



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL**

GYL EVERSON DE SOUZA MACIEL

**EFEITOS DO USO CRÔNICO DE ESTANOZOLOL E DO TREINAMENTO
FÍSICO SOBRE A MORFOFISIOLOGIA CARDIOVASCULAR, RENAL,
HEPÁTICA, ESTRESSE OXIDATIVO E COMPORTAMENTO EM RATOS.**

**RECIFE / PE
2022**



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

GYL EVERSON DE SOUZA MACIEL

EFEITOS DO USO CRÔNICO DE ESTANOZOLOL E DO TREINAMENTO
FÍSICO SOBRE A MORFOFISIOLOGIA CARDIOVASCULAR, RENAL,
HEPÁTICA, ESTRESSE OXIDATIVO E COMPORTAMENTO EM RATOS.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Biociência Animal. Área de Concentração Morfofisiologia, Sanidade Humana, Animal e ambiental.

Orientador:

Prof. Dr. Anísio Francisco Soares

Coorientador:

Prof. Dr. Leucio Duarte Vieira Filho

RECIFE / PE

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas

Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Maciel, GES M152e Maciel, Gyl Everson de Souza Maciel
EFEITOS DO USO CRÔNICO DE ESTANOZOLOL E DO TREINAMENTO FÍSICO
SOBRE A MORFOFISIOLOGIA CARDIOVASCULAR, RENAL, HEPÁTICA, ESTRESSE
OXIDATIVO E
COMPORTAMENTO EM RATOS.: estudo científico / Gyl Everson de Souza Maciel Maciel. -
2022.

129 f. : il.

Orientador: Anisio Francisco Soares.

Coorientador: Leucio Duarte Vieira Filho.

Inclui referências, apêndice(s) e anexo(s).

Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, Recife, 2022.

1. esteroides anabolizantes. 2. efeitos colaterais. 3. comportamento agressivo. 4. academias de musculação. 5. sistema REDOX. I. Soares, Anisio Francisco, orient. II. Filho, Leucio Duarte Vieira, coorient.

III. Título

GYL EVERSON DE SOUZA MACIEL

**EFEITOS DO USO CRÔNICO DE ESTANOZOLOL E DO TREINAMENTO
FÍSICO SOBRE A MORFOFISIOLOGIA CARDIOVASCULAR, RENAL,
HEPÁTICA, ESTRESSE OXIDATIVO E COMPORTAMENTO EM RATOS.**

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Anísio Francisco Soares (Presidente)
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal – UFRPE

Prof^a. Dr^a. Natalie Emanuelle Ribeiro Rodrigues (1^o membro - Titular)
Universidade de Pernambuco – Campus Garanhuns

Prof^a. Dr^a. Anna Myrna Jaguaribe de Lima (2^o membro - Titular)
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Maria Adélia Borstelmann de Oliveira (3^o membro - Titular)
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal – UFRPE

Prof. Dr. Leucio Duarte Vieira Filho (4^o membro - Titular)
Departamento de Fisiologia e Farmacologia – UFPE.

Prof^a. Dr^a. Mariza Brandão Palma (Suplente)
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Aprovada em ____/____/____

RESUMO

A cada década o uso indiscriminado de esteroides anabolizantes androgênicos (EAA) vem aumentando nas academias, pelo fato de promover aumento de força sem ganho de peso extra, não se converter em estrógeno, aumentar rapidamente a forma física, além de ajudar na perda de gordura preservando a massa muscular. No entanto, o uso indiscriminado e sem prescrição médica, pode causar complicações cardiovasculares, disfunção hepática, lesão renal, distúrbios psiquiátricos, redução da tiroide e infertilidade. Objetivamos investigar os efeitos do estanozolol sobre a pressão sistólica, parâmetros renais, hepáticos e comportamentais em ratos sedentários e treinados, além de Descrever o perfil de praticantes de musculação de Pernambuco que fazem uso de EAA. Para tanto, foram selecionados 40 animais, com 90 dias e divididos em quatro grupos: grupo controle veiculo (n=5) que recebeu solução salina, via intramuscular e o grupo controle estanozolol (n=5) no qual foi administrado estanozolol, grupo controle treinado (n=5) recebeu solução salina, via intramuscular e treinou natação, grupo treinado estanozolol (n=5) recebeu estanozolol intramuscular e treinou natação. O estanozolol apresentou aumentos significativos no estresse oxidativo. Além de promover alterações comportamentais entre ratos que cresceram juntos, acarretando na elevação da agressividade durante e após o uso do esteroide. Avaliamos o perfil dos usuários de EAA na região metropolitana de Recife-PE. O uso de estanozolol compromete os sistemas cardiovascular, renal, hepático e promove aumento no comportamento agressivo, em elevadas doses. Algo que precisa ser contornado, tendo em vista o impacto negativo na saúde, quando não prescrito adequadamente.

Palavras-chave: Esteroides Anabolizantes, Efeitos Colaterais, Academias De Musculação, Comportamento Agressivo, Estresse Oxidativo.

ABSTRACT

Every decade, indiscriminate use of stanozolol has been increasing in gyms, as it promotes increased strength without extra weight gain, does not convert to estrogen, does not cause excess water retention, and helps with fat loss while preserving mass muscle. However, indiscriminate use without a prescription can cause cardiovascular complications, liver dysfunction, kidney damage, psychiatric disorders, thyroid reduction and infertility. We aimed to investigate the effects of stanozolol on systolic pressure, renal, hepatic and behavioral parameters in sedentary and trained rats, in addition to describing the profile of bodybuilding practitioners in Pernambuco who use steroids (EAA). Considering that the literature only addresses physical activities. For this purpose, 40 animals were selected, aged 90 days and divided into four groups: vehicle control group (n=5) that received saline solution, intramuscularly and the stanozolol control group (n=5) in which stanozolol was administered, control group trained (n=5) received saline solution, intramuscularly and trained swimming, trained group stanozolol (n=5) received intramuscular stanozolol and trained swimming. Stanozolol showed significant increases in arterial pressure and oxidative stress. In addition to promoting behavioral changes among rats that grew up together, resulting in increased aggression during and after steroid use. 30.2% of the sample consisted of AAS users. The use of stanozolol compromises the cardiovascular, renal and hepatic systems and promotes an increase in aggressive behavior at high doses. Something that needs to be worked around, in view of the negative impact on health, when not properly prescribed.

Keywords: Anabolic Steroids, Side Effects, Bodybuilding Academies, Aggressive Behavior, Oxidative Stress.

SUMÁRIO

Capítulos		Pág.
I	1. Introdução.....	12
	2. Revisão de literatura.....	13
	2.1.Hormônios esteroides anabolizantes	13
	2.2. Estanozolol.....	17
	2.3. Função Renal.....	18
	2.4. Estresse oxidativo.....	19
	2.5. Antioxidantes.....	20
	2.6. Hormônios Anabolizantes e Estresse Oxidativo.....	22
	2.7. Esteroides, Comportamento e Agressividade.....	23
	3. Objetivos.....	25
	3.1. Objetivo Geral.....	25
	3.2. Objetivos específicos	25
	4. Material e Metodos	26
II	Aspectos relacionados com o uso de esteroides androgênicos anabolizantes e seus impactos em desportistas.....	29
	Resumo e Abstract.....	30
	Introdução.....	31
	Métodos.....	32
	Resultados.....	33
	Discussão.....	43
	Conclusão.....	49
	Referências.....	50
III	Anabolic-Androgenic Steroids Increase Aggressiveness in Male rats.....	54
	Abstract.....	54
	Introdução.....	55

	Métodos.....	56
	Resultados.....	57
	Discussão e Conclusão_ Referências.....	60
	Introdu	
IV	Anabolizante androgenico (estanozolol) altera o sistema redox de ratos sedentários e treinados.....	64
	Resumo e Abstract.....	65
	Introdução.....	67
	Material e Métodos.....	70
	Resultados.....	75
	Discussão.....	84
	Conclusão.....	89
	Referências.....	90
V	Ação do anabolizante androgenico (estanozolol) na histofisiologia dos ratos sedentários e treinados.....	97
	Introdução.....	97
	Matodologia	99
	Resultados Histoquimica	102
	Resultados parâmetros fisologicos	108
	Discussão.....	109
	Conclusão e Referências.....	111
Anexos	O esteroide anabolizante androgenico estanozolol altera o sistema redox renal, hepático e cardiovascular de ratos sedentários e treinados.....	124
	Introdução.....	125
	Material e Métodos.....	126
	Resultados e discussão.....	127
	Discussão.....	127
	Conclusão e Referências.....	128

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I	Pag.
Figura 1 – Desenho esquemático dos principais hormônios esteroides. Mostrando a semelhança das estruturas químicas, já que todos são derivados do colesterol. (Fonte própria)	14
Figura 2 – Molecula de estanozolol, apresenta Fórmula química: $C_{21}H_{32}N_2O$, massa molar: $328.49 \text{ g mol}^{-1}$. Possui meia vida de $\pm 24\text{h}$, metabolizado no fígado. (Fonte IUPAC)	17
CAPÍTULO II	
Tabela 1. Principais características dos usuários das academias de ginástica em Pernambuco, <i>Odds ratio</i> para o uso de EAA, associações estatísticas entre uso de EAA e demais variáveis	34
Tabela 2. Perfil de consumo de EAA e suas implicações	38
Tabela 3. Matriz de correlação de Spearman das variáveis aplicadas no questionário utilizado nesse estudo.....	42
CAPÍTULO III	
Tabela 1. A taxa de agressividade total semanal foi maior para os ratos tratados com estanozolol, independente de terem praticado ou não atividade física. Grupo controle veículo (CV, n=5) que recebeu solução salina, via intramuscular e o grupo controle estanozolol (CS, n=5) no qual foi administrado estanozolol, (EV, n=5) praticou exercício físico e recebeu solução salina, (ES, n=5) praticou exercício físico e no qual foi administrado estanozolol.....	58
Tabela 2. Comparação de agressividade entre os grupos. Normalidade: $p < 0.05$ Amostra não-paramétrica Teste: Shapiro-Wilk*ns = não significativo.....	58
Imagem 1. Evidenciando as marcas de agressão feitas pelo grupo ES.....	59

Tabela 3. Níveis de agressividade com os grupos entre si, durante e após os experimentos. Normalidade: $p < 0.05$, Amostra não-paramétrica, Teste: Shapiro-Wilk, Teste de diferença: U de Mann-Whitney. * Significante.....

59

CAPÍTULO IV

Figura 1. O uso do estanozolol 20,0 mg/kg/semana durante 8 semanas consecutivas alterou os mecanismo antioxidantes renais no grupo treinado com natação e usuário de estanozolol. Two-way ANOVA seguido de teste de Tukey; * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; e *** $P < 0,001$ vs. C; † $P < 0,05$; †† $P < 0,01$; e ††† $P < 0,001$ vs. E; ‡ $P < 0,05$; ‡‡ $P < 0,01$; e ‡‡‡ $P < 0,001$ vs. CT.....

76

Figura 2. O uso do estanozolol 20,0 mg/kg/semana durante 8 semanas consecutivas, altera os mecanismos antioxidantes renais. Two-way ANOVA seguido de teste de Tukey; * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; e *** $P < 0,001$ vs. C; † $P < 0,05$; †† $P < 0,01$; e ††† $P < 0,001$ vs. E; ‡ $P < 0,05$; ‡‡ $P < 0,01$; e ‡‡‡ $P < 0,001$ vs. CT.....

77

Figura 3. O uso do estanozolol 20,0 mg/kg/semana durante 8 semanas consecutivas, promove alterações hepáticas. Two-way ANOVA seguido de teste de Tukey; * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; e *** $P < 0,001$ vs. C; † $P < 0,05$; †† $P < 0,01$; e ††† $P < 0,001$ vs. E; ‡ $P < 0,05$; ‡‡ $P < 0,01$; e ‡‡‡ $P < 0,001$ vs. CT.....

79

Figura 4. O uso do estanozolol 20,0 mg/kg/semana durante 8 semanas consecutivas, promove alterações hepáticas. Two-way ANOVA seguido de teste de Tukey; * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; e *** $P < 0,001$ vs. C; † $P < 0,05$; †† $P < 0,01$; e ††† $P < 0,001$ vs. E; ‡ $P < 0,05$; ‡‡ $P < 0,01$; e ‡‡‡ $P < 0,001$ vs. CT.....

80

Figura 5. O uso do estanozolol 20,0 mg/kg/semana durante 8 semanas consecutivas, altera o sistema oxidativo cardíaco. Two-way ANOVA seguido de teste de Tukey; * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; e *** $P < 0,001$ vs. C; † $P < 0,05$; †† $P < 0,01$; e ††† $P < 0,001$ vs. E; ‡ $P < 0,05$; ‡‡ $P < 0,01$; e ‡‡‡ $P < 0,001$ vs. CT.....

82

Figura 6. O uso do estanozolol 20,0 mg/kg/semana durante 8 semanas consecutivas, altera o sistema oxidativo cardíaco. Two-way ANOVA seguido de teste de Tukey; * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; e *** $P < 0,001$ vs. C; † $P < 0,05$; †† $P < 0,01$; e ††† $P < 0,001$ vs. E; ‡ $P < 0,05$; ‡‡ $P < 0,01$; e ‡‡‡ $P < 0,001$ vs. CT.....

83

LISTA DE ABREVIATURAS

- DHT** – Dihidrotestosterona
- EAA** – Esteroides Anabolizantes Androgênicos
- EROs** – Espécies Reativas do Oxigênio
- EST** – Estanozolol
- FDA** – Federal Drug Association
- FSH** – Hormônio Folículo Estimulante
- GR** – Glutathione Redutase
- GSH** – Glutathione
- GSSG** – Glutathione Oxidada
- LH** – Hormônio Luteinizante
- MDA** – Malondialdeído
- PS** – Pressão Sistólica
- SNC** – Sistema Nervoso Central
- TBARS** – Ácido tiobarbitúrico
- TGO** – Transaminase Oxalacética
- TGP** – Transaminase Pirúvica
- T3** – Triiodotironina
- T4** – Tiroxina

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

Há décadas os dados coletados do Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas vêm informando um assustador aumento no consumo de substâncias consideradas “drogas para imagem corporal” entre usuários de academias (IRIART & ANDRADE, 2002; SILVA et al., 2007; ABRAHIN et al. al., 2014). Há uma possibilidade bem maior de se consumir Esteroides anabolizantes androgênicos (EAA), para os indivíduos que praticam musculação por mais de um ano (OLIVEIRA & CAVALCANTE, 2018).

Dentre essas drogas, encontramos os esteroides anabolizantes androgênicos, análogos sintéticos da testosterona, excedendo os níveis metabólicos normais. Essas substâncias estimulam o crescimento muscular e a função do sistema reprodutor masculino através de suas interações celulares e atividades androgênicas e anabólicas (MARQUES et al., 2003; KANAYAMA et al., 2008). Podem ser utilizados por administração oral ou injetável, atuando geralmente em receptores específicos, sendo que, uma vez na circulação, elas são transportadas pela corrente sanguínea como mensageiros, na forma livre ou combinada às moléculas transportadoras. (CELOTTI & CESI, 1992).

A cada ano mais pessoas estão praticando atividade física, e uma porcentagem delas utilizam doses de EAA, excedendo os níveis metabólicos normais, podendo causar sérios danos à saúde (MACIEL et al., 2017). Em 2017, a *World Drug Report* reportou que o número de usuários de drogas está em torno de 271 milhões de pessoas no mundo ou 5,5% da população entre 15 a 64 anos.

Nos Estados Unidos da América, milhões de jovens foram ou são usuários de EAA (EVANS, 2004; IRIART; CHAVES; ORLEANS, 2009; VENÂNCIO et al., 2010). Aproximadamente 23% da população adulta estadunidense, pratica atividade muscular e/ ou exercício aeróbio pela (CDC, 2017). No Brasil, estima-se que 33,8% da população pratica algum tipo de atividade física regular, tendo este valor sido aumentado mais de 10% nos últimos anos (LABOISSIÈRE & LEAL, 2014). Correa e colaboradores em 2020 relataram que dos praticantes de

musculação, cerca de 10% fazem ou fizeram uso de EAA. Mais de 20% dos atletas de crossfit relataram fazer uso de EAA (HIGINO & FREITAS, 2021).

Os efeitos negativos no SNC relacionados ao abuso de EAA estão associados na diminuição da proliferação celular, aumento do apoptose em células nervosas (BRANNVALL et al., 2005), diminuindo a densidade neuronal principalmente no hipocampo (DAMIÃO et al., 2020). Gerando mudanças morfológicas, acarretando em alterações funcionais, bioquímicas e levando morte celular nos neurônios (KALININE, 2011; DAMIÃO et al., 2012; FREITAS et al., 2017).

Além disso, a utilização de EEA sem orientação médica pode trazer efeitos colaterais nocivos, tais como desenvolvimento de lesões hepáticas graves (NIEDFELDT, 2018), hipertensão arterial, doenças coronarianas, alterações no aparelho reprodutor masculino, além da atrofia testicular, infertilidade, calvície e impotência sexual. Nas mulheres podem ocorrer redução dos estrogênios e da progesterona, alterações do ciclo menstrual, além de alterações psicológicas (MACHADO & RIBEIRO, 2004).

No Brasil, mesmo sendo crescente o número de usuários de EEA, ainda existem poucos dados sobre o uso e os efeitos dos EAA (IRIART, CHAVES, ORLEANS, 2009; VENÂNCIO et al., 2010; MACIEL et al., 2017). Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos cardiovasculares, Renais, Hepáticos e comportamentais ao uso suprafisiológico do Estanozolol, além de descrever o perfil dos usuários não-supervisionados de EEA em Pernambuco.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Hormônios esteroides anabolizantes

O colesterol é a estrutura química básica para todos os hormônios esteroides (figura 1). Diferente dos hormônios peptídicos, que são sintetizados em diversos tecidos distribuídos por todo o corpo. Os esteroides são produzidos órgãos específicos. O córtex da glândula suprarrenal, especificadamente na sua porção externa, é produtora de diversos tipos de hormônios esteroides. Cada

glândula suprarrenal situa-se sobre o topo de cada rim. As gônadas produzem esteroides sexuais (estrogênio, progesterona e androgênio), e a pele pode produzir vitamina D. Na gravidez, a placenta também produz hormônios esteroides (GUYTON & HALL, 2017).

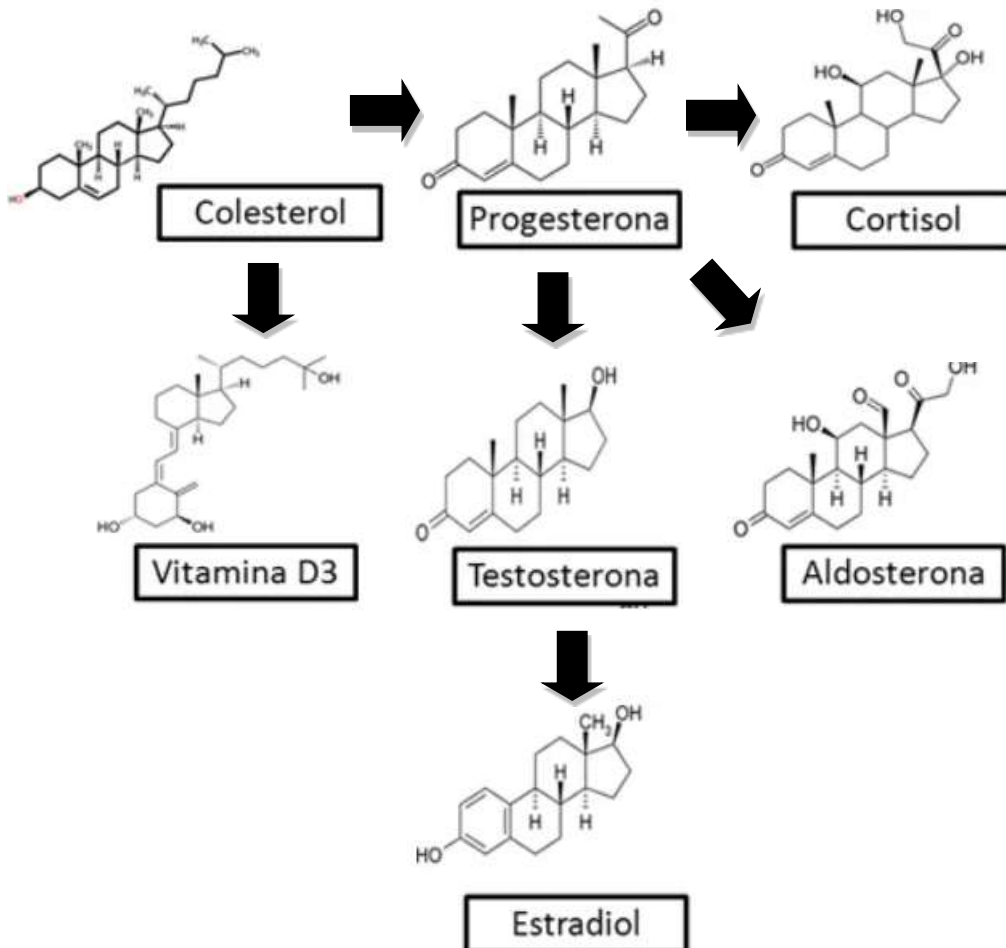


Figura 1 – Desenho esquemático dos principais hormônios esteroides. Mostrando a semelhança das estruturas químicas, já que todos são derivados do colesterol. (Fonte própria)

Os esteroides anabólicos androgênicos (EAA) pertencem a uma família de hormônios que incluem a testosterona e seus derivados sintéticos, os quais possuem tanto efeitos anabólicos quanto androgênicos. Assim, estimulam o crescimento muscular e a função do sistema reprodutor masculino através de suas interações celulares, biodisponibilidade e balanço entre suas atividades androgênicas e anabólicas (MARQUES et al., 2003; KANAYAMA et al., 2008).

As células de Leydig, localizadas nos testículos, e córtex da glândula adrenal secretam testosterona, hormônio esteroide, originado do colesterol, sendo o principal hormônio androgênico para o homem, tendo também importante papel anabólico (KADI et al., 2000; GUYTON & HALL, 2017). Sua secreção é regulada pelo hipotálamo que, por meio da secreção do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), estimula a hipófise anterior a liberar o hormônio folículo estimulante (FSH) e o hormônio luteinizante (LH). Estes induzem a diferenciação e maturação das células de Leydig, após interagirem com seus receptores de membrana específicos, processo este que induz a produção da testosterona. Por outro lado, o excesso de testosterona suprime a secreção dos hormônios gonadotróficos diminuindo a secreção do mesmo (CUNHA et al., 2004; SILVA, et al., 2007; GUYTON & HALL, 2017).

A entrada do esteroide na célula, por si só, gera uma maior produção de AMPc (Adenosina monofosfato cíclico), levando ao aumento do metabolismo da mesma (MAYES & WATSON, 2004 SEVERO et al., 2013; SCHOOLING, 2014; YEAP, 2015). No citoplasma, a molécula de esteroide se liga ao receptor androgênico específico e migra para o núcleo celular, iniciando o processo de transcrição gênica e, levando a transdução proteica, a qual modula as ações celulares dependentes de andrógeno (MAYES & WATSON, 2004).

Segundo Cunha et al (2004), os anabolizantes são indicados em algumas terapêuticas clássicas: hipogonadismo e quadros de deficiência do metabolismo proteico. Os androgênios também são indicados na terapêutica castração, tumores mamários, controle de menopausa e andropausa (MACHADO et al, 2002). De acordo Peluso et al. (2009) Também são indicados no tratamento de algumas patologias como deficiência de testosterona, algumas formas de anemias e alguns casos de câncer de mama.

O tratamento com EAA resulta em hipertrofia do músculo esquelético, não mostrou toxicidade para o fígado, induz regeneração do músculo esquelético e ativa o feedback negativo endócrino. Como também, apresenta elevada afinidade com a gordura visceral e o osso, podendo ter papel fundamental no metabolismo desses tecidos (REITZNER et al., 2019).

Segundo Lize et al. (1999), a FDA (Federal Drug Association) listou o uso de EAA nas seguintes indicações médicas: ganho de peso por portadores de AIDS; diminuição da dor óssea na osteoporose; catabolismo induzido por corticosteroides; anemia grave; angioedema hereditário e câncer de mama metastático.

De acordo com a Food and Drug Administration (FDA), há indicações de EAA para casos de puberdade e crescimentos retardados; micropênis neonatal; deficiência androgênica parcial em homens idosos e no tratamento de deficiência androgênica secundária a doenças crônicas (CUNHA et al, 2004). Ainda segundo os mesmos autores, por causa de seus efeitos anabólicos, os EAA também são utilizados em alguns quadros graves como politraumatismos, queimaduras e em períodos pós-operatórios. E há mais indicações, como no tratamento por falência da medula óssea e doença renal crônica.

Contudo, Cocolo (2002) relata que são justamente as propriedades andrógenas dos esteroides anabólicos que resultam em efeitos colaterais e contraindicações, dependendo da proporção entre droga utilizada, tempo e quantidade, os riscos do uso de um esteroide podem ser maiores ou menores, começando por reprimir a produção natural de testosterona pelo organismo. Estudos, no entanto, têm demonstrado que a administração de EAA tem resultado em efeitos adversos em vários sistemas fisiológicos, como: acne, atrofia testicular, retenção hídrica, alterações do humor e ginecomastia (CALISKAN et al., 2019; PIACENTINO et al., 2015; PARKINSON; EVANS, 2006; HOFFMAN; RATAMESS, 2006; HOSEINI et al., 2009), estas alterações podem durar seis meses, (MARAVELIAS et al., 2005).

Liu e Wu (2019) sugerem que usuários de EAA combinam outros medicamentos para maximizar os efeitos anabólicos. Isso pode elevar o risco de mortalidade entre os usuários crônicos de EAA, podendo ainda levar a complicações cardiovasculares, disfunção hepática, lesão renal, distúrbios psiquiátricos, redução da tiroide, produção hormonal, infertilidade e modula a imunidade (DAMIÃO et al., 2020; NIEDFELDT, 2018), DAHER et al., 2009; BRENU; MCNAUGHTON; MARSHALL-GRADISNIK, 2011).

Devido ao grande crescimento na busca por esteroides anabolizantes, diversos estudos buscam descrever os principais efeitos colaterais desenvolvidos pelo uso abusivo destas substâncias e demonstrar que em adição aos efeitos tóxicos e hormonais, já bem descritos na literatura, prejuízos em diversos órgãos e tecidos têm sido frequentemente observados, tendo o sistema cardiovascular um papel de destaque nestes estudos (URHAUSEN, et al., 2004).

2.2. Estanozolol

Entre os esteroides anabólicos androgênicos mais conhecidos, encontramos o Estanozolol (EST) (Figura 2). É um éster da testosterona [17-beta-hidróxi-17-alfa-metilandrostando (3,2-C) pirazol] com grande potencial anabólico, apresenta degradação hepática mais lenta do que o hormônio masculino natural e está incluído no grupo dos esteroides anabolizantes aromatizantes (PEY et al., 2003). Esse anabolizante é utilizado na medicina no tratamento auxiliar de várias doenças, como na endometriose, no estímulo da eritropoiese em algumas anemias, na aceleração da cicatrização em grandes traumas ou cirurgias, na sarcopenia em pacientes com HIV e na terapia do hipogonadismo masculino, atletas também utilizam o estanozolol, em altas doses, com objetivo de melhorar a desempenho físico (WILLIAMSON; CONE; HUARD, 1995).

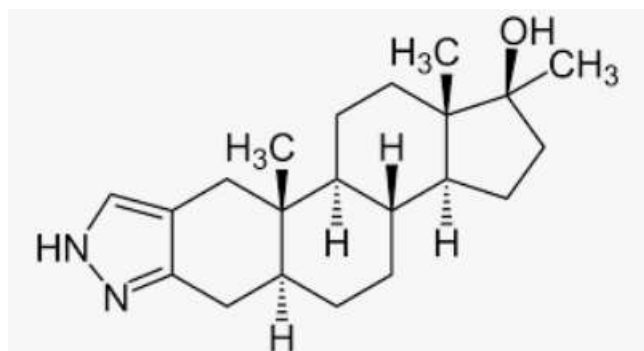


Figura 2 – Molecula de estanozolol, apresenta Fórmula química: $C_{21}H_{32}N_2O$, massa molar: $328.49 \text{ g mol}^{-1}$. Possui meia vida de $\pm 24\text{h}$, metabolizado no fígado. (Fonte IUPAC).

A busca por esse anabolizante ocorre pelo fato dele causar aumento de força sem ganho de peso em excesso, promover aumento na vascularização,

não se converter em estrógeno, não causar retenção de água em excesso, além de ajudar na redução de gordura, preservando a massa muscular (WILLIAMSON; CONE; HUARD, 1995). Também pode promover estresse oxidativo (CAMILETTI-MOIRÓN et al., 2015).

Segundo TUCCI et al. (2012) o uso abusivo pode apresentar efeitos adversos sobre a saúde mental do indivíduo, como a depressão. Além de outros quadros psiquiátricos como: mania, agressão e psicose (MATRISCIANO et al., 2010). Ferreira e colaboradores (2014) relataram que a elevação do consumo de Estanozolol associado com outros EAA, está relacionado com a facilidade de se comprar esses produtos, todo isso pode levar a sérios danos ao organismo, tais como: hepatotoxicidade, nefrotoxicidade e neurotoxicidade dentre outras.

Sharma, Balasinor e Inamdar (2021) revelam que o tratamento com estanozolol em roedores por 30 dias consecutivos leva a uma ruptura transitória do estro vaginal levando a um diestro persistente. Além de impedir a implantação do embrião reduzindo a receptividade endometrial, sem afetar a pré-implantação e o desenvolvimento morfológico do blastocisto.

2.3. Função Renal

Os rins desempenham diversas funções de homeostasia no organismo, sendo em sua maioria essencial à vida. Primariamente, o rim pode ser visto como o órgão responsável pela eliminação de materiais metabólicos desnecessários, mas podemos ressaltar sua função na homeostasia do compartimento líquido extracelular e dos níveis pressóricos arteriais, alcançada através da manutenção do balanço hidroeletrolítico, e também através da produção de substâncias vasoativas (EATON & POOLER, 2004; MULLENS et al., 2020). Segundo VELASCO & REVILLA (2003) do ponto de vista terapêutico, o estanozolol tem propriedades anticoagulantes, sendo útil para o tratamento da anemia em pacientes com enfermidade crônica nos rins.

Apesar de ser um órgão relativamente pequeno, recebe aproximadamente 20% de todo o sangue bombeado pelo coração, esse enorme fluxo sanguíneo permite que os rins realizem suas funções, como: remover excretas do corpo,

manter o volume de água constante, além de controlar pH e íons plasmáticos (GUYTON & HALL, 2017). Algumas drogas, como os esteroides, podem levar a alterações na funcionalidade renal (MACIEL et al., 2017). Alguns produtos podem destruir os túbulos, que acarreta no aumento da pressão intraglomerular, induzindo à atrofia (BERNARDES, 2004). ROBBINS & COTRAN em 2005, além de RAMOS & MARINI (2015) afirmaram que independente da causa da lesão renal, a destruição de todos os quatro componentes do rim, culminando em insuficiência renal crônica. Pode ser evitada antes que haja prejuízo funcional evidente. Portanto, os sinais e sintomas precoces apresentam grande importância clínica.

Historicamente, a função renal era avaliada principalmente pela creatinina sérica e pelo cálculo da taxa de filtração glomerular estimada. Um aumento na creatinina sérica, também denominado piora da função renal, comumente ocorre em pacientes com insuficiência cardíaca, especialmente durante episódios agudos de insuficiência cardíaca (LARSSON et al, 2010). Embora a piora da função renal esteja associada a um pior resultado em nível populacional, a interpretação de tais mudanças dentro do contexto clínico apropriado ajuda a avaliar corretamente o risco e determinar estratégias de tratamento adicionais (FERNANDES, 2000). Além disso, é cada vez mais reconhecido que a avaliação da função renal envolve mais do que apenas a taxa de filtração glomerular. Assim sendo, uma melhor avaliação do manuseio de sódio e água pelos túbulos renais permite determinar a eficiência dos diuréticos de alça (resposta e eficiência do diurético de alça) (RAMOS & MARINI, 2015).

2.4. Estresse oxidativo

O desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a eficiência defensiva dos sistemas antioxidantes (extra e intracelular). As EROs e/ou radicais livres são produtos comuns do metabolismo de oxigênio. A principal geradora é a cadeia transportadora de elétrons que ocorre na mitocôndria. O complexo defensivo antioxidante tem a função de inibir e/ou reduzir os danos causados pela ação deletéria dos radicais livres e/ou espécies reativas não radicais. (SHOJI & KOLETZKO, 2007; BARBOSA et al., 2010).

As EROs são termos usados para designar radicais livres derivados do oxigênio (superóxido, hidroxil) e também, não radicais derivados do oxigênio (peróxido de hidrogênio). São produzidas por diferentes mecanismos, como isquemia-reperfusão, ativação de neutrófilos e macrófagos, ácidos graxos livres, metabolismo das prostaglandinas dentre outros, podendo reagir com quase todo tipo de molécula presente em células vivas, como lipídios, proteínas, polissacarídeos e DNA, que podem causar lesões celulares induzidas por radicais livres do oxigênio principalmente na peroxidação lipídica (SHOJI & KOLETZKO, 2007).

A existência de um desequilíbrio entre compostos oxidantes e antioxidantes, seja pela produção exacerbada de radicais livres e/ou redução da capacidade e velocidade da inativação desses, leva a instalação do processo de estresse oxidativo, que por consequência oxida biomoléculas acarretando em perda de suas funções biológicas, cuja manifestação é o dano oxidativo potencial contra células e tecidos (HALLIWELL & WHITEMAN 2004). Quando o mecanismo antioxidante é exaurido leva a vários efeitos celulares (KAROWICZ-BILINSKA, et al., 2002).

Glutationa peroxidase, catalase e a superóxido dismutase são as principais enzimas antioxidantes. O radical superóxido é convertido a peróxido de hidrogênio pela superóxido dismutase, e este, são, então, removidos pela glutathione peroxidase ou pela catalase (BIRI, et al., 2007). O estresse oxidativo elevado está relacionado ao processo etiológico de numerosas enfermidades crônicas não transmissíveis, inclusive patologias programadas no ambiente intrauterino, como hipertensão (FRANCO et al., 2007) e diabetes (HORIE, et al., 1997), Além de aterosclerose, diabetes, obesidade, transtornos neurodegenerativos e câncer (GREEN, BRAND, MURPHY, 2004).

2.5. Antioxidantes

O oxigênio está presente na atmosfera em seu estado estável de tripleto biradial ($^3 O_2$), é um não metal extremamente reativo e um agente oxidante, geralmente forma óxidos com a maioria dos elementos e compostos. Além de passar por processos de oxirredução (TASLIMI & GULÇIN, 2018; REZAI et

al., 2018). A molécula de oxigênio, apresenta dois elétrons desemparelhados com spins paralelos em seus dois orbitais separados. Devido a essa restrição de spin, ele pode aceitar um par de elétrons de um doador de elétrons. Por outro lado, redox é uma reação metabólica essencial no sistema vivo, em que os elétrons são transferidos de uma espécie para outra (GULÇIN, 2020).

Halliwell & Gutteridge (2007) relatam que em mamíferos, existem três diferentes tipos: a MnSOD (mitocondrial), a CuZnSOD (citoplasmática) além da EC-SOD (uma CuZnSOD extracelular). Usualmente as defesas antioxidantes são divididas em enzimáticas e não-enzimáticas (BARBOSA et al., 2010). Existem defesas antioxidantes não-enzimáticas endógenas e exógenas. A glutathione (GSH) (VIÑA et al., 2005), a progesterona e o estradiol (MOORTHY, et al., 2005) são importantes exemplos de antioxidantes não-enzimáticos endógenos.

Diversas substâncias podem afetar a homeostase dos organismos. Podendo afetar as estruturas nucleares e desencadear doenças ou até mesmo alterações as futuras gerações (MOORE et al., 2004). Uma das ferramentas mais utilizadas em ensaios bioquímicos são os biomarcadores de estresse oxidativo, fornecem medidas concisas, pois respondem a diferentes estressantes (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2007).

A enzima Glutathione Redutase (GR) é um biomarcador que catalisa a redução de glutathione oxidada (GSSG) em glutathione reduzida (GSH), utilizando NADPH como cofator (HUBER; ALMEIDA; FÁTIMA, 2008). A reciclagem e manutenção da homeostase de GSH ocorre devido a ação Constante da GR, especialmente em situações de exposição a xenobióticos que produzem estresse oxidativo ou que são desintoxicados em reações que utilizam a GSH (HUANHUAN et al., 2019).

A glutathione, é um oligopeptídeo endógeno, além de ser substrato da GPx, também é o principal composto não-enzimático antioxidante intracelular (VIÑA et al., 1978). Apresenta papel fundamental na eliminação de xenobióticos e na defesa das células contra o estresse oxidativo (JOSEPH; MANNERVIK; ORTIZ DE MONTELLANO, 1997). Huber, Almeida e Fátima (2008) demonstraram que o GSH é um tripeptídeo, e um tiol de baixo peso molecular, muito abundante

intracelularmente, essencial para todos os seres vivos aeróbicos. Sua concentração é ~ 2mM e mais de 10 mM em eritrócitos humanos e hepatócitos, respectivamente.

A GSH sequestra radicais livres em condições fisiológicas ou sob ação de xenobióticos, além de participar na regeneração dos antioxidantes ácido ascórbico e tocoferol. Sua ação como antioxidante não-enzimático está mais diretamente vinculada a sua ação sobre o H_2O_2 e peróxidos orgânicos (MONOSTORI et al., 2009). Estudos sobre estresse oxidativo e hormônios sexuais vem mostrando que os andrógenos agem como pró-oxidantes (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2007; CAMILETTI-MOIRÓN et al., 2015).

Riezzo e colaboradores (2014) investigaram o papel do stress oxidativo e a produção de citocinas pró-inflamatórias nos rins, devido ao uso crônico nos ratos do sexo masculino, em que a dose-dependente causa danos oxidativos nos rins de ratos tratados mostrou ser causada pelo aumento do nível de malondialdeído (MDA) e com uma redução da atividade da enzima glutathione peroxidase, o que resulta na redução da insuficiência imunitária aos radicais livres.

2.6. Esteroides anabolizantes e estresse oxidativo

O metabolismo normal produz espécies reativas de oxigênio (ERO) ou Radicais livres (RL), estes, são átomos ou moléculas que possuem um ou mais elétrons desemparelhados na sua última camada de valência, tornando-os reativos a outras moléculas e átomos (KUMAR; PANDEY, 2015; RADI, 2018). Podem ser produzidos pelo metabolismo mitocondrial, nos peroxissomos, na via do ácido úrico, nos processos inflamatórios e em fagócitos e nos exercícios físicos. O tabagismo, medicamentos, drogas, poluição, radiação e outros) afetam níveis de radicais livres. Quando os níveis estão em excesso, os radicais livres podem levar ao estresse oxidativo, levando a prejuízos ao organismo (KUMAR; PANDEY, 2015; GUAN; LAN, 2018). Nem toda ERO é um RL e nem todo radical livre é uma espécie reativa de oxigênio, entretanto, ambos participam dos processos fisiopatológicos REDOX do organismo (VELLOSA et al., 2021).

A testosterona aumenta o estresse oxidativo e, ainda, homens castrados vivem mais (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2007), demonstrando que a queda fisiológica nas concentrações de testosterona, que ocorre ao longo do envelhecimento, pode ter um efeito benéfico. Além disso, ocorre um aumento considerável do peso corporal em ratos sob administração de testosterona ou DHT (RAMARA et al., 2007), porém, este mesmo estudo demonstra que o estradiol, em ambos os sexos, reduz o estresse oxidativo e a produção de O_2^- , diminuindo ainda o peso corporal. Os estrógenos possuem reconhecido efeito antioxidante. Estradiol, estrona e estriol reduzem EROs e inibem peroxidação lipídica, incluindo a oxidação de LDL (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2007).

Os estrógenos reduzem a produção de H_2O_2 mitocondrial, além de aumentar a expressão de diversas proteínas da cadeia transportadora de elétrons mitocondrial, como o citocromo C e as subunidades do complexo IV, aumentando também a atividade do último e da citrato sintase (STIRONE et al., 2005).

Atividade física intensa reduz os níveis dos hormônios anabólicos e dos hormônios tireoidianos. Entretanto, os níveis do hormônio do crescimento (GH), nos marcadores de resposta do sistema imunológico e em marcadores bioquímicos de lesão celular (CRP, mioglobina) (HENNING, PARK, KIM, 2011). Os níveis dos hormônios tireoidianos reduzem após os exercícios, principalmente a triiodotironina (T3) e tiroxina (T4). Em contrapartida os níveis do hormônio estimulante da tireóide (TSH) apresentaram variações aleatórias não associativas (OPSTAD & AAKVAAG, 1981).

Os hormônios da tireóide possuem funções na regulação da síntese proteica e na manutenção do metabolismo celular. Essa desregulação pode estar associada a redução da massa corporal durante a atividade (OPSTAD & AAKVAAG, 1981). O aumento dos níveis do hormônio do crescimento (GH), são causados pela atividade física intensa e a restrição alimentar, reduzindo os níveis de glicose e glicogênio muscular, fazendo-se necessária a utilização da lipólise para obtenção de energia (HENNING et al., 2014).

2.7. Esteroides anabolizantes, comportamento e agressividade

O comportamento dos machos é influenciado de forma positiva e/ou negativa por diversos fatores: socioculturais, psíquicosomáticos, além dos hormônios andrógenos desempenham um papel fundamental neste comportamento. Já foi demonstrado em diversos estudos que o uso de EAA em doses elevadas pode trazer efeitos nocivos e deletéricos ao SNC, causando prejuízos em nível de alterações morfológicas, neuroquímicas e comportamentais (PARROTT, CHOI, DAVIES, 1994; SU et al., 1993). Embora o uso abusivo de EAA esteja relacionado com alterações comportamentais e de um aumento no comportamento agressivo. Ressaltar-se que o comportamento agressivo está relacionado a uma resposta biológica natural, intrínseca no gênero masculino, que é manifestada em situação de defesa, alimento, território e/ ou parceiros sexuais, dentre outros (MCGINNIS, 2004).

A utilização de esteroides anabolizantes androgênicos na adolescência ou fase adulta acarreta em consequências comportamentais (RAMIREZ, MONTALTO, SISK, 2010). Outros órgãos e sistemas também são afetados, por exemplo, no fígado, sistemas reprodutor e cardiovascular. No sistema reprodutor os efeitos observados no sexo masculino são: diminuição da produção de espermatozoides, atrofia dos testículos, impotência e carcinoma prostático, entre outros (CUNHA et al, 2004). Além disso, pode-se observar alterações comportamentais, que podem se manifestar por meio de: euforia, irritabilidade, agressividade, hiperatividade, queda da libido e comportamentos psicóticos (BOFF, 2008).

Dosagens elevadas de EAA causam uma hiperativação das sinapses glutamatérgicas relacionadas com um fenótipo agressivo exacerbado (LE GREVES et al., 1997; ROSSBACH et al., 2007). Os EAA são reconhecidos como moduladores de comportamentos agressivos em ratos machos. O método bastante utilizado na literatura para testar a agressividade em animais experimentais é o modelo residente-intruso. Este método avalia o comportamento de agressividade por meio das manifestações comportamentais que o animal apresenta na presença de outro animal intruso em seu ambiente (CLARK, HENDERSON, 2003).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Investigar os efeitos do estanozolol sobre o sistema renal, hepático, cardiovascular e comportamental em ratos sedentários e treinados com natação, e avaliar o perfil dos usuários de EAA em Pernambuco.

3.2. Objetivos específicos

- Determinar o perfil lipídico, glicêmico e as transaminases hepáticas;
- Mensurar a pressão arterial sistólica em ratos acordados;
- Avaliar o volume plasmático;
- Avaliar a excreção de eletrólitos;
- Estimar os níveis da peroxidação lipídica e glutatona reduzida nos rins e coração;
- Avaliar a produção de superóxido em condição basal e estimulada pela NADPH;
- Determinar quantitativamente a atividade da Creatina Quinase (CK) no miocárdio.
- Avaliar morfológicamente artéria aorta, coração e rins.
- Avaliar se o estanozolol altera o comportamento e a agressividade dos ratos machos em relação aos seus familiares e se o exercício físico atenua o comportamento agressivo.
- Observar se o comportamento agressivo continua após a interrupção do uso de estanozolol.
- Descrever as possíveis alterações histológicas e histoquímicas dos rins, fígado e coração.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material

Duodecilsulphate de sódio (SDS), albumina de soro bovino (BSA), Folin-Ciocalteu, ácido tiobarbitúrico e 5,5'-ditiobis (2- nitrobenzóico) (DTNB) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Kits comerciais para dosagem de aspartato aminotransferase (AST) ou transaminase glutâmica oxalacética (TGO) e alanina aminotransferase (ALT) ou transaminase glutâmico-pirúvica (TGP) e creatinina da Labtest (Lagoa Santa, MG, Brasil). Pentobarbital de sódio foi comprado de Cristália (Produtos Químicos Farmacêuticos, Itapira, SP, Brasil). Ácido tricloroacético (TCA), EDTA, cloreto de sódio e cloreto de potássio foram adquiridos a Vetec (RJ, RJ, Brasil). Todos os demais reagentes foram adquiridos do mais elevado grau de pureza disponível.

4.2. Animais

Ratos machos Wistar aos 90 dias de vida oriundos do biotério de criação e experimentação do departamento de morfologia e fisiologia animal, sendo mantidos sob ciclo de claro/escuro 12/12 horas. Divididos em quatro grupos: grupo controle veículo (CV, n=5) que recebeu solução salina, via intramuscular e o grupo controle estanozolol (CS, n=5) no qual foi administrado estanozolol, via intramuscular na dose de 20,0 mg/kg/semana durante 8 semanas consecutivas, (EV, n=5) praticou exercício físico e recebeu solução salina, (ES, n=5) praticou exercício físico e nele foi administrado estanozolol, via intramuscular na dose de 20,0 mg/kg/semana durante 8 semanas consecutivas (Clark et al., 1998; Beutel, Bergamaschi e Campos, 2005). Para a identificação de cada rato, foi feita marcação na cauda (com caneta hipoalérgica). O uso dos animais foi aprovado pelo Comitê de Ética de Uso Animal (CEUA) da UFRPE, licença número 098/2019.

Os animais foram acompanhados, quinzenalmente dos 90 aos 150 dias de vida, para a avaliação da pressão arterial sistólica (PAS) e alocados em gaiolas

metabólicas (Tecniplast Gazzada Sarl, Buguggiate, Itália) para coleta de urina por períodos de 24h e posterior coleta de sangue, por pulsão na veia caudal. Aos 150 dias de vida os animais foram eutanasiados por guilhotina, para coleta de sangue e tecidos (rins, fígado, coração e aorta).

4.3. Protocolo de treinamento

O protocolo de treinamento consistirá na prática de natação, cinco vezes por semana, ao decorrer de nove semanas. Na primeira semana os animais passarão por um período de adaptação: 20 minutos diários de natação sem sobrecarga, durante cinco dias. Após esse período, passarão a utilizar uma sobrecarga equivalente a 5% de seus respectivos pesos corporais. Esta sobrecarga será implementada através de uma fita elástica enlaçada ao tronco. O tempo de treinamento será aumentado em cinco minutos por semana, de forma que na última semana o tempo de treinamento será de 60 minutos. Segundo metodologia adaptada de Anaruma et al., (2009).

4.4. Avaliação comportamental:

Os ratos foram alojados em gaiolas em grupos de cinco e foram mantidos nessa condição desde o nascimento e por todo o período de realização do protocolo adaptado descrito por Golden e colaboradores (2011). Durante o período de aplicação do Estanozolol, permitiu-se que os animais interagissem livremente durante um período. O comportamento dos ratos foi avaliado por uma hora diariamente, cinco dias por semana por 60 dias.

A avaliação do comportamento de agressividade foi realizada nos animais adultos, utilizando o paradigma do rato residente/intruso. Consiste em pôr os ratos sozinhos durante 30 minutos em uma caixa de polipropileno limpa, sem a disponibilidade de água e ração, fechada com uma grade de ferro alta, permaneceram durante todo o momento pré-teste naturalmente agrupados nas gaiolas, sendo utilizados uma única vez ao dia para os testes. Após esse tempo, o rato é novamente colocado na gaiola juntamente com os outros do seu grupo, é feita a observação por uma hora. O comportamento era contabilizado cada vez

que o rato executava uma destas seguintes situações: ameaça de ataque, ataques por mordidas, por chutes laterais ou por pugilismo, pressão pélvica ou posição de dominância (submissão). Os testes foram realizados desde o início da aplicação do estanozolol, até o fim das aplicações desse EAA e do programa de exercício físico de natação, totalizando 60 dias de avaliação comportamental. (Cunningham e McGinnis, 2008 modificado).

4.5. Avaliação do estresse oxidativo

A peroxidação lipídica e os níveis glutatona reduzida (GSH) foram avaliados no fígado e nos rins de ratos machos adultos. Foram utilizados como um marcador de peroxidação lipídica os níveis de malondialdeído (MDA) através da mensuração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), de acordo com Ohkawa, Ohishi e Yagi (1979). Os tecidos foram homogeneizados em 150 mM KCl, na proporção de 1g tecido para 5 ml de solução. Para a curva padrão, foi utilizado 1,1,3,3-tetraetoxi-propano. Os níveis de GSH foram avaliados através da mensuração de grupos sulfidrilas não proteicos (SEDLAK e LINDSAY, 1968). A L-cisteína foi utilizada para a curva padrão. Ambos os resultados, MDA e GSH, foram corrigidos pela concentração de proteína. Os ensaios foram realizados em triplicata.

4.6. Avaliação da pressão sanguínea sistólica e alguns parâmetros funcionais renais

A pressão arterial sistólica (PAS) foi medida por pletismografia de cauda (IITC Life Science B60-7 / 16", Life Science Instruments, Woodland Hills, CA) em ratos conscientes com idades de 90, 105, 120, 135 e 150 dias. Os animais foram aclimatados às condições experimentais para a obtenção da PAS durante três dias consecutivos. Para obter uma média da PAS, o procedimento de medida em cada rato foi repetido por cinco vezes. Além disso, a ingestão dietética e hídrica, e depuração da creatinina e TBARS na urina também foram avaliados em cada uma das idades em que PAS foi obtida. Gaiolas metabólicas foram usadas para coletar amostras de urina de 24 horas para medir o TBARS e creatinina. As amostras de sangue foram obtidas a partir da artéria caudal, para medições da creatinina.

CAPÍTULO II

<https://doi.org/10.11606/issn.1981-4690.2022e36183189>

Aspectos relacionados com o uso de esteroides androgênicos anabolizantes e seus impactos em desportistas

Gyl Everson de Souza Maciel¹, Carina Scanoni Maia², Leucio Duarte Vieira³, José Reginaldo Alves de Queiroz Júnior⁴, Lucas Vinnicio de Araújo Santana¹, Jarson Pedro da Costa Pereira⁵, Marcelo Weinstein Teixeira¹, Anísio Francisco Soares¹

1. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil.
2. Departamento de Histologia e Embriologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil.
3. Departamento de Fisiologia e Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil.
4. Centro de Ciências Médicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil.
5. Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Pernambuco.

Autor para correspondência: Gyl Everson de Souza Maciel; Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n - Dois Irmãos, Recife – PE; Tel.: (81) 99414-6762; E-mail: gyl_everson@hotmail.com

Título resumido: Anabolizantes e impactos em desportistas

Área: COMPORTAMENTAL E PEDAGÓGICA

Aspectos relacionados com o uso de esteroides androgênicos anabolizantes e seus impactos em desportistas

Resumo

Objetivo. Descrever o perfil de praticantes de musculação de Pernambuco que fazem uso de esteroides (EAA). **Método.** Trata-se de um estudo descritivo transversal de natureza quantitativa, realizado em 14 academias localizadas na região metropolitana de Recife, Pernambuco. Foram aplicados 358 questionários com 15 itens referentes a dados sociodemográficos; tempo de prática atividade física; consumo de suplementos dietéticos; adesão a dietas; dosagem e tempo de utilização do anabolizante administrado; conhecimento sobre os efeitos nocivos dos EAA; potenciais efeitos benéficos oriundos do uso dos anabolizantes; responsável pela indicação e aplicação dos EAA. **Resultados.** 30,2% da amostra foi composta por usuários de EAA. Nesse grupo, verificou-se o predomínio do sexo masculino e da faixa etária entre 26 e 35 anos. Foram encontradas correlações positivas e fortes entre o uso de EAA e o surgimento de efeitos colaterais ($r = 0,991$; $p = 0,0001$), tempo de uso ($r = 0,983$; $p = 0,0001$), com quem indicou o uso dos anabolizantes ($r = 0,983$; $p = 0,0001$) e com quem aplicou ($r = 0,984$; $p = 0,0001$). **Conclusão.** O elevado índice de usuários desportistas que realizam o consumo de EAA é algo que precisa ser contornado, tendo em vista o impacto negativo na saúde, quando não prescrito adequadamente.

Palavras chaves: Anabolizantes; Desportistas; Academias; Efeitos colaterais

Abstract

Aims. Describe the profile of bodybuilding practitioners from Pernambuco who use steroids (AAS). **Methods.** This is a descriptive cross-sectional study of a quantitative nature, carried out in 14 gyms located in the metropolitan region of Recife, Pernambuco. 358 questionnaires were applied with 15 items referring to sociodemographic data; time of practicing physical activity; consumption of dietary supplements; adherence to diets; dosage and time of use of the administered anabolic steroid; knowledge about the harmful effects of AAS; potential beneficial effects from the use of anabolic steroids; responsible

for the indication and application of the AAS. **Results.** 30.2% of the sample was composed of users of AAS. In this group, there was a predominance of males and the age group between 26 and 35 years old. Positive and strong correlations were found between the use of AAS and the appearance of side effects ($r = 0.991$; $p = 0.0001$), time of use ($r = 0.983$; $p = 0.0001$), with whom indicated the use of anabolic steroids ($r = 0.983$; $p = 0.0001$) and with whom it was applied ($r = 0.984$; $p = 0.0001$). **Conclusion.** The high rate of sports users who consume AAS is something that needs to be avoided, in view of the negative impact on health, when not properly prescribed.

Keywords: Anabolics; Sportspeople; Gyms; Side effects

Introdução

A utilização de substância para melhoria de desempenho de atletas é uma prática comum e antiga. Há relatos dos séculos I e II de ingestão de testículos de touro por competidores olímpicos, que seria justificado por seu conteúdo rico em testosterona¹. Outro relato histórico é de que a testosterona foi utilizada pelas tropas alemãs para aumentar a força e agressividade dos soldados alemães durante a segunda grande guerra.

A testosterona, juntamente com seus análogos sintéticos, é denominada esteroides anabólicos androgênicos (EAA). Essas substâncias estimulam o crescimento muscular e a função do sistema reprodutor masculino através de suas interações celulares e atividades androgênicas e anabólicas². O primeiro relato de utilização EAA sintéticos é de 1954 e a ampla difusão de sua utilização foi mais evidente a partir de 1964. Atualmente, o uso de substâncias fisiológicas em quantidades anormais ou por métodos anormais, com intuito de obter ganho artificial e injusto de rendimento na competição é definido como *doping* pelo Comitê Olímpico Internacional³.

A facilidade de obtenção de EAA no Brasil favorece a disseminação de seu uso para melhoria de performance por atletas, bem como por motivos estéticos por não-atletas. Os seus efeitos são visíveis e relativamente duradouros, atingindo meses após o término da administração. Costumam ser usados, principalmente, na pré-adolescência, na adolescência e por jovens adultos⁴.

Contudo, a utilização de EAA sem orientação médica traz efeitos colaterais nocivos, tais como desenvolvimento de hipertensão arterial, doenças coronarianas, tumores hepáticos, alterações no aparelho reprodutor masculino, além da atrofia

testicular, infertilidade, calvície e impotência sexual. Nas mulheres podem ocorrer redução dos estrogênios e da progesterona, alterações do ciclo menstrual, além de alterações psicológicas^{5,6}.

No Brasil, mesmo sendo crescente o número de usuários de EAA, ainda existem poucos dados sobre o uso de EAA⁷. Diante disso, este estudo teve como objetivo identificar fatores de risco associados ao uso de EAA e estimar a prevalência desse uso não-supervisionado por usuários de academias de Recife, Pernambuco, PE.

Métodos

Desenho da pesquisa

Trata-se de estudo transversal com abordagem quantitativa de usuários de academias de ginástica que já fizeram uso ou não de EAA. Esse estudo foi realizado em 14 ginásios localizados na região metropolitana de Recife, no estado de Pernambuco durante os meses de janeiro a março de 2020. O cálculo do tamanho da amostra baseou-se em um grau de confiança de 95%, nível de significância de 5% (duas caudas) e contemplou praticantes de atividade física em academias de ginástica de ambos os sexos e com idade acima de 18 anos. Assim, 358 indivíduos foram selecionados aleatoriamente para compor esse estudo.

Foi utilizado um questionário estruturado modificado^{8,9} contendo 15 itens de múltipla escolha e que contemplavam: dados sociodemográficos; tempo de prática atividade física e/ou musculação; consumo de suplementos dietéticos; adesão a dietas; dosagem e tempo de utilização do anabolizante administrado; conhecimento sobre os efeitos nocivos dos EAA; potenciais efeitos benéficos oriundos do uso dos anabolizantes; responsável pela indicação e aplicação dos EAA. Os questionários foram autoadministrados de forma aleatória.

Análise estatística

Todas as análises estatísticas foram realizadas com o *software* Minitab® - versão 18. Os dados foram tratados de acordo com a natureza das variáveis, se aplicando estatística descritiva, correspondente às medidas de tendência central: frequência e porcentagem (%). As variáveis também foram testadas quanto a sua normalidade através do teste de Kolmogorov-Smirnov. A análise de correlação foi realizada com o teste rho (r) de Spearman. A variável dependente “uso de EAA”, foi relacionada a outras variáveis

para determinar associações, através da análise do Qui-quadrado (χ^2). Na existência de uma matriz 2x2, também foi calculado o *Odds Ratio* (OR) e seu intervalo de confiança de 95% (IC 95%). A significância estatística foi definida para um valor de $p < 0,05$. Todos os valores de p mostrados são bicaudais.

Aspectos éticos

O projeto deste estudo foi aprovado pela Comissão de Ética da Universidade Federal de Pernambuco e os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido.

Resultados

A distribuição etária dos participantes revelou que uma quantidade expressiva da população era formada por adolescentes e adultos jovens, compreendendo aproximadamente 80% do universo amostral. Destes, cerca de 80% ($n = 283$) eram homens e 20% mulheres ($n = 75$). Quanto ao grau de escolaridade, todos os entrevistados referiram algum nível de instrução escolar, dos quais, 60,9% ($n = 218$) completaram nível superior, conforme disposto na Tabela 1.

A prática de atividade física mostra que cerca de 87% dos entrevistados tinham prática regular há mais de um ano. Todavia, esse número cai para aproximadamente 57% quando questionado sobre atividades específicas de força, como musculação, para o mesmo período.

Cerca de 60% da amostra ($n = 205$) referiu a adesão de algum método dietético e 53,63% ($n = 192$) já utilizou ou ainda faz o consumo de suplementos. Daqueles que já realizaram alguma dieta, 18,5% ($n = 38$) eram mulheres. Além disso, quase 97% dos entrevistados não possuía nenhuma doença crônica pré-existente.

Quanto ao grupo que faz uso de EAA, foi observado que era expressivamente composto por homens (aproximadamente 90%), com margem etária entre 26 e 35 anos e que apresentaram menor tempo de prática de musculação, além de serem mais adeptos às dietas (aproximadamente 80%) e de fazerem suplementação dietética (cerca de 75%).

Tabela 1. Principais características dos usuários das academias de ginástica em Pernambuco, *Odds ratio* para o uso de EAA, associações estatísticas entre uso de EAA e demais variáveis.

	Nunca usou anabolizantes (N = 250)		Usa ou já usou anabolizantes (N = 108)		Total (N = 358)		χ^2	G L	p	OR	IC 95%	
	Frequência	%	Frequência	%	Frequência	%					Inferior	Superior
Sexo							7,42	1	0,00	2,41	1,26	4,60
Masculino	188	75,2	95	87,96	283	79,05			6			
Feminino	62	24,8	13	12,04	75	20,95						
Faixa etária							1,80	2	0,40	-	-	-
18-25 anos	75	30,0	33	30,56	108	30,17			6			
26-35 anos	129	51,6	49	45,37	178	49,72						
36 anos ou mais	46	18,4	26	24,07	72	20,11						
Escolaridade							12,97	2	0,00	2,21	0,48	10,25
Ensino médio	10	4,0	2	1,85	12	3,35			2	a		
Ensino superior incompleto	103	41,2	25	23,15	128	35,75						

Ensino superior completo	137	54,8	81	75,00	218	60,89						
Há quanto tempo prática atividade física?							3,04	2	0,21 9	0,63 b	0,30	1,32
0 a 1 ano	35	14,0	10	9,26	45	12,57						
1 a 3 ano	134	53,6	68	62,96	202	56,42						
3 anos ou mais	81	32,4	30	27,78	111	31,01						
Há quanto tempo prática musculação?							18,11	2	0,00 0	2,15 c	1,36	3,41
0 a 1 ano	94	37,6	61	56,48	155	43,30						
1 a 3 ano	112	44,8	23	21,30	135	37,71						
3 anos ou mais	44	17,6	24	22,22	68	18,99						
Já fez algum tipo de dieta?							26,53	1	0,00 0	3,73	2,22	6,26
Sim	121	48,4	84	77,78	205	57,26						
Não	129	51,6	24	22,22	153	42,74						
Usa ou usou suplementos dietéticos?							30,91	1	0,00 0	4,01	2,42	6,66
Sim	110	44,0	82	75,93	192	53,63						
Não	140	56,0	26	24,07	166	46,37						

Possui alguma doença crônica pré-existente?							0,00	1	0,99 1	-	-	-
HAS*	0	0	9	8,33	9	2,51						
DM**	0	0	0	0,00	0	0,00						
HAS e DM	0	0	2	1,85	2	0,56						
Nenhuma	250	100	97	89,81	347	96,93						

*HAS = Hipertensão Arterial Sistêmica; **DM = Diabetes Mellitus; ^aPara o cálculo do OR, foram consideradas as respostas: Sem Ensino Superior (Ensino Médio) e Com Ensino Superior (Completo ou Incompleto); ^bPara o cálculo do OR, foram consideradas as respostas: Prática de atividade física até 1 ano e Prática de atividade física por mais de 1 ano; ^cPara o cálculo do OR, foram consideradas as respostas: Prática de musculação até 1 ano e Prática de musculação por mais de 1 ano.

A partir dos testes de Qui-quadrado, foi possível observar uma associação entre as variáveis: sexo; escolaridade; tempo de prática de musculação; realização de alguma dieta; uso de suplementos dietéticos e a variável referente ao consumo de EAA ($p < 0,05$).

Na amostra obtida para esse estudo, o sexo masculino e a maior escolaridade apresentaram maior risco de consumo de EAA, a partir da razão de chances, OR: 2,41 95% IC = (1,26, 4,60); OR 2,21 95% IC = (0,48, 10,25), respectivamente. Ao passo que o maior tempo da prática de atividade física apresentou fator protetor para o consumo de EAA, OR: 0,63 95% IC = (0,30, 1,32). Além disso, o menor tempo de prática de musculação, a realização de dietas e uso de suplementos dietéticos, apresentaram-se como fatores de risco para o consumo dessas substâncias ergogênicas, OR: 2,15 95% IC = (1,36, 3,41); OR 3,73 95% IC = (2,22, 6,26) e OR 4,01 95% IC = (2,42, 6,66), respectivamente, conforme dados apresentados na Tabela 1.

As doses de EAA variaram entre 200 mg a 3100 mg por semana e os usuários combinaram diferentes tipos de EAA para atingir essas dosagens. De acordo com a dose utilizada, 37,96% ($n = 41$) dos atletas usavam 200-500 mg de EAA semanalmente, 44,44% ($n = 48$) dos entrevistados utilizavam 501-1000 mg por semana de EAA e os outros 17,59% ($n = 19$) dos atletas faziam uso de EAA acima de 1000 mg por semana. A utilização ocorreu em ciclos com duração de três a doze semanas. Com relação ao tempo de uso, a maioria dos entrevistados, 53,70% ($n = 58$), relatou que utilizou os anabolizantes por um tempo de 1 a 3 anos.

Dentre os EAA utilizados pelos entrevistados, deca-durabolin, durateston, oxandrolona, hemogenin, dianabol, enantato de testosterona e cipionato, foram os mais citados.

Além disso, a maioria dos indivíduos do grupo EAA (aproximadamente 90%) relatou ter experimentado pelo menos um dos seguintes efeitos colaterais: Endócrinos (ginecomastia, pelos na face), Estéticos (estrias, acne), Gastrointestinais (náuseas, diarreia), Ginecológicos (aumento do clitóris), Neurológicos (tontura, dor de cabeça), ou Psiquiátricos (agressividade, mudanças no humor). Por outro lado, descreveram por unanimidade que houve um aumento na disposição e força física, além de relatarem aumento na libido sexual, aceleração na recuperação física, redução na hipertensão e melhora na aparência física.

Sobre a indicação de EAA, 55% dos usuários referiu orientação dos profissionais de educação física. Indicação por amigos correspondeu a 25,00% (n = 27) e 16,67% (n = 18) por conta própria. Em relação a aplicação dos EAA, 59,26% (n = 64) dos entrevistados aplicavam com profissionais de farmácia, 30,56% (n = 33) com profissionais de educação física e 10,19% (n = 11) faziam autoaplicação.

Tabela 2. Perfil de consumo de EAA e suas implicações.

	Frequência	%	χ^2	GL	p
Dose dos anabolizantes usados			358	3	0,000
200-500 mg	41	37,96			
501-1000 mg	48	44,44			
1001-3000 mg	19	17,59			
Tempo de uso			358	3	0,000
0 a 1 ano	28	25,93			
1 a 3 ano	58	53,70			
3 anos ou mais	22	20,37			
Já sentiu algum efeito colateral?			358	2	0,000
Sim	89	82,41			
Não	19	17,59			
Efeitos colaterais que já sentiu			-	-	-
Endócrinos	5	4,63			
Estéticos	52	48,15			
Gastrointestinais	1	0,93			
Ginecológicos	5	4,63			
Neurológicos	2	1,85			
Psiquiátricos	7	6,48			
Dois efeitos colaterais	18	16,67			
Três ou mais efeitos colaterais	5	4,63			
Nenhum	13	12,03			
Efeitos benéficos que já sentiu			-	-	-
Redução da hipertensão	3	2,78			

Aumento da disposição e da força	20	18,52			
Aumento da libido	5	4,63			
Aceleração da recuperação física	13	12,04			
Dois ou mais	67	62,04			
Quem indicou o uso de anabolizantes?			358	5	0,000
Educador físico	59	54,63			
Médico ou nutricionista	2	1,85			
Amigo	27	25,00			
Educador físico e amigo	2	1,85			
Ninguém	18	16,67			
Quem aplicava o anabolizante?			358	3	0,000
Profissional na farmácia	64	59,26			
Profissional de educação física	33	30,56			
Autoaplicação	11	10,19			

Em relação às análises feitas com a variável ‘Faixa etária’, foi encontrada uma correlação negativa, fraca e estatisticamente significativa com o tempo de prática de musculação ($r = -0,119$; $p = 0,025$).

Foram encontradas correlações negativas, fracas e estatisticamente significativas entre a escolaridade e o uso de suplementos dietéticos ($r = -0,113$; $p = 0,033$), uso de anabolizantes ($r = -0,190$; $p = 0,0001$), dosagem utilizada ($r = -0,184$; $p = 0,0001$), tempo de uso ($r = -0,189$; $p = 0,0001$), relato de efeitos colaterais ($r = -0,188$; $p = 0,0001$) e aparecimento de efeitos benéficos ($r = -0,198$; $p = 0,0001$).

Foram encontradas correlações positivas, fracas e estatisticamente significativas entre o tempo que realiza musculação e o uso de suplementos dietéticos ($r = 0,148$; $p = 0,005$), uso de anabolizantes ($r = 0,109$; $p = 0,040$) e dosagem utilizada ($r = 0,132$; $p = 0,013$).

Com relação às análises feitas com a variável ‘Dieta’, foram encontradas correlações positivas, fracas e estatisticamente significativas com a existência de doenças crônicas pré-existentes ($r = 0,112$; $p = 0,034$), uso de anabolizantes ($r = 0,273$; $p =$

0,0001), dosagem utilizada ($r = 0,265$; $p = 0,0001$), tempo de uso ($r = 0,272$; $p = 0,0001$), relato de efeitos colaterais ($r = 0,269$; $p = 0,0001$) e aparecimento de efeitos benéficos ($r = 0,260$; $p = 0,0001$).

Foram encontradas correlações positivas, fracas e estatisticamente significativas entre a suplementação dietética e o uso de anabolizantes ($r = 0,294$; $p = 0,0001$), dosagem utilizada ($r = 0,290$; $p = 0,0001$), tempo de uso ($r = 0,301$; $p = 0,0001$), relato de efeitos colaterais ($r = 0,289$; $p = 0,0001$) e aparecimento de efeitos benéficos ($r = 0,299$; $p = 0,0001$).

Também foram encontradas correlações positivas, fortes e estatisticamente significativas entre o uso de anabolizantes e o surgimento de efeitos colaterais ($r = 0,991$; $p = 0,0001$), tempo de uso ($r = 0,983$; $p = 0,0001$), com quem indicou o uso dos anabolizantes ($r = 0,983$; $p = 0,0001$) e com quem aplicou ($r = 0,984$; $p = 0,0001$).

O relato de efeitos colaterais teve correlação positiva muito forte com a dosagem utilizada ($r = 0,965$; $p = 0,0001$), tempo de uso ($r = 0,968$; $p = 0,0001$), com quem indicou o uso dos anabolizantes ($r = 0,971$; $p = 0,0001$) e com quem aplicou ($r = 0,972$; $p = 0,0001$).

A dosagem utilizada do anabolizante também obteve correlação positiva muito forte com o surgimento de efeitos benéficos ($r = 0,967$; $p = 0,0001$) e com quem indicou ($r = 0,968$; $p = 0,0001$). Enquanto que o aparecimento de efeitos benéficos apresentou uma correlação positiva, forte e estatisticamente significativas com o tempo de uso dos anabolizantes ($r = 0,973$; $p = 0,0001$).

	Sexo	Faixa etária	Escolaridade	Tempo que pratica atividade física	Tempo que pratica musculação	Dieta	Suplementação	Uso de anabolizantes	Relato de efeitos colaterais	Efeitos colaterais que já sentiu	Dosagem do anabolizante usado	Doença crônica pré-existente	Relato de efeitos benéficos	Tempo de uso do anabolizante	Quem indicou o uso de anabolizantes
Faixa etária	r = 0,045 p = 0,401														
Escolaridade	r = -0,095 p = 0,073	r = -0,066 p = 0,215													
Tempo que pratica atividade física	r = -0,107 p = 0,043	r = -0,009 p = 0,860	r = -0,012 p = 0,825												
Tempo que pratica musculação	r = -0,008 p = 0,875	r = -0,119 p = 0,025	r = -0,042 p = 0,426	r = 0,175 p = 0,001											
Dieta	r = 0,069 p = 0,195	r = 0,039 p = 0,459	r = -0,039 p = 0,462	r = -0,081 p = 0,126	r = -0,021 p = 0,687										
Suplementação	r = 0,113 p = 0,032	r = -0,034 p = 0,523	r = -0,113 p = 0,033	r = 0,067 p = 0,207	r = 0,148 p = 0,005	r = 0,046 p = 0,386									
Uso de anabolizantes	r = 0,144 p = 0,006	r = -0,030 p = 0,565	r = -0,190 p = 0,0001	r = 0,007 p = 0,897	r = 0,109 p = 0,040	r = 0,273 p = 0,0001	r = 0,294 p = 0,0001								
Relato de efeitos colaterais	r = 0,150 p = 0,004	r = -0,035 p = 0,515	r = -0,188 p = 0,0001	r = 0,002 p = 0,966	r = 0,097 p = 0,066	r = 0,269 p = 0,0001	r = 0,289 p = 0,0001	r = 0,991 p = 0,0001							
Efeitos colaterais que já sentiu	r = 0,174 p = 0,001	r = -0,031 p = 0,556	r = -0,188 p = 0,0001	r = 0,003 p = 0,950	r = 0,111 p = 0,035	r = 0,263 p = 0,0001	r = 0,294 p = 0,0001	r = 0,981 p = 0,0001	r = 0,990 p = 0,0001						
Dosagem do anabolizante usado	r = 0,144 p = 0,006	r = -0,037 p = 0,482	r = -0,184 p = 0,0001	r = 0,002 p = 0,967	r = 0,132 p = 0,013	r = 0,265 p = 0,0001	r = 0,290 p = 0,0001	r = 0,982 p = 0,0001	r = 0,965 p = 0,0001	r = 0,967 p = 0,0001					
Doença crônica pré-existente	r = 0,045 p = 0,391	r = 0,022 p = 0,674	r = -0,088 p = 0,098	r = 0,020 p = 0,710	r = 0,023 p = 0,669	r = 0,112 p = 0,034	r = 0,089 p = 0,091	r = 0,258 p = 0,0001	r = 0,253 p = 0,0001	r = 0,224 p = 0,0001	r = 0,222 p = 0,0001				
Relato de efeitos benéficos	r = 0,157 p = 0,003	r = -0,014 p = 0,798	r = -0,198 p = 0,0001	r = -0,006 p = 0,908	r = 0,101 p = 0,055	r = 0,260 p = 0,0001	r = 0,299 p = 0,0001	r = 0,985 p = 0,0001	r = 0,979 p = 0,0001	r = 0,971 p = 0,0001	r = 0,967 p = 0,0001	r = 0,243 p = 0,0001			

Tempo de uso do	r = 0,127	r = -0,015	r = -0,189	r = 0,011	r = 0,104	r = 0,272	r = 0,301	r = 0,983	r = 0,968	r = 0,961	r = 0,969	r = 0,215	r = 0,973		
anabolizante	p = 0,017	p = 0,772	p = 0,0001	p = 0,830	p = 0,050	p = 0,0001	p = 0,0001	p = 0,0001	p = 0,0001	p = 0,0001	p = 0,0001	p = 0,0001	p = 0,0001		
Quem indicou o uso	r = 0,144	r = -0,034	r = -0,187	r = 0,015	r = 0,115	r = 0,266	r = 0,291	r = 0,983	r = 0,971	r = 0,965	r = 0,968	r = 0,236	r = 0,973	r = 0,965	
de anabolizantes	p = 0,006	p = 0,519	p = 0,0001	p = 0,777	p = 0,029	p = 0,0001	p = 0,0001	p = 0,0001	p = 0,0001	p = 0,0001	p = 0,0001	p = 0,0001	p = 0,0001	p = 0,0001	
Aplicação do	r = 0,147	r = -0,027	r = -0,181	r = 0,009	r = 0,127	r = 0,266	r = 0,289	r = 0,984	r = 0,972	r = 0,966	r = 0,972	r = 0,250	r = 0,973	r = 0,966	r = 0,978
anabolizante	p = 0,005	p = 0,613	p = 0,001	p = 0,867	p = 0,016	p = 0,0001	p = 0,0001	p = 0,0001	p = 0,0001	p = 0,0001	p = 0,0001	p = 0,0001	p = 0,0001	p = 0,0001	p = 0,0001

Tabela 3. Matriz de correlação de Spearman das variáveis aplicadas no questionário utilizado nesse estudo.

A correlação entre variáveis aplicadas no questionário utilizado nesse estudo foi analisada pelo teste de correlação de Spearman, cuja cor vermelha se refere as correlações negativas e a cor verde as correlações positivas.

Discussão

No estudo em questão, os resultados apresentaram que a amostra é majoritariamente representada por indivíduos adolescentes e jovens adultos. Esse dado é relevante, pois mostra que com o advento da globalização, as pessoas estão cada vez mais sensíveis aos padrões estéticos determinados pela sociedade e buscando meios facilitadores para atingir esses padrões, como o uso de EAA. Corroborando com isso, um estudo observou que nos Estados Unidos, milhões de jovens foram ou são usuários de EAA^{6,7,10}.

Outro dado encontrado neste estudo revelou que a prevalência no uso de EAA foi de 30,3%. Isso representa um índice elevado para os praticantes de atividade física em Pernambuco, uma vez que se mostrou superior aos 6,5% encontrados em um estudo realizado em cidades do Rio Grande do Sul¹¹. Além disso, apresentou um maior índice quando comparado com a literatura que avaliou proporções nacionais, como o de Abrahin et al.¹² (2013) ao relatarem que a prevalência do uso de EAA no Brasil pode variar entre 2,1% e 25,5%, estando isso associado com características da amostra e da região analisada. Observa-se, com isso, um consumo preocupante de substâncias ergogênicas pela população estudada.

Ao comparar os dados obtidos (Tabela 1) entre aqueles que nunca utilizaram anabolizantes com aqueles que usam ou já fizeram uso de anabolizantes, percebe-se que, esse segundo grupo, foi formado por mais homens (87,96%), possuíam mais entrevistados com nível superior completo (75,00%) e a maior parte fazia atividade física há 1 a 3 anos (62,96%). Esses resultados foram similares ao grupo que não usa anabolizantes.

No entanto, diferentemente daqueles que não fizeram uso de anabolizantes, a maioria dos usuários de EAA apresentou menor tempo de prática de musculação (0 a 1 ano – 56,48%), realizavam mais dietas (77,78%) e consumiam mais suplementos dietéticos (75,93%). Muitos seguem dietas oriundas das redes sociais, associadas aos comportamentos alimentares disfuncionais, cuja motivação é a perda de peso e adequação aos padrões atuais de beleza e, associando ao uso de fármacos, pode levar a sérios prejuízos à saúde¹³.

Igualmente, esse dado mostra o imediatismo pela busca dos resultados estéticos, pois tendem a buscar métodos alternativos e aparentemente instantâneos, como o uso de

EAA, para alcançarem o delineamento físico almejado, sem necessariamente refletirem acerca do impacto que isso pode ocasionar na saúde.

Em contraste com os dados encontrados nesse estudo, Oliveira e Cavalcante Neto¹⁴ (2018) relataram que o consumo de EAA é prática comum na vida dos praticantes de musculação mais experientes, que são impulsionados pela estética e pela insatisfação do próprio corpo, levando-os ao uso dessas substâncias quando comparados com os praticantes de musculação iniciantes.

Com o advento da pós-modernidade, a concepção de beleza foi sendo alterada. Hoje em dia, a mídia exerce uma enorme influência de como deve ser o corpo “ideal”. Com discurso transtornado que fomenta comportamentos disfuncionais, disfarçado de preocupação com a saúde, homens e mulheres buscam a inclusão nos padrões físicos que são desenhados pelo menor percentual de gordura e maior quantidade de músculos. Com isso, para muitos, o uso de EAA parece ser uma alternativa viável, uma vez que possibilita resultados estéticos esperados¹⁵ em uma menor quantidade de tempo e com “menor” esforço físico e dietético.

Além disso, a insatisfação com a imagem corporal apresenta forte associação com a frequência de transtorno alimentar, podendo levar a diversos distúrbios alimentares¹⁶, os quais agravam a possibilidade de eventos negativos em saúde que são também proporcionados pelo uso de esteroides, como visto nesse estudo.

Ao analisar os dados estatísticos referentes às associações e os fatores de risco, é possível sugerir que o sexo masculino possui aproximadamente 3 (três) vezes mais chances para consumir os EAA, quando comparado ao sexo feminino, assim como a maior escolaridade. Além disso, aqueles indivíduos que apresentaram menor tempo de prática de musculação, adesão a padrões nutricionais e que consumiam algum tipo de suplemento dietético, também apresentaram aproximadamente duas e quatro vezes mais chances, respectivamente, de consumirem os EAA. Em contrapartida, o maior tempo de prática de atividade física se mostrou como fator protetor para o consumo de EAA, ou seja, aqueles indivíduos que são há mais tempo treinados, tendem a ter menor consumo de substâncias ergogênicas.

Resultados semelhantes foram encontrados em estudo realizado por Tavares et al.¹⁷ (2020), ao verificarem que o sexo masculino apresentou mais chances para o uso de EAA, em detrimento do feminino. Todavia, esse mesmo estudo apresentou dados distintos quanto ao grau de escolaridade, tendo o aumento do título acadêmico como um fator protetor para o consumo de tais substâncias. Também relataram resultado divergente do presente estudo quanto ao tempo de prática de atividade física, pois encontraram que o maior tempo aumentava o risco de uso para EAA, destoando da nossa população estudada.

Ademais, é importante destacar que os dados referentes ao menor tempo de musculação, realização de dietas e consumo de suplementos dietéticos se apresentarem como maior fator de risco para o consumo de EAA reforça a ideia acerca do imediatismo para alcance de padrões estéticos, sem que haja necessariamente uma preocupação e cuidado com os impactos adversos e a saúde global.

Em seu trabalho, Siqueira Nogueira et al.¹⁸ (2014), observaram associação com significância estatística entre o consumo de suplementos dietéticos e o uso de substâncias medicamentosas ergogênicas como o EAA, semelhante ao que foi encontrado no presente estudo.

Como constatado neste inquérito, observou-se uma maior incidência de uso de EAA na população masculina em relação a população feminina. O grande número de homens é justificado pela valorização da massa muscular na estética masculina, que vem se tornando um hábito compulsivo por diversos usuários de academia, embora os estudos ainda sejam escassos¹⁹. Contudo, ambos os sexos estão susceptíveis a pressão estética, valorizando extremamente a aparência física, que também pode levar a origem de outros distúrbios como, anorexia, bulimia e vigorexia (transtorno dismórfico muscular)²⁰.

Além disso, analisa-se que a mulher, apesar de sofrer forte influência da sociedade no que tange os padrões estéticos, tende a se preocupar mais com o emagrecimento, que

não diretamente está associado com o uso de EAA e sim com a adesão de prática de atividade física associada a dietas.

Quase todos os usuários de EAA desse estudo (98,1%), fizeram a administração de forma cíclica, com mais de um EAA em associação. Tal ciclo geralmente tem duração entre quatro e 12 semanas, guiado principalmente por profissionais de educação física das próprias academias e por companheiros de treino. Esses dados indicam que a maior parte do estímulo sobre o uso de anabolizantes são encontrados na própria academia. Resultados semelhantes foram demonstrados por Evans²¹ (1997) e Kanayama e Pope² (2018). Portanto, é notória a importância de se conscientizar o público das academias sobre os efeitos colaterais dos EAA e que os benefícios em geral são transitórios e dependentes da continuidade do uso da droga.

Além disso, infere-se que os dados apresentados nesse estudo, quanto à indicação do uso de EAA é preocupante, uma vez que foi orientado por profissionais de saúde que não são capacitados legislativamente para tal. Isso, por sua vez, produz prejuízos à saúde pública, pois já é bem fundamentado na comunidade científica acerca do impacto negativo da prescrição incorreta de fármacos, além da auto medicação, que pode levar ao consumo excessivo.

Com relação aos EAA mais utilizados neste estudo, observa-se que os predominantes são aqueles mais famosos comercialmente, principalmente entre a comunidade dos atletas e desportistas. Esse dado corrobora com estudo realizado por Sanzon et al.²² (2020) que observaram que a trembolona, boldenona, oxandrolona e o estanozolol foram os esteróides mais usados pelos atletas de Joinville/SC.

Outro dado importante encontrado nessa pesquisa mostrou que quase toda amostra (90% dos usuários de EAA) relatou ter sofrido algum tipo de efeito colateral. Esse número expressivo foi também fortemente e significativamente observado ao realizar o teste estatístico de correlação entre as variáveis de “uso de anabolizante” e o “surgimento dos efeitos colaterais”. Todavia, esse era um resultado esperado, pois a comunidade científica já é bem fundamentada quanto ao desenvolvimento desses efeitos adversos e o consumo inadequado/desorientado de substâncias ergogênicas.

Os atletas do sexo masculino incluídos neste estudo relataram algum efeito físico negativo ao usarem EAA tal como estrias, acne, tontura, náuseas, dores de cabeça, diarreia, queda de cabelo, ginecomastia e impotência sexual. Confirmando os dados encontrados, Parkinson e Evans²³ (2006) descreveram efeitos nocivos semelhantes em homens.

Entre as mulheres usuárias de EAA, os relatos de efeitos adversos mais comuns incluíram alteração na voz, crescimento de pelos no rosto, hipertrofia do clitóris, e queda de cabelo. A Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia²⁴ ressalta que o uso indiscriminado de anabolizantes pode provocar efeitos colaterais, em ambos os sexos, muito semelhantes aos relatados nesse trabalho, além de alterações clínicas que envolvem função hepática, formação de tumores, alterações da coagulação sanguínea, retenção de fluído e aumento da pressão arterial. Esses efeitos também já foram apontados em outros estudos e evidenciados na literatura²⁵.

Com relação às alterações psicológicas causadas pelo uso de EAA, foi observado, em maioria, o comportamento agressivo, alterações de humor e manias. Pode-se encontrar divergências nos resultados, pois, deve-se levar em consideração o perfil individual, já que alguns podem ser mais suscetíveis a tais drogas²⁶.

Ainda quanto ao surgimento de efeitos colaterais, foi observada a partir dos testes realizados, forte correlação positiva entre “quem indicou”, além do “tempo de consumo”, com significância estatística. Apesar de não possuir causalidade, esse dado é relevante e preocupante, pois sugere que uma indicação não adequada, além do consumo crônico de EAA pode ocasionar efeitos adversos, gerando impacto negativo à saúde dos consumidores, como os descritos no presente estudo.

Ademais, é importante salientar que a maioria dos efeitos adversos do uso exagerado, indiscriminado e para fins estéticos, costuma ocorrer em indivíduos que objetivam melhorar desempenho esportivo e estético, com dosagens supra fisiológicas, ou seja, além daquelas que são necessárias ao organismo.

Outros achados encontrados nesta pesquisa sugerem que a comercialização e consumo ilícito de EAA ocorrem dentro do próprio ambiente de desporto, como nas academias de ginástica. Esse é um dado alarmante, uma vez que no Brasil, a venda deste

tipo de fármaco, segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), é restrita e feita somente mediante apresentação de receita médica para diversos fins terapêuticos²⁷. No entanto, mesmo com a regulamentação pelos órgãos vigentes, é observado aumento contínuo do comércio dessas substâncias no Sistema Nacional de Gerenciamento de Produtos Controlados. Tais resultados corroboram com a literatura ao abordar que a maioria os esteroides são obtidos de forma clandestina e ilegal²⁸.

Além disso, é importante debater acerca do perfil de atuação do profissional de Educação Física como um dos principais agentes a combater esse comércio desorganizado e insalubre. Todavia, é alarmante e preocupante perceber que no estudo em questão, esses profissionais são os que orientam, de modo equivocado, o consumo das propriedades ergogênicas medicamentosas, como os EAA. Isso, por sua vez, promove um impacto negativo na cadeia de promoção à saúde²⁹.

Apesar de se apresentar conflitante, foi observada uma correlação negativa entre a variável de “escolaridade” e uso de suplementos dietéticos e anabolizantes. Com a mesma limitação do teste, é possível sugerir que a pontuação é inversamente proporcional. Ou seja, indivíduos com maior grau de instrução, tendem a consumir menos suplementos dietéticos e menos anabolizantes. Esses dados, no entanto, destoam com estudo realizado por Prezotto e Trevisan³⁰ (2018), pois verificaram que quanto maior o grau de escolaridade, maior a quantidade de substâncias ergogênicas consumidas.

Além disso, outro dado relevante encontrado a partir dos testes de correlação revelou correlação positiva muito forte entre o surgimento dos efeitos benéficos, com as variáveis de “quem indicou” e “tempo de uso”. Esse dado, por sua vez, é passível de questionamento, uma vez que entra em conflito com os estudos realizados que apontam os aspectos negativos do uso crônico de EAA, além de uso a partir de orientações de profissionais não capacitados.

No entanto, pode-se estimar que esses dados possam ser produtos de um viés amostral, pois as respostas eram auto referidos e todos os entrevistados, além do relato acerca dos efeitos colaterais, referiram efeitos positivos consequentes ao consumo de EAA.

Limitações

O presente estudo apresenta algumas limitações. Inicialmente, a aplicação de um questionário autorreferido pode levar ao erro sistemático de alguns dados, pois dependem da memória dos participantes, além de que alguns podem ocultar certas informações importantes. E sabe-se que estes são fatores importantes a serem avaliados dentro de uma análise de consumo de EAA, pois é necessário um retrato fidedigno para que se possa reduzir os riscos de delineamento de estimativas com baixa acurácia. Além disso, a ausência de dados bioquímicos e laudos médicos para investigação da saúde global dos participantes, assim como para determinar a ausência ou presença de diagnósticos de doenças crônicas pode ter sido um viés para o inquérito aplicado. Todavia, é importante ressaltar que a amostra probabilística foi calculada para a população, conferindo força científica para as generalizações e representações dos dados encontrados.

Conclusão

Embora a verdadeira magnitude do uso indevido de EAA seja difícil de estimar, está bem estabelecido que a utilização de tais substâncias não esteja mais restrita ao esporte de elite. Verificou-se uma importante prevalência do uso indiscriminado de EAA na amostra estudada. Os resultados revelaram que o uso de EAA varia significativamente de acordo com gênero, educação, faixa etária, adesão a dietas e suplementos dietéticos e tempo de realização de atividade física, sobretudo musculação. Assim, homens adultos, com idade entre 26 e 35 anos, Ensino Superior completo, realização de dietas, consumo de suplementos nutricionais e tempo de participação na musculação ao longo de um ano estão mais dispostos a fazerem uso de EAA. Dessa forma, o elevado índice de usuários desportistas que realizam o consumo de EAA é algo que precisa ser contornado dentro do universo amostral apresentado, tendo em vista o impacto negativo na saúde, por se tratarem, principalmente, de indivíduos que realizam consumo de EAA sem a prescrição adequada, sob devida orientação médica.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Referências

1. Peluso MAM, Assunção SSM, Araújo LASB, Andrade LHG. Alterações psiquiátricas associadas ao uso de anabolizantes. *Rev Psiq Clín.* 2000; 27(4): 229–36.
2. Kanayama G, Pope HG. History and epidemiology of anabolic androgens in athletes and non-athletes. *Mol Cell Endocrinol.* 2018; 464: 4–13.
3. American College Sports Medicine. American College of Sports Medicine position stand on blood doping as an ergogenic aid. *Med Sci Sports Exer.c* 1987;19(5): 540–3.
4. Almeida MM, Silva AC, Carneiro-Júnior MA. Nível de conhecimento e ocorrência do uso de anabolizantes entre praticantes de musculação. *Revista Científica Fagoc Saúde.* 2016; 1(1): 37–40.
5. Machado AG, Ribeiro PCP. Anabolizantes e seus riscos. *Adolescência & Saúde.* 2004; 1(4): 1–3.
6. Iriart JAB, Chaves JC, Orleans RG. Culto ao corpo e uso de anabolizantes entre praticantes de musculação. *Cad. Saúde Pública.* 2009; 25(4): 773–82.
7. Venâncio DP, Nóbrega ACL, Tufik S, Mello MT. Avaliação descritiva sobre o uso de esteroides anabolizantes e seu efeito sobre as variáveis bioquímicas e neuroendócrinas em indivíduos que praticam exercício resistido. *Rev Bras Med Esporte.* 2010; 16(3): 191–5.
8. Araújo L, Andreolo J, Silva M. Utilização de suplemento alimentar e anabolizante por praticantes de musculação nas academias de Goiânia-GO. *Revista Brasileira de Ciência e Movimento.* 2002; 3(1): 13–18.

9. Silva P, Junior L, Figueiredo V, Cioffi A, Prestes M, Czepielewski, M. Prevalência do uso de agentes anabólicos em praticantes de musculação de Porto Alegre. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*. 2007; 51(1): 104–110.
10. Evans NA. Current Concepts in Anabolic-Androgenic Steroids. *Am J Sports Med*. 2004; 32(2): 534–42.
11. Frizon F, Macedo SMD, Vonamine M. Uso de esteróides andrógenos anabólicos por praticantes de atividade física das principais academias de Erechim e Passo Fundo/RS. *Rev Ciênc Farm Básica Apl*. 2005; 26(3): 227–232.
12. Abrahin OSC, Souza NSF, Sousa EC, Moreira JKR, Nascimento VC. Prevalência do uso e conhecimento de esteroides anabolizantes androgênicos por estudantes e professores de educação física que atuam em academias de ginástica. *Rev Bras Med Esporte*. 2013; 19(1): 27–30.
13. Assis LC, Guedine CRC, Carvalho PHB. Uso da mídia social e sua associação com comportamentos alimentares disfuncionais em estudantes de nutrição. *J Bras Psiquiatr*. 2020; 69(4): 220–7.
14. Oliveira LL, Cavalcante Neto JL. Fatores sociodemográficos, perfil dos usuários e motivação para o uso de esteroides anabolizantes entre jovens adultos. *Rev Bras Ciênc Esporte*. 2018; 40(3): 309–17.
15. Damasceno VO, Lima JRP, Vianna JM, Vianna VRÁ, Novaes JS. Tipo físico ideal e satisfação com a imagem corporal de praticantes de caminhada. *Rev Bras Med Esporte*. 2005; 11(3): 181–6.

16. Legnani RFS, Legnani E, Pereira ÉF, Gasparotto GS, Vieira LF, Campos W. Transtornos alimentares e imagem corporal em acadêmicos de Educação Física. *Motriz: Rev Educ Fis.* 2012; 18(1): 84–91.
17. Tavares ASR, Serpa S, Horta L, Carolino E, Rosado A. Prevalence of Performance-Enhancing Substance Use and Associated Factors among Portuguese Gym/Fitness Users. *Substance Use & Misuse.* 2020; 55(7):1059–67.
18. Siqueira Nogueira FR, Freitas Brito A, Oliveira CVC, Vieira TI, Beniz Gouveia RL. Anabolic–Androgenic Steroid Use Among Brazilian Bodybuilders. *Substance Use & Misuse.* 2014; 49(9):1138–45.
19. Motter AG, Bellini M, Almeida S. Incidências de vigorexia em praticantes de musculação. *Do corpo: ciências e artes.* 2017; 7(1): 117–127.
20. Feitosa Filho OA. Um Olhar Psicanalítico sobre a Vigorexia *Rev Subj.* 2014; 14(1):162–71.
21. Evans NA. Gym and tonic: a profile of 100 male steroids users. *Br J Sports Med.* 1997; 31(1): 54–58.
22. Sanzon GP, Almeida F, Toriani SS. Efeitos decorrentes do uso de anabolizantes em praticantes de musculação. *Redes - Revista Interdisciplinar do IELUSC.* 2020; 1(2): 119–128.
23. Parkinson AB, Evans NA. Anabolic androgenic steroids: a survey of 500 users. *Med Sci Sports Exerc.* 2006; 38(4): 644–51.
24. SBEM – Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia. O uso de esteroides anabolizantes e similares em fitness é um grave e alarmante problema de saúde pública.

acessado em 02 de fevereiro em 2021]. Disponível em: https://novasliderancassbem.blogspot.com/2019/07/o-uso-de-esteroides-anabolizantes-e.html?fbclid=IwAR1ADde_2U13VvpJUeKdynmgHzMcrfceltXf9FhksguBS4Dk_iCRdfzbh4.

25. Venâncio DP, Nóbrega ACL, Tufik S, Mello MT. Avaliação descritiva sobre o uso de esteroides anabolizantes e seu efeito sobre as variáveis bioquímicas e neuroendócrinas em indivíduos que praticam exercício resistido. *Rev Bras Med Esporte*. 2010; 16(3):191–5.
26. Kanayama G, Hudson JI, Pope Jr. HG. Culture, Psychosomatics and Substance Abuse: The Example of Body Image Drugs. *Psychother Psychosom*. 2012; 81(2):73–8.
27. Kanayama G, Pope HG. Illicit use of androgens and other hormones: recent advances. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2012; 19(3): 211–9.
28. McBride JA, Carson CC, Coward RM. The Availability and Acquisition of Illicit Anabolic Androgenic Steroids and Testosterone Preparations on the Internet. *Am J Mens Health*. 2018; 12(5): 1352–7.
29. Rocha M, Aguiar F, Ramos H. O uso de esteroides androgénicos anabolizantes e outros suplementos ergogénicos – uma epidemia silenciosa. *Rev Portug Endoc Diab Metab*. 2014; 9(2): 98–105.
30. Prezotto MD, Trevisan MC. A influência da escolaridade no uso de suplementos alimentares. *Arquivos de Ciências do Esporte*. 2018; 6(4):155–159.

CAPÍTULO III

Anabolic-Androgenic Steroids Increase Aggressiveness in Male Rats

Gyl E.S Maciel ^{a,b,c}, Leucio D.V. Filho ^b, Marcelo W. Teixeira ^{a,c},
Maria Adélia B. de Oliveira, Lucas V. de A. Santana ^{a,c}, Anísio F. Soares ^{a,c}

^a *Department of Animal Morphology and Physiology, Rural Federal University of Pernambuco, PE, Recife, Brazil*

^b *Laboratory of Kidney Physiology and Pharmacology, Federal University of Pernambuco, PE, Recife, Brazil*

^c *Laboratory of Physiology and Experimental Surgery, Rural Federal University of Pernambuco, PE, Recife, Brazil*

Abstract

The use of substances to improve the performance of athletes is a common and old practice. There are reports from the 1st and 2nd centuries of the ingestion of bull's testicles by Olympic competitors, which would be justified by its rich testosterone content. Another historical fact is that testosterone was used by German troops to increase the strength and aggressiveness of German soldiers during World War II. We aimed to evaluate whether AAS (stanozolol) alters the behavior and aggressiveness of male rats in relation to their relatives and whether physical exercise attenuates aggressive behavior. Four groups of rats were housed in housing boxes in groups of five and were kept in this

condition from birth and throughout the period of the adapted protocol described by Golden et al. (2011). During the period of application of Stanozolol, the animals were allowed to interact with each other. The behavior of the rats was evaluated for one hour a day, five days a week for 60 days. With the steroid the number of attacks increased with the passing of time of use. The results show that high doses of stanozolol can cause behavioral changes, increasing aggression between individuals in the same family, even with no competition or stress that could trigger conflicts. Aggressive behavior remained the same with stanozolol withdrawal, and physical activity did not attenuate behavioral changes during or after steroid use.

Keywords: Animal behavior, testosterone, adverse effects, aggressive behavior, stanozolol, neurological effects.

1. Introduction

The anabolic-androgenic steroids (AAS) used to improve anabolics effects have been used in an alarming scale [18]. They promote the primary and secondary sexual characteristics in humans [16, 38]. AAS have been diffused and prescribed more and more frequently, thus, the research numbers related to potential benefits and risks for their uses have increased [31]. Social behavior changes and the aggressiveness increase are side-effects evidenced and less spoken related to the AAS using. Depending on the time of AAS use, the behavioral disturbances could affect important phases of development, such as: adolescence and adult phase [11, 26, 33].

The AAS, generally, act right on specific receptors, once in circulation, they are transported by the bloodstream as messengers, in their free or combined to transport molecules forms [9]. Among the most populars and consumed AAS, it is stanozolol. It is a testosterone ester (17-beta-hydroxy-17-alpha-methyl androstane (3,2-C) pyrazole). It has a great anabolic potential and a slower hepatic degradation than the natural masculine hormone [28]. Moreover, Reitzner and colleagues (2019) demonstrated that visceral fat and bone respond more effectively to AAS and physical exercise than skeletal muscle, and it may present sensitivity to other tissues, such as the Central Nervous System (CNS).

Since the 1930s, the AAS have been used to treat psychiatric conditions improving cognitive functioning, especially in elders men with or without hypogonadism. It was prescribed intending to preservative the testosterone levels homeostatic, promote the neurogenesis, synaptic remodeling at the hippocampus and prefrontal cortex, critical areas to the memory and cognitive functioning, stepping up in patient quality life [5].

Nervous System can be affected by continuous use of AAS, leading to behavioral alterations, for example: manias, depression, mood instability, insomnia and aggressiveness [1, 4, 25]. Used to improve physical performance, it shows evidences that can be related to increase of aggressiveness in human beings. In 2014, Ferreira and colleagues studying rats subjected to high doses of stanozolol concluded that the substance induced rats to aggression and high doses can lead them to depression. Equally important, Clark and Henderson have observed mood and neurochemical changes in mice after long exposition to AAS. Similar effects were also observed in athletes using high doses of AAS [35]. Those changes can be

associated to neuronal profiles in the Globus Pallidus [19], and morphofunctional alterations of neurons in cortical and hippocampal regions [13].

Complex interaction of the endocrine and nervous system performs a vital importance on individual metabolism. Several metabolic pathways maintain homeostasis, some have a general effect on the entire system (hypertrophy, proliferation, differentiation and maintenance of muscle cells), such as insulin-like growth factor 1, or somatomedin C or IGF-1 [34]. They also affect development of satellite-cells progenitors of myotubes, such as Pax7 [6] and myogenin [27]. It can also be affected by an increase in the phosphorylation of glutamate receptors (NMDA) in the central nervous system [32].

The negative impacts of AAS abuse on the CNS are related to decrease of cellular proliferation, increased apoptosis in nerve cells [3], generating morphological changes, resulting in functional, morphological and biochemical changes and leading to cell death in neurons [12, 19, 22]. Lu, Shaikh e Siegel (1992) state that there is a greater activation of the NMDA receptors, in turn, being involved in some kind of aggressive responses, affecting, specially, the hipotalamus (most damaged area by the increase of aggressiveness). It is necessary to know that AAS users can become more aggressive [7].

Aggressiveness is a social behavior comprising communicational signs, acts and postures taken to achieve a specific objective, usually, defense against threatening stimuli (individuals or collectives), food competition, search for sexual partners, territorial or offspring defense, fear and stress, it all could result in aggressive behavior objetifying inflinct pain, injury or submission from the attacked one (De Almeida; Cabral e Narvaes, 2015).

Multiple authors have studied the aggressiveness in rats exposed to AAS, always measuring the aggressive acts exhibited by resident males to another intruder or outsider male. In these studies, AAS exposed male rats executed more attacks with less intervalled time of attacks than the control group [15, 20, 21, 24, 26]. Hence, we intend to investigate if AAS (stanozolol) changes rats behavior and aggressiveness to their relatives, and if physical exercising attenuates the aggressive behavior. We committed to avoid, on this research, any alteration that could lead them to an aggressive alteration, such as contention, handling, as well as food, territorial and partner competition.

2. Methods

Animals: Male Wistar rats at 90 days of age were kept in the sectoral vivarium of the Department of Animal Morphology and Physiology at UFRPE under a 12/12 light/dark cycle. Divided into four groups: vehicle control group (CV, n=5) that received saline solution intramuscularly. Stanozolol control group (CS, n=5) in which stanozolol was administered intramuscularly at a dose of 20.0 mg /kg/week for 8 consecutive weeks. Exercized Vehicle (EV, n=5) which has practiced physical exercise and received saline solution. And last but no least, exercized and stanozolol subjected rats (ES, n=5), which practiced physical exercise and in which stanozolol was administered intramuscularly at a dose of 20.0 mg /kg/week for 8 consecutive weeks [2, 10]. The groups have always been brothers and have grown up together since birth. For the identification of each rat, marking was made on the tail (with a hypoallergenic pen). The use of animals was approved by the Ethics Committee for Animal Use (CEUA) of UFRPE number 098/2019.

Behavioral Assessment: The rats were housed in housing boxes in groups of five and kept in this condition from birth and throughout the period of implementation of the adapted protocol described by [38, 39]. During the period of Stanozolol application, the animals were allowed to interact freely for a period. The rats' behavior was evaluated for one hour daily, five days a week for 60 days.

The evaluation of aggressive behavior was performed in adult animals, using the resident/intruder rat paradigm. It consists of placing the rats alone for 30 minutes in a clean polypropylene box, without the availability of water and food, closed with a high iron grid. per day for testing. After this time, the rat is placed back in the cage along with the others in its group, and the observation is carried out for one hour. The behavior was counted each time the rat performed one of the following situations: threat of attack, attacks by biting, by side kicks or by boxing, pelvic pressure or position of dominance (submission). The tests were carried out from the beginning of the application of stanozolol, until the end of the application of this AAS and the swimming exercise program, totaling 60 days of behavioral assessment. (Cunningham and McGinnis, 2008 modified).

Statistical Analysis: All statistical analyzes were performed using Minitab® software - version 18. Data were treated according to the nature of the variables, applying descriptive statistics, corresponding to measures of central tendency: frequency and percentage. The variables were also tested for normality using the Shapiro-Wilk test, obtaining a non-parametric distribution. To analyze the results, the Kruskal-Wallis test was used followed by the Dunns post-test. Statistical significance was set to a p-value < 0.05. All p-values shown are two-tailed.

3. Results

Continuous use of anabolic steroids can cause behavioral and psychiatric changes such as mood swings, euphoria, insomnia, aggression, mania, depression, etc. In addition, individuals who use injectable anabolic steroids are at risk of sharing contaminated syringes and becoming infected with HIV, hepatitis B or C [1, 25]. Steroids can reduce users' control of self-preservation, increase risky behavior and, consequently, aggressiveness (Cabral et al., 2020).

Food competition, search for sexual partners, territorial or offspring defense, fear and stress, are the factors that can motivate aggressive behavior, aiming to cause harm, prejudice or submission to the victim [14]. Even without the factors described above, the animals exposed to stanozolol showed aggressive behavior patterns, mainly threats of attack and bites, even in cage mates. The attacks became more frequent as the experiment passed (Table 1). The attacks were carried out in any vulnerable region of the victim (Image 1).

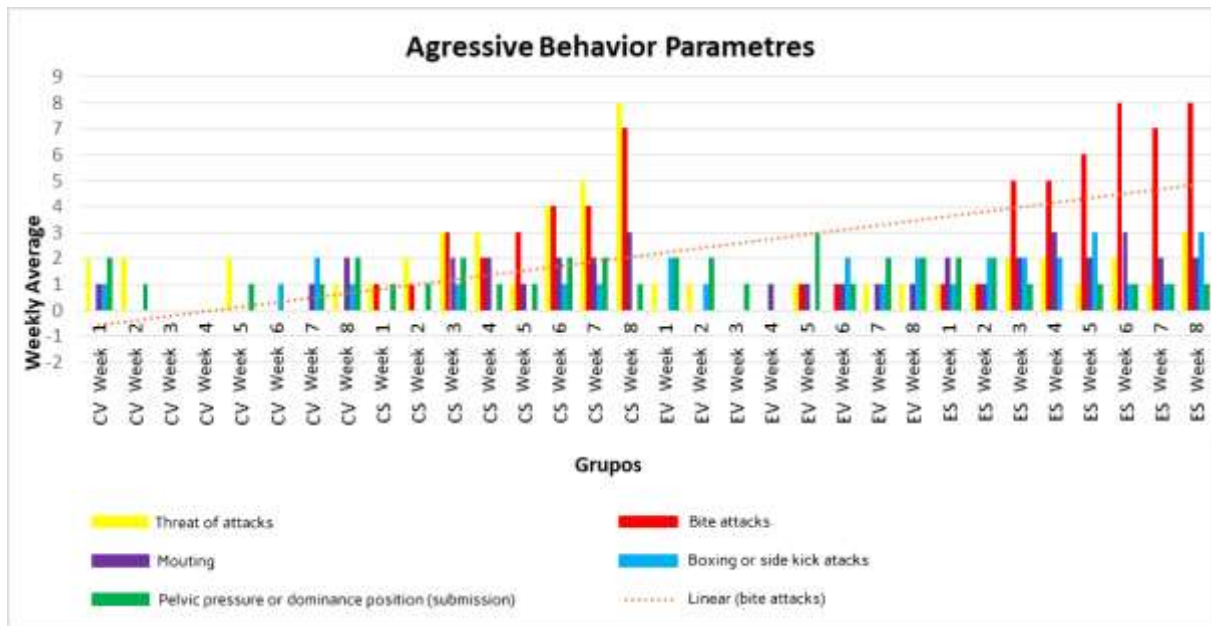


Table 1. The total weekly aggressiveness rate was higher for rats treated with stanozolol, regardless of whether or not they practiced physical activity. Vehicle control group (CV, n=5) that received saline solution, intramuscularly and the stanozolol control group (CS, n=5) in which stanozolol was administered, (EV, n=5) practiced physical exercise and received saline solution, (ES, n=5) practiced physical exercise and was administered stanozolol.

Comparisons	Ranks differences	p Value
Middle ranks CV e CS	12.8125	< 0.05
Middle ranks CV e EV	3.25	ns
Middle ranks CV e ES	17.4375	< 0.05
Middle ranks CS e EV	9.5625	ns
Middle ranks CS e ES	4.625	ns
Middle ranks EV e ES	14.1875	< 0.05

Table 2. Comparison of aggressiveness between groups. Normality: $p < 0.05$. Non-parametric sample Test: Shapiro-Wilk (*ns = not significant).

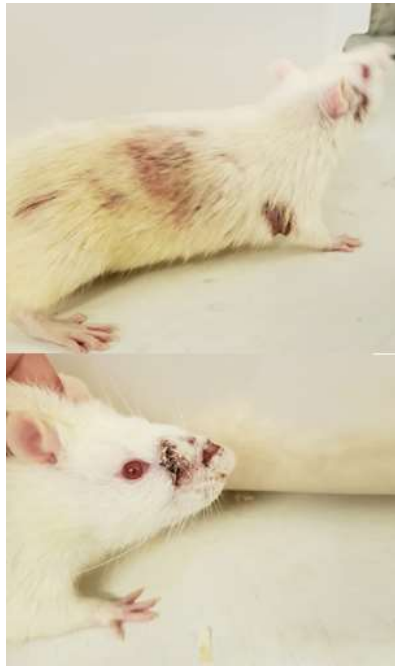


Image 1: Emphasizing marks of aggression made by ES group.

When we compared the aggressiveness levels with the groups among themselves, during and after the experiments, we found significance only in the ES group. Thus, demonstrating that aggressive behavior remains high even after stanozolol withdrawal (Table 3). Abusive use of AAS can cause dependence, possibly leading to withdrawal syndromes, and behavioral changes. [25]. Santos and colleagues (2006) deduced that the aggressive behavior that remains after the use of AAS may be associated with withdrawal effects.

	P Value
CV x CV-post	0,0758
CS x CS-post	0,0934
EV x EV-post	0,0713
ES x ES-post	0,0216*

Table 3: Aggression levels with the groups among themselves, during and after the experiments. Normality: $p < 0.05$, Non-parametric sample, Test: Shapiro-Wilk, Difference test: Mann-Whitney U. * Significant.

4. Discussion

Average frequencies for aggressive behavior parameters (Table 1) showed that aggression patterns were different for each of the tested groups. Bite attacks increased over the weeks for the stanozolol-treated groups. There was significance between the treated and control groups (Table 2), demonstrating that the longer the exposure time to stanozolol, the greater the aggressive behavior. Similar results were found by McGinnis and colleagues in 2002, who verified aggressive behavior during the administration of nandrolone decanoate (DN), stanozolol and testosterone propionate (PT); 5mg/kg/5 days a week for 12 weeks.

In the study conducted by Breuer et al. (2001), they concluded that aggressive behavior was increased in rats treated with PT, however, DN and stanozolol were similar to the control group. These last data do not correspond with our findings. There was an increase in the aggressive behavior of the treated rats, probably due to the dose used, 20.0 mg/kg/2 days of stanozolol per week for 8 weeks, very close to the doses used by athletes, and four times higher than the 5mg/ kg/week for 12 weeks, tested by Breuer et al in 2001. Ferreira et al. (2014) demonstrate that aggressive behavior occurred with high doses of stanozolol, as well as repeated use of this substance Pinna et al. (2008).

5. Conclusions

The steroid has been shown to be linked to increased attacks over time of use. The results show that high doses of stanozolol can cause behavioral changes, increasing aggression among individuals of the same family, even with no competition or stress that can trigger conflicts. Aggressive behavior remained the same with stanozolol withdrawal. Finally, physical activity did not attenuate behavioral changes during or after steroid use.

Acknowledgements

We wish to confirm that there are no known conflicts of interest associated with this publication and there has been no significant financial support for this work that could have influenced its outcome.

References

- [1] Abrahin, O. S. C.; Sousa, E. C. Esteróides anabolizantes androgênicos e seus efeitos colaterais: uma revisão críticocientífica. Rev. educ. fis. UEM [online]. v.24, n.4, pp.669-679, 2013.
- [2] Beutel, A.Bergamaschi, C.T.; Campos, R.R. Effects of chronic anabolic steroid treatment on tonic and reflex cardiovascular control in males rats. J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.,v.93, p.43-48, 2005.
- [3] Brannvall, K.; Bogdanovic, N.; Korhonen, L.; Lindholm, D. **19-Nortestosterona influencia a proliferação de células-tronco neurais e neurogênese no cérebro de rato.** EUR. J. Neurosci., 21, pp. 871 – 878. 2005.

- [4] Breuer, M. E.; McGinnis, M. Y.; Lumia, A. R.; Possidente, B. P. Aggression in male rats receiving anabolic androgenic steroids: effects of social and environmental provocation. *Hormones and Behavior*, 40(3), 409–418. 2001.
- [5] Brower, Kirk J. Anabolic steroid abuse and dependence in clinical practice. *Physician and Sportsmedicine*, v. 37, n. 4, p. 131-140, 2009.
- [6] Buckingham, M.; Rigby, P.W.J. Gene regulatory networks and transcriptional mechanisms that control myogenesis, *Dev. Cell* 28. 225–238, <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2013.12.020>. 2014.
- [7] Busardò, F. P.; Frati, P.; Sanzo, M. Di; Napoletano, S.; Pinchi, E.; Zaami, S.; Fineschi, V. The Impact of Nandrolone Decanoate on the Central Nervous System, 122–131. 2015.
- [8] Cabral, J. C. C., Corrêa, M. A., das Neves, V. T., Dias, A. C. G., & de Almeida, R. M. M. Do otimismo à agressão: cognições positivas preveem comportamento violento em homens. *Avances en Psicología Latinoamericana*, 38(1), 203-217. <https://doi.org/10.12804/revistas.urosario.edu.co/apl/a.6853>. 2020.
- [9] Celotti, F.; Cesi, P. Anabolic steroids: a review of their effects on the muscle, of their possible mechanisms of action and of their use in athletics. *The Journal of Steroids Biochemistry and Molecular Biology*, Oxford, v.43, p. 469- 77, 1992.
- [10] Clark, A. S.; Blasberg, M.E.; Bennett-Brandling, E.M. Stanozolol, Oxymetholone, and Testosterone Cypionate effects on the rat estrous cycle. *Physiol. Behav.*,v.63, p.287-295, 1998.
- [11] Clark, A. S. Henderson, L.P. Respostas comportamentais e fisiológicas aos esteróides anabólicos androgênicos. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 27: 413-436. 2003.
- [12] Damião, B; Sousa, G. G; Nogueira, D. A.; Rossi, Jr. W. C.; Fernandes, G. J. M.; Esteves, A. Quantificação de corpos celulares de neurônios em camundongos submetidos a esteroides anabolizantes. *Rev Neuroci.*;20(1):68-72. 2012.
- [13] Damião, B; Sousa, G. G; Rossi, Jr. W. C.; Guerra, D. R.; Marques, P. P.; Nogueira, D. A.; Esteves, A. Anabolic steroids and their effects on neuronal density in cortical areas and hippocampus of mice. *Braz. J. Biol.* vol. 81, no. 3 pp.537-543. 2021.
- [14] De Almeida, R. M.; Cabral, J.C.; Narvaes, R. **Behavioral, hormonal and neurobiological mechanisms of aggressive behavior in human and nonhuman primates.** *Physiol. Behav.*, 143, pp. 121-135. 2015.
- [15] DeLeon, K. R.; Grimes, J. M.; Melloni Jr, R. H. Repeated anabolic androgenic steroid treatment during adolescence increases vasopressin V1A receptor binding in Syrian hamsters: Correlation with offensive aggression. *Hormones and Behavior*, 42(2), 182–191. 2002.
- [16] Evans, N. A. "Current concepts in anabolic-androgenic steroids." *Am J Sports Med* 32(2): 534-542. 2004.

- [17] Ferreira, N. A. F.; Sá, S. G. V.; Aleixo, I. B.; Paiva, A. M. R. Estudo dos efeitos provocados pelo uso do anabolizante estanozolol. *Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research*. Vol. 7. Núm. 3. p.17-23. 2014.
- [18] Frati, P., Busardò, F.P., Cipolloni, L., Dominicis, E. and Fineschi, V. Anabolic Androgenic Steroid (AAS) related deaths: autptic, histopathological and toxicological findings. *Current Neuropharmacology*, vol. 13, no. 1, pp. 146-159. 2015.
- [19] Freitas, A. C.; Damião, B.; Alves, D. M.; Ribeiro, M.; Fernandes, G. J. M.; Rossi Junior, W. C.; Esteves, A. Efeitos dos anabolizantes sobre a densidade de neurônios dos núcleos da base. *Rev Bras Med Esporte*. 23: 213-216. 2017.
- [20] Grimes, J. M.; Melloni Jr, R. H. Serotonin modulates offensive attack in adolescent anabolic steroid-treated hamsters. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 73(3), 713–721. 2002.
- [21] Harrison, R. J.; Connor, D. F.; Nowak, C.; Nash, K.; Melloni Jr, R. H. Chronic anabolic-androgenic steroid treatment during adolescence increases anterior hypothalamic vasopressin and aggression in intact hamsters. *Psychoneuroendocrinology*, 25(4), 317–338. 2000.
- [22] Kalinine, E. Efeitos Comportamentais, Neuroquímicos e Metabólicos do Tratamento com Decanoato de Nandrolona em Camundongos [dissertação]. Rio Grande do Sul: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica; 2011.
- [23] Lu, C. L.; Shaikh, M. B.; Siegel, A. Role of NMDA receptors in hypothalamic facilitation of feline defensive rage elicited from the midbrain periaqueductal gray. *Brain Research*, 581(1), 123–132. 1992.
- [24] Lumia, A.R.; Thorner, K.M.; McGinnis, M.Y. Effects of chronically high doses of the anabolic androgenic steroid, testosterone, on intermale aggression and sexual behavior in male rats. *Physiol Behav*. 55(2):331–5. 1994.
- [25] Martins, C. M.; Carijó, F. H.; Almeida, M. C.; Silveira, M.; Mirailh, M. X. N.; Peixoto, M. M.; Martins, R.; Ramalho, T. M.; Sholl-Franco, A. Efeito psicológico do abuso de anabolizantes. *Cien Cog.*; 05: 84-91. 2005.
- [26] McGinnis, M. Y.; Lumia, A. R.; Breuer, M. E.; Possidente, B. Physical provocation potentiates aggression in male rats receiving anabolic androgenic steroids. *Horm Behav*. 41(1):101–110. 2002.
- [27] Perry, L. S.; Robert; Rudnicki, M.A. Molecular mechanisms regulating myogenic determination and differentiation, *Front. Biosci*. 5. d 750–767. 2000.
- [28] Pey, A. Effects of prolonged stanozolol treatment on antioxidant enzymes activities, oxidative stress markers, and heat shock protein HSP72 levels in rat liver. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.*,v.87, p.269-277, 2003.
- [29] Pinna G, et al. Neurosteroid biosynthesis regulates sexually dimorphic fear and aggressive behavior in mice. *Neurochem Res. Estados Unidos*. 33(10):1990-2007. 2008.

- [30] Reitzner, S. M.; Hengevossb, J.; Isenmannb, E.; Diel, P. Modulation of exercise training related adaptation of body composition and regulatory pathways by anabolic steroids. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 190. 44–53. 2019.
- [31] Ribeiro, P.C.P. O uso indevido de substâncias: esteroides anabolizantes e energéticos Adolescência Latinoamericana. 1414-7130/2-97-101. 2001.
- [32] Rossbach, U. L. W.; Steensland, P.; Nyberg, F.; Greve, P. Le. Nandrolone Induced hippocampal phosphorylation of NMDA receptor subunits and ERKs's. 357, 1028–1033. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.04.037>. 2007.
- [33] Salas-Ramirez, K.; Montalto, P.R.; Sisk, C.L. Anabolic steroids have long-lasting effects on male social behaviors. *Behav. Brain Res.*, 208, pp. 328-335. 2010.
- [34] Schiaffino, S.; Mammucari, C. Regulation of skeletal muscle growth by the IGF1-Akt/PKB pathway: insights from genetic models, *Skelet. Muscle* 1. 1–14, <https://doi.org/10.1186/2044-5040-1-4>. 2011.
- [35] Piacentino, D.; Kotzalidis, G.D.; del Casale, A.; Aromatario, M.R.; Pomara, C.; Girardi, P.; Sani, G. Uso de esteróides anabólicos androgênicos e psicopatologia em atletas. Uma revisão sistemática. *Current Neuropharmacology*, 13 (1), 101–21. 2015.
- [36] Santos, A. F.; Mendonça, P. M. H.; Santos, I. A.; Silva, n. F.; Tavares, j. K. L. Anabolizantes: conceitos segundo praticantes de musculação em Aracaju (SE). *Psicologia em Estudo*. [online], mai./ago. vol. 11, nº.2, p. 371-380. 2006.
- [37] Tousson, E., Elgharabawy, R. and Elmasry, T.A. Grape Seed Proanthocyanidin Ameliorates Cardiac Toxicity Induced by Boldenone Undecylenate through Inhibition of NADPH Oxidase and Reduction in the Expression of NOX2 and NOX4. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, vol. 5, pp. 9434385. 2018.
- [38] Thor, D. H., & Holloway, W. R. (1982). Social memory of the male laboratory rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 96, 1000-1006
- [39] Moura, P.J.; Xavier, G.F. Memória de reconhecimento social em ratos. *Psicol.*, v.21, p.355-389, 2010.

CAPÍTULO IV

ANABOLIZANTE ANDROGENICO (ESTANOZOLOL) ALTERA O SISTEMA REDOX DE RATOS SEDENTÁRIOS E TREINADOS

Será submetido na *Journal of Molecular Endocrinology*

<https://jme.bioscientifica.com/>

Gyl Everson de Souza Maciel¹; Marry A. S. Cirilo²; Anísio Francisco Soares¹; Leucio D. Vieira².

¹ Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brazil.

² Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brazil.

Resumo

O risco de mortalidade entre os usuários crônicos de esteroides anabólicos androgênicos (EAA) é alto, podendo levar a complicações cardiovasculares, disfunção hepática, lesão renal, distúrbios psiquiátricos, redução da tireóide, produção hormonal, infertilidade e modula a imunidade. Objetivamos investigar os efeitos oxidativos do estanozolol sobre o sistema renal, Hepático e cardiovascular de ratos sedentários e treinados com natação. Foram utilizados 50 ratos da linhagem Wistar, machos, adultos, sadios ao exame clínico, com peso entre 200 e 300g, com, no máximo, 90 dias de nascidos. A peroxidação lipídica e os níveis glutatona reduzida (GSH) foram avaliados no fígado e nos rins de ratos machos adultos. Foram utilizados como um marcador de peroxidação lipídica os níveis de malondialdeído (MDA) através da mensuração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Nossos resultados mostraram que o consumo de estanozolol supra-fisiológico (20,0 mg/kg/semana) elevou a produção de EROs no coração, fígado e rins de ratos Wistar machos. No geral a atividade física (natação) elevou os níveis dos mecanismos antioxidantes desses órgãos, porém, não foi capaz de equilibrar o sistema redox dos órgãos estudados. O efeito oxidativo do EAA, no miocárdio, fígado e rins de ratos é semelhante, tanto em ratos treinados ou sedentários. O estanozolol, sozinho ou em combinação com o exercício físico intenso, é pró-oxidativo no miocárdio fígado e rins de ratos machos.

Palavras-chave: Esteróides anabolizantes androgênicos; Efeitos colaterais; Estresse oxidativo; Atividade física.

Abstract

The risk of mortality among chronic users of anabolic androgenic steroids (AAS) is high, which can lead to cardiovascular complications, liver dysfunction, kidney damage, psychiatric disorders, reduced thyroid, hormone production, infertility and modulates immunity. We aimed to investigate the oxidative effects of stanozolol on the renal, hepatic and cardiovascular systems of sedentary and swimming-trained rats. Fifty adult male Wistar rats were used, healthy at clinical examination, weighing between 200 and 300g, with a maximum of 90 days of birth. Lipid peroxidation and reduced glutathione (GSH) levels were evaluated in the liver and kidneys of adult male rats. Malondialdehyde (MDA) levels were used as a marker of lipid peroxidation by measuring thiobarbituric acid reactive substances (TBARS). Our results showed that the consumption of supraphysiological stanozolol (20.0 mg/kg/week) increased the production of ROS in the heart, liver and kidneys of male Wistar rats. In general, physical activity (swimming) increased the levels of the antioxidant mechanisms of these organs, however, it was not able to balance the redox system of the organs studied. The oxidative effect of EAA on the myocardium, liver and kidneys of rats is similar in both trained and sedentary rats. Stanazole, alone or in combination with intense physical exercise, is pro-oxidative in the myocardium, liver and kidneys of male rats.

Keywords: Androgenic Anabolic Steroids; Side Effects; Oxidative Stress, Physical Activity.

Introdução

Os esteroides anabolizantes são substâncias sintéticas, similares à testosterona, que podem ser utilizados por administração oral ou injetável. Os esteroides anabólicos androgênicos (EAAs) pertencem a uma família de substâncias análogas a testosterona com capacidade de estimular o crescimento muscular e a função do sistema reprodutor masculino através de suas interações celulares, biodisponibilidade e balanço entre suas atividades androgênicas e anabólicas (Marques et al., 2003; Kanayama et al., 2008). Os EAAs são utilizados para o tratamento do hipogonadismo, para o tratamento de quadros de deficiência do metabolismo proteico, para a castração terapêutica, para o tratamento de tumores mamários, e para o controle de menopausa e andropausa (Machado et al, 2002; Cunha et al., 2004). Outras aplicações dos EAAs incluem o tratamento da caquexia induzida pela AIDS e por algumas tipos de câncer, da osteoporose, da anemia grave, crescimento retardado, politraumatismos, queimaduras e recuperação pós-operatória (Lize et al., 1999; Cunha et al., 2004; Peluso et al., 2009).

Apesar da utilidade terapêutica dos EAAs, essas drogas também são consideradas como drogas de uso recreativo, sendo amplamente utilizadas para promoção de ganho de massa magra, melhoria da performance atlética, aumento de libido e de auto-confiança (Skarberg et al., 2008). O uso de EAAs está associado a diversos efeitos adversos, principalmente órgãos reprodutivos (Christou et al., 2017). O uso crônico está associado comumente com disfunções

hormonais, aumento da secreção das glândulas sebáceas, atrofia testicular, impotência, azoospermia, infertilidade masculina, amenorreia e atrofia uterina (Pope et al., 2014; Armstrong et al., 2018; Nieschlag et al., 2015). Além disso, os EAAs também estão associados ao surgimento de desordens psicocomportamentais, incluindo enxaqueca, irritabilidade, depressão e comportamento agressivo (Medras et al., 2018). Sabe-se que o mecanismo básico de atuação do EAAS ocorre através da modulação da expressão gênica mediada pelos receptores de andrógenos (ARs) e pela ligação direta dos ARs a proteínas citoplasmáticas (Joseph & Par, 2015; Fragkaki et al., 2009).

Apesar do uso de EAAs afetarem fortemente a função orgânica sexual, a morbimortalidade relacionada ao uso crônico de EAAs está relacionada, sobretudo aos efeitos adversos dessas drogas na função de órgãos como fígado, rim, coração e vasos sanguíneos (Pope et al., 2014; Bond et al., 2016; Nieschlag & Vorona, 2015; D'Andrea et al., 2016). O sistema hepatorenal é responsável pelo metabolismo de EAAs e uma sobrecarga dessas drogas podem agravar danos teciduais e está associada com fibrose hepática e injúria renal (Bond et al., 2016; Nieschlag & Vorona, 2015; Parente-Filho et al., 2020). O sistema cardiovascular em usuários de EAAs é afetado com alta incidência. As principais alterações observadas são aterosclerose, calcificação vascular, tromboembolismo, hipertrofia cardíaca, hipertensão, arritmias cardíacas e paradas cardíacas súbitas (Liu & Wu, 2019).

O estresse oxidativo apresenta mecanismo central na fisiopatologia de doenças que afetam o fígado, rim e coração (Ferreira & Matsubara, 1997). O estresse oxidativo é caracterizado por uma ruptura no balanço devido ao aumento da produção de espécies reativas do oxigênio ou deficiência na proteção antioxidante (Ferreira & Matsubara, 1997; Barbosa et al., 2010). A NADPH oxidase apresenta papel central na produção de espécies reativas do oxigênio, enquanto que as enzimas catalase e superóxido dismutase são fundamentais para a defesa celular (Barbosa et al., 2010; Touyz & Schiffrin, 2004). Já foi demonstrado que o EAA decanoato de nandrolona sensibiliza o rim, fígado e coração, através da indução de alterações que incluem aumento da atividade da NADPH oxidase e/ou inibição da catalase e da superóxido dismutase (Frankenfeld et al., 2014).

Com base nesses achados, é possível evidenciar que o uso de EAAs pode aumentar a incidência de doenças crônicas que afetam rim, coração e cérebro. O impacto na saúde pública dessa condição torna-se particularmente importante quando é considerada a diversidade de drogas da classe EAAs, bem como o elevado número de pessoas em risco pela busca excessiva pelos padrões de beleza. Dessa forma, é importante estudar o impacto específico dos EAAs, bem como sua associação com o treinamento físico, uma condição frequentemente observada em usuários dessa classe de drogas. Neste trabalho foi investigado os efeitos do estanozolol sobre balanço redox e seus mecanismos regulatórios

no tecido hepático, renal e cardíaco de ratos sedentários e treinados com natação.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Duodecilsulphate de sódio (SDS), albumina de soro bovino (BSA), Folin-Ciocalteu, ácido tiobarbitúrico e 5,5'-ditiobis (2- nitrobenzóico) (DTNB) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Kits comerciais para dosagem de aspartato aminotransferase (AST) ou transaminase glutâmica oxalacética (TGO) e alanina aminotransferase (ALT) ou transaminase glutâmico-pirúvica (TGP) e creatinina da Labtest (Lagoa Santa, MG, Brasil). Pentobarbital de sódio foi comprado de Cristália (Produtos Químicos Farmacêuticos, Itapira, SP, Brasil). Ácido tricloroacético (TCA), EDTA, cloreto de sódio e cloreto de potássio foram adquiridos a Vetec (RJ, RJ, Brasil). Todos os outros reagentes foram do mais elevado grau de pureza disponível.

Animais

A manipulação dos animais foi realizada de acordo com os princípios internacionais para pesquisa biomédica envolvendo animais segundo normas do International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals (CIOMS)– Genebra (1985). A Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos (2013) foi rigidamente observada no

desenvolvimento deste projeto que foi submetido ao Comitê de Ética institucional e aprovado sob a licença n o 89/2018.

Foram utilizados 50 ratos da linhagem Wistar, machos, adultos, sadios ao exame clínico, com peso entre 200 e 300g, com, no máximo, 90 dias de nascidos, fornecidos pelo Biotério da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Os animais foram mantidos em gaiolas de policarbonato (41x34x16cm) forradas com maravalha de pinus e trocadas diariamente, mantidas em temperatura ambiente de $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, expostos a fotoperíodo de 12 horas de luz (400 Lux) por 12 horas de escuridão e com acesso a água e ração (Presence - ratos e camundongos), ad libitum. Os ratos foram divididos em duas condições: uma condição controle (C), na qual o animal recebeu administração de solução salina, via intramuscular, e outra condição tratada com estanozolol (E), na qual os animais foram tratados semanalmente com a dose de 20,0 mg/kg/semana durante 8 semanas consecutivas. Adicionalmente, parte dos animais submetidos a cada uma dessas condições foi submetida ao treinamento físico por natação (T). Dessa forma, foram constituídos quatro grupos experimentais: i) ratos Controle sem treinamento físico (C, n=5); ii) ratos tratados com estanozolol sem treinamento físico (E, n=5); iii) ratos Controle que fizeram treinamento físico (CT, n=5); e iv) ratos tratados com estanozolol que fizeram treinamento físico (ET, n=5) (Clark et al., 1998; Beutel, Bergamaschi e Campos, 2005). (SHEN, et al., 2009; FERR´ANDEZ, et al., 1996; CLARK et al., 1998; BEUTEL, BERGAMASCHI e CAMPOS, 2005).

Os animais foram acompanhados, quinzenalmente dos 90 aos 150 dias de vida, para a avaliação da pressão arterial sistólica (PAS) e alocados em gaiolas metabólicas (Tecniplast Gazzada Sarl, Buguggiate, Itália) para coleta de urina por períodos de 24h e posterior coleta de sangue, por pulsão na veia caudal. Aos 150 dias de vida os animais foram decapitados sob anestesia (80 mg/kg de cetamina e 10 mg/kg de xilazina, i.p) para coleta de sangue e órgãos (rins, fígado e coração).

Avaliação do estresse oxidativo

A peroxidação lipídica e os níveis glutatona reduzida (GSH) foram avaliados no fígado e nos rins de ratos machos adultos. Foram utilizados como um marcador de peroxidação lipídica os níveis de malondialdeído (MDA) que foram estimados pela mensuração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), de acordo com Ohkawa, Ohishi e Yagi (1979). Os tecidos foram homogeneizados em 150 mM KCl, na proporção de 1g tecido para 5 ml de solução. Para a curva padrão, foi utilizado 1,1,3,3-tetraetoxi-propano.

Os níveis de glutatona reduzida (GSH) foram avaliados através da mensuração de grupos sulfidrilas não proteicos (SEDLAK e LINDSAY, 1968). O homogenato obtido acima foi desproteínizado pela adição de ácido tricloroacético a uma concentração final de 5%, seguida de centrifugação a 1000 g por 5 min. Os grupamentos sulfidrílicos foram mensurados após reação do sobrenadante com o ácido 5,5"-ditiobis (2-nitrobenzóico). A L-cisteína foi

utilizada para a curva padrão. Ambos os resultados, MDA e GSH, foram corrigidos pela concentração de proteína.

Avaliação da atividade da catalase e da superóxido dismutase (SOD)

A atividade da catalase foi estimada pela mensuração do decaimento da absorbância ocasionado pela redução de H_2O_2 a água, conforme (AEBI, 1984). Para esse ensaio, a amostra (10 mg de proteína/mL) foi adicionada a uma solução de peróxido de hidrogênio (10 mM) em tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,0). Após homogeneização, a velocidade de decomposição do H_2O_2 foi medida a cada 15 segundos durante um intervalo de 2 minutos. As amostras foram analisadas em triplicata, e os valores expressos em mmol de H_2O_2 consumido por minuto e por grama, utilizando o coeficiente de extinção do H_2O_2 para o cálculo.

A atividade da SOD foi estimada pela capacidade da amostra em reduzir a formação do cromóforo róseo, o adrenocromo, a partir da oxidação da epinefrina (MISRA e FRIDOVICH, 1972). A amostra (10 mg de proteína/mL) foi adicionada a uma solução contendo glicina 50 mM, pH 10,0. Em seguida, a solução foi suplementada com epinefrina 1,5 mM. A velocidade de formação do adrenocromo foi estimada pela mensuração da absorbância em intervalos de 15 segundos durante 2 minutos. Os valores da SOD foram expressos em U SOD g^{-1} , onde uma unidade de SOD é definida como a quantidade de enzima

necessária para diminuir à metade a velocidade espontânea de formação do adrenocromo.

Avaliação da produção basal de ânions superóxido e da atividade NADPH oxidase

As amostras de rim, fígado e coração foram homogeneizadas em tampão de radioimunoprecipitação contendo NaCl 150 mM, Triton X-100 a 1%, Triton X-100 a 1%, desoxicolato de sódio a 0,5%, desoxicolato de sódio a 0,5%, SDS a 0,1% e 50 mM Tris, pH 8,0; contendo 2 mM de AEBSF, 1 mM de EDTA, 130 µM de bestatina, 14 µM de E-64, 1 µM de leupeptina e 0,3 µM de aprotinina. Os homogenatos foram adicionados a um meio de reação contendo lucigenina 10 µM e NADPH 100 µM. A atividade da NADPH oxidase foi estimada pela mensuração da luminescência durante um intervalo de 5 minutos utilizando um leitor multimodular (Varioskan Flash, ThermoScientific). O resultado foi expresso em unidade relativa de luz por minuto e corrigido pela quantidade de proteína da amostra. A liberação de superóxido também foi avaliada na ausência de NADPH, representando a produção basal.

Análise estatística

Os resultados são expressos pela média \pm erro padrão da média (SEM). Os dados foram submetidos a avaliação da normalidade através do teste de Shapiro-Wilk. Considerando a inexistência de grandes variações da distribuição Gaussiana, as médias dos grupos foram comparadas usando análise de

variância (ANOVA) de duas vias seguida do teste de Bonferroni. As análises foram realizadas usando o software GraphPad Prism 5 (versão 5.01, GraphPad Software, Inc.). As diferenças entre os grupos foram consideradas significativas com $P < 0,05$.

RESULTADOS

Na Figura 1 são apresentados os dados de estresse oxidativo no córtex do tecido renal. O tratamento com estanozolol não influenciou a peroxidação lipídica, os níveis de GSH ou a razão TBARS/GSH no tecido renal de animais sedentários. Por outro lado, o estanozolol induziu um aumento de cerca de 90% ($P < 0,01$) da peroxidação lipídica no grupo treinado (grupo ET x CT). Adicionalmente, os ratos treinados e tratados com estanozolol apresentaram maior (cerca de 50%, $P < 0,01$) razão TBARS:GSH em comparação ao seu respectivo grupo sedentário (E) e grupo controle (CT).

Apesar do tratamento com estanozolol não ter elevado estresse oxidativo renal em ratos sedentários, foi observado que os ratos sedentários tratados apresentaram atividade da SOD 50% menor ($P < 0,01$) do que grupo controle sedentário (Figura 2A). Não foram observados efeitos do estanozolol na atividade da catalase, na produção basal de anions superóxido ou na atividade da NADPH oxidase (Figura 2B-D). Os grupos submetidos ao treino de natação apresentaram maior ($P < 0,01$) atividade da SOD e da catalase em relação aos respectivos grupos sedentários (CT vs. C e ET vs. E). Interessantemente, os

ratos treinados e tratados com estanozolol (ET) também apresentaram maior atividade da SOD do que seu respectivo grupo Controle (CT). O treinamento com natação não afetou a atividade da NADPH oxidase do grupo Controle ou tratado com estanozolol (Figura 2D), contudo, a produção basal de anions superóxido foi aumentada (Figura 2C).

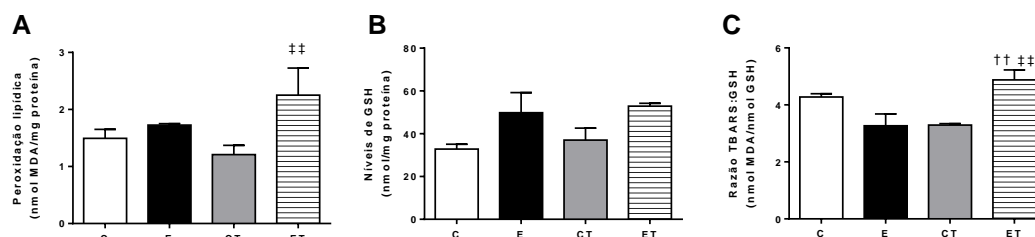


Figura 1. Efeitos do estanozolol sobre estresse oxidativo no córtex renal em ratos adultos sedentários e treinados: (A) peroxidação lipídica; (B) níveis de glutatona reduzida (GSH); e (C) relação da peroxidação lipídica:GSH. C = ratos controle sedentários (n=5); E = ratos sedentários tratados com estanozolol (20 mg/kg de peso corpóreo, i.m.; 1 vez por semana por 8 semanas consecutivas) (n=5); CT = ratos controle treinados (n=5); ET = ratos treinados tratados com estanozolol (n=5). MDA = malondialdeído. TBARS = *thiobarbituric acid reactive substances* (espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico). Dados expressos como média \pm EPM. As médias dos grupos foram comparadas utilizando o teste ANOVA de duas-vias seguido de teste de Tukey: $^{\dagger\dagger}P < 0,01$ vs. E; e $^{\#\#}P < 0,01$, $^{\#\#\#}P < 0,001$ vs. CT.

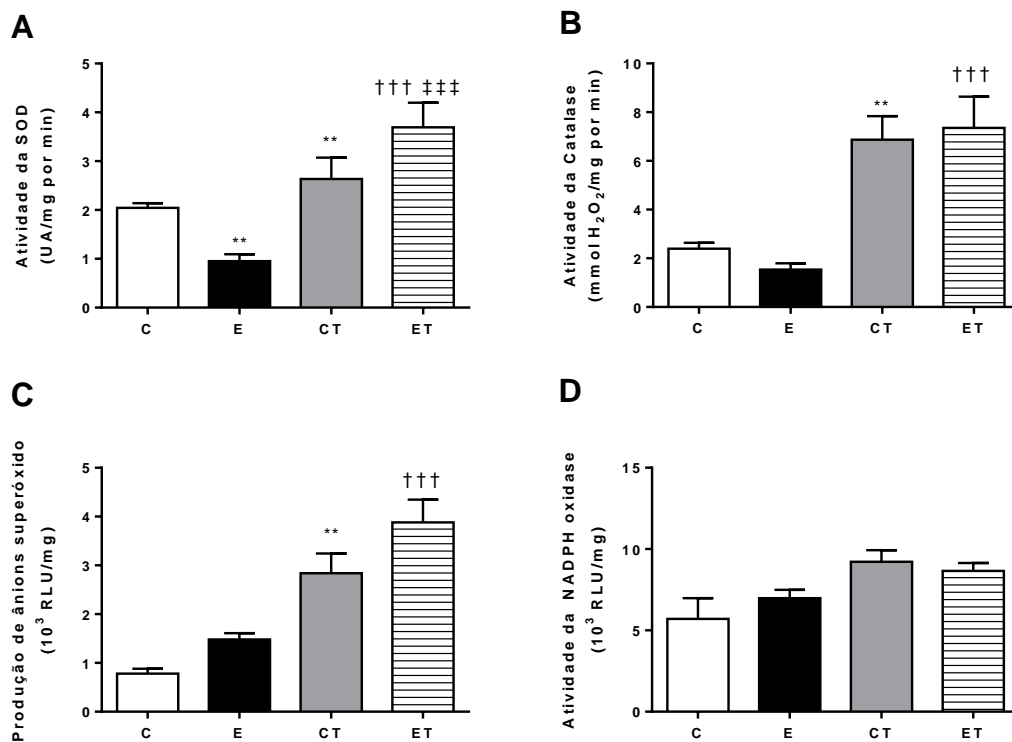


Figura 2. Efeitos do estanozolol sobre a atividade da superóxido dismutase (A), a atividade da catalase (B), a produção basal de ânions superóxido (C) e a atividade da NADPH oxidase (D) no córtex renal de ratos sedentários e treinados. C = ratos controle sedentários (n=5); E = ratos sedentários tratados com estanozolol (20 mg/kg de peso corpóreo, i.m.; 1 vez por semana por 8 semanas consecutivas) (n=5); CT = ratos controle treinados (n=5); ET = ratos treinados tratados com estanozolol (n=5). SOD = superóxido dismutase. Dados expressos como média \pm EPM. As médias dos grupos foram comparadas utilizando o teste ANOVA de duas-vias seguido de teste de Tukey: **P<0,01 vs. C; †††P<0,001 vs. E; e †††P<0,001 vs. CT.

O tratamento com estanozolol impactou perceptivelmente o balanço redox do tecido hepático (Figura 3). Os ratos sedentários tratados com o estanozolol apresentaram peroxidação lipídica hepática duas vezes maior ($P < 0,001$) do que os ratos não-tratados. Os níveis de GSH não foram alterados pelo tratamento, contudo foi observado que a razão TBARS:GSH foi 3 vezes superior ($P < 0,001$) no grupo tratado com estanozolol em relação ao respectivo grupo Controle. De forma interessante, o grupo tratado com estanozolol e submetido ao treinamento físico não apresentou diferenças significativas na peroxidação lipídica, nos níveis de GSH ou na razão TBARS:GSH do fígado em relação ao seu respectivo grupo Controle (CT).

Simultaneamente a indução do estresse oxidativo hepático, foi observado que os ratos tratados com estanozolol apresentaram redução (70%, $P < 0,001$) da atividade da SOD, aumento de cerca de 4 vezes da produção basal de aniões superóxido ($P < 0,001$), e aumento de 50% ($P < 0,001$) da atividade da NADPH oxidase em relação ao grupo não-tratado (Figura 4A, C e D). Em contraste, a atividade da SOD e a produção basal de aniões superóxido não foram diferentes entres o grupo treinado e tratado com estanozolol e o grupo treinado sem tratamento. O estanozolol não induziu alteração na atividade da catalase no grupo sedentário, enquanto que no grupo treinado, o tratamento induziu uma elevação na atividade da enzima antioxidante (63%, $P < 0,01$) em comparação aos ratos treinados não-tratados (Figura 4B).

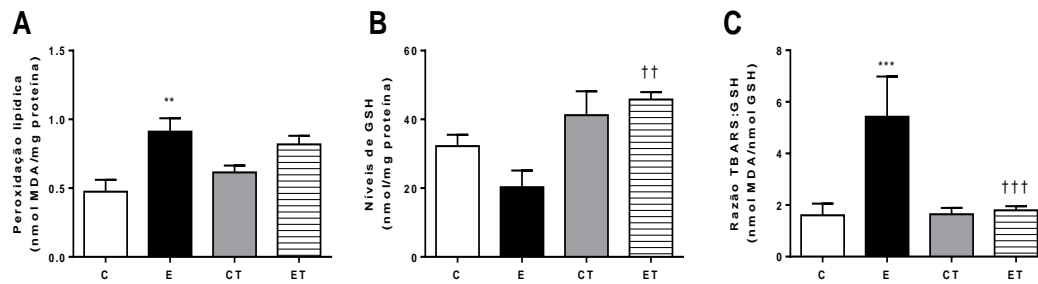


Figura 3. Efeitos do estanozolol sobre estresse oxidativo hepático em ratos adultos sedentários e treinados: (A) peroxidação lipídica; (B) níveis de glutathiona reduzida (GSH); e (C) relação da peroxidação lipídica:GSH. C = ratos controle sedentários (n=5); E = ratos sedentários tratados com estanozolol (20 mg/kg de peso corpóreo, i.m.; 1 vez por semana por 8 semanas consecutivas) (n=5); CT = ratos controle treinados (n=5); ET = ratos treinados tratados com estanozolol (n=5). MDA = malondialdeído. TBARS = *thiobarbituric acid reactive substances* (espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico). Dados expressos como média \pm EPM. As médias dos grupos foram comparadas utilizando o teste ANOVA de duas-vias seguido de teste de Tukey: *P<0,05, **P<0,01 vs. C; e ††P<0,01, †††P<0,001 vs. E.

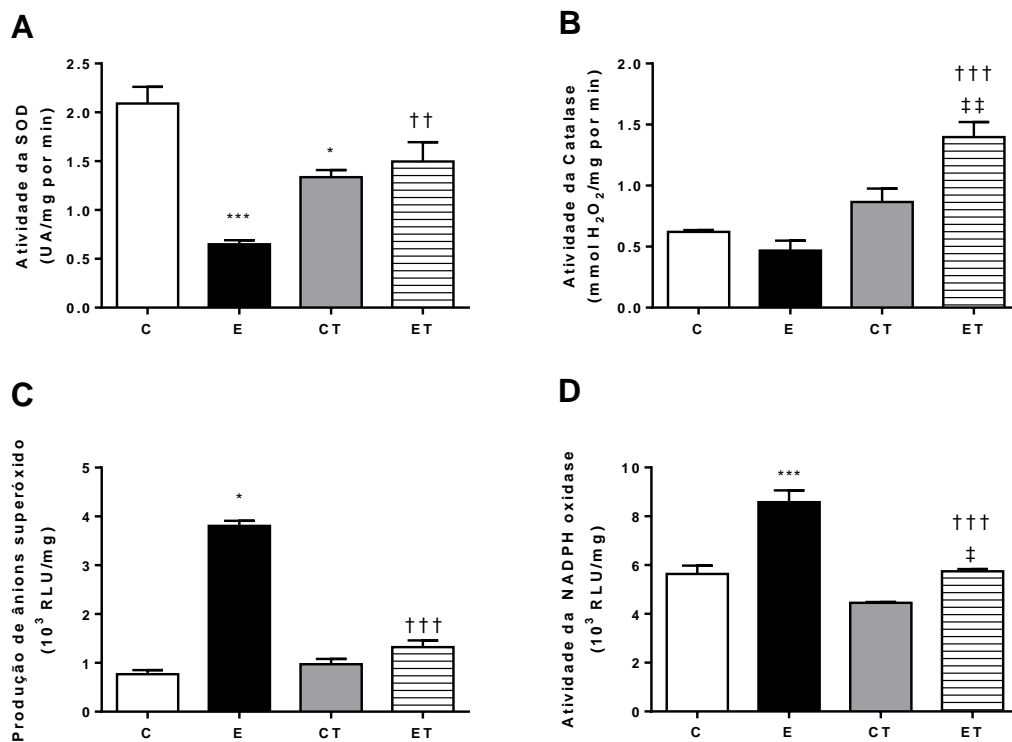


Figura 4. Efeitos do estanozolol sobre a atividade da superóxido dismutase (A), a atividade da catalase (B), a produção basal de ânions superóxido (C) e a atividade da NADPH oxidase (D) no fígado de ratos sedentários e treinados. C = ratos controle sedentários (n=5); E = ratos sedentários tratados com estanozolol (20 mg/kg de peso corpóreo, i.m.; 1 vez por semana por 8 semanas consecutivas) (n=5); CT = ratos controle treinados (n=5); ET = ratos treinados tratados com estanozolol (n=5). SOD = superóxido dismutase. Dados expressos como média \pm EPM. As médias dos grupos foram comparadas utilizando o teste ANOVA de duas-vias seguido de teste de Tukey: *P<0,05, ***P<0,001 vs. C; ††P<0,01, †††P<0,001 vs. E; e †P<0,05, ††P<0,01 vs. CT.

O tratamento com estanozolol também apresentou indícios de afetar o balanço redox do ventrículo esquerdo (Figura 5). Apesar de não ter sido observada alteração na peroxidação lipídica do ventrículo esquerdo entre os grupos Controle e Estanozolol, os níveis de GSH foram pronunciadamente menores (~80%, $P < 0,001$) no grupo tratado, assim como a razão TBARS:GSH foi quase 5 vezes superior ($P < 0,001$). As alterações nos níveis de GSH e na razão TBARS:GSH não foram observadas entre os grupos treinados tratados com estanozolol e não-tratados.

No ventrículo esquerdo, também foram observadas alterações na atividade das vias enzimáticas anti e pró-oxidantes (Figura 6). Os ratos tratados com estanozolol apresentaram atividade da SOD 70% menor ($P < 0,001$) do que o grupo controle, enquanto que a produção basal de ânions superóxido e a atividade da NADPH oxidase foram cerca de três vezes maiores ($P < 0,01$). O grupo treinado e tratado com estanozolol também apresentou menor (40%, $P < 0,01$) atividade da SOD e maior (100%, $P < 0,001$) atividade da NADPH oxidase em relação ao grupo controle treinado. Por outro lado, os ratos treinados que receberam tratamento com estanozolol apresentaram a atividade da catalase 92% maior ($P < 0,001$) do que o grupo treinado sem tratamento.

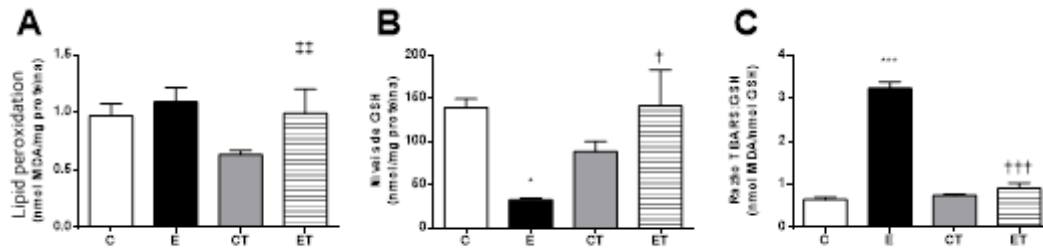


Figura 5. Efeitos do estanozolol sobre estresse oxidativo do ventrículo esquerdo em ratos adultos sedentários e treinados: (A) peroxidação lipídica; (B) níveis de glutationa reduzida (GSH); e (C) relação da peroxidação lipídica:GSH. C = ratos controle sedentários (n=5); E = ratos sedentários tratados com estanozolol (20 mg/kg de peso corpóreo, i.m.; 1 vez por semana por 8 semanas consecutivas) (n=5); CT = ratos controle treinados (n=5); ET = ratos treinados tratados com estanozolol (n=5). MDA = malondialdeído. TBARS = *thiobarbituric acid reactive substances* (espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico). Dados expressos como média \pm EPM. As médias dos grupos foram comparadas utilizando o teste ANOVA de duas-vias seguido de teste de Tukey: *P<0,05, ***P<0,001 vs. C; †P<0,01, †††P<0,001 vs. E; e ††P<0,01 vs. CT.

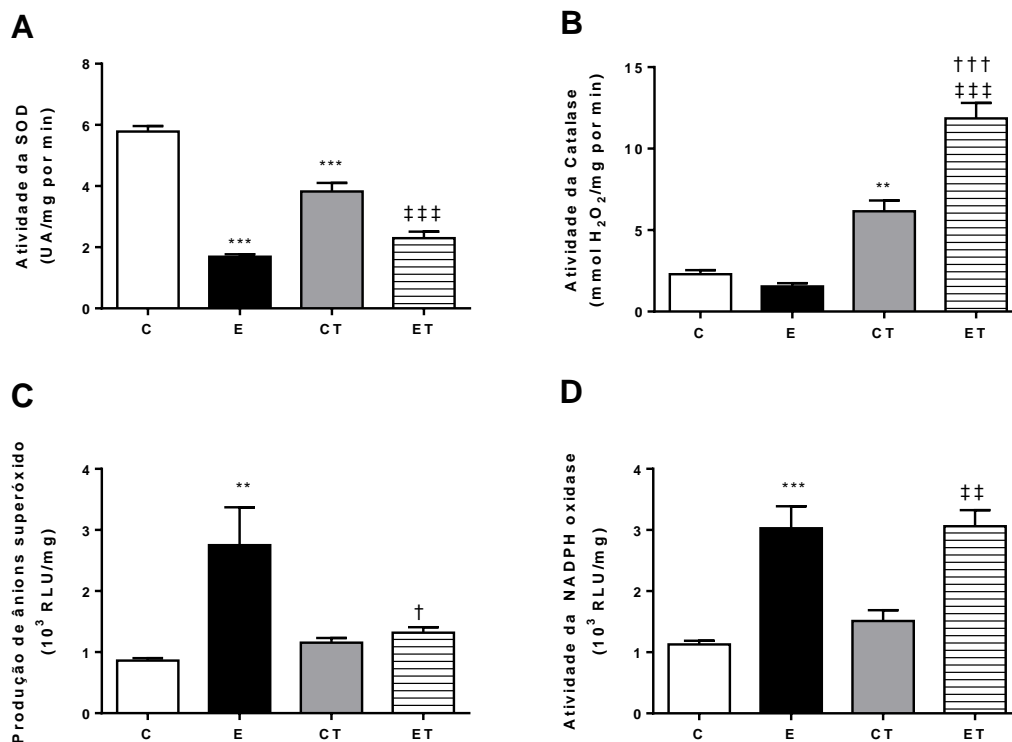


Figura 6. Efeitos do estanozolol sobre a atividade da superóxido dismutase (A), a atividade da catalase (B), a produção basal de ânions superóxido (C) e a atividade da NADPH oxidase (D) no ventrículo esquerdo de ratos sedentários e treinados. C = ratos controle sedentários (n=5); E = ratos sedentários tratados com estanozolol (20 mg/kg de peso corpóreo, i.m.; 1 vez por semana por 8 semanas consecutivas) (n=5); CT = ratos controle treinados (n=5); ET = ratos treinados tratados com estanozolol (n=5). SOD = superóxido dismutase. Dados expressos como média \pm EPM. As médias dos grupos foram comparadas utilizando o teste ANOVA de duas-vias seguido de teste de Tukey: **P<0,01, ***P<0,001 vs. C; †P<0,05, ††P<0,001 vs. E; e ‡P<0,01, ‡‡P<0,001 vs. CT.

DISCUSSÃO

O consumo abusivo de EAA causa efeitos nocivos multisistêmicos, incluindo órgãos como coração, fígado e rim (Pope et al., 2014; Bond et al., 2016; Nieschlag & Vorona, 2015; D'Andrea et al., 2016). Contudo, o treinamento físico é uma variável capaz de influenciar o impacto deletério dessas substâncias (Camiletti-Moirón et al., 2015; Kara et al., 2018). No presente trabalho, foi demonstrado que o estanozolol apresenta um impacto no balanço redox tecido-específico, sendo caracterizada uma maior resistência do rim ao estresse oxidativo em comparação com o fígado e o ventrículo esquerdo. Além disso, foi observado que o treinamento físico apresenta papel modulatório sobre os mecanismos oxidativos do estanozolol através da regulação de vias pró-oxidativas e antioxidativas.

Doses suprafisiológicas de EAA por longos períodos estão associadas a anormalidades hepáticas e renais (Modlinski e Fields, 2006; Herlitz et al., 2010). O estanozolol, especificamente, está associado ao aumento de produção de espécies reativas do oxigênio e da peroxidação lipídica no rim e fígado (Dornelles et al., 2017). Contudo, esse efeito está associado a um protocolo de administração de baixas doses do esteroide (1,25 - 2,5 mg/kg de peso corpóreo, i.m.) por períodos superiores a 8 semanas. Quando administrado por períodos mais curtos (4 semanas), mesmo em doses maiores (5,0 mg/kg de peso corpóreo) o estanozolol não induz alteração da peroxidação lipídica renal. Um padrão de resposta semelhante também já foi observado em testículos de ratos

expostos ao estanozolol (Bueno et al., 2017). Em nosso trabalho, foi demonstrado que o estanozolol não induz estresse oxidativo no córtex renal quando administrado em doses suprafisiológicas (20 mg/kg de peso corpóreo, i.m.), mesmo que em um protocolo com duração de 8 semanas. Outros estudos demonstraram que os esteroides não alteram a peroxidação lipídica em outros órgãos, como o cérebro (Liu et al., 2000), o hipocampo (Radak, 1995; Acikgoz et al., 2006), o cerebelo (Radak, 1995), córtex pré-frontal e músculo estriado esquelético (Acikgoz et al., 2006).

Apesar de não ter sido observado aumento da peroxidação lipídica ou da produção de aniões superóxido no rim, não é possível afastar a possibilidade de que um tratamento mais longo com estanozolol seja capaz de afetar o balanço redox do órgão. Isso pode ser reforçado pela observação que a atividade da enzima antioxidante SOD no córtex renal foi estatisticamente menor nos animais tratados com estanozolol. A SOD é uma enzima de primeira linha de defesa contra as espécies reativas do oxigênio, e a diminuição de sua atividade está correlacionada com o insulto oxidativo renal (Kawakami et al., 2012).

Enquanto que o rim se mostrou resistente à indução de estresse oxidativo, o tecido hepático e cardíaco se mostraram sensíveis ao protocolo de administração do estanozolol utilizado nesse estudo (Figura 3 e 5). No fígado, o estresse oxidativo foi identificado a partir da elevação da peroxidação lipídica bem como pela elevação da razão TBARS:GSH. O impacto do esteroide no estresse oxidativo hepático já foi demonstrado em outro estudo, mesmo com o

uso de doses menores de administração (Dornelles et al., 2017). De forma semelhante ao que foi observado no presente trabalho, Dornelles et al. (2017) demonstram que o estresse oxidativo hepático induzido pelo estanozolol é caracterizado principalmente por um aumento da peroxidação lipídica com alterações sútis na defesa antioxidante endógena não-enzimática.

Em termos de mecanismo, o impacto do estanozolol no balanço redox hepático pode ter sido parcialmente dependente da inibição da SOD e da ativação da produção de espécies reativas do oxigênio mediada pela NADPH oxidase. A inibição da atividade da SOD contrasta com alguns resultados da literatura que demonstram que o estanozolol apresenta efeitos estimulatórios sobre a atividade da SOD (Pey et al., 2003). Além disso, diversos estudos correlacionam a via dos receptores de andrógeno com respostas estimulatórias da atividade da SOD (Zhang et al., 2011; Zhang et al., 2013). Por outro lado, a estimulação de receptores de andrógeno está relacionada com a ativação da NADPH oxidase (Chignalia et al., 2015). Considerando que a atividade da SOD é sensível a níveis elevados de ROS, é possível que a inibição da atividade da SOD observada no presente estudo seja secundária ao aumento da atividade da NADPH oxidase e ao aumento da produção de ânions superóxido (Rizzetti et al., 2013; Palipoch et al., 2014; Mittwede et al., 2015). Por fim, Pey, et al. (2003) e Shahidi (2001) relataram que o uso prolongado de estanozolol provoca disfunções na cadeia transportadora de elétrons e no sistema monooxigenase,

essas alterações acompanham o incremento na geração espécies reativas do oxigênio.

No coração, o impacto do estanozolol no balanço redox é observado, sobretudo pela redução dos níveis de GSH, que leva a uma alteração na razão TBARS:GSH favorável ao surgimento de lesões oxidativas (Figura 5C). De forma semelhante ao encontrado no fígado, a administração do estanozolol induziu inibição da SOD, paralelamente a elevação da produção de ânions superóxido e ativação da NADPH oxidase. Adicionalmente, a formação de espécies reativas do oxigênio mediada pela NADPH oxidase também pode ser um mecanismo subjacente às ações deletérias do estanozolol e outros EAAs sobre a estrutura e função cardíaca (Chaves et al., 2006; Kara et al., 2018; Nunes et al., 2020; Arjmand et al., 2021).

O estanozolol apresentou efeitos distintos em ratos submetidos ao treinamento físico em comparação aos efeitos observados em ratos sedentários. No rim, foi observado que o esteroide aumentou a peroxidação lipídica (Figura 1A e C) apesar de o treinamento físico ter aumentado a atividade da SOD e da catalase (Figura 2A e B). A estimulação da atividade dessas enzimas deve ser uma resposta compensatória a elevação da produção de ânions superóxido (Figura 2C), ineficiente no grupo tratado com estanozolol.

Por outro lado, no coração e fígado, o treinamento físico preveniu o estresse oxidativo induzido pelo estanozolol, tendo este efeito sido identificado por diminuição da peroxidação lipídica (Figura 3A) ou elevação dos níveis de

GSH (Figura 5B). A proteção do exercício físico sobre os efeitos oxidativos induzidos pelo estanozolol já foi identificado previamente no cérebro, juntamente com recuperação da expressão de marcadores funcionais (Camiletti-Moirón et al., 2015).

A homeostase do sistema redox é dependente do nível de atividade física. Exercícios agudos ou intensos elevam o estresse oxidativo pela incapacidade do organismo em inibir a enxurrada de EROs produzidas (Nikolic et al., 2016). Provavelmente a atividade física exaustiva promove o consumo de todo oxigênio, levando as células a utilizar a fermentação láctea como via energética, essa hipóxia pode reduzir a atividade dos antioxidantes (SOD, catalase e citocromo c) (Debevec; Mille; Pialoux, 2017).

Por outro lado, Bejma; Ramires e Ji, (2000), relataram que a atividade física de leve a moderada, podem trazer benefícios quando se trata da estimulação da expressão de enzimas antioxidantes, associado a leve produção de EROs, maximizando as vias de sinalização sensíveis ao estado redox. Adicionalmente, a literatura relata que exercícios regulares desempenham papel fundamental, promovendo respostas compensatórias ao estresse oxidativo, resultando em supercompensação contra o crescimento de EROs, através do incremento da capacidade antioxidante (Debevec; Mille; Pialoux, 2017). Exercícios regulares estimulam as respostas adaptativas e fortalecem o sistema de defesa de antioxidantes endógenos para combater o excesso de EROs, mantendo assim o equilíbrio redox muscular (Nikolic et al., 2016).

Os efeitos antioxidantes da combinação exercício físico e estanozolol sobre o tecido cardíaco e hepático envolveu modulação da atividade da SOD e/ou da catalase (Figuras 4 e 6). Em 2020, Yan e Spaulding mostraram que exercícios de resistência no músculo esquelético regulam a expressão de SOD extracelular, podendo ser redistribuída para outros tecidos vitais, protegendo os outros tecidos indiretamente, contra danos oxidativos em vários processos patológicos. A literatura aponta a importância do exercício físico como intervenção terapêutica eficaz para prevenção e tratamento de inúmeras doenças relacionadas ao estresse oxidativo (Silveira et al., 2021).

Sabe-se que o efeito do exercício sobre o miocárdio e a vascularização de órgãos como rins e fígado depende da frequência, intensidade e duração do exercício (Duncker e Bache, 2008). As diferentes repostas dos órgãos estudados neste trabalho podem estar associadas ao fato de que eles possuem um número de mitocôndrias diferentes, então, quanto mais baixo esse número, mais suscetível ao descontrole redox e lesões é o tecido. De qualquer forma, é importante enfatizar que, apesar de inúmeros estudos demonstrarem que o exercício físico apresenta efeitos protetores, ainda é necessário esclarecer a influência de variáveis, como tipo, volume e intensidade, na sua eficácia terapêutica.

Conclusão

Nossos resultados mostraram que o consumo de estanozolol suprafisiológico (20,0 mg/kg/semana) elevou a produção de EROs no coração, fígado e rins de ratos Wistar machos, comprovado através da elevação da peroxidação lipídica, NADPH oxidase e ânions superóxidos.

No geral a atividade física (natação) elevou os níveis dos mecanismos antioxidantes desses órgãos, porém, não foi capaz de equilibrar o sistema redox dos órgãos estudados.

Os resultados relacionados ao metabolismo oxidativo, também permitiram concluir que o efeito oxidativo do EAA, no miocárdio, fígado e rins de ratos é semelhante, tanto em ratos treinados ou sedentários.

Finalmente, pode-se verificar que o EAA, estanozolol, sozinho ou em combinação com o exercício físico intenso, é pró-oxidativo no miocárdio de ratos machos.

REFERÊNCIAS

ACIKGOZ, O.; AKSU, I.; TOPCU, A.; KAYATEKIN, B.M. Acute exhaustive exercise does not alter lipid peroxidation levels and antioxidant enzyme activities in rat hippocampus, prefrontal cortex and striatum. **Neurosci. Lett.** 406: 148–15. 2006.

AGUIAR, A.S.; BOEMER, G.; RIAL, D.; CORDOVA, F.M.; MANCINI, G.; WALZ, R.; DE BEM, A.F.; LATINI, A.; LEAL, R.B.; PINHO, R.A.; PREDIGER, R.D.S. High-intensity physical exercise disrupts implicit memory in mice: Involvement of the striatal glutathione antioxidant system and intracellular signaling. **Neuroscience**; 171: 1216–1227. 2010.

ALAM, T.I.; KANKI, T.; MUTA, T.; UKAJI, K.; ABE, Y.; NAKAYAMA H. ET AL. O DNA mitocondrial humano é empacotado com TFAM. *Res. de Ácidos Nucleicos*. 31 (6):1640-5. 2003.

ARJMAND, A.; ABEDI, B.; HOSSEINI, S.A. Anti-Apoptotic Effects of Resistance Training and Tribulus Terrestris Consumption in the Heart Tissue of Rats Exposed to Stanozolol. ***Eurasian J Med***. 53(2):79-84. 2021.

ASHFAQ, S.; ABRAMSON, J.L.; JONES, D.P.; RHODES, S.D.; WEINTRAUB, W.S.; HOOPER, W.C.; VACCARINO, V.; HARRISON, D.G.; QUYYUMI, A.A. The relationship between plasma levels of oxidized and reduced thiols and early atherosclerosis in healthy adults. ***Journal of the American College of Cardiology***, 47: 1005-1011, 2006.

BARBOSA, K.B.F.; COSTA, N.M.B.; ALFENAS, R. de C.G.; DE PAULA, S.O.; MINIM, V.P.R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Revista de Nutrição, Campinas*, n. 23, v. 4, p. 629-643, 2010.

BEJMA J, RAMIRES P, JI LL. Free radical generation and oxidative stress with ageing and exercise: differential effects in the myocardium and liver. ***Acta Physiol Scand***. 169(4):343- 51, 2000.

BEUTEL, A.; BERGAMASCHI, C.T.; CAMPOS, R.R. Effects of chronic anabolic steroid treatment on tonic and reflex cardiovascular control in males rats. ***J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.***, v.93, p.43-48, 2005.

BISSOLI NS, MEDEIROS AR, SANTOS MC, et al. Long-term treatment with supraphysiological doses of nandrolone decanoate reduces the sensitivity of Bezold-Jarisch reflex control of heart rate and blood pressure. ***Pharmacol Res***. 59(6):379-84, 2009.

BOND, P.; LLEWELLYN, W.; VAN MOL, P. Anabolic androgenic steroid-induced hepatotoxicity. ***Med Hypotheses***. 93:150–153; 2016.

CARVALHO, R.F.; CASTAN, E.P.; COELHO, C.A. et al. Heart failure increases atrogin-1 and MuRF1 gene expression in skeletal muscle with fiber type-specific atrophy. ***J Mol Histol***; 41: 81– 87. 2010.

CHAVES, E. A. et al. Nandrolone decanoate impairs exercise-induced cardioprotection: role of antioxidant enzymes. **J Steroid Biochem Mol Biol**, v. 99, n. 4-5, p. 223-30, 2006.

CAMILETTI-MOIRÓN, D.; APARICIO, V.A.; NEBOT, E.; MEDINA, G.; MARTÍNEZ, R.; KAPRAVELOU, G.; ANDRADE, A.; PORRES, J.M.; LÓPEZ-JURADO, M.; ARANDA, P. High-intensity Exercise Modifies the Effects of Stanozolol on Brain Oxidative Stress in Rats. **Int J Sports Med**. 36(12):984-91. 2015.

CHIGNALIA AZ, OLIVEIRA MA, DEBBAS V, DULL RO, LAURINDO FR, TOUYZ RM, CARVALHO MH, FORTES ZB, TOSTES RC. Testosterone induces leucocyte migration by NADPH oxidase-driven ROS- and COX2-dependent mechanisms. *Clin Sci (Lond)*. 129(1): 39-48. 2015.

CHRISTOU, M.A.; CHRISTOU, P.A.; MARKOZANNES, G.; TSATSOULIS, A.; MASTORAKOS, G.; TIGAS, S. Effects of Anabolic Androgenic Steroids on the Reproductive System of Athletes and Recreational Users: **A Systematic Review and Meta-Analysis**. *Sports Med*. 2017 Sep;47(9):1869-1883.

CLARK, A.S.; BLASBERG, M.E.; BENNETT-BRANDLING, E.M. Stanozolol, Oxymetholone, and Testosterone Cypionate effects on the rat estrous cycle. **Physiol. Behav.**, v.63, p.287-295, 1998.

CUNHA, T.S.; CUNHA, N.S.; MOURA, M.J.C.S.; MARCONDES, F.K. Esteróides anabólicos androgênicos e sua relação com a prática desportiva. **Braz J Pharm Sci**. 40:165-179. 2004.

DALLA CORTE, C.L.; DE CARVALHO, N.R.; AMARAL, G.P.; PUNTEL, G.O.; SILVA, L.F.; RETAMOSO, L.T.; ROYES, L.F.; BRESCIANI, G.B.; DA CRUZ, I.B.; ROCHA, J.B.; BARRIO LERA, J.P.; SOARES, F.A. Antioxidant effect of organic purple grape juice on exhaustive exercise. **Appl Physiol Nutr Metab**; 38: 558–565. 2013.

DEBEVEC, T.; MILLET, G.P.; PIALOUX, V. Hypoxia-Induced Oxidative Stress Modulation with Physical Activity. **Front Physiol**. 8:84, 2017.

DORNELLES GL, BUENO A, DE OLIVEIRA JS, DA SILVA AS, FRANÇA RT, DA SILVA CB, MACHADO MS, PETRY LD, ABDALLA FH, LHAMAS CL, DE ANDRADE CM. Biochemical and oxidative stress markers in the liver and kidneys of rats submitted to different protocols of anabolic steroids. **Mol Cell Biochem.** 425(1-2): 181-189. 2017.

DUNCKER, D.J.; BACHE, R.J. Regulation of Coronary Blood Flow During Exercise. *Physiol Rev.* 88(3):1009-86, 2008. doi: 10.1152/physrev.00045.2006.

FRAGKAKI, A.G.; ANGELIS, Y.S.; KOUPPARIS, M.; TSANTILI-KAKOULIDOU, A.; KOKOTOS, G.; GEORGAKOPOULOS, C. Structural characteristics of anabolic androgenic steroids contributing to binding to the androgen receptor and to their anabolic and androgenic activities. **Applied modifications in the steroidal structure.** *Steroids.* 74:172–197. 2009.

HERLITZ, L.C.; MARKOWITZ, G.S.; FARRIS, A.B.; SCHWIMMER, J.A.; STOKES, M.B.; KUNIS, C.; COLVIN, R.B.; D'AGATI, V.D. **Development of focal segmental glomerulosclerosis after anabolic steroid abuse.** *J. Am. Soc. Nephrol.*, 21 (1), pp. 163-172. 2010.

HOEKSTRA, K. A.; GODIN, D. V.; KURTU, J.; CHENG, K. M. Effects of oxidantinduced injury on heme oxygenase and glutathione in cultured aortic endothelial cells from atherosclerosis-susceptible and -resistant Japanese quail. **Molecular and Cellular Biochemistry**, 254: 61-71, 2003.

ICHISEKI T, KANEUJI A, KATSUDA S. UEDA Y, SUGIMORI T, MATSUMOTO T. A lesão por oxidação do DNA no osso logo após a administração de esteróides está envolvida na patogênese da osteonecrose induzida por esteróides. **Reumatologia.** 44 (4):456–60. 2005.

KANAYAMA, G.; HUDSON, J.I.; POPE, H.G. JR. Long-term psychiatric and medical consequences of anabolic-androgenic steroid abuse: A looming public health concern? – Review. **Drug alco. depend.**,v.98, p.1-12, 2008.

KARA M, OZCAGLI E, KOTIL T, ALPERTUNGA B. Effects of stanozolol on apoptosis mechanisms and oxidative stress in rat cardiac tissue. **Steroids.** 134: 96-100. 2018

KAUFMAN, M.J.; KANAYAMA, G.; HUDSON, J.I.; POPE, H.G. JR. Supraphysiologic-dose anabolic-androgenic steroid use: A risk factor for dementia? **Neurosci Biobehav Rev.** May; 100:180–207. 2019.

KAWAKAMI T, PURI N, SODHI K, BELLNER L, TAKAHASHI T, MORITA K, REZZANI R, OURY TD, ABRAHAM NG. Reciprocal Effects of Oxidative Stress on Heme Oxygenase Expression and Activity Contributes to Reno-Vascular Abnormalities in EC-SOD Knockout Mice. **Int J Hypertens.** 2012: 740203. 2012.

JOSEPH, J.F.; PARR, M.K. Synthetic androgens as designer supplements. **Curr Neuropharmacol.** 13:89–100. 2015.

LIU, J.; WU, Y. Q. Anabolic-androgenic steroids and cardiovascular risk. Chinese medical journal, v. 132, n. 18, p. 2229-2236, 2019.

MACHADO, N.H.S.; SOCORRO, M.; MARINHO, N.; PINHEIRO, N.; SILVA, P.R.R.; MELO, R.F.; LACERDA, R.L.; GUIMARÃES, R.V.; LEME, V.L. *Esteróides anabolizantes: efeitos anabólicos e andrógenos.* Faculdade de Farmácia do Planalto Central, Brasília, 2002.

MARQUES, M.A.; PEREIRA H.M.G.; NETO F.R.A. Controle de dopagem de anabolizantes: o perfil esteriodal e suas regulações. **Bras. Med. Esporte.**, v.9, p. 15-24, 2003.

MEDRAS, M.; BRONA, A.; JOZKOW, P. The central effects of androgenic-anabolic steroid use. **J Addict Med.** 2018;

MITTWEDE PN, XIANG L, LU S, CLEMMER JS, HESTER RL. Oxidative stress contributes to orthopedic trauma-induced acute kidney injury in obese rats. **Am J Physiol Renal Physiol.** 308(2):F157-63. 2015.

MODLINSKI, R.; FIELDS, K.B. **The effect of anabolic steroids on the gastrointestinal system, kidneys, and adrenal glands.** **Curr. Sports Med. Rep.**, 5 (2), pp. 104-109. 2006.

NIESCHLAG, E.; VORONA, E. Mechanisms in endocrinology: medical consequences of doping with anabolic androgenic steroids: effects on reproductive functions. **Eur J Endocrinol.** 2015;

NIKOLIC, T.R.; ZIVKOVIC, V.I.; SREJOVIC, I.M.; RADOVANOVIC, D.S.; JEREMIC, N.S.; JEVDJEVIC, M.D.; et al. Acute effects of nandrolone decanoate on cardiodynamic parameters in isolated rat heart. *Can J Physiol Pharmacol.* 94(10):1048-57, 2016.

NUNES, A.C.C.A.; BEZERRA, K.S.; BATISTA, S.O.; VIANNA, J.F.; BARBOSA, E.D.; BRAGA, A.O.; CLEMENTE JÚNIOR, W.S.; FULCO, U.L. Efeitos indiscriminado do uso de esteroides anabólicos androgênico no sistema cardiovascular. **Braz J Develop.** 6(12): 101229-101240. 2020.

PALIPOCH S, PUNSAWAD C, KOOMHIN P, SUWANNALERT P. Hepatoprotective effect of curcumin and alpha-tocopherol against cisplatin-induced oxidative stress. *BMC Complement Altern Med.* 14: 111. 2014.

PEY, A. Effects of prolonged stanozolol treatment on antioxidant enzymes activities, oxidative stress markers, and heat shock protein HSP72 levels in rat liver. **J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.**, v. 87, p.269-277, 2003.

PILLON, Barcelos R, Freire Royes LF, Gonzalez-Gallego J, Bresciani G (2017) Oxidative stress and inflammation: liver responses and adaptations to acute and regular exercise. *Free Radic Res* 51(2):222–236.

PINHEIRO, J.L.; MAIA, B.P.; LIMA, A.B.; DOMINGUES, R.J.S.; OLIVEIRA, F.R.T.; FREITAS, J.J.S.; KIETZER, K.S. O e s t e r o i d e a n a b ó l i c o androgênico decanoato de nandrolona é pró-oxidativo no miocárdio de ratos exercitados ou sedentários. **Educação Física e Ciências do Esporte: Uma Abordagem Interdisciplinar - Volume 1.** 2021.

POPE, H.J.; WOOD, R.I.; ROGOL, A.; NYBERG, F.; BOWERS, L.; BHASIN, S. Adverse health consequences of performance-enhancing drugs: an Endocrine Society scientific statement. **Endocr Rev.** 2014.

RADAK, Z.; ASANO, K.; KIZAKI, T.; OH-ISHI, S.; INOUE, M.; OHNO, H. Acute bout of exercise does not alter the antioxidant enzyme status and lipid peroxidation in rat hippocampus and cerebellum. **Pathophysiology**; 2: 243–245. 1995.

RIZZETTI DA, TORRES JG, ESCOBAR AG, PEÇANHA FM, SANTOS FW, PUNTEL RL, ALONSO MJ, BRIONES AM, SALAICES M, VASSALLO DV, WIGGERS GA. Apocynin prevents vascular effects caused by chronic exposure to low concentrations of mercury. *PLoS One*. 8(2): e55806. 2013.

SEDLAK, J.; LINDSAY, R.H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. ***Anal Biochem.***; 25(1):192-205. DOI: 10.1016/0003-2697(68)90092-4. 1968.

SILVEIRA, M.P.; SILVA FAGUNDES, K.K.; BIZUTI, M.R.; STARCK, E.; ROSSI, R.C.; RESENDE, E.S.D.T. Physical exercise as a tool to help the immune system against COVID-19: an integrative review of the current literature. *Clin Exp Med*. 2020.

SKARBERG, K. NYBERG, F. ENGSTROM, I. The development of multiple drug use among anabolic-androgenic steroid users: six subjective case reports. *Subst Abuse Treat Prev Policy*; 3:24.doi: 10.1186/1747-597X-3-24. 2008.

YAN, Z.; SPAULDING, H.R. Extracellular superoxide dismutase, a molecular transducer of health benefits of exercise. ***Redox Biol.***;32:101508. 2020.

ZHANG L, WU S, RUAN Y, HONG L, XING X, LAI W. Testosterone suppresses oxidative stress via androgen receptor-independent pathway in murine cardiomyocytes. *Mol Med Rep*. 4(6): 1183-8. 2011.

CAPÍTULO V

AÇÃO DO ANABOLIZANTE ANDROGENICO (ESTANOZOLOL) NA HISTOFISIOLOGIA DOS RATOS SEDENTÁRIOS E TREINADOS

INTRODUÇÃO

Os Esteroides Androgênicos Anabolizantes (EAA) são substâncias sintéticas formadas a partir da testosterona e seus derivados, possuindo propriedades anabólicas que causam crescimento muscular e perda de gordura, juntamente com propriedades androgênicas que causam o desenvolvimento das características sexuais secundárias (KANAYAMA; POPE JR. 2017). Esses efeitos ocorrem pois os EAA são capazes de se ligar a receptores andrógenos (AR) podendo formar um complexo receptor, que após se ligar ao Ácido Desoxirribonucleico (DNA) desencadeia a transcrição e a expressão de genes, resultando em aumento da síntese proteica e inibição da degradação das mesmas (Freitas et al, 2021).

Desde a década de 1940, essas drogas têm sido usadas na reabilitação de queimaduras, traumas e cirurgias, mas também passaram a ser utilizados no tratamento de doenças associadas a quadros de hipogonadismo e deficiência do metabolismo protéico. EAA desempenha um papel importante no tratamento de um número crescente de doenças sendo utilizadas também para o tratamento do câncer de mama (LIU; WU, 2019). Embora seja utilizado na medicina, os EAA também são utilizados para fins estéticos, bem como para melhorar o desempenho de atletas o que vem ocorrendo há anos, sendo o primeiro caso divulgado em 1954, em um campeonato de levantamento de peso. O Brasil passou a considerar o uso dos EAA, por atletas, como doping, na década de 80 (MACIEL et al., 2020).

O uso indiscriminado de EAA pode desencadear diversos efeitos para o usuário, pois muitos sistemas são afetados pelos seus efeitos adversos, como os reprodutivo, hepático, músculo esquelético, endócrino, renal, cardiovascular e dermatológico, tornando-se um grave problema de saúde pública. Efeitos neuropsiquiátricos e comportamentais como resultado do abuso de EAA também são conhecidos e descritos na literatura. Dentre esses sistemas, o cardiovascular e o hepático merecem destaque pelo risco de morte associado (CISNEIRO et al, 2022).

Um dos EAA mais comumente difundido é o estanozolol, isso se deve a sua fácil aplicabilidade, tendo em vista que diferente de outros EAA ele pode ser administrado também por via oral (FERREIRA et al. 2014). Relatos de Martínez et al (2006) indicam colestase induzida pelo uso de estanozolol, derivada do uso do esteróide pelo paciente por dois meses em academia. A Hepatotoxicidade provocada por estanozolol depende da dose, foi demonstrado que ela pode induzir estresse oxidativo em hepatócitos e, em altas doses, exercer um estímulo proliferativo (MARTÍNEZ e al. 2006). Segundo estudos de Beutel et al. (2005) o estanozolol causou um aumento significativo da pressão arterial associado a alterações no controle barorreflexo da frequência cardíaca em ratos.

Tendo em vista os informes mencionados acima, o presente trabalho tem por objetivo investigar os efeitos bioquímicos e morfológicos sobre o coração e rim de ratos sedentários e ratos atletas usuários de estanozolol.

OBJETIVOS

Geral

-Investigar os efeitos bioquímicos e morfológicos sobre o rim de ratos sedentários e ratos atletas usuários de estanozolol.

Específicos

- Analisar o efeito do estanozolol sobre os parâmetros bioquímicos dos ratos a partir da mensuração de ureia, creatinina, ionograma.

- Verificar o perfil glicêmico e lipídico (colesterol total e frações e triglicerídios);
- Traçar a função metabólica sistêmica a partir da mensuração de desidrogenase láctica (DHL), Gama glutamil transferase (GGT).
 - Analisar a padrão histológico do coração e rim em ratos adultos jovens sedentários e ratos atletas usuários de estanozolol.

METODOLOGIA

O sangue e os órgãos a serem utilizados nesta pesquisa foram coletados em etapas prévias deste projeto e são oriundos de ratos *Wistar* machos, com 90 dias de idade que foram mantidos em ambiente sob controle de temperatura e ciclo claro-escuro de 12 horas, com livre acesso a água e alimentação. Todos os protocolos experimentais foram previamente submetidos a apreciação do Comitê de Ética de Uso Animal (CEUA) da UFRPE, tendo sido aprovado com a Licença 98/2019.

Os espécimes coletados pertencem a animais de quatro grupos distintos e, cada grupo formado por 10 animais:

- i) **Grupo CV:** ratos controles tratados com veículo;
- ii) **Grupo CS:** ratos controles tratados com estanozolol;
- iii) **Grupo EV:** ratos treinados com natação tratados com veículo;
- iv) **Grupo ES:** ratos treinados com natação tratados com estanozolol.

O estanozolol foi administrado durante 8 semanas na dosagem de 20 mg/kg/semana por via intramuscular (MATRISCIANO, *et al.*, 2010; CHUFA *et al.*, 2011).

Protocolo de treinamento do animal atleta

O protocolo de treinamento (adaptado de Anaruma *et al.*, 2009) consistiu na prática de natação, cinco vezes por semana, durante nove semanas. Na

primeira semana os animais passaram por um período de adaptação com 20 minutos diários de natação sem sobrecarga. Após esse período, passaram a utilizar uma sobrecarga equivalente a 5% de seus respectivos pesos corporais que foi implementada através de uma fita elástica enlaçada ao tronco. O tempo de treinamento foi aumentado em cinco minutos por semana, de forma que na última semana o tempo de treinamento foi de 60 minutos.

Coleta de material biológico para estudo histológico

Ao final do treinamento, os animais foram anestesiados por via intramuscular com hidrocloridrato de cetamina (80mg/Kg) e xilazina (6mg/Kg). O coração e os rins foram retirados e seccionados longitudinalmente e posteriormente imersos em solução fixadora Bouin por um período de 24 horas. Atualmente, os órgãos estão em solução de álcool a 70° para posterior processamento e estudos histológicos e histoquímicos.

Efeitos bioquímicos, morfológicos e histoquímicos

Estudo da estrutura morfológica do Fígado e dos rins

As amostras preservadas em álcool 70° foram submetidas ao procedimento de rotina para inclusão em parafina e serão cortadas em micrômetro na espessura de 5µm. Posteriormente, os cortes foram submetidos à coloração hematoxilina-eosina (HE) para identificação de possíveis alterações morfofisiológicas do coração e rins. Também foi realizada a coloração com tricrômico de Gomory para histoquímica. As imagens serão capturadas por meio do microscópio Leica ICC 50W.

Imunohistoquímica para o VEGF no coração e nos rins

O VEGF foi avaliado por anticorpos específicos marcados com DAB seguindo protocolo já estabelecido e o resultado foi avaliado pelo aplicativo GIMP.

Parâmetros bioquímicos

A partir do soro sanguíneo serão mensurados ureia, creatinina, ionograma; o perfil glicêmico e lipídico (colesterol total e frações e triglicerídios); além da função metabólica sistêmica com a mensuração da desidrogenase láctica (DHL) e Gama glutamil transferase (GGT).

Análise estatística

Os resultados serão expressos em médias aritméticas e respectivos desvios padrões. Será empregado o *Statistical Program for Social, Sciences* (SPSS), versão 11.0.1 para Windows, aplicados testes não paramétricos de Kruscal-Wallis e as médias comparadas pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney ($P \leq 0,05$).

Avaliação do estresse oxidativo

A peroxidação lipídica e os níveis glutathiona reduzida (GSH) foram avaliados no fígado e nos rins de ratos machos adultos. Foram utilizados como um marcador de peroxidação lipídica os níveis de malondialdeído (MDA) através da mensuração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), de acordo com Ohkawa, Ohishi e Yagi (1979). Os tecidos foram homogeneizados em 150 mM KCl, na proporção de 1g tecido para 5 ml de solução. Para a curva padrão, foi utilizado 1,1,3,3-tetraetoxi-propano. Os níveis de GSH foram avaliados através da mensuração de grupos sulfidrilas não proteicos (SEDLAK & LINDSAY, 1968). A L-cisteína foi utilizada para a curva padrão. Ambos resultados, MDA e GSH, foram corrigidos pela concentração de proteína. Os ensaios foram realizados em triplicata.

Avaliação da pressão sanguínea sistólica e alguns parâmetros funcionais renais

A pressão arterial sistólica (PAS) foi medida por pletismografia de cauda (IITC Life Science B60-7 / 16", Ciência Instrumentos Vida, Woodland Wills, CA)

em ratos conscientes com idades de 90, 105, 120, 135 e 150 dias. Os animais foram aclimatados às condições experimentais para a obtenção da PAS durante três dias consecutivos. Para obter uma média da PAS, o procedimento de medida em cada rato foi repetido por cinco vezes. Além disso, a ingestão dietética e hídrica, e depuração da creatinina e TBARS na urina também foram avaliados em cada uma das idades em que PAS foi obtida. Gaiolas metabólicas foram usadas para coletar amostras de urina de 24 horas para medir o TBARS e creatinina. As amostras de sangue foram obtidas a partir da artéria caudal, para medições da creatinina.

Análise estatística

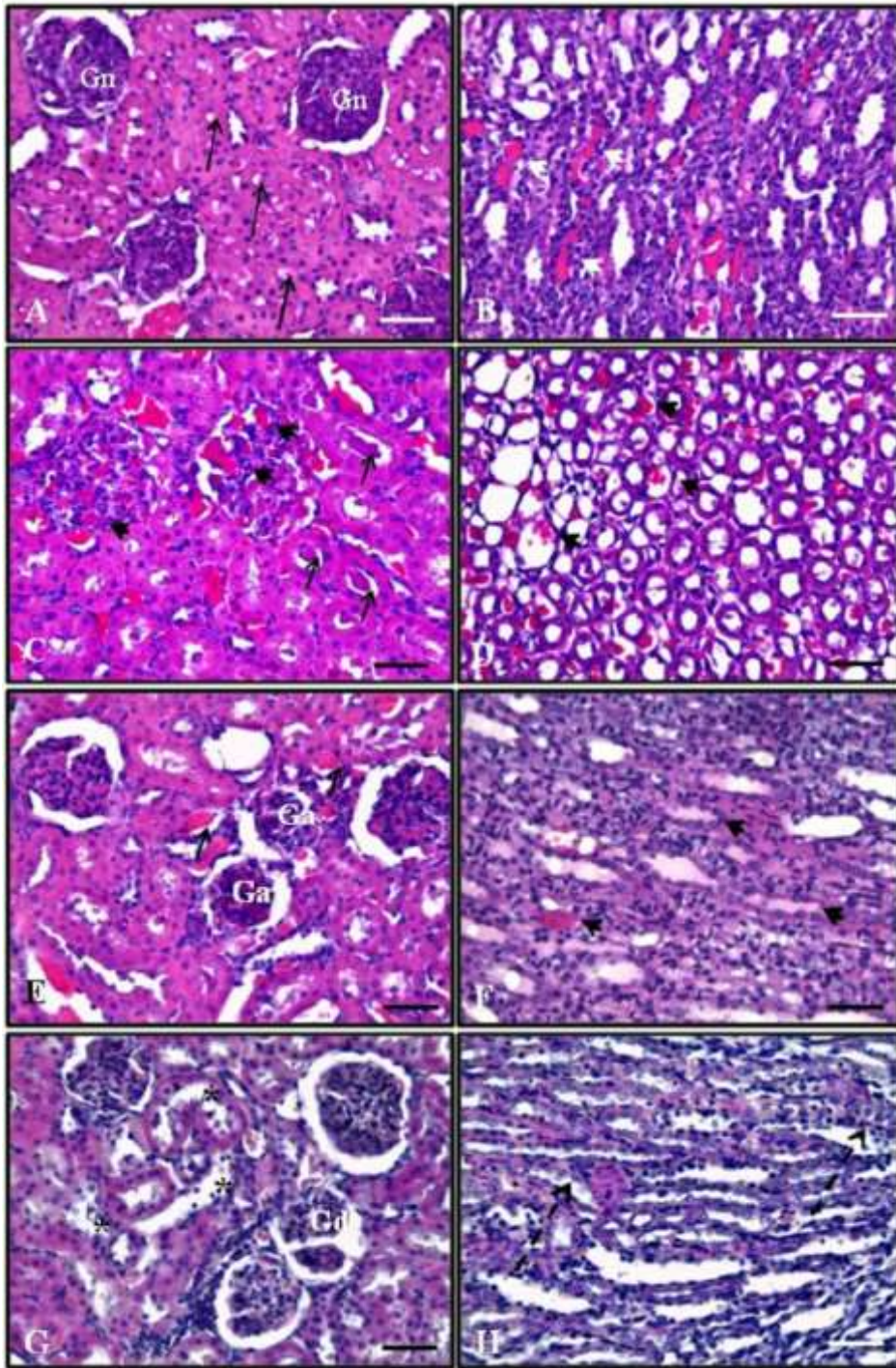
A análise estatística dos resultados foi realizada por teste *t*, não pareado, as medidas repetidas ou completamente randomizada. Os resultados foram considerados estatisticamente significantes para valores de $P < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO HISTOQUIMICA

Nos animais do CV, foram observados glomérulos com morfologia normal, alguns túbulos contorcidos com células vacuolizadas e material eosinofílico depositado no lúmen dos túbulos coletores (Fig. 3A-B). Os animais do EV, em relação ao controle, apresentaram congestão glomerular, túbulos contorcidos com material eosinofílico intraluminal, além de hidropisia (Fig. 3C-D). Os animais do CS apresentaram atrofia glomerular e congestão (Fig. 3E-F). Nos animais do ES, foram observadas hidropsias, alteração na morfologia dos túbulos contorcidos, vacuolização e degeneração celular dos tubos coletores (Fig. 3G-H). Yoshida et al. (1994) observaram a presença de necrose tubular aguda em um homem de 26 anos com grave colestase e hiperbilirrubinemia após o uso de estanozolol, levando à insuficiência renal. No presente trabalho foram observadas alterações histopatológicas renais significativas em animais submetidos a exercício intenso associado ou não ao estanozolol. Esses

resultados demonstram que o treinamento intenso combinado com EAA, como praticado pelos levantadores de peso, pode causar danos nos rins, por promover apoptose de podócitos, levando à formação de glomeruloesclerose (Revai et al., 2003).

No geral não houve alterações da morfofisiologia hepática dos ratos tratados com doses suprafisiológicas de estanozolol, no parênquima hepático com presença de tríade portal representada por um vênula, Ducto Biliar e Arteriola e cordões de hepatócitos uni e binucleados sem alterações. Além da presença morfológicamente normal da veia centrolobular. Desmostarndo que o estanozolol não afeta a morfologia do fígado em ratos, mesmo na presença de doses elevadas, o que pode esta associado a mecanismo de adaptação hepáticos.



++09

Figura 1. Rins dos animais dos grupos CV (A-B), EV (C-D), CS(E-F) e ES(G-H). (A-B): notar glomérulos normais (Gn), túbulo contorcido proximal com presença de alguns vacúolos (setas longas) e congestão discreta na região medular (ponta

de setas); (C-D): notar congestão glomerular (ponta de setas), túbulos renais com presença de material eosinofílico intraluminal (setas curtas) e congestão na região medular (ponta de setas); (E-F): notar glomérulos atrofiados (Ga), túbulo contorcido proximal com presença de material eosinofílico intraluminal (setas curtas) e congestão na região medular (ponta de setas); (G-H): notar degeneração dos glomérulos (Gd), túbulos renais com morfologia alterada (asteriscos) e degeneração dos túbulos coletores (setas tracejadas). Barras 50µm. HE.

A imuno-histoquímica do VEGF-A nos rins dos animais dos grupos CV e EV revelou forte marcação nas regiões cortical e medular, principalmente nos glomérulos renais e nos túbulos coletores, respectivamente (Fig. 2A-D). Entretanto, os rins dos animais dos grupos CS e ES apresentaram fraca marcação para a expressão do VEGF-A (64E-H). A quantificação em pixels da expressão do fator VEGF-A revelou que os grupos CS e ES apresentaram os menores valores, diferindo significativamente dos demais grupos (Fig. 5). O VEGF-A é considerado o principal fator de crescimento envolvido na angiogênese, e sua expressão é iniciada pela hipóxia e fortemente estimulada pelo estresse de cisalhamento decorrente do aumento do fluxo sanguíneo durante o treinamento aeróbico (Prior et al., 2003, 2004). Além disso, tem função na manutenção das células glomerulares endoteliais, aumentando em resposta à hipertensão e à ativação do sistema renina-angiogensina, mostrando, assim, um papel protetor em condições vasculares estressantes (Advani et al., 2007). Contudo, na maioria das lesões glomerulares crônicas, tem-se observado diminuição da expressão do VEGF-A, como nas glomeruloesclerose focal ou global, na amiloidose, na glomerulonefrite e na nefrite lúpica difusa (Schrijvers et al., 2004). Assim, pode-se inferir que o estanozolol parece interferir na expressão do VEGF-A (Lima et al., 2020).

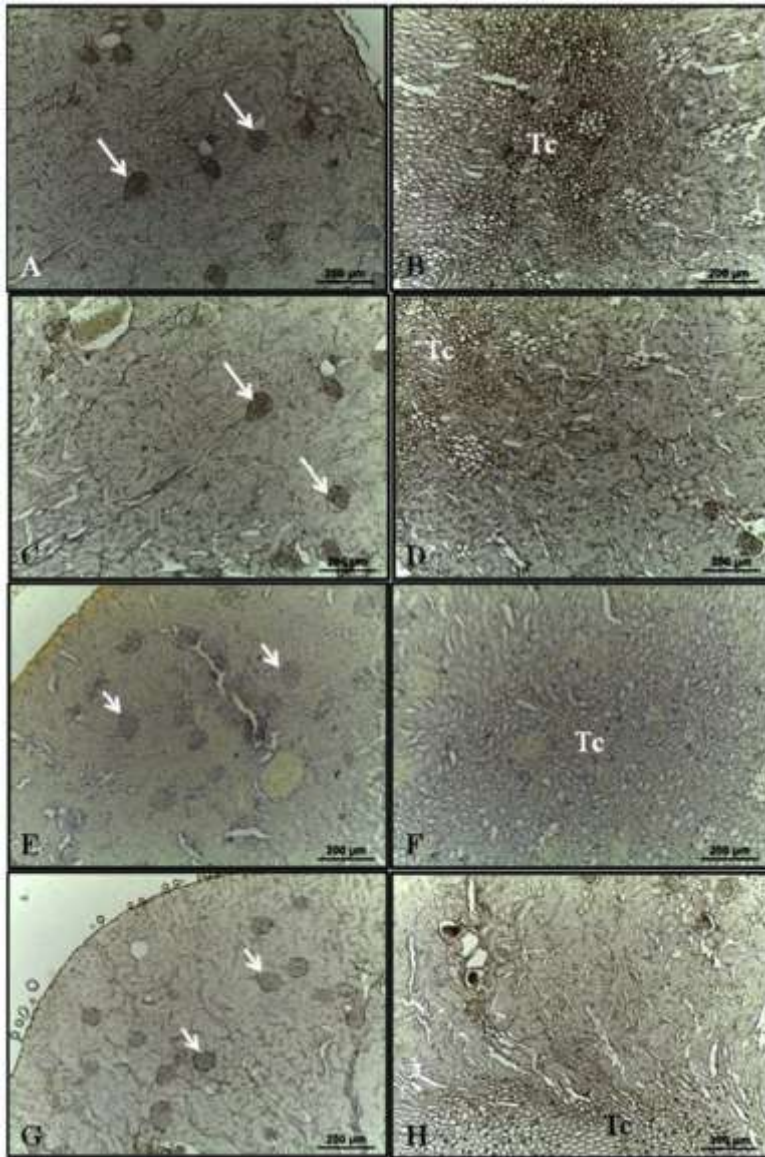


Figura 2. Imuno-histoquímica para o VEGF-A nos rins dos animais dos grupos CV (A-B), EV (C-D), CS(E-F) e ES (G-H). (A-B): observar forte marcação nos glomérulos renais (setas longas) e entre os tubos coletores (Tc); (C-D): observar também forte marcação nos glomérulos renais (setas longas) e entre os tubos coletores (Tc); (E-F) e (G-H): observar fraca marcação nos glomérulos renais (setas curtas) e entre os tubos coletores (Tc).

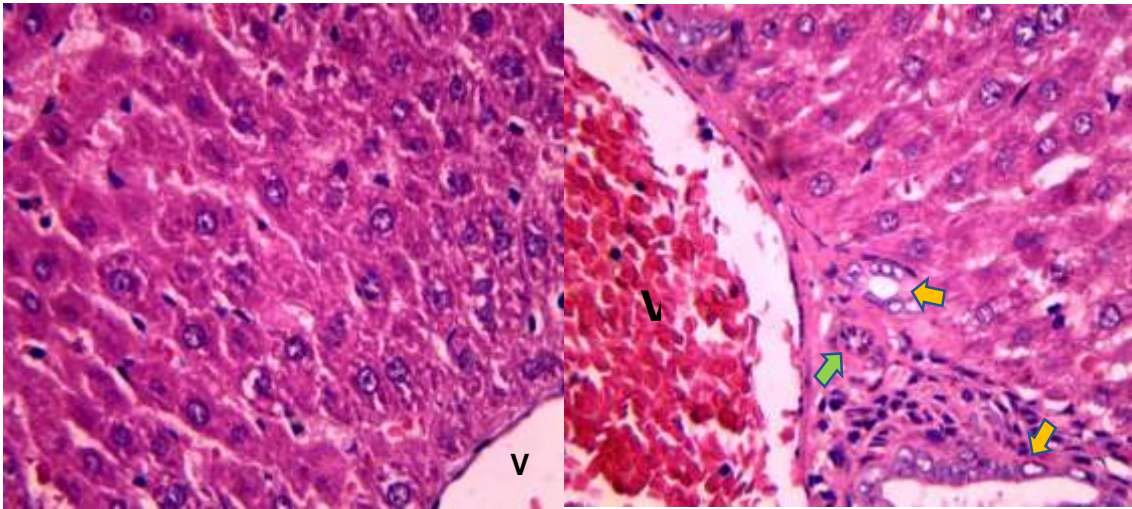


Figura 3. Grupo controle A e grupo tratado B. Parênquima hepático morfológicamente normal, com presença de tríade portal representada por um vênula (V), Ducto Biliar (seta laranja) e Arteriola (seta verde) e cordões de hepatócitos uni e binucleados. Coloração H.E. AU 400X.

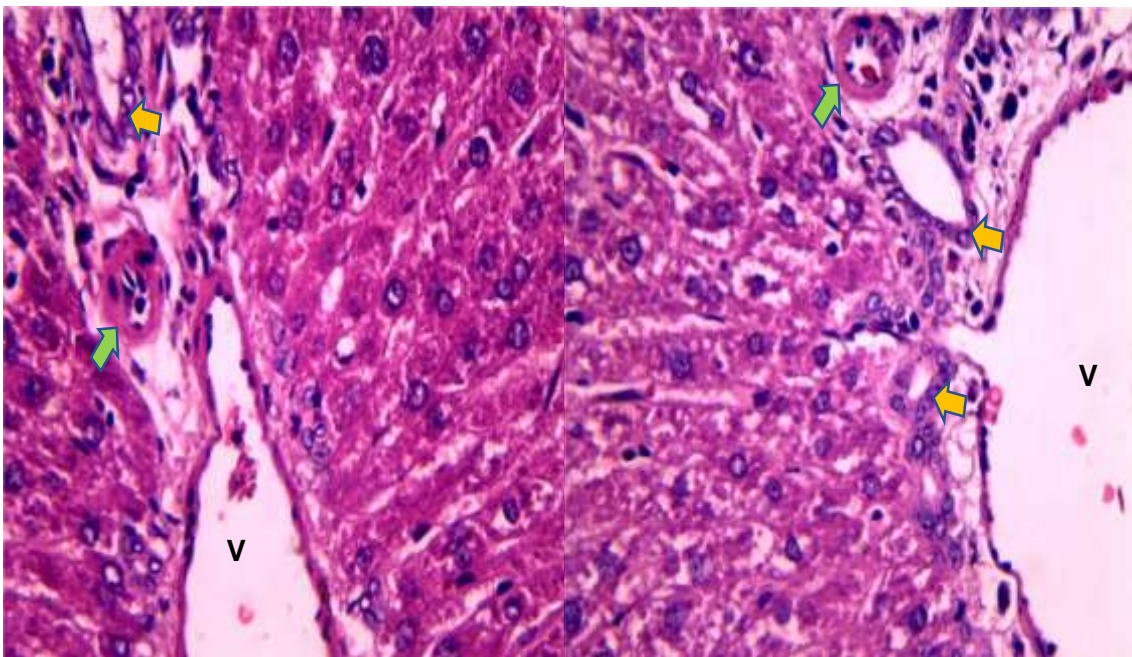


Figura 4. Grupo controle A e grupo tratado B. Parênquima hepático morfológicamente normal, com presença de tríade portal representada por um vênula (V), Ducto Biliar (seta laranja) e Arteriola (seta verde) e cordões de hepatócitos uni e binucleados. Coloração H.E. AU 400X.

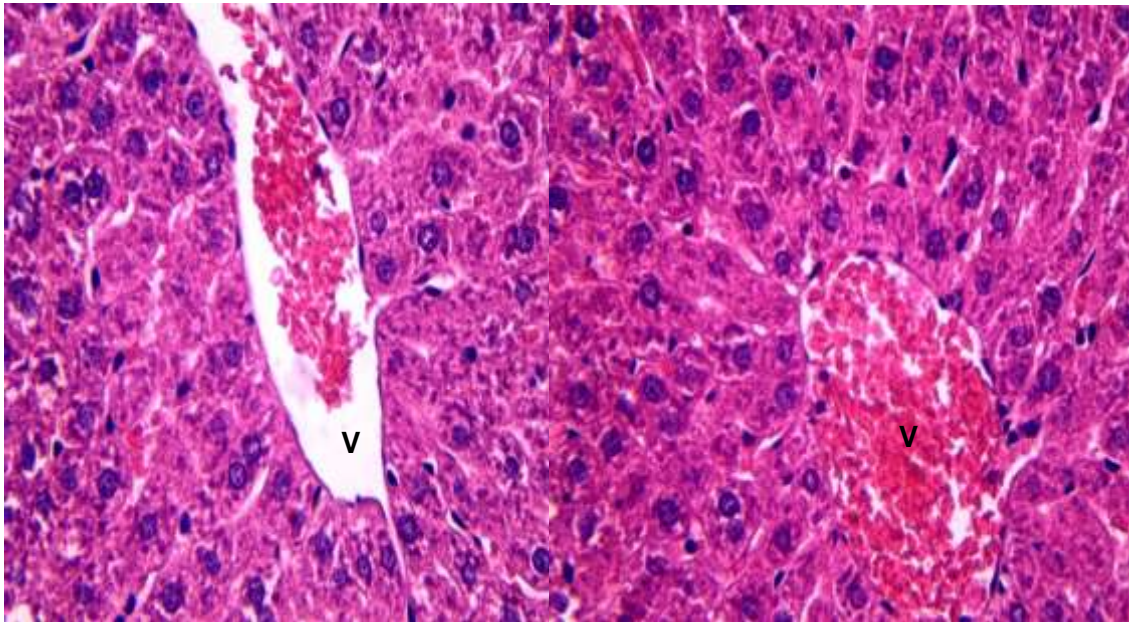


Figura 5. Grupo controle A e grupo tratado B. Parênquima hepático morfologicamente normal, com presença de veia centrolobular (V) e cordões de hepatócitos uni e binucleados. Coloração H.E. AU 400X.

RESULTADOS PARÂMETROS FISIOLÓGICOS

As pressões arteriais sistólicas entre os grupos CV e CS, apresentaram diferenças significativas, em 30 e 60 dias de experimento o grupo CS teve um aumento de $\pm 4\%$, ($P= 0,03$ e $0,0081$) respectivamente, nos demais períodos não houve diferenças significativas (Figura 1). O uso de estanozolol mostrou uma tendência para elevar os níveis de TBARS na urina com o passar do tempo, foi significativa apenas no 45^a dia ($P<0,05$) (Figura 2), elevou os níveis de TBARS nos rins, entretanto não houve alterações significativas em tais níveis tanto nos rins como no fígado (Figura 3).

O estanozolol não alterou os níveis de Sódio e Potássio séricos (Figura 4), como também não modificou a excreção do K^+ , porém a excreção de Na^+ estava elevada por todo o tratamento, entretanto só houve significância no 15^a dia ($P=0,023$) (Figura 5). Nas frações de excreção de Na^+ também só ocorreu aumento significativo no 15^a dia de tratamento ($P=0,036$) (Figura 6), porém na

fração de excreção do K^+ houve uma redução significativa apenas no 45^a ($P=0,049$) (Figura 7). Não houve modificações estatísticas no clearance de creatinina no decorrer do tempo (Figura 8), entretanto os níveis de creatinina plasmática elevaram-se a partir do trigésimo dia ($P=0,005$) de experimento e mantendo-se até o último dia (Figura 9).

As dosagens de aspartato aminotransferase não se alteraram em nenhuma das idades, a alanina aminotransferase não se alteraram em nenhuma das idades com exceção do dia 15^a que aumentou no grupo CS ($P=0,007$) (Figuras 10 e 11). Os níveis de GSH não foram alterados, tanto nos rins como no fígado (Figura 12).

DISCUSSÃO

Há tempos a literatura vem associando esses esteroides a uma série de malefícios que acometem seus usuários, demonstrando assim, que há diferenças nos efeitos adversos associados ao uso de EAA sob supervisão clínica e uso abusivo. Sabe-se que a motivação ao uso de esteroides anabólicos é, na maioria das vezes, de natureza estética (HOFFMAN; RATAMESS, 2006).

Nossos achados mostram uma tendência a um aumento na PAS (Figura 1). Esse aumento é semelhante a alguns estudos, em que, a hipertensão arterial verificada pode, em parte, ser consequência de danos renais observados em ratos que receberam esteroides anabolizantes (TAKAHASHI, TATSUGI & KOHNO, 2004), já que a presença de receptores de andrógenos foi constatada nos rins (WILSON & MCPHAUL, 1996; XIE, NARASIMHAN, ZHENG, DEWEY & FELDER, 1996).

Pey et al. (2003) relata que o estanozolol pode causar elevação dos níveis de enzimas no fígado, várias lesões neoplásicas e peliosidades hepáticas. Quando funções hepáticas são monitoradas em atletas que abusam de EAA, parâmetros renais mostram que não há mudanças ou pequenas elevações, as quais refletem anormalidades particularmente nos estágios iniciais. Nossos achados contrapõem-se aos achados de Pey et al. (2003), pois não houve

variações significativas nos níveis de ALT / TGP e AST / TGO (Figuras 10 e 11), entretanto usamos uma dosagem baixa quando comparada ao trabalho anterior.

Como os níveis do clearance de creatinina não foram afetados (Figura 8), isso mostra que não houve prejuízo na filtração renal, porém em outros estudos foram reportados casos de necrose aguda tubular, colestase e falência aguda renal em indivíduos que receberam 10mg de estanozolol diariamente, contudo não pode restringir a causa dessas injúrias somente a droga, pois nesses casos houve outros fatores que podem ter influência como a utilização de outros EAA e pelo histórico de doenças (YOSHIDA, et al.1994).

Pey et al. (2003) mostra em suas pesquisas que o estanozolol tem sido causa de inflamação ou degenerativas lesões no centrolobular dos hepatócitos, alterações ultra-estruturais e degenerativas mudanças no canalículo das mitocôndrias e lisossomos. Além disso, em ratos machos com prolongada administração de estanozolol provocou um acréscimo nas atividades de hidrólises dos lisossomos do fígado e um decréscimo em alguns componentes do microsomo do sistema de metabolização da droga e na atividade de mitocôndrias respiratórias em cadeias complexas modificando externamente os indicadores de função hepática.

De maneira geral, os níveis de TBARS na urina (Figura 2), nos rins e fígado (Figura 3) não houve alterações relevantes, entretanto encontramos uma tendência a um aumento de tais níveis, já que uso prolongado de estanozolol provoca disfunções na cadeia complexa de respiração mitocôndrial e no sistema monoxigenase. Essas alterações seriam possíveis acompanhados de incremento na geração espécie de reação do oxigênio (ROS) (PEY, et al. 2003; SHAHIDI, 2001). Os níveis de TBARS no fígado corroboram com os achados por Pey et al. (2003) e Shahidi (2001) que relatam que o fígado apresenta altos níveis de enzima e não-enzimas de defesas antioxidantes e reparação, essa capacidade pode reverter o estresse oxidativo e as células danificadas são reabilitadas.

Como não houve aumento do estresse oxidativo dos rins e do fígado, também não foi observado aumento nos níveis de GSH (figura 12) em ambos os órgãos, tendo em vista que o GSH tem relação inversamente proporcional com a injúria tecidual (ASHFAQ et al., 2006). Em cultura de células endoteliais de *Coturnix coturnix japonica* (codorna japonesa) foi demonstrado que um grupo suscetível à aterosclerose apresenta reduzida concentração de glutatona total em relação ao resistente (HOEKSTRA et al., 2003). Estes estudos mostram uma tendência do organismo a aumentar a expressão deste antioxidante durante o processo de dano celular.

Alguns estudos têm demonstrado que os esteroides não alteram a peroxidação lipídica em todo o cérebro (LIU, et al., 2000), o hipocampo (ACIKGOZ, et al. 2006; RADAK, 1995), cerebelo (RADAK, 1995), córtex pré-frontal e músculo estriado esquelético (ACIKGOZ, et al. 2006). Por outro lado, a produção de ROS pode ser alta e persistentemente, e a resposta do antioxidante pode não ser eficaz para redefinir o sistema para os níveis originais de redox (AGUIAR, et al. 2010). De fato, tem sido mostrado que os esteroides induzem o estresse oxidativo e aumenta a peroxidação lipídica em cérebro de camundongo (DALLA CORTE et al., 2013; ROSA, et al., 2007). Tendo em conta estes resultados contraditórios na literatura, os nossos resultados Concordam com alguns dos estudos supracitados.

CONCLUSÃO

No presente estudo, demonstramos que o uso de estanozolol 5,0 mg/kg/semana durante oito semanas, não promove alterações significativas nas funções renais, como também não afeta o fígado, porém, acarreta numa tendência a um aumento na PAS. E aparentemente não altera o sistema Redox renal e hepático.

PERSPECTIVAS

Avaliar dosagens mais elevadas de estanozolol, tendo em vista que os valores aqui avaliados são os mesmos valores prescritos nas bula do medicamento.

Confirmar nossos achados com western blot e anions superóxidos pela luminometria.

Referências

ACIKGOZ, O.; AKSU, I.; TOPCU, A.; KAYATEKIN, B.M. Acute exhaustive exercise does not alter lipid peroxidation levels and antioxidant enzyme activities in rat hippocampus, prefrontal cortex and striatum. **Neurosci. Lett.** 406: 148–15. 2006.

AGUIAR, A.S.; BOEMER, G.; RIAL, D.; CORDOVA, F.M.; MANCINI, G.; WALZ, R.; DE BEM, A.F.; LATINI, A.; LEAL, R.B.; PINHO, R.A.; PREDIGER, R.D.S. High-intensity physical exercise disrupts implicit memory in mice: Involvement of the striatal glutathione antioxidant system and intracellular signaling. **Neuroscience**; 171: 1216–1227. 2010.

ANARUMA, C.A. & BOARO, S.N. Análise do Efeito do Exercício de Natação Sobre o Osso Compacto E Esponjoso de Ratas com Osteoporose Através da Microscopia Eletrônica de Varredura, **Coleção Pesquisa em Educação Física**. Vol.8, nº 4, 2009.

ASHFAQ, S.; ABRAMSON, J.L.; JONES, D.P.; RHODES, S.D.; WEINTRAUB, W.S.; HOOPER, W.C.; VACCARINO, V.; HARRISON, D.G.; QUYYUMI, A.A. The relationship between plasma levels of oxidized and reduced thiols and early atherosclerosis in healthy adults. **Journal of the American College of Cardiology**, 47: 1005-1011, 2006.

BEUTEL, A.; BERGAMASCHI, C.T.; CAMPOS, R.R. Effects of chronic anabolic steroid treatment on tonic and reflex cardiovascular control in males rats. **J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.**, v.93, p.43-48, 2005.

BIRI, A.; BOZKURT, N.; TURP, A.; KAVUTCU, M.; HIMMETOGLU, O.; DURAK, I. Role of oxidative stress in intrauterine growth restriction. **Gynecol. Obstet. Invest.**, 64, 187–192. 2007.

CELOTTI, F.; CESI, P. Anabolic steroids: a review of their effects on the muscle, of their possible mechanisms of action and of their use in athletics. The **Journal**

of **Steroids Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v.43, p. 469- 77, 1992.

CLARK, A.S.; HARROLD, E.V.; FAST, A.S. Anabolic-androgenic steroid effects on the sexual behavior of intact male rats. **Horm. Behav.**,v.31, p. 35-46, 1997.

CLARK, A.S.; BLASBERG, M.E.; BENNETT-BRANDLING, E.M. Stanozolol, Oxymetholone, and Testosterone Cypionate effects on the rat estrous cycle. **Physiol. Behav.**,v.63, p.287-295, 1998.

COCOLO, A. C. Usuário desconhece efeitos colaterais de anabolizantes. Jornada Paulista – Pesquisa, ano 15, n. 168, 2002. Disponível em <<http://www.hsp.epm.br>>. (Acesso em 09/09/2015).

COVIELLO, A.D.; KAPLAN, B.; LAKSHMAN, K.M.; CHEN, T.; SINGH, A.B.; BHASIN, S. Effects of graded doses of testosterone on erythropoiesis in healthy young and older men. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, 93: 914-919, 2008.

CUNHA, T.S.; CUNHA, N.S.; MOURA, M.J.C.S.; MARCONDES, F.K. Esteróides anabólicos androgênicos e sua relação com a prática desportiva. **Braz J Pharm Sci.** 40:165-179. 2004.

DALLA CORTE, C.L.; DE CARVALHO, N.R.; AMARAL, G.P.; PUNTEL, G.O.; SILVA, L.F.; RETAMOSO, L.T.; ROYES, L.F.; BRESCIANI, G.B.; DA CRUZ, I.B.; ROCHA, J.B.; BARRIO LERA, J.P.; SOARES, F.A. Antioxidant effect of organic purple grape juice on exhaustive exercise. **Appl Physiol Nutr Metab**; 38: 558–565. 2013.

FALANGA, V., GREENBERG, A.S.; ZHOU, L.; OCHOA, S.M.; ROBERTS, A.B.; FALABELLA, A.; YAMAGUCHI, Y. Stimulation of Collagen Synthesis by the Anabolic Steroid Stanozolol. **J. Invest. Dermatol.**, v.111, p.1193-1197, 1998.

FRANCO, M.C.P.; AKAMINE, E.H.; REBOUÇAS, N.; CARVALHO, M.H.C.; TOSTES, R.C.A.; NIGRO, D.; FORTES, Z.B. Long-term effects of intrauterine malnutrition on vascular function in female offspring: implications of oxidative stress. **Life Sci.**, 80, 709–715. 2007.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. Antioxidant defences: endogenous and diet derived. In: Halliwell B, Gutteridge J, editors. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 4th ed. New York: Oxford University Press;p 79-186. 2007.

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

HEBERT, A., HAUPT, M.D., GEORG, D., ROVERE, M. Anabolic steroids: a review of the literature. **Am J Sports Med.**; 12(6):469-84, 1984.

HOEKSTRA, K. A.; GODIN, D. V.; KURTU, J.; CHENG, K. M. Effects of oxidant-induced injury on heme oxygenase and glutathione in cultured aortic endothelial cells from atherosclerosis-susceptible and -resistant Japanese quail. **Molecular and Cellular Biochemistry**, 254: 61-71, 2003.

HOFFMAN, J.R.; RATAMESS, N.A. Medical issues associated with anabolic steroid use: are they exaggerated? **J. Sports. Sci. Med.**, v. 5, p. 182-193, 2006.

HORIE, K.; MIYATA, T.; MAEDA, K.; MIYATA, S.; SUGIYAMA, S.; SAKAI, H.; VAN YPERSOLE DE STRIHO, C.; MONNIER, V.M.; WITZTUM, J.L.; KUROKAWA, K. Immunohistochemical colocalization of glycoxidation products and lipid peroxidation products in diabetic renal glomerular lesions. Implication for glycoxidative stress in the pathogenesis of diabetic nephropathy. **J. Clin. Invest.**, 100, 2995–3004. 1997.

HOSEINI, L.; ROOZBEH, J.; SAGHEB, M.; KARBALAY-DOUST, S.; NOORAFSHAN, A. Nandrolonedecanoate increases the volume but not the length of the proximal and distal convoluted tubules of the mouse kidney. **Micron.**, v. 40, p.226-30, 2009.

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

KANAYAMA, G.; HUDSON, J.I.; POPE, H.G. JR. Long-term psychiatric and medical consequences of anabolic-androgenic steroid abuse: A looming public health concern? – Review. **Drug alco. depend.**,v.98, p.1-12, 2008.

KAROWICZ-BILINSKA, A.; SUZIN, J.; SIEROSZEWSKI, P. Evaluation of oxidative stress indices during treatment in pregnant women with intrauterine growth retardation. **Med. Sci. Monit.**, 83, CR211–CR216. 2002.

LIU J, YEO HC, OVERVIK-DOUKI E, HAGEN T, DONIGER SJ, CHYU DW, BROOKS GA, AMES BN. Chronically and acutely exercised rats: biomarkers of oxidative stress and endogenous antioxidants. **J Appl Physiol**; 89: 21–28 40 Lowry OH. 2000.

MARAVELIAS, C.; DONA, A.; STEFANIDOU, M.; SPILIOPOULOU, C. Adverse effects of anabolic steroids in athletes A constant threat. **Toxicol. Lett.**, v.158, p.167-175, 2005.

MARQUES, M.A.; PEREIRA H.M.G.; NETO F.R.A. Controle de dopagem de anabolizantes: o perfil esteroidal e suas regulações. **Bras. Med. Esporte.**, v.9, p. 15-24, 2003.

MEDEIROS, A.; OLIVEIRA, E.M.; GIANOLLA, R.; CASARINI, D.E.; NEGRAO, C.;E.; BRUM, P. Swimming training increases cardiac vagal activity and induces cardiac hypertrophy in rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v.37, n.12, p.1909-17, 2004.

MONOSTORI, P.; WITTMANN, G.; KARG, E.; TURI, S. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples: An in-depth review. **Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, 877: 3331-3346, 2009.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K.. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Anal Biochem**. 95(2):351-8. DOI: 10.1016/0003-2697(79)90738-3. 1979.

PARKINSON, A.B.; EVANS, N.A. Anabolic androgenic steroids: a survey of 500 users. **Med. Sci. Sports. Exerc.**, v.38, p.644-51, 2006.

PEY, A. Effects of prolonged stanozolol treatment on antioxidant enzymes activities, oxidative stress markers, and heat shock protein HSP72 levels in rat liver. **J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.**,v.87, p.269-277, 2003.

RADAK, Z.; ASANO, K.; KIZAKI, T.; OH-ISHI, S.; INOUE, M.; OHNO, H. Acute bout of exercise does not alter the antioxidant enzyme status and lipid peroxidation in rat hippocampus and cerebellum. **Pathophysiology**; 2: 243–245. 1995.

RAMARA, A.; DUCKLES, S. P.; KRAUSE, D. N.; PROCACCIO, V. Estrogen suppresses brain mitochondrial oxidative stress in female and male rats. **Brain Research**, 1176: 71-81, 2007.

ROSA, E.F.; TAKAHASHI, S.; ABOULAFIA, J.; NOUAILHETAS, V.L.; OLIVEIRA, M.G. Oxidative stress induced by intense and exhaustive exercise impairs murine cognitive function. **J Neurophysiol**; 98: 1820–1826. 2007.

RUSHTON, D.H. & BARTH, J.H. What is the evidence for gender differences in ferritin and haemoglobin? **Critical Reviews in Oncology Hematology**, 73: 1- 9, 2010.

SEDLAK, J.; LINDSAY, R.H.. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. **Anal Biochem.**; 25(1):192-205. DOI: 10.1016/0003-2697(68)90092-4. 1968.

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

SHOJI, H. & KOLETZKO, B. Oxidative stress and antioxidant protection in the perinatal period. Curr. Opin. **Clin. Nutr. Metab. Care**, 10, 324–328, 2007.

SILVA, P.R.P.; MACHADO JÚNIOR, L.C.; FIGUEIREDO, V.C.; CIOFFI, A.P.; PRESTES, M.C.; CZEPIELEWSKI, M.A. Prevalência do Uso de Agentes Anabólicos em Praticantes de Musculação de Porto Alegre. **Arq Bras Endocrinol Metab.** 51:104-110. 2007.

TAKAHASHI, M.; TATSUGI, Y.; KOHNO, T. Endocrinological and pathological effects of anabolic-androgenic steroid in male rats. **Endocrine Journal**, Tokio, v.51, n.4, p.425-34, 2004.

URHAUSEN, A. et al. Are the cardiac effects of anabolic steroid abuse in strength athletes reversible? **Heart** 90: 496-501, 2004.

VIÑA, J., BORRAS, C., GAMBINI, J., SASTRE, J. & PALLARDO, F. V. Why females live longer than males? Importance of the upregulation of longevity associated genes by oestrogenic compounds. **Febs Letters**, 579: 2541- 2545, 2005.

VIÑA, J., HEMS, R. & KREBS, H. A. Maintenance of glutathione content in isolated hepatocytes. **Biochemical Journal**, 170: 627-630, 1978.

WILLIAMSON, A.E.; CONE, L.A.; HUARD, G.S. Spontaneous necrosis of the skin associated with cryofibrinogenemia, cryoglobulinemia, and homocystinuria. **Ann. Vasc. Surg.**, v. 10, p. 365-369, 1995.

WILSON, C.M.; MCPHAUL, M.J. A and B forms of the androgen receptor are expressed in variety of human tissues. **Molecular and Cellular Endocrinology**, Amsterdam, v.120, n.1, p.51-7, 1996.

XIE, D.; NARASIMHAN, P.; ZHENG, Y.W.; DEWEY, M.J.; FELDER, M.R. Ten kilobases of 5'-flanking region confers proper regulation of the mouse alcohol dehydrogenase-1 (Adh-1) gene in kidney and adrenal of transgenic mice. **Gene**, Amsterdam, v.181, n.1-2, p.173-8, 1996.

YOSHIDA, E.M.; KARIM, M.A.; SHAIKH, J.F.; SOOS, J.G.; ERB, S.R.; At what a price, glory? severe cholestasis and acute renal failure in a athlete abusing stanozolol. **Canada Medical Asociacion Jounal**, Vancouver, p. 791-793. 15 set. 1994.

ANEXOS CAPITULO V

TABELAS

PAS

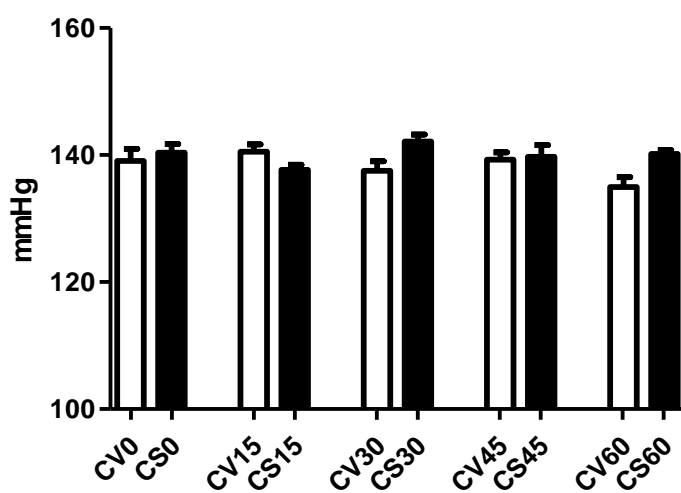


Figura 1. O uso do estanozolol 5,0 mg/kg/semana durante 8 semanas consecutivas elevou as pressões arteriais sistólicas (mmHg) entre os grupos CV e CS, apresentaram diferenças significativas, em 30 e 60 dias de experimento o grupo CS teve um aumento de $\pm 4\%$, ($P < 0,05$ e $P < 0,01$) respectivamente.

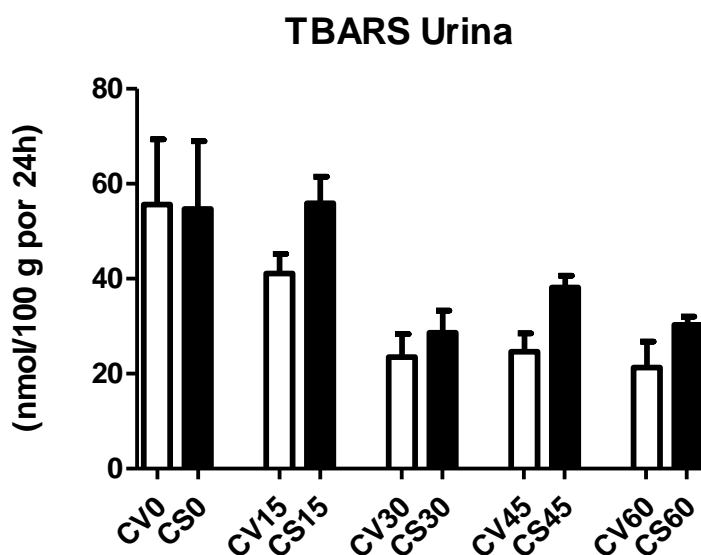


Figura 2. O uso de estanozolol 5,0 mg/kg/semana durante 8 semanas consecutivas, mostrou uma tendência para elevar os níveis de TBARS na urina (nmol/100g/24h) com o passar do tempo, foi significativa apenas no 45^a dia ($P < 0,05$).

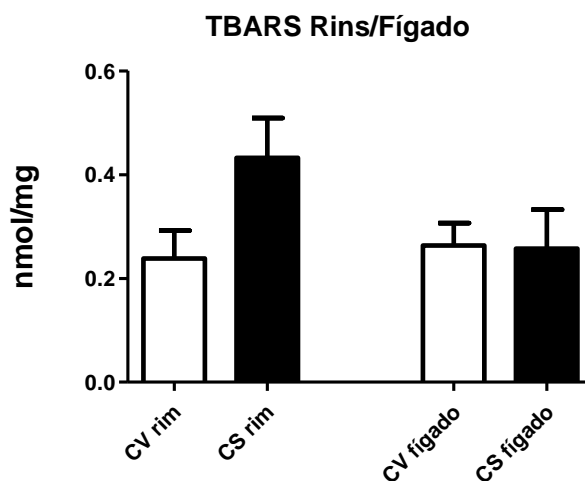


Figura 3. O uso de estanozolol 5,0 mg/kg/semana durante 8 semanas consecutivas, elevou os níveis de TBARS nos rins, entretanto não houve alterações significativas em tais níveis tanto nos rins como no fígado

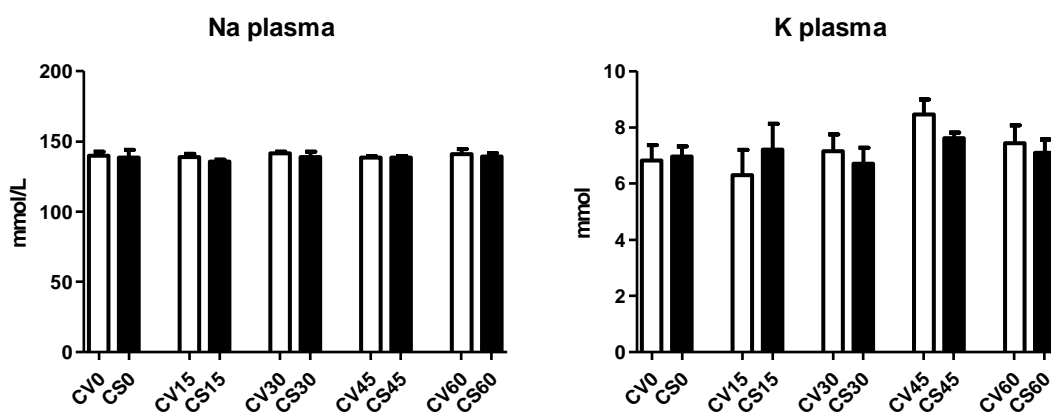


Figura 4. O uso de estanozolol 5,0 mg/kg/semana durante 8 semanas consecutivas, não alterou os níveis de Sódio e Potássio séricos (nmol/L).

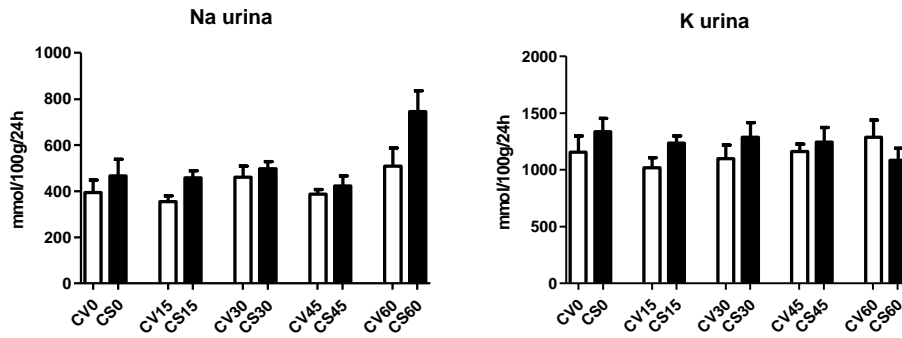


Figura 5. O uso de estanozolol 5,0 mg/kg/semana durante 8 semanas consecutivas, não alterou a excreção de Na⁺ e K⁺ (nmol/100g/24), a excreção de Na⁺ estava elevada por todo o tratamento, porém só houve significância no 15^a dia (P<0,05).

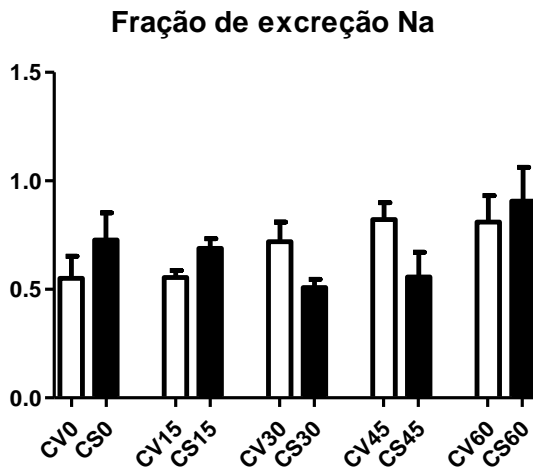


Figura 6. O uso de estanozolol 5,0 mg/kg/semana durante 8 semanas consecutivas, frações de excreção de Na⁺ só ocorreu aumento significativo no 15^a dia de tratamento no grupo CS (P<0,05).

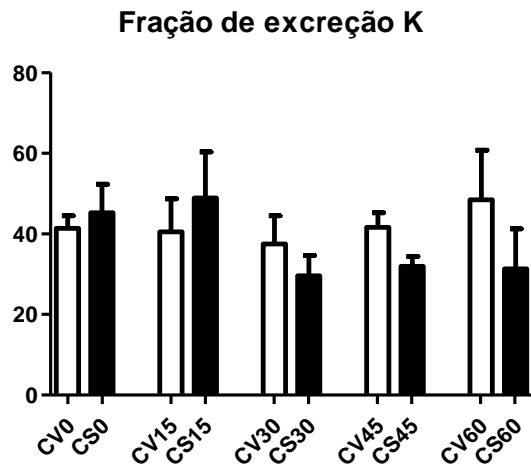


Figura 7. O uso de estanozolol 5,0 mg/kg/semana durante 8 semanas consecutivas, fração de excreção do K⁺ houve uma redução significativa apenas no 45^a dia de tratamento (P<0,05) no grupo CS.

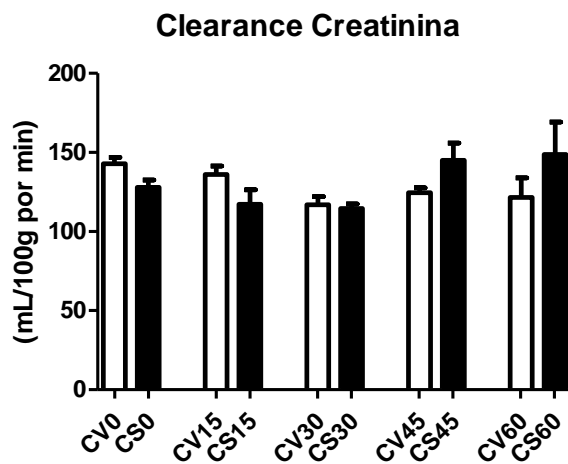


Figura 8. O uso de estanozolol 5,0 mg/kg/semana durante 8 semanas consecutivas, Não houve modificações estatísticas no clearance de creatinina no decorrer do tempo.

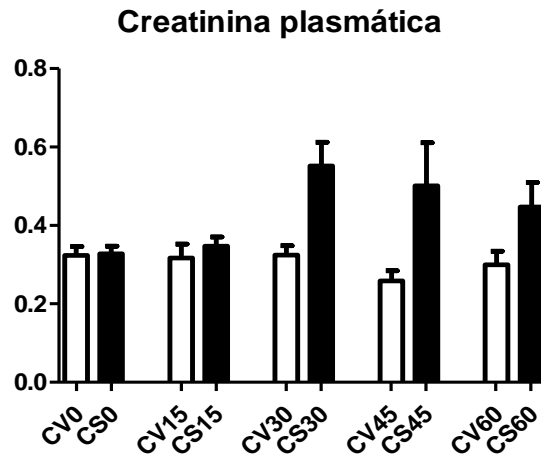


Figura 9. O uso de estanozolol 5,0 mg/kg/semana durante 8 semanas consecutivas, os níveis de creatinina plasmática (mL/100g/min) elevaram se a partir do 30^a dia ($P < 0,01$) de experimento e mantendo se até o ultimo dia.

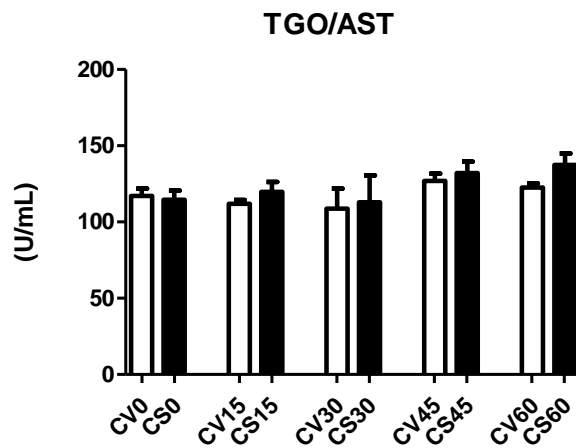


Figura 10. O uso de estanozolol 5,0 mg/kg/semana durante 8 semanas consecutivas, não alterou as dosagens de aspartato aminotransferase (TGO/AST) em nenhuma das idades.

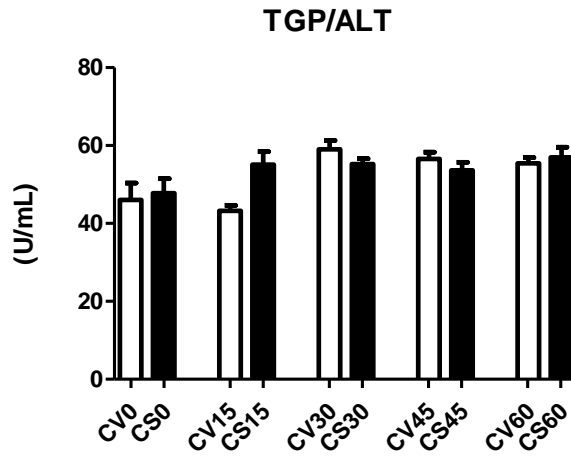


Figura 11. O uso de estanozolol 5,0 mg/kg/semana durante 8 semanas consecutivas, não alterou a alanina aminotransferase (TGP/AST) em nenhuma das idades com exceção do dia 15^a que aumentou no grupo CS ($P < 0,01$).

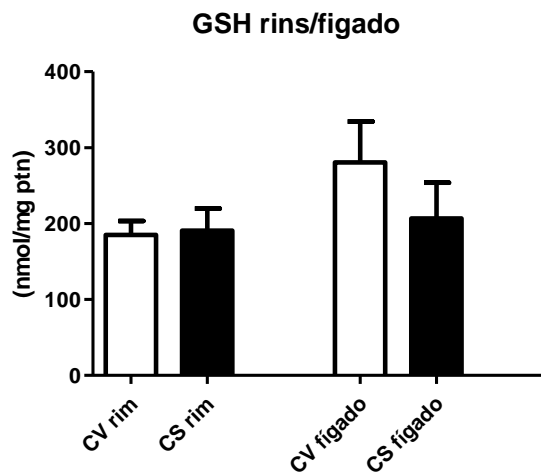


Figura 12. O uso de estanozolol 5,0 mg/kg/semana durante 8 semanas consecutivas, não alterou os níveis de GSH (nmol/mg ptn) tanto nos rins como no fígado.

ANEXOS

Revista Brasileira de Fisiologia do Exercício 2017;16(5):268-71

ARTIGO ORIGINAL

Efeitos do estanozolol na pressão arterial sistólica de ratos sedentários

Effects of the stanozolol on systolic blood pressure of sedentary rats

Gyl Everson de Souza Maciel*, Mariane Mikaele Silva dos Santos**, Fernanda das Chagas Angelo Mendes Tenorio***, Ana Janaina Jeanine Martins de Lemos Jordao****, Carina Scanoni Maia*****

**Professor Assistente de Fisiologia do Instituto Brasileiro de Saúde (IBS/UNIBRA), Recife/PE,*

***Aluna de graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências (UFPE/CB), Recife/PE,*

****Professora Adjunto I de Citologia, Histologia e Embriologia da Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências (UFPE/CB), Recife/PE,*

*****Professora Adjunto I de Citologia, Histologia e Embriologia da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências da Saúde (UFPE/CB), Recife/PE,*

******Professora Adjunto I de Citologia, Histologia e Embriologia da Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências (UFPE/CB), Recife/PE*

Recebido 17 de outubro de 2017; aceito 15 de dezembro de 2017

Endereço para correspondência: Gyl Everson de Souza Maciel, Rua Padre Champagnat,

120, BIA, Apt 02 Várzea 50740-320 Recife-PE, E-mail: gyl.everson@gmail.com; Mariane

Mikaele Silva dos Santos: maris_ufpe@hotmail.com; Fernanda das Chagas Angelo Mendes Tenorio: fcas14@hotmail.com; Ana Janaina Jeanine Martins de Lemos Jordao:

janainajeanine@yahoo.com.br; Carina Scanoni Maia: carina.scanoni@gmail.com

Resumo

O estanozolol apresenta uso crescentes nas academias pelo fato de promover aumento de força sem ganho de peso extra, não se converter em estrógeno, não causar retenção de água em excesso, além de ajudar na perda de gordura preservando a massa muscular. No entanto, o uso indiscriminado e sem orientação de um especialista, pode causar complicações cardiovasculares, disfunção hepática, lesão renal, distúrbios psiquiátricos, redução da tiroide e infertilidade. O principal objetivo do presente estudo foi investigar os efeitos do estanozolol sobre a pressão sistólica em ratos sedentários, tendo em vista que a literatura aborda apenas durante atividades físicas. Para tanto, foram selecionados oito animais, com 90 dias e divididos em dois grupos: grupo controle veiculo (n=4) que recebeu solução salina, via intramuscular e o grupo controle estanozolol (n=4) no qual foi administrado estanozolol. Mesmo sem realizar atividades físicas, a pressão arterial sistólica entre os grupos, apresentou diferenças significativas, em 30 e 60 dias de experimento o grupo tratado teve aumento de $\pm 4\%$. O uso de estanozolol 10,0 mg/kg/semana durante oito semanas, promove alterações significativas na pressão arterial.

Palavras-chave: anabolizantes, pressão sistólica, estilo de vida sedentário, ratos.

Abstract

Stanozolol is increasingly used in academies because it promotes increased strength without gaining extra weight, does not convert to estrogen, does not cause excess water retention, and helps in fat loss while preserving muscle mass. However, the indiscriminate use and without guidance of a specialist, can cause cardiovascular complications, liver dysfunction, kidney damage, psychiatric disorders, thyroid reduction and infertility. The main objective of the present study was to investigate the effects of stanozolol on systolic pressure in sedentary rats, considering that the literature addresses only during physical activities. The animals were divided into two groups: vehicle control group (n = 4) receiving saline solution intramuscularly and the stanozolol control group (n = 4) in which stanozolol was administered. Even without physical activities, the systolic blood pressure between the groups presented significant differences, in 30 and 60 days of the experiment the treated group had an increase of $\pm 4\%$. The use of stanozolol 10.0 mg / kg / week for eight weeks, promotes significant changes in blood pressure.

Key-words: anabolic steroids, blood pressure, sedentary lifestyle, rats.

Introdução

O uso indiscriminado de esteroides anabolizantes (EA), incluindo compostos naturais e análogos sintéticos da testosterona com o objetivo de obter maior delineamento da musculatura em curto período é de grande preocupação, uma vez que é utilizado em doses superiores às recomendadas pelos profissionais da saúde causando graves alterações funcionais e estruturais principalmente, no sistema cardiovascular [1,2]. A maioria dos esteróides é transportada na circulação sanguínea na forma livre ou ligada às proteínas plasmáticas e atuam através de receptores intracelulares específicos [3].

De forma preocupante, a literatura científica relata que nos últimos anos ocorreu um considerável aumento do uso de EA por jovens escolares e praticantes de atividade física, principalmente em academias ou centros de práticas esportivas [4].

O estanozolol é um esteróide heterocíclico sintético, derivado da dihidrotestosterona (DHT), com propriedades anabolizantes e androgênicas, que foi amplamente utilizado por atletas profissionais em virtude da rápida metabolização e excreção na urina [5].

Dentre os diversos esteroides comercializados, o estanozolol é um dos mais utilizados entre os atletas [6]. Produzido na forma oral (mais difícil de ser encontrado) e na forma injetável por laboratórios credenciados, é obtido mais comumente de forma ilegal no mercado negro

[7,8].

Por ser um andrógeno atenuado, normalmente, é utilizado com outras drogas no meio de um ciclo longo de esteroides mais androgênicos, para manter o máximo possível de peso e diminuindo os efeitos colaterais. A combinação do estanozolol com o Parabolan e ou Primobolan pode ser usada quando se desejam dar uma pausa nos esteroides mais androgênicos, mantendo o peso adquirido e minimizando as consequências adversas [9].

O estanozolol é produzido na Europa pelo laboratório Zambon e chega ao Brasil através do mercado negro. Encontra-se disponível em ampolas de 50 mg/ml e cápsulas de 10 mg e é extremamente tóxico ao fígado. É indicado terapeuticamente em estados na deterioração geral, magreza de origem diversa, anorexias rebeldes, convalescentes, crônicas e debilitantes, síndrome nefrótica, asma, artrite reumatóide, etc. Utiliza-se também para compensar os efeitos catabólicos da cortisona, como adjuvante no tratamento de úlceras de decúbito, lenta consolidação de fraturas, osteoporose, queimaduras extensas, pré e pósoperatório. Na pediatria é utilizado em pacientes que apresentam retardo de crescimento e peso, em distrofias e imaturidade [10].

Porém, tanto indivíduos atletas ou sedentários, usam estanozolol para melhorar desempenho físico e/ou aparência [11].

Tendo em vista os informes mencionados acima e a escassez na literatura sobre os efeitos do estanozolol na condição sedentária, o referido estudo tem por objetivo avaliar a pressão sanguínea na ausência de atividades físicas.

Material e métodos

Animais

Ratos machos Wistar aos 90 dias de vida foram mantidos no biotério setorial do Departamento de Fisiologia e Farmacologia sob o ciclo de claro/escuro 12/12. Divididos em dois grupos: grupo controle veículo (CV, n=15) que recebeu solução salina, via intramuscular e o grupo controle estanozolol (CS, n=15) no qual foi administrado estanozolol, via intramuscular na dose de 10,0 mg/kg/semana, dividida em duas doses semanais, durante oito semanas consecutivas [1,11].

O uso dos animais foi aprovado pelo Comitê de Ética de Uso Animal (CEUA) da UFPE, Processo: 23076.026362/2014-56.

Avaliação da pressão sanguínea sistólica

A pressão arterial sistólica (PAS) foi medida por pletismografia de cauda (IITC Life Science B60-7 / 16", Life Science Instruments, Woodland Hills, CA). Os animais foram aclimatados às condições experimentais para a obtenção da PAS durante três dias consecutivos. Para obter uma média da PAS, o procedimento de medida em cada rato foi repetido por cinco vezes.

Os animais foram acompanhados, quinzenalmente durante os 90 aos 270 dias de vida, para a avaliação da pressão arterial sistólica.

Análise estatística

Os resultados foram interpretados por Análise de Variância e quando significativa, esta foi complementada pelo teste de Comparações Múltiplas Tukey e Kramer. Os dados foram tabulados e processados em programa estatístico SAS (Statistical Analysis System, 2001). Adotando-se o nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$).

Resultados

A pressão arterial sistólica entre os grupos CV e CS apresentou diferenças significativas. Em 30 e 60 dias de experimento o grupo CS teve um aumento de $\pm 4\%$, ($P < 0,05$ e $P < 0,01$) respectivamente. Nos demais períodos não houve diferenças significativas (Figura 1).

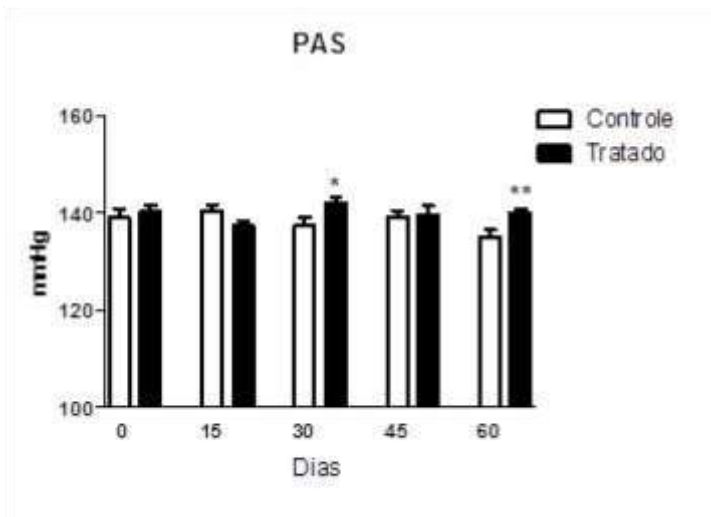


Figura 1 - O uso do estanozolol 10,0 mg/kg/semana durante oito semanas consecutivas elevou as pressões arteriais sistólicas (mmHg) entre os grupos CV e CS, apresentaram diferenças significativas, em 30 e 60 dias de experimento o grupo CS teve um aumento de $\pm 4\%$, ($*P < 0,05$ e $**P < 0,01$).

Discussão

O aumento da PAS na presente pesquisa concorda com os achados de Bocalini *et al.* [11] que destacaram que a mesma ocorreu independente de atividade física. Os autores destacaram ainda o aumento da massa cardíaca pela hipertrofia do ventrículo esquerdo, possivelmente, por efeito secundário a hipertensão arterial já que o ventrículo direito não foi alterado. Porém, o estanozolol é melhor associado as funções cardíacas sistólica e diastólica durante as atividades físicas.

Nossos achados concordam ainda com pesquisas semelhantes realizadas por Acikgoz *et al.* [12] e Beutel & Bergamaschi [1] que trabalharam com o mesmo anabolizante e dose em ratos, tanto sedentários como submetidos a atividades físicas.

Segundo Hartgens *et al.* [13], o aumento da PAS também foi constatado em humanos, quando pesquisou atletas submetidos à administração de estanozolol. O mesmo afirma que em atividades físicas ou não, o referido aumento pode ocorrer dentro de quatro semanas após o início da administração por dois motivos: 1) estimulação da eritropoiese pelo estanozolol, levando ao aumento do hematócrito e, conseqüentemente, ao aumento da viscosidade do sangue; 2) aumento da atividade simpática devido à administração de EAA.

Ainda segundo Nascimento et al. [14], um dos motivos que explica o desenvolvimento da hipertensão é a retenção hídrica e de sais desencadeados por esteroides anabolizantes, principalmente relacionado a frequência e a dose. O aumento do volume plasmático total que ocorre nesses usuários, provavelmente contribui para elevação da mesma.

Agentes androgênicos parecem afetar mais a pressão arterial do que os agentes anabólicos, porém, o mecanismo exato ainda precisa ser estabelecido [15].

Conclusão

No presente estudo, demonstramos que o uso de estanozolol 10,0 mg/kg/semana durante oito semanas, promove alterações significativas na pressão arterial sistólica.

Agradecimentos

Aos integrantes do Departamento de Fisiologia, Histologia e Embriologia da UFPE que ajudaram de forma direta ou indireta nessa pesquisa.

Referências

1. Beutel A, Bergamaschi CT, Campos RR. Effects of chronic anabolic steroid treatment on tonic and reflex cardiovascular control in males rats. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 2005;93(2):43-8.
2. Carmo EC, Rosa KT, Koike DC, Fernandes T, Junior NDS, Mattos KC. Association between anabolic steroids and aerobic physical training leads to cardiac morphological alterations and loss of ventricular function in rats. *Rev Bras Med Esporte* 2011;17(2):137-41.
3. Zhang Q, Wu Y, Zhang P, Sha H, Jia J, Hu Y, Zhu J. Exercise induces mitochondrial biogenesis after brain ischemia in rats. *Neuroscience* 2012; 205(1):10–17.
4. Parkinson AB, Evans NA. Anabolic androgenic steroids: a survey of 500 users. *Med Sci Sports Exerc* 2006;38(4):644-51.
5. Poelmans S, De Wasch K, De Brabander HF, van De Wiele M, Courtheyn D, van Ginkel LA, et al: Analytical possibilities for the detection of stanozolol and its metabolites. *Anal Chim Acta* 2002;473(1-2):473:39-47.
6. Kicman AT. Pharmacology of anabolic steroids. *Br J Pharmacol* 2008;154(3):502-21.
7. Iriart, JAB, Chaves JC, Orleans RG. Culto ao corpo e uso de anabolizantes entre praticantes de musculação. *Cad Saúde Pub* 2009;25(4):773-82.
8. Cecchetto F, Moraes DR., Farias PS. Distintos enfoques sobre esteroides anabolizantes: riscos à saúde e hipermasculinidade. *Interface (Botucatu)* 2012;16(41):369-382.
9. Peres RAN, Guimarães-Neto WM. Guerra metabólica: manual de sobrevivência. Londrina: Midiograf; 2005.
10. Ribeiro PCP. O uso indevido de substâncias: esteróides anabolizantes e energéticos, *Rev Adol Latinoam* 2001;2(2):101.
11. Bocalini DS, Beutel A, Bergamashi, CT, Tucci JP, Campos RR. Treadmill exercise training prevents myocardial mechanical dysfunction induced by androgenic-anabolic steroid treatment in rats. *PLoS One* 2014;9(2):1-5.

12. Acikgoz, O, Aksu I, Topcu A, Kayatekin BM. Acute exhaustive exercise does not alter lipid peroxidation levels and antioxidant enzyme activities in rat hippocampus, prefrontal cortex and striatum. *Neuroscience Letters* 2006;406(2):148-51.
13. Hartgens F, Kuipers H. Effects of androgenic-anabolic steroids in athletes – review article. *Sports Medicine* 2004;34(8):513-54.
14. Nascimento LC, Santos RO, Mota, GR, Junior MM, Neto OB. Prevalência do uso de esteroides anabólicos androgênicos em atletas fisiculturistas de Uberaba e região. *Col Pesq Ed Física* 2012: 11(2):139-48.
15. Hartgens F, Kuipers H, Wijnem JHP, Keizer HA. Body composition, cardiovascular risk factors and liver function in long term androgenic anabolic steroid using bodybuilders three months after drug withdrawal. *Int J Sports Med* 1996;17(6):429-33.

Agradecimentos

Precisava deixar os agradecimentos para o fim. Meus sinceros agradecimentos para o professor Anisio Soares que teve a coragem de me aceitar nessa jornada, assim como ao professor Leucio Duarte que além de ser o responsável prático do trabalho e amigo pessoal. A CAPES pelo apoio financeiro. Minha sorte foi ter pessoas que lutaram ao meu lado nesse trabalho, como: Lucas, Eltom e Pollyana meus ICs do coração. Nesses anos de trabalho na tese, tive vários acontecimentos importantes além da tese, ganhei e perdi um filho, aprendi que posso amar novamente e vi esse amor ir embora, e mesmo assim fiquei feliz. Perdi amigos e familiares importantes, passamos por uma pandemia global, quase morri, trabalhei muito, viajei mais do que esperava, sorri mais do que chorei, ganhei a melhor filha que poderia querer, consegui unir mais minha família. Fiz mais trabalhos do que planejei inicialmente nessa tese, outros planejados não puderam ser feitos, escrevi e qualifiquei com minha filha ao lado, mas no fim o resultado foi esse que vocês leram. Obrigado a todos.