dentre os modelos animais mais usados para desenvolvimento do câncer de próstata, destacam-se o de envelhecimento induzido pelo desequilíbrio de andrógenos e estrógenos, o transgênico, o transplante de linhagens celulares tumorais, o estresse oxidativo, a peroxidação lipídica, e o induzido por drogas carcinogênicas como a N-Metil-N-Nitrosourea (HOKAIWADO et al., 2008; TABOGA; VILAMAIOR; GÓES, 2009; ÖZTEN et al., 2010).

A combinação de N-Metil-N-Nitrosourea (MNU) e testosterona é uma ferramenta valiosa para indução de carcinogênese da próstata em roedores, como tratamentos de curto prazo. O MNU é um agente de metilação, de ação direta, que reage com macromoléculas celulares, incluindo proteínas e DNA, causando a elevação de O6-metilguanina DNA metiltransferase, expressão de receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) e a expressão de receptor tirosina quinase. Na próstata, modelos de roedores tratados com MNU e androgênio constituem sistemas, anatomicamente e fisiologicamente, relevantes para a avaliação de substâncias que são hipoteticamente inibidoras ou indutoras da carcinogênese na próstata humana (BOSLAND; PRINSEN, 1990; TOMITA; HOSAKA; ASO, 1990; TAMANO et al., 1996; BOILEAU et al., 2003; SONG; CORNELIUS; DANIELPOUR, 2003; LIMPENS et al., 2004; BOILEAU et al., 2003; NARAYANAN et al., 2007; McCORMICK et al., 1998; BANUDEVI et al., 2011).

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Analisar se duas formas distintas de testosterona associada a um indutor de carcinogenese em curto período, podem alterar a produção de PSA e/ou o epitelio da próstata de ratos *Wistar* jovens saudáveis.

2.2 Específicos

- Avaliar a dosagem sérica do PSA;
- Realizar a análise histopatológica da próstata.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), sob protocolo CEA/005/2010.

3.1 Animais e distribuição dos grupos

Foram utilizados 80 ratos machos, *Wistar* com idade média de oito semanas, pesando entre 130 e 150g provenientes do Biotério Central da UFMA. Os animais receberam água potável e ração padrão (Purina® Labina), *ad libitum*, permanecendo em condições ambientes de temperatura de 22°C, umidade relativa média de 55% e exaustão contínua, obedecendo o ciclo de claro e escuro na proporção de 12 horas claro e 12 horas escuro, além de faixa auditiva média de 40dB. Permaneceram por sete dias em período de adaptação ao Laboratório de Pesquisa de Imuno Fisiologia da UFMA, antes do início do estudo.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos de 40 ratos cada, segundo a administração de N-Metil-N-Nitrosourea:

- grupo NMU - ratos que receberam dose única de 30mg/kg NMU, via intraperitoneal
- grupo Controle (C), ratos que receberam solução salina pela mesma via.

Cada grande grupo foi subdividido em 4 subgrupos de 10 animais cada, de acordo com os diferentes regimes de administração de testosterona, iniciando no sétimo dia após aplicação do NMU. Os subgrupos foram organizados da seguinte forma:

- **Grupo CP7:** Ratos submetidos à dose de 3,3 mg/kg de cipionato de testosterona (CP), via intramuscular, na face posterior da coxa esquerda, a cada 7 dias, durante 16 semanas;
- **Grupo CP14:** Ratos submetidos à dose de 3,3 mg/kg de cipionato de testosterona (CP), via intramuscular, na face posterior da coxa esquerda, a cada 14 dias, durante 16 semanas;

- **Grupo UT:** ratos submetidos à dose de 2,6 mg/kg de undecanoato de testosterona (UT), via oral, diária, durante 16 semanas, por meio de gavagem com cânula de metal de 3 mm de diâmetro, ligada a seringa de 1 mL.
- **Grupos Óleo:** ratos submetidos à dose de 0,5 mL de óleo mineral (OM), via oral, diária, durante 16 semanas, por meio de gavagem com cânula de metal de 3 mm de diâmetro, ligada a seringa de 1 mL.

Tabela 2- Distribuição dos grupos experimentais

Grupos	Subgrupos
TNMU	NMUCT7 NMUCT14 NMUUT NMUÓleo
T	CT7 CT14 UT Óleo

TNMU = Testosterona + N-Metil-N-Nitrosureia; NMU: N-Metil-N-Nitrosureia; C = Cipionato de Testosterona; U = Undecanoato de testosterona.

Ao longo do estudo os animais foram pesados semanalmente

3.2 Material farmacológico

A NMU (Sigma®, St. Louis, MO, USA) tem apresentação em frascos contendo 100 mg da droga. Foi realizada diluição com 100 mL de solução-tampão.

O preparado de testosterona injetável utilizado foi o cipionato de testosterona (DEPOSTERON®, NOVAQUIMICA), que é uma solução de administração intramuscular. Cada ampola contém: cipionato de testosterona 200mg em veículo oleoso q.s.p. 2mL.

N-Metil-N-Nitrosureia

O NMU é um composto orgânico cuja fórmula é $C_2H_5N_3O_2$. Tem aparência sólida, é solúvel em água, e seu ponto de fusão está entre 119° a 123°. É estável, inflamável, incompatível com agentes oxidantes fortes, bases fortes, ácidos fortes, metais, aminas, alcoóis e peróxidos, por exemplo: permanganatos de potássio, carbonatos, fosfatos solúveis e hidróxidos. A exposição aguda de seres humanos ao NMU pode resultar em irritação da pele e olhos, cefaléia, náuseas e vômitos. Este agente cancerígeno, é usado de forma a induzir tumores em vários ensaios experimentais em modelos animais (BOSLAND; PRINSEN, 1990).

O preparado de testosterona para administração via oral utilizado foi o undecanoato de testosterona (ANDROXON®, ORGANON). A apresentação do ANDROXON® é na forma de cápsulas contendo solução com 40mg de undecanoato de testosterona com líquido aquoso de 0,2mL. Na preparação, ocorre a diluição de cinco cápsulas (200mg) em 100 mL de óleo mineral obtendo uma solução de 2mg/mL.

Undecanoato de testosterona

O undecanoato de testosterona (UT) é uma testosterona esterificada na posição-17 β com uma cadeia lateral alifática longa, ácido undecanóico, dissolvido em óleo e encapsuladas em gelatina-mole. Dos 40mg, 63% (25mg) são testosterona. Após a ingestão, cerca de 5% é absorvida a partir do trato gastrointestinal através da veia porta para o ducto torácico. Devido à sua cadeia alifática, é transportado com lipídios na linfa e atinge a circulação geral através da veia subclávia, evitando assim uma primeira passagem através do fígado e subsequente metabolismo (YASSIN; HAFJEJEE, 2007).

Cipionato de testosterona

É conhecida por promover rápido ganho de força e massa muscular. Altamente androgênica apresenta boas propriedades anabólicas. Aromatiza facilmente, sendo provavelmente a maior responsável pelas ginecomastias em fisiculturistas. É uma solução injetável para uso intramuscular de base oleosa

Permite assim, a liberação lenta da testosterona, e a base de éster, permite rápida liberação de testosterona livre na circulação (YASSIN; HAFJEJEE, 2007).

O óleo mineral (ADV®) tinha apresentação de 100 mL por frasco.

3.3 Procedimentos

3.3.1 Coleta de sangue e dosagem de PSA

Foram realizadas três coletas de sangue com intervalo de oito semanas cada, sendo a primeira antes da administração do NMU.

Os animais foram anestesiados com cloridrato de quetamina (KETALAR® 50mg/mL na dose de 75 a 100mg/Kg) e cloridrato de xilasina (ROMPUM® 20mg/mL na dose de 10mg/Kg) aplicadas via intraperitoneal. Em seguida foi realizada punção do plexo retro orbitário com pipeta de vidro do tipo *Pasteur* lavada com anticoagulante EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) e retirada média de 2,0mL de sangue (Figura 1).

Após as 16 semanas de administração das drogas, retirada da ração e água seis horas antes, sedação dos animais e última coleta de sangue retro orbitária, os animais foram sacrificados com dose letal de cloridrato de quetamina (KETALAR® 50mg/mL, na dose média de 150mg/Kg) e cloridrato de xilasina (ROMPUM® 20mg/mL na dose média de 20mg/Kg) aplicadas por via intraperitoneal.

As dosagens do PSA total foram efetuadas em equipamento automatizado Elecsys (Roche), por método de eletroquimioluminescência, utilizando kit comercial (Elecsys total PSA immunoassay, Roche, Alemanha) e técnica de *sandwich*, descrita abaixo:

- 1ª incubação usando 20µL da amostra mais um anticorpo monoclonal biotínico específico anti-PSA e um anticorpo monoclonal específico anti-PSA marcado com complexo de rutério^a que reagem entre si e formam um complexo *sandwich*.

- 2ª incubação é feita após a incorporação das micro partículas revestidas de estreptavidina. O complexo formado liga-se à fase sólida pela interação de biotina e da estreptavidina.

A mistura da reação é aspirada para a célula de leitura, onde as micro partículas são fixadas magneticamente à superfície do eletrodo. Os elementos não ligados são então removidos com ProCell. A aplicação de uma corrente elétrica ao eletrodo induz uma emissão quimioluminescente que é medida por um fotomultiplicador.

Os resultados foram determinados com base numa curva de calibração gerada especificamente pelo analisador, através de uma calibração de dois pontos e uma curva principal induzida no código de barras do reagente.

Este ensaio de eletroquimioluminescência (ECLIA) foi concebido para ser analisado por analisadores de imunoensaios Elecsys 2010 COBAS e 411, seguindo um orientador de coleta e preparação das amostras de sangue. Os valores inferiores ao limite de detecção são indicados como <0,002ng/mL.

3.3.2 Coleta da próstata, processamento e parâmetros de avaliação

Após a morte, cada animal foi posicionado em decúbito dorsal, imobilizado em prancha de madeira com fixação dos membros anteriores, posteriores e da cauda.

Realizou-se depilação da região ventral superior do abdome de 16,0cm², antiseptia da região abdominal com povinilpirrolidona-iodo (Polividine tópico®) e colocação de campo fenestrado estéril sobre o animal, delimitando a área cirúrgica (Figura 2).

Procedeu-se laparotomia mediana longitudinal a partir de 1 cm abaixo do processo xifóide, estendendo-se por 3 cm caudalmente; realizou-se a diérese da pele e da tela celular subcutânea com bisturi de lâmina nº 15 e do plano músculo-aponeurótico e peritônio com tesoura; foi realizada revisão da hemostasia da parede abdominal e, em seguida, o exame de todo o sítio do aparelho geniturinário, com exposição, identificação e exteriorização da próstata, seguida pela retirada da peça cirúrgica (Figura 3, 4 e 5). A síntese da parede abdominal se deu em dois planos,

com fio de nylon 5-0 (MONONYLON®, ETHICON) em sutura contínua acometendo o plano músculo-aponeurótico e a pele.

As peças foram fixadas em formol a 10% e levadas ao Laboratório de Anatomia Patológica da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) onde ocorreu o preparo das lâminas. Procedeu-se à retirada de fragmentos da próstata, os quais foram submetidos à desidratação em concentrações crescentes de álcool etílico, 70%, 80%, 90%, 95% e absoluto, seguida de diafanização em xilol e inclusão em parafina. Cortes com espessura de 5µm foram realizados com micrótomo e colocados em lâminas, para posterior coloração em hematoxilina e eosina (HE).

Para a avaliação histológica, foi realizada a digitalização das imagens, com o auxílio do programa Leica Application Suite, e análise das lâminas por um único profissional experiente.

Os achados histológicos epiteliais encontrados foram agrupados em três grandes grupos para melhor análise estatística segundo os parâmetros abaixo: 1- Nada observado, 2- Redução do epitélio e 3- Redução da altura do epitélio.

Os parâmetros histológicos dos ácinos prostáticos analisados foram: avaliação das projeções do epitélio acinar segundo classes: projeções normais, reduzidas (redução leve, moderada ou severa) ou aumentadas; presença ou ausência de secreção acumulada; presença ou ausência de processo inflamatório; e presença ou ausência de congestão vascular.

3.4 Análise estatística

Os dados foram analisados com auxílio do programa BioEstat 5.3, utilizando como teste estatístico entre os grupos: Mann-Whitney para saber se a população do grupo da NMU tendeu a ter valores maiores do que a população que não foi usado o NMU ou se elas tiveram a mesma mediana. O nível de significância para se rejeitar a hipótese de nulidade foi de 5%, ou seja, considerou-se como estatisticamente significativo um valor de $p < 0,05$. Para comparar os subgrupos entre si, foi utilizado um teste não paramétrico de Kruskal-Wallis considerando também como estatisticamente significativo um valor de $p < 0,05$. E para análise de rejeição da

hipótese ou hipótese nula foi usado o teste t de Student ou somente teste t que segue uma distribuição normal.



Figura 1 – Coleta de sangue pelo plexo do rato *Wistar* retroorbitário com pipeta de Pasteur

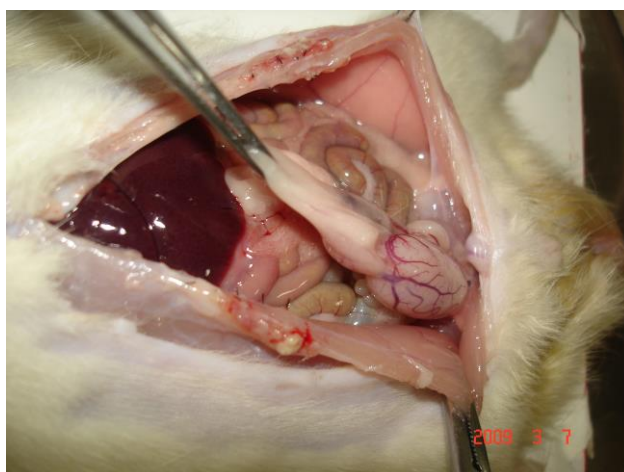


Figura 2 – Laparotomia mediana e exposição do aparelho gênito urinário do rato *Wistar*.



Figura 3 – Exposição do testículo e próstata do rato *Wistar*

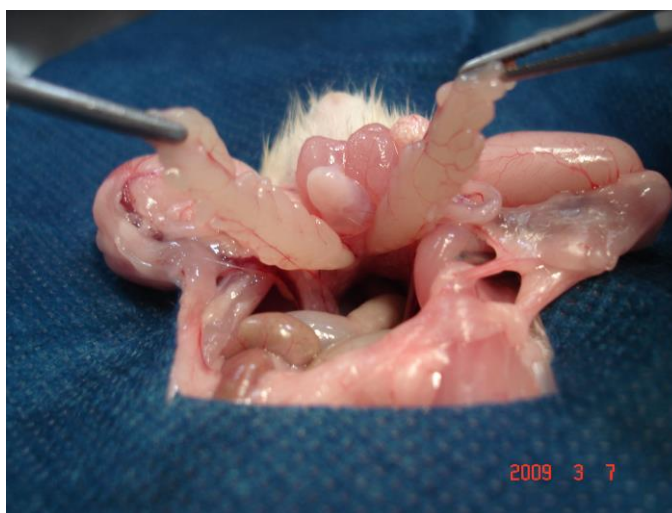


Figura 4 – Exposição das vesículas seminais próstata e bexiga do rato *Wistar*



Figura 5 – Peça cirúrgica retirada do rato composta por testículos, epidídimos, ductos deferentes, próstata, vesículas seminais, bexiga e coto uretral peniano

4 RESULTADOS

4.1. Peso corporal

Os animais foram pesados semanalmente. Os animais do grupo TNM perderam peso exceto os do subgrupo TNM14. Quanto aos ratos do grupo T, todos os subgrupos ganharam peso exceto o subgrupo T7. Quando submetidos a análise estatística, esta não mostrou diferença significativa.

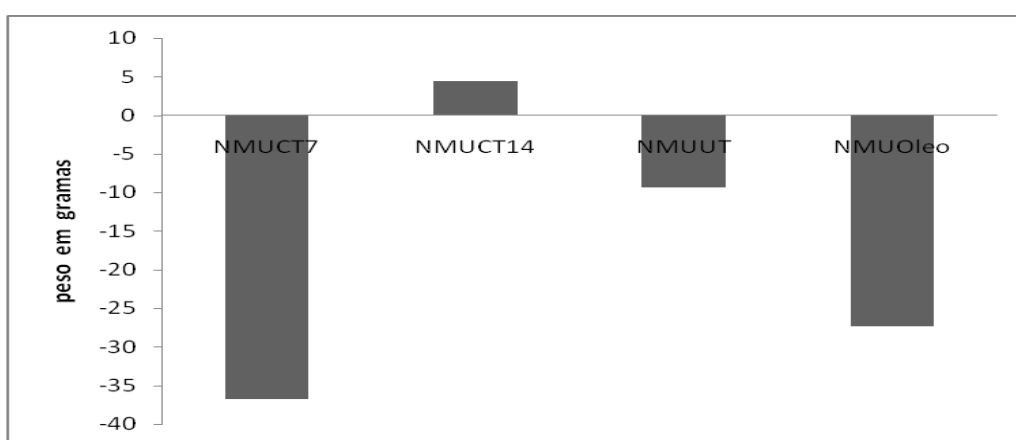


Gráfico 1 – Análise comparativa das médias dos pesos nos subgrupos do grupo TNMU. T unilateral $p = 0,2538$

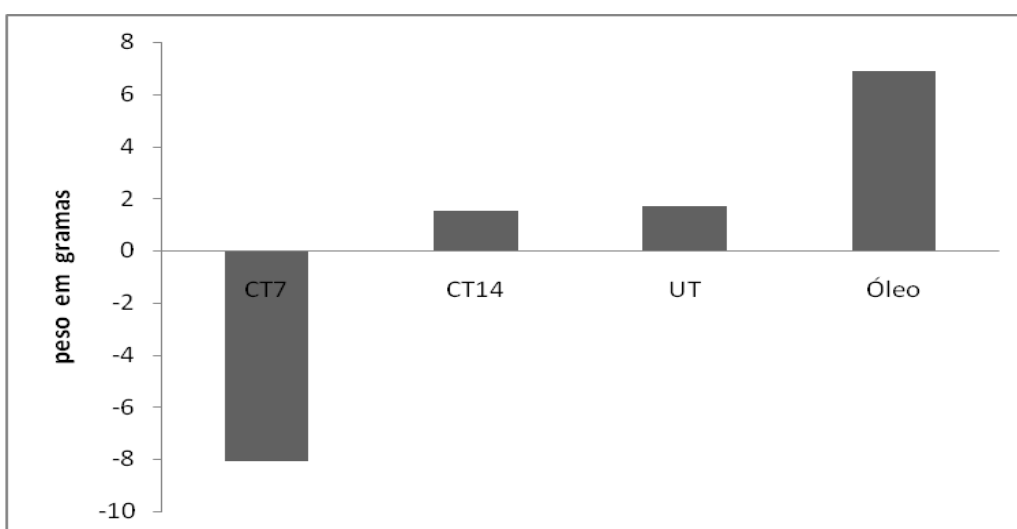


Gráfico 2 – Análise comparativa das médias dos pesos nos subgrupos do grupo T. T unilateral $p = 0,0653$

4.2 Análise da próstata

Após 16 semanas de tratamento, não foi evidenciada alteração glandular do tipo tumor ou inflamação. As características epiteliais encontradas nos dois grandes grupos, que diferiram quanto ao uso de NMU, não foram significativas. Esses resultados foram quantificados de acordo com a aparência do epitélio e estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Análise das alterações epiteliais encontradas nos grupos tratados com NMU + Testosterona ou somente testosterona

Características epiteliais	Grupo TNMU	Grupo T	TOTAL
Epitélio normal (NO)*	21	14	35
Redução do epitélio**	5	10	15
Redução da altura do epitélio	10	9	19
TOTAL	36	33	69

N = 69 Mann-Whitney: p-valor unilateral = 0,2105 e p-valor bilateral = 0,4209

* Figura 6 ** Figuras 7, 8 e 9

Essas características epiteliais podem ser observadas nas figuras abaixo.

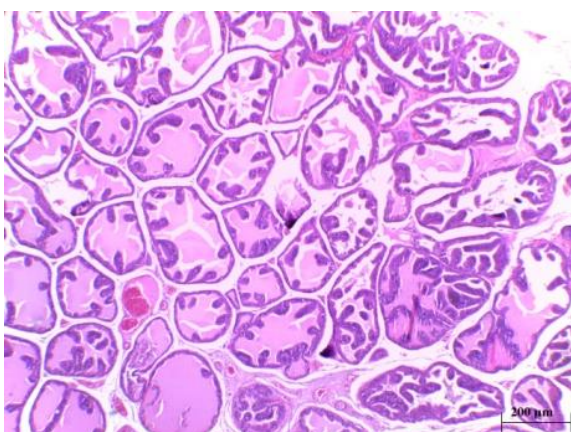


Figura 6 – Epitélio dos ácinos prostáticos normal prostáticos

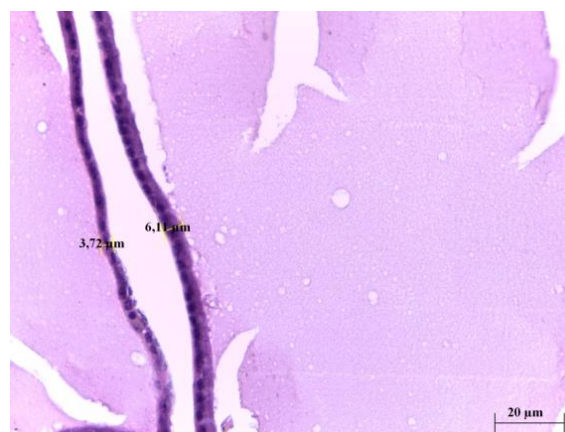


Figura 7 – Redução do epitélio dos ácinos

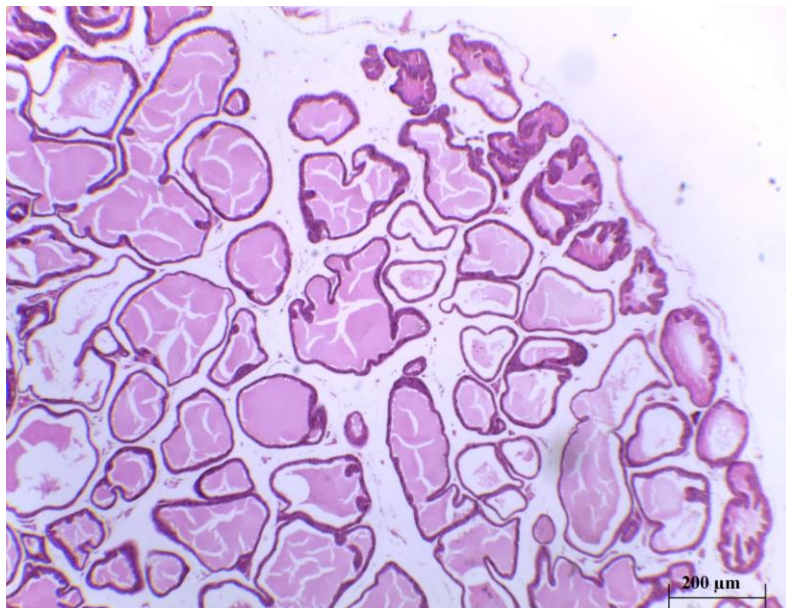


Figura 8 – Redução moderada da projeção do epitélio dos ácinos prostáticos

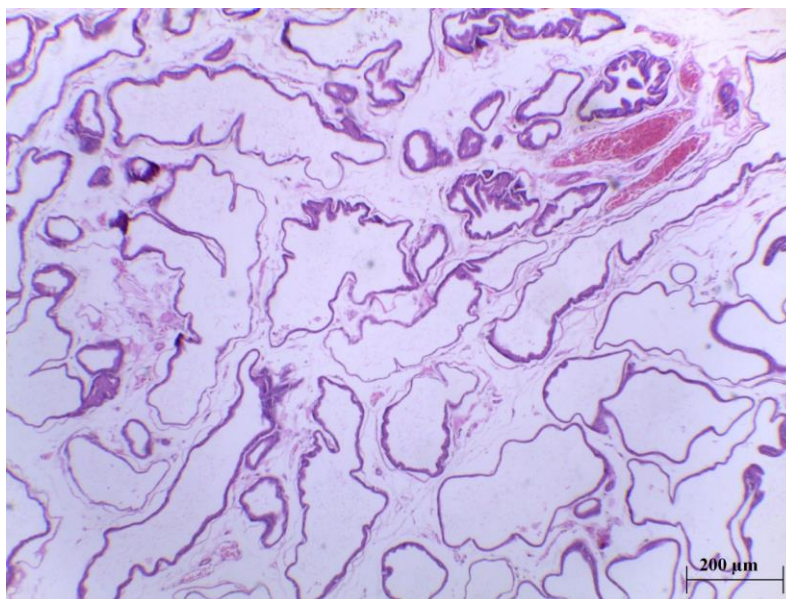


Figura 9 – Redução severa da projeção do epitélio dos ácinos prostáticos

Em relação à análise histopatológica dos ácinos prostáticos, ficou evidenciada maior presença de secreção e congestão, sem indícios de aumento dos critérios histológicos de inflamação, como a neutrofilia ou o edema (Tabela 4).

Tabela 4 - Frequência das alterações histopatológicas acinares encontradas nos grupos

Variáveis		N	%
Projeção acinar			
	Normal	4	5,8
	Redução leve	5	7,2
	Redução Moderada	32	46,4
	Redução severa	28	40,6
Secreção			
	Ausente	12	17,4
	Presente	57	82,6
Congestão			
	Ausente	19	27,5
	Presente	50	72,5
Inflamação			
	Ausente	61	88,4
	Presente	8	11,6

A análise das variáveis entre os grupos não mostrou diferença estatisticamente significativa em todos os critérios de análise histopatológica (Tabela 4). Da mesma maneira, a análise entre os subgrupos de droga, dose, frequência, via de administração e controle com óleo mineral também não resultou em nenhuma diferença significativa (Tabelas 5, 6).

Tabela 5 - Análise comparativa das alterações acinares encontradas entre o grupo TNMU e T

Variáveis	TNMU		T		P
	N	%	N	%	
Projeção acinar					0,146
	Normal	2	5,6	2	6,0
	Redução leve	1	2,8	4	12,1
	Redução moderada	21	58,3	11	33,4
	Redução severa	12	33,3	16	48,5
Secreção					0,151
	Ausente	4	11,1	8	24,2
	Presente	32	88,9	25	75,8
Congestão					0,622
	Ausente	9	25,0	10	27,8
	Presente	27	75,0	23	72,2
Inflamação					0,169
	Ausente	30	83,4	31	86,1
	Presente	6	16,6	2	13,9

Tabela 6 - Relação entre a incidência das variáveis nos subgrupos tratados com TNMU

Variáveis	NMUCT7		NMUCT14		NMUUT		NMUOI eo
	n (%)	p	n (%)	p	n (%)	P	n (%)
Projeção acinar		1,000		0,317		0,317	
Normal	1 (10,0)		0 (0,0)		0 (0,0)		1 (11,1)
Redução Leve	0 (0,0)		1 (10,0)		0 (0,0)		0 (0,0)
Redução Moderada	5 (50,0)		4 (40,0)		6 (85,7)		6 (66,7)
Redução Severa	4 (40,0)		5 (50,0)		1 (14,3)		2 (22,2)
Secreção		0,157		0,317		-	
Ausente	2 (20,0)		2 (20,0)		0 (0,0)		0 (0,0)
Presente	8 (80,0)		8 (80,0)		7 (100)		9 (100)
Congestão		1,000		0,563		1,000	
Ausente	2 (20,0)		3 (30,0)		2 (28,6)		2 (22,2)
Presente	8 (80,0)		7 (70,0)		5 (71,4)		7 (77,8)
Inflamação		0,563		0,563		-	
Ausente	9 (90,0)		9 (90,0)		5 (71,4)		7 (77,8)
Presente	1 (10,0)		1 (10,0)		2 (28,6)		2 (22,2)

Tabela 7 - Relação entre a incidência das variáveis nos subgrupos do grupo controle T

Variáveis	TCT7		TCT14		TUT		Oleo
	n (%)	P	n (%)	p	n (%)	P	n (%)
Projeção acinar		0,317		-		-	
Normal	0 (0,0)		1 (11,1)		0 (0,0)		1 (12,5)
Redução leve	1 (11,1)		2 (22,2)		1 (14,7)		0 (0,0)
Redução moderada	4 (44,5)		2 (22,3)		2 (28,6)		3 (37,5)
Redução severa	4 (44,4)		4 (44,4)		4 (57,1)		4 (50,0)
Secreção		1,000		1,000		-	
Ausente	2 (22,2)		2 (22,2)		2 (28,6)		2 (25,0)
Presente	7 (77,8)		7 (77,8)		5 (71,4)		6 (75,0)
Congestão		0,317		0,317		1,000	
Ausente	1 (11,1)		5 (55,6)		2 (28,6)		2 (25,0)
Presente	8 (88,9)		4 (44,4)		5 (71,4)		6 (75,0)
Inflamação		0,317		1,000		0,317	
Ausente	9 (100)		8 (88,9)		7 (100)		7 (87,5)
Presente	0 (0,0)		1 (11,1)		0 (0,0)		1 (12,5)

4.3 Dosagem de PSA

A variável PSA analisada nos dois grupos não apresentou alterações significativas (GRÁFICO 3).

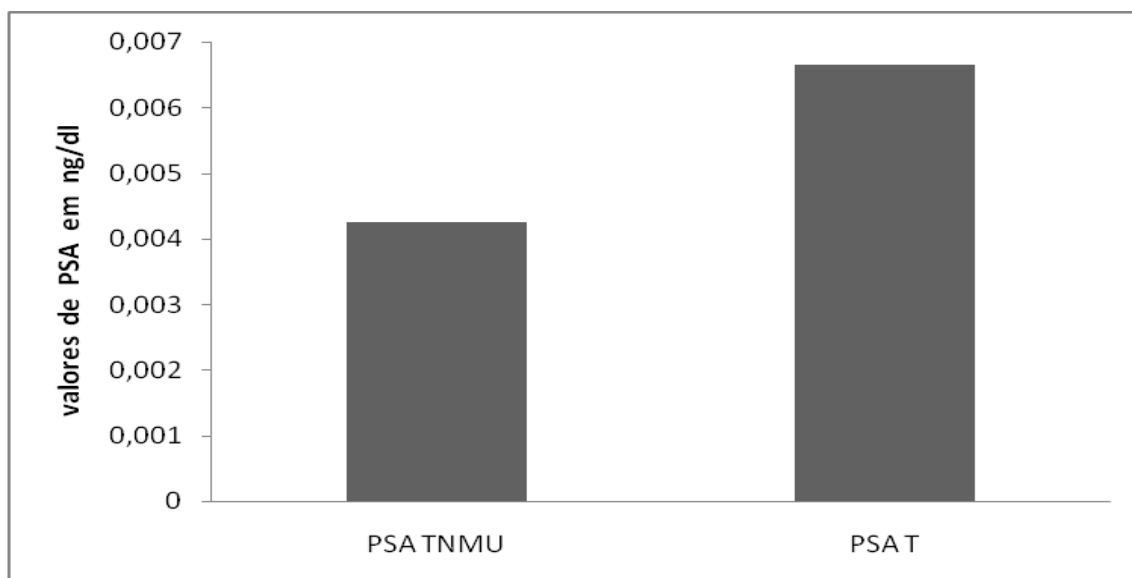


Gráfico 3 – Comparação das médias das dosagens de PSA nos dois grupos analisados. T unilateral p-valor = 0,1334

A análise das médias das dosagens plasmáticas de PSA nos subgrupos do grupo TMNU, não mostrou diferenças estatisticamente significativas. Resultado semelhante foi evidenciado nos subgrupos do grupo T, que também não mostraram diferença estatisticamente significativa entre os subgrupos. Porém o subgrupo tratado com óleo apresentou média 50% menor que os demais (GRÁFICO - 5), apesar do grupo NMUCT7 apresentar média mais elevada (GRÁFICO - 4).

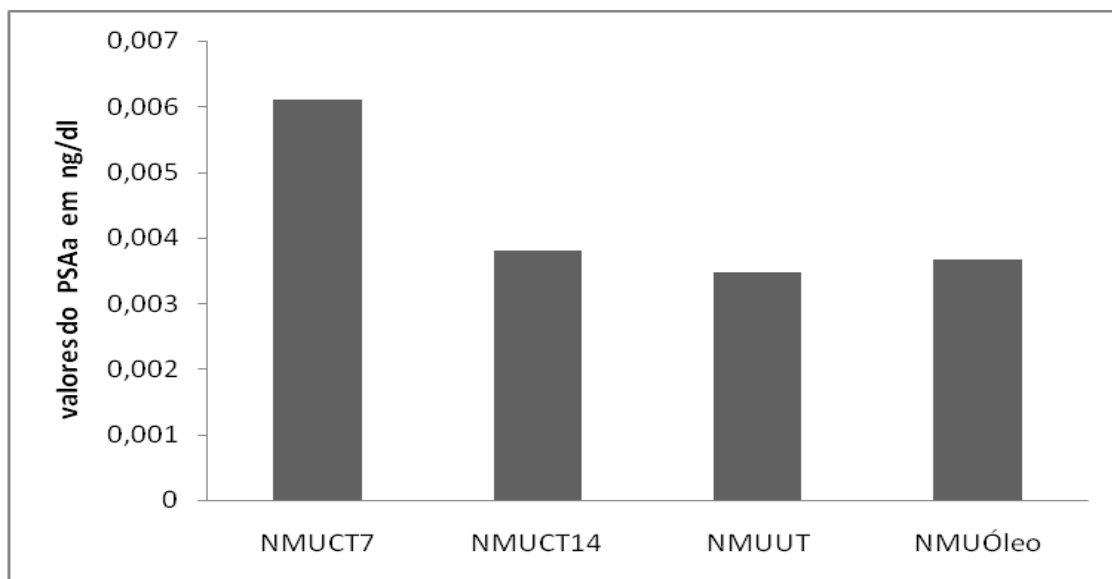


Gráfico 4 – Dosagem do PSA nos subgrupos do grupo TNMU. Kruskal-Wallis = $p = 0,9542$

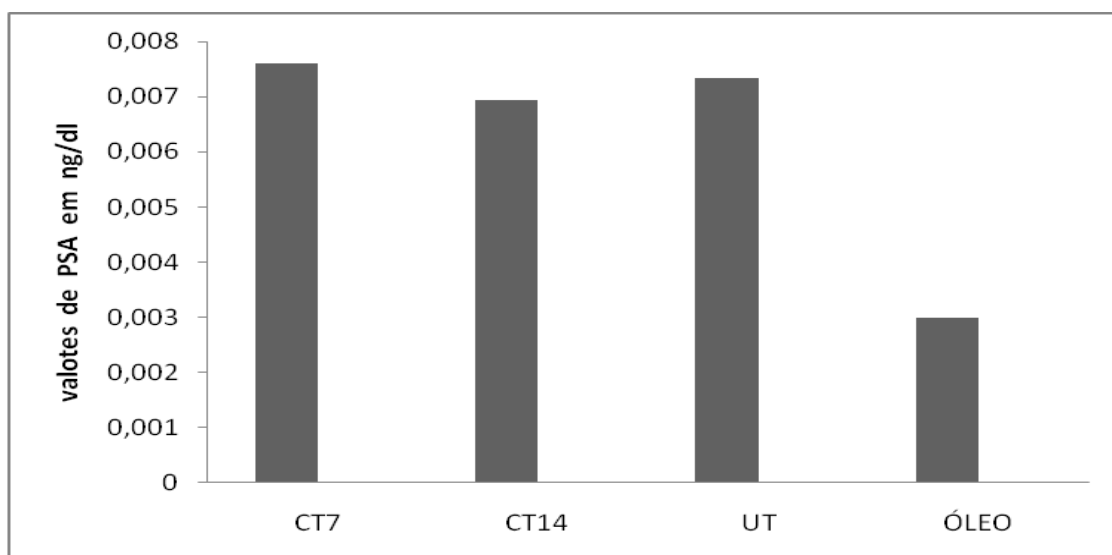


Gráfico 5 – Análise comparativa das médias do PSA nos subgrupos do grupo T. Kruskal-Wallis = $p = 0,3385$

5 DISCUSSÃO

Neste trabalho, a aplicação de 30mg intraperitoneal de NMU não induziu neoplasia nos animais. Isto difere do achado de Bosland e Prinsen (1990), que utilizando ratos Wistar, demonstraram que houve 25% de adenocarcinoma da próstata dorsolateral e de 5% para adenocarcinoma *in situ* com dose única, endovenosa, de 50mg/kg de peso de NMU, antecedida por 18 dias de acetato de ciproterona a 50mg/kg de peso/dia, por vias oral e subcutânea, e por 3 dias de propionato de testosterona a 100 mg/kg de peso/dia, por via subcutânea. As lesões surgiram em um tempo médio de 63 semanas.

No modelo experimental de câncer de próstata criado por Banudevi et al. (2011), foi elaborado um protocolo aplicando diariamente injeções intraperitoneais de propionato de testosterona 50mg/kg, durante 21 consecutivos. Após a última dose, os ratos receberam injeções intraperitoneais diárias de propionato de testosterona 50mg/kg, durante três dias. Após a última dose de testosterona, todos os ratos receberam uma dose única intravenosa de NMU 50mg/kg, dissolvido em solução salina a 10mg/mL através da veia da cauda. Uma semana após a administração MNU, os ratos receberam uma injeção intraperitoneal de propionato de testosterona 4mg/kg de peso, alternativamente, em 120 dias.

Tamano et al. (1996), utilizando ratos Wistar-Lobund com 12 semanas de vida, induziram câncer de próstata em 4 meses. Para tanto, estes autores submetem os animais a dose única, endovenosa, de 30mg/kg de peso de NMU seguida de colocação de cápsula subcutânea de testosterona sete dias após a aplicação do carcinógeno.

No presente estudo, o insucesso na indução do câncer de próstata pode ser explicado pela utilização da via intraperitoneal do NMU, que apesar de ser mais simples que a via endovenosa, é caracterizada por necessitar de doses maiores devido aos obstáculos pelos quais a droga deve ultrapassar para atingir a circulação sanguínea. Além disso, não há certificação precisa de que o conteúdo está sendo administrado na cavidade peritoneal (BOILEAU et al., 2003; BANUDEVI et al., 2011).

O tempo esperado para o surgimento das lesões foi relativamente curto em relação aos outros estudos, levando-se em consideração a baixa dose de NMU em

relação à sua via de administração (BOSLAND; PRINSEN, 1990; TAMANO et al., 1996; LUCIA et al., 1998; BENTEL et al., 1999; BOILEAU et al., 2003; JEET; RUSSELL; KHATRI, 2010; VALKENBURG; WILLIAMS, 2011; McCORMICK et al., 1998).

Ainda no que se refere às formulações de testosterona utilizadas, não há diferenças entre os diferentes ésteres em relação a potenciais danos irreversíveis ao DNA, já que neste estudo foram utilizados o cipionato de testosterona e o undecanoato de testosterona, enquanto que nos estudos anteriormente citados foram utilizados propionato de testosterona. Quanto à via de administração, Husak e Irschick (2009), que avaliaram diferentes regimes de administração de esteroides anabolizantes em fisiculturistas, não encontraram diferenças em relação à genotoxicidade entre as diferentes formulações de testosterona.

A escolha do cipionato e undecanoato de testosterona se deu por serem os dois androgênios sintéticos mais antigos, usados desde 1970 (STANWORTH; JONES, 2008), mais seguros e mais usados para reposição na deficiência androgênica do envelhecimento masculino (BAIN, 2001; WEBB et al., 2008; SURAMPUDI; WANG; SWERDLOFF, 2012; AMORE et al., 2012). Porém há estudos discordantes sobre a ação no epitélio prostático e nível sérico do PSA (MYERS; Meacham, 2003; DILLON et al., 2010).

O cipionato pode ser administrado a cada duas ou quatro semanas devido a meia vida média ser de cinco dias. Já o undecanoato, um éster lipofílico da testosterona natural, ativo pela via oral, através da absorção pelo sistema linfático escapando desta maneira da inativação hepática, necessita de dosagem diária por ter meia vida sérica extremamente curta sendo excretado rapidamente pela urina (SOARES; RHODEN, 2010).

No presente estudo, foi encontrado grande incidência de redução da projeção do epitélio dos ácinos prostáticos, sendo a maior taxa para a redução moderada, com 46,4% e inflamação em parcela ínfima e a infiltração tissular por células inflamatórias foi discreta. Entretanto, observamos grande incidência de congestão vascular, com 72,5%, o que pode sugerir processo inflamatório em sua fase incipiente, insinuando que o tempo de estudo tenha sido curto para que as lesões mais graves que pudessem ocorrer, se evidenciassem. O uso de outras técnicas, como a imunohistoquímica, para análise de outras variáveis poderia detectar

alterações moleculares iniciais do tipo atípica de glândulas ou o adenocarcinoma da próstata.

A atrofia prostática (AP) ocorre mais comumente com o avançar da idade e ganhou importância com o aumento da realização de biópsia trans-retal. É vista com maior frequência na zona periférica e trata-se do diagnóstico histopatológico e por imagem que mais mimetiza o adenocarcinoma da próstata. Pode ser causada por radioterapia, terapia de privação hormonal, inflamação crônica e isquemia local crônica. Tem sido relacionada à neoplasia intraepitelial prostática de alto grau (NIPAG) e ao adenocarcinoma da próstata como uma possível lesão precursora (ULAMEC et al., 2007).

Uma das facetas da AP é a atrofia inflamatória proliferativa (AIP) da próstata, entidade caracterizada por discretos focos de proliferação do epitélio glandular, com aparência morfológica de atrofia simples ou hiperplasia pós-atrótica, associados à inflamação. Essa nomenclatura paradoxal se deve ao fato dessas células expressarem marcadores de proliferação, como aumento de GSTP1 e Bcl-2, e diminuição de inibidores de proliferação, como o inibidor de cinase dependente de ciclina, p27^{Kip1}. Outra característica importante dessa designação é a ausência de apoptose, marcada pelo aumento na expressão de Bcl-2, sendo a proliferação celular ocorrendo por meio de regeneração das células que morrem devido à injúria constante ao material genético por radicais livres emitidos pelas células inflamatórias (NELSON; MARZO; YEGNASUBRAMANIAN, 2009).

No entanto, outros estudos mostram resultados contrários a essa teoria. Uemura et al. (2008) analisaram biópsias seriadas de pacientes seguidos por 8 anos com AP e observaram incidência de 10,4% de adenocarcinoma, a qual não diferiu significativamente de 12,3% da mesma taxa para indivíduos com biópsia inicial normal.

Em autópsias de homens com idade acima dos 40 anos, Billis (2010) encontrou AP em 85 de 100 próstatas examinadas, porém não houve associação com malignidades da próstata. Um achado significativo foi a relação entre AP e isquemia ocasionada por intensa aterosclerose local.

Outro resultado obtido neste estudo foi a ocorrência de secreção prostática acumulada nos ácinos em 82,6% da amostra. Nilsson et al. (2001), por meio de imunohistoquímica, encontraram padrão de secreção semelhante entre carcinoma de baixo grau e tecido prostático normal, porém diminuição da capacidade secretória

em carcinomas moderadamente e mal-diferenciados. Esses achados constituem mais uma evidência da ausência de malignidade nas próstatas analisadas, já que houve grande incidência de secreção armazenada. Além disso, pode-se inferir que essa alta taxa possa ser devido ao regime de abstinência sexual a qual os ratos foram submetidos.

Bhasin et al. (2003), por meio de microscopia eletrônica, não acharam diferenças nas maquinarias secretórias de células provenientes de tecidos prostáticos benignos e de carcinomas bem-diferenciados, com ambas apresentando vesículas de armazenamento provenientes do complexo de Golgi com características similares, inclusive no que se refere ao conteúdo das vesículas.

Nesse estudo, ao contrário do que inicialmente esperado, não foram observadas alterações nas concentrações de PSA sérico. Tal resultado pode ser devido ao curto tempo de envelhecimento dos animais expostos ao cancerígeno e aos hormônios. Assim como a ausência de alterações histológicas ou padrão inflamatório na próstata, o que ocasionariam aumento da secreção do PSA.

O nível de PSA é um sensível e específico marcador clínico precoce para o desenvolvimento de doenças da próstata, sendo que para o câncer este marcador se comporta como mais sensível que as outras doenças (SFOUNGARISTOS; PERIMENIS, 2012). Carter et al. (1992) analisaram a especificidade e sensibilidade em três grupos de homens (controle, HBP e câncer de próstata) relacionando com as mudanças do PSA em relação a idade. O fator mais importante na alteração dos níveis de PSA foi a idade e o câncer da próstata.

A não detecção de alterações no PSA poderia estar relacionada com a utilização do kit para PSA humano e não para roedores. Entretanto este fato parece não ter contribuído para tal viés, pois Brianezi et al. (2006) demonstraram que os kits comerciais humanos utilizados para a dosagem sérica de T4, DHT, PSA e PAP foram eficazes em detectar cada uma destas substâncias no soro de cães. Vidigal et al. (2005) mostram também que o PSA pode ser detectado no *Hamster* pelo método ELISA, com a mesma eficácia que é detectado no plasma humano, utilizando-se anticorpos dirigidos contra o PSA humano.

6 CONCLUSÃO

As duas formas distintas de testosterona associada ao uso de NMU, em curto período de tempo, não alteraram as dosagens séricas do PSA nem induziram a transformação epitelial da próstata em ratos *Wistar* jovens e saudáveis.

Os resultados desse estudo colaboram para que outros sejam realizados de maneira a ampliar os conhecimentos sobre o uso de testosterona e suas interações com epitélio prostático e a produção de PSA em animais experimentais.

REFERÊNCIAS

AARON L. BAGGISH, RORY B. WEINER, GEN KANAYAMA, JAMES I. HUDSON, MICHAEL H. PICARD, ADOLPH M. HUTTER JR, POPE JR HARRISON G. Long term anabolic-androgenic steroid use is associated with left ventricular dysfunction. National Institutes of Health. *Circ Heart Fail.*, 2010 July 1; 3(4): 472–476. DOI:10.1161/CIRCHEARTFAILURE.109.931063.

ABLIN RJ, SOANES WA, BRONSON P, WITEBSKYF E. Precipitating antigens of the normal human prostate. *J. Reprod.Fert.*, 1970, 22,573-574.

AGALLIU I, SALINAS CA, HANSTEN PD, OSTRANDER EA, STANFORD JL. Statin use and risk of prostate cancer: results from a population-based epidemiologic study. *Am J Epidemiol.*, v. 168, n. 3. 2008; 168:250–260. DOI: 10.1093/aje/kwn1412008;168:250–260.

ALLARD C, YIP P, BLASUTIG I, HERSEY K, FLESHNER N. Does the reflexive measurement of free PSA have a role in a tertiary cancer centre? *Can Urol Assoc J.*, 2010;4(5):317-320.

AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE. Position statement on the use and abuse of anabolic-androgenic steroids in sports. *Brit. J. Sports Med.*, v. 12, n. 2, June 1978, p. 102-104.

AMORE M, INNAMORATI M, COSTI S, SHER L, GIRARDI P, POMPILI M. Partial androgen deficiency, depression, and testosterone supplementation in aging men. *J Endocrinology*, v. 2012, art. ID 280724, 17p. DOI: 10.1155/2012/280724.

ARAUJO AB, DIXON JM, SUAREZ EA, MURAD MH, GUEY LT, WITTERT GA. Andogenous testosterone and mortality in men: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.*, 2011 October; 96(10): 3007–3019. DOI: 10.1210/jc.2011-1137.

ARAUJO AB, WITTERT GA. Endocrinology of the aging male. National Institutes of Health. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.*, 2011 April; 25(2): 303–319. DOI: 10.1016/j.beem.2010.11.004.

ARAUJO AB, TRAVISON TG, LEDER BZ, MCKINLAY JB. Correlations between serum testosterone, estradiol, and sex hormone-binding globulin and bone mineral density in a diverse sample of men. *J Clin Endocrinol Metab.*, 2008 June; 93(6): 2135–2141. Published online 2008 March 25. DOI: 10.1210/jc.2007-1469.

AURORA RN, PUNJABI NM. Sleep apnea and metabolic dysfunction: cause or correlation? National Institutes of Health. *Sleep Med Clin.* 2007 June 1; 2(2): 237-250. DOI:10.1016/j.jsmc.2007.03.006.

AZZOUNI F, GODOY A, LI Y, MOHLER J. The 5 alpha-reductase isozyme family: a review of basic biology and their role in human diseases. *Advances in Urology*, v. 2012, art. ID 530121, 18p. DOI: 10.1155/2012/530121.

BACHMAN E, FENG R, TRAVISON T, LI M, OLBINA G, OSTLAND V, ULLOOR J, ZHANG A, BASARIA S, GANZ T, WESTERMAN M, BHASIN S. Testosterone suppresses hepcidin in men: a potential mechanism for testosterone-induced erythrocytosis. *J Clin Endocrinol Metab.*, 2010 october; 95(10): 4743–4747. DOI: 10.1210/jc.2010-0864. Disponível em: <<http://jcem.endojournals.org/content/95/10/4743>>.

BAGGISH AL, WEINER RB, KANAYAMA G, HUDSON JI, PICARD MH, HUTTER JR AM, POPE JR HG. Long term anabolic-androgenic steroid use is associated with left ventricular dysfunction. National Institutes of Health. *Circ Heart Fail.*, 2010 july 1; 3(4): 472–476. DOI:10.1161/CIRCHEARTFAILURE.109.931063.

BAIN J. ANDROPAUSE. Testosterone replacement therapy for aging men. *Can Fam Physician.*, 2001;47:91-97.

BALK SP, KNUDSEN KE. AR, the cell cycle, and prostate cancer. *NRS*, v. 6, 2008. DOI: 10.1621/nrs.06001. 12p. Disponível em: <www.nursa.org>.

BAÑEZ LL, HAMILTON RJ, PARTIN AW, VOLLMER RT, SUN L, RODRIGUEZ C, WANG Y, TERRIS MK, ARONSON WJ, PRESTI JR JC, KANE CJ, AMLING CL, MOUL JW, FREEDLAND SJ. Obesity-related plasma hemodilution and PSA concentration among men with prostate câncer. *JAMA*, v. 298, n. 19 november 21, 2007. Disponível em: <<http://jama.jamanetwork.com/> on 12/31/2012>.

BANUDEVI S, ELUMALAI P, SHARMILA G, ARUNKUMAR R, SENTHILKUMAR K, ARUNAKARAN J. Protective effect of zinc on *N*-methyl-*N*-nitrosourea and testosterone-induced prostatic intraepithelial neoplasia in the dorsolateral prostate of sprague dawley rats. *Experimental Biology and Medicine*, 2011, 236:1012-1021. DOI: 10.1258/ebm.2011.010392. Disponível em: <<http://ebm.rsmjournals.com/content/236/9/1012#BIBL>>.

BARRETT-CONNOR E, DAM T-T, STONE K, HARRISON SL, REDLINE S, ORWOLL E. The association of testosterone levels with overall sleep quality, sleep architecture, and sleep-disordered breathing. *J Clin Endocrinol Metab.*, 2008 july; 93(7): 2602–2609. DOI: 10.1210/jc.2007-2622. Disponível em: <<http://jcem.endojournals.org/content/93/7/2602>>.

BARRON AM, PIKE CJ. Sex hormones, aging, and Alzheimer's disease. National Institutes of Health. *Front Biosci (Elite Ed)*, 4: 976–997, 2013.

BASARIA S, COVIELLO AD, TRAVISON TG, STORER TW, FARWELL WR, JETTE AM, EDER R, TENNSTEDT S, ULLOOR J, ZHANG A, CHOONG K, LAKSHMAN KM, MAZER NA, MICIEK R, KRASNOFF J, ELM I A, KNAPP PE, BROOKS B, APPLEMAN E, AGGARWAL S, BHASIN G, HEDE-BRIERLEY L, BHATIA A, COLLINS L, LEBRASSEUR N, FIORE LD, BHASIN S. Adverse events associated

with testosterone administration. National Institutes of Health. *N Engl J Med.*, 2010 July 8; 363(2): 109–122. DOI: 10.1056/NEJMoa1000485.

BASARIA S, WAHLSTROM JT, DOBS AS. Anabolic-androgenic steroid therapy in the treatment of chronic diseases. *J Clin Endocrinol Metab.*, november 2001, 86(11):5108–5117.

BASSIL, N, ALKAADE S, MORLEY JE. The benefits and risks of testosterone replacement therapy: a review. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 2009:5 427-448.

BELLIDO T, JILKA RL, BOYCE BF, GIRASOLE G, BROXMEYER H, DALRYMPLE SA, MURRAY R, MANOLAGAS SC. Regulation of interleukin-6, osteoclastogenesis, and bone mass by androgens the role of the androgen receptor. *J Clinical Investigation*, v. 95, june 1995, 2886-2895.

BENTEL JM, PICKERING MA, POLLARD M, CLEMENTS JA, TILLEY WD. Androgen receptor expression in primary prostate cancers of lobundwistar rats and in tumor-derived cell lines. *Vitro Cell. Dev. Biol. Animal.*, 35:655-662, november-december 1999.

BHASIN S, STORER TW, BERMAN N, CALLEGARI C, PHILLIPS J, BUNNELL TJ, TRICKER R, SHIRAZI A, CASABURI R. The effects of supraphysiologic doses of testosterone on muscle size and strength in normal men. *The New England Journal of Medicine*, v. 335, n. 1, july 4, 1996.

BHASIN S, SINGH AB, MAC RP, CARTER B, LEE MI, CUNNINGHAM GR. Managing the risks of prostate disease review during testosterone replacement therapy in older men: recommendations for a standardized monitoring plan. *J Andrology*, v. 24, n. 3, may/june 2003.

BILLIS A. Prostatic atrophy. Clinicopathological significance. *Int Braz J Urol.* 2010; 36: 401-9. DOI: 10.1590/S1677-55382010000400003.

BISPO M, VALENTE A, MALDONADO R, PALMA R, GLÓRIA H, NÓBREGA J, ALEXANDRINO P. Anabolic steroid-induced cardiomyopathy underlying acute liver failure in a young bodybuilder. *World J Gastroenterol*, v.15, n. 23, june 21, 2009.

BOILEAU TW-M, LIAO Z, KIM S, LEMESHOW S, ERDMAN JR JW, CLINTON SK. Prostate carcinogenesis in *N*-methyl-*N*-nitrosourea (NMU) – Testosterone-treated rats fed tomato powder, lycopene, or energy-restricted diets. *J National Cancer Institute*, v. 95, n. 21, november 5, 2003.

BONACCORSI AC. Andropausa: Insuficiência androgênica parcial do homem idoso. Uma revisão. *Arq Bras Endocrinol Metab.*, v. 45, n. 2, abril 2001.

BORST SE, MULLIGAN T. Testosterone replacement therapy for older men. *Clinical Interventions in Aging*, 2007:2(4) 561–566.

BOSLAND MC, MAHMOUD AM. Hormones and prostate carcinogenesis: androgens and estrogens. *J Carcinog.*, 2011; 10: 33. DOI: 10.4103/1477-3163.90678.

BOSLAND MC, PRINSEN MK. Testosterone propionate sequential treatment with cyproterone acetate and (anthracene, and 3,2 ϕ -Dimethyl-4-aminobiphenyl after administration of *N*-Methyl-*N*-nitrosourea, 7,12-dimethylbenz (a accessory sex gland lesions in male wistar rats by a single induction. *Cancer Res.*, 1990;50:691-699.

BOSLAND MC. Sex steroids and prostate carcinogenesis integrated, multifactorial working hypothesis. National Institutes of Health. *Ann N Y Acad Sci.* 2006 november; 1089: 168. DOI: 10.1196/annals.1386.040.

BRIANEZI VM, MOURA D, SANTIS GW, AMORIM RL, BALIEIRO JC, BANDARRA EP. Mensuração de hormônios andrógenos, estrógeno, fosfatase ácida prostática (PAP) e antígeno prostático específico (PSA) em cães adultos com próstata normal e hiperplásica. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.*, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 65-73, 2006.

BROWN CJ, GOSS SJ, LUBAHN TDB, JOSEPH DR, WILSON EM, FRENCH FS, WILLARD HF. Androgen receptor locus on the human x chromosome: regional localization to Xql 1-12 and description of a DNA polymorphism. **Am. J. Hum. Genet.**, 44:264-269, 1989.

BRUM IS, SPRITZER PM, BRENTANI MM. Biologia molecular das neoplasias de próstata. *Arq Bras Endocrinol Metab.*, v. 49, n. 5, outubro 2005.

CALOF OM, SINGH AB, LEE ML, KENNY AM, URBAN RJ, TENOVER JL, BHASIN S. Adverse events associated with testosterone replacement in middle-aged and older men: a meta-analysis of randomized, placebo-controlled trials. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.*, 2005 nov;60(11):1451-7.

CARTER HB, PEARSON JD, METTER EJ, BRANT LJ, CHAN DW, ANDRES R, FOZARD JL, WALSH PC. Longitudinal evaluation of prostate-specific antigen levels in men with and without prostate disease. National Institutes of Health. *JAMA*, 1992 april 22; 267(16): 2215–2220.

CATALONA WJ, PARTIN AW, SANDA MG, WEI JT, KLEE GG, BANGMA CH, SLAWIN KM, MARKS LS, LOEB S, BROYLES DL, SHIN SS, CRUZ AB, CHAN DW, SOKOLL LJ, ROBERTS WL, SCHAIK RHN, MIZRAHI IA. A multi-center study of [-2]Pro-Prostate-Specific Antigen (PSA) in combination with PSA and free PSA for prostate cancer detection in the 2.0 to 10.0 ng/mL PSA Range. National Institutes of Health. *J Urol.*, 2011 may; 185(5): 1650–1655. DOI:10.1016/j.juro.2010.12.032.

CATALONA WJ, SMITH DS, ORNSTEIN DK. Prostate cancer detection in men with serum PSA concentrations of 2.6 to 4.0 ng/mL and benign prostate examination enhancement of specificity with free PSA measurements. *JAMA*, v. 277, n. 18may 14, 1997.

CATLIN DH, HATTON CK, STARCEVIC SH. Issues in detecting abuse of xenobiotic anabolic steroids and testosterone by analysis of athletes' urine. *Clinical Chemistry*, 43:7, 1280-1288, 1997.

CHANG SL, HARSHMAN LC, PRESTI JR JC. Impact of common medications on serum total prostate-specific antigen levels: analysis of the national health and nutrition examination survey. *J Clin Oncol.*, 28:3951-3957, 2010.

CHRISTIANSEN K. Behavioural effects of androgen in men and women. *J Endocrinology*, 2001, 170, 39-48.

CHU DI, FREEDLAND SJ. Metabolic risk factors in prostate cancer. National Institutes of Health. *Cancer*, 2011 may 15; 117(10): 2020–2023. doi:10.1002/cncr.25749.

COLVARD DS, ERIKSEN EF, KEETING PE, WILSON EM, LUBAHN DB, FRENCH FS, RIGGS BL, SPELSBERG TC. Identification of androgen receptors in normal human osteoblast-like cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 86, pp. 854-857, february 1989.

CORRADI LS, CAMPOS SGP, SANTOS FCA, VILAMAIOR PSL, GÓES RM, TABOGA SR. Long-term inhibition of 5-alpha reductase and aromatase changes the cellular and extracellular compartments in gerbil ventral prostate at different postnatal ages. *Int. J. Exp. Path*, 2009, 90, 79–94. DOI: 10.1111/j.1365-2613.2008.00618.x.

CORRÊA RV, WEY JC, BILLERBECK AEC, MELO KFS, MENDONÇA BB, WEY MV, ARNHOLD IJP. Insensibilidade completa aos andrógenos em pacientes brasileiras causada pela mutação P766A no gene do receptor androgênico. *Arq Bras Endocrinol Metab.*, v. 49, n. 1 fevereiro 2005.

COVIELLO AD, KAPLAN B, LAKSHMAN KM, CHEN T, SINGH AB, BHASIN S. Effects of graded doses of testosterone on erythropoiesis in healthy young and older men. *J Clin Endocrinol Metab.*, 2008, March; 93(3): 914–919. DOI: 10.1210/jc.2007-1692.

DANBY FW. Endogenous Sex hormones and prostate cancer: a collaborative analysis of 18 prospective studies. *JNCI*, v. 100, Issue 19, october 1, 2008.

DARTORA DR, NIENOW D, BARALDI DD, SCHNEIDER R, LARA GM. Terapia de reposição de testosterona: a polemica. Testosterone replacement therapy. *RBAC*, v. 42(1): 25-26, 2010.

DHINDSA S, MILLER MG, MCWHIRTER CL, MAGER DE, GHANIM H, CHAUDHURI A, DANDONA P. Testosterone concentrations in diabetic and nondiabetic obese men. *Diabetes Care*, v. 33, n. 6, june 2010. Disponível em: <care.diabetesjournals.org>.

DIAMANDIS EP. New diagnostic applications and physiological functions of prostate specific antigen. *Scand J Clin Lab Invest.*, 1995;55 Suppl 221: 105-112.

DILLARD PR, LIN M-F, KHAN SA. Androgen-independent prostate cancer cells acquire the complete steroidogenic potential of synthesizing testosterone from cholesterol. National Institutes of Health. *Mol Cell Endocrinol.*, 2008 november 25; 295(1-2): 115–120. DOI:10.1016/j.mce.2008.08.013.

DILLON EL, DURHAM WJ, URBAN RJ, SHEFFIELD-MOORE M. Hormone treatment and muscle anabolism during aging: androgens. National Institutes of Health. *Clin Nutr.*, 2010 december; 29(6): 697–700. DOI:10.1016/j.clnu.2010.03.010.

DODGE T, HOAGLAND MF. The use of anabolic androgenic steroids and polypharmacy: a review of the literature. *Drug Alcohol Depend.*, 2011 april 1; 114(2-3): 100–109. DOI: 10.1016/j.drugalcdep.2010.11.011.

DOHLE GR, ARVER S, BETTOCCHI C, KLIESCH S, PUNAB M, RONDE W. Diretrizes para o hipogonadismo masculino. In. European Association of Urology. Pocket Guidelines. 2012.

EMMELOT-VONK MH, VERHAAR HJJ, POUR HRN, ALEMAN A, LOCK TMTW, BOSCH JLHR, GROBBEE DE, SCHOUW YT. Effect of testosterone supplementation on functional mobility, cognition, and other parameters in older men. A randomized controlled trial. *JAMA.*, v. 299, n. 1, january 2, 2008. Disponível em: <<http://jama.jamanetwork.com/> on 12/25/2012>.

EUFRÁSIO P, PARADA B, BOLLINI S, MOREIRA P, NUNES P, ROLO F, MOTA A. Testosterona e globulina transportadora de hormonas sexuais: novos marcadores para o carcinoma da próstata? *Acta Urológica*, 2010, 27; 1: 19-26.

FAIGENBAUM AD, ZAICHKOWSKY LD, GARDNER DE, MICHELI LJ. Anabolic steroid use by male and female middle school students. *Pediatrics*, 1998;101;e6. DOI: 10.1542/peds.101.5.e6. Disponível em: <<http://www.pediatrics.org/cgi/content/full/101/5/e6>>.

FARKASH U, SHABSHIN N, PERRY MP. Rhabdomyolysis of the deltoid muscle in a bodybuilder using anabolic-androgenic steroids: a case report. *Journal of Athletic Training*, 2009;44(1):98-100.

FERNÁNDEZ-BALSELLS MM, MURAD MH, LANE M, LAMPROPULOS JF, ALBUQUERQUE F, MULLAN RJ, AGRWAL N, ELAMIN MB, GALLEGOS-OROZCO JF, WANG AT, ERWIN PJ, BHASIN S, MONTORI VM. Adverse effects of testosterone therapy in adult men: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.*, june 2010, 95(6):2560–2575. Disponível em: <jcem.endojournals.org>.

FONTANA K, OLIVEIRA HCF, LEONARDO MB, MANDARIM-DE-LACERDA CA, CRUZ-HÖFLING MA. Adverse effect of the anabolic–androgenic steroid mesterolone on cardiac remodelling and lipoprotein profile is attenuated by aerobic exercise training. *Int. J. Exp. Path.*, 2008, 89, 358–366. DOI: 10.1111/j.1365-2613.2008.00601.x.

FORTUNATO RS, ROSENTHAL D, CARVALHO DP. Abuso de esteróides anabolizantes e seu impacto sobre a função tireoidea. *Arq Bras Endocrinol Metab.*, 2007, 51/9:1417-1424.

FOWKE JH, MOTLEY SS, BAROCAS DA, COOKSON MS, CONCEPCION R, BYERLY S, SMITH JR JA. The associations between statin use and prostate cancer screening, prostate size, high-grade prostatic intraepithelial neoplasia (PIN), and prostate cancer. National Institutes of Health. *Cancer Causes Control.*, 2011 march; 22(3): 417–426. DOI:10.1007/s10552-010-9713-4.

FOWKE JH, MOTLEY SS, SMITH JR JA, COOKSON MS, CONCEPCION R, CHANG SS, BYERLY S. Association between non-steroidal anti-inflammatory drugs, PSA, and prostate volume. National Institutes of Health. *J Urol.*, 2009 may; 181(5): 2064–2070. DOI: 10.1016/j.juro.2009.01.031.

FRYE CA, SELIGA AM. Testosterone increases analgesia, anxiolysis, and cognitive performance of male rats. *Cognitive, Affective, & Behavioral Neuroscience*, 2001, 1 (4), 371-381.

GEBARA OCE, VIEIRA NW, MEYER JW, CALICH ALG, TAI EJ, PIERRI H, WAJNGARTEN M, ALDRIGHI JM. Efeitos cardiovasculares da testosterona. *Arq Bras Cardiol.*, v. 79, n. 6, 644-9, 2002.

GEORGE FW, RUSSELL DW, WILSON JD. Feed-forward control of prostate growth: dihydrotestosterone induces expression of its own biosynthetic enzyme, steroid 5 α -reductase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 88, p. 8044-8047, september 1991, Medical Sciences.

GOOREN LJ. Androgens and male aging: current evidence of safety and efficacy. *Asian Journal of Andrology*, (2010, 12: 136–151. DOI: 10.1038/aja.2010.4.

GRAHAM MR, GRACE FM, BOOBIER W, HULLIN D, KICMAN A, COWAN D, DAVIES B, BAKER JS. Homocysteine induced cardiovascular events: a consequence of long term anabolic-androgenic steroid (AAS) abuse. *Br J Sports Med.*, 2006;40:644–648. DOI: 10.1136/bjism.2005.025668. Disponível em: <www.bjsportmed.com>.

GREEN JE, SHIBATA M-A, SHIBATA E, MOON RC, ANVER MR, KELLOFF G, LUBET R. 2-difluoromethylornithine and dehydroepiandrosterone inhibit mammary tumor progression but not mammary or prostate tumor initiation in C3(1)/SV40 T/t-antigen transgenic mice. *Cancer Research*, 61, 7449–7455, october 15, 2001.

GULLETT NP, HEBBAR G, ZIEGLER TR. Update on clinical trials of growth factors and anabolic steroids in cachexia and wasting¹⁻⁴. *Am J Clin Nutr.*, 2010; 91(suppl):1143S-7S.

GUNGOR O, KIRCELLI F, CARRERO JJ, ASCI G, TOZ H, TATAR E, HUR E, SEVER MS, ARINSOY T, OK E. Endogenous testosterone and mortality in male hemodialysis patients: is it the result of aging? *Clin J Am Soc Nephrol.*, 2010 november; 5(11): 2018–2023. DOI: 10.2215/CJN.03600410.

GUPTA S, HASTAK K, AHMAD N, LEWIN JS, MUKHTAR H. Inhibition of prostate carcinogenesis in TRAMP mice by oral infusion of green tea polyphenols. *PNAS*, v. 98, n. 18, august 28, 2001. Disponível em: <www.pnas.org/ycgiydoi/10.1073/pnas.171326098>.

HARDT A, STIPPEL D, ODENTHAL M, HÖLSCHER AH, DIENES H-P, DREBBER U. Development of hepatocellular carcinoma associated with anabolic androgenic steroid abuse in a young bodybuilder: a case report. *Case Reports in Pathology*, v. 2012, art. ID 195607, 5p. DOI: 10.1155/2012/195607.

HARMER PA. Anabolic-androgenic steroid use among young male and female athletes: is the game to blame? *Br J Sports Med.*, 2010;44:26–31. DOI: 10.1136/bjism.2009.068924.

HARPER CE, COOK LM, PATEL BB, WANG J, ELTOUM IA, ARABSHARI A, SHIRAI T, LAMARTINIERE CA. Genistein and resveratrol, alone and in combination, suppress prostate cancer in SV-40 tag rats. *Prostate*, 2009 november 1; 69(15): 1668–1682. DOI:10.1002/pros.21017.

HAWKINS VN, FOSTER-SCHUBERT K, CHUBAK J, SORENSEN B, ULRICH CM., STANCYZK FZ, PLYMATE S, STANFORD J, WHITE E, POTTER JD, MCTIERNAN A. Effect of Exercise on serum sex hormones in men: a 12-month randomized clinical trial. National Institutes of Health. *Med Sci Sports Exerc.*, 2008 february; 40(2): 223–233. DOI:10.1249/mss.0b013e31815bbba9.

HENDERSON, B, FEIGELSON HS. Hormonal carcinogenesis. *Carcinogenesis*, v. 21, n. 3, p. 427-433, 2000.

HILD SA, ATTARDI BJ, KODURI S, TILL BA, REEL JR. Effects of synthetic androgens on liver function using the rabbit as a model. National Institutes of Health. *J Androl.* 2010; 31(5): 472–481. DOI: 10.2164/jandrol.109.009365.

HINEV AI, ANAKIEVSKI D, HADJIEV VI. Radical prostatectomy as a first-line treatment in patients with initial PSA >20 ng/mL. *J Surgical Oncology*, v. 2012, art. ID 832974, 10p. DOI:10.1155/2012/832974.

HOKAIWADO N, TAKESHITA F, NAIKI-ITO A, ASAMOTO M, OCHIYA T, SHIRAI T. Glutathione S-transferase Pi mediates proliferation of androgen-independent prostate cancer cells. *Carcinogenesis*, v. 29, n. 6 p. 1134-1138, 2008. DOI: 10.1093/carcin/bgn097.

HOMMA Y, KANEKO M, KONDO Y, KAWABE K, KAKIZOE T. Inhibition of rat prostate carcinogenesis by a 5 α -reductase inhibitor, FK143. *J Nac. Cancer Institute*, v. 89, n. 11, june 4, 1997.

HUGGINS C. The Treatment of Cancer of the prostate. *Can. M.A.J.*, v. 50, april 1944.

HUSAK JF, IRSCHICK DJ. Steroid use and human performance: lessons for integrative biologists. *Integrative and Comparative Biology*, v. 49, n. 4, pp. 354-364, 2009. DOI:10.1093/icb/icp015.

ISIDORI AM, GIANNETTA E, GIANFRILLI D, GRECO EA, BONIFACIO V, AVERSA A, ISIDORI A, FABBRI A, LENZI A. Effects of testosterone on sexual function in men: results of a meta-analysis. *Clinical Endocrinology*, 2005, 63, 381–394. DOI: 10.1111/j.1365-2265.2005.02350.x.

JANNINI EA, GRAVINA GL, MORTENGALER A, MORALES A, INCROCCI L, HELLSTROM WJG. Is Testosterone a friend or a foe of the prostate? *J Sex Med.*, 2011;8:946–955. DOI: 10.1111/j.1743-6109.2011.02233.x.

JEET V, RUSSELL PJ, KHATRI A. Modeling prostate cancer: a perspective on transgenic mouse models. *Cancer Metastasis Rev.*, 2010, 29:123–142. DOI 10.1007/s10555-010-9212-9.

KANAYAMA G, BROWER KJ, WOOD RI, HUDSON JI, POPE JR HG. Anabolic-androgenic steroid dependence: an emerging disorder. *Addiction.*, 2009 december; 104(12): 1966–1978. DOI:10.1111/j.1360-0443.2009.02734.x.

KANAYAMA G, HUDSON J I., POPE JR HG. Illicit Anabolic-androgenic steroid use. National Institutes of Health. *Horm Behav.*, 2010 june 58(1): 111–121. DOI:10.1016/j.yhbeh.2009.09.006.

KANAYAMA G, BROWERB KJ, WOODC RI, HUDSONA JI, POPE JR HG. Treatment of anabolic-androgenic steroid dependence: emerging evidence and its implications. National Institutes of Health. *Drug Alcohol Depend.*, 2010 june 1; 109(1-3): 6–13. DOI:10.1016/j.drugalcdep.2010.01.011.

KAUFMAN JM, VERMEULEN A. The decline of androgen levels in elderly men and its clinical and therapeutic implications. *Endocrine Reviews*, october 2005, 26(6):833–876.

KENNY AM, KLEPPINGER A, ANNIS K, RATHIER M, BROWNER B, JUDGE JO, MCGEE D. Effects of transdermal testosterone on bone and muscle in older men with low bioavailable testosterone levels, low bone mass and physical frailty. National Institutes of Health. *J Am Geriatr Soc.*, 2010 june; 58(6): 1134-1143. DOI:10.1111/j.1532-5415.2010.02865.x.

KICMAN AT. Pharmacology of anabolic steroids. *British Journal of Pharmacology*, 2008, 154, 502–521. DOI:10.1038/bjp.2008.165.

KIM WT, YUN SJ, CHOI YD, KIM G-Y, MOON S-K, CHOI YH, KIM IY, KIM W-J. Prostate size correlates with fasting blood glucose in non- diabetic benign prostatic hyperplasia patients with normal testosterone levels. *J Korean Med Sci.*, 2011; 26: 1214-1218. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3346/jkms.2011.26.9.1214>>.

KIM YJ, KIM S-O, RYU KH, HWANG IS, HWANG EC, OH KJ, JUNG SIL, KANG TW, KWON DD, PARK K, RYU SB. Prostate cancer can be detected even in patients with decreased PSA less than 2.5 ng/ml after treatment of chronic prostatitis. *Korean J Urol.*, 2011;52:457-460. Disponível em: <www.kjurology.org>.

KUMAR A, MIKOLAJCZYK SD, HILL TM, MILLAR LS, SAEDI MS. Different proportions of various prostate-specific antigen (PSA) and human kallikrein 2 (hK2) forms are present in noninduced and androgen-induced LNCaP cells. *The Prostate*, 44:248–254, 2000.

LAKSHMAN KM, KAPLAN B, TRAVISON TG, BASARIA S, KNAPP PE, SINGH AB, LAVALLEY MP, MAZER NA, BHASIN S. The effects of injected testosterone dose and age on the conversion of testosterone to estradiol and dihydrotestosterone in young and older men. *J Clin Endocrinol Metab.*, 2010 august; 95(8): 3955–3964. DOI: 10.1210/jc.2010-0102.

LAVERY DN, BEVAN CL. Androgen receptor signalling in prostate cancer: the functional consequences of acetylation. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, v. 2011, art. ID 862125, 7p. DOI:10.1155/2011/862125.

LIMPENS J, WEERDEN WMV, KRÄMER K, PALLAPIES D, LLER-JEVIC UCO, SCHRÖDER FH. Re: prostate carcinogenesis in *N*-methyl-*N*-nitrosourea (NMU)–testosterone-treated rats fed tomato powder, lycopene, or energy-restricted diets. *Journal of the National Cancer Institute*, v. 96, n. 7, april 7, 2004.

LIPPI, G, FRANCHINI M, GUIDI GC. Doping in competition or doping in sport? *British Medical Bulletin*, 2008; 86: 95–107. DOI:10.1093/bmb/ldn014.

LIU T, HOSSAIN M, SCHEPMOES AA, FILLMORE TL, SOKOLL LJ, KRONEWITTER SR, IZMIRLIAN G, SHI T, QIAN W-J, LEACH RJ, THOMPSON IM, CHAN DW, SMITH RD, KAGAN J, SRIVASTAVA S, RODLAND KD, CAMP II DG. Analysis of serum total and free psa using immunoaffinity depletion coupled to srm: correlation with clinical immunoassay tests. National Institutes of Health. *J Proteomics*, 2012 august 3; 75(15): 4747–4757. DOI:10.1016/j.jprot.2012.01.035.

LOEB S, CARTER HB, SCHAEFFER EM, FERRUCCI L, KETTERMANN A, METTER EJ. Should prostate specific antigen be adjusted for body mass index? Data from the baltimore longitudinal study of aging. *J Urology*, v. 182, Issue 6 , p. 2646-2652, december 2009.

LOPES RAM, NEVES KB, CARNEIRO FS, TOSTES RC. Testosterone and vascular function in aging. *Front. Physiol.*, 10 april 2012. DOI: 10.3389/fphys.2012.00089
Disponível em:
<http://www.frontiersin.org/Vascular_Physiology/10.3389/fphys.2012.00089/abstract>

LUCIA MS, BOSTWICK DG, BOSLAND M, COCKETT ATK, KNAPP DW, LEAV I, POLLARD M, RINKER-SCHAEFFER C, SHIRAI T, WATKINS BA. Workgroup 1: rodent models of prostate câncer. *The Prostate*, 36:49–55, 1998.

MAGGIO M, BASARIA S. Welcoming low testosterone as a cardiovascular risk factor. *International Journal of Impotence Research*, 2009, 21, 261–264.

MAGGIO M, LAURETANI F, CEDA GP, BANDINELLI S, BASARIA S, PAOLISSO G, BLE A, EGAN JM, METTER EJ, ABBATECOLA AM, ZULIANI G, RUGGIERO C, VALENTI G, GURALNIK JM, FERRUCCI L. Association of hormonal dysregulation with metabolic syndrome in older women: data from the InCHIANTI study. National Institutes of Health. *Am J Physiol Endocrinol Metab.*, 2007 january, 292(1): E353–E358. DOI: 10.1152/ajpendo.00339.2006.

MARBERGER M, WILSON TH, RITTMASER RS. Low serum testosterone levels are poor predictors of sexual dysfunction. *BJU International*, 2010. DOI: 10.1111/j.1464-410X.2010.09766.x.

MARTIN NM, DAYYEH BKA, CHUNG RT. Anabolic steroid abuse causing recurrent hepatic adenomas and hemorrhage. *World J Gastroenterol*, v. 14 n. 28, july 28, 2008. Disponível em: <www.wjgnet.com>.

MATSUMOTO AM. “Andropause” - Are reduced androgen levels in aging men physiologically important? *WJM*, v. 159, n. 5, november 1993.

MATSUMOTO AM. Andropause: Clinical implications of the decline in serum testosterone levels with aging in men. *Journal of Gerontology:Medical Sciences*, 2002, v. 57A, n. 2, M76–M99. Disponível em: <biomedgerontology.oxfordjournals.org>.

MCCORMICK DL, RAO KVN, DOOLEY L, STEELE VE, LUBET RA, KELLOFF GJ, BOSLAND MC. Influence of *N*-Methyl-*N*-Nitrosourea, testosterone, and *N*-(4-Hydroxyphenyl)-all-*trans*-retinamide on prostate cancer induction in wistar-unilever rats. *Cancer Research*, 58, 3282-3288, august 1. 1998.

MCGRATH K-CY, MCROBB LS, HEATHER AK. Androgen therapy and atherosclerotic cardiovascular disease. *Vascular Health and Risk Management*, 2008;4(1).

MELO KFS, MENDONÇA BB, BILLERBECK AEC, COSTA EMF, LATRONICO AC, ARNHOLD IJP. Síndrome de insensibilidade aos andrógenos: análise clínica, hormonal e molecular de 33 casos. *Arq Bras Endocrinol Metab.*, v. 49 n. 1, fevereiro, 2005.

MIDZAK A, RONE M, AGHAZADEH Y, CULTY M, PAPADOPOULOS V. Mitochondrial protein import and the genesis of steroidogenic mitochondria. National Institutes of Health. *Mol Cell Endocrinol.*, 2011 april 10; 336(1-2): 70–79. doi:10.1016/j.mce.2010.12.007.

MINER MM, SEFTEL AD. Erectile dysfunction and testosterone screening with prostate specific antigen screening at age 40: are these three gender specific determinants additive for overall men's health and do they improve traditional non-gender specific determinants to lessen cardiovascular risk and all-cause mortality? *Int J Clin Pract*, december 2010, 64, 13, 1754–1762. DOI: 10.1111/j.1742-1241.2010.02521.x.

MONG JA, BAKER FC, MAHONEY MM, PAUL KN, SCHWARTZ MD, SEMBA K, SILVER R. Sleep, Rhythms, and the Endocrine Brain: Influence of sex and gonadal hormones. National Institutes of Health. *J Neurosci.*, 2011 november 9; 31(45): 16107–16116. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4175-11.2011.

MORGENTALER A. TURNING Conventional wisdom upside-down. low serum testosterone and high-risk prostate cancer. *Câncer*, september 1, 2011.

MORRIS MJ, HUANGB D, KELLYA WK, SLOVINA SF, STEPHENSONA RD, EICHERA C, DELACRUZA A, CURLEYA T, SCHWARTZC L, SCHERA HI. Phase 1 trial of high-dose exogenous testosterone in patients with castration-resistant metastatic prostate cancer. National Institutes of Health. *Eur Urol.*, 2009 august; 56(2): 237–244. DOI:10.1016/j.eururo.2009.03.073.

MOSTAGHEL EA, MONTGOMERY R, NELSON PS. Castration-adapted prostate cancer: targeting androgen metabolic pathways in recurrent disease. National Institutes of Health. *Urol Oncol.*, 2009; 27(3): 251–257. DOI: 10.1016/j.urolonc.2009.03.016.

MOSTAGHEL EA, SOLOMON KR, PELTON K, FREEMAN MR, MONTGOMERY RB. Impact of circulating cholesterol levels on growth and intratumoral androgen concentration of prostate tumors. *Plos One*, january 2012, v. 7, Issue 1, e30062. Disponível em: <www.plosone.org>.

MURALEEDHARAN V, JONES TH. Testosterone and the metabolic syndrome. *Ther Adv Endocrinol Metab.*, 2010, 1(5) 207_223. DOI: 10.1177/2042018810390258. Disponível em: <http://tae.sagepub.com>.

MYERS JB, MEACHAM RB. Androgen replacement therapy in the aging male. *Reviews in Urology*, v. 5, n. 4 2003.

NARAYANAN BA, REDDY BS, BOSLAND MC, NARGI D, HORTON L, RANDOLPH C, NARAYANAN NK. Exisulind in combination with celecoxib modulates epidermal growth factor receptor, cyclooxygenase-2, and cyclin d1 against prostate carcinogenesis: in vivo evidence. *Clin Cancer Res.*, 2007;13(19) october 1, 2007. Disponível em: <www.aacrjournals.org>.

NELSON WG, MARZO AM, YEGNASUBRAMANIAN S. Epigenetic alterations in human prostate cancers. *Endocrinology*, 2009 september; 150(9): 3991-4002. DOI: 10.1210/en.2009-0573.

NICHOLSON TM, RICKE WA. Androgens and estrogens in benign prostatic hyperplasia: past, present and future. National Institutes of Health. *Differentiation*, 2011; 82(4-5): 184–199. DOI:10.1016/j.diff.2011.04.006.

NIEMINEN MS, RAMO MP, VIITASALO M, HEIKKILAF P, KARJALAINEN J, MANTYSAARI M, HEIKKILA J. Serious cardiovascular side effects of large doses of anabolic steroids in weight lifters. *European Heart Journal*, 1996, 17, 1576-1583.

NIGRO N, CHRIST-CRAIN M. Testosterone treatment in the aging male: myth or reality? *Swiss Med Wkly.*, 2012;142:w13539. Disponível em: <www.smw.ch>.

NILSSON S, BAIGI A, MARKLUND B, FRIDLUND B. The prevalence of the use of androgenic anabolic steroids by adolescents in a county of Sweden. *European Journal of Public Health*, v. 11, n. 2, 2001.

OHLSSON C, WALLASCHOFSKI H, LUNETTA KL, STOLK L, PERRY JRB, KOSTER A, PETERSEN AK, ERIKSSON J, LEHTIMAKI T, HUHTANIEMI IT, HAMMOND GL, MAGGIO M, COVIELLO AD, GROUP ES, FERRUCCI L, HEIER M, HOFMAN A, HOLLIDAY KL, JANSSON JO, KÄHÖNEN M, KARASIK D, KARLSSON MK, KIEL DP, LIU Y, LJUNGGREN Ö, LORENTZON M, LYYTIKÄINEN LP, MEITINGER T, MELLSTRÖM D, MELZER D, MILJKOVIC I, NAUCK M, NILSSON M, PENNINX B, PYE SR, VASAN RS, REINCKE M, RIVADENEIRA F, TAJAR A, TEUMER A, UITTERLINDEN AG, ULLOOR J, VIKARI J, VÖLKER U, VÖLZKE H, WICHMANN HE, WU TS, ZHUANG WV, ZIV E, WU FCW, RAITAKARI O, ERIKSSON A, BIDLINGMAIER M, HARRIS TB, MURRAY A, JONG FH, MURABITO JM, BHASIN S, VANDENPUT L, HARING R. Genetic Determinants of serum testosterone concentrations in men. *PLoS Genetics*, v. 7, Issue 10, e1002313, 1 october 2011. Disponível em: <www.plosgenetics.org>.

OTTENBACHER KJ, OTTENBACHER ME, OTTENBACHER AJ, ACHA AA, OSTIR GV. Androgen treatment and muscle strength in elderly men: a meta-analysis. *J Am Geriatr Soc.*, 54:1666–1673, 2006.

ÖZTEN N, HORTON L, LASANO S, BOSLAND MC. Selenomethionine and α -Tocopherol do not inhibit prostate carcinogenesis in the testosterone plus Estradiol-Treated NBL rat model. National Institutes of Health. *Cancer Prev Res (Phila)*, 2010 march; 3(3): 371–380. DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-09-0152.

PAPSIDERO LD, WANG MC, VALENZUELA LA, MURPHY GP, CHU TM. A Prostate antigen in sera of prostatic cancer patients. *Cancer Research*, 40, 2428-2432, july 1980.

PAYNE JR, KOTWINSKI PJ, MONTGOMERY HE. Cardiac effects of anabolic steroids. *Heart*, 2004;90:473–475. DOI: 10.1136/hrt.2003.025783.

PENNING TM. NEW Frontiers in androgen biosynthesis and metabolism+. National Institutes of Health. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.*, 2010 June; 17(3): 233–239. DOI:10.1097/MED.0b013e3283381a31.

PIERORAZIO PM, FERRUCCI L, KETTERMANN A, LONGO DL, METTER EJ, CARTER HB. Serum testosterone is associated with aggressive prostate cancer in older men: results from the baltimore longitudinal study of aging. National Institutes of Health. *BJU Int.*, 2010 March; 105(6): 824–829. DOI:10.1111/j.1464-410X.2009.08853.x.

PRICE MM, HAMILTON RJ, ROBERTSON CN, BUTTS MC, FREEDLAND SJ. Body mass index, prostate-specific antigen, and digital rectal examination findings among

participants in a prostate cancer screening clinic. *J Soc Inter D'Urologie*, v. 71, Issue 5, p. 787-791, may 2008.

RAMASAMY R, FISHER ES, SCHLEGEL PN. Testosterone replacement and prostate cancer. *Indian J Urol.*, 2012 apr-Jun; 28(2): 123–128. DOI: 10.4103/0970-1591.98449. Disponível em: <<http://www.indianjurol.com/article.asp?issn=0970-1591;year=2012;volume=28;issue=2;spage=123;epage=128;aualast=Ramasamy>>.

RAO KVN, JOHNSON WD, BOSLAND MC, LUBET RA, STEELE VE, KELLOFF GJ, MCCORMICK DL. Chemoprevention of rat prostate carcinogenesis by early and delayed administration of dehydroepiandrosterone. *Cancer Research*, 59, 3084–3089, july 1, 1999.

RIBEIRO DL, MARQUES SFG, ALBERTI S, SPADELLA CT, MANZATO AJ, TABOGA SR, DIZEYI N, ABRAHAMSSON P, GÓES RM. Malignant lesions in the ventral prostate of alloxan-induced diabetic rats. *Int. J. Exp. Path.*, 2008, 89, 276–283. DOI: 10.1111/j.1365-2613.2008.00591.x.

ROGOL AD. Drugs of abuse and the adolescent athlete. *Rogol Italian Journal of Pediatrics*, 2010, 36:19. Disponível em: <<http://www.ijponline.net/content/36/1/19>>.

ROTHMAN RD, WEINER RB, POPE HG, KANAYAMA G, HUTTER JR AM, FIFER MA, DEC JR GW, BAGGISH AL. Anabolic androgenic steroid induced myocardial toxicity: an evolving problem in an aging population. *BMJ Case Rep.*, 2011 august 18; 2011. DOI: 10.1136/bcr.05.2011.4280.

ROY TA, BLACKMAN MR, HARMAN SM, TOBIN JD, SCHRAGER M, METTER EJ. Interrelationships of serum testosterone and free testosterone index with FFM and strength in aging men. *Am J Physiol Endocrinol Metab.*, 283:E284-E294, 2002.

SÁ EQC, SÁ FCF, GUEDES AD, VERRESCHI ITN. Testosterona sérica e doença cardiovascular em homens. Serum testosterone and cardiovascular disease in men. *Arq Bras Endocrinol Metab.*, 2009;53/8.

SAAD F, AVERSA A, ISIDORI AM, GOOREN LJ. Testosterone as potential effective therapy in treatment of obesity in men with testosterone deficiency: a review. *Current Diabetes Reviews*, v. 8, n. 2, 2012.

SAAD F, GOOREN LJ. The Role of Testosterone in the etiology and treatment of obesity, the metabolic syndrome, and diabetesmellitus type 2. *Journal of Obesity*, v. 2011, art. ID 471584, 10p. DOI:10.1155/2011/471584.

SAKUMA K, YAMAGUCHI A. Sarcopenia and age-related endocrine function. *International Journal of Endocrinology*, v. 2012, art. ID 127362, 10p. DOI: 10.1155/2012/127362.

SAMAHA AA, NASSER-EDDINE W, SHATILA E, HADDAD JJ, WAZNE J, EID AH. Multi-organ damage induced by anabolic steroid supplements: a case report and literature review. *Journal of Medical Case Reports*, 2008, 2:340. DOI: 10.1186/1752-1947-2-340.

SAUDAN C, BAUME N, ROBINSON N, AVOIS L, MANGIN P, SAUGY M. Testosterone and doping control. *Br J Sports Med*, 2006;40(Suppl 1):i21–i24. DOI: 10.1136/bjism.2006.027482. Disponível em: <www.bjsportmed.com>.

SAUVER JLS, JACOBSON DJ, MCGREE ME, GIRMAN CJ, KLEE GG, LIEBER MM, JACOBSEN SJ. Associations between longitudinal changes in serum estrogen, testosterone, and bioavailable testosterone and changes in benign urologic outcomes. *Am J Epidemiol.*, v. 173, n. 7, 2011; 173(7):787–796. DOI: 10.1093/aje/kwq438.

SCHAAP LA, PLUIJM SMF, SMIT JH, SCHOOR NM, VISSER M, GOOREN LJG, LIPS P. The association of sex hormone levels with poor mobility, low muscle strength and incidence of falls among older men and women. *Clinical Endocrinology*, 2005, 63, 152-160. DOI: 10.1111/j.1365-2265.2005.02315.x.

SEKINE Y, DEMOSKY SJ, STONIK JA, FURUYA Y, KOIKE H, SUZUKI K, REMALEY AT. High density lipoprotein induces proliferation and migration of human prostate androgen independent cancer cells by an ABCA1-dependent mechanism. National Institutes of Health. *Mol Cancer Res.*, 2010 september; 8(9): 1284–1294. DOI:10.1158/1541-7786.MCR-10-0008.

SERRA C, BHASIN S, TANGHERLINI F, BARTON ER, GANNO M, ZHANG A, SHANSKY J, VANDENBURGH HH, TRAVISON TG, JASUJA R, MORRIS C. The role of GH and IGF-I in mediating anabolic effects of testosterone on androgen-responsive muscle. *Endocrinology*, 2011, january; 152(1): 193–206. DOI: 10.1210/en.2010-0802.

SFOUNGARISTOS S, PERIMENIS P. PSA density is superior than PSA and gleason score for adverse pathologic features prediction in patients with clinically localized prostate câncer. *Can Urol Assoc J.*, 2012;6(1):46-50. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5489/cuaj.11079>>.

SHABSIGH R. The effects of testosterone on the cavernous tissue and erectile function. *World Journal of Urology*, v.15, february 1997, Issue 1, p 21-26.

SHEFFIELD-MOORE M, DILLON EL, CASPERSON SL, GILKISON CR, PADDON-JONES D, DURHAM WJ, GRADY JJ, URBAN RJ. A Randomized pilot study of monthly cycled testosterone replacement or continuous testosterone replacement versus placebo in older men. *J Clin Endocrinol Metab.*, 2011 november; 96(11): E1831–E1837. DOI: 10.1210/jc.2011-1262.

SHIN BS, HWANG EC, IM CM, KIM SO, JUNG SIL, KANG TW, KWON DD, PARK K, RYU SB. Is a decreased serum testosterone level a risk factor for prostate cancer? A cohort study of korean men. *Korean J Urol.*, 2010;51:819-823. DOI: 10.4111/kju.2010.51.12.819. Disponível em: <www.kjurology.org>.

SINGER EA, PALAPATTU GS, WIJNGAARDEN E. Prostate-specific antigen levels in relation to consumption of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and acetaminophen. Results from the 2001-2002. National Health and Nutrition Examination Survey. *Cancer*, v. 113, n. 8, october 15, 2008.

SINNESAE M, BOONEN S, CLAESSENS F, GIELEN E, VANDERSCHUEREN D. Testosterone and the male skeleton: a dual mode of action. *Journal of Osteoporosis*, v. 2011, art. ID 240328, 7p. DOI:10.4061/2011/240328.

SMITH SD, BIRTWHISTLE R. Exploring patient perceptions of PSA screening for prostate cancer. Risks, effectiveness, and importance. *Can Fam Physician.*, 2012;58:502-7.

SOARES DFG, RHODEN EL. Deficiência androgênica do envelhecimento masculino (DAEM) e terapia de reposição hormonal com testosterona (TRT). *Urologia Contemporânea*, v.18, n. 3, julho-setembro, 2010.

SOLOMON KR, FREEMAN MR. The complex interplay between cholesterol and prostate malignancy. National Institutes of Health. *Urol Clin North Am.*, 2011 august; 38(3): 243–259. DOI:10.1016/j.ucl.2011.04.001.

SONG K, CORNELIUS SC, DANIELPOUR D. Development and characterization of DP-153, a nontumorigenic prostatic cell line that undergoes malignant transformation by expression of dominant-negativetransforming growth factor β receptor type II. *Cancer Research*, 63, 4358-4367, august 1, 2003.

STANWORTH RD, JONES TH. Testosterone for the aging male; current evidence and recommended practice. *Clinical Interventions in Aging*, 2008;3(1).

SURAMPUDI PN, WANG C, SWERDLOFF R. Hypogonadism in the aging male diagnosis, potential benefits, and risks of testosterone replacement therapy. *J Endocrinology*, v. 2012, art. ID 625434, 20p. DOI:10.1155/2012/625434.

SWERDLOFF RS, WANG C. Androgen Deficiency and aging in men. *WJM*, v.159, n. 5, november, 1993.

SZMULEWITZ R, MOHILE S, POSADAS E, KARRISON RKT, MANCHEN E, STADLER WM. A randomized phase i study of testosterone replacement for patients with low risk castrate resistant prostate cancer. National Institutes of Health. *Eur Urol.*, 2009 july; 56(1): 97–103. DOI:10.1016/j.eururo.2009.02.022.

TABOGA S R, VILAMAIOR PSL, GÓES RM. Modulação androgênica e estrogênica na próstata: uma abordagem em modelos experimentais de roedores com enfoque na biologia estrutural. Androgenic and estrogenic modulation in the prostate: an approach in rodent experimental models with emphasis on structural biology. *Arq Bras Endocrinol Metab.*, 2009;53/8.

TAHTAMOUNI LH, MUSTAFA NH, ALFAOURI AA, HASSAN IM, ABDALLA MY, YASIN SR. Prevalence and risk factors for anabolic-androgenic steroid abuse among Jordanian collegiate students and athletes. *European Journal of Public Health*, v. 18, n. 6, 661-665, 2008.

TAM NNC, LEAV I, HO S-M. Sex Hormones induce direct epithelial and inflammation-mediated oxidative/nitrosative stress that favors prostatic carcinogenesis in the noble rat. National Institutes of Health. *AJP October*, 2007, v. 171, n. 4.

TAMANOS S, REHM S, WAALKESA MP, WARD JM. High incidence and histogenesis of seminal vesicle adenocarcinoma and lower incidence of prostate carcinomas in the lobund- wistar prostate cancer rat model using N-nitrosomethylurea and testosterone. *Vet Pathol.*, 33557-567, 1996.

THOMPSON IM, ANKERST DP, CHI C, LUCIA MS, GOODMAN PJ, CROWLEY JJ, PARNES HL, COLTMAN JR CA. Operating characteristics of prostate-specific antigen in men with an initial PSA level of 3.0 ng/mL or lower. *JAMA*. 2005;294:66-70, 2011. Disponível em: <www.jama.com>.

TOMITA K, HOSAKA Y, ASO Y. Histological and flow cytometric analyses of carcinogenesis of rat prostate câncer. *Dom Journal of Urology*, v. 81, n. 9, 1990: 1396:1403.

TRACZ MJ, SIDERAS K, BOLOÑA ER, HADDAD RM, KENNEDY CC, URAGA MV, CAPLES SM, ERWIN PJ, MONTORI VM. Testosterone use in men and its effects on bone health. A systematic review and meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. *J Clin Endocrinol Metab.*, june 2006, 91(6):2011–2016.

TRAISH AM, GOLDSTEINC I, KIMB NN. Testosterone and erectile function: from basic research to a new clinical paradigm for managing men with androgen insufficiency and erectile dysfunction. National Institutes of Health. *Eur Urol*. 2007 July; 52(1): 54-70. DOI:10.1016/j.eururo.2007.02.034.

TRAISH AM, MORGENTALER A. Epidermal growth factor receptor expression escapes androgen regulation in prostate cancer: a potential molecular switch for tumour growth. *British Journal of Cancer*, 2009, 101, 1949-1956. Disponível em: <www.bjcancer.com>.

UEMURA M, TAMURA K, CHUNG S, HONMA S, OKUYAMA A, NAKAMURA Y, NAKAGAWA H. Novel 5 α -steroid reductase (SRD5A3, type-3) is overexpressed in hormone-refractory prostate cancer. *Cancer Sci*, v. 99, n. 1, p. 81-86, january 2008.

ULAMEC M, TOMAS D, ENSINGER C, CUPIC H, BELICZA M, MIKUZ G, KRUSLIN B. Periacinar retraction clefting in proliferative prostatic atrophy and prostatic adenocarcinoma. *J Clin Pathol.*, 2007;60:1098–1101. DOI: 10.1136/jcp.2006.044784.

URHAUSEN A, ALBERS T, KINDERMANN W. Are the cardiac effects of anabolic steroid abuse in strength athletes reversible? *Heart*, 2004;90:496–501. DOI: 10.1136/hrt.2003.015719. Disponível em: <www.heartjnl.com>.

VALKENBURG KC, WILLIAMS BO. Mouse models of prostate câncer. *Prostate Câncer*, v. 2011, art. ID 895238, 22p. DOI: 10.1155/2011/895238.

VIDIGAL DJA, SILVA AL, FONSECA LMA, REZENDE DF. Dosagem e correlação do antígeno prostático específico com as alterações histológicas dos anexos sexuais do

hamster sírio. Prostate Specific antigen-psa dosage and correlation with syrian hamster sexual addiction histologic alterations. *Rev. Col. Bras. Cir.*, v. 32, n. 3, mai. / jun. 2005.

WANG C, CUNNINGHAM G, DOBS A, IRANMANESH A, MATSUMOTO AM, SNYDER PJ, WEBER T, BERMAN N, HULL L, SWERDLOFF RS. Long-term testosterone gel (Androgel) treatment maintains beneficial effects on sexual function and mood, lean and fat mass, and bone mineral density in hypogonadal men. *J Clin Endocrinol Metab.*, may 2004, 89(5):2085-2098.

WANG C, EYRE DR, CLARK R, KLEINBERG D, NEWMAN C, IRANMANESH A, VELDHUIS J, DUDLEY RE, BERMAN N, DAVIDSON T, BARSTOW TJ, SINOW R, ALEXANDER G, SWERDLOFF RS. Sublingual testosterone replacement improves muscle mass and strength, decreases bone resorption, and increases bone formation markers in hypogonadal Men-A Clinical Research Center Study. *JCE & M.*, v. 81, n. 10, 1996. Disponível em: <jcem.endojournals.org>.

WEBB CM, ELKINGTON AG, KRAIDLY MM, KEENAN N, PENNELL DJ, COLLINS P. Effects of oral testosterone treatment on myocardial perfusion and vascular function in men with low plasma testosterone and coronary heart disease. *Am J Cardiol.*, 2008 march 1; 101(5): 618–624. DOI: 10.1016/j.amjcard.2007.09.114.

WEBSTER GF. Acne vulgaris. *BMJ*, v. 325, 31 august 2002. Disponível em: <bmj.com>.

WERNY DM, THOMPSON T, SARAIYA M, FREEDMAN D, KOTTIRI BJ, GERMAN RR, WENER M. Obesity is negatively associated with prostate-specific antigen in U.S. Men, 2001-2004. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, 2007;16:70-76. Disponível em: <cebp.aacrjournals.org>.

WILSON EM. Androgen receptor molecular biology and potential targets in prostate cancer. *Ther Adv Urol.*, 2010, 2(3) 105_117. DOI: 10.1177/1756287210372380.

WINDAHL SH, ANDERSSON N, BÖRJESSON AE, SWANSON C, SVENSSON J, MOVÉRARE-SKRTIC S, SJÖGREN K, SHAO R, LAGERQUIST MK, OHLSSON C. Reduced bone mass and muscle strength in male 5 α -reductase type 1 inactivated mice. *Plos One*, v. 6, issue 6, e21402, june 2011. Disponível em: <www.plosone.org>.

WOLIN KY, COLANGELO LA, LIU K, STERNFELD B, GAPSTUR SM. Associations of androgens with physical activity and fitness in young black and white men: the CARDIA Male Hormone Study. National Institutes of Health. *Prev Med.*, 2007 may; 44(5): 426-431.

XYLINAS E, PLOUSSARD G, DURAND X, FABRE A, SALOMON L, ALLORY Y, VORDOS D, HOZNEK A, ABOU CC, TAILLE A. Low pretreatment total testosterone (<3 ng/mL) predicts extraprostatic disease in prostatectomy specimens from patients with preoperative localized prostate cancer. *BJU International*, 107, 2010,1400-1403. DOI: 10.1111/j.1464-410X.2010.09816.x.

YASSIN AA, AKHRAS F, EL-SAKKA AI, SAAD F. Cardiovascular diseases and erectile dysfunction: the two faces of the coin of androgen deficiency. *Andrologia*, 43, 1-8, 2009.

YASSIN AA, HAFJEJEE M. Testosterone depot injection in male hypogonadism: a critical appraisal. *Clinical Interventions in Aging*, 2007:2(4).

YOUSEF GM, OBIEZU CV, LUO L-Y, MAGKLARA A, BORGOÑO CA, KISHI T, MEMARI N, MICHAEL IP, SIDIROPOULOS M, KURLENDER L, ECONOMOPOLOU K, KAPADIA C, KOMATSU N, PETRAKI C, ELLIOTT M, SCORILAS A, KATSAROS D, LEVESQUE MA, DIAMANDIS EP. Human tissue kallikreins: from gene structure to function and clinical applications. *Advances in Clinical Chemistry*, v. 39, 2005.

ZIRKIN BR, TENOVER JL. Aging and declining testosterone: past, present, and hopes for the future. *Journal of Andrology*, august 9, 2012.

ANEXO – Comissão de ética para o cuidado e uso de animais experimentais



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA ROBERTO ALCANTARA GOMES



COMISSÃO DE ÉTICA PARA O CUIDADO E USO DE ANIMAIS EXPERIMENTAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº CEA/005/2010 sobre "Efeito da administração de cipionato de testosterona e undecanoato de testosterona no aparelho reprodutor de ratos Wistar correlacionando com a dosagem sérica do antígeno prostático específico", sob a responsabilidade de **Patricia Cristina Lisboa da Silva (UERJ) e Flavia Raquel Fernandes Nascimento (UFMA)**, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética Para o Cuidado e Uso de Animais Experimentais do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da UERJ (CEA), em **15/01/2010**. Este certificado expira em **15/01/2014**.

Rio de Janeiro, 15 de Janeiro de 2010.

Profa. Yael Abreu Vilaça
CEA/IBRAG/UERJ

Prof. Israel Felzenszwalb
CEA/IBRAG/UERJ

Israel Felzenszwalb
Diretor
IBRAG - UERJ
Mar 2007-8

/ass