

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**EFEITOS DO USO CRÔNICO DA DEHIDROEPIANDROSTERONA
ORAL (DHEA) SOBRE OS NÍVEIS SÉRICOS DA TESTOSTERONA,
SULFATO DE DEHIDROEPIANDROSTERONA (SDHEA),
HISTOLOGIA PROSTÁTICA E ESPERMATOGÊNESE: ESTUDO
EXPERIMENTAL EM RATOS**

Autor: Daniel Gobbi

Orientador: Prof. Dr. Ernani Luís Rhoden

Dissertação de Mestrado

Porto Alegre

2004

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**EFEITOS DO USO CRÔNICO DA DEHIDROEPIANDROSTERONA
ORAL (DHEA) SOBRE OS NÍVEIS SÉRICOS DA TESTOSTERONA,
SULFATO DE DEHIDROEPIANDROSTERONA (SDHEA),
HISTOLOGIA PROSTÁTICA E ESPERMATOGÊNESE: ESTUDO
EXPERIMENTAL EM RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito para obtenção do Título de Mestre em Ciências Médicas.

Aluno: Daniel Gobbi

Orientador: Prof. Dr. Ernani Luís Rhoden

Porto Alegre

2004

AGRADECIMENTOS

A realização de um mestrado, e conseqüentemente a dissertação final são tarefas árduas e trabalhosas. Certamente não conseguiria concluir este trabalho sem a mão amiga de colaboradores diretos e indiretos. Agradeço profundamente:

Ao Prof. Dr. Ernani Rhoden, incansável orientador e sobretudo amigo, maior incentivador do presente trabalho. Sempre disposto a contribuir, com sua visão crítica e competência sem paralelos para atividades científicas, aprimorou meu trabalho, e deu ânimo para a conclusão desta dissertação.

Ao Prof. Dr. Cláudio Telöken, pelo seu espírito científico, que me inspirou a realizar esta dissertação.

Ao Prof. Dr. Luis Pereira-Lima, pelo apoio para ingressar na pós-graduação da UFRGS.

À coordenadora do PPG de Ciências Médicas Profa. Dra. Sandra Costa Fuchs, pelo carinho e incentivo na conclusão dos trabalhos da pós-graduação.

Ao Prof. Dr. Flávio Danni Fuchs, que me abriu as portas para a realização deste mestrado acadêmico.

A todos os funcionários do Departamento de Patologia da Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre (FFFCMPA) por disponibilizar materiais e equipamentos para a realização deste trabalho.

Aos acadêmicos de Medicina, atualmente médicos Fernando Carbonera e Eduardo Menti, pela colaboração decisiva na coleta e organização dos dados.

Aos funcionários do PPG de Ciências Médicas; Luciano de Oliveira, Letícia Konrath e Helena Beatriz Costa, pela competência e amabilidade na prestação de informações.

A todos colegas de mestrado, pelo agradável convívio.

"A minha preocupação não está em ser coerente com as minhas afirmações anteriores sobre determinado problema, mas em ser coerente com a verdade. O ERRO não se torna verdade por se difundir e multiplicar facilmente. Do mesmo modo, a VERDADE não se torna erro pelo fato de ninguém a ver."

Mahatma Gandhi

Aos meus pais Benito e Elita, que desde os meus primeiros anos de vida mostraram a importância do conhecimento.

À minha esposa Cátia e ao meu filho Bernardo, minhas razões atuais de existência.

Aos meus irmãos Adriana, Delano e Delton, pelos exemplos, que me fizeram seguir os caminhos do interesse científico.

SUMÁRIO

Revisão da literatura	008
Justificativa	022
Objetivos	023
Referências Bibliográficas	024
Artigo em inglês (I)	037
Artigo em português (I)	053
Artigo em inglês (II)	071
Artigo em português (II)	086
Anexos	102

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

- a. Anexo I - Fluxograma da síntese de dehidroepiandrosterona (DHEA), sulfato de DHEA (SDHEA), e outros esteróides.
- b. Anexo II - Desenho esquemático, dos campos visuais para avaliação da espermatogênese.
- c. Anexo III – Fotos da histologia testicular
- d. Anexo IV – Fotos da histologia prostática.

REVISÃO DA LITERATURA

O recente interesse biomédico científico e público com relação a dehidroepiandrosterona (DHEA), foi impulsionado, em grande parte, pelas freqüentes evidências publicadas nos últimos anos, que sugerem um marcado declínio idade-relacionado dos níveis plasmáticos do sulfato de dehidroepiandrosterona (SDHEA). Estes achados motivam a hipótese de que o declínio hormonal determina um estado de deficiência hormonal verdadeiro, podendo representar algo significativo em pacientes com idade avançada (Hornsby, 1997; Miller, 1997). Por estas razões, tem sido proposto que a terapia de reposição hormonal com a DHEA, para restaurar níveis plasmáticos basais do SDHEA em homens idosos, possa ter uma série de benefícios em condições relacionadas com a idade como, por exemplo, nas doenças cardiovasculares, no diabetes, nas disfunções imunológicas, na depressão, nas doenças neoplásicas, nas disfunções músculo-esqueléticas e nas disfunções sexuais (Morales e cols., 1994; Hornsby, 1997).

A DHEA e o SDHEA foram isolados e identificados há aproximadamente sessenta anos, porém o exato papel biológico destas substâncias ainda não é totalmente conhecido. Uma das principais razões pelo escasso estudo da fisiologia hormonal destas substâncias, possivelmente, pode ser atribuída pelo fato das mesmas não possuírem uma atividade intrínseca androgênica, estrogênica ou qualquer outra atividade hormonal clássica, embora se saiba que estes hormônios são precursores de andrógenos e estrógenos, originados a partir da sua conversão em tecidos periféricos (Labrie e cols., 1997). Estes aspectos residem de forma especial no fato de que receptores específicos para a DHEA e o

SDHEA ainda não foram identificados em mamíferos (Meikle e cols., 1992; Okabe e cols., 1995; Hinson e Raven, 1999; Kroboth e cols., 1999; Liu e Dillon, 2002).

A DHEA e seu metabólito ativo, o SDHEA, são hormônios endógenos sintetizados e excretados primariamente pela zona reticular da córtex adrenal, em resposta ao estímulo do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), secretado pela pituitária. O exato mecanismo de ação e o papel clínico, de ambas substâncias, permanecem desconhecidos (Morales e cols., 1994).

Embora a síntese da DHEA ocorra quase que exclusivamente na córtex adrenal, como descrito anteriormente, a esteroidogênese testicular parece ser responsável pela secreção de 10-15% da quantidade total deste pré-hormônio (Kroboth e cols., 1999). Os andrógenos adrenais são produzidos em quantidades abundantes em humanos, em uma fração que varia de 20 a 30 mg por dia, sendo que esta quantidade representa cerca de 10 vezes mais do que a produção diária de cortisol (Baulieu, 1996). Durante a gestação, grandes quantidades da DHEA e do SDHEA são produzidas pelas glândulas adrenais fetais, após o nascimento a quantidade produzida diminui significativamente, embora os níveis séricos permaneçam estáveis até os 5-7 anos de idade. Após esta idade, ocorre o evento da adrenarca, e as glândulas adrenais gradualmente retornam a produzir DHEA, que é acelerado ao longo da puberdade. A taxa de secreção máxima da DHEA atinge o ápice entre os 20 e 30 anos de idade, iniciando após um declínio gradual, com uma diminuição estimada de 2% ao ano, fenômeno denominado de "adrenopausa". Na oitava década de vida apenas 10-20% do pico máximo de produção observado no adulto jovem tem sido observada (Migeon e cols., 1957; Orentreich e cols., 1992; Baulieu, 1996; Labrie e cols., 1997).

Embora a secreção da DHEA seja regulada pela ação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), cujo estímulo promove aumento na taxa de secreção

do mesmo, alguns autores (Parker e Odell, 1980; Straub e cols, 1998; Kalmijn e cols., 1998) demonstraram, interessantemente uma dissociação entre os níveis séricos do cortisol e da DHEA em várias condições fisiológicas e patológicas, fato que sugere que o ACTH talvez não seja o único hormônio regulador da secreção da DHEA pelas adrenais. Vários candidatos a mecanismos reguladores da secreção da DHEA foram propostos, porém muitos deles falharam em demonstrar uma importante influência sobre a secreção da DHEA, quando os padrões de secreção da DHEA ao longo da vida, são levados em consideração (McKenna e Cunningham, 1991).

Na realidade o mecanismo fisiológico exato envolvido na regulação da secreção da DHEA permanece desconhecido, aspecto que produz uma lacuna significativa no mecanismo exato da importância deste agente hormonal ou pré-hormonal na fisiologia dos seres vivos e o papel da sua deficiência que se desenvolve progressivamente com o envelhecimento.

A absorção oral da DHEA é excelente, DHEA e SDHEA são convertidos em vários metabólitos ativos, incluindo testosterona, androstenediona, androsterona, estradiol e estriol (Anexo I). A meia-vida de eliminação é de 15-38 minutos, embora a meia vida do SDHEA seja de 7-22 horas. A excreção renal é responsável por 51-73% da eliminação do SDHEA e seus metabólitos (Bird e cols., 1976; Zumoff e Bradlow, 1980; Longcope, 1996).

Uma vez na circulação sanguínea a DHEA e o SDHEA são interconvertidos nos tecidos periféricos e adrenais por sulfotransferases e sulfatases, sendo o SDHEA a forma estável da DHEA (Poortman e cols., 1980; Bird e cols., 1984; Baulieu, 1996), e são os precursores de uma quantidade significativa de andrógenos em homens (Poortman e cols., 1980; Bird e cols., 1984; Baulieu, 1996).

Desta forma, acredita-se que o SDHEA não tenha efeitos específicos, porém representa uma espécie de reservatório da DHEA, já que estas duas substâncias são livremente interconvertidas pela ação de sulfotransferases e sulfatases extra-adrenais (Kroboth e cols., 1999; Hinson e Raven, 1999). Estima-se que 64-74% da DHEA produzido endogenamente são convertidos a SDHEA, porém 13% do SDHEA são reconvertidos em DHEA (Poortman e cols., 1980; Bird e cols., 1984; Baulieu, 1996).

A DHEA tem um padrão de secreção pulsátil e um ritmo circadiano, embora o SDHEA não acompanhe estas características, os níveis basais séricos do SDHEA costumam refletir a média basal da DHEA. Por esta razão, os níveis séricos do SDHEA costumam ser mais estáveis, tornando a sua mensuração preferencial em estudos clínicos laboratoriais (Hinson e Raven, 1999).

A produção da DHEA ocorre exclusivamente em primatas superiores, incluindo humanos (Cutler e cols., 1978). Embora animais de laboratório, como ratos e coelhos não apresentem produção de andrógenos adrenais na mesma proporção do observado em humanos, o modelo experimental de roedores pode ser muito útil para investigar os efeitos da DHEA, visto que há similaridades no metabolismo de ambos. Roedores e humanos parecem responder similarmente à administração exógena suplementar da DHEA, e ambas espécies apresentam carência de receptores periféricos para a DHEA e o SDHEA (Hinson e Raven, 1999). A carência de receptores periféricos para estas substâncias, significa que estes hormônios ou pré-hormônios não apresentam efeitos hormonais diretos, como principal mecanismo de ação, porém atuam principalmente através da conversão em outros hormônios, como a testosterona (Hinson e Raven, 1999; Frye e cols., 2000). Esta observação é o principal fator que determina a dificuldade para o entendimento do exato papel biológico da DHEA e do SDHEA.

O modelo animal, portanto, providencia oportunidades adicionais para investigação, por exemplo, de achados relacionados a alterações histológicas em resposta ao tratamento clínico com DHEA ou SDHEA, que poderia ser problemático em estudos clínicos em humanos, por questões éticas.

Muitos mecanismos de ação, além de seu papel precursor androgênico, têm sido propostos para a DHEA e o SDHEA. No sistema nervoso central, ambas substâncias parecem afetar receptores de alguns neurotransmissores. Em modelos experimentais com roedores, o SDHEA liga-se ao receptor γ -ácido aminobutírico (GABA)/Benzodiazepino (GABA-RC) e atua como um modulador não competitivo negativo do GABA-RC, já a DHEA parece atuar, em contraposição ao SDHEA, como agonista do complexo GABA-RC (Kroboth e cols., 1999). Adicionalmente, a DHEA e o SDHEA parecem ter efeitos neurotróficos, aumentando o número de neurônios neurofilamentosos-positivos e regulando a motilidade e o crescimento de projeções córtico talâmicas em culturas de células cerebrais embrionárias de ratos (Roberts e cols., 1987; Baulieu e Robel, 1998; Compagnone e Mellon, 1998). Doses suprafisiológicas orais de DHEA (100-300 mg/dia) em humanos mostram atividade inibitória sobre a síntese de tromboxano A₂ em plaquetas ativadas, reduzem os níveis plasmáticos do ativador de plasminogênio, aumentam os níveis séricos do fator de crescimento insulina-like (IGF-1), e aumentam a síntese de guanosina monofosfatase cíclica (GMP-c) e do óxido nítrico (sendo estes últimos aumentados diretamente ou via aumento do IGF-1) (Jakubowicz e cols., 1995; Jesse e cols., 1995; Beer e cols., 1996). Estes efeitos sugerem que a DHEA possa exercer efeitos benéficos na microcirculação e, possivelmente, regulando alguns fatores de risco para doenças cardiovasculares, como a agregação plaquetária e isquemia.

De uma maneira geral os dados epidemiológicos indicam uma relação inversa entre os níveis séricos da DHEA e do SDHEA e a frequência de neoplasias, doenças cardiovasculares (somente em indivíduos do sexo masculino), doença de Alzheimer e outras doenças relacionadas com o envelhecimento. Além disso, disfunção imunológica e progressão da infecção por HIV, foram relatadas, sugerindo um papel da DHEA com estes eventos clínicos (Piketty e cols, 2001; Hak e cols., 2002; Wolkowitz e cols., 2003).

Dois estudos avaliaram a relação do DHEA e doenças cardiovasculares, sendo o primeiro (Feldman e cols., 1998), realizado em uma coorte de 1700 homens na Nova Escócia (Estados Unidos), que demonstrou uma associação entre baixos níveis séricos do SDHEA e a ocorrência de eventos cardiovasculares de forma independente dos outros fatores de risco para esta condição clínica. Estes autores sugerem que baixos níveis séricos da DHEA possam determinar um maior risco para o desenvolvimento de doença cardiovascular. O outro estudo, realizado na Suécia por Jansson e cols. (1998), sugere que baixos níveis séricos do SDHEA são um fator preditor de mortalidade por doença cardiovascular. Os dados deste estudo foram obtidos através do acompanhamento de paciente sobreviventes de infarto agudo do miocárdio.

Entretanto, os estudos clínicos mostram resultados conflitantes na área cardiovascular, porém, a maioria deles mostram uma relação inversa entre os níveis da DHEA e do SDHEA e a morbidade e mortalidade cardiovascular em homens, o mesmo não tendo sido evidenciado em mulheres (Alexandersen e cols., 1996). Entretanto, Kiechl e cols. (2000) publicaram recentemente um estudo epidemiológico de coorte, e não encontraram correlação significativa entre os níveis séricos da DHEA e do SDHEA e desenvolvimento de aterosclerose em homens e mulheres.

A DHEA pode ter um papel positivo na modulação da resposta imune. Estudos clínicos em indivíduos idosos têm demonstrado que a suplementação oral da DHEA na dose de 50mg/dia eleva os níveis de IGF-1 e causa ativação funcional das células T, aumentando sua atividade citotóxica (Casson e cols., 1993; Morales e cols., 1994; Khorram e cols., 1997). Os níveis séricos de interleucina-6 (uma citocina pró-inflamatória envolvida na patogênese da osteoporose, artrite reumatóide, aterosclerose, doença de Parkinson, doença de Alzheimer e algumas neoplasias) aumentam significativamente com a idade e tem uma correlação inversa com os níveis séricos da DHEA e do SDHEA (Straub e cols., 1998; Hildebrand e cols., 2003).

Em algumas condições, a mensuração bruta dos níveis séricos da DHEA e do SDHEA não tem sido úteis, no sentido de determinar algum tipo de associação, razão pela qual algumas variações para interpretar os resultados têm sido utilizadas no intuito de se tentar entender ou explicar uma relação de causa e efeito. Por exemplo, em indivíduos idosos com diminuição da atividade cognitiva, nenhuma correlação foi demonstrada no que concerne os níveis séricos da DHEA ou do SDHEA com testes para aferição da performance cognitiva (Ravaglia e cols., 1998; Yaffe e cols, 1998). Entretanto, quando a DHEA é analisada em relação à concentração de cortisol, uma diminuição da razão DHEA / cortisol mostra-se associada com um aumento do déficit cognitivo (Kalmijn e cols., 1998). Esta observação é corroborada pelos achados em um estudo prospectivo de mulheres pré-menopáusicas, cuja razão DHEA / cortisol mostrou uma relação inversa com o desenvolvimento futuro de artrite reumatóide antes dos 50 anos de idade. Também, na doença inflamatória intestinal, uma relação inversa da razão DHEA / cortisol, pareceu ser um fator preditivo para atividade inflamatória (Straub e cols., 1998).

A terapia de reposição da DHEA, não é consensual, embora baixos níveis da DHEA tenham sido observados em certas doenças, a diminuição por si só da DHEA não parece causar diretamente estas doenças. Mesmo em estudos otimistas, sua administração não resultou em mudanças significativas do curso clínico ou a cura de determinada doença. A maioria dos estudos já realizados tem um período muito pequeno de observação e raros são controlados com placebo (Morales e cols., 2000). Em virtude disso, o uso clínico da DHEA ainda permanece controverso, em que pese trabalhos mostrando uma fraca associação dos benefícios com sua administração.

Vários estudos em humanos e animais de laboratório foram desenvolvidos com o intuito de se compreender os efeitos da administração da DHEA (Svec e Porter, 1998; Arlt e cols., 2001; Kawano e cols., 2003; Jedrzejuk e cols., 2003; Percheron e cols., 2003; Acácio e cols., 2004). Entre estes, alguns estudos têm sido realizados para determinar o valor do tratamento ou prevenção com a DHEA nas mais variadas desordens clínicas aonde, a relação entre níveis baixos da DHEA e a ocorrência de determinadas enfermidades havia sido estabelecida.

As principais indicações da terapia de reposição da DHEA, segundo alguns autores (Derksen, 1998; Robinzon e Cutolo, 1999; Lahita, 1999), seria para pacientes com baixos níveis séricos da DHEA, secundário à doença crônica ou tratamento crônico com corticosteróides. Entre estas, uma condição na qual o tratamento com DHEA tem demonstrado efeitos benéficos é o lúpus eritematoso sistêmico, aonde a administração desta substância determinou melhora das condições clínicas com a concomitante redução das doses necessárias de glicocorticóides, que são empregadas como tratamento padrão para esta afecção clínica (Barry e cols., 1998; Chang e cols., 2002; vanVollenhoven, 2002). Também tem sido sugerido que a DHEA possa proteger indivíduos ou pelo menos reduzir a

osteoporose quando os mesmos estão em tratamento crônico com glicocorticóides (Formiga e cols., 1997). Por outro lado, estudos em curto prazo envolvendo a administração da DHEA têm falhado em mostrar efeitos benéficos na função cognitiva ou percepção do bem estar geral, indicando que a duração do tratamento parece ter influência significativa sobre a resposta (Wolf e cols., 1997). Estes aspectos determinam que o uso da DHEA para retardar o processo de envelhecimento, para melhora cognitiva, promoção da perda de peso, aumento da massa muscular, retardo da progressão das doenças de Alzheimer e Parkinson não possuem respaldo na literatura científica que justifique o uso clínico nestas condições (Morales e cols., 1994; Kroboth e cols., 1999; Morales e cols., 2000).

Outros possíveis usos clínicos, referidos na literatura, igualmente com fracas evidências de benefícios, incluem o aumento da resposta imunológica, sensação de bem estar no paciente idoso, prevenção de doenças cardiovasculares e no tratamento adjuvante da disfunção erétil (Baulieu e cols., 2000; Rabkin e cols., 2000; Reiter e cols., 2000).

A DHEA e o SDHEA são comumente referidos como andrógenos adrenais, por serem esteróides sintetizados no córtex da adrenal, embora este termo também seja freqüentemente usado para denominar outro esteróide, a androstenediona, que também é secretada pelo córtex da adrenal sob algumas circunstâncias e pode ser convertida em testosterona nos tecidos alvos. Entretanto, a secreção de androstenediona em grandes quantidades somente ocorre quando há deficiência genética da enzima 21-hidroxilase, uma situação relativamente incomum (Hornsby, 1997; Miller, 1997).

Ao que se sabe até o momento, o papel mais relevante da DHEA parece residir no campo androgênico pelo fato do mesmo ser um precursor, embora considerado fraco, da testosterona e de seus metabólitos. Esta observação é

amplamente respaldada por trabalhos que mostram claras evidências de que a DHEA é uma droga com possibilidade de ação androgênica (Svec e Porter, 1998; Nippoldt e Nair, 1998; Hinson e Raven, 1999; Arlt e cols., 1999; Arlt e cols., 2001; Hofbauer e cols., 2002). Neste sentido os potenciais efeitos adversos dos mesmos quando administrados poderiam de alguma forma estar relacionados aqueles que podem ocorrer quando da administração exógena da testosterona.

É sabidamente reconhecido o fato dos andrógenos apresentarem múltiplas ações fisiológicas, incluindo efeitos nos músculos, ossos, sistema nervoso central, próstata e outros órgãos do sistema reprodutivo e suas funções (Flynn e cols., 1999; Tenover, 1992; Herbert, 1995; Bagatell e Bremmer, 1996).

Os andrógenos estimulam a diferenciação e o desenvolvimento puberal dos testículos, pênis, epidídimo, vesículas seminais e próstata. Em adultos, os andrógenos são requisitados para a manutenção funcional destes tecidos (Gooren, 1987). Os andrógenos também possuem uma atividade fundamental na estimulação e manutenção da função sexual nos homens (Gooren, 1987; Morales e Heaton, 2003). A reposição de testosterona em homens hipogonádicos induz um maior interesse pela atividade sexual e melhora os diferentes aspectos relacionados à função sexual masculina (Bagatell e Bremmer, 1996; Reiter e cols., 1999; Morales e Heaton, 2000; Andersson, 2003; Mulhall e cols., 2004). Estudos com primatas não humanos têm mostrado correlação entre comportamento agressivo e as concentrações séricas de testosterona, porém em humanos o comportamento agressivo não demonstrou uma correlação evidente com os níveis séricos de testosterona e com a reposição hormonal em situações de hipogonadismo (Bagatell e cols, 1994).

A nível muscular, os andrógenos estão relacionados com uma maior retenção de nitrogênio, aumentam a massa muscular e diminuem a proporção de gordura e, embora alguns atletas e fisiculturistas os usem andrógenos com o intuito de aumentar a massa muscular, as propriedades anabólicas não podem ser dissociadas das ações da testosterona sobre fenótipo masculino e sobre as características sexuais secundárias (Young e cols., 1993). Os homens de modo geral, têm concentrações mais baixas de lipoproteínas de alta densidade (HDL) e mais altas concentrações de triglicérides, lipoproteínas de baixa densidade (LDL), lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) do que mulheres pré-menopáusicas, embora esta relação seja bastante controvertida (Zmuda e cols., 1993). O aumento da densidade óssea durante a puberdade em meninos, e a observação de que estado de hipogonadismo em homens é um importante fator de risco para o desenvolvimento de osteoporose, mostram clara associação entre a fisiologia do tecido ósseo e andrógenos (Finkelstein e Klibanski, 1990).

A testosterona se constitui no mais importante andrógeno circulante no sangue e é essencial na função reprodutiva pelo seu papel relevante na espermatogênese. Entretanto, é sabidamente reconhecido o fato de que a administração exógena de andrógenos exerce um papel negativo na espermatogênese pela interferência dos mesmos no eixo hipotalâmico-hipofisiário-gonadal (Tenover, 1992; Morales e cols., 1994; Wang e cols., 1997; Wang e Swerdloff, 2002).

A administração exógena da testosterona inibe a secreção das gonadotrofinas e espermatogênese em homens, porém o grau de inibição é altamente variável (Jabbour e Kelly, 1997; Hair, Wu e Lincoln, 2003).

Por analogia, a DHEA atua como um hormônio precursor, originando testosterona e estrógenos, e teria um potencial para interferir no eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal (Morales e cols., 1994).

Não obstante os altos índices de produção de andrógenos adrenais em humanos, o papel biológico destes hormônios permanece obscuro, principalmente quando se refere à função testicular, pelo fato de até o momento não terem sido identificados receptores específicos para atuação da DHEA e do SDHA, o que definiria seus efeitos hormonais (Hinson e Raven, 1999; Kroboth e cols., 1999).

Em 1994 o *Massachusetts Male Aging Study* (MMAS) apresentou uma relação inversa entre os níveis séricos de DHEA e a incidência de disfunção erétil na população estudada, ao passo que outros 16 hormônios medidos neste estudo não mostraram qualquer associação (Ebeling e Koivisto, 1994; Feldman e cols., 1994). Estes resultados, além dos observados em outros estudos (Svec e Porter, 1998; Nippoldt e Nair, 1998; Arlt e cols., 1999; Kroboth e cols., 1999), sugerem um papel fisiológico importante da DHEA e do SDHEA. No presente trabalho experimental em ratos, observou-se que pequenas quantidades da DHEA administradas aumentaram significativamente os níveis de testosterona total, sugerindo fortemente que o principal papel biológico da DHEA ocorre devido sua conversão em outros andrógenos.

Outra associação muito bem documentada é a necessidade da presença de andrógenos para o desenvolvimento da hiperplasia prostática benigna, pelo fato de que em cães ou humanos (eunucos) castrados na puberdade não desenvolvem a glândula e ou hiperplasia prostática. Além disso, em humanos a redução severa dos níveis séricos da testosterona por castração química ou cirúrgica, determina uma diminuição significativa do volume da próstata mesmo quando em condições hiperplásicas (Wendel e cols., 1972; Griffiths, 1974).

Embora aparentemente lógica a relação entre andrógenos e a hiperplasia prostática e os sintomas decorrentes, o mesmo não tem sido observado no campo clínico aonde a hiperplasia prostática tem sido relacionada pobremente com os níveis séricos de testosterona. Além disso, vários estudos no campo da reposição hormonal com testosterona e derivados (Holmang e cols., 1993; Krieg, Nass e Tunn, 1993; Gooren, 1994; Marcelli e Cunningham, 1999; Pechersky e cols., 2002) falharam em correlacionar a exacerbação de sintomas obstrutivos do trato urinário baixo durante a terapia de reposição com testosterona, bem como complicações da hiperplasia prostática benigna como, por exemplo, a retenção urinária, que ocorre com freqüência semelhante em pacientes tratados com testosterona e pacientes controles usando placebo. O volume prostático, medido ecograficamente, aumenta significativamente durante a terapia de reposição androgênica, principalmente durante os primeiros seis meses (Behre, Bohmeyer e Nieschlag, 1994; Snyder e cols., 2000), porém, o escore de sintomas destes pacientes não muda significativamente, isto é explicado pelo fato da relação entre sintomas do trato urinário inferior não estarem relacionados de forma direta com o volume da próstata e que certamente envolve um complexo de mecanismos fisiopatológicos (Lepor e cols., 1997; Terris, Afzal e Kabalin, 1998).

No campo da carcinogênese prostática a relação com a testosterona parece ser ainda mais complexa. A relação entre hormônios andrógenos e a regressão do câncer prostático foi inicialmente demonstrada por Huggins e cols. na década de 1940, desde então a ablação androgênica tem sido empregada para o tratamento do câncer de próstata avançado. O fato de a testosterona estimular o crescimento do câncer da próstata e até mesmo tornar lesões cancerosas ocultas em lesões clinicamente evidentes, torna o uso de testosterona suplementar proibitivo em pacientes com diagnóstico conhecido de malignidade

prostática (Schiller e cols., 1991; Curran e Bihrlé, 1999; Morales, Heaton e Carson, 2000).

Entretanto, é necessário reconhecer que a relação entre câncer da próstata estabelecido e a etiologia do mesmo são distintas e certamente envolvem outros fatores que os puramente hormonais. Por exemplo, esta relação controversa pode ser observada no fato do câncer de próstata atingir as maiores cifras de prevalência no homem justamente quando os níveis séricos de andrógenos tendem a uma progressiva redução.

Além disso, a maioria dos estudos epidemiológicos falharam em demonstrar uma relação consistente entre os níveis séricos dos andrógenos e uma maior ocorrência de câncer de próstata.

Curiosamente, estudos prospectivos têm demonstrado uma baixa frequência do câncer da próstata associado à terapia de reposição androgênica, quando comparados pacientes hipogonádicos em tratamento com pacientes recebendo placebo (Wang e cols, 2000; Snyder e cols, 2000; Kenny e cols, 2001).

Em suma, não obstante décadas de pesquisa, não há evidências de que andrógenos tenham algum papel etiológico no câncer prostático ou de promover alterações histológicas precursoras de malignidade (Rhoden e Morgentaler, 2004).

Neste sentido, a administração exógena da DHEA deve necessariamente levar em consideração a sua conversão em testosterona e seus metabólitos e os seus efeitos devem, portanto, ser analisados neste contexto.

JUSTIFICATIVA

Apesar da DHEA e o SDHEA terem sido isolados e identificados há aproximadamente sessenta anos, seus papéis biológicos ainda não são totalmente conhecidos. Sabe-se apenas que estas substâncias desempenham atividades importantes relacionadas ao aparelho genital masculino, em grande parte por serem precursores da testosterona.

Como já revisado amplamente, uma das principais razões pelo escasso estudo da fisiologia hormonal da DHEA e do SDHEA, possivelmente, pode ser atribuída pelo fato das mesmas não possuírem uma atividade intrínseca androgênica, estrogênica ou qualquer outra atividade hormonal clássica pelo fato de não possuírem receptores específicos atuando principalmente como precursores de andrógenos e estrógenos. A próstata e os testículos são os órgãos que apresentam tecidos altamente andrógeno-responsivos, sendo, portanto os locais de maior interesse para o estudo dos efeitos dessas substâncias.

Embora alguns trabalhos tenham examinado os efeitos da administração crônica da DHEA na histologia de tumores prostáticos experimentais em ratos castrados, na nossa revisão bibliográfica não há estudos publicados analisando os efeitos histológicos em próstatas e testículos histologicamente intactos, submetidas ao uso crônico da DHEA.

Pelo exposto, ficam evidentes os motivos para a realização do presente estudo para avaliar os efeitos do uso crônico da DHEA sobre os níveis séricos do SDHEA e da testosterona, histologia prostática e espermatogênese.

OBJETIVOS

Pelo motivo causal dos andrógenos desempenharem papéis relevantes na fisiologia prostática e gonadal, e sendo a DHEA um precursor androgênico, o presente estudo têm por objetivos, avaliar, especificamente, os efeitos do uso crônico da DHEA sobre os níveis séricos do SDHEA e de testosterona total e avaliar as possíveis conseqüências sobre o peso e histologia prostática, peso testicular e espermatogênese, em um modelo experimental de ratos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alexandersen P, Haarbo J, Christiansen C. The relationship of natural androgens to coronary heart disease in males: a review. *Atherosclerosis*, 1996; 125(1): 1-13.
2. Andersson KE. Erectile physiological and pathophysiological pathways involved in erectile dysfunction. *J Urol* 2003; 170(2 Pt 2): S6-13; discussion S13-4.
3. Arlt W, Haas J, Callies F, Koehler I, van Vlijmen JC, Fassnacht M, et al. Dehydroepiandrosterone supplementation in healthy men with and age-related decline of dehydroepiandrosterone secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 4686-4692.
4. Arlt W, Haas J, Callies F, Reincke M, Hubler D, Oettel M, et al. Biotransformation of oral dehydroepiandrosterone in elderly men: significant increase in circulating estrogens. *J Clin Endocrinol Metabol* 1999; 84: 2170-2176.
5. Bagatell CJ, Bremner WJ. Androgens in men-uses and abuses. *N Eng J Méd* 1996; 334: 707-714.
6. Bagatell CJ, Heiman JR, Rivier JE, Bremner WJ. Effects of endogenous testosterone and estradiol on sexual behavior in normal young men. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78: 711-716.
7. Barry NN, McGuire JL, vanVollenhoven RF. Dehydroepiandrosterone in systemic lupus erythematosus: relationship between dosage, serum levels and clinical response. *Journal of Rheumatology* 1998; 25: 2352–2356.

8. Baulieu EE, Robel P. Dehydroepiandrosterone (DHEA) and dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS) as neuroactive neurosteroids. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 4089-4091.
9. Baulieu EE, Thomas G, Legrain S, Lahlou N, Roger M, Debuire B, et al. Dehydroepiandrosterone (DHEA), DHEA sulfate, and aging: contribution of the DHEAge Study to a sociobiomedical issue. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 4279-4284.
10. Baulieu EE. Dehydroepiandrosterone (DHEA): fountain of youth? *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 3147-3151.
11. Beer NA, Jakubowicz DJ, Matt DW, Beer RM, Nestler JE. Dehydroepiandrosterone reduces plasma plasminogen activator inhibitor type 1 and tissue plasminogen activator antigen in men. *Am J Med Sci* 1996; 311(5): 205-210.
12. Behre HM, Bohmeyer J, Nieschlag E. Prostate volume in testosterone-treated and untreated hypogonadal men in comparison to age-matched normal controls. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1994; 40 :341-349.
13. Bird CE, Murphy J, Boroomand K, Finnis W, Dressel D, Clark AF. Dehydroepiandrosterone: kinetics of metabolism in normal men and women. *J Clin Endocrinol Metab* 1976; 47: 818-822.
14. Bird CH, Masters V, Clark AF. Dehydroepiandrosterone sulfate: kinetics of metabolism in normal young men and women. *Clin Invest Med* 1984; 7: 119-122.
15. Casson PR, Andersen RN, Herrod HG, Stentz FB, Straughn AB, Abraham GE, Buster JE. Oral dehydroepiandrosterone in physiologic doses modulates immune function in postmenopausal women. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169: 1536-1539.

16. Chang DM, Lan JL, Lin HY, Luo SF. Dehydroepiandrosterone treatment of women with mild-to-moderate systemic lupus erythematosus: a multicenter randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum* 2002; 46(11): 2924-2927.
17. Compagnone NA, Mellon SH. Dehydroepiandrosterone: a potential signalling molecule for neocortical organization during development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 4678-83.
18. Curran MJ, Bihrlle W 3rd. Dramatic rise in prostate-specific antigen after androgen replacement in a hypogonadal man with occult adenocarcinoma of the prostate. *Urology*. 1999; 53: 423-424.
19. Cutler Jr GB, Glenn M, Bush M, Hodgen GD, Graham CE, Loriaux DL. Adrenarche: a survey of rodents, domestic animals, and primates. *Endocrinology* 1978; 103: 2112–2118.
20. Derksen RH. Dehydroepiandrosterone (DHEA) and systemic lupus erythematosus. *Semin Arthritis Rheum* 1998; 27: 335-347.
21. Ebeling P, Koivisto VA. Physiological importance of dehydroepiandrosterone. *Lancet* 1994; 343: 1479-1481.
22. Feldman HA, Goldstein I, Hatzichristou DG, Krane RJ, McKinlay JB. Impotence and its medical and psychosocial correlates: results of the Massachusetts Male Aging Study. *J Urol* 1994; 151: 54-61.
23. Feldman HA, Johannes CB, McInlay JB, Longcope C. Low dehydroepiandrosterone sulfate and heart disease in middle-aged men: cross-sectional results from the Massachusetts Male Aging Study. *Ann Epidemiol* 1998; 8: 217-228.

24. Finkelstein JS, Klibanski A. Effects of androgens on bone metabolism. In: Nieschlag EB, Behre HM, eds. Testosterone: action, deficiency, substitution. Berlin, Germany: Springer-Verlag, 1990: 204-18.
25. Flynn MA, Weaver-Osterholtz D, Sharpe-Timms KL, Allen S, Krause G. Dehydroepiandrosterone replacement in aging humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:1527-1533.
26. Formiga F, Moga I, Nolla JM, Navarro MA, Bonnin R, Roigescotet D. The association of dehydroepiandrosterone sulphate levels with bone mineral density in systemic lupus erythematosus. *Clinical and Experimental Rheumatology* 1997;15: 387–392.
27. Frye RF, Kroboth PD, Kroboth FJ, Stone RA, Folan M, Salek FS, et al. Sex differences in the pharmacokinetics of dehydroepiandrosterone (DHEA) after single- and multiple-dose administration in healthy older adults. *J Clin Pharmacol* 2000; 40: 596-605.
28. Gooren LJ. A ten-year safety study of the oral androgen testosterone undecanoate. *J Androl.* 1994; 15 :212-215.
29. Gooren LJ. Androgen levels and sex functions in testosterone-treated hypogonadal men. *Arch Sex Behav* 1987;16: 463-473.
30. Griffiths K. Proceedings: Hormones and the prostate. *Br J Cancer.* 1974 ; 30: 187-188.
31. Hair WM, Wu FC, Lincoln GA. An investigation of the effectiveness of testosterone implants in combination with the prolactin inhibitor quinagolide in the suppression of spermatogenesis in men. *Hum Reprod.* 2003; 18: 749-755.
32. Hak AE, Witteman JC, de Jong FH, Geerlings MI, Hofman A, Pols HA. Low levels of endogenous androgens increase the risk of atherosclerosis in

- elderly men: the Rotterdam study. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:3632-3639.
33. Herbert J. The age of dehydroepiandrosterone. *Lancet* 1995; 345: 1193-1194.
34. Hildebrand F, Pape HC, Hoevel P, Krettek C, van Griensven M. The importance of systemic cytokines in the pathogenesis of polymicrobial sepsis and dehydroepiandrosterone treatment in a rodent model. *Shock* 2003; 20: 338-346.
35. Hinson JP, Raven PW. DHEA deficiency syndrome: a new term for old age? *J Endocrinol* 1999; 163: 1-5.
36. Hofbauer LC, Allolio B, Wiebke A. Dehydroepiandrosterone supplementation in elderly men: the role of estrogens versus androgens on the male skeleton. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 4009-4014.
37. Holmang S, Marin P, Lindstedt G, Hedelin H. Effect of long-term oral testosterone undecanoate treatment on prostate volume and serum prostate-specific antigen concentration in eugonadal middle-aged men. *Prostate*. 1993; 23: 99-106.
38. Hornsby, PJ. DHEA: A biologist's perspective. *J Am Geriatr Soc* 1997; 45: 1395-1401.
39. Huggins CB, Stevens RB, Hodges CV. The effects of castration on advanced carcinoma of the prostate gland. *Arch Surg* 1941; 43: 209-214.
40. Jabbour HN, Kelly PA. Prolactin receptor subtypes: a possible mode of tissue specific regulation of prolactin function. *Rev Reprod*. 1997; 2: 14-18.
41. Jakubowicz D, Beer N, Rengifo R. Effect of dehydroepiandrosterone on cyclic guanosine monophosphate in men of advancing age. *Ann N Y Acad Sci* 1995; 774: 312-315.

42. Jansson JH, Nilsson TK, Johnson O. von Willebrand factor, tissue plasminogen activator and dehydroepiandrosterone sulphate predict cardiovascular death in a 10 year follow up of survivors of acute myocardial infarction. *Heart* 1998; 80: 334–337.
43. Jedrzejuk D, Medras M, Milewicz A, Demissie M. Dehydroepiandrosterone replacement in healthy men with age-related decline of DHEA-S: effects on fat distribution, insulin sensitivity and lipid metabolism. *Aging Male*. 2003; 6:151-156.
44. Jesse RL, Loesser K, Eich DM, Qian YZ, Hess ML, Nestler JE. Dehydroepiandrosterone inhibits human platelet aggregation in vitro and in vivo. *Ann N Y Acad Sci* 1995; 774: 281-290.
45. Kalmijn S, Launer LJ, Stolk RP, deJong FH, Pols HAP, Hofman A, Breteler MMB, Lamberts SWJ. A prospective study on cortisol, dehydroepiandrosterone sulfate and cognitive function in the elderly. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 3487–3492.
46. Kawano H, Yasue H, Kitagawa A, Hirai N, Yoshida T, Soejima H, Miyamoto S, Nakano M, Ogawa H. Dehydroepiandrosterone supplementation improves endothelial function and insulin sensitivity in men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003; 88: 3190-3195.
47. Kenny AM, Prestwood KM, Gruman CA, Marcello KM, Raisz LG. Effects of transdermal testosterone on bone and muscle in older men with low bioavailable testosterone levels. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2001; 56: M266-272.
48. Khorram O, Vu i, Yen SS. Activation of immune function by dehydroepiandrosterone (DHEA) in age-advanced men. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 1997; 52(1): M1-7.

49. Kiechl S, Willeit J, Bonora E, Schwarz S, Xu Q. No association between dehydroepiandrosterone sulfate and development of atherosclerosis in a prospective population study (Bruneck study). *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 1094-1100.
50. Krieg M, Nass R, Tunn S. Effect of aging on endogenous level of 5 α -dihydrotestosterone, testosterone, estradiol, and estrone in epithelium and stroma of normal and hyperplastic human prostate. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77: 375-381.
51. Kroboth PD, Salek FS, Pittenger AL, Fabian TJ, Frye RF. DHEA and DHEA-S: a review. *J Clin Pharmacol* 1999; 39: 327-348.
52. Labrie F, Belanger A, Cusan L, Candas B. Physiological changes in dehydroepiandrosterone are not reflected by serum levels of active androgens or estrogens but their metabolites: intracrinology. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 2403-2409.
53. Lahita RG. Dehydroepiandrosterone (DHEA) for serious disease, a possibility? *Lupus* 1999; 8:169-170.
54. Lepor H, Nieder A, Feser J, O'Connell C, Dixon C. Total prostate and transition zone volumes, and transition zone index are poorly correlated with objective measures of clinical benign prostatic hyperplasia. *J Urol*. 1997; 158 :85-88.
55. Liu D, Dillon JS. Dehydroepiandrosterone activates endothelial cell nitric-oxide synthase by a specific plasma membrane receptor coupled to Galpha(i2,3). *J Biol Chem*. 2002; 277: 21379-21388.
56. Longcope C. Dehydroepiandrosterone metabolism. *J Endocrinol* 1996; 150(suppl): S125-127.

57. Marcelli M, Cunningham GR. Hormonal signaling in prostatic hyperplasia and neoplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 3463-3468.
58. McKenna TJ, Cunningham SK. The control of adrenal androgen secretion. *J Endocrinol* 1991; 129(1):1-3.
59. Meikle AW, Dorchuck RW, Araneo BA, Stringham JD, Evans TG, Spruance SL, Daynes RA. The presence of a dehydroepiandrosterone-specific receptor binding complex in murine T cells. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 1992 ;42: 293-304.
60. Migeon CJ, Keller AR, Lawrence B, Shepard TH 2nd. Dehydroepiandrosterone and androsterone levels in human plasma. Effect of age and sex, day-to-day and diurnal variations. *J Clin Endocrinol Metab* 1957; 17: 1051-1062.
61. Miller, RA. DHEA- Brass ring or red herring? *J Am Geriatr Soc* 1997; 45(11): 1402-1403.
62. Morales A, Heaton JP, Carson CC 3rd. Andropause: a misnomer for a true clinical entity. *J Urol* 2000; 163(3): 705-712.
63. Morales A, Heaton JP. Hypogonadism and erectile dysfunction: pathophysiological observations and therapeutic outcomes. *BJU Int* 2003; 92(9): 896-899.
64. Morales AJ, Nolan JJ, Nelson JC, Yen SS. Effects of replacement dose of dehydroepiandrosterone in men and women of advancing age. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78(6):1360-1367.
65. Mulhall JP, Valenzuela R, Aviv N, Parker M. Effect of testosterone supplementation on sexual function in hypogonadal men with erectile dysfunction. *Urology* 2004; 63: 348-352.

66. Nippoldt TB, Nair KS. Is there a case for DHEA replacement? *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 1998; 12(3): 507-20.
67. Okabe T, Haji M, Takayanagi R, Adachi M, Imasaki K, Kurimoto F, Watanabe T, Nawata H. Up-regulation of high-affinity dehydroepiandrosterone binding activity by dehydroepiandrosterone in activated human T lymphocytes. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995; 80: 2993-2996.
68. Orentreich N, Brind JL, Vogelman JH, Andres R, Baldwin H. Long-term longitudinal measurements of plasma dehydroepiandrosterone sulfate in normal men. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75(4): 1002-1004.
69. Parker LN, Odell WD. Control of adrenal androgen secretion. *Endocrine Reviews* 1980; 1: 392–410.
70. Pechersky AV, Mazurov VI, Semiglazov VF, Karpischenko AI, Mikhailichenko VV, Udintsev AV. Androgen administration in middle-aged and ageing men: effects of oral testosterone undecanoate on dihydrotestosterone, oestradiol and prostate volume. *Int J Androl* 2002; 25: 119-125.
71. Percheron G, Hogrel JY, Denot-Ledunois S, Fayet G, Forette F, Baulieu EE, et al. Effect of 1-year oral administration of dehydroepiandrosterone to 60- to 80-year-old individuals on muscle function and cross-sectional area: a double-blind placebo-controlled trial. *Arch Intern Med*. 2003; 163:720-727.
72. Piketty C, Jayle D, Lepage A, Castiel P, Ecosse E, Gonzalez-Canali G, et al. Double-blind placebo-controlled trial of oral dehydroepiandrosterone in patients with advanced HIV disease. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2001; 55(3): 325-330.

73. Poortman J, Andriess R, Agema A et al. Adrenal androgen secretion and metabolism in post-menopausal women. In: Genazzani AR, Thijssen JH, Siiteri PK, eds. Adrenal androgens. New York: Raven; 1980: 219-240.
74. Rabkin JG, Ferrando SJ, Wagner GJ, Rabkin R. DHEA treatment for HIV+ patients: effects on mood, androgenic and anabolic parameters. *Psychoneuroendocrinology* 2000; 25(1):53-68.
75. Ravaglia G, Forti P, Maioli F, Boschi F, DeRonchi D, Bernardi M, et al. Dehydroepiandrosterone sulphate and dementia. *Archives of Gerontology and Geriatrics* 1998; S6: 423–426.
76. Reiter WJ, Pycha A, Schatzl G et al. Serum dehydroepiandrosterone sulfate concentrations in men with erectile dysfunction. *Urology*. 2000; 55:755-8.
77. Reiter WJ, Pycha A, Schatzl G, Pokorny A, Gruber DM, Huber JC, Marberger M. Dehydroepiandrosterone in the treatment of erectile dysfunction: a prospective, double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Urology* 1999; 53(3): 590-594.
78. Rhoden EL, Morgentaler A. Risks of testosterone-replacement therapy and recommendations for monitoring. *N Engl J Med*. 2004; 350 :482-492.
79. Robel P, Baulieu EE. Dehydroepiandrosterone (DHEA) is a neuroactive neurosteroid. *Ann N Y Acad Sci* 1995; 774: 82-110.
80. Roberts E, Bologna L, Flood JF, Smith GE. Effects of dehydroepiandrosterone and its sulfate on brain tissue in culture and on memory in mice. *Brain Res* 1987; 406: 357-362.
81. Robinson B, Cutolo M. Should dehydro-epiandrosterone replacement therapy be provided with glucocorticoids? *Rheumatology (Oxford)* 1999; 38: 488-495.

82. Schiller CD, Schneider MR, Hartmann H, Graf AH, Klocker H, Bartsch G. Growth-stimulating effect of adrenal androgens on the R3327 Dunning prostatic carcinoma. *Urol Res* 1991; 19(1): 7-13.
83. Snyder PJ, Peachey H, Berlin JA, Hannoush P, Haddad G, Dlewati A, et al. Effects of testosterone replacement in hypogonadal men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000; 85: 2670-2677.
84. Straub RH, Konecna L, Hrach S, Rothe G, Kreutz M, Scholmerich J, Falk W, Lang B. Serum dehydroepiandrosterone (DHEA) and DHEA sulfate are negatively correlated with serum interleukin-6 (IL-6), and DHEA inhibits IL-6 secretion from mononuclear cells in man in vitro: possible link between endocrinosenescence and immunosenescence. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998; 83(6): 2012-2017.
85. Svec F, Porter JR. The actions of exogenous dehydroepiandrosterone in experimental animals and humans. *Proc Soc Exp Biol Med* 1998; 218(3): 174-191.
86. Tenover JS. Effects of testosterone supplementation in the aging male. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75(4): 1092-1098.
87. Terris MK, Afzal N, Kabalin JN. Correlation of transrectal ultrasound measurements of prostate and transition zone size with symptom score, bother score, urinary flow rate, and post-void residual volume. *Urology.* 1998; 52 :462-466.
88. vanVollenhoven RF. Dehydroepiandrosterone for the treatment of systemic lupus erythematosus. *Expert Opin Pharmacother* 2002; 3(1):23-31.
89. Wang C, Leung A, Superlano L, Steiner B, Swerdloff RS. Oligozoospermia induced by exogenous testosterone is associated with normal functioning residual spermatozoa. *Fertil Steril* 1997; 68(1): 149-53.

90. Wang C, Swedloff RS, Iranmanesh A, Dobs A, Snyder PJ, Cunningham G, et al. Transdermal testosterone gel improves sexual function, mood, muscle strength, and body composition parameters in hypogonadal men. Testosterone Gel Study Group. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000; 85 :2839-2853.
91. Wang C, Swedloff RS. Male Contraception. *Best Pract Res Clin Obstet Gynecol* 2002; 16(2): 193-203.
92. Wendel EF, Brannen GE, Putong PB, Grayhack JT. The effect of orchiectomy and estrogens of benign prostatic hyperplasia. *J Urol.* 1972; 108 :116-119.
93. Wolf OT, Neumann O, Hellhammer DH, Geiben AC, Strasburger CJ, Dressendorfer RA, et al. Effects of two week physiological dehydroepiandrosterone substitution on cognitive performance and well-being in healthy elderly women and men. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82(7): 2363-2367.
94. Wolkowitz OM, Kramer JH, Reus VI, Costa MM, Yaffe K, Walton P, et al (DHEA-Alzheimer's Disease Collaborative Research). DHEA treatment of Alzheimer's disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Neurology* 2003; 8;60(7): 1071-1076.
95. Yaffe K, Ettinger B, Pressman A, Seeley D, Whooley M, Schaefer C, Cummings S. Neuropsychiatric function and dehydroepiandrosterone sulfate in elderly women: a prospective study. *Biological Psychiatry* 1998; 43: 694–700.
96. Young NR, Baker HWG, Liu G, Seeman E. Body composition and muscle strength in healthy men receiving testosterone enanthate for contraception. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77: 1028-1032.

97. Zmuda JM, Fahrenbach MC, Younkin BT, Bausserman LL, Terry RB, Catlin DH, Thompson PD. The effect of testosterone aromatization on high-density lipoprotein cholesterol level and postheparin lipolytic activity. *Metabolism* 1993; 42: 446-450.
98. Zumoff BV, Bradlow HL. Sex difference in the metabolism of dehydroepiandrosterone sulfate. *J Clin Endocrinol Metab* 1980; 51: 334-336.

ARTIGO EM INGLÊS (I)

**EFFECTS OF CHRONIC ADMINISTRATION OF
DEHYDROEPIANDROSTERONE (DHEA) ON SERUM
TESTOSTERONE LEVELS AND PROSTATIC TISSUE IN RATS.**

Ernani Luis Rhoden, MD. (1), Daniel Gobbi, MD. (2), Claudia Ramos Rhoden, PhD (3), Eduardo Menti, MD. (4), Adriane Nial Roehe, MD. (5), Antonio Hartmann, MD. (6), Abraham Morgentaler, MD. (7)

From Postgraduate course of Medical Sciences of Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Postgraduate course in Medical Sciences and Experimental Pathology of Federal Foundation of Medical Sciences of Porto Alegre (FFFCMPA), Brazil, and Harvard Medical School, Boston, Massachusetts, USA.

1. Research Fellow in Urology, Harvard Medical School, Postgraduate course in Medical Clinic, UFRGS.
2. Postgraduate course in Medical Clinic, UFRGS.
3. Adjunct Professor in Pharmacology FFFCMPA
4. Postgraduate course in Pathology, FFFCMPA.
5. Postgraduate course in Pathology, FFFCMPA.
6. Postgraduate course in Pathology, FFFCMPA.
7. Associate Professor Urology, Harvard Medical School, Boston, USA

ABSTRACT

Purpose: To evaluate the effects of chronic administration of dehydroepiandrosterone (DHEA) on serum total testosterone and DHEA sulfate (DHEAS), and on prostatic weight and histologic features in the rat.

Materials and Methods: Wistar rats were divided into two groups. The first group (n=9) received saline solution orally once daily during 5 days of the week for 10 months and the second group (n=15) received 5mg/Kg/day of DHEA suspension, orally, in the same pattern.

Results: At the end of the 10-month study period total testosterone levels were higher in the DHEA group compared to controls (2.0 ± 0.4 vs. 0.8 ± 0.2 ; $p < 0.0001$) and DHEAS levels were also greater in the treated group when compared to placebo (222.1 ± 41.5 vs. 2.0 ± 0.3 ; $p < 0.0001$). The weights of prostate, testis and body did not differ between groups ($p > 0.05$). No differences between the two groups were noted regard to degree of hyperplasia or atrophy, papillary component, or stromal/gland ratio ($p > 0.05$).

Conclusions: Oral ingestion of DHEA on a chronic basis in the rat increases serum DHEAS and total testosterone without any evident change in prostate weight or histology.

INTRODUCTION

The recent extensive biomedical and lay public interest in dehydroepiandrosterone (DHEA) stems from the frequent suggestion that the marked age-related decline in the plasma level of dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS) in humans amounts to the development of a deficiency state for this hormone (1,2). Thus it has been proposed that replacement therapy with DHEA to restore youthful levels of DHEAS in older individuals might have beneficial effects on a variety of age-related conditions, such as cardiovascular and neoplastic diseases, diabetes, immune dysfunction, muscular weakness, depression and erectile dysfunction (1,3).

Several modes of action of DHEA are possible. The most likely is that DHEAS and DHEA serve as a source of active androgens in some subset of androgen-responsive tissues (1). Androgens are known to have many important physiological actions, including effects on muscle, bone, central nervous system, prostate and sexual functions (4,5).

These steroids are often referred to as adrenal androgens, although this term is also used to refer to another steroid, androstenedione, which is also secreted by the adrenal cortex under some circumstances and which may be converted to testosterone in target tissues. However, androstenedione is secreted in large amounts only when there is a genetic deficiency of 21-hydroxylase (1). DHEA serves as a precursor for androstenedione in peripheral tissues, and excess DHEA production by the adrenals also results in hyperandrogenization (1,2). DHEA has been promoted as a multifunctional steroid with protective roles in many aspects of cellular well-being, especially aging-associated deficits (3).

However, it is a new drug with incompletely understood effects on androgen-dependent organs and tissues.

The aim of this study was to assess the effects of chronic use of DHEA on serum levels of total testosterone and dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS), as well as on prostatic weight and histology in normal aging rats.

MATERIALS AND METHODS

Four-month-old Wistar rats from the Department of Pharmacology and Toxicology at Fundação Faculdade Federal of Ciências Médicas of Porto Alegre, Brazil were selected.

The animals were treated in accordance with the animal Welfare Act and the Normal Institutes of Health guidelines for the care and use of laboratory animals. All experiments were approved by the institutional animal care and use committee (CPA- Animal Committee Protection of FFFCMPA).

All animals were kept in the same room with constant temperature ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$) and light (from 7:00 to 19:00 h), red food pellets (Nutripal, Porto Alegre, Brazil) and potable water *ad libitum*. The animals were housed in plastic cages (47x18x40 cm, four animals per cage).

The animals were divided into two groups: Group 1 (n=9) rats which received 2mL of saline solution orally once daily during 5 days of the week for 10 months and Group 2 (n=15) rats which received 5 mg/kg of Dehydroepiandrosterone (Sigma, USA) suspension, prepared in saline solution, orally, once daily, during 5 days of the week over the same time period. This dose

is higher than the standard human dose since the hepatic metabolism activity is around 10 times higher in rats than in humans beings. At the end of 10 months of treatment the rats were anaesthetized with 1:1 of ketamine (25 mg/Kg, i.p.) and xylazine (10mg/kg,i.p.) (König, Avellaneda, Argentina) solution and samples of blood were obtained by puncture of the retroocular vascular plexus, by capillary tubes, and the blood obtained was immediately centrifuged and frozen. A midline incision was performed at the same time and the prostate was carefully dissected and removed and, immediately weighed.

Total testosterone and dehydroepiandrosterone sulfate were measured by radioimmunoassay techniques utilizing ImmuChem TM Coated Tube Kits (ICN Pharmaceuticals, Inc. Diagnosis Division, Costa Mesa, California, 92626). The prostate glands were fixed in formalin, and stained using hematoxylin-eosin, and evaluated by a single pathologist who was blinded to the treatment the animal received. Three randomized power fields (200X) were analyzed and graded on a scale of 1-3. The histologic features analyzed and quantified were degree of atrophy, papillary component, degree of hyperplasia and the stroma/gland ratio.

Statistical analyses were performed by Student t-test for the serum analyses and Kruskal-Wallis followed by Dunn test was used for the histologic data. A p value <0.05 was considered significant.

RESULTS

Serum analysis

Table 1 shows the serum level of DHEAS and total testosterone in the rats treated and not treated with DHEA daily. The chronic use of DHEA increased the serum level of DHEAS when compared to the placebo group (222.1 ± 41.5 vs. 2.0 ± 0.3 mg/dl; $p < 0.0001$). Testosterone levels in the DHEA group were 2.5 times higher than controls (2.0 ± 0.4 vs. 0.8 ± 0.2 mg/dl; $p < 0.0001$).

Body, prostate and testes weight

The body, prostate and testis weights in the two groups are shown in Table 2. Body weights at the end of the study were similar between the group of rats that received placebo and the rats treated with DHEA (397.2 ± 45.6 vs. 386.7 ± 39.7 g; $p > 0.05$). Also, no significant differences were observed between the mean prostate weight in the two groups (0.75 ± 0.1 vs. 0.81 ± 0.0 ; $p > 0.05$). Testicular weights, from the right and left sides were similar in both groups ($p > 0.05$).

Histopathologic Study

No significant differences were noted between groups with regard to degree of atrophy, papillary component, degree of hyperplasia, and stroma/gland ratio ($p > 0.05$). The results of this analyze are shown in Table 3.

DISCUSSION

Adrenal androgens are produced in humans in abundant quantities, approximately 20 to 30mg per day, which is 10 times the daily production of cortisol. This pattern of production is rather unique to primates, including humans. Laboratory animals such as rats and rabbits do not produce adrenal androgens to any great extent, certainly not in the quantities produced by humans. In spite of the high levels observed in humans, it has been difficult to establish a well-defined biological function of the adrenal androgens DHEA and DHEAS (6).

This difficulty arises in part because DHEA and DHEAS can interact with different classes of hormone receptors and undergo conversion to other sex steroids such as testosterone, estrone, and estradiol in local tissues as a pre-hormone. They appear to have no direct hormonal effects by themselves, since they lack specific receptors, which are a prerequisite for hormonal effects (7).

In 1994 the Massachusetts Male Aging Study presented an inverse correlation between serum levels of DHEA and the incidence of erectile dysfunction, whereas the other 16 hormones measured in the same study did not show any significant relationship (8,9). These results and others (10,11,12,13) suggest a possible physiologic role for DHEA and DHEAS. In the present experimental study in rats we observed that chronic DHEA administration in low doses produced a significant increase in serum levels of total testosterone. This observation suggests that DHEA may have important biologic effects via its conversion to other androgens.

DHEAS is believed to have no specific effects, but constitutes a large plasma reservoir of DHEA, since the 2 hormones are freely interconverted by

extra-adrenal sulphotransferase and sulphatase activity (7). DHEA has a pulsatile pattern of secretion and a circadian rhythm, whereas DHEAS does not follow such variations and is closely correlated to the mean level of serum DHEA. For this reason, the more stable DHEAS levels are preferred clinically and in laboratory studies (7).

In the present study, the increase of DHEAS and total testosterone was approximately 110 and 2.5 times greater, respectively, in rats treated with DHEA compared to the control group. This discrepancy can be explained by the fact that DHEAS is the stable form of DHEA acting as a reservoir form of this androgen, and only a small amount is converted to testosterone. This supports the concept that DHEA acts as a weak androgen in males.

Clinical studies (3, 10, 14, 15) have shown limited androgenic effects of DHEA. Arlt et al (10) observed that the administration of DHEA at 50mg/day and 100 mg/day for 6 weeks or longer did not change serum levels of total testosterone and DHT but did increase free testosterone levels as well as estrone and estradiol. Labrie et al (17), observed that a daily topical application of a DHEA solution over 2 months failed to alter serum levels of testosterone, DHT, estrone and estradiol, but metabolites of these androgens and estrogens increased significantly. Moreover, Reiter et al (14) could not find significant differences regarding serum levels of testosterone in a group of men treated with 50 mg/day of DHEA or placebo.

Perhaps the greatest concern among clinicians regarding the use of oral DHEA is the fear of causing or promoting prostate cancer and or hyperplasia. This fear is linked on the widespread knowledge that the prostate is a hormonally responsive gland (14, 16). It has been recognized that testosterone is the principal circulating androgen secreted by the testis. However, dihydrotestosterone (DHT) is

the predominant androgen bound to the androgen receptor in the nuclei of target cells in the prostate (17). The paradox related to the prostate growth in older men just when the plasma levels of testosterone are undergoing a progressive and gradual reduction can be partially explained by the fact that not only plasma testosterone but bioactive metabolites of testosterone, notably DHT (via 5 α reduction) and or estradiol (via aromatization) either in the circulation and or locally produced, within the prostate, probably have a important role in the prostatic physiology. Alternatively, changes in prostatic sensitivity to androgens and or estrogens may be involved (18).

The lack of effects observed in the present study regarding the weight and histology of the prostate, as well as testis weight, by the chronic administration of DHEA is reassuring, and may be explained by a weak androgenic effect of DHEA.

These aspects can be supported by clinical studies such as performed recently by Reiter et al., (18), where 50 mg daily DHEA treatment, did not produce modifications on prostate volume, post void residual or serum levels of PSA. The same considerations regarding the lack of effects of by the administration of DHEA during three months on voiding symptoms were observed by Flynn et al (19). Moreover, Shiller et al (20) observed in experimental studies in rats that adrenal androgens such as DHEA, DHEAS and hydroxyandrostenedione caused only a slight increase of prostate and seminal vesicle weight. However, in the same study, experimental prostate cancer was significantly stimulated by these androgens suggesting a potential increase of intraprostatic levels of dihydrotestosterone.

In summary, our results show that DHEA administration can produce increased serum levels of DHEAS and total testosterone without alterations in prostate weight and histology in the rat.

REFERENCES

1. Hornsby, P.J.: DHEA: A biologist's perspective. *J Am Geriatr Soc*, 45(11): 1395, 1997.
2. Miller, R.A. : DHEA- Brass ring or red herring? *J Am Geriatr Soc*, 45(11): 1402, 1997.
3. Morales, A .J., Nolan, J.J., Nelson, J.C., Yen, S.S.C.: Effects of replacement dose of dehydroepiandrosterone in men and women of advancing age. *J Clin Endocrinol Metab*, 78:1360, 1994.
4. Herbert, J.: The age of dehydroepiandrosterone. *Lancet*, 345:1193, 1995.
5. Hofbauer, L.C., Allolio, B., Wiebke, A.: Dehydroepiandrosterone supplementation in elderly men: the role of estrogens versus androgens on the male skeleton. *J Clin Endocrinol Metab*, 87(8):4009, 2002.
6. Kroboth, P.D., Salek, F.S., Pittenger, A .L., et al.: DHEA and DHEA-S: a review. *J Clin Pharmacol*, 39:327, 1999.
7. Hinson, J.P., Raven, P.W. : DHEA deficiency syndrome: a new term for old age? *J Endocrinol*, 163:1, 1999.
8. Ebeling, P., Koivisto, V.A .: Physiological importance of dehydroepiandrosterone. *Lancet*, 343: 1479, 1994.
9. Feldman, H.Á ., Goldstein, I., Hatzichristou, D.G., et al.: Impotence and its medical and psychosocial correlates: results of the Massachusetts Male Aging Study. *J Urol*, 151:54, 1994.
10. Arlt, W., Haas, J., Callies, F., et al.: Biotransformation of oral dehydroepiandrosterone supplementation in elderly men: significant increase in circulating testosterone. *J Clin Endocrinol Metabol*, 84: 2170, 1999.

11. Svec, F., Porter, J.R.: The actions of exogenous dehydroepiandrosterone in experimental animals and humans. *Procc Soc Exp Biol Med*, 218(3):174, 1998.
12. Kroboth, P.D., Salek, F.S., Pittenger, A .L., et al.: DHEA and DHEAS: a review. *J Clin Pharmacol*, 39:327,1999.
13. Nippoldt, T.B., Nair, K.S. Is there a case for DHEA replacement? *Bailliere's Clin Endocrinol Metab*, 12:507, 1998.
14. Reiter, W.J., Pycha, A ., Schatzl, G., et al.: Dehydroepiandrosterone in the treatment of erectile dysfunction: a prospective, double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Urology*, 53(3): 590, 1999.
15. Labrie, F., Belanger, A., Cusan, L., et al.: Physiological changes in dehydroepiandrosterone are not reflected by serum levels of active androgens or estrogens but their metabolites: intracrinology. *J Clin Endocrinol Metab*, 82:2403,1997.
16. Huggins, C.B., Stevens, R.B., Hodges, C.V. :The effects of castration on advanced carcinoma of the prostate gland. *Arch Surg*, 43:209,1941.
17. Marcelli, M., Cunningam, G.R.: Hormonal signaling in prostatic hyperplasia and neoplasia. *J Clin Endocrinol Metab*, 84(10):3463,1999.
18. Pechersky, A .V., Mazurov, V.I., Semiglav, V.F. et al.: Androgen administration in middle-aged and ageing men: effects of oral testosterone undecanoate on dehydrotestosterone, oestradiol and prostate volume. *Int J Androl*, 25:119, 2002.
19. Flynn, M.A., Weaver-Osterholtz, D., Sharpe-Timms, K.L., et al.: Dehydroepiandrosterone replacement in aging humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 84(5):1527, 1999.

20. Schiller, C.D., Schneider, M.R., Hartmann, H., et al.: Growth-stimulating effect of adrenal androgens on the R3327 Dunning prostatic carcinoma. *Urol Res*, 19(1):7, 1991.

Table 1: Serum levels of dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS) in rats submitted to chronic treatment with dehydroepiandrosterone and placebo.

Groups	Serum DHEAS (mg/dl) (X ± DP)	Serum Total Testosterone (mg/dl) (X ± DP)
Control (n=9)	2,0 ± 0,30	0,80 ± 0,2
DHEA (n=15)	222,1 ± 41,5*	2,06 ± 0,4*

*Group 1 vs. Group 2, $p < 0.0001$ (Student t-test)

Table 2: Prostate weight from rats submitted to a chronic treatment with dehydroepiandrosterone and placebo.

	Control (X ± DP)	DHEA (X ± DP)
weight (g)		
Body	397,2 ± 45,6	386,7 ± 39,7
Prostate	0,75 ± 0,1	0,81 ± 0,0
Right testis	1,59 ± 0,4	1,58 ± 0,2
Left testis	1,57 ± 0,3	1,55 ± 0,3

p>0.05 for all comparisons between groups

Table 3: Prostatic histology from rats submitted to a chronic treatment with dehydroepiandrosterone and placebo.

Groups	Prostatic Histology			
	Stroma/gland proportion (X±SD)	Papillary component (X±SD)	Atrophy degree (X±SD)	hyperplasia degree (X±SD)
Groups 1: Control (n=9)	1.25 ± 0.1	1.2 ± 0.2	1.0 ± 0.0	1.40 ± 0.2
Group 2: DHEA (n=15)	1.22 ± 0.0	1.56 ± 0.1	1.0 ± 0.0	1.18 ± 0.1

p>0.05 for all comparisons between groups

ARTIGO EM PORTUGUÊS (I)

EFEITOS DO USO CRÔNICO DA DEHIDROEPIANDROSTERONA SOBRE OS NÍVEIS SÉRICOS DE TESTOSTERONA E TECIDO PROSTÁTICO EM RATOS.

Ernani Luis Rhoden, MD. (1), Daniel Gobbi, MD. (2), Claudia Ramos Rhoden, PhD (3), Eduardo Menti, MD. (4), Adriane Nial Roehe, MD. (5), Antonio Hartmann, MD. (6), Abraham Morgentaler, MD. (7)

Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas e Patologia Experimental da Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre (FFFCMPA), Brasil, e *Harvard Medical School, Boston, Massachusetts, EUA.*

1. *Research Fellow* em Urologia, Curso de Pós-Graduação da *Harvard Medical School*, Curso de Pós-Graduação em Ciências Médicas, UFRGS.
2. Curso de Pós-Graduação em Ciências Médicas, UFRGS.
3. Professora Adjunta em Farmacologia, FFFCMPA.
4. Acadêmico do Curso de Medicina, FFFCMPA.
5. Curso de Pós-Graduação em Patologia, FFFCMPA.
6. Professor Adjunto em Patologia, FFFCMPA.
7. Professor Associado de Urologia, *Harvard Medical School, Boston, EUA.*

RESUMO

Objetivo: Avaliar os efeitos da administração crônica da dehidroepiandrosterona (DHEA) sobre os níveis séricos da testosterona total e do sulfato de DHEA, peso e histologia prostática em ratos.

Materiais e Métodos: Ratos machos Wistar foram divididos em dois grupos. O grupo 1 (n=9) foi de ratos que receberam placebo (solução salina), durante 5 dias consecutivos da semana por um período de 10 meses, e o grupo 2 (n=15) foi de ratos que receberam 5mg/kg/dia de DHEA em suspensão oral administrado da mesma forma do grupo 1.

Resultados: Ao final do período de 10 meses de estudo, concentrações mais altas de testosterona total ($2,06 \pm 0,4$ versus $0,80 \pm 0,2$; $p < 0,05$) e de SDHEA ($222,1 \pm 41,5$ versus $2,0 \pm 0,3$; $p < 0,05$) foram observadas no grupo tratado com DHEA quando comparado com o grupo controle. O peso corporal e da próstata, não apresentou diferença entre os grupos ($p > 0,05$). Não foram observadas diferenças na histologia prostática entre os dois grupos com relação ao grau de hiperplasia, atrofia, componente papilar e relação estroma-glandular ($p > 0,05$).

Conclusões: A ingestão oral crônica da DHEA em ratos, aumenta os níveis séricos do SDHEA e da testosterona total, sem qualquer evidencia de alteração com relação ao peso e histologia prostática.

INTRODUÇÃO

O recente interesse biomédico científico e público com relação à dehidroepiandrosterona (DHEA), foi impulsionada, em grande parte, pelas freqüentes evidências publicadas nos últimos anos, que sugerem um marcado declínio dos níveis plasmáticos do sulfato de dehidroepiandrosterona (SDHEA) relacionado à idade. Estes achados motivam a hipótese de que o declínio hormonal determina um estado de deficiência hormonal verdadeiro, podendo representar algo significativo em pacientes com idade avançada [1,2]. Por estas razões, tem sido proposto que a terapia de reposição hormonal com DHEA para restaurar níveis plasmáticos basais do SDHEA em homens mais idosos, possa ter uma série de benefícios em condições relacionadas com a idade, como: doenças cardiovasculares, diabetes, disfunções imunológicas, depressão, doenças neoplásicas, disfunções músculo-esqueléticas e disfunção erétil [1,3].

Muitos mecanismos de ação da DHEA são possíveis, porém o mais plausível é o de que a DHEA e o SDHEA atuem como precursores de andrógenos ativos, desempenhando papéis importantes em tecidos andrógenos-responsivos [1]. Os andrógenos são conhecidos por desempenharem uma série de ações, incluindo efeitos nos músculos, ossos, sistema nervoso central, próstata e funções sexuais [4,5].

A DHEA e o SDHEA são comumente referidos como andrógenos adrenais, por serem esteróides sintetizados no córtex adrenal, embora este termo também seja freqüentemente usado para denominar outro esteróide, a androstenediona, que também é secretada pelo córtex adrenal sob algumas circunstâncias e pode ser convertida em testosterona em tecidos alvos, porém a secreção de

androstenediona em grandes quantidades somente ocorre quando há deficiência genética da enzima 21-hidroxilase [1]. A DHEA atua como um precursor para androstenediona em tecidos periféricos, e o excesso da produção da DHEA pelas glândulas adrenais também resulta em hiperandrogenização [1,2]. Tem sido propagado, que a DHEA é um esteróide multifuncional, com papel de proteção celular, especialmente protegendo contra os efeitos do envelhecimento [3]. Entretanto, os efeitos desta droga não são completamente entendidos no que tange órgãos e tecidos andrógenos dependentes. No presente estudo, avaliou-se os efeitos do uso crônico da DHEA sobre os níveis séricos da testosterona total e do SDHEA, bem como no peso e histologia prostática em ratos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Ratos machos Wistar de quatro meses de idade do departamento de farmacologia e toxicologia da Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre (FFFCMPA) foram selecionados para o estudo. Os animais foram tratados de acordo com os preceitos de ética em pesquisa animal e as diretrizes do *National Institute of Health* (NIH) para cuidados e uso de animais em laboratório.

Todos os animais foram deixados em um mesmo ambiente, mantidos sob temperatura constante de $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e luz das 7 horas até às 19 horas, alimentando-se com ração padrão para a referida raça (Nutripal, Porto Alegre) e água à vontade. Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas de 47 x 18 x 40 cm, com quatro ratos em cada gaiola.

Os animais foram divididos em dois grupos. O grupo 1 constitui-se de 9 (nove) ratos tratados com 2ml de solução salina oralmente, uma vez por dia, por cinco dias consecutivos durante a semana, por 10 (dez) meses consecutivos. O grupo dois, composto por 15 (quinze) ratos que receberam uma suspensão de dehidroepiandrosterona (Sigma Chem CO, USA), na dose de 5mg/kg preparada em solução salina, administrada oralmente uma vez por dia, durante cinco dias da semana pelo mesmo período do grupo um. A dose administrada foi calculada com base na terapia de suplementação *standard* realizada em humanos, multiplicada por 10 (dez) em virtude da atividade metabólica hepática de ratos ser aproximadamente 10 vezes maior do que a que ocorre em humanos.

Ao final dos dez meses de tratamento, os ratos foram pesados em uma balança eletrônica (Balança Analítica Marte, precisão de 0,01g), e anestesiados com infusão intraperitoneal de solução de 1:1 de ketamina/xylasina (König, Avellaneda, Argentina) na dose de 25 mg/Kg. Amostras sanguíneas foram obtidas através de punção do plexo vascular retro-ocular, usando tubos capilares. Após a coleta o sangue foi imediatamente centrifugado e congelado, para posterior análise. A seguir, uma incisão abdominal mediana foi realizada, a próstata foi cuidadosamente dissecada, removida e pesada em uma balança eletrônica (Balança Analítica Marte, precisão de 0,01g). Posteriormente, a glândula prostática foi processada para análise histológica.

A testosterona total (TT) e o sulfato dehidroepiandrosterona (SDHEA) foram medidos por radioimunoensaio, usando *ImunoChem TM Coated Tube Kits* (ICN Pharmaceuticals, ICN Diagnosis Division, Costa Mesa, Califórnia, USA). A próstata foi fixada em formol, e igualmente corada com HE. As lâminas foram então codificadas, para serem examinadas de forma que o avaliador desconhecesse a origem de cada corte histológico. Um único examinador foi

responsável pelos exames dos cortes histológicos dos testículos e da próstata, com auxílio de um patologista. A avaliação histológica da próstata foi realizada através da observação de três campos em cada corte histológico, com magnificação óptica de 200X, sendo graduado em uma escala de 1 a 3, baseado em achados histológicos do grau de atrofia, do componente papilar, do grau de hiperplasia adenomatosa e a razão entre o componente estromal e glandular.

Os dados dos níveis séricos foram estatisticamente analisados usando o teste t de Student. Para a análise dos dados obtidos da avaliação histológica prostática, o teste de Kruskal-Wallis acompanhado pelo teste de Dunn foi adotado. Um valor de P calculado menor do que 0.05 foi usado para indicar diferenças estatisticamente significativas.

RESULTADOS

Análise Sérica: A tabela 01 mostra os níveis séricos de testosterona total e SDHEA em ratos tratados e não tratados com DHEA diariamente. O uso crônico da DHEA aumentou os níveis séricos de SDHEA, quando comparados com o grupo placebo ($222,1 \pm 41,5$ versus $2,0 \pm 0,3$ mg/dl, $p < 0,0001$). Os níveis séricos de testosterona no grupo tratados cronicamente com DHEA foram 2,5 vezes mais altos do que os observados no grupo controle ($2,0 \pm 0,4$ versus $0,8 \pm 0,2$ mg/dl, $p < 0,0001$) (Tabela 01).

Peso corporal, prostático e testicular: A tabela 02 lista o peso corporal, prostático e testicular nos dois grupos. O peso corporal ao final do estudo foi similar entre os ratos que receberam placebo e o grupo que recebeu DHEA ($397,2 \pm 45,6$ versus $386,7 \pm 39,7$ g; $p > 0,05$). O peso prostático também não apresentou

diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos estudados ($0,75 \pm 0,1$ versus $0,81 \pm 0,0$ g; $p > 0,05$). O peso testicular, igualmente não apresentou diferenças estaticamente significantes entre o grupo placebo e o grupo tratado com DHEA, tanto nos testículos direitos ($1,59 \pm 0,3$ versus $1,58 \pm 0,2$ g; $p > 0,05$) como nos testículos esquerdos ($1,57 \pm 0,3$ versus $1,55 \pm 0,3$; $p > 0,05$).

Estudo histopatológico prostático: Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos no que concerne ao grau de atrofia, componente papilar, grau de hiperplasia e relação estroma-glandular ($p > 0,05$), conforme demonstrado na tabela 03.

DISCUSSÃO

Os andrógenos adrenais são produzidos em quantidades abundantes em humanos, em uma fração que varia de 20 a 30 mg por dia, sendo que esta quantidade representa cerca de 10 vezes mais do que a produção diária de cortisol. A produção da DHEA ocorre exclusivamente em primatas superiores, incluindo humanos. Embora animais de laboratório, como ratos e coelhos não apresentem produção de andrógenos adrenais na mesma proporção dos humanos, o modelo experimental de roedores pode ser muito útil para investigar os efeitos da DHEA, visto que há similaridades no metabolismo de ambos. Roedores e humanos parecem responder similarmente à administração exógena suplementar da DHEA, e ambas espécies apresentam carência de receptores periféricos para a DHEA e o SDHEA [7]. A carência de receptores periféricos para estas substâncias, significa que estes hormônios ou pré-hormônios não apresentam efeitos hormonais diretos, como principal mecanismo de ação, porém

atuam principalmente através da conversão em outros hormônios, como a testosterona [6,7]. Esta observação, é o principal fator que determina a dificuldade para o entendimento do exato papel biológico do DHEA e do SDHEA. O modelo animal, portanto, providencia oportunidades adicionais para investigação, por exemplo, de achados relacionados a alterações histológicas em resposta ao tratamento clínico com DHEA ou SDHEA, que poderia ser problemático em estudos clínicos em humanos, por questões éticas.

Em 1994 o *Massachusetts Male Aging Study* (MMAS) apresentou uma relação inversa entre os níveis séricos da DHEA e a incidência de disfunção erétil na população estudada, ao passo que outros 16 hormônios medidos neste estudo não mostraram qualquer associação [8,9]. Estes resultados, além dos observados em outros estudos [10-13], sugerem um papel fisiológico importante da DHEA e do SDHEA. No presente trabalho experimental em ratos, observou-se que pequenas quantidades de DHEA administradas aumentaram significativamente os níveis de testosterona total, sugerindo fortemente que o principal papel biológico da DHEA ocorre devido sua conversão em outros andrógenos.

Acredita-se que o SDHEA não tenha efeitos específicos, porém representa uma espécie de reservatório da DHEA, já que estas duas substâncias são livremente interconvertidas pela ação de sulfotransferases e sulfatases extra-adrenais [7]. A DHEA tem um padrão de secreção pulsátil e um ritmo circadiano, embora o SDHEA não acompanhe estas características, os níveis basais séricos do SDHEA costumam refletir a média basal de DHEA. Por esta razão, os níveis séricos do SDHEA costumam ser mais estáveis, tornando a sua mensuração preferencial em estudos clínicos laboratoriais [7].

No presente estudo, o aumento no SDHEA e da testosterona total foi de aproximadamente 110 e 2,5 vezes maior em ratos tratados com DHEA quando comparados com grupo placebo, respectivamente. Esta discrepância pode ser explicada pelo fato de que o SDHEA ser a forma estável da DHEA, atuando como reservatório, e somente uma pequena fração do SDHEA é convertida em testosterona, suportando a hipótese de que a DHEA é um andrógeno fraco em indivíduos masculinos.

Alguns estudos clínicos suportam a hipótese de limitados efeitos androgênicos da DHEA [3, 10, 14,15]. Artt e cols., observaram que a administração de 50 e 100mg de DHEA por mais de 6 semanas não aumentou os níveis de testosterona total de modo significativo, porém aumentaram os níveis de testosterona livre, estrona e estradiol [10]. Labrie e cols. observaram que a aplicação tópica da DHEA por dois meses não alterou os níveis de testosterona, dihidrotestosterona, estrona ou estradiol, porém metabólitos destes andrógenos e estrógenos aumentaram significativamente [15]. Além disso, Reiter e cols. não encontraram significativas diferenças com relação à testosterona total no grupo de homens tratados com 50 mg de DHEA ou placebo [14].

Talvez uma das mais importantes preocupações clínicas com relação ao uso oral, como forma de suplementação da DHEA, é o medo em estimular ou causar câncer de próstata e ou hiperplasia prostática, baseado no conhecimento de que a próstata é uma glândula hormonalmente responsiva a andrógenos [14,16].

É bem reconhecido que a testosterona é o principal andrógeno circulante, secretada pelos testículos. Entretanto, a dihidrotestosterona é o principal andrógeno que se liga aos receptores no núcleo das células prostáticas [17]. O paradoxal crescimento prostático que ocorre em homens na faixa etária na qual

há um gradual declínio dos níveis séricos de testosterona, pode ser parcialmente explicado pelo fato de que não somente a testosterona, mas também, a dihidrotestosterona (via 5- α -redutase), estradiol (via aromatase e ou por produção local na próstata), possam ter um importante papel fisiológico na próstata. Alternativamente, alterações na sensibilidade prostática a andrógenos e estrógenos também podem estar envolvidas nestes mecanismos [18].

A ausência de efeitos observados no presente estudo com relação ao peso e histologia da próstata em ratos tratados com DHEA é tranquilizadora, e pode ser explicada pelas evidências do fraco efeito androgênico que a DHEA determina. Embora outros trabalhos tenham examinado os efeitos da administração crônica da DHEA na histologia de tumores prostáticos experimentais em ratos castrados, pelo nosso conhecimento, este é o primeiro estudo a examinar os efeitos histológicos em próstatas histologicamente intactas, submetidas ao uso crônico da DHEA. Embora devemos ser muito cautelosos para extrapolar os dados obtidos em animais para seres humanos, estes resultados sugerem que o uso crônico da DHEA em humanos tem um pequeno impacto sobre a próstata, embora causando elevação nos níveis séricos de testosterona.

Estas conclusões são respaldadas por estudos em humanos, como os conduzidos por Reiter e cols., em cujo trabalho uma dose de 50mg diárias de DHEA não produziu alterações no volume prostático, volume de urina residual pós-miccional e nível sérico de antígeno prostático específico [18]. Um similar estudo, conduzido por Flynn e cols, analisando sintomas miccionais em paciente submetidos ao uso da DHEA por 3 meses, de igual forma não determinou alterações quando comparados com o grupo controle [19]. Além disso, Shiller e cols. observaram em ratos castrados que andrógenos adrenais, como a DHEA, o SDHEA e a hidroxandrostenediona, causam somente um discreto aumento de

volume em próstatas e vesículas seminais nestes animais [20]. Entretanto, no mesmo estudo, câncer de próstata experimental foi significativamente estimulado por estes andrógenos, sugerindo um potencial aumento nos níveis de dihidrotestosterona intraprostático [20].

Em conclusão, nossos resultados mostram que a administração crônica da DHEA produz um aumento nos níveis séricos do SDHEA e da testosterona total, sem produzir alterações no peso e histologia prostática em ratos.

REFERÊNCIAS

1. Hornsby, P.J.: DHEA: A biologist's perspective. *J Am Geriatr Soc*, 45(11): 1395, 1997.
2. Miller, R.A. : DHEA- Brass ring or red herring? *J Am Geriatr Soc*, 45(11): 1402, 1997.
3. Morales, A .J., Nolan, J.J., Nelson, J.C., Yen, S.S.C.: Effects of replacement dose of dehydroepiandrosterone in men and women of advancing age. *J Clin Endocrinol Metab*, 78:1360, 1994.
4. Herbert, J.: The age of dehydroepiandrosterone. *Lancet*, 345:1193, 1995.
5. Hofbauer, L.C., Allolio, B., Wiebke, A.: Dehydroepiandrosterone supplementation in elderly men: the role of estrogens versus androgens on the male skeleton. *J Clin Endocrinol Metab*, 87(8):4009, 2002.
6. Kroboth, P.D., Salek, F.S., Pittenger, A .L., et al.: DHEA and DHEA-S: a review. *J Clin Pharmacol*, 39:327, 1999.
7. Hinson, J.P., Raven, P.W. : DHEA deficiency syndrome: a new term for old age? *J Endocrinol*, 163:1, 1999.
8. Ebeling, P., Koivisto, V.A .: Physiological importance of dehydroepiandrosterone. *Lancet*, 343: 1479, 1994.
9. Feldman, H.Á ., Goldstein, I., Hatzichristou, D.G., et al.: Impotence and its medical and psychosocial correlates: results of the Massachusetts Male Aging Study. *J Urol*, 151:54, 1994.
10. Arlt, W., Haas, J., Callies, F., et al.: Biotransformation of oral dehydroepiandrosterone supplementation in elderly men: significant increase in circulating testosterone. *J Clin Endocrinol Metabol*, 84: 2170, 1999.

11. Svec, F., Porter, J.R.: The actions of exogenous dehydroepiandrosterone in experimental animals and humans. *Procc Soc Exp Biol Med*, 218(3):174, 1998.
12. Kroboth, P.D., Salek, F.S., Pittenger, A .L., et al.: DHEA and DHEAS: a review. *J Clin Pharmacol*, 39:327,1999.
13. Nippoldt, T.B., Nair, K.S. Is there a case for DHEA replacement? *Bailliere's Clin Endocrinol Metab*, 12:507, 1998.
14. Reiter, W.J., Pycha, A ., Schatzl, G., et al.: Dehydroepiandrosterone in the treatment of erectile dysfunction: a prospective, double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Urology*, 53(3): 590, 1999.
15. Labrie, F., Belanger, A ., Cusan, L., et al.: Physiological changes in dehydroepiandrosterone are not reflected by serum levels of active androgens or estrogens but their metabolites: intracrinology. *J Clin Endocrinol Metab*, 82:2403,1997.
16. Huggins, C.B., Stevens, R.B., Hodges, C.V. :The effects of castration on advanced carcinoma of the prostate gland. *Arch Surg*, 43:209,1941.
17. Marcelli, M., Cunningam, G.R.: Hormonal signaling in prostatic hyperplasia and neoplasia. *J Clin Endocrinol Metab*, 84(10):3463,1999.
18. Pechersky, A .V., Mazurov, V.I., Semiglav, V.F. et al.: Androgen administration in middle-aged and ageing men: effects of oral testosterone undecanoate on dehydrotestosterone, oestradiol and prostate volume. *Int J Androl*, 25:119, 2002.
19. Flynn, M.A ., Weaver-Osterholtz, D., Sharpe-Timms, K.L., et al.: Dehydroepiandrosterone replacement in aging humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 84(5):1527, 1999.

20. Schiller, C.D., Schneider, M.R., Hartmann, H., et al.: Growth-stimulating effect of adrenal androgens on the R3327 Dunning prostatic carcinoma. *Urol Res*, 19(1):7, 1991.

Tabela 01. Efeitos do uso crônico da DHEA e placebo nos níveis séricos do SDHEA e testosterona total em ratos.

Grupos	SDHEA sérico (mg/dl) (X ± DP)	Testosterona Total sérica (mg/dl) (X ± DP)
Controle (n=9)	2,0 ± 0,30	0,80 ± 0,2
DHEA (n=15)	222,1 ± 41,5*	2,06 ± 0,4*

*Estatisticamente significativo, $p < 0.0001$ (Teste t de Student)

Tabela 02. Peso corporal, prostático e testicular em ratos cronicamente tratados com DHEA e placebo.

	Placebo (X ± DP)	DHEA (X ± DP)
Peso (g)		
Corporal	397,2 ± 45,6	386,7 ± 39,7
Próstata	0,75 ± 0,1	0,81 ± 0,0
Testículo Dir.	1,59 ± 0,4	1,58 ± 0,2
Testículo Esq.	1,57 ± 0,3	1,55 ± 0,3

Teste t de Student; p>0.05.

Tabela 03. Análise histológica prostática em ratos cronicamente tratados com DHEA e placebo.

	Placebo (X ± DP)	DHEA (X ± DP)
Histologia Prostática		
Estroma/Glândula	1,25 ± 0,1	1,22 ± 0,0
Componente Papilar	1,20 ± 0,2	1,56 ± 0,1
Grau de atrofia	1,00 ± 0,0	1,00 ± 0,0
Grau de hiperplasia	1,40 ± 0,2	1,18 ± 0,1

Teste t de Student; $p > 0.05$.

ARTIGO EM INGLÊS (II)

**EFFECTS OF THE CHRONIC USE OF
DEHYDROEPIANDROSTERONE (DHEA) ON TESTICULAR
WEIGHT AND SPERMATOGENESIS: EXPERIMENTAL STUDY IN
RATS. ***

Running head: Dehydroepiandrosterone and spermatogenesis

Daniel Gobbi (1), Ernani L. Rohden (2), Eduardo Menti (3), Francisco Lulhier (4),
Claudia Rhoden (5)

*Post graduating Program of Medical Sciences, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS) and Federal Foundation of Medical Sciences of Porto Alegre (FFFCMPA), Brazil.

1. Postgraduate Course in Medical Sciences, UFRGS
2. Urologist. Professor of the Postgraduate Course in Medical Sciences (UFRGS, FFFCMPA)
3. Academic in Medicine at FFFCMPA.
4. Biochemistry, Ph.D. (UFRGS)
5. Professor in Pharmacology at FFFCMPA

SUMMARY

Aim: The complete biological effects of chronic use of dehydroepiandrosterone (DHEA), reported as a weak androgen, are not completely understood. The aim of the present study is to evaluate the effects of chronic administration of DHEA on the spermatogenesis in rats.

Methods: Male Wistar rats, 4 months old, were selected for the study. The animals were divided into two groups. Group 1 (n=9) received placebo (saline solution) 0.5 ml/day and Group 2 (n=15) received DHEA 5 mg/Kg/day. Both the groups received the respective treatments 5 days a week during 10 months. At the end of the exposure, the rats were sacrificed and the testes removed, weighed and processed for histologic analysis. Spermatogenesis was evaluated as the mean number of seminiferous tubules with and without spermatids in maturation phase in their lumen, in five random fields on the same slide.

Results: The median levels of serum total testosterone and dehydroepiandrosterone sulfate was measured in the two groups. Significant higher concentrations in total testosterone (2.06 ± 0.4 vs. 0.80 ± 0.2 ; $p < 0.05$) and DHEAS (222.1 ± 41.5 vs. 2.0 ± 0.3) were observed in the group treated with DHEA as compared to the control group. The mean weights of the right testes were 1.59 ± 0.3 in group 1 and 1.58 ± 0.2 g in group 2 ($p > 0.05$). These values for the left testes were 1.57 ± 0.3 and 1.55 ± 0.3 g, respectively ($p > 0.05$). The histologic analysis showed a mean of 13.5 ± 1.5 and 12.8 ± 1.8 seminiferous tubules per field in the groups 1 and 2, respectively ($p > 0.05$). The same analysis demonstrated that in the control group 0.06 ± 0.1 of the tubules presented without spermatids in maturation phase and in the DHEA group this was observed in 0.22 ± 1.2 of the tubules ($p > 0.05$).

Conclusion: Chronic administration of DHEA in the present dose did not show any detectable effect on the quantitative and qualitative analyses of spermatogenesis in rats.

KEY WORDS: Spermatogenesis, dehydroepiandrosterone (DHEA), dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS).

INTRODUCTION

The recent extensive biomedical and lay public interest in dehydroepiandrosterone (DHEA) stems from the frequent suggestion that the marked age-related decline in the plasma level of dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS) in humans amounts to the development of a deficiency state for this hormone [1,2]. Thus it has been proposed that replacement therapy with DHEA to restore youthful levels of DHEAS in older individuals might have beneficial effects on a variety of age-related conditions, such as cardiovascular and neoplastic diseases, diabetes, immune dysfunction, muscular weakness, depression and erectile dysfunction [1,3].

Although DHEA and DHEAS were first isolated and identified around 60 years ago, the role of these substances in endocrine physiology is of recent interest. One of the main reasons for the lack interest about these hormones can be attributed by the fact that they do not have intrinsic androgenic, estrogenic, or other classical hormonal activity [4]. Although, it is well recognized that these hormones are a source of androgens and estrogens by conversion in the peripheral tissues [4].

Androgens are known to have many important physiological actions, including effects on muscle, bone, central nervous system, prostate and, maybe, other organs of the reproductive tract [5,6,7]. As is known, testosterone is the most important androgen circulating in the blood and has potential adverse effects on the spermatogenesis by its interference in the hypothalamic-pituitary-gonadal axis (HPG) [3,5,8,9].

By analogy DHEA, acting as a prehormone originating testosterone and estrogens, have the potential to interfere in the HPG axis. Although, DHEA which it

may be viewed as a multifunctional steroid with protective roles in many aspects of cellular well being, especially aging-associated deficits is a drug with incompletely understood effects mainly over androgen-dependent organs and tissues [3].

The aim of the present study is to evaluate the effects of chronic administration of dehydroepiandrosterone (DHEA) on the spermatogenesis in rats.

MATERIAL AND METHODS

The animals were treated according to the standards of the Health Institute for the care and use of laboratory animals. All the experiments were approved by the Animal Protection Committee (CPA- Comitê de Proteção Animal) of Federal Foundation of Medical Sciences of Porto Alegre (FFFCMPA).

Male Wistar rats, 4 months old, were selected and maintained in the same laboratory at a controlled temperature ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$) and light exposure (7:00 a.m. to 7:00 p.m.), receiving standard food (Nutripal, Porto Alegre, Brazil) and drinking water *ad libitum*. The animals were kept in plastic cages (47x18x40 cm) with 4 animals per cage. The animals were divided into two groups: Group 1 (n=9) received 0.5 ml/day of saline solution, administered by gavage, once a day for 5 days/week during 10 consecutive months; Group 2 (n=15) received 5 mg/kg/day of Dehydroepiandrosterone (Sigma Chem CO, USA) suspension, prepared in saline solution, by the same way and period as described for the animals of the group 1. This dose is higher than the standard human dose since the hepatic metabolism activity is around 10 times higher in rats than in humans beings.

At the end of the period of treatment, the rats were anaesthetized with a ketamine (25 mg/Kg, i.p.) and xylazine (10mg/Kg, i.p.) (König, Avellaneda, Argentina) solution and samples of blood were obtained by puncture of the retroocular vascular plexus, by capillary tubes, and the blood obtained was immediately centrifuged and the serum frozen. In the same procedure, a midline incision of the scrotum was performed and the testes were removed and weighed on an electronic scale (Analytic Balance Marte, precision of 0.01g). After this procedure, the testes were processed for histologic analysis. The right and left testes of each animal were sectioned along the midline and placed in paraffin blocks as routine procedures. A sagittal section was obtained from each of the testes and fixed on glass slides and stained with hematoxylin-eosin (H-E). A single examiner who was blinded to the animal's treatments analyzed the slides. Spermatogenesis was assessed by counting the number of seminiferous tubules with and without spermatids in maturation phase (flagella of elongating spermatids) inside, in 5 randomized power fields (100X) of each of the sections (Optical Microscope Olympus BX40), following the same standardized sequence, which consisted of four peripheral points (vertices) and a central point of the imaginary figure of a quadrilateral as described previously [10,11].

The blood was used to determine the serum concentrations of total testosterone and dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS) by radioimmunoassay techniques utilizing ImmuChem TM Coated Tube Kits (ICN Pharmaceuticals, Inc. Diagnosis Division, Costa Mesa, California, 92626).

The average weights of the testes and the number of seminiferous tubules, with and without spermatids in maturation phase, as well as the mean values of total testosterone and DHEAS were statistically analyzed using the Student's t-test. A P value less than 0.05 was used to indicate significant differences.

RESULTS

The serum total testosterone levels were higher in the group treated with DHEA as compared with the levels of the control treated rats (2.06 ± 0.4 vs. 0.80 ± 0.2 ; $P < 0.05$) and the same observation were found regarding the DHEAS serum concentration (222.1 ± 41.5 vs. 2.0 ± 0.3 ; $P < 0.0001$) (Table 1).

The mean weight of the right testes of the rats of the group 1 and group 2 were 1.59 ± 0.3 and 1.58 ± 0.2 , respectively ($P > 0.05$). Similar mean weights (1.57 ± 0.3 vs. 1.55 ± 0.3 ; $P > 0.05$) were observed for the left testes in the group 1 and 2, respectively. The mean body weight of the rats of the group 1 was similar to the rats from the group 2 (397.2 ± 45.6 vs. 386.7 ± 39.7 ; $P > 0.05$)

In the evaluation of the spermatogenesis, the count of seminiferous tubules in the five fields of each histologic section of the testes of these animals showed an average of 13.5 ± 1.4 seminiferous tubules in the group treated with placebo, and only in 0.06 ± 0.1 of these tubules no spermatids in maturation phase were found inside. In the animals treated with DHEA, a mean of 12.8 ± 1.8 seminiferous tubules per optical field were observed and, on the average, 0.22 ± 1.22 of these tubules did not have spermatids in maturation phase. These data analyzed statistically did not show significant differences ($P > 0.05$) (Table 2).

DISCUSSION

Although, significant increase in total testosterone and in sulfate form of DHEA have been observed in the rats treated with DHEA, it did not show be able to influence significant alterations regarding weight of the testes as well as histological features of sperm production when compared to the control rats.

Specifically, in this study, the number of seminiferous tubules and the presence of spermatids in maturation phase, which are seen as flagella of elongating spermatids, in the tubule lumen, which reflects the maintenance of testicular spermatogenic activity, were similar in both groups. These aspects ultimately reflect the absence of effects of the chronic DHEA use on the testicular volume and spermatogenesis in rats.

It is well recognized that adrenal androgens are produced in abundant quantities, in order of 20-30mg per day, which is 10 times the daily production of cortisol. Although, this pattern of production is rather unique to primates and humans it is important to consider that laboratory animals, such as rats and rabbits do not physiologically produce adrenal androgens and if some species do, not in the quantities in humans species does. On the other hand, in spite the high levels observed in humans, it has been difficult to establish a well-defined biological function of the adrenal androgens DHEA and DHEAS because they do not have specific receptors a prerequisite for hormonal effects [12,13]. DHEA has a pulsatile pattern of secretion and to its circadian rhythm and in the other side DHEAS does not follow such variations and is closely correlates to the mean level of serum DHEA basis by which the stable sulfate laboratory determinations should be preferred [13].

Although, several modes of action of DHEA are possible, the most likely is that DHEAS and DHEA serve as a source of active androgens and estrogens in some subset of androgen-responsive tissues [1,13]. This aspect could clearly be observed in the present study, which demonstrated that in rats treated with DHEA the serum levels of testosterone increased around 2.5 times more.

This observation shows that the DHEA is an active drug with androgen possibilities as reported in the literature too [13,14,15,16,17,18]. The same observations could also be made when the levels of DHEAS were measured. Much higher sulfate concentrations were present in the group of rats treated with DHEA. It is interesting to notice that the increase of the DHEAS serum levels were proportionally more extensive than the increase observed of total testosterone and can explain the aspects that this is the stable form of DHEA acting as a reservoir form of this androgen which is partially converted to testosterone.

The lack of effects of the pre-hormone DHEA on the sperm production as well as testes weight observed in the present study can be attributed partially to a relatively weak androgen effect of this substance when we compare the values serum levels of DHEAS and testosterone. Otherwise, the relatively low dose used in the present study but equivalent to the used in humans beings considering that the hepatic metabolism in rats is 10 times higher, can contribute to the absence of significant effects. Another important aspect to observe is the fact that DHEA is not normally produced in rats and consequently physiological characteristics can be different. Finally, the absence, in our review of the literature, of studies addressing the effects of DHEA on spermatogenesis turn difficult some comparisons with the present data.

In conclusion, according to our data the chronic administration of DHEA in the dose used, in rats, would not lead to changes as regards weight of the testes and spermatogenesis.

REFERENCES

1. Hornsby PJ. DHEA: A biologist's perspective. *J Am Geriatr Soc* 1997; 45(11): 1395-401.
2. Miller RA. DHEA- Brass ring or red herring? *J Am Geriatr Soc* 1997; 45(11): 1402-3.
3. Morales AJ, Nolan JJ, Nelson JC, Yen SSC. Effects of replacement dose of dehydroepiandrosterone in men and women of advancing age. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78: 1360-7.
4. Labrie F, Belanger A, Cusan L, Candas B. Physiological changes in dehydroepiandrosterone are not reflected by serum levels of active androgens or estrogens but their metabolites: intracrinology. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 2403-9.
5. Tenover JS. Effects of testosterone supplementation in the aging male. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75(4): 1092-8.
6. Bagatell CJ, Bremner WJ. Androgens in men-uses and abuses. *N Eng J Med* 1996; 334: 707-14.
7. Herbert J. The age of dehydroepiandrosterone. *Lancet* 1995; 345: 1193-4.
8. Wang C, Leung A, Superlano L, Steiner B, Swerdloff RS. Oligozoospermia induced by exogenous testosterone is associated with normal functioning residual spermatozoa. *Fertil Steril* 1997; 68(1):149-53.
9. Wang C, Swerdloff RS. Male Contraception. *Best Pract Res Clin Obstet Gynecol* 2002; 16(2):193-203.

10. Da Ros CT, Teloken C, Tannhauser M, Hartmann A. Does intratesticular testosterone administration modify the evolution of transitory testicular ischemia in prepubertal rats. *J Urol* 1998; 1752-4.
11. Rhoden EL, Gobbi D, Menti E, Rhoden C, Teloken C. Effects of the chronic use of finasteride on testicular weight and spermatogenesis in Wistar rats. *Br J Urol* 2002; 89: 961-3.
12. Kroboth PD, Salek FS, Pittenger AL, Fabian TJ, Frye RF. DHEA and DHEA-S: a review. *J Clin Pharmacol* 1999; 39: 327-48.
13. Hinson JP, Raven PW. DHEA deficiency syndrome: a new term for old age? *J Endocrinol* 1999; 163: 1-5.
14. Arlt W, Haas J, Callies F, Koehler I, van Vlijmen JC, Fassnacht M, et al. Dehydroepiandrosterone supplementation in healthy men with and age-related decline of dehydroepiandrosterone secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 4686-92.
15. Arlt W, Haas J, Callies F, Reincke M, Huebler D, Oettel M et al. Biotransformation of oral dehydroepiandrosterone supplementation in elderly men: significant increase in circulating testosterone. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 2170-6.
16. Svec F, Porter JR. The actions of exogenous dehydroepiandrosterone in experimental animals and humans. *Procc Soc Exp Biol Med* 1998; 218(3): 174-91.
17. Nippoldt TB, Nair KS. Is there a case for DHEA replacement? *Bailliere's Clin Endocrinol Metab* 1998; 12: 507-20.
18. Hofbauer LC, Allolio B, Wiebke A. Dehydroepiandrosterone supplementation in elderly men: the role of estrogens versus androgens on the male skeleton. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(8): 4009-14.

Table 1: Effects of chronic administration of dehydroepiandrosterone (DHEA) and placebo on serum levels of dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS) and total testosterone in rats.

Groups	Serum DHEAS (mg/dl) (X ± DP)	Serum Total Testosterone (mg/dl) (X ± DP)
Control (n=9)	2,0 ± 0,30	0,80 ± 0,2
DHEA (n=15)	222,1 ± 41,5*	2,06 ± 0,4*

Statistically different, P < 0.0001 (Student t-test).

Table 2: Effects of chronic administration of dehydroepiandrosterone (DHEA) and placebo on spermatogenesis of rats evaluated by the number of seminiferous tubules with and without spermatozoa.

Grupos	N. tubules (5 random fields) (X ± DP)	N.tubules without spermatozoa (X ± DP)
Control (n=9)	13,5 ± 1,4	0,06 ± 0,1
DHEA (n=15)	12,8 ± 1,8	0,22 ± 1,2

Student t-test; P < 0.05

ARTIGO EM PORTUGUÊS (II)

EFEITOS DO USO CRÔNICO DA DEHIDROEPIANDROSTERONA (DHEA) SOBRE O PESO TESTICULAR E ESPERMATOGÊNESE: UM ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS

Daniel Gobbi, MD. (1), Ernani Luis Rhoden, MD. (2), Eduardo Menti, MD. (3),
Francisco Lulhier (4) e Claudia Rhoden (5).

Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Curso de Pós-Graduação em Ciências Médicas e Patologia Experimental da Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre (FFFCMPA), Brasil

1. Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, UFRGS.
2. *Research Fellow* em Urologia, Programa de Pós-Graduação da *Harvard Medical School*, Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, UFRGS
3. Acadêmico do Curso de Medicina da FFFCMPA.
4. Ph.D. em Bioquímica, UFRGS
5. Professora de Farmacologia, FFFCMPA.

RESUMO

Objetivos: O completo efeito biológico do uso crônico da dehidroepiandrosterona (DHEA) oral, um andrógeno fraco, não é completamente compreendido. O objetivo do presente estudo é avaliar os efeitos do uso crônico da DHEA na espermatogênese de ratos.

Materiais e Métodos: Ratos machos Wistar, com quatro meses de idade foram selecionados para o estudo. Os animais foram divididos em dois grupos. O grupo 1 (n=9) foi composto de ratos que receberam placebo (solução salina), 0,5 ml/dia durante 5 dias consecutivos da semana por um período de 10 meses e, o grupo 2 (n=15) ratos que receberam 5mg/kg/dia da DHEA em suspensão oral administrada da mesma forma da do grupo 1. Ao final do período de 10 meses, amostras de sangue foram colhidas para dosagem sérica da testosterona total e do sulfato de dehidroepiandrosterona (SDHEA). Imediatamente após os ratos foram sacrificados e a próstata e os testículos foram removidos, pesados e analisados histologicamente. A espermatogênese foi avaliada através do número médio de túbulos seminíferos com e sem espermatídes em fase de maturação em seu interior.

Resultados: Concentrações séricas elevadas da testosterona total ($2,06 \pm 0,4$ versus $0,80 \pm 0,2$; $p < 0,05$) e do SDHEA ($222,1 \pm 41,5$ versus $2,0 \pm 0,3$; $p < 0,05$) foram observados no grupo tratado com DHEA quando comparado com o grupo controle (grupo 1). O peso corporal e dos testículos e não apresentou diferença entre os grupos ($p > 0,05$). Igualmente não foram observadas diferenças significativas com relação à análise quantitativa e qualitativa da espermatogênese entre os dois grupos ($p > 0,05$).

Conclusões: A administração crônica da DHEA na presente dose, não apresentou qualquer efeito detectável sobre a análise quantitativa e qualitativa da espermatogênese de ratos.

INTRODUÇÃO

O recente interesse biomédico científico e público com relação a dehidroepiandrosterona (DHEA), foi impulsionado, em grande parte, pelas freqüentes evidências publicadas nos últimos anos, que sugerem um marcado declínio idade-relacionado dos níveis plasmáticos do sulfato de dehidroepiandrosterona (SDHEA). Estes achados motivam a hipótese de que o declínio hormonal determina um estado de deficiência hormonal verdadeiro, podendo representar algo significativo em pacientes com idade avançada [1,2]. Por estas razões, tem sido proposto que a terapia de reposição hormonal com DHEA para restaurar níveis plasmáticos basais de SDHEA em homens idosos, possa ter uma série de benefícios em condições relacionadas com a idade como; por exemplo, nas doenças cardiovasculares, no diabetes, nas disfunções imunológicas, na depressão, nas doenças neoplásicas, nas disfunções músculo-esqueléticas e nas disfunções sexuais [1,3].

A DHEA e o SDHEA foram isolados e identificados há aproximadamente sessenta anos, porém o exato papel biológico destas substâncias ainda não é totalmente conhecido. Uma das principais razões pelo escasso estudo da fisiologia hormonal destas substâncias, possivelmente, pode ser atribuída pelo fato de que eles não têm uma atividade intrínseca androgênica, estrogênica ou qualquer outra atividade hormonal clássica, embora se sabe que estes hormônios são precursores de andrógenos e estrógenos, originados por conversão em tecidos periféricos [4].

Os andrógenos são conhecidos por terem múltiplas ações fisiológicas, incluindo efeitos nos músculos, ossos, sistema nervoso central, próstata e talvez

outros órgãos do sistema reprodutivo [5-7]. A testosterona se constitui no mais importante andrógeno circulante no sangue e tem potenciais efeitos deletérios na espermatogênese por sua interferência direta no eixo hipotalâmico-hipofisiário-gonadal [3, 5, 8,9].

Por analogia, a DHEA atua como um hormônio precursor, originando testosterona e estrógenos, e teria um potencial para interferir no eixo hipotalâmico-hipofisiário-gonadal [3]. Embora a DHEA seja um esteróide multifuncional, com papel de proteção celular, especialmente protegendo contra os efeitos do envelhecimento, é uma droga com efeitos não completamente entendidos no que tange órgãos e tecidos andrógenos dependentes [3].

O objetivo do presente estudo é o de avaliar os efeitos do uso crônico da DHEA sobre a espermatogênese de ratos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os animais foram tratados de acordo com os preceitos de ética em pesquisa animal e as diretrizes do *National Institute of Health* (NIH) para cuidados e uso de animais em laboratório. Todos os experimentos foram aprovados pelo Comitê de Proteção Animal (CPA) da Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre (FFFCMPA).

Ratos machos Wistar de quatro meses de idade foram deixados em um mesmo ambiente, mantidos sob temperatura constante de $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e luz das 7 horas até às 19 horas, alimentando-se com ração padrão para a referida raça

(Nutripal, Porto Alegre) e água à vontade. Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas de 47 x 18 x 40 cm, com quatro ratos em cada gaiola. Os animais foram divididos em dois grupos. O grupo **um**, constitui-se de 9 (nove) ratos tratados com 2ml de solução salina oralmente, uma vez por dia, por cinco dias consecutivos durante a semana, por 10 (dez) meses consecutivos. O grupo dois, composto por 15 (quinze) ratos que receberam uma suspensão de dehidroepiandrosterona (Sigma Chem CO, USA), na dose de 5mg/kg preparada em solução salina, administrada oralmente uma vez por dia, durante cinco dias da semana pelo mesmo período do grupo um. A dose administrada foi calculada com base na terapia de suplementação *standard* realizada em humanos, multiplicada por 10 (dez) em virtude da atividade metabólica hepática de ratos ser aproximadamente 10 vezes maior do que a que ocorre em humanos.

Ao final dos dez meses de tratamento, os ratos foram pesados em uma balança eletrônica (Balança Analítica Marte, precisão de 0,01g), e anestesiados com infusão intraperitoneal de solução de 1:1 de ketamina/xylasina (König, Avellaneda, Argentina) na dose de 25 mg/Kg. Amostras sanguíneas foram obtidas através de punção do plexo vascular retro-ocular, usando tubos capilares. Após a coleta o sangue foi imediatamente centrifugado e congelado, para posterior análise. A seguir, uma incisão escrotal mediana foi realizada, os testículos foram cuidadosamente dissecados, removidos e pesados em uma balança eletrônica (Balança Analítica Marte, precisão de 0,01g).

Posteriormente, os testículos foram processados para análise histológica. Ambos os testículos foram seccionados sagitalmente na linha média e processados em blocos de parafina conforme procedimento padrão do Serviço de Patologia da FFFCMPA. Um corte sagital de cada testículo foi obtido a partir do bloco de parafina, sendo fixados em lâminas e corados com hematoxilina-eosina

(HE). As lâminas foram então codificadas, para serem examinadas de forma que o avaliador desconhecesse a origem de cada corte histológico. Um único examinador foi responsável pelos exames dos cortes histológicos dos testículos. A espermatogênese foi avaliada através da contagem do número de túbulos seminíferos, com a presença ou com ausência de espermátides em fase de maturação (flagelo de espermátides alongadas) em sua luz, em cinco campos ópticos (100X) consecutivos de cada lâmina histológica (Microscópio Óptico Olympus BX40), seguindo sempre uma seqüência predeterminada, que consiste em quatro vértices periféricos e um ponto central, formando um quadrilátero imaginário, conforme descrito em trabalhos prévios [10,11].

As amostras sangüíneas foram usadas para determinar as concentrações séricas da testosterona total (TT) e do sulfato dehidroepiandrosterona (SDHEA), as mesmas foram medidos por radioimunoensaio, usando *ImunoChem TM Coated Tube Kits* (ICN Pharmaceutics, ICN Diagnosis Division, Costa Mesa, Califórnia, USA).

O número de túbulos seminíferos, com e sem espermátides em fase de maturação, bem como os valores séricos da testosterona total e do sulfato de dehidroepiandrosterona foram estatisticamente analisados usando o teste t de Student. Um valor de P calculado menor do que 0.05 foi usado para indicar diferenças estatisticamente significativas.

RESULTADOS

Os níveis séricos de testosterona total foram mais altos no grupo tratado com DHEA quando comparados com níveis séricos de ratos tratados com placebo ($2,0 \pm 0,4$ versus $0,8 \pm 0,2$ mg/dl, $p < 0,0001$), o mesmo resultado foi observado com relação à concentração sérica do SDHEA ($222,1 \pm 41,5$ versus $2,0 \pm 0,3$ mg/dl, $p < 0,0001$) (Tabela 01).

O peso corporal ao final do estudo foi similar entre os ratos que receberam placebo e o grupo que recebeu DHEA ($397,2 \pm 45,6$ versus $386,7 \pm 39,7$ g; $p > 0,05$). O peso testicular, igualmente não apresentou diferenças estaticamente significantes entre o grupo placebo e o grupo tratado com DHEA, tanto nos testículos direitos ($1,59 \pm 0,3$ versus $1,58 \pm 0,2$ g; $p > 0,05$) como nos testículos esquerdos ($1,57 \pm 0,3$ versus $1,55 \pm 0,3$; $p > 0,05$).

Na avaliação da espermatogênese, a contagem total de túbulos seminíferos nos cinco campos ópticos em cada corte histológico mostrou uma média de $13,5 \pm 1,4$ túbulos no grupo tratado com placebo, e somente $0,06 \pm 0,1$ destes túbulos não apresentavam espermátides em fase de maturação no seu interior. Nos animais tratados com DHEA, a média foi de $12,8 \pm 1,8$ túbulos seminíferos por campo óptico e, em média $0,22 \pm 1,22$ túbulos não apresentavam espermátides em fase de maturação no seu interior. Estes dados analisados estatisticamente não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) (Tabela 02).

DISCUSSÃO

Embora um significativo aumento nas concentrações da testosterona total e do SDHEA tenham sido observadas em ratos tratados com DHEA, isto não foi o suficiente para determinar alterações com relação ao peso testicular e achados histológicos de produção de esperma quando comparado com ratos controles.

Especificamente, neste estudo, o número de túbulos seminíferos e a presença de espermátides em fase de maturação em suas luzes, identificada através de microscopia com a presença de espermátides alongadas com flagelo, cuja presença reflete de modo objetivo a atividade espermatogênica, foram similares em ambos os grupos. Este aspecto reflete, em última análise a ausência de efeitos do uso crônico da DHEA no volume testicular e espermatogênese em ratos.

É bem reconhecido que os andrógenos adrenais são produzidos em quantidades abundantes em humanos, em uma fração que varia de 20 a 30 mg por dia, sendo que esta quantidade representa cerca de 10 vezes mais do que a produção diária de cortisol. Embora este padrão de secreção ocorra exclusivamente em primatas superiores, incluindo humanos, é importante considerar que animais de laboratório, como ratos e coelhos não apresentem produção de andrógenos adrenais na mesma proporção dos humanos. Por outro lado, não obstante os altos níveis de secreção observados em humanos, tem sido difícil se definir a exata função biológica da DHEA e do SDHEA, pelo motivo de que receptores periféricos específicos para estas substâncias ainda não foram identificados, significando que estes hormônios ou pré-hormônios não apresentam efeitos hormonais diretos, como principal mecanismo de ação [12,13]. A DHEA

tem um padrão de secreção pulsátil e um ritmo circadiano, embora o SDHEA não acompanhe estas características, os níveis basais séricos do SDHEA costumam refletir a média basal da DHEA. Por esta razão, os níveis séricos do SDHEA costumam ser mais estáveis, tornando a sua mensuração preferencial em estudos clínicos laboratoriais [13].

Embora muitos modos de ação da DHEA sejam possíveis, atualmente a principal ação identificada da DHEA e do SDHEA decorre de sua transformação em tecidos andrógenos-responsivos em andrógenos ativos e estrógenos [1,13]. Este aspecto foi claramente observado no presente estudo, onde ratos tratados cronicamente com DHEA apresentaram níveis 2,5 vezes maiores de testosterona total do que em ratos controles.

Esta observação mostra que a DHEA é uma droga com propriedades androgênicas, conforme amplamente relatado na literatura [13-18]. A mesma observação pode ser feita quanto aos níveis do SDHEA, sendo observados níveis séricos muito mais altos no grupo de ratos tratados com DHEA. É interessante ressaltar que o aumento dos níveis séricos do SDHEA foi proporcionalmente maior do que o aumento observado nos níveis séricos de testosterona total, isto pode ser explicado pelo fato de que o SDHEA é a forma estável da DHEA, atuando como forma de reservatório deste andrógeno, sendo convertido parcialmente à testosterona.

A ausência de efeitos deste pré-hormônio no peso testicular e espermatogênese, também pode ser atribuída pelo fato desta substância ter um fraco efeito androgênico, quando comparamos, obviamente, os níveis do SDHEA e da testosterona total. Por outro lado, a baixa dose usada neste estudo, correspondente à terapia de suplementação *standard* realizada em humanos,

corrigida para um metabolismo hepático em ratos 10 vezes mais alto do que em humanos, possa ser um fator que contribuiu para ausência de efeitos significativos. Outro importante fator identificável a considerar é o fato de que DHEA não é normalmente produzido em ratos e conseqüentemente as características fisiológicas possam ser diferentes, ou seja, pode haver diferenças na conversão periférica do SDHEA em andrógenos ativos do que quando comparados com humanos. Por fim, a ausência, em nossa revisão da literatura, de estudos que mostrem efeitos da DHEA sobre a espermatogênese torna difícil comparações com os dados apresentados.

Em conclusão, de acordo com nossos dados, a administração crônica da DHEA em ratos, na presente dose, não determinou alterações no que tange peso testicular e espermatogênese.

REFERÊNCIAS

1. Hornsby PJ. DHEA: A biologist's perspective. *J Am Geriatr Soc* 1997; 45(11): 1395-401.
2. Miller RA. DHEA- Brass ring or red herring? *J Am Geriatr Soc* 1997; 45(11): 1402-3.
3. Morales AJ, Nolan JJ, Nelson JC, Yen SSC. Effects of replacement dose of dehydroepiandrosterone in men and women of advancing age. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78: 1360-7.
4. Labrie F, Belanger A, Cusan L, Candas B. Physiological changes in dehydroepiandrosterone are not reflected by serum levels of active androgens or estrogens but their metabolites: intracrinology. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 2403-9.
5. Tenover JS. Effects of testosterone supplementation in the aging male. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75(4): 1092-8.
6. Bagatell CJ, Bremner WJ. Androgens in men-uses and abuses. *N Eng J Med* 1996; 334: 707-14.
7. Herbert J. The age of dehydroepiandrosterone. *Lancet* 1995; 345: 1193-4.
8. Wang C, Leung A, Superlano L, Steiner B, Swerdloff RS. Oligozoospermia induced by exogenous testosterone is associated with normal functioning residual spermatozoa. *Fertil Steril* 1997; 68(1):149-53.
9. Wang C, Swerdloff RS. Male Contraception. *Best Pract Res Clin Obstet Gynecol* 2002; 16(2):193-203.
10. Da Ros CT, Teloken C, Tannhauser M, Hartmann A. Does intratesticular testosterone administration modify the evolution of transitory testicular ischemia in prepubertal rats. *J Urol* 1998; 1752-4.

11. Rhoden EL, Gobbi D, Menti E, Rhoden C, Teloken C. Effects of the chronic use of finasteride on testicular weight and spermatogenesis in Wistar rats. *Br J Urol* 2002; 89: 961-3.
12. Kroboth PD, Salek FS, Pittenger AL, Fabian TJ, Frye RF. DHEA and DHEA-S: a review. *J Clin Pharmacol* 1999; 39: 327-48.
13. Hinson JP, Raven PW. DHEA deficiency syndrome: a new term for old age? *J Endocrinol* 1999; 163: 1-5.
14. Arlt W, Haas J, Callies F, Koehler I, van Vlijmen JC, Fassnacht M, et al. Dehydroepiandrosterone supplementation in healthy men with and age-related decline of dehydroepiandrosterone secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 4686-92.
15. Arlt W, Haas J, Callies F, Reincke M, Huebler D, Oettel M et al. Biotransformation of oral dehydroepiandrosterone supplementation in elderly men: significant increase in circulating testosterone. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 2170-6.
16. Svec F, Porter JR. The actions of exogenous dehydroepiandrosterone in experimental animals and humans. *Procc Soc Exp Biol Med* 1998; 218(3): 174-91.
17. Nippoldt TB, Nair KS. Is there a case for DHEA replacement? *Bailliere's Clin Endocrinol Metab* 1998; 12: 507-20.
18. Hofbauer LC, Allolio B, Wiebke A. Dehydroepiandrosterone supplementation in elderly men: the role of estrogens versus androgens on the male skeleton. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(8): 4009-14.

Tabela 01. Efeitos do uso crônico da DHEA e placebo nos níveis séricos do SDHEA e da testosterona total em ratos.

Grupos	SDHEA sérico (mg/dl) (X ± DP)	Testosterona Total sérica (mg/dl) (X ± DP)
Controle (n=9)	2,0 ± 0,30	0,80 ± 0,2
DHEA (n=15)	222,1 ± 41,5*	2,06 ± 0,4*

*Estatisticamente significativo, $p < 0.0001$ (Teste t de Student)

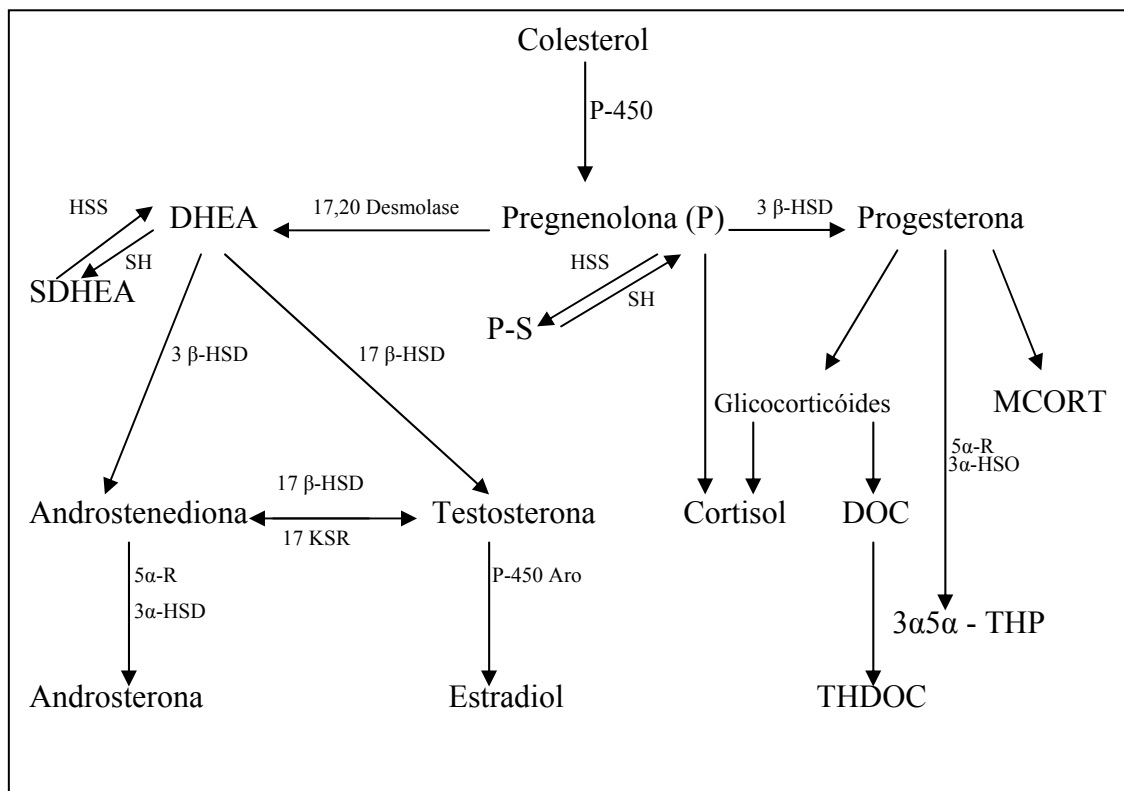
Tabela 02. Efeitos do uso crônico da DHEA e placebo na espermatogênese de ratos, avaliado pelo número de túbulos seminíferos com e sem espermatídes em fase de maturação.

Grupos	nº de túbulos (5 campos ópticos) (X ± DP)	nº de túbulos sem espermatídes (X ± DP)
Controle (n=9)	13,5 ± 1,4	0,06 ± 0,1
DHEA (n=15)	12,8 ± 1,8	0,22 ± 1,2

Teste t de Student; p>0.05.

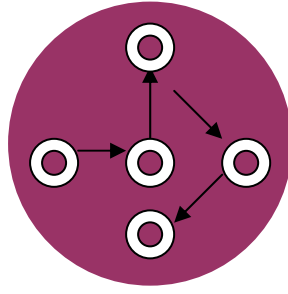
ANEXOS

Anexo I

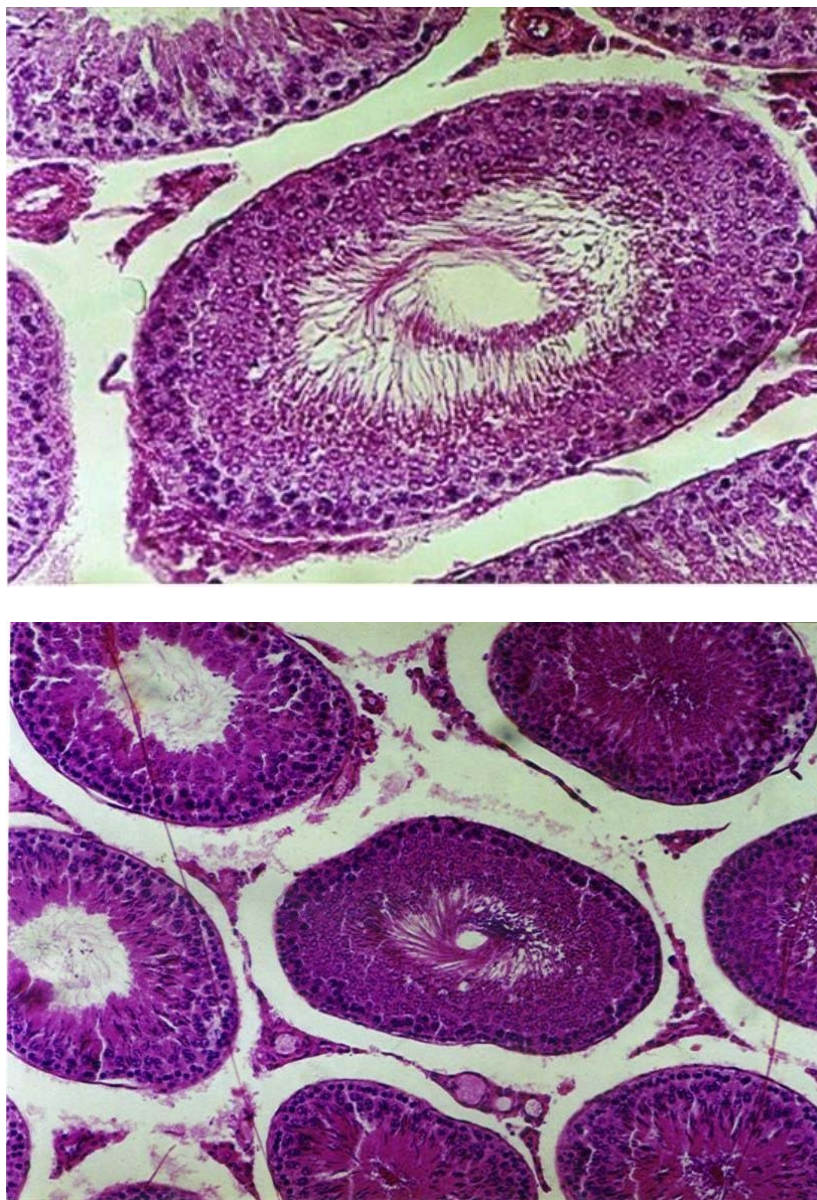


Aro = aromatase, DOC = deoxicorticosterona, HSD = hidroxisteróide dehidrogenase, HSO = hidroxisteróide oxireductase, HSS = hidroxisteróide sulfatase, KSR = cetosteróide redutase, MCORT= mineralocorticóides R = redutase, SH = sulfohidrolase, P-S = sulfato de pregnenolona, THDOC = tetrahydrodeoxicorticosterona, THP = tetrahidroprogesterona.

Anexo I - Fluxograma da síntese da dehidroepiandrosterona (DHEA), sulfato do DHEA (SDHEA), e outros esteróides.

Anexo II

Desenho esquemático, dos campos visuais para avaliação da espermatogênese.

Anexo III

Aparência normal de túbulos seminíferos e espermatozóides em testículos de ratos tratados com placebo. Hematoxilina-eosina 200x (a) e 400x (b).

Anexo IV

Figura a – Leve grau de atrofia prostática em ratos do grupo DHEA. Hematoxilina-eosina, 200x.

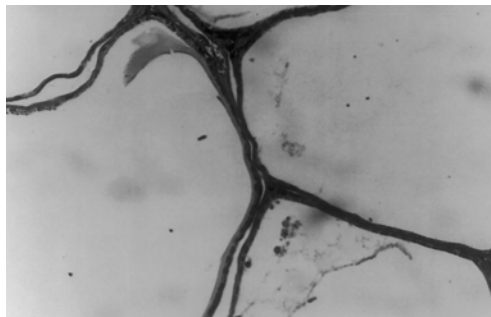


Figura b – Leve hiperplasia prostática em ratos do grupo DHEA. Hematoxilina-eosina, 200x.

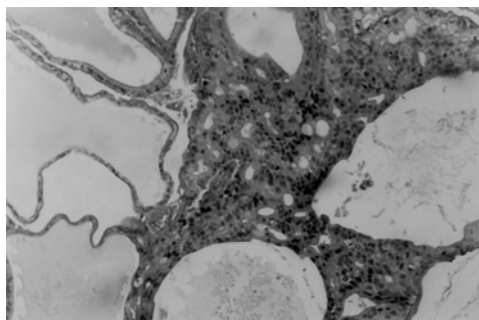


Figura c – Leve alterações no componente papilar prostático, em ratos do grupo controle. Hematoxilina-eosina, 200x.

