GRAZIELLE PEREIRA DE OLIVEIRA

**EFEITOS DO USO DECANOATO DE
NANDROLONA EM RATOS SUBMETIDOS AO
TREINAMENTO FÍSICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Interunidades em Bioengenharia - Escola de Engenharia de São Carlos / Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto / Instituto de Química de São Carlos - da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Bioengenharia.

Área de Concentração: Bioengenharia

Orientador: Prof. Dr. Vilmar Baldissera

**São Carlos
2008**

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Tratamento
da Informação do Serviço de Biblioteca – EESC/USP

O48e Oliveira, Grazielle Pereira de
 Efeitos do uso decanoato de nandrolona em ratos
 submetidos ao treinamento físico / Grazielle Pereira de
 Oliveira ; orientador Vilmar Baldissera. -- São Carlos,
 2008.

 Dissertação (Mestrado-Programa de Pós-Graduação e Área
 de Concentração em Bioengenharia) -- Escola de Engenharia
 de São Carlos/Faculdade de Medicina de Ribeirão
 Preto/Instituto de Química da Universidade de São Paulo,
 2008.

 1. Exercícios. 2. Nandrolona. 3. Hipertrofia.
I. Título.

Programa de Pós-Graduação Interunidades em Bioengenharia
EESC / FMRP / IQSC

GRAZIELLE PEREIRA DE OLIVEIRA
MESTRADO EM BIOENGENHARIA

DISSERTAÇÃO APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
INTERUNIDADES BIOENGENHARIA EESC/FMRP/IQSC DA UNIVERSIDADE DE
SÃO PAULO PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE.

Aprovada em: 10 / 11 / 2008

PROF. DR. VILMAR BALDISSERA (orientador)
Docente da Universidade Federal de São Carlos - UFSCar

PROF. DR. NIVALDO ANTONIO PARIZOTTO
Docente da Universidade Federal de São Carlos - UFSCar

PROF. DR. CLAUDIO ALEXANDRE GOBATTO
Docente da Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho"

Dedico este trabalho minha querida amiga Julia Sueko Iriyama (Juju) pelo apoio dado nos momentos difíceis, quando pensava em desistir de tudo, pelo incentivo a seguir em frente, pela compreensão e paciência e acima de tudo pela dedicação e esforços realizados durante todo este período de estudo.

Agradecimentos

São muitos os responsáveis por minha vitória, mas os que estão por trás dela nem sempre recebem seus méritos justos, e por saber de sua amizade e paciência que dedicaram seu tempo e compartilharam suas experiências para que minha formação fosse também um aprendizado de vida...gostaria de transmitir meus agradecimentos a todos que fazem parte desta história, que assim foram aparecendo:

A Deus, Agradeço-Te Pai, pois sou pequena, mas Tu tomas minhas responsabilidades, pois sou fraca, mas Tu me guias pela Tua forte mão. Minha fé é pequena, mas Tu fazes grandes maravilhas em minha e muitas vezes não me lembro de Ti, mas nunca esqueces de mim. Por tudo que tens feito por tudo que vais fazer e tudo que és quero te agradece com todo meu ser...

Aos meus pais, Porque de vocês recebi o dom mais preciso: a vida.

Aos meus queridos irmãos e sobrinhos, por compreenderem a distancia e ausência, amo vocês.

A Maria Auxiliadora, minha querida prima e sua família, que não mediram esforços para me encorajar nesta jornada e que me receberam em sua casa com tanto carinho e que nesta trajetória me conduziram para a vida acadêmica e foram exemplos de dedicação, doação, dignidade pessoal e, sobretudo amor.

Ao professor Vilmar Baldissera por ter me acolhido e depositado sua confiança. Pelo incentivo, ao crescimento profissional, pela paciência, amizade.

Aos professores e amigos Gilberto Ribeiro de Araújo Filho (GIBA), Fernando César e Carvalho Moraes (FER) e José Luís Finóchio (FIFO) pela constante motivação mesmo à distância, pelas oportunidades, pela amizade e pelo GEPEMENE. Vocês contribuíram para este trabalho do começo ao fim, não conseguiria caminhar se não fosse pela base sólida que me proporcionaram, MUITO OBRIGADA!

Ao professor Sérgio Eduardo de Andrade Perez, pelo encorajamento, amizade e confiança.

Aos meus amigos, aliás, mais que amigos, João Carlos e Paulo Henrique pela dedicação e carinho.

A Janete Ferreira Rodrigues dos Santos, secretária do Departamento de Bioengenharia – USP/EESC, que de maneira incansável e dedicada sempre me apoiou.

Aos amigos do Laboratório de Fisiologia do Exercício e todos os que por ali passaram durante este período, que só agora me dou conta de quantos foram nestes cinco anos em que aqui passei. Porém, há algumas que deixam marcas e ficam pra sempre, umas delas a nordestina “arretada de boa” e muito companheira Fabi e Josi que com carinho me ajudou na organização a referências bibliográficas do trabalho agradeço a Deus ter enviado vocês aqui. E não posso deixar de falar da Giovanna (GICA), com quem vivenciei e vivencio momentos muito agradáveis, desde a mesa “do boteco” no happy hour que por várias vezes tentamos promover com a turma do lab. e só a gente ia...rsrsrs...até a discussão de assuntos científicos.

Ao José Carlos Lopes (CACAU), querido amigo e técnico do laboratório que sempre me proporcionou aprendizado durante este período, você foi show!

Ao Professor Luciano Neder, que atenciosamente me acolheu no seu laboratório de Patologia da USP, permitindo que realizasse as técnicas histoenzimológicas e a “maravilhosa técnica” Maria Paula Scandar, obrigada pela colaboração, dedicação em me ensinar e ajuda no decorrer deste processo, sempre que solicitados.

Aos colegas da Bioengenharia, pelas horas de estudos e companheirismo.

Foi longa a jornada até que o primeiro experimento terminasse... “PRIMEIRO?” isso mesmo, não bastasse à labuta de tocar um experimento durante o mestrado, algo muito maior precisava ser aprendido... e foi iniciada uma nova coleta de dados e valeu a pena, pois neste novo recomeço encontrei novas pessoas ou melhor novos amigos.

A professora Ana Claudia e os amigos: Zé, Fernanda, Marcela, Toninho, do Laboratório de Nutrição e Metabolismo do DFMH-USFCar, pelo companheirismo, amizade e indispensável ajuda, sem vocês este projeto não teria sido concluído.

A professora Tânia Salvini por ter disponibilizado seu laboratório e por seu incentivo.

A professora Mônica e sua aluna Juliana, do Departamento de Engenharia Química – UFSCar.

A Talita Andrea Bordini Malamam, minha querida e incansável amiga, não mediu esforços e nem viagens pra estar ali sempre ao meu lado, e sua mãe, Tia Magali, afinal de contas são poucos os privilegiados a ter uma advogada como apoio constante numa jornada destas!

As companheiras e amigas, Carmen (nossa “ténica”), Milena e Rita, obrigada pelo apoio incansável para que este trabalho chegasse ao fim.

As queridas e sempre dispostas Daniela e Rosely no inicio as veterinárias deste projeto, hoje grandes amigas.

Aos amigos que mesmo distantes sempre estiveram muito presentes, principalmente minhas queridas Renata e Caroline. Obrigada pelas partilhas no *messenger*... Vocês são especiais pra mim!

Por fim a tão querida, acolhedora e especial “Família Portelinha”, assim designada, por possuir pessoas com peculiaridades incomparáveis e insubstituíveis, amo vocês. Muito obrigada pela paciência e carinho diante de minhas crises existenciais ao longo deste período.

*“Talvez não tenhamos conseguido fazer o melhor.
Mas lutamos para que o melhor fosse feito. Não
somos o que deveríamos ser não somos o que
iremos ser, mas graças a Deus não somos o que
éramos”.*

Martir Luther King

RESUMO

OLIVEIRA, G.P. **Efeitos do Uso Decanoato de Nandrolona em Ratos Submetidos ao Treinamento Físico.** 2008. 74p. São Carlos. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos/ Faculdade de medicina de Ribeirão Preto/ Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.

Altas doses de esteróides anabólicos androgênicos (EAA) são utilizadas, sem indicação terapêutica, por indivíduos que visam aumentar a força muscular ou melhorar a aparência física. Entretanto, os efeitos benéficos destas substâncias sobre o desempenho atlético são questionáveis, e sabe-se que esta prática é acompanhada de muitos efeitos colaterais. Este estudo teve por objetivo analisar as alterações histológicas e morfométricas das fibras do músculo sóleo e melhora no desempenho de ratos submetidos a um programa de treinamento físico, associado ou não à administração do esteróide anabólico decanoato de nandrolona. Os animais foram divididos em quatro grupos: sedentário + veículo (SC); treinado+veículo (TC); sedentário+EAA (SE); treinado+EAA (TE). Os animais foram tratados, por 4 semanas, com veículo (propilenoglicol, 0,2 mL/Kg) ou decanoato de nandrolona (Deca-Durabolin®, 5 mg/ Kg), i.m., 1 x/ semana. O treinamento físico foi realizado através de saltos em meio líquido (4 séries, 10 repetições, 60 segundos de intervalo entre as séries), 50-80% do peso corporal, 3 dias/semana, 4 semanas. Antes e após o treinamento os animais foram submetidos a um teste de fadiga. Após o sacrifício, o músculo sóleo direito foi retirado. Cortes do terço médio desse músculo foram feitos em micrótomo criostato e corados pela técnica HE. Os animais submetidos ao treinamento físico (TC) e (TE) apresentaram fibras musculares com maior área , quando comparados com os animais controle (SC e SE). Não foram observadas diferenças no desempenho entre os grupos. Os resultados sugerem que o treinamento físico produz hipertrofia de forma semelhante, tanto no grupo que recebeu EAA quanto no que recebeu óleo mineral. No entanto, o grupo TE apresentou sinais de maior degeneração.

Palavras-chaves: Exercício; Nandrolona; Hipertrofia.

ABSTRACT

OLIVEIRA, G.P. **Effects of the use of Nandrolona Decanoate in rats subjected to physical training.** 2008. 74p. São Carlos. Dissertation (Master) – Escola de Engenharia de São Carlos/ Faculdade de medicina de Ribeirão Preto/ Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.

High doses of anabolic androgenic steroids (AAS) are used without therapeutic indication in order to increase the muscle power or improve the physical appearance. However the beneficial effects of AAS on the athletic performance are still questionable and it is well established that AAS abuse is associated with many detrimental side-effects. The objective of this study was to analyze the histological and morphometrical alterations of the fibers from the soleum muscle and performance improvement of rats submitted to a physical training, associated not to the administration of the anabolic steroid decanoate of nandrolone. Male Wistar rats were divided into four groups: sedentary + vehicle (SC), trained +vehicle (TC), sedentary + AAS (SE) and trained + AAS (TE). The animals were treated for 4 weeks with vehicle (propyleneglycol, 0.2 mL/Kg) or nandrolone decanoate (Deca-Durabolin., 5 mg/Kg), i.m., 1x/ week. Training was performed by jumping into water (4 sets, 10 repetitions, 60 seconds rest), 50-80% body weight-load, 3 days/week, 4 weeks). Before and after training the animals were submitted a test of fatigue. After sacrifice, the right soleum muscle was removed. Third middle cuts of this muscle were made in microtome cryostat and stained through HE technique. The animals submitted to physical training (TC) and (TE) presented muscle fibers with bigger area when compared to the ones from the control group (SC and SE). Performance improvement of all experimental groups was not altered. The results suggest that physical training produces muscle hypertrophy similarly, not only in the group that received AAS, but also in the one that received mineral oil. However, the group TE presented signs of greater muscle degeneration.

Key words: Exercise; Nandrolone; Hypertrophy

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Biotransformação da testosterona.....	23
Figura 2- Grupos de EAA.....	24
Figura 3 - Estrutura hierárquica do músculo esquelético.	34
Figura 4 - Estrutura da fibra muscular.....	36
Figura 5– Amostra do colete confeccionado para ser utilizado no treino dos animais, com carga ajustada de acordo com peso o corporal do animal.	46
Figura 6 – Demonstração do colete acoplado ao corpo do animal.....	47
Figura 7 – Demonstração do período de repouso entre cada série do protocolo de treinamento.	48
Figura 8 – Demonstração dos animais sendo enxutos após sessão de treinamento.	48
Figura 9 - Retirada do tecido epitelial das regiões da perna e coxa.....	50
Figura 10 - Rebatimento do músculo gastrocnêmio para exposição do sóleo.	51
Figura 11 - Procedimento de retirada do músculo sóleo.	51
Figura 12 – Variação do Peso corporal (g).....	53
Figura 13 - Fotomicrografia da secção transversal da região mediana do m. sóleo de rato sedentário submetido à administração de óleo mineral. (HE 200x)	54
Figura 14 – Fotomicrografia da secção transversal da região mediana do m. sóleo de rato sedentário submetido à administração de esteróide.(HE 200x).	55
Figura 15- Fotomicrografia da secção transversal da região mediana do m. sóleo de rato treinado submetido à administração de óleo mineral.(HE 200x).	55
Figura 16 – Fotomicrografia da secção transversal da região mediana do m. sóleo de rato treinado submetido à administração de óleo mineral. (HE 500x).	56
Figura 17 – Fotomicrografia da secção transversal da região mediana do m. sóleo de rato treinado submetido à administração de esteróide(HE 200x).....	56
Figura 18 - Fotomicrografia da secção transversal da região mediana do m. sóleo de rato treinado submetido à administração de esteróide.(HE 500x).	57
Figura 19 – Medida da área de secção transversa (μm^2) de ratos tratados com veículo ou EAA sedentários ou submetidos ao treinamento, durante quatro semanas.....	58
Figura 20 - Relação peso do músculo / peso corporal(g) de ratos tratados com veículo ou EAA sedentários ou submetidos ao treinamento.	58
Figura 21 – Média e desvio padrão do numero de saltos pré e pós-treinamento.....	59

LISTA DE TABELA

Tabela 1– Protocolo de treinamento	47
Tabela 2- Concentração de lactato.	59

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1	Histórico dos esteróides anabólicos androgênicos	20
2.2	Características farmacológicas dos EAA	22
2.3	Indicações terapêuticas dos EAAs.....	25
2.4	Forma de uso por atletas	26
2.5	Efeitos desejáveis dos EAA	27
2.6	Principais efeitos adversos dos EAA.....	29
2.6.1	Efeitos no sistema reprodutivo.....	30
2.6.2	Efeitos hepáticos.....	30
2.6.3	Efeitos cardiovasculares	31
2.6.4	Efeitos psicológicos e comportamentais	32
2.6.5	Efeitos músculoesqueléticos.....	32
2.7	Estrutura e composição dos músculos esqueléticos	33
2.8	Tipos de fibras musculares	37
2.9	Adaptações do músculo ao exercício.....	38
2.10	O modelo de exercício em animais	41
3	OBJETIVO	43
4	Materiais e Métodos.....	44
4.1	Amostra.....	44
4.1.1	Grupos e Sequência Experimental	44
4.1.1.1	Grupo sedentário	45
4.1.1.2	Grupo treinado.....	45
4.1.1.3	Tratamento com EAA	45
4.2	Protocolo de treinamento	46
4.3	Teste de determinação de performance	49
5	Coleta do Material	50
5.1	Coleta do Músculo Sóleo	50

5.2	Obtenção dos Cortes e Análise Histoenzimológica	52
5.3	Análise Estatística.....	52
6	RESULTADOS.....	53
6.1	Peso Corporal	53
6.2	Análise Morfológica.....	54
6.3	Hipertrofia Muscular	57
6.4	Teste de determinação de performance	59
7	DISCUSSÃO	60
8	CONCLUSÕES	66
9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67
	ANEXOS	75

1 INTRODUÇÃO

Os esteróides anabólicos androgênicos (EAA) são substâncias sintéticas derivadas da testosterona que vêm despertando a atenção dos pesquisadores e de profissionais da área da saúde, devido a sua utilização irregular e em altas doses por atletas, estimadas entre 10 e 100 vezes maiores que a terapêutica (POPE, KATZ, 1988), com o objetivo de melhorar o desempenho físico e aumentar a massa muscular (LICHETENBELT et al., 2004; HALL, HALL, 2005;).

Essas substâncias aumentam a síntese de proteínas e o crescimento celular com pouco efeito androgênico (WAGNER, 1989). No entanto, o seu uso tem sido associado a efeitos colaterais indesejáveis no fígado, sistema cardiovascular, sistema reprodutivo e no estado psicológico do usuário (YESALIS, BAHRKE, 1995).

Quando utilizadas durante o treinamento físico, no aparelho locomotor, essas substâncias produzem aumento tanto da massa como da força muscular, além de reduzir o tempo de recuperação após o treinamento físico (WAGNER, 1989), características desejáveis para atletas de alto desempenho. A eficácia do ganho de força e do aumento da massa muscular promovida pelo uso de esteróides ainda é bastante controversa. Em animais, a combinação de esteróides anabolizantes e treinamento físico intenso não produziram aumento significativo na massa muscular quando comparado com animais submetidos somente a treinamento físico (AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE, 1987). Por outro lado, outros estudos relataram não só aumento da força muscular como também alto consumo de proteínas e calorias (HAUPT, ROVERE, 1984), havendo inclusive a suspeita de que os esteróides anabólicos produzem hipertrofia mesmo em músculos imobilizados (TAYLOR, BROOKS, RYAN, 1999). Segundo VAN BREDÁ et al. (1993), animais tratados com EAA apresentam aumento da concentração da enzima glicogênio sintetase I e desta maneira das reservas de glicogênio no músculo sóleo. Estudos desenvolvidos por Cunha (2003) demonstraram que ratos sedentários tratados com nandrolona por seis semanas também apresentaram aumento das concentrações de glicogênio no músculo sóleo, porém, quando o treinamento físico resistido foi associado não houve efeito adicional sobre este parâmetro (CUNHA et al., 2003; CUNHA 2004).

Entretanto, cabe salientar que ainda não existe um consenso a este respeito, dado as controvérsias presentes na literatura. Modelos de exercício físico para animais de laboratório são ferramentas úteis do ponto de vista de investigação científica, já que facilitam a análise de componentes ou funções orgânicas difíceis de serem observadas em seres humanos em função de aspectos éticos e de saúde, permitindo assim um estudo mais profundo das respostas a diferentes estímulos, como por exemplo, à atividade física e os efeitos de diferentes drogas farmacológicas. Contudo, protocolos de exercícios físicos anaeróbios, intermitentes e de alta intensidade para animais têm sido investigados com menor frequência que os modelos aeróbios, sendo que há poucos estudos envolvendo este tipo de atividade apresentam resultados contraditórios e inconsistentes (CUNHA, 2004).

Considerando que o treinamento resistido de saltos com sobrecarga em meio líquido é um dos modelos empregados para o estudo das respostas fisiológicas frente ao exercício (VOLTARELLI et al., 2002), que o músculo sóleo é um dos principais músculos utilizados durante o mesmo (TAMAKI et al., 2000) e que a relação entre o uso de doses suprafisiológicas de EAA e os efeitos do treinamento sobre os processos hipertrofia muscular ainda não estão claros (WILSON, 1988; ELASHOFF et al., 1991; KUHN, 2002), o objetivo do presente estudo foi avaliar em ratos os efeitos da administração de decanoato de nandrolona em doses suprafisiológicas e do treinamento físico resistido sobre as respostas hipertróficas do músculo sóleo, massa corporal e melhora do desempenho.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Histórico dos esteróides anabólicos androgênicos

Os esteróides anabólicos androgênicos (EAA) são derivados sintéticos do hormônio masculino testosterona. A testosterona é sintetizada e secretada pelas células intersticiais de Leydig nos testículos. Sua secreção ainda na fase embrionária é determinada pelo cromossomo masculino e determina a formação das características sexuais primárias como a formação do pênis e da bolsa escrotal, além da próstata, vesículas seminais e ductos genitais masculinos. Além disso, a testosterona suprime a formação dos órgãos genitais femininos (GUYTON; HALL, 2002). Após o nascimento, não há produção de testosterona que somente volta a ser produzida durante a puberdade, por volta dos 10 a 13 anos. Nesse período, a produção de testosterona aumenta rapidamente, sob o estímulo dos hormônios gonadotrópicos da hipófise anterior e determina as características sexuais secundárias como a distribuição típica dos pelos no homem, a voz torna-se mais grave, e aumento da incidência de acne. Esses efeitos citados anteriormente são considerados os efeitos androgênicos da testosterona; ela ainda atua no aumento da massa muscular, pelo aumento da síntese de proteínas, produz um efeito no crescimento ósseo, aumentando a quantidade de matriz óssea e a deposição de sais de cálcio, além no aumento do número de eritrócitos. Esses efeitos são listados como efeitos anabólicos da testosterona (GUYTON; HALL, 2002).

Por volta de 1900 várias tentativas foram realizadas para a obtenção de uma substância com o mesmo potencial da testosterona. No final da década de 20 um extrato de testosterona ativa se tornou disponível e a produção dos androgênios sintéticos foi possível em 1935 (LISE *et al*, 1999; HARTGENS; KUIPERS, 2004). Durante a 2ª Guerra Mundial foi utilizada pelas tropas alemãs para aumentar a agressividade dos soldados. Seu uso terapêutico nesse período restringia-se ao tratamento de pacientes queimados, deprimidos ou em recuperação de grandes cirurgias. Na década de 50, foi utilizada sob a forma oral e injetável no tratamento de alguns tipos de anemia, em doenças com perda muscular e ainda em pacientes pós-cirúrgicos para diminuir a atrofia muscular secundária (LISE *et al*, 1999).

Em 1939 foi sugerido que a administração dos EAA poderia melhorar o desempenho de atletas. O primeiro caso documentado do uso de esteróides anabólicos no esporte ocorreu em 1954 no campeonato mundial de levantamento de peso em Viena por atletas russos (LISE *et al*, 1999; MOTTRAM, GEORGE, 2000; HARTGENS, KUIPERS, 2004). O uso dessas substâncias tornou-se difundido, principalmente nos Estados Unidos onde vários atletas passaram a utilizar a droga para vencer competições. Nesse período o abuso no uso dessas drogas no esporte começou a se espalhar e até a década de 70 não havia métodos efetivos disponíveis para a detecção dessas substâncias (THIEN *et al*, 1995; MOTTRAM, GEORGE, 2000). Em 1968 o Comitê Olímpico Internacional (COI) introduziu a definição de doping e desenvolveu uma lista de substâncias proibidas. Com o aperfeiçoamento nas técnicas de detecção dos EAA, usando espectrometria de massa e cromatografia de gases, eles puderam ser diferenciados dos hormônios endógenos e em 1976 eles foram adicionados à lista das substâncias banidas pelo COI. Isso resultou na desclassificação de 19 atletas nos jogos Pan-americanos de 1983, além do resgate de medalhas em jogos olímpicos, como a da medalha de ouro do atleta canadense Ben Johnson nas olimpíadas de Seul em 1988 (THIEN *et al*, 1995; MOTTRAM, GEORGE, 2000; DAWSON, 2001).

Entretanto o abuso dessas substâncias não está limitado aos atletas de elite, mas é também uma prática comum entre os atletas amadores e os ditos recreacionais, aqueles que freqüentam academias de musculação. Outro fator indutor do uso de esteróides são os casos de dismorfia muscular, essa doença é mais freqüente em homens, mas aparece também em mulheres. Como a anorexia, a dismorfia está relacionada com a insatisfação desses indivíduos com o corpo, porém nesse caso os jovens buscam tornar seus corpos grandes e musculosos. Para tanto eles aumentam o volume e a carga de treino nas academias, controlam a dieta, mas continuam se achando pequenos e fracos. Essas pessoas evitam lugares como piscina, praia, onde seus corpos ficam expostos. Essa obsessão pelo corpo perfeito, com músculos definidos leva esses indivíduos a fazerem uso de anabolizantes (CHUNG, 2001; CHOI, POPE JR, OLIVARDIA, 2002).

2.2 Características farmacológicas dos EAA

A biossíntese de testosterona ocorre nas células de Leydig dos testículos e nas glândulas adrenais (MOTTRAM, GEORGE, 2000). As células de Leydig são estimuladas pelo hormônio luteinizante (LH) hipofisário, também conhecido como hormônio estimulante das células intersticiais (ICSH). Dessa forma a quantidade de testosterona secretada aumenta aproximadamente de forma proporcional à quantidade de ICSH disponível. Altos níveis de testosterona secretados podem também inibir a secreção de ICSH pela hipófise anterior. Essa inibição é em grande parte devida ao efeito direto da testosterona sobre o hipotálamo, diminuindo a secreção do hormônio liberador de gonadotropinas (GnRH). Isso, por sua vez, causa a diminuição correspondente de ICSH e de hormônio folículo-estimulante (FSH) pela hipófise anterior. Sendo assim, sempre que a secreção de testosterona estiver alta ocorrerá esse efeito de retroalimentação negativa, operado através do hipotálamo e da hipófise anterior a fim de reduzir a secreção de testosterona para os níveis desejados. Por outro lado, quando as concentrações plasmáticas de testosterona são baixas, o hipotálamo é estimulado para secretar GnRH, com aumento correspondente na secreção de LH e FSH e conseqüente aumento da secreção de testosterona pelos testículos. Nas mulheres há uma pequena produção desses hormônios apenas pelas glândulas adrenais (SILVA, DANIELSKI, CZEPIELEWSKI, 2002).

A testosterona é um hormônio esteróide sintetizado a partir da molécula de colesterol que, após várias oxidações formará a pregnolona. Esta é o principal precursor da testosterona e durante a conversão, ocorre a formação de desidroepiandrosterona (DHEA) e de androstenediona (SILVA; DANIELSKI; CZEPIELEWSKI, 2002). Posteriormente a testosterona é convertida, através de uma reação de redução, em 5α -diidrotestosterona (DHT). A DHT é produzida no trato reprodutivo e no cérebro pela ação da enzima 5α -redutase e possui propriedades androgênicas. As genitálias externas, a próstata, as vesículas seminais e o crescimento secundário de pelos são mais sensíveis ao DHT do que a testosterona.

A testosterona e alguns dos seus derivados sintéticos podem ser convertidos em estradiol pela enzima aromatase no cérebro e no tecido adiposo (SHAHIDI, 2001; MOTTRAM, GEORGE, 2000).

A testosterona é transportada pela corrente sanguínea por proteínas carreadoras, do sítio de produção até os tecidos-alvos, aonde penetra pela membrana das células, se liga a receptores androgênicos citoplasmáticos e no núcleo ativa os chamados elementos de resposta ao androgênio em cromossomos particulares e leva a mudanças na expressão gênica e no metabolismo (MOTTRAM, GEORGE, 2000).

A concentração plasmática de testosterona no homem adulto normal varia de 300 a 1.000 ng/dl e a taxa de produção diária está entre 2,5 e 11 mg. A meia vida da testosterona livre é de 10-21 minutos, no fígado ela é convertida de volta em androstenediona e seus metabólitos (epiandrosterona, androsterona ou etiocholanona) são excretados na urina (SILVA, DANIELSKI, CZEPIELEWSKI, 2002; MOTTRAM, GEORGE, 2000).

A figura 1 demonstra a biotransformação da testosterona.

Figura 1 – Biotransformação da testosterona. A figura ilustra as principais transformações sofridas pela molécula de testosterona no organismo (SHAHIDI, 2001).

Os esteróides anabólicos sintéticos são todos derivados da testosterona e atuando nos receptores androgênicos provocam efeitos tanto anabólicos como

androgênicos. Eles são produzidos por indústrias farmacêuticas e também existem laboratórios ilegais que garantem a comercialização dessas drogas no chamado “mercado negro” (LISE et al, 1999). Mais de 100 esteróides sintéticos vem sendo desenvolvido. A manipulação da molécula de testosterona por esses laboratórios tem como finalidade formar compostos com maior atividade anabólica do que androgênica. As modificações estruturais geraram três grupos de derivados. O grupo A é composto pelos ésteres do grupo 17 β (cipionato de testosterona, propionato, enantato e undecanoato), e a esterificação retarda a sua liberação para a circulação, prolongando sua ação. Todos esses compostos exceto undecanoato devem ser administrados na forma injetável. Ésteres de nandrolona 17 β -esterificados também são comercialmente disponíveis. No grupo B estão os alquilados na posição 17 α (metiltestosterona, metandrostenolona, nortrandolona, fluoximesterona, danazol, oxandrolona e estanozol), derivados que resistem ao metabolismo hepático, portanto são ativos quando administrados oralmente. A modificação está associada a níveis elevados de hepatotoxicidade. O grupo C compreende os que sofreram alterações nos anéis A, B ou C da molécula de testosterona, demonstrados na figura 2. Estas modificações conferem a esses EAA características tais como: lenta metabolização, afinidade aumentada pelo receptor androgênico e resistência à formação de estradiol pela reação de aromatização (LISE et al, 1999; SHAHIDI, 2001; KUHN, 2002; CUNHA et al, 2004).

Figura 2- Grupos de EAA. A figura mostra as principais transformações na molécula de testosterona que originam seus derivados sintéticos. Os EAA do tipo A são do grupo dos 17 β -esterificados, os do tipo B formam o grupo dos 17 α -alquilados e os do tipo C são os que sofrem alterações nos anéis A, B e C da molécula original (MOTTRAM; GEORGE, 2000).

Um dos esteróides anabólicos mais utilizados é o decanoato de nandrolona que começou a ser comercializado em 1962. Essa substância é formada pela esterificação de um grupo 17α -hidroxil com o ácido decanóico, um ácido graxo de cadeia longa. Essa droga é liberada lentamente na corrente sanguínea após sua injeção intramuscular, exercendo sua atividade anabólica ótima acima de seis a sete dias. Ela possui grande atividade anabólica e sua atividade androgênica é menor do que a da testosterona (MOTTRAM, GEORGE, 2000; SHAHIDI, 2001; CUNHA et al., 2004). O decanoato de nandrolona é classificado como não-aromatizável, devido a sua baixa taxa de conversão a estrogênio, reduzindo os efeitos feminilizantes indesejáveis recorrentes do uso prolongado ou em doses suprafisiológicas desse esteróide (MOTTRAM; GEORGE, 2000; KUHN, 2002; CUNHA et al, 2004).

2.3 Indicações terapêuticas dos EAAs

No final da 2ª Guerra Mundial os androgênios eram utilizados no tratamento de pacientes em condições terminais ligadas a debilidade crônica, e ainda em queimaduras, na depressão e em períodos pós-operatórios.

A administração de EAA é indicada, segundo a FDA (Food and drug administration), no tratamento de hipogonadismo nos homens para o aumento da concentração de testosterona e derivados essenciais ao desenvolvimento e manutenção das características sexuais masculinas (BHASIN, BREMNER, 1997; SILVA, DANIELSKI, CZEPIELEWSKI, 2002). O hipogonadismo pode ocorrer devido à disfunção nas gônadas (hipogonadismo primário) ou no eixo hipotálamo-hipofisário (hipogonadismo secundário) (GOMES et al., 2005). O tratamento com essas substâncias é recomendado também nos casos de puberdade e crescimento retardados, micropênis neonatal, deficiência androgênica parcial em homens idosos ou no tratamento da deficiência androgênica secundária a doenças crônicas (SILVA, DANIELSKI, CZEPIELEWSKI, 2002).

Alguns cientistas têm estudado o efeito do uso de baixas doses de esteróides anabólicos por via transdérmica para o tratamento de doenças cardiovasculares. Eles demonstraram que essas substâncias podem ter efeitos

antiaterogênicos e como agentes antianginosos. Entretanto esses estudos não são ainda conclusivos (ENGLISH et al., 2000; FINESCHI et al., 2001).

Os EAA têm sido utilizados no tratamento da sarcopenia relacionada a pacientes HIV-positivos, hipogonadais e eugonadais. Nesses estudos foi observado que o uso dessas substâncias foi efetivo para o aumento da massa muscular, restaurando a libido e a energia e aliviando o temperamento depressivo desses indivíduos (RABKIN, WAGNER, RABKIN, 2000; GRINSPOON et al, 2000). Eles são também utilizados no tratamento de sarcopenia em pacientes que recebem diálise. Além da perda de massa muscular esses pacientes sofrem de fadiga e subnutrição. O uso de EAA nesses indivíduos levou ao aumento da massa corporal magra, a redução significativa no sintoma de fadiga com a diminuição do tempo em que esses pacientes levavam para caminhar e subir escada (JOHANSEN, MULLIGAN, SCHAMBELAN, 1999).

Um dos efeitos do EAA é o aumento na produção de células vermelhas do sangue (eritropoiese) e com isso são utilizados no tratamento de diversos tipos de anemia aplástica, refratária, por falência da medula óssea, mielofibrose e em doenças renais. Eles podem também ser utilizado no tratamento de insuficiência renal aguda, pois diminuem a produção de uréia e reduzem a necessidade de se realizar diálises diárias nesses pacientes (LISE et al, 1999; NAVARRO et al, 2002).

2.4 Forma de uso por atletas

Os EAA podem ser administrados por via oral, via injeção intramuscular e existem ainda alguns na forma de géis e cremes que são aplicados na pele. Atletas que fazem uso dessas substâncias geralmente utilizam doses de 10 a 100 vezes maiores do que aquelas administradas em condições terapêuticas (LISE et al., 1999; SANTOS, 2007).

Alguns termos se tornaram comuns entre os atletas que fazem uso de esteróides anabólicos, decorrentes da experiência prática e não de pesquisas científicas. A acumulação ou combinação “stacking” se refere ao uso de duas ou mais drogas ao mesmo tempo geralmente em ciclos balanceados de cada uma delas. O termo “ciclando” trata-se do período que o esteróide está sendo usado, e

correspondem ao ciclo, intervalo de tempo e a dosagem. Os atletas geralmente fazem ciclos de 4 a 12 semanas. Alguns ajustes são feitos durante o ciclo para evitar a estabilização de uma ou duas drogas, muitas vezes eles optam pelo abandono, substituindo por outra. A diminuição se refere à redução gradativa e “segura” para a finalização de um ciclo, de modo que o corpo volte aos poucos a produzir naturalmente a testosterona. (SAFIRSTEIN, ROSEN, 2003; BERNSTEIN, EVANS, 2004; SAFIRSTEIN, ROSEN, 2004; CALFEE, FADALE, 2006; SANTOS, 2007)

Para evitar a detecção nos testes antidoping, as técnicas mais utilizadas são: a) o empilhamento, quando há a utilização de mais de uma droga concomitantemente e/ou a combinação do uso oral e injetável; b) a pirâmide, em que o esteróide anabólico é iniciado em baixa dosagem com aumento até 10-100 vezes do valor inicial atingindo um pico, com retorno gradual as doses iniciais; c) os ciclos, onde há o uso por seis a doze semanas, interrupção por três a quatro semanas e repetição do ciclo com suspensão do uso com algumas semanas antes da competição; e d) mista, uma combinação dessas técnicas (LISE et al, 1999; SANTOS, 2007).

Algumas vezes antes, durante ou após um ciclo, os usuários fazem uso de algumas substâncias com a intenção de reverter os efeitos colaterais dos EAA. Entre elas estão: Novaldex, um antiestrógeno, para evitar a aromatização dos esteróides e conseqüentemente o efeito de ginecomastia; Profasi (gonadotrofina coriônica humana), com a função de estimular, no final do ciclo, a produção natural de testosterona e evitar a atrofia dos testículos; Evening primrose oil, rico em gorduras essenciais ao fígado, que são depletadas com o uso de esteróides; Proviron, também utilizada na tentativa de redução da ginecomastia (SANTOS, 2007).

2.5 Efeitos desejáveis dos EAA

Os fisiculturistas usam esteróides anabólicos com a finalidade de aumentarem sua massa muscular e diminuir a gordura corporal. Os levantadores de peso desejam aumentar sua força com o objetivo de suspender a maior quantidade de peso possível. Os nadadores e corredores esperam ser capazes de executar suas tarefas de maneira freqüente, em alta intensidade e longa duração sem que

haja prejuízos ao organismo. De uma forma geral, atletas de diferentes modalidades de esporte fazem uso dos EAA procurando melhorar o desempenho para as tarefas que lhes são requeridas (BAHRKE; YESALIS, 2004).

Os EAA agem nos receptores androgênicos no citoplasma das células dos tecidos-alvo. A ligação dessas moléculas aos receptores provoca efeitos anabólicos e androgênicos nesses tecidos. Os efeitos anabólicos são os requeridos pelos usuários de EAA, porém os efeitos androgênicos não estão dissociados dessas substâncias (LISE et al, 1999). A concentração dos receptores androgênicos varia de um grupo muscular para outro. Em humanos, os músculos da parte superior dos braços, peito e costas, são mais responsivos ao EAA do que outros músculos (SILVA; DANIELSKI; CZEPIELEWSKI, 2002).

Entre os efeitos anabólicos dos EAA estão: o aumento da massa muscular, da concentração de hemoglobina, do hematócrito, da retenção de nitrogênio, da reposição de cálcio nos ossos e diminuição das reservas de gordura do corpo (LISE et al, 1999). Dentre os mecanismos anabólicos responsáveis pelo aumento da massa muscular estão: aumento da síntese protéica via RNA mensageiro; o aumento da força de contratilidade da célula muscular pelo armazenamento de fosfocreatina; o balanço nitrogenado positivo; aumento da retenção de glicogênio no músculo; maior captação de aminoácidos importantes na construção da massa muscular; e bloqueio da ação do cortisol, hormônio catabólico liberado por fatores de estresse (LISE et al, 1999; SANTOS, 2007).

Estudos bioquímicos e anatômicos mostraram que os EAA influenciam significativamente a morfologia e bioquímica do músculo em humanos. O peso corporal de fato aumenta após o uso de EAA e isso se deve em parte pelo aumento na massa corporal magra, mas também é um reflexo da retenção de água (KUHN, 2002).

Estudos encontraram uma redução na massa corporal gorda em animais e os atletas então concluíram que isso deveria ocorrer também em humanos. No entanto as mudanças na massa gorda podem ser atribuídas ao aumento da massa corporal magra (HARTGENS, KUIPERS, 2004).

A principal razão para o uso de EAA por atletas é para o incremento na força e na massa muscular. BHASIN et al (1996) estudaram os efeitos da administração

de testosterona exógena, com ou sem acompanhamento de um programa treinamento de força, no tecido muscular de homens eugonadaís. Através do uso da medida de imagens de ressonância magnética eles observaram que dez semanas de administração de testosterona (600 mg/semana) poderia levar a um acréscimo da área dos músculos bíceps braquial e quadríceps. Os ganhos na massa muscular foram maiores quando a administração da testosterona foi combinada com o treino de força. Em outro estudo, diferentes dosagens de testosterona (25, 50, 125, 300 e 600 mg/semana) foram administradas por dez semanas em voluntários não treinados. Os efeitos encontrados no volume do músculo quadríceps foi dose dependente (BHASIN et al, 2001).

Como já foi descrito, a administração de EAA aumenta a concentração de hemoglobina no soro (HARTGENS; KUIPERS, 2004). ALÉN (1985) descreveu o aumento da concentração de hemoglobina no soro, do hematócrito, do número de células sangüíneas brancas e plaquetas em atletas após seis meses de administração de EAA em altas doses. Entretanto não foi relatado o aumento no desempenho de atletas de endurance com o uso de EAA. Um estudo em ratos mostrou que a administração de decanoato de nandrolona associada ao treino em esteira não melhorou o desempenho, o VO₂ máximo e a capacidade do sangue em transportar o oxigênio não foram alteradas (GEORGIEVA, BOYADJIEV, 2004).

2.6 Principais efeitos adversos dos EAA

Apesar da insistência no relato dos efeitos nocivos à saúde do uso de EAA, há muitos relatos na literatura indicando que um número substancial de atletas aceita esse risco e continuam utilizando esse tipo de droga (HARTGENS, KUIPERS, 2004). Para HARTGENS e KUIPERS (2004) a maioria dos estudos não foi capaz de extrapolar as conseqüências do uso de EAA na vida real e esses efeitos podem ser mais pronunciados do que os demonstrados em laboratório. Os efeitos adversos provocados pelo uso de EAA estão relacionados ao tipo de substância utilizada, a dose, freqüência de uso, a idade, e o uso concomitante de várias dessas drogas. (BAHRKE, YESALIS, 2004; MARAVELIAS et al., 2005). Estudos em laboratório e clínicos têm mostrado sérias mudanças nos fatores de risco para doenças cardiovasculares, tumores no fígado e infertilidade, e ainda alterações fisiológicas de

diversos órgãos e sistemas, sugerindo possíveis problemas de saúde subseqüentes. Efeitos psíquicos e de comportamento, alterações na próstata e na função imune também são áreas pesquisadas (BAHRKE, YESALIS, 2004).

2.6.1 Efeitos no sistema reprodutivo

Visto que os EAAs são derivados da testosterona eles exercem efeitos importantes no sistema reprodutivo e nos hormônios sexuais. A administração de EAAs provoca distúrbio na produção endógena de testosterona e gonadotrofinas (LH e FSH). A supressão da produção desses hormônios induz a atrofia testicular, reduz a produção e a qualidade do sêmen, e também a quantidade e mobilidade dos espermatozóides. Alguns tipos de EAA podem sofrer aromatização em estrogênio e produzir ginecomastia (desenvolvimento da mama) em homens (BAHRKE, YESALIS, 2004; EVANS, 2004; HARTGENS, KUIPERS, 2004; MARAVELIAS et al, 2005). Nas mulheres o uso de EAA causa alguns efeitos masculinizantes como, aumento de pêlos faciais, engrossamento da voz, hipertrofia do clitóris, alterações no ciclo menstrual, queda de cabelo, redução dos seios, hirsutismo (crescimento de pêlos em locais caracteristicamente masculinos). Alguns desses efeitos se tornam irreversíveis mesmo após a suspensão do uso (BAHRKE, YESALIS, 2004; EVANS, 2004; HARTGENS, KUIPERS, 2004; MARAVELIAS et al, 2005).

2.6.2 Efeitos hepáticos

A estrutura e a função do fígado são alteradas pelo uso dos EAAs. As disfunções hepáticas estão normalmente associadas com os esteróides 17- α alquilado que são formas de administração oral e a extensiva metabolização dessas formas leva a significantes efeitos hepatotóxicos. Há o aumento do risco de hepatite peliosis. Essa forma rara de hepatite é caracterizada pela formação de múltiplos cistos cheios de sangue dentro do fígado, os quais podem ser fatais. A icterícia colestática pode ocorrer ocasionalmente com o uso de esteróides, mas pode ser resolvida após a suspensão do uso da droga. Alguns óbitos entre atletas com histórico de uso extensivo de EAAs já ocorreram devido ao aparecimento de carcinoma hepatocelular ou da ruptura de tumores hepáticos (THEIN, THEIN,

LANDRY, 1995; BAHRKE, YESALIS, 2004; VELAZQUEZ, ALTER, 2004; MARAVELIAS et al, 2005).

2.6.3 Efeitos cardiovasculares

O abuso de EAA tem sido associado com a ocorrência de sérios efeitos cardiovasculares, incluindo o desenvolvimento de cardiomiopatias, fibrilação atrial, acidente vascular cerebral, infarto do miocárdio, distúrbios do sistema hemostático (trombose ventricular e embolia sistêmica) e falência aguda do coração. As pesquisas têm focado na avaliação dos fatores de risco para doenças cardiovasculares, como hipertensão, alteração do perfil lipoprotéico, e no exame da estrutura e do funcionamento cardíaco para avaliar como os EAA podem afetar o sistema cardiovascular (HARTGENS, KUIPERS, 2004).

Vários estudos têm demonstrado significativa diminuição nos níveis de HDL (lipoproteína de alta densidade) e aumento nos níveis de LDL (lipoproteína de baixa densidade) com o uso de EAA. A diminuição dos níveis de HDL se deve a ação da enzima HTGL (triglicerídeo lipase hepática) (SHAIDI, 2001; HARTGENS KUIPERS, 2004). HARTGENS et al. (2004) relataram que a administração de vários EAA simultaneamente, durante 14 semanas, produziu profundos efeitos desfavoráveis nos lipídios e lipoproteínas, levando a um aumento no perfil lipídico aterogênico. Essas mudanças persistem ainda após a interrupção do uso e a normalização depende do tempo de utilização dessas drogas.

A hipertensão tem sido relacionada com o uso de EAA, porém os dados da literatura ainda são inconclusivos. O aumento da pressão arterial que ocorre nesses casos parece ser pequeno e transitório, indicando que o impacto na saúde dos atletas pode ser pequeno (HARTGENS, KUIPERS, 2004; URHAUSEN, ALBERS KINDERMANN, 2004). O uso de esteróides anabólicos tem sido relacionado a mudanças irreversíveis no miocárdio tais como a hipertrofia concêntrica do ventrículo esquerdo. NIEMINEN et al (1996) analisando quatro pacientes os quais treinavam e fizeram uso de EAA por muitos anos, encontraram em todos eles hipertrofia cardíaca anormal. Em dois casos dos quais eles fizeram biopsia foi encontrada uma fibrose difusa no miocárdio. Dois dos pacientes apresentavam sinais de insuficiência

cardíaca, e outros dois mostraram falhas no fluxo ou perfusão coronária. Foram verificados também dois diferentes efeitos adversos potencialmente letais, arritmia ventricular maligna e trombose cardíaca.

2.6.4 Efeitos psicológicos e comportamentais

A testosterona per se não causa mudanças no comportamento. Ela pode alterar a probabilidade de um comportamento particular ocorrer na presença de um estímulo específico. Os hormônios sexuais podem influenciar regiões do sistema nervoso central (SNC) os quais contem receptores de hormônios. Os androgênios têm um papel crítico no comportamento masculino, embora isso seja profundamente influenciado por fatores intrapsíquicos, sociais, somáticos e culturais (CHRISTIANSEN, 2001). Os principais efeitos psicológicos relacionados aos EAA já relatados são agressividade, euforia, depressão, alterações no humor e na libido, e até alucinações (psicose) (THEIN, THEIN, LANDRY, 1995; MARAVELIAS et al., 2005). O aumento na agressividade parece ser dose dependente e os efeitos podem não ser uniformes em todos os indivíduos (POPE JR, KOURI, HUDSON, 2000; CHRISTIANSEN, 2001).

A suspensão do uso de EAA pode levar a alguns sintomas de dependência como ansiedade, irritabilidade, insônia, calor intenso, suor, calafrios, anorexia, náusea, vômito, taquicardia, hipertensão e acredita-se que esteja relacionado com a interrupção após o uso em altas doses (MARAVELIAS et al., 2005).

2.6.5 Efeitos músculoesqueléticos

O uso de substâncias androgênicas em crianças pode levar ao fechamento prematuro das epífises o que resultaria na diminuição do crescimento e conseqüentemente da altura na idade adulta (SHAHIDI, 2001).

O aumento de danos no músculo e no tendão tem sido notado em usuários de EAA. Acredita-se que a sobrecarga nos tendões causada pelo aumento da força muscular com o uso de EAA e o treinamento pode levar a ruptura do tendão (MARAVELIAS et al., 2005). Além disso, o uso de esteróides combinado com o

treinamento pode causar alterações estruturais e biomecânicas no tendão (VISURI, LINDHOLM, 1994). Vários trabalhos têm relatado casos de rompimento do tendão em atletas que usaram EAA por longos períodos. DAVID et al (1995) em um estudo de caso relataram o rompimento dos tendões de ambos os músculos quadríceps de um fisiculturista que confirmou ter administrado EAA em doses muito maiores do que as indicadas para uso terapêutico. VISURI e LINDHOLM (1994) encontram também um paciente com ruptura do tendão distal do músculo bíceps braquial. Esse indivíduo foi fisiculturista e se auto-administrava um coquetel de compostos anabólicos em alta dosagem e por longo período.

2.7 Estrutura e composição dos músculos esqueléticos

Os músculos estriados esqueléticos são formados por feixes de células cilíndricas, muito longas e multinucleadas que apresentam estriações transversais e com um diâmetro que varia de 10 a 100 micrômetros, chamadas fibras musculares. As células musculares têm origem mesodérmica e sua diferenciação ocorre principalmente devido a um processo de alongamento gradativo, com simultânea síntese de proteínas filamentosas. Em um músculo, os feixes de fibras musculares estão agrupados organizadamente em feixes envolvidos por uma membrana externa de tecidos conjuntivos, chamados epimísio. Dele partem septos muito finos de tecido conjuntivo, que se dirigem para o interior do músculo, dividindo-o em fascículos. Esses septos são denominados perimísio. Cada fibra muscular, por sua vez, é envolvida por uma camada muito fina de fibras reticulares formando o endomísio. As fibras musculares se adelgaçam nas extremidades, observando-se a transição gradual de músculo para tendão. Os vasos sanguíneos penetram no músculo através dos septos de tecido conjuntivo e formam uma rica rede de capilares que correm entre as fibras musculares (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1990; McARDLE; KATCH; KATCH, 2001; GUYTON, HALL, 2002).

O tecido conjuntivo mantém as fibras musculares unidas, permitindo que a força de contração gerada por cada fibra individualmente atue sobre o músculo inteiro, contribuindo para a sua contração. Por intermédio do tecido conjuntivo a força de contração do músculo se transmite a outras estruturas como tendões, ligamentos, aponeuroses e ossos (GUYTON, HALL, 2002).

A figura 3 mostra a estrutura do músculo esquelético.

Figura 3 - Estrutura hierárquica do músculo esquelético. A figura acima mostra a relação entre as fibras musculares, os feixes de fibras musculares e o músculo. Essas estruturas são delimitadas respectivamente pelas membranas denominadas endomísio, perimísio e epimísio (http://academic.kellogg.cc.mi.us/herbrandsonc/bio201_McKinley/f10-a_structuralorgan_c.jpg).

A fibra muscular é delimitada por uma membrana, o sarcolema, e seu citoplasma apresenta-se preenchido principalmente por fibrilas paralelas, as miofibrilas. Estas estruturas são cilíndricas, apresentam um diâmetro de 1 a 2 μm e correm longitudinalmente à fibra muscular. Ao microscópio óptico aparecem com estriações transversais pela alternância de faixas claras, não coradas com hematoxilina e escuras, coradas com hematoxilina. Ao microscópio de polarização, a faixa escura é anisotrópica, duplamente refratável (birrefringente), e recebe o nome de banda A, enquanto a faixa clara, ou banda I, é isotrópica, refratável uma única vez. No centro de cada banda I aparece uma linha transversal escura, o disco Z (figura 4). A estriação da miofibrila é devida à repetição de unidades iguais, chamadas sarcômeros. Cada um deles é formado pela parte da miofibrilas que fica

entre dois discos Z sucessivos e contém a banda A separando duas semibandas I. No centro da banda A pode ser observada uma zona mais clara, a banda H. O estudo do sarcômero ao microscópio eletrônico revela que o modo acima descrito é devido, principalmente, à presença de dois tipos de filamentos, dispostos longitudinalmente ao eixo mais longo das miofibrilas e organizados numa distribuição simétrica e paralela. Do disco Z, partem filamentos muito finos que correm até a borda externa da banda H. Outro tipo de filamento, mais grosso, ocupa a região central escura do sarcômero (GUYTON, HALL, 2002; McARDLE, KATCH, KATCH, 2001). As miofibrilas do músculo estriado contêm pelo menos quatro proteínas principais: miosina, actina, tropomiosina e troponina. A primeira forma os filamentos grossos e as três últimas formam os filamentos finos.

A actina apresenta-se sob a forma de estruturas longas e fibrosas (actina F) formada por duas cadeias de monômeros globulares (actina G) torcida uma sobre a outra, em dupla hélice. As moléculas de actina G possuem assimetria estrutural e quando elas se polimerizam para formar a actina F, a frente de um monômero combina-se com a parte posterior do outro, produzindo um filamento polarizado. Cada monômero globular de actina G possui uma região onde a miosina pode se combinar (GUYTON, HALL, 2002).

A tropomiosina é uma molécula longa e fina, polarizada, contendo duas cadeias polipeptídicas em α -hélice, uma enrolada na outra. As moléculas de tropomiosina unem-se umas às outras pelas extremidades para formar filamentos longos que se localizam sobre as subunidades de actina, ao longo do sulco existente entre os filamentos de actina F. Nos filamentos finos uma molécula de tropomiosina envolve sete moléculas de actina G e tem um complexo de troponina preso a sua superfície (GUYTON, HALL, 2002).

A troponina é um complexo de três subunidades: TnT (troponina T), que se liga fortemente à tropomiosina; TnC (troponina C) que tem grande afinidade pelos íons cálcio; e TnI (troponina I), que inibe a interação entre a actina e a miosina e tem alta afinidade pela actina (GUYTON, HALL, 2002).

A molécula de miosina tem a forma de bastão com 20 nm de comprimento e 2-3 nm de diâmetro, sendo formada por dois peptídeos enrolados em hélice, ao longo de toda a extensão da molécula. Em uma de suas extremidades a miosina

apresenta uma saliência globular ou cabeça, que possui locais específicos para a combinação com ATP e é dotada de atividade ATPásica. Nessa região se encontra o local de combinação com a actina. Se for tratada por enzimas proteolíticas, a molécula de miosina é clivada em duas porções: um fragmento de meromiosina leve e uma fração de meromiosina pesada (figura 4). O fragmento leve corresponde à maior parte da porção em bastão da molécula, enquanto a pesada contém a saliência globular mais uma pequena parte do bastão. As moléculas de miosina são dispostas nos filamentos grossos de tal maneira que suas partes em bastão se sobrepõem e as cabeças situam-se para fora. Imagens de microscopia eletrônica mostram a presença de pontes transversais entre os filamentos finos e grossos. Essas pontes são formadas pela cabeça da miosina mais um pequeno segmento da parte alongada da molécula, denominado braço. A ATPase das cabeças da miosina está envolvida diretamente na transdução da energia química em energia mecânica, durante a contração muscular (McARDLE, KATCH, KATCH, 2001; GUYTON, HALL, 2002).

Figura 4 - Estrutura da fibra muscular. A figura mostra o detalhe de uma fibra muscular organizada em unidades funcionais denominadas, sarcômeros. A fibra muscular é composta por quatro proteínas: actina, troponina, tropomiosina (compõem os filamentos finos) e miosina (compõe os filamentos grossos) (GUYTON; HALL, 2002).

2.8 Tipos de fibras musculares

Existem diversas maneiras de classificar as fibras musculares de acordo com o método empregado para sua análise. Um dos métodos mais populares para separar as fibras em grupos é baseado na sensibilidade da enzima adenosina trifosfatase miofibrilar (mATPase) aos pH ácidos e básicos. Para tanto é utilizado o método histoquímico que permite classificá-las nos tipos I ou II, com seus subtipos IIA e IIB (STARON, 1997; BROOKS, 2003; MINAMOTO, 2005).

As fibras do tipo I geram energia para a ressíntese do ATP predominantemente através do sistema aeróbio de transferência de energia, e, portanto possui muitas enzimas envolvidas no metabolismo oxidativo (ciclo de Krebs e cadeia transportadora de elétrons) (KARP, 2001; McARDLE, KATCH, KATCH, 2001). Essas fibras possuem ainda atividade relativamente lenta de miosina ATPase, mitocôndrias grandes e numerosas, grandes estoques de triglicerídeos e tem menor capacidade de manipulação do cálcio. As mitocôndrias grandes e numerosas combinadas aos altos níveis de mioglobina conferem às fibras do tipo I sua pigmentação avermelhada característica. Elas receberam a designação de fibras LO (lentas-oxidativas) para descrever sua velocidade de encurtamento lento e sua dependência do metabolismo oxidativo. Elas são recrutadas seletivamente em atividades aeróbicas, são mais resistentes à fadiga e requerem um baixo nível de produção de força (KARP, 2001; McARDLE, KATCH, KATCH, 2001; BROOKS, 2003).

As fibras do tipo II apresentam grande atividade quando colocadas em meio básico. Elas possuem alta capacidade para a transmissão eletroquímica dos potenciais de ação, alta atividade de miosina ATPase, seu retículo sarcoplasmático é eficiente promovendo a liberação e captação rápidas dos íons cálcio (McARDLE, KATCH, KATCH, 2001; MINAMOTO, 2005;). Todos esses fatores contribuem para a geração rápida de energia dessas fibras para as contrações rápidas e poderosas, por isso são denominadas fibras de contração rápida. Elas se valem de um sistema glicolítico de fornecimento rápido de energia que é gerado pelas vias anaeróbicas (McARDLE, KATCH, KATCH, 2001). As fibras do tipo II são subdivididas em IIA e IIB. As fibras do tipo IIA são consideradas intermediárias, e representam a transição

entre os dois extremos, as do tipo I e IIB. Estruturalmente apresenta um neurônio motor de alta densidade de mitocôndrias, média densidade de capilares e conteúdo médio de mioglobina. Possui ambas as atividades enzimáticas oxidativa e glicolítica com um grande estoque de fosfocreatina e glicogênio e níveis médios de triglicerídeos e moderada resistência à fadiga. Funcionalmente as fibras do tipo IIA são recrutadas em atividades anaeróbicas longas com um trabalho de força relativamente alto. Por outro lado, as fibras do tipo IIB são muito sensíveis a fadiga e são utilizadas em atividades anaeróbicas curtas de alta produção de força. Possuem neurônio motor, como as fibras do tipo IIA, porém, exibem poucas mitocôndrias, baixa densidade capilar e conteúdo pequeno de mioglobina. Elas contêm grande quantidade de enzimas glicolíticas e poucas enzimas oxidativas, os conteúdos de fosfocreatina e glicogênio são abundantes e há baixos estoques de triglicerídeos (KARP, 2001; BROOKS, 2003).

Através da identificação das diferentes isoformas da cadeia pesada da miosina (myosin heavy chain, MHC) pela técnica de imunohistoquímica, utilizando anticorpos antimiosina, outras subunidades das fibras do tipo II foram determinadas. A MHC é a porção da cabeça da molécula de miosina que determina a velocidade da reação das pontes cruzadas da miosina com os filamentos de actina, e conseqüentemente, a velocidade de contração muscular. As diferentes isoformas de MHC são, portanto classificadas pelas suas diferentes atividades ATPásicas (DeNARDI et al, 1993; BALDWIN, HADDAD, 2001). Além dos tipos de fibras rápidas conhecidos, IIA e IIB foi determinada também a fibra 2X (ou IID), encontrada em abundância no músculo diafragma de ratos (DeNARDI et al, 1993; HÄMÄLÄINEN, PETTE, 1993). Essas fibras são denominadas “puras” e há também as fibras mistas, denominadas “híbridas”, IIBD, IIAD. Acredita-se que são produtos da transformação de um tipo de fibra para o outro, entretanto não há ainda uma conclusão se são de fato fibras de transição ou fibras estáveis com composição de diferentes MHC (PEUKER, PETTE, 1997; MINAMOTO, 2005).

2.9 Adaptações do músculo ao exercício

Várias modificações biológicas ocorrem em resposta ao treinamento. Essas alterações são dependentes do tipo de exercício e não ocorrem exatamente da

mesma forma para todos os indivíduos. O organismo passa por uma série de adaptações com exercício, porém serão descritas aqui apenas as mudanças que ocorrem no músculo esquelético em resposta ao exercício físico.

O treinamento aeróbico produz um aumento no conteúdo e no tamanho das mitocôndrias no músculo esquelético, com o concomitante aumento nas enzimas do sistema aeróbico. Isso induz a um aumento na capacidade dessas mitocôndrias de gerar ATP aerobicamente. O músculo treinado tem maior capacidade de utilizar os triacilgliceróis intramusculares como fonte primária para a oxidação dos ácidos graxos. O exercício aeróbico submáximo requer pouca utilização do glicogênio muscular. A oxidação dos ácidos graxos, combinada com um catabolismo reduzido dos carboidratos, contribui para a homeostasia da glicose sangüínea e uma maior capacidade de endurance após o treinamento aeróbico. Há também um aumento no fluxo sangüíneo total para o músculo em consequência do treinamento aeróbico. O maior débito cardíaco e o aumento na capilarização do músculo são fatores responsáveis pelo aumento do fluxo (McARDLE, KATCH, KATCH, 2001). Vários estudos têm mostrado o aumento da densidade capilar no músculo esquelético com o treinamento aeróbico e esse aumento é acompanhado pelo aumento da expressão do fator de crescimento de endotélio vascular (VEGF), fator chave na indução da formação de novos vasos sangüíneos (JENSEN, BANGSBO, HELLSTEN, 2004; WATERS *et al*, 2004).

Os atletas de endurance altamente treinados possuem fibras de contração lenta maiores que as fibras de contração rápida existentes no mesmo músculo (McARDLE, KATCH, KATCH, 2001).

Estudos realizados nas últimas décadas têm mostrado que ambos os treinos de endurance e força podem causar a modificação das fibras mais rápidas para isoformas de miosina mais lentas exibindo maior resistência (HAMILTON, BOOTH, 2000).

As atividades que exigem um alto nível de metabolismo anaeróbico produzem alterações específicas nos sistemas de energia imediata e em curto prazo. Com esse tipo de treinamento se observa aumento significativo nos níveis ATP, fosfocreatina e glicogênio no músculo em repouso, acompanhados por uma

melhora na força muscular. Ocorre também o aumento no tamanho das fibras de contração rápida (McARDLE, KATCH, KATCH, 2001).

O músculo esquelético é um tecido extremamente heterogêneo, em virtude da diversidade de fibras musculares que o compõem, caracterizado por seu alto potencial adaptativo. Esta propriedade é garantida pela plasticidade funcional das fibras musculares, elementos versáteis e capazes de modificar sua composição e propriedades moleculares, adaptando-se em resposta ao tipo e intensidade de exercício físico praticado (FOLLAND, WILLIAMS, 2007).

O exercício pode promover respostas hipertróficas através de mecanismos como a ativação, proliferação, quimiotaxia e fusão de células satélites às fibras musculares já existentes. A capacidade migratória (quimiotaxia) das células satélites é dependente da integridade da lâmina basal. Depois da ruptura das células satélites em resposta a um trauma muscular decorrente do treinamento físico, as células satélites migram em direção as fibras musculares adjacentes (HÄKKINEN *et al.*, 2003). Os miotraumas induzidos pelo exercício desencadeiam uma resposta imune que inclui a migração de macrófagos para a área lesada, atingindo um pico em 48 horas. Estes macrófagos, além de serem responsáveis pela fagocitose e digestão das fibras musculares necróticas, secretam uma série de citocinas que regulam a proliferação de células satélites (NUNES 2005). O miotrauma decorrente do treinamento resistido estimula a liberação de fatores de crescimento que irão, em parte, regular a população de células satélites durante a regeneração, favorecendo em última análise a hipertrofia muscular (HAWKE, GARRY, 2001)

A hipertrofia esta associada à maior eficiência no processo de contração muscular, devido ao aumento de proteínas contráteis. Assim, devido ao aumento do volume celular, há maior possibilidade de armazenamento de reservas energéticas musculares, como por exemplo, glicogênio e lipídeos (KRAEMER, ROTAMES, FRENCH, 2003).

Uma outra forma de adaptação da fibra muscular ao treinamento resistido, embora menos freqüente, é a hiperplasia muscular resultante da divisão longitudinal da fibra muscular. Ocorre preferencialmente em resposta a treinamentos resistidos de alta intensidade, o que a principio significa uma situação estressante para o aparato muscular. Neste processo são desencadeadas alterações estruturais que

proporcionam melhora significativa da capacidade funcional da fibra muscular esquelética (KADI et al., 2000).

Todos estes processos adaptativos frente ao treinamento físico se desenvolverão com o objetivo final de melhorar o desempenho físico (ASSIS, 2002).

2.10 O modelo de exercício em animais

Modelos de exercício para animais de laboratório são ferramentas muito úteis do ponto de vista da investigação científica, já que facilitam a análise de componente ou funções orgânicas difíceis de serem observadas em seres humanos em função de aspectos éticos e de saúde, permitindo assim um estudo mais profundo das respostas a diferentes estímulos, como por exemplo, a atividade física.

Protocolos de exercícios físicos anaeróbios, intermitentes e de alta intensidade para animais têm sido investigados com menor frequência que os modelos aeróbios, sendo que os poucos estudos envolvendo este tipo de atividade apresentam resultados contraditórios e inconsistentes (ROGATTO *et al*, 2004)

Nesse trabalho, o protocolo utilizado foi baseado no proposto por Silva et al (1999), com algumas modificações. Esses autores utilizaram um programa de exercício anaeróbico para estudar os efeitos dos mesmos na gordura sérica e tecidual de ratos alimentados com dieta hiperlipídica. Esse programa consistiu de 10 séries diárias de 30 segundos de saltos, intercalados por 1 minuto de repouso, cinco dias por semana, em tanques contendo água a $32^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$, com uma sobrecarga de 50% do peso corporal dos animais. Eles encontraram que esse tipo de exercício diminuiu significativamente a gordura tecidual e os níveis séricos de colesterol no excesso de gordura da dieta.

Marqueti *et al* (2006), vem adotando esse protocolo para analisar as alterações no tendão de Aquiles, estrutura fortemente necessária nesse tipo de exercício. Foi encontrado um aumento significante na atividade da MMP-2, proteína importante no remodelamento de vários tecidos, sugerindo que esse processo foi provavelmente acelerado, permitindo a adaptação do tendão para uma melhor resposta a intensa demanda mecânica desse exercício. Essa mesma proteína foi analisada no músculo esquelético pelo nosso laboratório em recente estudo

publicado também com o modelo de salto. A MMP-2 regula a integridade da matriz extracelular e a composição do músculo esquelético, papel essencial na proliferação e diferenciação das miofibrilas, recuperação das fibras após danos e a manutenção dos tecidos conectivos que envolvem o músculo. Foi observado que, nos músculos agonistas para o salto, como o sóleo e o gastrocnêmio houve aumento da atividade da MMP-2 com o treino. A atividade da MMP-2 não foi alterada pelo exercício nos músculos EDL e tibial anterior, que são antagonistas a esse movimento. Esses resultados sugerem que há um “*turnover*” maior da matriz extracelular nos principais músculos que realizam o movimento (MARQUETI *et al*, 2007).

CUNHA *et al* (2005) utilizaram protocolo semelhante para analisar a concentração de triglicerídeos no plasma, o conteúdo de glicogênio no fígado e no músculo esquelético antes e após o exercício, com e sem o uso de EAA. Eles relataram que houve aumento no conteúdo de glicogênio do fígado após o treino o que é importante uma vez que esse órgão é responsável pela manutenção da glicemia durante o exercício. Não houve influência da administração de EAA nesse parâmetro. Na análise do conteúdo de glicogênio no músculo eles não encontraram alteração desse parâmetro no músculo sóleo com o exercício. Entretanto, a administração de EAA aumentou o conteúdo de glicogênio nesse músculo. Na porção branca do músculo gastrocnêmio, o qual possui predominantemente fibras musculares glicolíticas, houve aumento no conteúdo de glicogênio com o exercício. Eles encontraram ainda uma redução significativa dos níveis de triglicerídeos no plasma em resposta ao exercício de alta intensidade, sugerindo que a oxidação dos ácidos graxos no período de recuperação após esse tipo de exercício é provavelmente influenciada pelo baixo conteúdo de glicogênio no fígado após o treino (CUNHA *et al*, 2005).

O uso de recursos ergogênicos como os EAA apresentam-se disseminados em alguns segmentos da população, além do meio atlético, é importante conhecer os possíveis efeitos colaterais causados pelo uso indevido destes recursos, já que não estão claros os impactos que doses suprafisiológicas de EAA podem causar no organismo e nem a relação das mesmas com exercício físico.

3 OBJETIVO

Uma vez que a relação entre o uso de doses supra fisiológicas de EAA e os efeitos do treinamento sobre os processos da hipertrofia muscular ainda não estão claros (KUHN, 2002), o objetivo do presente estudo foi avaliar, em ratos, o efeito combinado do treinamento físico resistido anaeróbio e da administração de decanoato de nandrolona (Deca-Durabolin) sobre os parâmetros descritos abaixo:

- ✓ Respostas hipertróficas do músculo sóleo através da análise qualitativa, da relação quantitativa e da relação massa muscular e massa corporal;
- ✓ Melhora da performance (número de saltos e concentração de lactato).

4 Materiais e Métodos

4.1 Amostra

Para realização do presente estudo foram utilizados 40 ratos machos, Wistar, com dois meses em média no início do experimento e peso de aproximadamente de $(180 \pm 2 \text{ g})$, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar). Os ratos foram mantidos no Biotério do Laboratório de Nutrição e Metabolismo, do Departamento de Educação Física e Motricidade Humana, desta universidade em temperatura ambiente entre 22 e 24°Ce com luz controlada em ciclo de 12 h (claro escuro).

Os animais, durante o período experimental, tiveram livre acesso à água e alimento. Os mesmos foram separados em gaiolas plásticas, forradas com maravalha, em caixas individuais, de acordo com descrito no próximo item.

Todos os procedimentos cirúrgicos e protocolos foram conduzidos segundo as normas internacionais de ética em experimentação animal (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1996). O projeto de pesquisa intitulado: “Efeitos do uso de decanato de nandrolona em ratos submetidos ao exercício físico” foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de São Carlos – CEEA/ UFSCar (n° 058/2007), anexo 1.

4.1.1 Grupos e Sequência Experimental

Os animais foram separados aleatoriamente em 4 grupos conforme protocolo experimental:

- ✓ Sedentário Controle (SC)
- ✓ Sedentário tratado com esteróide anabolizante (SE)
- ✓ Treinado Controle (TC)
- ✓ Treinado tratado com esteróide anabolizante (TE)

Os animais foram inicialmente vermifugados, identificados por número e pesados no início, ao longo e ao final do protocolo experimental. O controle ponderal

foi realizado em balança digital GEHARA BG 1000 com carga máxima = 1050 g; divisão = 0,01 g, durante o período do estudo. Todos os animais foram pesados diariamente, para que o protocolo de treinamento pudesse ser desenvolvido.

4.1.1.1 Grupo sedentário

Os animais denominados sedentários (SC e SE) foram assim classificados por não realizarem qualquer tipo de atividade física, permanecendo durante o período de quatro semanas em suas respectivas gaiolas, período que corresponde ao treinamento dos grupos exercitados.

4.1.1.2 Grupo treinado

Os animais classificados como treinados (TC e TE) foram submetidos a um programa específico de saltos em um tubo de PVC de 25 cm de diâmetro contendo água aquecida a 30°C, objetivando limitar a alternativa do animal em ir para outra direção ou agarrar-se para subir. A altura da água contida nos tanques foi aproximadamente equivalente ao dobro do comprimento do corpo do rato. Foram realizadas três sessões de treinamento semanais, durante um período de quatro semanas, conforme detalhado no item 4.2.

4.1.1.3 Tratamento com EAA

Os animais tratados receberam administração de Deca-durabolin® (decanoato de nandrolona, Organon, 50 mg/ml). As doses foram da ordem de 5 mg/kg de massa corporal do rato (dose suprafisiológica). A administração de EAA foi realizada uma por semana. A aplicação foi feita por via intramuscular (i.m.), no músculo gastrocnêmio com alternância semanal dos lados (direito e esquerdo) para que a injeção não pudesse interferir na execução dos saltos dos animais. Os animais treinados sem a administração de EAA (TC), bem como os do grupo sedentário (SC), receberam uma injeção de óleo (propinloglicol). A dose do veículo a ser aplicada estava de acordo com os mesmos critérios dos animais que receberam os

EAA. O tratamento com EAA foi de quatro semanas sempre nas 6^a - feiras por veterinárias que acompanharam e deram assistência durante todo projeto.

4.2 Protocolo de treinamento

O treinamento foi constituído de saltos em meio líquido com água aquecida a 30°C, sendo ajustada uma sobrecarga acoplada ao tórax dos animais através de um colete especial de acordo com o peso do animal (figura 5).

Figura 5– Amostra do colete confeccionado para ser utilizado no treino dos animais, com carga ajustada de acordo com peso o corporal do animal.

O protocolo utilizado foi de acordo com o modelo descrito por MARQUETI *et al.*(2006) levemente modificado. A atividade de treino foi desenvolvida de acordo com a descrição a seguir:

A - semana pré-treinamento: semana de adaptação de todos animais ao exercício, (neste período não foi feita administração de EAA ou placebo), foi utilizada uma sobrecarga equivalente a 50% do peso do animal, com um número de séries e repetições ajustadas diariamente, e intervalo de um minuto para repouso entre as séries (Tabela 1).

B – semanas de treinamento: semana onde os animais dos grupos TC e TE realizavam o protocolo de saltos conforme detalhado na Tabela 1. Neste período foi feita administração de EAA para os grupos SE e TE e placebo para os grupos SC e TC.

Tabela 1– Protocolo de treinamento

Dia de Treinamento	Treinamento		Sobrecarga (% peso corporal)
	N° de Séries	N° de Saltos	
1° Dia	2	4	50%
2° Dia	3	5	50%
3° Dia	3	7	50%
4° Dia	4	9	50%
5° Dia	4	10	50%
1ª Semana	4	10	50%
2ª Semana	4	10	60%
3ª Semana	4	10	70%
4ª Semana	4	10	80%

Demonstração do colete acoplado ao corpo do animal de modo especial para que este não escorregue do corpo do animal durante o treinamento e de um animal durante o treino. (figura 6)

Figura 6 – Demonstração do colete acoplado ao corpo do animal de modo especial para que este não escorregue durante o treinamento (A/B); Observa-se em C um animal durante o treino e que as paredes lisas facilitam a realização dos saltos sem que o mesmo se agarre às paredes.

Momento de repouso dos animais entre as séries. (figura 7)

Figura 7 – Demonstração do período de repouso (um minuto) entre cada série do protocolo de treinamento.

Após cada sessão de treinamento, os animais eram enxutos com toalha, antes de serem transportados ao biotério (figura 8).

Figura 8 – Demonstração dos animais sendo enxutos após sessão de treinamento.

4.3 Teste de determinação de performance

Após a semana pré-treinamento e final do protocolo de treinamento, os grupos SC, SE, TC e TE foram submetidos a testes de fadiga, que consistiam na realização de saltos com sobrecargas equivalentes a 50% do peso corporal do animal até a exaustão pelos animais, isto é, quando os mesmos permanecessem por um período superior a 10 segundos no fundo do tanque. Era contado o número de saltos realizados pelo animal e ao final do teste coletado amostras sanguíneas (~25µl) foram obtidas através de punção da extremidade caudal de cada animal e foram colocadas em tiras-teste para quantificação lactato (BM-Lactate®). Em seguida as tiras-teste contendo as amostras foram introduzidas imediatamente no analisador portátil Roche - Accutrend® Lactate para a determinação das concentrações de lactato, respectivamente. Este procedimento foi realizado antes e após os testes de fadiga no pré e pós-treinamento.

Através da relação entre o número total de saltos e concentração de lactato do teste pré e pós-treinamento foram mensurados a melhora da performance dos animais.

5 Coleta do Material

Ao final do período de quatro semanas de treinamento os animais foram sacrificados por decapitação em guilhotina. Imediatamente após, os animais foram posicionados em uma mesa cirúrgica em decúbito dorsal para a retirada do músculo sóleo das patas posteriores de cada animal. Todos os tecidos foram pesados úmidos. Os músculos foram congelados em nitrogênio líquido e conservados em freezer -80°C para posteriores análises.

5.1 Coleta do Músculo Sóleo

Para a retirada deste músculo, inicialmente foi retirado tecido epitelial das regiões da perna e coxa direita (figura 9), o músculo gastrocnêmio foi rebatido (figura 10) para exposição do músculo sóleo, que foi posteriormente retirado (figura 11).

Figura 9 - Retirada do tecido epitelial das regiões da perna e coxa.

Figura 10 - Rebatimento do músculo gastrocnêmio para exposição do sóleo.

Figura 11 - Procedimento de retirada do músculo sóleo.

As amostras musculares foram retiradas com tamanho de aproximadamente 2 cm comprimento x 0,5 diâmetro, preservando o ventre muscular, de modo que as fibras dispostas longitudinalmente para serem realizados cortes transversais as mesmas para o armazenamento possibilitando assim o preparo das lâminas para análise histológica .

5.2 Obtenção dos Cortes e Análise Histoenzimológica

Para o processamento das reações histológicas e histoenzimológicas foi retirado pequeno fragmento sempre do terço médio do músculo sóleo da pata direta dos animais dos 4 grupos. Os fragmentos foram empanados em talco para proteção, evitando que as fibras fossem danificadas e imersas em nitrogênio líquido por 30 segundos para seu congelamento e acondicionados em criotubos identificados e armazenados em botijão de nitrogênio para posterior análise.

Obtidos os cortes transversos com espessura de 5 μ m, estes foram colhidos sobre lamínulas histológicas de 20x20 mm e expostos ao ar para desidratação. A seguir, o material foi mantido em congelador para a adesão dos cortes sobre as lamínulas, até o dia seguinte, quando se iniciava o processamento das reações.

Nesse estudo, para os cortes transversos utilizaram-se as lâminas coradas pela Hematoxilina-eosina (H.E.), possibilitando a análise individual qualitativa e quantitativa de cada grupo. Após obtenção das imagens através de uma câmera de vídeo Leica DFC 300 FX acoplada a um microscópio de luz binocular Leica DM 2500 e conectada a um microcomputador. Foi utilizada para a análise morfométrica a seleção de 100 fibras de cada lâmina através do Sistema Analisador de Imagens Image Pro® Plus, version 4.5.0.29 for Windows 98/NT/2000,

5.3 Análise Estatística

Para análise estatística foi utilizada análise de Variância Bifatorial, seguida de teste Tukey para comparações múltiplas e teste t-Student para amostras pareadas. Valores de p menores que 0,05 foram indicativos de significância estatística.

6 RESULTADOS

6.1 Massa Corporal

Na figura 12, verifica-se a variação da massa corporal, o qual não houve modificação significativa em nenhum dos grupos: SC (176 ± 3 g), SE (173 ± 3 g), TC (175 ± 2) e TE (174 ± 3); $p > 0,05$. Ao final do período experimental (4 semanas), os animais apresentaram média de massa corporal significativamente maior à primeira semana. Não houve diferença significativa entre o tratamento com veículo ou EAA sobre a massa corporal dos animais, independente da realização ou não de exercício.

Figura 12 – Variação da Massa corporal (g) dos ratos tratados com veículo ou EAA, sedentários ou submetidos ao treinamento, durante quatro semanas. ♦Diferença significativa em relação à primeira semana, no mesmo grupo. ($p < 0,05$).

6.2 Análise Morfológica

Nos animais do grupo sedentário que recebeu óleo mineral (SC) verificou-se a presença de fibras musculares com contornos poligonais, núcleos em posição periférica e padrão fascicular normal (figura 13). Nas lâminas dos cortes histológicos dos animais do grupo sedentário que recebeu esteróide (SE) observou-se a presença de fibras polimórficas, hialinizadas e fagocitadas (figura 14). Já nas lâminas dos animais do grupo treinado que recebeu óleo mineral (TC) observaram-se regiões com aspecto normal e áreas com fibras musculares em fase final de fagocitose e fibras anguladas, com tendência a arredondamento (figuras 15 e 16). Nas lâminas do grupo treinado que recebeu esteróide (TE) observou-se aumento das fibras hipertróficas, com núcleo central e de fibras arredondadas, com aparecimento, inclusive, do splitting. Observou-se também presença de fibras angulosas atroficas em processo de fagocitose, além de fibras hipertróficas e hialinizadas (figuras 17 e 18).

Figura 13 - Fotomicrografia da secção transversal da região mediana do m. sóleo de rato sedentário submetido à administração de óleo mineral (SC). Observam-se fibras com aspectos normais (HE 200x). Barra = 280 µm

Figura 14 – Fotomicrografia da secção transversal da região mediana do m. sóleo de rato sedentário submetido à administração de esteróide (SE). Observam-se fibras poligonais, núcleos periféricos e padrão fascicular. Maior extensão do comprometimento morfológico: fibras polimorfas (**P**), fibras angulares atróficas pequenas (**A**) ao lado de hipertróficas (**H**), fibras em processo de splitting (**^**) e processo de fagocitose (*****) (HE 200x). Barra = 280 μ m

Figura 15- Fotomicrografia da secção transversal da região mediana do m. sóleo de rato treinado submetido à administração de óleo mineral (TC). Observam-se fibras com aspectos normais e áreas com fibras angulosas com polimorfismo (**B**), com tendência a arredondamento (**A**) e endomísio aumentado (**B**) (HE 200x). Barra = 280 μ m

Figura 16 — Fotomicrografia da secção transversal da região mediana do m. sóleo de rato treinado submetido à administração de óleo mineral. Observa-se processo de fagocitose em fase inicial (**B**) e presença de fibras polimorfas (**A**) (HE 500x). Barra = 745 μ m

Figura 17 – Fotomicrografia da secção transversal da região mediana do m. sóleo de rato treinado submetido à administração de esteróide (TE). Observa-se afastamento de fibras musculares, reação inflamatória, aumento do número de núcleos, fagocitose com perda de fibras musculares (*), splitting (<) e polimorfismo de fibras (**A**) (HE 200x). Barra = 280 μ m

Figura 18 - Fotomicrografia da secção transversal da região mediana do m. sóleo de rato treinado submetido à administração de esteróide (TE). Observam-se fibras angulosas atróficas (A) e hipertróficas (B) (HE 500x). Barra = 745 μm

6.3 Hipertrofia Muscular

As análises da medida da área das fibras musculares (100 fibras por lâmina) mostraram diferenças significativas para os animais do grupo TC ($3013 \pm 292 \mu\text{m}^2$) e TE ($3622 \pm 205 \mu\text{m}^2$) enquanto que não encontramos diferenças entre os animais dos grupos SC ($2418 \pm 315 \mu\text{m}^2$) e SE ($2526 \pm 290 \mu\text{m}^2$) (figura 19). Porém quando utilizada a técnica da relação do peso do músculo pelo peso corporal não são encontradas diferenças estatísticas entre os grupos (figura 20).

Figura 19 – Medida da área de secção transversa (μm^2) de ratos tratados com veículo ou EAA sedentários ou submetidos ao treinamento, durante quatro semanas. • Diferença significativa do grupo TE em relação ao grupo TC. # Diferença significativa referente ao respectivo grupo sedentário. ($p < 0,05$).

Figura 20 - Relação peso do músculo / peso corporal(g) de ratos tratados com veículo ou EAA sedentários ou submetidos ao treinamento, durante quatro semanas. ($p > 0,05$).

6.4 Teste de determinação de performance

Na figura 21 está apresentada a média e desvio padrão do número de saltos dos grupos no pré e pós-treinamento.

Figura 21 – Média e desvio padrão do numero de saltos pré e pós-treinamento ($p > 0,05$).

A tabela 2 apresenta os valores médios das concentrações plasmáticas de lactato, pré e pós-teste de fadiga. Não foi observada diferença significativa entre os grupos experimentais no pré e pós-teste de fadiga, tanto nos testes aplicados no pré-treinamento como no pós-treinamento, com uso e sem uso de EAA.

Tabela 2 - Concentração de lactato (mmol/l)

Grupos Experimentais	SC	SE	TC	TE
Pré-treinamento				
Lactato pré-teste (mmol/l)	2,72±0,7	3,14±0,4	2,94±0,4	3,60±0,6
Lactato pós-teste (mmol/l)	4,92±2,0	5,00±0,6	5,18±0,4	5,21±0,8
Pós-treinamento				
Lactato pré-teste (mmol/l)	2,72±0,7	3,04±0,3	3,06±0,44	3,35±0,7
Lactato pós-teste (mmol/l)	7,92±2,0	8,75±1,6	7,84±2,9	8,21±1,6

7 DISCUSSÃO

Grande parte dos modelos experimentais de atividades físicas para animais tem sido baseada em exercícios aeróbios, de longa duração e baixa-intensidade, o que gera dúvidas sobre os possíveis efeitos de esforços intensos e intermitentes sobre as respostas orgânicas de animais exercitados. Algumas propostas de protocolos de exercício físico com características anaeróbias e de alta intensidade têm despertado maior interesse nos últimos anos, tendo em vista os benefícios que este tipo de atividade pode resultar (KRISTIANSEN et al, 2000).

Assim como o exercício aeróbio, o exercício resistido anaeróbio pode modificar a composição corporal (ASTRAND, 1991). Porém, quando o exercício é realizado de forma inadequada, o desenvolvimento e a função dos sistemas orgânicos podem ser prejudicados (RIKLI, 2000). Neste sentido, a perda de peso corporal dos animais é um indicativo de inadequação do protocolo de treinamento físico empregado em experimentos laboratoriais. Ao final do período experimental, não houve diferenças significativas no peso corporal entre os grupos. Embora haja intensa utilização de lipídios durante a fase de recuperação pós-exercício (YOSHIKA et al, 2001), e os EAA possam estimular a síntese protéica e aumentar a retenção hídrica, níveis excessivos destas substâncias podem inibir crescimento corporal e ganho de peso, efeitos decorrentes da diminuição de apetite, da redução de produção normal de testosterona e do aumento da oxidação lipídica (CARSON et al, 2002).

Dependendo da intensidade, duração e frequência com que o exercício físico resistido é praticado, este pode desencadear o desenvolvimento de hipertrofia das fibras musculares por meio da ativação, proliferação e incorporação de células satélites, aumento da síntese proteínas contráteis e não contráteis e adição de novos sarcômeros em um arranjo paralelo, aumentando a capacidade de produção de força (HAWKE, GARRY, 2001; TAMAKI et al, 2001).

Embora tenha sido relatado que, o uso de EAA associado ao exercício possa estimular a proliferação e a diferenciação do número de mionúcleos e o tamanho individual de cada fibra, bem como de células satélite (TAMAKI et al, 2001),

outros trabalhos não evidenciaram efeitos significativos dos EAA sobre os mesmos parâmetros (CUNHA et al, 2006).

Apesar dos exercícios resistidos de alta intensidade serem facilmente aplicados em seres humanos (por exemplo, levantamento de peso), existem limitações devido ao caráter invasivo das biópsias musculares necessárias para obtenção das amostras. Diante disso, estudos que utilizam o protocolo de saltos com animais pode ser caracterizado como exercício resistido de alta intensidade em função da intensa mobilização de glicogênio muscular e dos elevados níveis de lactato sangüíneo, observados em trabalhos anteriores (ROGATTO, 2001; ROGATTO, LUCIANO, 2004) e aumento de síntese protéica nos músculos flexores plantares (sóleo, plantar e gastrocnêmio) (TAMAKI et al, 2000). Entretanto, a literatura sobre as respostas fisiológicas decorrentes da aplicação deste protocolo ainda é reduzida.

Através da análise qualitativa foi observado que a administração de esteróide produziu lesão muscular no grupo sedentário (SE) e que a administração do óleo mineral não causou lesão no grupo SC. Lesões musculares foram observadas em ambos os grupos treinados, sendo mais evidentes nos animais submetidos à administração de esteróide. Essas lesões foram caracterizadas, principalmente, pela presença de células arredondadas splitting, e células fagocitadas.

Com relação à morfometria das fibras, os resultados mostraram que não ocorreram diferenças significativas na área das fibras do músculo sóleo dos animais sedentários submetidos administração de esteróide (SE) quando comparados com os animais sedentários que receberam óleo mineral (SC).

Nos animais que foram dos grupos TC e TE, observou-se aumento significativo da área das fibras musculares em comparação aos animais que não foram submetidos ao exercício, com diferenças significativas entre eles. Estes resultados são controversos a estudos encontrados na literatura (CUNHA et al, 2006; FILHO et al, 2006), que relatam a não existência de hipertrofia muscular, com a realização de exercício associado ao uso de EAA, porém deve-se considerar o tipo de análise empregada para a determinação da existência ou não da mesma, haja vista que no presente estudo quando aplicado o método de determinação feito pela

razão da massa muscular pela massa corporal, não foi observada a presença de hipertrofia muscular em nenhum dos grupos, contrária aos resultados obtidos através das análises histológicas.

Alguns autores consideram que a hipertrofia resultante do uso de EAA, associado à prática de exercícios resistidos, é decorrente do aumento no número de núcleos musculares (mionúcleos), mantendo constante relação mionúcleos/volume citoplasmático. A principal fonte de mionúcleos é proveniente da ativação, proliferação e incorporação de células-satélite ao músculo correspondente. Estas, por sua vez, também possuem receptores androgênicos (DOUMIT *et al.*, 1996; KUHN, 2002).

Sabe-se que após lesões musculares, as células-satélite são estimuladas, desencadeando um processo de proliferação das mesmas. Estas fornecerão mionúcleos adicionais com o objetivo de restabelecer o domínio muscular. Tamaki *et al.* (2001) analisaram, em ratos, a atividade mitótica de células musculares através da captação de [^3H] timidina, nucleotídeo essencial para o processo de proliferação, decorrente da aplicação de um protocolo de treinamento resistido. Observaram que após realização de saltos em meio líquido com sobrecarga a captação muscular de [^3H] timidina foi significativamente menor em animais tratados com EAA em relação a animais tratados com veículo. A menor captação de timidina indica que não houve necessidade de proliferação celular no reparo tissular. Assim, evidencia-se o papel protetor EAA sobre os processos de lesões musculares decorrentes da prática de exercícios resistidos. Além disso, no mesmo estudo, observou-se que os animais tratados com EAA apresentaram maior captação de [^{14}C] leucina, aminoácido utilizado no processo de hipertrofia muscular.

É bastante clara a participação dos receptores androgênicos no aumento da síntese protéica e de massa muscular. Sabe-se que homens com função gonadal normal apresentam receptores androgênicos saturados pelos níveis fisiológicos normais de testosterona. Se os efeitos anabólicos e androgênicos são mediados por estes receptores, que se apresentam saturados na presença de níveis fisiológicos de testosterona, nenhum efeito benéfico adicional resultaria da administração de hormônios androgênicos (KUHN, 2002). Entretanto, doses suprafisiológicas de EAA podem ser efetivas no aumento da massa muscular por estimularem incremento do

número de receptores androgênicos sobre os quais os EAA exercerão suas funções, processo denominado *up-regulation* (BRICOUT *et al.*, 1994; DOUMIT *et al.*, 1996; SHEFFIELD-MOORE *et al.*, 1999; KADI *et al.*, 2000).

Biópsia muscular de levantadores de peso que utilizaram EAA revela aumento da expressão de isoformas embrionárias da miosina, quando comparadas com as biópsias de levantadores não usuários de EAA. (KADI *et al.*, 1999a; KADI *et al.*, 1999b; KADI *et al.*, 2000).

Além disso, existem evidências do papel anticatabólico exercido pela administração de doses suprafisiológicas de testosterona ou de seus análogos. Em pacientes com mutação genética do receptor androgênico (receptores não-funcionantes), o tratamento com doses suprafisiológicas de EAA também induz aumento de massa muscular (TINCELLO *et al.*, 1997). Esse fato é decorrente da ligação do hormônio sexual a receptores de glicocorticóides, que inibe parcialmente a expressão dos efeitos catabólicos provocados pelos glicocorticóides, uma vez que seus sítios de ação estão ocupados. Dados obtidos através de estudos com animais também confirmam este efeito. Vale ressaltar que, em doses fisiológicas, a afinidade EAA/receptor de glicocorticóide é bastante pequena.

Com relação à melhora do desempenho, um fator que pode ter contribuído para não existência desta melhora e em alguns casos até mesmo a diminuição da mesma entre os testes pré e pós-treinamento, pode ter sido o fato de que o teste aplicado não foi um bom marcador de performance para animais neste tipo de exercício, havendo então a necessidade de mais pesquisas para se desenvolver outro teste para determinar a melhora na performance de ratos neste tipo de exercício.

Segundo Cunha et al (2004) doses suprafisiológicas de EAA não promovem aumento das reservas de glicogênio, nos músculos esqueléticos e no tecido hepático, além daquele obtido através da prática de exercício resistido anaeróbio. Sabe-se que as reservas musculares e hepáticas de glicogênio são combustíveis energéticos importantes e imprescindíveis durante a atividade física (VAN BREDA *et al.*, 1993).

Conforme Maravelias, et al (2005) os EAA convertem um balanço nitrogenado negativo em positivo, por preservar proteínas e aumentar a retenção de nitrogênio.

A testosterona livre pode ter outras ações como, penetrar nas células por difusão simples e ligar-se a um receptor de esteróide no citosol, o qual é transportado para o núcleo, onde inicia a transcrição do DNA. Dependendo do tipo da célula em que se encontra, ela pode na sua forma original sofrer a ação de enzimas. Os esteróides são conduzidos ao núcleo celular por receptores de androgênios ou de estrogênios e, no seu interior, ligados a sítios específicos nos cromossomas, onde aumenta a ação da RNA polimerase com um incremento da síntese de RNA e de proteínas específicas (FONSECA; THIESEN, 2000; MOTTRAN; GEORGE, 2000).

A atividade anabólica da testosterona e seus derivados manifestam primariamente uma ação miotrófica resultando em um aumento da massa e força muscular (SHAHIDI, 2001).

Conforme Maravelis et al (2005) os EAA convertem um balanço nitrogenado negativo em positivo, por preservar proteínas e aumentar a retenção de nitrogênio.

Conforme descrito anteriormente o resultado do presente trabalho, evidenciou a existência de hipertrofia no músculo sóleo, que pode ser observada nas lâminas de HE a presença de lesões nos mesmos como relatado por Evans (2004), onde o aumento da força induzida pelo EAA resultou na hipertrofia da fibra muscular. Conforme MOTTRAN & GEORGE (2000), a força muscular aumenta mais que a força no tendão e este pode sofrer lesão.

Destaca-se também que o tratamento com esteróides anabólicos androgênicos podem prejudicar o remodelamento dos tendões de animais submetidos à atividade física por diminuir a atividade da matriz metalopeptidase, aumentando o potencial de lesão no tendão (MARQUETI et al, 2006).

Através destes e de outros resultados semelhantes encontrados na literatura e, levando-se em consideração os potenciais riscos que este tipo de tratamento pode acarretar à saúde, questionamos novamente até que ponto os resultados obtidos pelos usuários são realmente compensadores.

Assim, salientamos que, diante dos diferentes protocolos experimentais empregados e dos resultados controversos, não estão claros os impactos que doses suprafisiológicas de EAA podem causar ao organismo e nem a relação exata das mesmas com o exercício físico resistido.

Apesar das inúmeras lacunas a respeito da comprovação de ações favoráveis dos EAA sobre o desempenho atlético e do grande número de seus efeitos colaterais, verifica-se que o abuso de tais substâncias é uma prática bastante difundida, tanto pela facilidade de obtenção das mesmas por meios legais ou ilegais como também pela desinformação dos usuários acerca dos reais riscos à saúde.

Muitos dos trabalhos presentes na literatura mostram efeitos adicionais sobre a *performance* promovidos pelos EAA, mas que devem ser analisados conforme os métodos utilizados. No ser humano, isto é particularmente mais importante, uma vez que a motivação à prática de exercício físico também pode mascarar os resultados, admitindo-se equivocadamente, que sejam proporcionados pelo uso de EAA e não pelo exercício propriamente dito.

Embora muitos pontos a respeito do tema ainda devam ser elucidados, os efeitos negativos decorrentes da má utilização destas substâncias são bastante claros e podem ser evidenciados pela maior taxa de mortalidade (4,6 vezes maior) entre usuários de EAA do que entre não-usuários.

Assim, os dados apresentados reforçam a necessidade de se questionar a existência dos efeitos benéficos resultantes do uso dos EAA sobre a *performance*, significativamente maiores do que aqueles já obtidos através do treinamento físico.

8 CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos neste estudo e as hipóteses levantadas a partir dos objetivos do mesmo, conclui-se que o protocolo de treinamento utilizado foi eficiente para promoção da hipertrofia no músculo sóleo de ratos, onde o grupo TE (31%) e o grupo TC (26%) o que representa um ganho de 5% .

Os resultados sugerem ainda que treinamento físico de alta intensidade possa afetar o turnover de proteína nas fibras do músculo esquelético.

O protocolo de saltos utilizado para a determinação de melhora no desempenho não foi eficaz para este grupo de animais.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACADEMIC KELLOGG – Procedi by Mckinley. Disponível em: http://academic.kellogg.cc.mi.us/herbrandsonc/bio201_McKinley/f10-1a_structuralorgan_c.jpg. Acesso em: 23 de Maio. 2008.

ALÉN, M. Androgenic steroids effects on liver and red cells. Brit. J. Sports Med., v. 19, n. 1, p. 15 – 20, 1985.

AMERICAN COLLEGE OF SPORT MEDICINE. The use anabolic-androgenic steroids in sports. Med Sci Sport Exerc; 19(5): 534-9,1987.

ÅSTRAND PO. Why exercise? Med Sci Sports Exerc; 24:153-62, 1991

ASSIS, W.S. Efeitos da natação associada ao uso de dois esteróides anabolizantes (estanozolol e decanoato de nandrolona) sobre as fibras musculares oxidativas eglicolíticas do músculo gastrocnêmio de ratos. Rio Claro, 2002. 181p. [Dissertação de Mestrado. Instituto de Biociências. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”].

BAHRKE, M. S.; YESALIS, C. E. Abuse of anabolic androgenic steroids and related substances in sport and exercise. Current Opinion in Pharmacology., v. a, p. 614 – 620, 2004.

BALDWIN, K. M.; HADDAD, F. Effects of different activity and inactivity paradigms on myosin heavy chain gene expression in striated muscle. J. Appl. Physiol., v.90, p. 345 – 357, 2001.

BERNAL, F., HARTUNG, H.-P., KIESSEIER, B. C.. Tissue mRNA expression in rat of newly described matrix Metalloproteinases. Biol Res, v. 38, p. 267 – 271, 2005.

BERNSTEIN, A.; SAFIRSTEIN, J.; ROSEN, J. E. Athletic ergogenic aids. Hospital for Joint Diseases., v. 61, n. 3 e 4, p. 164 – 171, 2003-2004.

BHASIN, S. et al. The effects of supraphysiologic doses of testosterone on muscle size and strength in normal men. N. Engl. J. Med., v. 335, n. 1, p. 1 – 7, 1996.

BHASIN, S.; BREMNER, W. J. Emerging issues in androgen replacement therapy. J. Clin. Endocrinology and Metabolism., v. 82, n. 1, p. 3 – 8, 1997.

BRICOUT, V.A.; GERMAIN, P.S.; SERRURIER, B.D.; GUEZENNEC, C.Y. Changes in testosterone muscle receptors: effects of an androgen treatment on physically trained rats. *Cell Mol. Biol.*, Noisy-le-Grand, v.40, n.3, p.291-294, 1994.

BROWN, M. D., HUDLICKA, O.. Modulation of physiological angiogenesis in Skeletal Muscle by Mechanical Forces: Involvement of VEGF and Metalloproteinases. *Angiogenesis*, v. 6, p. 1 – 14, 2003.

CALFEE, R.; FADALE, P. Popular ergogenic drugs and supplements in young athletes. *Pediatrics.*, v. 117, p. e577 – e589, 2006.

CARMELI, E. et al. High intensity exercise increases expression of matrix metalloproteinases in fast skeletal muscle fibres. *Experimental Physiology*, v.90, p. 613-619, 2005.

CARMELI, E. et al. Matrix Metalloproteinases and Skeletal Muscle: a brief review. *Muscle & Nerve*, v. 29, p. 191-197, 2004.

CARSON JA, LEE WJ, MCCLUNG J, HAND GA. Steroid receptor concentration in aged rat hind limb muscle: effect of anabolic steroid administration. *J Appl Physiol*; 93:242-50,2002.

CHOI PYL, POPE HG, JR, OLIVARDIA R. Muscle dysmorphia: a new syndrome in weight lifters. *British Journal Of Sports Medicine* 36 (5): 375-376 OCT 2002 .

CHRISTIANSEN, K. Behavioural effects of androgen in men and women. *J Endocrinol.* 2001 Jul;170(1):39-48.

CHUNG, B. Muscle dysmorphia. *Perspectives in Biology and Medicine.*, v. 44, n. 4, p. 565 – 574, 2001.

CUNHA TS, CUNHA NS, MOURA MJCS, MARCONDES FK. Esteróides anabólicos androgênicos e sua relação com a prática desportiva. *Bras Ciênc Farmac*;40(2):165-79, 2004

CUNHA TS, TANNO AP, MOURA MJCS, MARCONDES FK. Effect of high intensity exercise and anabolic-androgenic steroid administration on liver and muscle glycogen supercompensation in rats. In: XXI Congresso Latino Americano de Ciências Fisiológicas, Ribeirão Preto, 2003. p.210.

DAVID, H. G. et al. Simultaneous bilateral quadriceps rupture: a complication of anabolic steroid abuse. *J. Bone Joint Surg.*, v. 77, n. 1, p. 159 – 160, 1995.

DAWSON, R.T. Drugs in sport – the role of physician. *Journal of Endocrinology.*, v. 170, p. 55 – 61, 2001.

DeNARDI, C. et al. Type-2X-myosin heavy chain is coded by a muscle fiber type-specific and developmentally regulated gene. *J. Cell Biology.*, v. 123, n.4, p. 823 – 835, 1993.

DOUMIT, M.E.; COOK, D.R.; MERKEL, R.A. Testosterone up-regulates androgen receptors and decreases differentiation of porcine myogenic satellite cells in vitro. *Endocrinology*, Bethesda, v.137, n.4, p.1385-1394, 1996.

DUBOWITZ, V.; PEARSE, A. A Comparative histochemical study of oxidative enzymes and phosphorylase activity in skeletal muscle. *Histochemistry*, v.2, p. 105-117, 1960.

ELASHOFF JD, JACKNOW AD, SHAIN SG, BRAUNSTEIN GD. Effects of anabolic-androgenic steroids on muscular strength. *Ann Intern Med*; 115(5): 387-93, 1991.

ENGLISH, K. M. et al. Low-dose transdermal testosterone therapy improves angina threshold in men with chronic stable angina: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Circulation.*, v. 102, p. 1906 – 1911, 2000.

EVANS, N. A. Current concepts in anabolic-androgenic steroids. *Am. J. Sports Med.*, v. 32, n. 2, p. 534 – 542, 2004.

FINESCHI, V.; BAROLDI, G.; MONCIOTTI, F.; PAGLICCI, R.L.; TURILLAZZI, E. Anabolic steroid abuse and cardiac sudden death: a pathologic study. *Arch.Pathol. Lab. Med.*, Northfield, v.125, n.2, p.253-255, 2001.

FONSECA, E.P.; THIESEN, F.V. Esteróides anabolizantes e suas alterações em análises clínicas. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, 255-60, 2000.

GUYTON, A. C; HALL, J. E.. *Tratado de Fisiologia Médica*. Rio de Janeiro. GuanabaraKoogan S. A., 2002.

GEORGIEVA; K. N.; BOYADJIEV, N. P. Effects of nandrolone Decanoate on VO₂ max, running economy, and endurance in rats. *Med. Sci. Sports Exerc.*, v. 36, n. 8, p. 1336 – 1341, 2004.

GOMES, O. et al. Hipogonadismo secundário – caso clínico. *Casos Clínicos.*, v. 12, n. 1, p. 32 – 36, 2005.

GRINSPOON, S. et al. Effects of testosterone and progressive resistance training in eugonadal men with aids wasting. *Ann. Intern. Med.*, v. 133, p. 348 – 355, 2000.

HÄKKINEN K, ALEN M, KRAEMER WJ, et al. Neuromuscular adaptations during concurrent strength and endurance training versus strength training. *Eur J Appl Physiol*; 89: 42-52, 2003.

HALL RCW, HALL RCW. Abuse of supraphysiologic doses of anabolic steroids. *South Med J* 2005; 98(5):550-5.

HÄMÄLÄINEN, N.; PETTE, D. The histochemical profiles of fast fiber types IIB, IID, and IIA in skeletal muscle of mouse, rat, and rabbit. *J. Histochemistry and Cytochemistry*, v. 41, n. 5, p. 733 – 743, 1993.

HAMILTON, M. T.; BOOTH, F. W. Skeletal muscle adaptation to exercise: a century of progress. *J. Appl. Physiol.*, v. 88, p. 327 – 331, 2000.

HARTGENS, F.; KUIPERS, H. Effects of androgenic-anabolic steroids in athletes. *Sports Med.*, v. 34, n. 8, p.513 – 554, 2004.

HAUPT HA, ROVERE GD. Anabolic steroid: a review of the literature. *Am J Sports Med* 1984; 12: 469-84.

HAWKE TJ, GARRY DJ. Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology. *J Appl Physiol*; 91(2):534-51:2001.

JÄRVINEN, T. A. H. et al. Muscle Injuries. *The American Journal of Sport Medicine*, v. 33, n. 5, p. 745 – 764, 2005.

JENSEN, L.; BANGSBO, J.; HELLSTEN, Y. Effect of high intensity training on capillarization and presence of angiogenic factors in human skeletal muscle. *J. Physiol.*, v. 557.2, p. 571 – 582, 2004.

JOHANSEN, K. L.; MULLIGAN, K.; SCHAMBELAN, M. Anabolic effects of nandrolone decanoate in patients receiving dialysis. *JAMA.*, v. 281, p. 1275 – 1281, 1999.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. *Histologia básica*. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1990.

KADI, F.; BONNERUD, P.; ERIKSSON, A.; THORNELL, L.E. The expression of androgen receptors in human neck and limb muscles: effects of training and selfadministration of androgenic-anabolic steroids. *Histochem. Cell Biol.*, New York, v.113, n.1, p.25-29, 2000.

KADI, F.; ERIKSSON, A.; HOLMNER, S.; BUTLERBROWNE, G.S.; THORNELL, L.E. Cellular adaptation of the trapezius muscle in strength-trained athletes. *Histochem. Cell Biol.*, New York, v.111, n.3, p.189-195, 1999b.

KADI, F.; ERIKSSON, A.; HOLMNER, S.; THORNELL, L.E. Effects of anabolic steroids on the muscle cells of strength-trained athletes. *Med. Sci. Sports Exerc.*, Philadelphia, v.31, n.11, p.1528-1534, 1999a.

KARP, J. R. Muscle fiber types and training. *Strength and Conditioning J.*, v. 23, n.5, p. 21 – 26, 2001.

KJAER, M. et al. Extracellular Matrix Adaptation of Tendon and Skeletal Muscle to Exercise. *Journal Anatomical*, n. 208, p. 445 – 450, 2006.

KJAER, M.. Role of Extracellular Matrix in Adaptation of Tendon and Muscle Skeletal to Mechanical Loading. *Physiological Review*, v. 84, p. 649 – 698, 2004.

KOSKINEN, S. O. A et al. Acute exercise induced changes in rat skeletal muscle mRNAs and proteins regulating type IV collagen content. *American Physiological Regulatory Integrative Comp Physiological*, v. 280, p. 1292-1300, 2001b

KOSKINEN, S. O. A. et al. Serum concentrations of collagen degrading enzymes and their inhibitors after downhill running. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, v.11, p. 9-15, 2001a.

KRAEMER, W. J. RATAMESS, N.A., FRENCH, D.N. Resistance Training for Health and Performance. *Current Sports Medicine Reports*, 1:165–171, 2002.

KUHN, C.M. Anabolic Steroids. *Recent. Prog. Horm. Res.*, Bethesda, v.57, p.411-434, 2002.

LICHTENBELT VM, WOUTER D, HARTGENS F, VOLLAARD NBJ, EBBING S, KUIPERS H. Body-builders` body composition: effect of nandrolone decanoate. *Med Sci Sports Exerc* 36(3):484-9, 2004.

LISE, M.L.Z.; GAMA E SILVA, T.S.; FERIGOLO, M.; BARROS, H.M.T. O abuso de esteróides anabólico androgênicos em atletismo. *Rev. Ass. Med. Bras.*, São Paulo, v.45, n.4, p.364-370, 1999.

MARAVELIAS, C. et al. Adverse effects of anabolic steroids in athletes: A constant threat. *Toxicology Letters.*, v. 158, p. 167 – 175, 2005.

MARQUETI, R. C. et al. Análise qualitativa dos tendões de ratos submetidos à terapia com EAA associada ao exercício físico de alta intensidade. *Motriz: Rev. Ed. Fís. – UNESP*, v. 9, n.1, p. S109 – S200, jan/abr: 2003. Suplemento.

MARQUETI, R. C. et al. MMP-2, jumping exercise and nandrolone in skeletal muscle. *Int. J. Sports Medicine.*, v. 28, p. 1 – 5, 2007.

MARQUETI, R.C. et al. Androgenic-anabolic steroids associated with mechanical loading inhibit matrix metalloproteinase activity and affect the remodeling of the Achilles tendon in rats. *Am. J. Sports Med.*, v. 34, n. 8, p. 1274 – 1280, 2006.

McARDLE, W. D.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L. Fisiologia do Exercício. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

MINAMOTO, V. B. Classificação e adaptação das fibras musculares: uma revisão. *Fisioterapia e Pesquisa*, v. 12, n.3, p. 50 – 55, 2005.

MOTT, J. D., WERB, Z., Regulation of Matrix Biology by Metalloproteinases. *Current Opinion in Cell Biology*, v.16 , p. 558-564, 2004.

MOTTRAM, D. R.; GEORGE, A. J. Anabolic steroids. *Bailliere Clin. Endoc. Metab.*, v. 14, n. 1, p. 55 – 69, 2000.

NATIONAL RESERCH COUNCIL. Guide for care and use of laboratory animals. Washington, D.C: National Academy Press, 1996.

NAVARRO, J. F. et al. Randomized prospective comparison between erythropoietin and androgens in CAPD patients. *Kidney International*, v. 61, p. 1537 – 1544, 2002.

NUNES, E. A. Efeito do treinamento de saltos e da suplementação com β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) sobre o crescimento tumoral, caquexia e parâmetros imunitários de ratos portadores do tumor de Walker 256. Curitiba, 2005. 115 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

PAUL, G.L.; DELANY, J.P.; SNOOK, J.T.; SEIFERT, J.G.; KIRBY, T.E. Serum and urinary markers of skeletal muscle tissue damage after weight lifting exercise. *Eur.J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.*, New York, v.58, n.7, p.786-790, 1989.

PEUKER, H.; PETTE, D. Quantitative analyses of myosin heavy-chain mRNA and protein isoforms in single fibers reveal a pronounced fiber heterogeneity in normal rabbit muscle. *Eur. J. Biochem.*, v. 247, p. 30 – 36, 1997.

POPE HG Jr, KATZ DL. Affective and psychotic syndromes associated with use of anabolic steroid. *Am J Psychiatry* 1988; 145:487-90.

POPE HG JR., KOURI EM, HUDSON JI. The effects of supraphysiologic doses of testosterone on mood and aggression in normal men. *Arch Gen Psychiatry* 2000.

RABKIN, J. G.; WAGNER, G. J.; RABKIN, R. A double-blind, placebo-controlled trial of testosterone therapy for HIV-positive men with hypogonadal symptoms. *Arch. Gen. Psychiatry*, v. 57, p. 141 – 147, 2000.

RIKLI RE. Reliability, validity, and methodological issues in assessing physical activity in older adults. *Res Q Exerc.Sport*;71(2):89-96: 2000.

ROGATTO GP. Efeitos do treinamento físico de alta intensidade sobre aspectos endócrino-metabólicos de ratos Wistar. Rio Claro, 2001. [Dissertação de Mestrado – Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista].

ROGATTO, G. P.; OLIVEIRA, C.A.M.; FARIA, M.C.; LUCIANO, E. Respostas metabólicas agudas de ratos wistar ao exercício intermitente de saltos. *Revista Motriz*, Rio Claro, v. 10, n. 2, p.61-66, 2004.

SANTOS, A. M. O mundo anabólico. 2.ed. Barueri, SP: Manole, 2007.

SHAHIDI, N. T. A review of the chemistry, biological action, and clinical applications of anabolic-androgenic steroids. *Clinical Therapeutics.*, v. 23, n. 9, p. 1355 – 1390, 2001.

SHEFFIELD-MOORE, M; URBAN, R.J.; WOLF, S.E.; JIANG, J.; CATLIN, D.H.; HERNDON, D.N.; WOLFE, R.R.; FERRANDO, A.A. Short-term oxandrolone administration stimulates net muscle protein synthesis in young men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, Bethesda, v.84, n.8, p.2705-2711, 1999.

SILVA, P.R.P.; DANIELSKI, R.; CZEPIELEWSKI, M.A.Esteróides anabolizantes no esporte. *Rev. Bras. Med.Esporte*, São Paulo, v.8, n.6, p.235-243, 2002.

SPATH Jr, J.A.; LANE, D.L.; LEFER, A.M. Protective action of methylprednisolone on the myocardium during experimental myocardial ischemia in the cat. *Circ. Res.*,Dallas, v.35, n.1, p.44-51, 1974.

SUELVES, M. et al. Plasmin Activity is Required for Myogenesis in Vitro and Skeletal Muscle Regeneration in Vivo. *Hemostasis, thrombosis, and Vascular Biology*, v. 99, n. 8, p. 2835 – 3844, 2002.

TAMAKI T, UCHIYAMA S, UCHIYAMA Y, AKATSUKA A, YOSHIMURA S, ROY RR, et al. Limited myogenic response to a single bout of weight-lifting exercise in old rats. *Am J Physiol. Endocrinol. Metab.*, Bethesda, 2000.

TAMAKI, T.; UCHIYAMA, S.; UCHIYAMA, Y.; AKATSUKA, A. ROY, R.R.; EDGERTON, V.R. Anabolic steroids increase exercise tolerance. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, Bethesda, v.280, n.6, p.973-981, 2001.

TAYLOR DC, BROOKS DE, RYAN JB. Anabolic-androgenic steroid administration causes hypertrophy of immobilized and nonimmobilized skeletal muscle in a sedentary rabbit model. *Am J Sport Med* 1999; 27: 718-26.

THEIN, L.A.; THEIN, J.M.; LANDRY, G.L. Ergogenic aids.*Phys. Ther.*, Alexandria, v.75, n.5, p.426-439, 1995.

TINCELLO D.G.; SAUNDERS, P.T.; HODGINS, M.B.; SIMPSON, N.B.; EDWARDS, C.R.; HARGREAVES, T.B.; WU, FC. Correlation of clinical, endocrine and molecular abnormalities with in vivo responses to highdose testosterone in patients with partial androgen insensitivity syndrome. *Clin. Endocrinol.*, Oxford, v.46, n.4, p.497-506, 1997.

URHAUSEN, A.; ALBERS, T.; KINDERMANN, W. Are the cardiac effects of anabolic steroids abuse in strength athletes reversible? *Heart.*, v. 90, p. 496 – 501, 2004.

Van BREDA, E.; KEIZER, H.A.; GEURTEN, P.; van KRANENBURG, G.; MENHEERE, P.P.; KUIPERS, H.; GLATZ, J.F. Modulation of glycogen metabolism of rat skeletal muscles by endurance training and testosterone treatment. *Pflug. Arch.*, New York, v.424, n.3-4, p.294-300, 1993.

VELAZQUEZ; I.; ALTER, B. P. Androgens and liver tumors: fanconi's anemia and non-fanconi's conditions. *Am. J. Hematology.*, v. 77, p. 257 – 267, 2004.

VISURI, T.; LINDHOLM, H. Bilateral distal biceps tendon avulsions with use of anabolic steroids. *Med. Sci. Sports Exerc.*, v. 26, n. 8, p. 941 – 944, 1994.

VOLTARELLI FA, GOBATTO CA, MELLO MAR. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. *Braz J Med Biol Res* 2002; 35:1389-94.

WAGNER, J.C. Abuse of drugs used to enhance athletic performance. *Am. J. Hosp. Pharm.*, Bethesda, v.46, n.10, p.2059-2067, 1989.

WARPEHA, J. M. side Effects of Steroid Use. NSCA's Performance Training Journal, setembro, p. 4-14, 2006.

WATERS, R. E. et al. Voluntary running induces fiber type-specific angiogenesis in mouse skeletal muscle. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, v. 287, p. C1342 – C1348, 2004.

WILSON, J.D. Androgen abuse by athletes. *Endocr. Rev.*, Bethesda, v.9, n.2, p.181-199, 1988.

YESALIS CE, BAHRKE MS. Anabolic-androgenic steroids. *Sports Med* 1995;19: 326-40.

YOSHIOKA M, DOUCET E, ST-PIERRE S, ALMERAS N, RICHARD D, LABRIE A, et al. Impact of high-intensity exercise on energy expenditure, lipid oxidation and body fatness. *Int J Obes Relat Metab Disord*; 25(3):332-9: 2001.

ANEXOS

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
Comissão de Ética em Experimentação Animal
Via Washington Luís, km. 235 - Caixa Postal 676
Fones: (016) 3351.8109 / 3351.8110
Fax: (016) 3361.3176
CEP 13560-970 - São Carlos - SP - Brasil
propg@power.ufscar.br - www.propg.ufscar.br

Protocolo CEEA nº 058/2007

Aprovo *ad referendum* da Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de São Carlos – CEEA/UFSCar, o projeto pesquisa **Efeitos do uso de decanato de nandrolona em ratos submetidos ao exercício físico**, elaborado por Vilmar Baldissera.

São Carlos, 13 de dezembro de 2007.

Prof. Dra. Keico Okino Nonaka

Presidente da Comissão de Ética em Experimentação Animal