



UNICAMP

Vinicius Guzzoni



EFEITOS VASCULARES DO ESTERÓIDE ANABÓLICO NANDROLONA EM RATOS SUBMETIDOS A TREINAMENTO FÍSICO RESISTIDO DE ALTA INTENSIDADE.

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração Fisiologia Oral.

Orientadora: Profa. Dra. Fernanda Klein Marcondes
Co-Orientador: Prof. Dr. Pedro Duarte Novaes

**PIRACICABA
2010**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

Bibliotecária: Elis Regina Alves dos Santos – CRB-8^a. / 8099

G994e	<p>Guzzoni, Vinicius. Efeitos vasculares do esteróide anabólico nandrolona em ratos submetidos a treinamento físico resistido de alta intensidade / Vinicius Guzzoni. -- Piracicaba, SP: [s.n.], 2010.</p> <p>Orientadores: Fernanda Klein Marcondes, Pedro Duarte Novaes. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.</p> <p>1. Vasodilatação. 2. Endotélio Vascular. 3. Óxido nítrico. I. Marcondes, Fernanda Klein. II. Novaes, Pedro Duarte. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. IV. Título.</p> <p style="text-align: right;">(eras/fop)</p>
-------	---

Título em Inglês: Vascular effects of anabolic steroid nandrolone in rats submitted to high intensity resistance physical training

Palavras-chave em Inglês (Keywords): 1. Vasodilation. 2. Vascular Endothelium.
3. Nitric oxide

Área de Concentração: Fisiologia Oral

Titulação: Mestre em Odontologia

Banca Examinadora: Fernanda Klein Marcondes, Caroline Morini Calil, Ana Paula Tanno

Data da Defesa: 17-09-2010

Programa de Pós-Graduação em Odontologia



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Odontologia de Piracicaba



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada em 17 de Setembro de 2010, considerou o candidato VINICIUS GUZZONI aprovado.

Fernanda Klein Marcondes

Profa. Dra. FERNANDA KLEIN MARCONDES

Caroline Morini Calil

Profa. Dra. CAROLINE MORINI CALIL

Ana Paula Tanno

Profa. Dra. ANA PAULA TANNO

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Vitor Anselmo Guzzoni, Zaira Ap. Parise Guzzoni, os seres mais importantes da minha vida. Se hoje estou aqui é pela educação, criação e zelo que sempre tiveram comigo. Dedico a vocês este trabalho. Dedico-o também a minha avó materna, dona Florinha além de uma lutadora, uma mulher bela em coração, sensível e meiga, e ao meu avô (*in memoriam*) por me guiar de um outro mundo, mas que de alma sinto-o muito presente. O amor que tenho por vocês é infinito!

Às minhas irmãs Christina Guzzoni e Viviane Guzzoni, irmãs de sangue e de coração. A palavra irmã representa muito bem o que vocês significam pra mim. Afeto, carinho, dignidade, alegria, amor, união sempre caminharam conosco. AMO-AS DEMAIS.

À todos que contribuíram para a conclusão de um sonho há muito tempo almejado. Dedico especialmente ao Laboratório de Estresse. Vocês simplesmente marcaram minha vida. Vou levar TODOS vocês no coração para SEMPRE. Se for expressar meu sentimento para com vocês, digamos que certamente há um amor, um prazer enorme em conviver com vocês durante estes anos. “Reunir é um começo, manter-se juntos é um progresso, e trabalhar juntos é Sucesso! Henry Ford”. Vocês são um sucesso. Deus os abençoe sempre!

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo ao onipotente e onipresente Deus pelas poderosas bênçãos e por me guiar durante esta caminhada.

À Universidade de Campinas (UNICAMP) pela oportunidade de desenvolver este trabalho.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP/UNICAMP), na pessoa do seu diretor Francisco Haiter Neto, por representar minha “segunda casa” e ser um lar onde foram cultivadas muitas amizades e muita aprendizagem.

À minha orientadora de mestrado Dra Fernanda Klein Marcondes por simplesmente ser a grande responsável pela concretização deste trabalho. Fernanda, os agradecimentos que teria que fazer a você não se resumem apenas a um “muito obrigado”. Sinto-me extremamente feliz por ter participado deste grupo. Agradeço de coração aberto por literalmente ser uma educadora, para a vida e para a vida profissional.

Ao meu co-orientador Pedro Duarte Novaes pelos “ensinamentos histológicos” e por abrir as portas do seu laboratório para a realização das minhas análises.

Aos meus familiares maternos Florinda, Zé, Né, Márcia, Francine, Pedro, Bárbara, e paternos Leopoldina, Cida, André, Rodrigo, Daniel, Felipe pelo carinho e total apoio.

Aos meus grandes e eternos amigos do Laboratório de Estresse: Rose, Vander, Rafa, Larissa (cabeça), Paty, Mari, Eduardo, Gaby (palmeirense), Andrea e Bruna. Estas páginas não seriam escritas sem a colaboração de TODOS vocês. Obrigado pela força, pela ajuda e pela grande amizade que criamos. Vocês estão (e estarão) no meu coração!

À Eliene, uma grande “mãe” do Laboratório de Histologia, um exemplo de mulher batalhadora, que sempre esteve ao meu lado, me guiando, me educando com seu jeito

particular de ser. Obrigado “Li”. Não posso deixar de agradecer as amizades semeadas neste mesmo recinto: Jú, Nádia, Zé, Gustavo, Marcelo.

Aos meus amigos do Laboratório de Dor: Nádia, Juliana, Letícia, Mona, Marília, Luana, Carla e Gustavo pelo companheirismo e amizade.

Às professoras e parceiras de trabalho Tatiana Cunha e Ana Paula Tanno, pelo auxílio e dedicação em cooperar com o desenvolvimento deste trabalho.

Incondicionalmente aos meus irmãos de “Rep” durante estes anos em Piracicaba: George Galuban (Gordo), Mateus Garcia Fornari (Vesgo), Ivan (Thithy) e Luis (Sherek). Só vocês presenciaram e compartilharam comigo as alegrias e tristezas, os méritos e dificuldades...TUDO. Obrigado pelo respeito nos momentos de estudo, pelas risadas no momento de lazer, nas conversas durante a solidão, nas brincadeiras....nas risadas na descontração. Aprendi demais com cada um, e sou grato por contribuírem para a conclusão deste estudo. Vocês são mais um capítulo do livro da minha história.

Aos meus grandes amigos Danilo, Bor, Bigo, Lucas, Fausto, Renatão, Vitinho, Beto, Diegão, Micali, Paina, Murilinho, Tiaguinho, Spok, Davóglio, Vitinho, Du, Braga, Natália, Délio minha vasta família taquaritinguense que sempre esteve comigo, e são a razão do meu viver. Com vocês busquei forças para sempre continuar e nunca desistir. É gratificante tê-los em minha vida e só tenho a agradecer a Deus por vocês fazerem parte da minha vida. Certamente esqueci de citar alguns amigos, mas não por isso possuem a menos importância neste trabalho.

À minha amiga e terapeuta Celise H C Lacerda Mian por “estimular meus neurônios” a funcionarem para a vida, principalmente em crises e dificuldades, e assim estar em paz de espírito para a realização deste trabalho. Certamente sem sua ajuda, este trabalho não evoluiria como tal. Foram marcantes os ensinamentos durante este processo.

Aos amigos de especialização Christian, Mané, Brunão, Décio, Ariel pela frutífera troca de informações e pela cumplicidade nos estudos.

Às secretárias da Fisiologia que muito me ajudaram Eliete e Carolzinha (as mulheres da retaguarda). Vocês foram cruciais na realização deste estudo. Obrigado por sempre me ajudarem, principalmente nos momentos inesperados. Às secretárias da Farmacologia Elisa e Eliane pela ajuda nas questões burocráticas.

Ao meu grande amigo Feliciano (que insiste em ser são-paulino), competéssimo técnico do laboratório de graduação, por sua imensa ajuda nos experimentos e no tratamento dos animais. Obrigado pela força, e pelo muito que aprendi com você!

Ao Laboratório de Farmacologia do Instituto de Ciências Biomédicas (ICB-USP) na pessoa da Profa. Dra. Maria do Carmo Pinho Franco. Obrigado pela recepção e pela oportunidade de conhecer novas linhas de pesquisas. Um agradecimento especial à Bia, pessoa de um coração enorme que nunca mediu esforços para contribuir com este trabalho.

À professora Maria José (Zezé) e suas competentes alunas Natália e Adriana pela fundamental ajuda nas análises que compõem este trabalho. Obrigado pelo carinho, pela recepção e pela amizade criada.

Ao professor de inglês Jorge Valério que foi essencial no entendimento do “the books on the table”, assim como os ensinamentos para a prova do TOEFL, correção do abstract e as inesquecíveis conversas (diga-se de passagem, em inglês) pelos corredores.

A todos, sem exceção, os funcionários da FOP/UNICAMP, especialmente as mulheres da limpeza que estiveram envolvidos indiretamente com este trabalho, mas que merecem reconhecimento pela disposição em sempre me ajudar nos finais do experimento, assim como os funcionários da biblioteca, em especial à Sueli pela ajuda e gentileza na busca dos artigos científicos, através do COMUT.

A FAPESP pelo apoio financeiro durante esta “jornada científica”.

É graça divina começar bem.
Graça maior persistir na
caminhada certa. Mas graça
das graças é não desistir
nunca.

Dom Hélder Câmara

RESUMO

Os riscos à saúde decorrentes do consumo de esteróides anabólicos androgênicos constituem um problema de saúde pública. Em estudo anterior desenvolvido por nosso grupo de pesquisa, foi observado que o decanoato de nandrolona cancelou os efeitos vasculares adaptativos promovidos pelo treinamento físico resistido, em aorta torácica de ratos, sugerindo uma ação inibitória sobre a síntese de óxido nítrico. Visando elucidar os mecanismos envolvidos nestes efeitos, os objetivos do presente estudo foram: analisar a sensibilidade *in vitro* da aorta torácica ao efeito vasodilatador da acetilcolina (ACh), a espessura da parede vascular, a concentração tecidual de óxido nítrico (NO) e espécies reativas de oxigênio (EROx), em aorta torácica isolada de ratos Wistar divididos em 4 grupos experimentais: não-treinado + veículo; treinado + veículo; não-treinado + nandrolona; treinado + nandrolona. Após o período de adaptação, o treinamento físico resistido consistiu de sessões de saltos em meio líquido com sobrecarga de peso (4 séries, 10 repetições, 50-70% peso corporal, 5 dias por semana, 6 semanas). Dois dias após a última sessão de treinamento, os animais foram sacrificados por decapitação e a aorta torácica foi isolada para a obtenção de três anéis, os quais foram utilizados para obtenção da curva concentração-efeito à ACh *in vitro*, avaliação *in vitro* da produção de óxido nítrico (ON) e de espécies reativas de oxigênio (EROx), e para análise da espessura da camada média. Os dados foram analisados por ANOVA bifatorial seguido por Tukey considerando como nível de significância 5%. Animais treinados apresentaram aumento significativo na espessura da camada média da aorta torácica em relação aos respectivos grupos não-treinados. Anéis aórticos de ratos não treinados tratados com veículo ou nandrolona apresentaram relaxamento de 100% em resposta à ACh, enquanto em anéis isolados de ratos treinados tratados com veículo e nandrolona observou-se relaxamento de 79 e 51%, respectivamente. A aorta torácica de ratos treinados apresentaram menor produção de ON em relação a ratos não-treinados. A aorta isolada de ratos tratados com anabolizante apresentaram menor produção de ACh em relação ao tecido de ratos tratados com veículo. O treinamento reduziu a produção de EROx na aorta torácica de animais treinados tratados com veículo, em relação ao grupo não treinado, sem alteração em animais tratados com nandrolona. Os dados obtidos indicam que altas doses de

nandrolona induziram disfunção endotelial em ratos submetidos a treinamento físico resistido.

Palavras-chave: Treinamento físico anaeróbico, nandrolona, vasodilatação endotélio-dependente, óxido nítrico, espécies reativas de oxigênio.

ABSTRACT

The risk-benefit of androgenic-anabolic steroid abuse in elite athletes has been of great concern for researchers. Nandrolone decanoate was previously observed to inhibit the adaptative vascular effects in the thoracic aorta of rats under resistance training, probably due to an inhibitory effect on the nitric oxide synthesis. The aim of this *in vitro* study was to analyze the thoracic aorta sensibility to acetylcholine vasodilator effect, considering the vascular media layer thickness, the bioavailability of nitric oxide (NO) and the superoxide anion production in the thoracic aorta in Male Wistar rats, aged 2 months. Animals were assigned to four groups: non-trained animals treated with vehicle (NTV); non-trained animals treated with nandrolone (NTN); trained animals treated with vehicle (TV); and trained animals treated with nandrolone (TN). After the adaptation period, animals were submitted to resistance physical training consisting of jumps in liquid ambient with overload (4 sets, 10 repetitions, 30 second rest, 50-70% body weight-load, 5 days/week, 6 weeks). Two days after the last training session, the animals were killed by decapitation and the thoracic aorta was isolated. Thoracic aorta was divided into three parts and rings were removed from the middle third of the aorta of each animal to obtain concentration-effect curves for acetylcholine (ACh). Segments obtained from the part below the middle third were processed to evaluate the production of nitric oxide (NO) and oxygen reactive species (EROx). Data were analyzed using 2-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey test, at a 5% significance level. A significant increase in the final body weight was observed in the four experimental groups, while a significant decrease was found in the final body weight for the groups treated with nandrolone. Trained animals showed a significant increase in the aorta middle layer thickness compared to non-trained groups. Aortas of the rats treated with nandrolone showed a decrease in vasodilator response compared to those of rats treated with vehicle. Isolated rings of non-trained rats treated with vehicle or nandrolone revealed 100% relaxation in response to ACh, while isolated rings of the trained rats treated with vehicle and nandrolone showed relaxation of 79 and 51%, respectively. Animals treated with nandrolone presented decreased production of NO compared to those treated with vehicle. The EROx production dropped in trained rats treated with

vehicle but not in those treated with nandrolone. In conclusion, the physical training protocol used in this study caused morphological, functional, and metabolic adaptations in the aorta of the rats; supraphysiological doses of nandrolone potentiated and inhibited the responses triggered by intense physical training.

Keyword: Physical training, nandrolone, endothelium-dependent vasodilation, nitric oxide, oxygen reactive species.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AGL – ácido graxo livre
CCE – curva concentração-efeito
CM – camada média
CMLVs – células musculares lisas vasculares
DAF-2 – 4,5 diacetato diaminofluorescência
EAA – esteróide anabólico-androgênico
EDHF – fatores hiperpolarizantes derivado do endotélio
ELAM – molécula de adesão leucocitária endotelial
eNOS – óxido nítrico sintase endotelial
EROx – espécies reativas de oxigênio
FE – fenilefrina
FGF-2 – fator de crescimento de fibroblastos 2
FRDE – fator de relaxamento derivado do endotélio
FSH – hormônio folículo-estimulante
GPX – glutadiona peroxidase
hCG – gonadotrofina coriônica
ICAM – molécula de adesão intercelular
IFN- γ – interferon gama
IL-1 – interleucina 1
IL-4 – interleucina 4
IL-6 – interleucina 6
LDL – low density lipoprotein
LH – hormônio luteinizante
NO – óxido nítrico
SOD – superóxido dismutase
TMR – taxa metabólica de repouso
TNF α – fator de necrose tumoral alfa
VCAM – molécula de adesão da célula vascular
VEGF – fator de crescimento do endotélio vascular

$\text{VO}_{2\text{máx}}$ – volume máximo de oxigênio

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
3. PROPOSIÇÃO.....	28
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	28
5. RESULTADOS.....	36
6. DISCUSSÃO.....	41
7. CONCLUSÃO.....	55
REFERÊNCIAS	56
ANEXOS.....	83

1. INTRODUÇÃO

O uso não terapêutico de esteróides anabólicos androgênicos (EAA) vem despertando a atenção de pesquisadores e profissionais na área da Saúde (Creutzberg & Schols, 1999; Pizzol *et al.*, 2006). Apesar de existirem dados na literatura indicando que o uso de doses supra-fisiológicas de EAA pode promover algum grau de hipertrofia e incremento de força muscular, muitas vezes estas são mudanças pequenas, da ordem de 1 a 5%, sendo raramente relevantes estatística ou clinicamente. Porém como estas mudanças podem representar a margem da vitória em competições (Pope & Katz, 1988), infelizmente muitos atletas, inclusive os de elite, difundem a cultura do uso de EAA. Embora efeitos aditivos da testosterona e exercício resistido tenham sido observados em homens normais (Bhasin *et al.*, 1996), e tenha sido relatado que o exercício resistido aumenta a concentração do mRNA do receptor androgênico e/ou sua afinidade pela diidrotestosterona, em músculos de ratos e de humanos (Deschenes *et al.*, 1994; Bamman *et al.*, 2001), outros estudos revelaram a inexistência de efeitos significativos dos EAA sobre as adaptações desencadeadas pelo treinamento físico (Cunha *et al.*, 2005a; Cunha *et al.*, 2006) e o desempenho atlético, destacando a importância de efeitos placebo ou uso de doses excessivas (Wilson, 1988; Cunha *et al.*, 2004).

Dentre os EAA, o decanoato de nandrolona ou Deca-Durabolin[®] tem sido amplamente utilizado. Trata-se de uma preparação anabólica injetável com ação prolongada de até três semanas após administração intramuscular em humanos (Kramer, 1990). A utilização de doses supra-fisiológicas pode causar vários efeitos colaterais tais como atrofia do tecido testicular, tumores hepáticos e de próstata (Yesalis, 1993; Johnson, 2001;), alterações no metabolismo lipídico (Kuipers *et al.*, 1991) e alterações de humor (Gruber & Pope Jr, 2000).

Com relação à influência dos EAA sobre ao sistema cardiovascular, foi demonstrado que o uso de doses supra-fisiológicas de EAA está associado ao desenvolvimento de alterações eletrocardiográficas (Stolt *et al.*, 1999), aumento da pressão arterial (Kuipers *et al.*, 1991; Gelfand & Wita, 1997), cardiomiopatia (Clark & Schofiels, 2005) e redução da resposta inotrópica mediada pelos adrenoceptores beta

(Norton *et al.*, 2000). Com relação aos efeitos vasculares, foi observado que androgênios podem promover a adesão de monócitos às células endoteliais (McCrohon *et al.*, 1999) e formação de células espumosas, envolvidas no desenvolvimento de aterosclerose (McCrohon *et al.*, 2000). E, embora a administração de testosterona possa resultar em uma resposta vasodilatadora aguda, através de um mecanismo endotélio-independente, provavelmente via canais de K⁺ sensíveis a ATP (Webb *et al.*, 1999; Chou *et al.*, 1996), também foi observado que o tratamento com EAA por oito semanas promoveu inibição do relaxamento endotélio-dependente e endotélio-independente em anéis aórticos de coelhos (Ferrer *et al.*, 1994).

Em um estudo desenvolvido por nosso grupo de pesquisa, foi demonstrado que o tratamento com EAA cancelou a subsensibilidade ao efeito vasoconstritor da fenilefrina em anéis com endotélio de aorta torácica isoladas de ratos submetidos a treinamento de alta intensidade (Marcondes, 2005; Cunha *et al.*, 2005b), sem alteração em anéis desprovidos de endotélio. Este efeito foi cancelado pela inibição da síntese de óxido nítrico, e foi acompanhado de aumento das concentrações plasmáticas de LDL, e queda nas concentrações de HDL, induzido pelo uso de EAA (Cunha *et al.*, 2005b). Considerando que avaliações da função endotelial arterial têm se estabelecido recentemente como um método importante para a identificação de anormalidades arteriais primárias em humanos (Celermajer *et al.*, 1992), e que a disfunção endotelial é um evento primário e importante na aterogênese (Ross, 1993), nossa hipótese é de que o aumento na concentração de LDL observada (Cunha *et al.*, 2005b) poderia contribuir para a ocorrência de disfunção endotelial e desenvolvimento do processo aterosclerótico.

Assim a avaliação da ocorrência de processo aterosclerótico, ou de fatores que podem iniciá-lo, em ratos submetidos a treinamento físico resistido, e tratados com nandrolona, é de interesse para a melhor compreensão dos resultados já obtidos.

Considerando os sérios riscos à saúde associados ao consumo de doses supra-fisiológicas de EAA (Steensland *et al.*, 2005), bem como os dados da literatura e os resultados anteriores acima descritos encontrados por nosso grupo de pesquisa (Marcondes, 2005; Cunha *et al.*, 2005b), o objetivo deste trabalho foi estudar o efeito do EAA nandrolona sobre o tecido vascular, analisando a sensibilidade *in vitro* ao efeito

vasodilatador da acetilcolina, a espessura da parede vascular, e a proliferação de células musculares lisas em aorta torácica, a concentração tecidual de óxido nítrico (ON) e espécies reativas de oxigênio (EROx) em aorta torácica de ratos submetidos a treinamento físico resistido e não-treinados.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Os esteróides anabólicos androgênicos (EAA) são substâncias sintéticas formadas a partir da testosterona ou um dos seus derivados (Thein *et al.*, 1995). Os esteróides androgênicos referem-se aos hormônios sexuais masculinos. A definição biológica de um androgênio é qualquer substância que produz especificamente o crescimento das gônadas masculinas (Handa & Price, 2000). A testosterona é o principal hormônio masculino, e possui efeitos androgênicos, relacionados à função reprodutora e às características sexuais secundárias, e efeitos anabólicos que dizem respeito, de maneira geral, à estimulação do crescimento e maturação dos tecidos não-reprodutores (Thein *et al.*, 1995; Lise *et al.*, 1999). Mecanismos intracelulares semelhantes, mediados pelo mesmo tipo de receptor, participam destas duas categorias de efeitos, não havendo, portanto, a possibilidade de dissociá-los (Berne & Levy, 2000). Sendo assim, fisiologicamente os efeitos anabólicos e androgênicos são inseparáveis. Por isso a denominação de “esteróide anabólico-androgênico” é a mais apropriada, mas o termo é frequentemente reduzido para “esteróides anabólicos” (Thein *et al.*, 1995). Na tentativa de aumentar os efeitos anabólicos foram desenvolvidos compostos sintéticos com mais de 40 modificações na estrutura química do esteróide (Voy, 1991) para que as ações anabólicas sejam potencializadas em relação às ações androgênicas (Mottram & George, 2000), o que serve de atrativo para que seu uso seja difundido por atletas (Thein *et al.*, 1995).

Quando ingerida oral ou parenteralmente, no estado original, a testosterona é rapidamente degradada pelo fígado, e as concentrações sanguíneas necessárias para alcançar os efeitos anabólicos não são atingidas. Três modificações na molécula de testosterona para a formulação de EAA têm sido realizadas, objetivando um aumento da sua efetividade (Kennedy, 1992), ao mesmo tempo influenciando sua farmacocinética,

biodisponibilidade e o balanço entre as atividades androgênica e anabólica (Wilson; Korolkovas & Burckhalter, 1988). Dentre estas alterações, a esterificação do grupo 17 β -hidroxil (ésteres) com ácidos carboxílicos, confere maior solubilidade lipídica, e retarda a liberação do hormônio na circulação sanguínea, prolongando sua ação, devendo ser administrados sob forma injetável. A alquilação da posição 17 α -derivados, com os grupos metila ou etila, confere resistência ao metabolismo hepático, proporcionando aumento na duração de seus efeitos, tornando o hormônio ativo quando administrado por via oral. E a modificação na estrutura do anel A, B ou C do esteróide lhe confere vantagens como lenta metabolização, maior afinidade pelo receptor androgênico e resistência à aromatização a estradiol (Kuhn, 2002).

Os esteróides anabólicos sintéticos produzidos pela indústria farmacêutica são apresentados de diversas formas: creme, spray nasal, supositório, selo de fixação na pele e sublingual, porém os mais conhecidos são os orais, em forma de comprimidos e injetáveis, sendo que estes devem ser utilizados via intramuscular e não intravenosa ou subcutânea (Ribeiro, 2000). Os agentes orais, tais como os 17 α -alquilados, estão associados à toxicidade do fígado, como icterícia, carcinoma hepático e peliose hepática (Mottram & George, 2000). A alquilação na posição 17 α retarda marcadamente a metabolização hepática, aumentando a efetividade oral (Lukas, 1993). Estes derivados são bem absorvidos pelo estômago e excretados rapidamente do corpo devido a sua meia-vida curta, sendo altamente potentes, porém mais tóxicos ao fígado do que os injetáveis (Lise *et al.*, 1999). A icterícia deve-se a estase e acúmulo de bile em porções centrais dos lóbulos hepáticos, sem obstrução dos ductos maiores e, se ocorre, é geralmente após 2 a 5 meses de uso. Os testes de função hepática como a bilirrubina e fosfatase alcalina mostram-se elevados. A severidade das alterações é dose dependente. As anormalidades na função hepática são geralmente reversíveis com a descontinuação da droga (Thein *et al.*, 1995). A colestase está quase sempre associada ao uso de derivados 17 α -alquilados, mas o mecanismo de ação não está claro. A colestase induzida por esteróides é, usualmente, rapidamente reversível após a parada do uso, raramente perdurando por vários meses (Yoshida *et al.*, 1994). Alguns dos agentes orais administrados mais comuns incluem oximetolona (Anadrol®), oxandrolona (Oxandrin®/Anavar®), metandrostenolona (Dianabol®), estanozolol (Winstrol®),

oximetazona (Hemogenin®) e mesterolona (Proviron®) (Smith & Perry 1992; Kuhn, 2002; CEBRID, 2003). Os compostos orais se mostram mais potentes e tóxicos em relação aos esteróides injetáveis (Thein *et al.*, 1995) e por isso são evitados ou utilizados em menor quantidade (Santos, 2009).

Os principais esteróides anabolizantes, em sua grande maioria com uso injetável, são: estanozolol (Winstrol®), decanoato de nandrolona (Deca-Durabolin®), fenilpropionato de nandrolona (Durabolin®) metenolona (Primobolan®), cipionato de testosterona (Deposteron®) e undecilenato de boldenona (Equipoiense® - uso veterinário). Os mais utilizados no Brasil são: estanozolol (Winstrol®) e a decanoato de nandrolona (Deca-Durabolin®) (Santos; CEBRID 2003). Dentre estas drogas, o decanoato de nandrolona, também chamado de 19-nortestosterona é o EAA mais utilizado e preferido entre os praticantes de esportes de força (Ribeiro, 2000; Iriart & Andrade, 2002; Evans, 2004), e o exercício anaeróbico (Cunha *et al.*, 2005b; Grogan *et al.*, 2006), além de ser o mais disponível no mercado. Apresenta mínima toxicidade ao fígado (Ribeiro, 2000), além de efeitos favoráveis no metabolismo do cálcio (CEBRID, 2003). Segundo Santos (2003) as drogas mais androgênicas são: Hemogenin® e Dianabol®. E as mais anabólicas são: Winstrol®, Deca-Durabolin®, Oxandrolona® e Equipfort®. Durante as Olimpíadas de Sidney (2000) a nandrolona foi o esteróide anabólico que ganhou destaque após a revelação do exame de diversos atletas importantes de modalidades esportivas que geralmente não empregavam anabolizantes (Silva *et al.*, 2002). Comparativamente à testosterona, apresenta maior ação anabólica e menor atividade androgênica (Wilson, 1988). Quando a nandrolona entra na célula sofre ação da enzima 5 α -redutase. Entretanto, o metabólito resultante, ao contrário da diidrotestosterona (DHT) – o metabólito da testosterona - tem baixa afinidade pelo receptor androgênico. Esta conversão ocorre em grandes proporções nos órgãos sexuais, devido às altas concentrações da enzima 5 α -redutase, e, em menor escala, nos músculos esquelético e cardíaco. Assim, os efeitos androgênicos da nandrolona são menores do que os da testosterona. E, nos músculos, onde a presença de 5 α -redutase é menor, a própria nandrolona interage com os receptores para esteróides, produzindo respostas anabólicas relativamente maiores (Celotti & Cesi, 1992). Alguns estudos têm demonstrado efeitos no aumento da massa muscular em atletas treinados, sob

determinado regime e dose (Hartgens *et al.*, 2001) e força muscular (Friedl *et al.*, 1991) embora haja estudos que não demonstrem tais efeitos (Fahey & Brown, 1973). Como consequência, o decanoato de nandrolona tem sido relacionado ao *doping* esportivo, principalmente porque a massa muscular e força são fatores decisivos e assim foi banido pelo Comitê Olímpico Internacional (COI) em 1974 (Bagchus *et al.*, 2005). Além do mais, dentre os EAA, o decanoato de nandrolona ou Deca-Durabolin[®] tem sido amplamente utilizado por se tratar de uma preparação anabólica injetável com ação prolongada de até três semanas após administração intramuscular em humanos (Kramer, 1990) sendo que após sua administração é gradualmente liberada no fluido extracelular onde os ésteres são rapidamente hidrolizados para liberar o esteróide biologicamente ativo, a nandrolona. Diferente da testosterona, a nandrolona não possui o grupo metil (CH₃) na posição 19 e é combinada com o ácido decanóico (Mottram & George 2000; Tylicki *et al.*, 2007). Em humanos a dose utilizada varia entre 50 e 300 mg/semana. O pico de concentração sérica após a primeira injeção de nandrolona é alcançado entre o primeiro e o terceiro dia após aplicação, e a meia-vida acontece entre o sétimo e o vigésimo dia (Bagchus *et al.*, 2005). Os metabólitos da nandrolona, 19-norandrosterona e 19-noreticolanona são usados como marcadores urinários de *doping*, e que podem ser detectados após 6 meses de uma única injeção intramuscular de 150 mg de decanoato de nandrolona (Bagchus *et al.*, 2005).

A indicação terapêutica dos EAA está principalmente associada a quadros de hipogonadismo e deficiência do metabolismo protéico (Cunha *et al.*, 2004), assim como em tratamentos de anemias e doença renal crônica, por estimularem a síntese de eritropoetina e a eritropoiese; no tratamento da insuficiência renal aguda, por causarem diminuição na produção de uréia (Ballal, *et al.*, 1991; Berns *et al.*, 1992) e em casos de osteoporose, por estimularem osteoblastos (Gordon *et al.*, 1999) e diminuírem a dor óssea (Lise *et al.*, 1999). Todavia, o uso não terapêutico destas substâncias tem aumentado no cenário mundial (Creutzberg & Schols, 1999; Pizzol *et al.*, 2006), principalmente na área dos esportes, porque atletas e treinadores buscam alternativas para vencer competições utilizando substâncias que melhorem a *performance* (Crist *et al.*, 1983; Brower *et al.*, 1990; Titlestad *et al.*, 1994). Infelizmente eles consideram o uso destas substâncias um risco aceitável na tentativa de buscar a proeza inatingível por

treinamentos convencionais e dietas (Freed *et al.*, 1975). Aliado a isso, os atletas de hoje têm duvidoso conhecimento farmacológico destes esteróides, baseado em experiências subjetivas e relatos de caso, ignorando opiniões dos profissionais de saúde. Infelizmente o uso destas substâncias não se limita a atletas de elite, tais como atletas olímpicos, fisiculturistas e/ou levantadores de peso (Yesalis *et al.*, 1990), abrangendo também atletas amadores e praticantes de atividade física. Até por isso, os EAA são os agentes mais estudados dentre todos aqueles que objetivam a melhora da *performance* (Kutscher *et al.*, 2002). Entretanto a literatura em geral mostra limitações no que diz respeito aos efeitos benéficos destes compostos já que os trabalhos divergem quanto às metodologias empregadas relacionadas às doses, frequência e duração do uso e, conseqüentemente, obtêm conclusões passíveis de questionamentos (Kutscher *et al.*, 2002).

Os conhecimentos que os fisiculturistas possuem sobre os danos causados à saúde pelos anabolizantes que utilizam, muitas vezes, não possuem relação com as suas propriedades farmacológicas. As informações sobre os efeitos colaterais são oriundas da experiência pessoal, da observação de colegas da academia e dos relatos de casos vivenciados por amigos ou conhecidos, nos quais o uso dessas substâncias acarretou sintomas graves. Os sintomas menores e temporários tais como cefaléia, náuseas, tonturas, irritabilidade, acne, febre e aumento dos pêlos corpóreos, com o tempo, passam a ser percebidos pelos usuários de anabolizantes como normais. Não transparece no discurso dos usuários preocupação com os possíveis efeitos a longo prazo que o uso contínuo dessas substâncias possa produzir (Iriart & Andrade, 2002). “*A gente toma em uma segunda, quando é na terça a gente já sente febre, dor de cabeça, aqueles efeitos colaterais. (...) A primeira vez que eu tomei, fiquei com medo. Depois, todo mundo dizia que dava febre mesmo, dava dor de cabeça, eu acabei me acostumando e achando normal*” (fisiculturista, 29 anos). Entre os iniciantes, a desinformação quanto aos seus efeitos sobre a saúde é ainda maior. No desejo de rapidamente hipertrofiar seus músculos e sem consciência do risco que incorrem, eles muitas vezes exageram nas doses injetadas, na expectativa de potencializar seu efeito: “*Tem que tomar tanto, 1ml, 2ml. Só que eles pensam que se tomar 5ml eles ficam mais rápido ainda. Aí acaba tomando 5ml como tem um caso lá recente, que um colega tomou parece que foi 10ml de ADE, um negócio que pra cada 50kg tem que tomar 1ml, o animal, um cavalo. Aí ele*

tomou 10ml e parou no hospital, teve convulsão” (fisculturista, 22 anos) (Iriart & Andrade, 2002).

A análise dos artigos científicos que avaliam o efeito dos EAA na *performance* atlética sugere que há evidências limitadas para suportar a eficácia destas drogas na *performance* atlética (Yesalis & Bahrke 1995). Muitos estudos apresentam importantes falhas metodológicas em relação às doses e estratégias de administração quando comparados com o uso geral (Kutscher *et al.*, 2002). Por outro lado, embora os benefícios potenciais associados com o uso de EAA permaneçam questionáveis, os efeitos colaterais imediatos e a longo-prazo são bem estabelecidos. Dentre estes, podem ser citados os efeitos hepáticos, músculo-esqueléticos, virilizantes, imunológicos, endócrino/reprodutivos, metabólicos relacionados à intolerância à glicose e aumento da resistência à insulina, dermatológicos, psiquiátricos e cardiovasculares, ocasionados pela administração de doses supra-fisiológicas (Laroche, 1990; Kuipers *et al.*, 1991; Yesalis, 1993; Huie, 1994; Ferenchick *et al.*, 1995; Fischer *et al.*, 1996; Gruber & Pope Jr, 2000; Fineschi *et al.*, 2001), independentemente se são utilizadas em ciclos ou ao longo de anos (Thein *et al.*, 1995; Kutscher *et al.*, 2002). Há também evidências de prejuízo à atividade física em trabalhos relacionados ao aumento de danos nos tendões, principalmente envolvendo levantadores de peso que abusam de EAA. Isto ocorreria primeiro porque o aumento na força muscular é superior à força adquirida pelo tendão, já que estes respondem lentamente ao treinamento de força e os EAA proporcionam pouco ou nenhum efeito na força do tendão. Além disso, os esteróides podem inibir a síntese de colágeno, um importante constituinte de tendões e ligamentos, e, por fim, os EAA parecem induzir mudanças no arranjo e na contratilidade das fibras colágenas nos tendões, permitindo alterações críticas na plasticidade deste tecido (Laseler & Russell, 1991).

A administração de EAA produz efeito inibitório dose-dependente sobre a secreção do hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo-estimulante (FSH) em homens por meio de um mecanismo de *feedback* negativo no eixo hipotálamo-hipófise gonadal (Gill, 1998; Jarow & Lipshultz, 1990; MacIndoe *et al.*, 1997) e da testosterona plasmática (Stromme *et al.*, 1974; Holma & Adlercreutz, 1976; Clerico *et al.*, 1981). Os efeitos resultantes destas mudanças fisiológicas incluem atrofia testicular e alterações

seminais (contagem de espermatozóide por mL, motilidade e morfologia, conteúdo total de esperma, índice de fertilidade) (Holma, 1977; Hickson *et al.*, 1989; Yates *et al.*, 1999; Bonetti *et al.*, 2008), alterações prostáticas (diminuições no volume, no comprimento total da glândula, epitélio e feixe de colágeno) (Karbaly-Doust & Noorafshan, 2006), e alterações testiculares (peso, volume, diâmetro e comprimento dos túbulos seminíferos de ratos) (Noorafshan *et al.*, 2005) . Ainda mais assustador é o fato de que muitos fisiculturistas conhecem estes efeitos e utilizam agentes para estimular a secreção de LH e testosterona endógena, como por exemplo, a gonadotrofina coriônica humana (hCG), além de consumirem tiroxina para aumentar o metabolismo basal (Littlepage, 1993). Os EAA também podem favorecer a feminilização em homens devido à aromatização da testosterona em metabólitos de estrogênio. Como resultado muitos usuários reportam aumento no tom de voz e ginecomastia, embora a intensidade destes efeitos seja imprevisível. Novamente, para antagonizar estes efeitos, os usuários de EAA utilizam-se de agentes antiestrogênicos, como por exemplo, o tamoxifeno. Em mulheres, o uso de EAA pode induzir o hirsutismo, caracterizado por crescimento excessivo de pêlos terminais, acnes, alterações no tom de voz, hipertrofia no clitóris, diminuição das mamas, diminuição da menstruação (amenorréia), aumento do apetite e calvície (Kutscher *et al.*, 2002).

Apesar da falta de evidências conclusivas, e considerando as restrições éticas para com a realização de estudos cientificamente aceitáveis, usuários de EAA continuam a defender o ponto de vista de que os efeitos destes compostos são eficazes, utilizando-os desenfreadamente sem considerar riscos (Catlin & Hatton, 1991). Este ponto de vista é reforçado pela autopercepção de que os efeitos colaterais associados a estas drogas são menores do que seus benefícios (Sylvester, 1995). O nível de informação e a educação disponível para os mesmos são paupérrimas, sendo que fontes de internet e relatos de caso são suficientemente aceitáveis para o estabelecimento do uso destas substâncias. Há a necessidade de uma efetiva rede de comunicação envolvendo a literatura baseada em evidências científicas e o fácil acesso destas para alertar este tipo de população e assim, conscientizá-la dos graves riscos em consumir tais substâncias (Mottram & George 2000).

O estudo de Conceição *et al.* (1999) justamente apresenta, de forma preocupante, números que quantificam o grande contingente de usuários EAA. Os dados mostram que 24% dos indivíduos praticantes de musculação em academias de Porto Alegre (RS) usavam EAA; em 34% dos casos, as drogas eram utilizadas por vontade própria, 34% por indicação de outros usuários de EAA, 19% por indicação de amigos, 9% por indicação de professores e apenas 4 % sob prescrição médica. O EAA mais utilizado foi a nandrolona, em 37% dos casos. Demonstrou-se também que 80 % dos indivíduos utilizavam mais de um EAA e 35% experimentaram dependência física e psicológica. As principais motivações ao consumo dessas substâncias foram o desenvolvimento de força (42%), estética (27%) e a melhora do desempenho físico (18%). Mais alarmante é que uma pesquisa realizada com cem homens, maiores de 18 anos, freqüentadores de 10 academias de musculação em Campinas detectou que 68% desta população consome algum tipo de substância ergogênica - variando de suplementos alimentares a esteróides anabolizantes e estimulantes – e dentre estes consumidores, 10% confirmaram o uso de anabolizantes. A situação se agrava na medida em que essas substâncias são utilizadas sem a orientação de profissionais habilitados, sendo vendidas indiscriminadamente em academias e na internet. O estudo mostra que 10% dos consumidores adquirem os produtos nas próprias academias e outros 16% pela internet, o que pressupõe falta de informação sobre os riscos à saúde, apesar de 39% deste contingente consumidor de substâncias ergogênicas ter concluído curso superior e 17% cursar a pós-graduação. Aumentar a massa muscular e garantir melhor *performance* esportiva foram os motivos alegados por 63% dos consumidores. Setenta e dois por cento deles afirmam que compram os produtos em lojas do segmento (Santos, 2009). O Ministério da Justiça alerta a população sobre os riscos do uso de substâncias destinadas a uso veterinário de equinos em humanos. Ocorre também o consumo de produtos importados ilegalmente ou fabricados em outros países com bula em língua estrangeira ou sem bula. Alguns destes produtos são falsificados e vendidos em ampolas não esterilizadas (Ministério da Justiça, 1998).

Um dado relevante, observado entre estes usuários, foi o índice significativo de indivíduos com suspeita de dismorfia muscular – também conhecida como vigorexia. Trata-se de uma doença psicológica em que a pessoa, mesmo sendo forte e

desenvolvida, se enxerga “pequena”. Entre os não-consumidores, nenhum obteve este diagnóstico. No entanto, outros estudos devem ser feitos para confirmar a informação (Santos, 2009). A dismorfia muscular é um quadro ainda pouco estudado, mas que parece ser prevalente entre indivíduos do sexo masculino (Assunção, 2002). A preocupação excessiva com o corpo e os transtornos relacionados a alterações de imagem corporal pareciam acometer, até recentemente, quase que exclusivamente indivíduos do sexo feminino. No entanto, estas alterações têm sido cada vez mais descritas em indivíduos do sexo masculino. (Pope *et al.*, 1993; Cohane & Pope Jr, 2001; Olivardia, 2005). Ao contrário das mulheres que procuram ficar magras, indivíduos do sexo masculino preocupam-se em se tornar cada vez mais fortes e musculosos. A dismorfia muscular, quadro associado à distorção de imagem corporal em homens, parece ser uma resposta equivalente àquela feminina em se adequar ao padrão corporal ideal, descrito e apreciado socialmente (Assunção, 2002).

As principais causas apontadas para uso de esteróides anabolizantes incluem insatisfação com a aparência física e baixa auto-estima, pressão social, o culto pelo corpo que a nossa sociedade tanto valoriza, a falsa aparência saudável e a perspectiva de se tornar símbolo sexual constituem motivos para o uso/abuso destas drogas (Ribeiro, 2000). Isto pode ser evidenciado no estudo de Iriart & Andrade (2002), os quais observaram que grande parte dos usuários de EAA eram jovens com idade entre 17 e 37 anos, do sexo masculino, que trabalhavam como vigilantes, seguranças, guardadores de carro e estudantes. Em suas narrativas frequentemente fizeram alusão à admiração neles suscitada pela visão de corpos fortes e musculosos que passam a ser tomados como modelo de corpo ideal, e servem de estímulo para o início da musculação: *“Eu comecei a treinar com 14 anos. Comecei a gostar porque eu via (os outros treinando), eu achava bonita a pessoa com o corpo bem definido...”* (fisculturista, 29 anos) (Iriart & Andrade, 2002).

Os fisiculturistas utilizam com frequência em sua narrativa, expressões que remetem ao “desejo de crescer”, “ficar grande”, “ficar forte”, “bombar”, de forma a chamar a atenção das pessoas, através de um corpo dilatado e com “músculos bem definidos”. A fisicultura surge como uma possibilidade de construção identitária sendo que o corpo se torna um instrumento privilegiado, por meio do qual a pessoa busca

reconstruir o “eu”. A repercussão externa da imagem corporal passa a ser extremamente valorizada pelos fisiculturistas, que se percebem como possuidores de um corpo modelo, símbolo de masculinidade, admirado e invejado pelos homens, e desejado pelas mulheres. O aumento dos músculos e a sua manutenção tornam-se uma obsessão para os fisiculturistas, que competem entre si, comparando suas medidas de braços e pernas. Relata-se uma freqüente insatisfação com suas medidas corporais, por maiores que essas sejam, o que remete à existência de uma dicotomia entre o corpo real e o corpo ideal: *“Rapaz, a gente passa a amar nosso...você se gosta mais ainda. Porque você olha pra sua perna e vê sua perna grossa, você olha pra seu peito e vê seu peito grande, olha pra seus bíceps e vê eles aumentando, então você passa ... se amar mais ainda, se cuidar mais ainda”* (fisiculturista, 33 anos - Iriart & Andrade, 2002). O corpo é utilizado como um utensílio de investimento, tornando-se um corpo para ser visto e voltado para o consumo. O estudo revela que o consumo de anabolizantes tem início logo após os primeiros meses de contato dos iniciantes com os colegas de musculação na academia. A observação de alunos iniciantes na academia que conseguiram desenvolver massa muscular consideravelmente maior, no mesmo tempo de prática, leva os novatos a procurar informações sobre as razões desse fato. O início do uso ocorre de maneira muito simples: *“Primeiro (...), tá vendo a pessoa que tá lá, com mais tempo de academia, aí vai se chegando, procurando saber como a pessoa tá forte... Aí, procura saber como é pra ficar forte rápido, em dois, três meses ficar...aumentar o peso rapidamente, aí o colega vai e ensina. Diz a ele. Ele procura saber o nome, a gente dá o nome, ele vai lá e compra(...) quando eles perguntam como é que toma, a gente explica tudo direitinho a eles, como é que toma, como a gente tomou né”* (fisiculturista, 22 anos - Iriart & Andrade, 2002). A impaciência com o tempo necessário para o desenvolvimento da massa muscular por meio do treinamento físico é uma característica destes usuários que não se contentam com a lentidão do crescimento muscular, e com os resultados obtidos por meio de uma suada musculação destituída de ajuda química. O anabolizante é visto como uma droga poderosa que permite ao organismo trabalhar mais rapidamente, proporcionando resultados quase mágicos: *“É pra ter o resultado rápido, né, chegar rápido ao nosso objetivo, que é ficar forte, criar massa muscular, ganhar peso. Uma Deca-durabolim misturada com Estradon-P, ela dá um desenvolvimento*

corporal bastante excessivo, chega ao ponto de aumentar um quilo e meio a dois quilos por semana” (fisiculturista, 29 anos - Iriart & Andrade, 2002). “O efeito positivo é de aproximadamente 37, 38 cm de braço, foi pra 40, 42 centímetros. Aí fica todo mundo surpreso, aquele negócio, você nem acredita quando você se olha no espelho e você se vê forte” (fisiculturista, 22 anos - Iriart & Andrade, 2002). Associado ao imediatismo de resultados, o “corpo ideal”, como é desejado pelos fisiculturistas, caracteriza-se não apenas pela massa muscular, mas também pelo delineamento dos músculos: “Ver alguém ‘empenado’ naturalmente, só com produtos naturais, ficar com o corpão enorme, todo definido, todo gigante, tem condições? Não existe! Tem que ter muito produto químico dentro do corpo!” (fisiculturista, 27 anos - Iriart & Andrade, 2002). O culto ao corpo musculoso, que estimula a competição entre os frequentadores da academia pela escolha do mais forte, do que tem os músculos mais bem definidos ou de quem tem o corpo que atrai mais atenção nas ruas, contribui para o aumento do consumo de anabolizantes. Esse consumo atinge seu ápice nos meses que antecedem o carnaval, mais precisamente a partir do mês de outubro, quando os fisiculturistas se preparam para as festas populares de verão cujo objetivo é estar com o corpo bem desenvolvido para ser exibido.

Diferentemente de “atletas amadores”, atletas profissionais “renomados” que gozam de fama por suas conquistas, e frequentemente são expostos aos noticiários da mídia, também estão envolvidos no consumo ilegal de anabolizantes. Infelizmente, nos últimos anos, alguns denominados “astros” do esporte, em quem muitos adolescentes se inspiram, são lembrados por suas vitórias, mas que foram mascaradas pela confirmação de *doping*. Segundo o Comitê Olímpico Internacional (COI), *doping* é definido como o uso de qualquer substância endógena ou exógena em quantidades ou vias anormais com a intenção de aumentar o desempenho do atleta em uma competição (Goldwire & Price, 1995). A mídia internacional quase sempre veicula escândalos envolvendo atletas, treinadores e esportistas em virtude do uso indevido de esteróides anabolizantes (Ribeiro, 2000). Caso muito famoso e destacado pela imprensa esportiva foi o do medalhista olímpico canadense Ben Johnson nos Jogos de Seul 1988 após uma exibição portentosa nos 100m, batendo os adversários com facilidade, foi flagrado num

exame antidoping, acusado de consumo de estanozolol. Johnson foi desclassificado, perdeu a medalha de ouro e foi suspenso (Ladeiras, 2008).

Um caso muito famoso no Brasil foi o da nadadora Rebeca Gusmão que ganhou quatro medalhas nos Jogos Pan-Americanos do Rio de Janeiro em 2007, sendo a primeira brasileira a ganhar uma medalha de ouro nos Jogos, foi flagrada no exame antidoping com alto índice de testosterona. *“Eu conto com a vantagem de ter uma produção acima do normal para uma mulher, então eu não precisava fazer uso de testosterona. Posso falar que esse é meu doping natural - disse a atleta ao Jornal Nacional, da TV Globo”*. Rebeca, em 2006 já havia desmaiado após a final dos 50m livre do Troféu José Finkel de Natação. Na época, a atleta alegou acúmulo de fatores, como cansaço, asma e até um sanduíche estragado para o mal-estar. Sobre o físico avantajado, a nadadora explicou que a causa seria um problema no ovário, que causaria o aumento da massa muscular e de peso (site: www.globoesporte.com. 05/11/2007; Acesso em 21/01/2010). Recentemente, atletas da equipe brasileira de atletismo foram flagrados no exame antidoping realizado, fora do período de competições, pela Confederação Brasileira de Atletismo (CBAt) (Zukeran, 2009). Mesmo assim, no Brasil, a preocupação maior é com o adolescente que, no seu imediatismo, busca ganhar massa e músculos rapidamente e desenvolver um corpo atlético a curto prazo. Para isso, se rende aos anabolizantes, muitas vezes receitados por instrutores e professores de educação física, que indicam ou vendem essas drogas, facilmente adquiridas em farmácias, apesar da exigência de receita médica, e da tarja vermelha com a inscrição “venda sob prescrição médica” na embalagem (Ribeiro, 2000). No ano de 2000, o Presidente da República Fernando Henrique Cardoso sancionou uma Lei que tornou a venda de esteróides ou peptídeos anabolizantes restrita a farmácias ou drogarias, mediante a apresentação e retenção da cópia carbonada de receita emitida por médico devidamente registrado no Conselho Federal de Medicina (ANVISA, 2000). No entanto, o controle rígido sobre estas substâncias favorece o mercado paralelo, geralmente denominado como “máfia das academias” (Lima, 1999). Atualmente, o conceito de “educação preventiva” tem ganhado destaque com o objetivo de adotar medidas que visem à formação da consciência dos indivíduos em seus contextos históricos e em suas relações sociais, a formação da personalidade, do caráter e da construção de diversos

valores indispensáveis ao convívio pessoal e social (Costa, 1981). A educação preventiva engloba a valorização da vida, a saúde, os direitos individuais e coletivos, a ecologia e as relações sociais. O importante é que crianças, adolescentes e adultos jovens, saibam muito e corretamente sobre este tema, porém o fundamental é que, além deste conhecimento indispensável à consciência sobre o problema, tenham autocríticas e responsabilidade bem definidas enquanto seres humanos. A família e a escola se configuram como um dos instrumentos e ferramentas mais importantes para a implementação de propostas preventivas (Silva, 2010).

Outro fator imprescindível que merece destaque, e além de tudo muito preocupante, é o fato de suplementos nutricionais conterem EAA, muitas vezes ocultadas dos rótulos dos produtos. Um estudo realizado entre 2001 e 2002 avaliou 634 suplementos nutricionais, adquiridos em 13 países diferentes, e mostrou que aproximadamente 15% de suplementos nutricionais não-hormonais, tais como minerais, vitaminas, proteínas, e creatina continham EAA (principalmente pró-hormônios) não informados na embalagem do produto (Geyer *et al.*, 2004).

Embora haja muitos estudos com EAA, não há consenso entre os pesquisadores em relação à sua eficácia como agentes ergogênicos. Os mecanismos de ação dos EAA incluem: aumento da síntese protéica (Kadi *et al.*, 1999; Sheffield-Moore 2000); diminuição da degradação protéica (Yesalis, 1993); aumento no número de mionúcleos; ativação de células satélites e aumento no número de receptores androgênicos (Kadi, 2000). A função das células satélites é controversa, já que este mecanismo está estreitamente associado ao reparo muscular decorrente do treinamento de força. Após a lesão muscular, ocasionada pelo treinamento físico, as células satélites são recrutadas como o veículo primário no reparo muscular. Alguns autores sugerem que o aumento da estimulação das células satélites forneceria mais núcleos às fibras musculares. Como os receptores androgênicos estão localizados nos mionúcleos, (Takeda *et al.*, 1990) o aumento do número nuclear aumentaria o número de sítios de ligação do receptor androgênico, tornando assim o músculo mais susceptível a compostos anabólicos. O número de células satélites disponíveis entre usuários de EAA e não-usuários não diferem (Kadi *et al.*, 1999). Assim sendo, os EAA não parecem interferir na hipertrofia muscular pelo aumento no número de células satélites no

músculo após a lesão, o que contradiz a crença da maioria dos fisiculturistas, de que os EAA melhoram a recuperação muscular após um treinamento físico intenso. Até por isso, o uso ilícito dos EAA dá-se por atletas que acreditam que essas drogas aumentam a massa muscular, a força física e a agressividade em competições, e diminuem o tempo de recuperação entre exercícios intensos (Thein *et al.*, 1995; Goldberg *et al.*, 1996).

Uma hipótese discutida é em relação à hipertrofia muscular decorrente exclusivamente da administração de EAA, não associada a um programa de treinamento físico. Bhasin *et al.* (1996) observaram que a administração de testosterona poderia aumentar o tamanho e a força muscular em homens normais, sem a presença de treinamento resistido. Ariel & Saville (1972) mostraram que a expectativa dos atletas nos ganhos de força, decorrente da utilização de EAA, poderia causar crescimento muscular independente do uso de EAA. Quinze homens participantes da pesquisa foram informados que alguns deles seriam selecionados para receber EAA. Ao invés disso, todos receberam placebo e apresentaram significativo aumento de força (Kutscher *et al.*, 2002). É reconhecido que os EAA podem aumentar a força muscular por meio de efeitos psicológicos (Thein *et al.*, 1995). Atletas que utilizam EAA, frequentemente, relatam aumento da agressividade, e diminuição da fadiga, que permitem a eles treinarem em maiores intensidades por uma longa duração (Landry & Primos, 1990). Logo, os estudos citados acima mostram a importância de estudos rigidamente controlados, que possam considerar os efeitos placebo em comparação à utilização de EAA.

Os estudos que evidenciam efeitos psicológicos/psiquiátricos decorrentes do uso destas substâncias apresentam limitações. Porém, triagens clínicas, relatos de caso, e estudos com animais mostraram que os EAA podem provocar comportamentos agressivos, mudanças de humor (Pope & Katz, 1988; Conacher & Workman, 1989) e de ansiedade (Rocha *et al.*, 2007). Efeitos colaterais psicológicos do abuso de EAA incluem euforia, irritabilidade, mudanças na libido, mania, e psicose (Pope & Katz 1988, 1994; Silva *et al.*, 2007). Publicações científicas têm chamado a atenção para mudanças de humor e dependência psíquica entre os usuários, durante o período de utilização dessas substâncias (Kleinman, 1990; Choi & Pope Jr. 1994; Lise *et al.*, 1999). Estudos entre atletas usuários e não-usuários de EAA, demonstraram que os primeiros apresentam maior agressividade, impulsividade e menor cooperatividade do que os

demais (Burnett & Kleiman, 1994). A agressividade, um sintoma muito frequente, foi implicada em mais de um caso em que usuários cometeram crimes, inclusive assassinatos (Pope & Katz 1994; Thein *et al.*, 1995; Scott *et al.*, 1996). Não se sabe, entretanto, se há maior agressividade nos indivíduos que usam EAA ou se indivíduos mais agressivos fazem mais uso de EAA, bem como não se sabe se é o uso dos EAA, especificamente ou de outras drogas associadas, que geram tais comportamentos (Scott *et al.*, 1996). No estudo de Iriart & Andrade (2002) os informantes relataram dificuldade em deixar de usar anabolizantes, referindo sentir desânimo e falta de energia para malhar quando não estão sob o efeito dos mesmos. Em alguns usuários, a dependência parece se manifestar de forma semelhante à que ocorre com quem utiliza substâncias psicoativas, produzindo comportamentos como a “fissura” que se caracteriza pela necessidade premente de consumo das substâncias. Atletas também podem desenvolver depressão clínica durante a retirada dos esteróides (Thein *et al.*, 1995). Os estudos estabelecem que estes efeitos são observados mediante a altas doses administradas. Alguns autores concluem que os EAA causam dependência química e sugerem que a insatisfação com o tamanho do corpo permite a dependência do seu uso (Kutscher *et al.*, 2002). Pode ser que estes efeitos sejam decorrentes da atuação dos esteróides no sistema nervoso central, já que foi constatado que eles podem atravessar a barreira hematoencefálica (Pouliot *et al.*, 1996). O conhecimento dos efeitos colaterais destas substâncias pode ajudar o profissional de saúde a reconhecer os sinais provenientes do abuso de EAA, e principalmente educar o paciente a respeito dos efeitos deletérios a longo prazo (Thein *et al.*, 1995).

Para avaliar se existe um efeito do EAA nos ganhos de força e da massa muscular, o atleta deveria ser estimulado com exercícios específicos, intensivamente, associado com a utilização de esteróides, antes e durante o treinamento físico, sempre mantendo uma dieta hipercalórica e hiperprotéica (Goldwire & Price, 1995; Thein *et al.*, 1999). Nesta perspectiva, indivíduos que tinham experiência em musculação e que continuaram a treinar durante a utilização de EAAs, consistentemente, vivenciaram aumentos na força além daqueles observados em indivíduos controles que apenas treinavam (Haupt & Rovere, 1984; Friedl *et al.*, 1991). Tingus & Carlsen (1993) não encontraram melhoras significantes no crescimento e na força contrátil de músculos

esqueléticos das patas posteriores de camundongos, com distrofia muscular de Duchenne, que receberam estanozolol. Os autores concluíram que os esteróides anabólicos não possuem nenhum efeito ergogênico na ausência de exercício de alta intensidade ou na atrofia muscular. O fato é que nem aumento do peso, nem aumento da força podem ser consistentemente observados quando atletas usam EAA em doses farmacológicas, em estudos duplo-cego. No entanto, ainda faltam estudos em que a administração dos EAA é feita com um dos padrões habitualmente utilizado pelos atletas, o que poderia comprovar esta eficácia dos agentes em questão (Wilson, 1988). Além do mais, os efeitos de altas doses ou a administração por longa duração (meses e anos) de EAA nas capacidades físicas e fisiológicas não têm sido documentados (Bahrke & Yesalis 2004).

Outra característica dos EAA é seu efeito anticatabólico. O treinamento promove efeitos catabólicos provenientes da ação dos glicocorticóides, gerando um balanço nitrogenado negativo. O corpo responde a este balanço negativo pela utilização dos estoques de proteína para reverter a um balanço nitrogenado positivo (Thein *et al.*, 1995; Kutscher *et al.*, 2002). Os EAA aceleram este processo se seu uso for acompanhado dieta rica em proteínas. O uso dos EAA em indivíduos normais e treinados acelera a síntese protéica dentro da célula muscular, o que por sua vez, resulta um balanço nitrogenado positivo (Thein *et al.*, 1995). Como indivíduos normais não estão em balanço nitrogenado negativo, os efeitos os EAA são de curta-duração. Isto explica porque os usuários de EAA relatam que quanto mais eles treinam e ingerem proteínas, concomitante ao uso de EAA, mais eles “crescem”. Além disso, os EAA competem com os glicocorticóides, principalmente o cortisol, por seus receptores. Esta competição pode ajudar a reverter o balanço nitrogenado negativo induzido pelo treinamento. Portanto, a crença de alguns atletas de que os EAA têm um efeito anticatabólico resultando em um balanço nitrogenado positivo é correta (Kutscher *et al.*, 2002).

A maioria dos fisiculturistas assume que o aumento no número de receptores androgênicos e aumento da massa muscular são dependentes da dose de EAA utilizada (Kutscher *et al.*, 2002). A densidade do receptor androgênico das fibras musculares varia em função do tipo de músculo. Kadi *et al.* (2000) mostraram que as fibras

musculares contendo receptor androgênico são altamente seletivas, o que poderia explicar as diferentes características fenotípicas observadas em fisiculturistas, principalmente em músculos como trapézio e deltóide, resultado de uma *up-regulation* do receptor androgênico nestas áreas. Quando um hormônio se liga ao seu receptor androgênico nuclear, este complexo hormônio-receptor é transferido para o interior do núcleo da célula muscular. Dentro do núcleo este complexo liga-se a regiões complementares do DNA para ativar o RNA transportador e produzir RNA mensageiro que codifica uma variedade de enzimas e proteínas. A ação que eventualmente ocorre é a *up* ou *down-regulation* dos receptores androgênicos, aumento da síntese protéica e possivelmente um aumento de mionúcleos na fibra muscular (Kadi *et al.*, 1999). Embora efeitos aditivos da testosterona e exercício resistido sobre o tamanho e força do muscular tenham sido observados em homens normais (Bhasin *et al.*, 1996) e tenha sido relatado que o exercício resistido aumenta a concentração do mRNA do receptor androgênico e/ou sua afinidade à diidrotestosterona, em músculos de ratos e de humanos (Deschenes *et al.*, 1994; Bamman *et al.*, 2001), cabe ressaltar que outros estudos revelaram a inexistência de efeitos significativos dos EAA sobre as adaptações desencadeadas pelo treinamento físico (Cunha *et al.*, 2005a; Cunha *et al.*, 2006) e o desempenho atlético, destacando a importância de efeitos placebo ou uso de doses excessivas (Wilson, 1988; Cunha *et al.*, 2004).

O treinamento resistido, ou também chamado de treinamento de força, envolve a ativação voluntária de músculos esqueléticos específicos contra alguma resistência externa que é fornecida pela própria massa corporal, pesos livres ou máquinas específicas (Winett & Carpinelli, 2001) e é conhecido por ser um método efetivo de melhora da capacidade funcional do sistema neuromuscular. Moritani e deVries (1979) foram os primeiros ao demonstrar que os ganhos iniciais na força são oriundos de adaptações neurais (aumento no recrutamento e sincronização de unidades motoras, diminuição na co-contracção da musculatura antagonista, aprendizagem do movimento) sendo que o aumento na área de secção transversa passa a contribuir somente após 6-8 semanas de treinamento. Já Komi & Bosco (1978) investigaram exaustivamente por quase duas décadas a utilização do ciclo alongamento-encurtamento no treinamento de força para o desempenho e melhoria da potência muscular dos

membros inferiores. Eles elevaram em um novo nível de entendimento a idéia de acúmulo e utilização de energia elástica (Cavagna *et al.*, 1968).

Atualmente o desenvolvimento do conhecimento científico relacionado ao treinamento de força tem se voltado ao estudo das diferentes formas de organização de programas de treinamento (periodização), do esclarecimento dos mecanismos responsáveis pelo aumento da área de secção transversa da musculatura esquelética (hipertrofia), dos efeitos dos diferentes tipos de contração, e da utilização do treinamento de força na melhoria da qualidade de vida da população de idosos (Barbanti *et al.*, 2004). O simples fato de executar exercícios de treinamento de força não garante ganhos ótimos de força e hipertrofia. A efetividade de qualquer programa de treinamento está na aplicação correta de princípios científicos na sua organização, controlando muito bem suas variáveis como: intensidade, volume, intervalo de descanso e frequência de treinamento, aplicando alguma forma de periodização. Desta forma, algum tipo de “periodização” deve ser aplicado. No treinamento de força o termo periodização ganhou uma nova conotação. Tradicionalmente periodização significa a divisão do tempo total de treinamento em períodos específicos com o objetivo de obter o maior rendimento esportivo num determinado momento. Periodização aplicada ao treinamento de força adquiriu o significado de variação sistemática e planeada na distribuição da carga de treinamento. Seu objetivo principal é a otimização do princípio da sobrecarga na tentativa de causar sucessivas adaptações no sistema neuromuscular (Barbanti *et al.*, 2004). Programas de treinamento de força periodizados resultam em maiores ganhos de força que programas não periodizados independente da utilização de séries simples ou séries múltiplas de exercícios (Rhea *et al.*, 2002). Programas periodizados também são mais eficientes que não periodizados para promover maiores alterações na composição corporal (Schiotz *et al.*, 1998) e no desempenho motor (salto vertical, habilidades esportivas) (Kraemer *et al.*, 2000). Contudo, a periodização parece ser necessária somente a partir do momento em que o indivíduo adquire um certo nível de condicionamento de força (Fleck, 1999). Uma grande preocupação neste sentido é justamente o fato de praticantes de musculação, e especificamente os usuários de EAA, não utilizarem tal metodologia como ferramenta para ganhos de força e massa muscular. O que se observa é que praticamente esses indivíduos treinam deliberadamente em

altíssima intensidade, não respeitando os limites do corpo, prejudicando de fato o processo de organização do treinamento periodizado.

Regimes de treinamento caracterizados por um alto volume de treinamento acoplados a intervalos curtos de repouso entre as séries – assim como observado em protocolos de fisiculturistas – estimulam aumentos na circulação do hormônio de crescimento (GH) e testosterona pós exercício com maior grau e duração do que aqueles observados após sessões de levantamento de peso de alta intensidade juntamente com períodos longos de repouso por ex. protocolos de levantadores de peso (protocolo de halterofilista) (Kraemer *et al.*, 1990, 1991; Gotshalk *et al.*, 1997). Em consequência de um treinamento vigoroso, as fibras musculares são replicadas, o que por sua vez, aumenta o número total de receptores androgênicos no grupo muscular requisitado, aumentando os sítios de ligação para os androgênios, que finalmente aumentam o grupamento muscular (Kutscher *et al.*, 2002).

Um efeito dos EAA, menos conhecido pelos fisiculturistas, e muito aceito entre corredores, é o aumento da síntese de eritropoietina, que subsequentemente aumenta o hematócrito e a capacidade de transporte de oxigênio. Devido a estes efeitos os EAA têm sido utilizados no tratamento de anemias (Hickson *et al.*, 1989), como citado no início desta revisão bibliográfica. Embora este aumento na capacidade de transporte de oxigênio pudesse aumentar a performance atlética, isto é parcialmente contrabalanceado pela retenção de sódio e aumento do volume sanguíneo o que, aliado ao aumento do hematócrito, resultaria em um aumento da viscosidade sanguínea (Kutscher *et al.*, 2002). Alguns autores propõem uma associação entre fatores de risco cardiovasculares, uso de altas doses de testosterona e aumento da viscosidade plasmática, como possíveis contribuintes para infarto agudo do miocárdio por oclusão da artéria descendente anterior (Basaria & Dobbs, 1999; Viillard *et al.*, 2000)

De maneira geral, os atletas utilizam o chamado “stack”, uma técnica que consiste no uso de vários tipos de drogas concomitantemente, geralmente em altas doses durante determinados períodos de tempo, chamados de “ciclos” (Thein *et al.*, 1995; Kadi *et al.*, 1999; Kutscher *et al.*, 2002; Cunha *et al.*, 2004), geralmente entre 7 e 14 semanas envolvendo a combinação de agentes orais e injetáveis de longa ação (Freed *et al.*, 1975; Thein *et al.*, 1995). Atletas podem aderir a uma forma de “pirâmide”,

iniciando com baixas doses, aumentando-as gradualmente (por vezes utilizando de 3 a 5 drogas) e decrescendo levemente o uso durante o ciclo, entre 4 e 18 semanas (Thein *et al.*, 1995), sendo que podem consumir de 10 a 100 vezes mais a dose terapêutica (Mottram & George, 2000). Atletas seguem um ciclo de treinamento e administração baseado em fases, denominadas: *work-out phase* caracterizado pela fase de treinamento físico sem utilização de EAA por um período de 8 semanas; *build-up phase*, fase em que os atletas utilizam os EAA e treinam concomitantemente, que perdura entre 8 e 12 semanas; *competition phase* fase de competição (pós-esteróide) em que os atletas dão prosseguimento ao treinamento físico visando a competição não ultrapassando 8 semanas de treinamento (Ebenbichler *et al.*, 2001). Quando, por sua vez, os estudos abrangem atletas amadores e/ou recreacionais fica difícil estabelecer parâmetros que possam subsidiar um estudo fidedigno, já que, infelizmente, os dados disponíveis na literatura referentes ao abuso de altas doses de esteróides anabólicos em humanos são principalmente relatos de caso ou pequenos estudos sem a presença de grupos controles (Stergiopoulos *et al.*, 2008). Modelos de estudo inadequados, incluindo a falta de um grupo placebo (controle), condições não-cegas dos estudos, confiança em relatos de caso ou um grupo muito pequeno da amostra, falta de padronização das dosagens e do regime de treinamento, e o impacto que a expectativa em obter resultados possa gerar são fatores que contribuem para a disparidade nos resultados (Kuhn, 2002).

Apesar destes fatores que, de fato, são determinantes para o delineamento do estudo e seus possíveis resultados, em uma revisão de 25 estudos bem-documentados, Haupt & Rovere (1984) concluíram que as melhoras na força muscular resultante do uso de EAA só seriam observadas se: a) o atleta já estivesse em um programa de treinamento, de levantamento de peso (musculação), extremamente intenso imediatamente antes do regime de EAA, e continuar com este treinamento durante o regime de EAA; b) o atleta deveria manter uma dieta hiperprotéica e hipercalórica; c) a força muscular deveria ser avaliada com uma simples repetição, utilizando exercícios específicos com o máximo de peso, com os quais o atleta já tenha sido habituado.

Para estes usuários, o treinamento físico é realizado com o objetivo de preparar o corpo para a competição ou para melhorar a aparência, e não por razões de saúde. O corpo é tratado como mera ferramenta para atingir objetivos. Por isso atletas

que exibem aparência física saudável nem sempre possuem saúde. Com base nestas considerações é possível entender porque os usuários de EAA consideram favorável e compensador o risco-benefício resultante de tal prática (Wagner, 1989). A certeza de que problemas de saúde mais graves, subseqüentes ao uso de anabolizantes nunca acontecerá com o usuário se reafirma a partir de sua experiência pessoal. O fato dele nunca ter percebido sintomas mais graves e conhecer pessoas que, apesar do alto consumo, nunca manifestaram maiores problemas associados ao uso dos esteróides anabolizantes, faz com que o usuário confie em que é possível utilizar essas substâncias sem comprometer a saúde (Iriart & Andrade, 2002): *“Eu penso assim, eu sei o que eu estou fazendo, sei que aquilo ali prejudica minha saúde. Eu tô tomando, mas sei que eu posso morrer naquela hora ali” (fisculturista, 29 anos). Mas eu prefiro continuar... acho que com fé em Deus não vai acontecer nada comigo. Até agora eu estou tranqüilo. Até agora eu não senti nada. (fisculturista, 29 anos).* É comum entre os fisiculturistas entrevistados a referência a diferentes estratégias para lidar com risco associado ao uso de anabolizantes, de forma a minorá-lo. Alguns informantes afirmam que não se sentem muito em risco porque seguem um padrão de utilização de anabolizantes que eles consideram mais seguro. É importante ressaltar, no entanto, que algumas dessas estratégias protetoras não possuem embasamento científico ou são realizadas de forma incorreta ou pouco sistemática, o que reduz sua eficácia. É o caso, por exemplo, da muito citada prática de, periodicamente, realizar uma limpeza intestinal através da ingestão de chás e laxantes que purificariam o organismo e, supostamente, o prepararia para melhor receber novas doses de anabolizantes. Todavia, isto não possui respaldo nas características farmacológicas dos produtos utilizados (Iriart & Andrade, 2002).

Nos últimos anos têm se destacado os efeitos cardiovasculares em decorrência do abuso de EAA (Sullivan *et al.*, 1998). É reconhecido que a administração de testosterona ou EAA está relacionada ao aumento do risco de hipertensão, alterações no perfil lipídico, (Hickson *et al.*, 1989; Glazer, 1991; Sader *et al.*, 2001) e doença arterial coronariana (Rockhold, 1993). Esse perfil lipídico poderia contribuir diretamente para o processo de aterosclerose, especialmente se estas substâncias forem administradas por longos períodos de tempo. Além do mais, as concentrações de triglicérides diminuem pela administração exógena de androgênios (Yesalis *et al.*,

1990). Os EAA também estimulam a agregação plaquetária e o aumento na atividade enzimática de coagulação e vasoespasmos da artéria coronária, o que demonstra o papel destas substâncias na formação de trombos. Foi demonstrado que o uso de doses supra-fisiológicas de EAA está associado ao desenvolvimento de alterações eletrocardiográficas (Stolt *et al.*, 1999) e aumento da pressão arterial (Kuipers *et al.*, 1991; Gelfand & Wita, 1997) por aumento na retenção de sódio e conseqüentemente de água, e a expansão do volume sanguíneo (Rockhold, 1993). Foi observado aumento da frequência cardíaca, desenvolvimento de hipertrofia ventricular esquerda concêntrica (Koenig *et al.*, 1982; Sullivan *et al.*, 1998), e piora no relaxamento diastólico (Urhausen *et al.*, 1989). Aumento da espessura do septo interventricular e do índice da massa do ventrículo esquerdo (Di Belo *et al.*, 1999), remodelamento cardíaco, isquemia miocárdica, cardiomiopatias (Clark & Schofiels, 2005), redução da resposta inotrópica mediada pelos adrenoreceptores- β (Norton *et al.*, 2000), infarto agudo do miocárdio e embolia (Wu, 1997) são outros efeitos observados frente à administração de altas doses de EAA. Os usuários de EAA possuem maiores riscos de morte súbita. Parssinen *et al.* (2000) observaram incidência de morte prematura em 12,9% dos levantadores de peso estudados e 3,1% no grupo controle, quando avaliaram 62 homens levantadores de peso e um grupo controle, sendo que a morte súbita foi associada à hipertrofia ventricular esquerda (Ferrera *et al.*, 1997).

Com relação aos efeitos vasculares, a administração aguda de testosterona resultou em vasodilatação coronária através de um mecanismo endotélio-independente, provavelmente via canais de K^+ sensíveis a ATP em humanos (Chou *et al.*, 1996; Webb *et al.*, 1999), ao mesmo tempo que o tratamento com EAA promoveu inibição do relaxamento endotélio-dependente e endotélio-independente em anéis aórticos de coelhos tratados (Ferrer *et al.*, 1994) e que androgênios podem promover a adesão de monócitos às células endoteliais (McCrohon *et al.*, 1999) e formação de células espumosas (estrias gordurosas), envolvidas no desenvolvimento inicial da aterosclerose (McCrohon *et al.*, 2000). A aterosclerose é um processo lesivo crônico, progressivo e sistêmico, caracterizado por resposta inflamatória e fibroproliferativa da parede arterial (Ross, 1999) que afeta, essencialmente, a camada íntima da artéria (Duque, 1998). O início da formação da placa aterosclerótica envolve a participação de citocinas pró-

inflamatórias - interleucinas 1, 4 e 6 (IL-1, IL-4 e IL-6), interferon gama (IFN- γ) (Zimrin & Maciag, 1996) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) - e hormônios do estresse (Black, 2002; 2003), sendo que o aumento da concentração sanguínea destas citocinas pró-inflamatórias favorece um quadro de disfunção endotelial. O hormônio liberador de corticotrofina (Black, 2002), os glicocorticóides (McEwen *et al.*, 1997) e a adrenalina (Liao *et al.*, 1995) ativam a produção de IL-1, IL-6 e TNF- α e induzem a síntese de moléculas de adesão (ICAM, VCAM e ELAM) que regulam a adesão vascular de monócitos, um dos primeiros passos na progressão da aterosclerose. A perda da integridade celular, que leva à disfunção da célula endotelial, expõe as células musculares lisas vasculares (CMLVs) à ação direta das substâncias vasoconstritoras produzidas pelo próprio endotélio ou transportadas pelo sangue, como insulina, angiotensina II e catecolaminas, que ao entrarem em contato direto com as CMLVs ou em áreas onde haja disfunção endotelial, provocam vasoconstrição (não modulada pelo endotélio) (Luz, 2005). Seguindo do aumento das concentrações de citocinas pró-inflamatórias, a LDL e leucócitos circulantes são internalizados para a camada subendotelial da parede vascular, com conseqüente oxidação da lipoproteína por monócitos/macrófagos, evento relevante na gênese do ateroma, denominada “teoria oxidativa da aterogênese”. Os efeitos da LDL oxidada resumem-se em: recrutamento e quimiotaxia de monócitos/macrófagos, ativação de monócitos/macrófagos e CMLVs, a qual induz a captação intracelular da LDL através dos receptores *scavenger*, formando as “células espumosas”, toxicidade para as células endoteliais e produção excessiva de radicais superóxido por células endoteliais. Posteriormente, as células musculares lisas da parede vascular migram da camada média para a camada subendotelial e nela se proliferam acentuadamente e passam a produzir não só citocinas e fatores de crescimento, como também matriz celular constituída principalmente de colágeno e proteoglicanos. O espessamento da camada íntima pode resultar em estenose ou oclusão da artéria e formação de trombos (Luz, 2005). O TNF- α induz a expressão de IL-6 nas células musculares lisas e a IL-6 atua como um quimioatraente que dirige a migração destas células (Newman *et al.*, 2003). Além disso, a IL-6 estimula a expressão de receptores de LDL nos macrófagos, a agregação plaquetária e a produção de proteína reativa C (Ikeda *et al.*, 1991), que é reconhecida como um “marcador inflamatório”

produzida pelo fígado com importante participação na gênese de estados aterotrombóticos (Filho, 2004).

O treinamento de força vem sendo bastante estudado por pesquisadores e apontado como um excelente treinamento no aprimoramento da qualidade de vida de seus praticantes (Winett & Carpinelli, 2001). Entretanto, restrições éticas tendem a limitar a realização de estudos, em humanos, que objetivam analisar os efeitos de EAA (Fitch, 2008). Diferentemente dos estudos com doses fisiológicas de esteróides sexuais masculinos, poucos estudos foram realizados avaliando doses suprafisiológicas desses hormônios, e os resultados existentes são discordantes (Fortunato *et al.*, 2007). Dessa forma, faz-se necessário a utilização de animais de laboratório para a investigação destes efeitos, bem como o desenvolvimento e a caracterização de protocolos de exercício adequados para os mesmos. Portanto a utilização de animais de experimentação para a avaliação do fenômeno causa-efeito em relação ao tipo, à dose e às formas de utilização de EAA é de extrema utilidade, considerando a gravidade destas substâncias e o crescente abuso destas em usuários recreacionais em academias de musculação e esportes em geral. Além disso, poucos estudos tem apresentado em geral dados a respeito de hormônios anabólicos, e respostas agudas e crônicas do treinamento de força (Hakkinen & Pakarinen, 1995; Nicklas *et al.*, 1995).

O exercício de levantamento de peso para ratos em meio líquido é uma variação do modelo proposto por Tamaki *et al.* (1992) e vem sendo amplamente utilizado como modelo de treinamento de alta intensidade (Cunha *et al.*, 2006). Neste sentido, trabalhos já foram desenvolvidos por nosso grupo de pesquisa os quais avaliaram em ratos a influência do presente protocolo de treinamento associado aos EAAs sobre o conteúdo do glicogênio muscular (Cunha *et al.*, 2005a), a sensibilidade a fenilefrina na aorta torácica (Cunha *et al.*, 2005b), e também sobre a hipertrofia muscular (Cunha *et al.*, 2006) e cardíaca (Tanno, 2007). Tentando mimetizar o que geralmente ocorre em academias de musculação onde usuários as frequentam diariamente com objetivo principal de adquirirem força e massa muscular, não respeitando os dias de intervalo necessários para recuperação do organismo, o treinamento dos animais foi realizado de segunda à sexta-feira, durante seis semanas.

Em um estudo desenvolvido por nosso grupo de pesquisa, foi demonstrado que o tratamento com EAA cancelou a subsensibilidade ao efeito vasoconstritor da fenilefrina em anéis com endotélio de aorta torácica isoladas de ratos submetidos a treinamento de alta intensidade (Marcondes, 2005; Cunha *et al.*, 2005b), sem alteração em anéis desprovidos de endotélio. Este efeito foi cancelado pela inibição da síntese de ON, e foi acompanhado de aumento das concentrações plasmáticas de LDL, e queda nas concentrações de HDL, induzido pelo uso de EAA (Cunha *et al.*, 2005b). Considerando que avaliações da função endotelial arterial têm se estabelecido recentemente como um método importante para a identificação de anormalidades arteriais primárias em humanos (Celermajer *et al.*, 1992), e que a disfunção endotelial é um evento primário e importante na aterogênese (Ross, 1993), nossa hipótese é que a utilização de doses supra-fisiológicas de EAA possa interferir nas respostas anteriormente observadas, através da inibição da produção de ON, contribuindo para estes resultados.

Assim a avaliação da ocorrência de processo aterosclerótico, ou de fatores que podem iniciá-lo, em ratos submetidos a treinamento físico resistido, e tratados com nandrolona, é de interesse para a melhor compreensão dos resultados já obtidos.

Considerando os sérios riscos à saúde associados ao consumo de doses supra-fisiológicas de EAA (Steensland *et al.*, 2005), bem como os dados da literatura e os achados descritos acima (Marcondes, 2005; Cunha *et al.*, 2005b), foi proposto estudar o efeito do EAA nandrolona sobre o tecido vascular, analisando a sensibilidade *in vitro* da aorta torácica ao efeito vasodilatador da acetilcolina. Entretanto, algumas análises não foram possíveis de serem realizadas como previamente haviam sido propostas. Assim sendo, foram até então concluídas as análises correspondentes à sensibilidade *in vitro* da aorta torácica ao efeito vasodilatador da acetilcolina, a espessura da parede vascular por meio de análises histológicas e a concentração tecidual de óxido nítrico (ON) e espécies reativas de oxigênio (EROx) em aorta torácica de ratos.

3. PROPOSIÇÃO

Estudar os efeitos vasculares resultantes da associação entre treinamento físico resistido associado ao tratamento com o esteróide anabólico androgênico nandrolona, avaliando em ratos:

- a sensibilidade *in vitro* da aorta torácica ao efeito vasodilatador da acetilcolina;
- a concentração tecidual de óxido nítrico (ON) e espécies reativas de oxigênio (EROx);
- espessura da parede vascular em aorta torácica, por meio de análises histológicas.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados ratos Wistar com 2 meses de idade, de padrão SPF (*Specific Patogen Free*), fornecidos pelo Centro de Multidisciplinar de Investigação Biológica da UNICAMP (CEMIB). Os animais foram acomodados no Biotério da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, alojados em gaiolas coletivas, com Zeolita (Zoocel Biotério – Celta Brasil), contendo 4 animais no máximo, mantidos em estante ventilada (Alesco[®]) e sala climatizada ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$), com ciclo claro/escuro de 12/12 h (luzes acendendo às 6:00 h). Os procedimentos utilizados para adentrar o biotério foram rigorosamente obedecidos principalmente quanto à entrada do experimentador no mesmo. A entrada no biotério foi permitida somente para o experimentador responsável pelo projeto, vestido com avental, máscara, luvas, e proteção para os pés. Foram mantidos em ambiente sanitariamente controlado e receberam, durante 6 semanas, água filtrada e ração para animais de laboratório à vontade (composição da ração: fubá de milho (55%), protenose, farinha de carne e ossos, farelo de soja, farelo de trigo calcáreo calcítico, premix vitamínico mineral e cloreto de sódio) diferentemente da ração utilizada no CEMIB, composta por proteína bruta (23%), umidade (13%), extrato etéreo (4%), matéria fibrosa (5%), matéria mineral (10%), cálcio (1,3%), fósforo (0,85%). Esta ração é a mais indicada para animais que são submetidos a treinamento físico. Todos os procedimentos utilizados neste experimento passaram por aprovação da Comissão de Ética na Experimentação Animal da Universidade Estadual de Campinas (Protocolo

CEEA nº 944-1), de acordo com as normas da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL/COBEA).

Os animais foram aleatoriamente divididos em quatro grupos experimentais: não-treinado + veículo (NTV); treinado + veículo (TV); não-treinado + nandrolona (NTN); treinado + nandrolona (TN), contendo 12 animais por grupo experimental.

Os animais dos grupos veículo e EAA receberam respectivamente injeções i.m. de veículo (propilenoglicol – 0,2mL/Kg) ou de decanoato de nandrolona (Deca-Durabolin® - 5mg/Kg), duas vezes por semana (segundas e quintas-feiras) entre às 7h30min e 8h (Cunha *et al.*, 2005a,b). Esta dose é equivalente às altas doses geralmente utilizadas por atletas: 600 mg/semana ou aproximadamente 8 mg/Kg/semana (Pope & Katz, 1988; Norton *et al.*, 2000) e obtida através de extrapolação alométrica (Pachaly & Brito, 2000). As aplicações foram realizadas no músculo gastrocnêmio, em patas alternadas.

Considerando o fenômeno de supercompensação do glicogênio (Greiwe *et al.*, 1999; Cunha *et al.*, 2005a) quarenta e oito horas após a última sessão de treinamento os animais foram sacrificados por decapitação, a aorta torácica foi isolada (terço inferior) e preparada para avaliações histológicas (n = 4 animais/grupo). O fenômeno de supercompensação do glicogênio é caracterizado por um incremento do conteúdo glicídico no músculo esquelético devido a um aumento da síntese glicogênica onde após a completa depleção desse substrato energético, ocorre uma intensa ativação da enzima glicogênio sintase (Kristiansen *et al.*, 2000). Além disso, tem sido observado um aumento da sensibilidade periférica a insulina que pode persistir após a realização do esforço físico por um período de tempo prolongado - 48h ou mais (Cartee *et al.*, 1989; Nakatani *et al.*, 1997), e um aumento do número de transportadores de glicose "GLUT-4" no músculo (Host *et al.*, 1998). Durante o período de recuperação do exercício de alta intensidade, o músculo esquelético tem a capacidade de reabastecer seus estoques de glicogênio, fenômeno denominado supercompensação do glicogênio muscular. A ressíntese de glicogênio após o exercício ocorre em duas fases. A primeira fase é rápida, não dependente de insulina e ocorre durante os primeiros 45-60 minutos da fase de recuperação. Já a segunda fase é mais lenta, dependente de insulina e continua a desenvolver-se até o restabelecimento total das reservas de glicogênio, o que geralmente

ocorre 24 horas após a realização do exercício (Price *et al.*, 2000). O terço superior e mediano da aorta torácica foram isolados para análise funcional dose-resposta à ACh e determinação da produção tecidual de NO, respectivamente (n = 5 animais / grupo).

4.1. Treinamento Físico

Os animais foram submetidos individualmente a sessões de saltos em um cilindro de PVC, contendo água à 30°C a uma profundidade de 38 cm.

O treinamento físico resistido (Rogatto, 2001) consistiu de 30 sessões de saltos em meio líquido com sobrecarga de peso, 5 dias por semana, entre 13h e 15h. Após um período inicial de adaptação ao meio líquido (1º ao 5º dia, com sobrecarga equivalente a 50% do peso corporal e número crescente de saltos e séries), os animais foram submetidos a um programa de treinamento físico resistido de acordo com o protocolo descrito por Rogatto (2001), Cunha *et al.* (2005a, 2005b) e Tanno *et al.* (2006). Em cada sessão, foram realizadas 4 séries de 10 saltos (Tabela 1). Entre as séries houve um intervalo de 30 segundos, durante o qual o animal foi retirado da água, e mantido em repouso sobre um suporte. O treinamento foi realizado com sobrecarga progressiva de peso, até atingir a carga máxima de 70% do peso corporal do animal. A sobrecarga foi acoplada ao tórax dos mesmos através de um colete (Figura 1).

Após cada sessão de treinamento, os animais foram secos com toalha absorvente e mantidos por cerca de 30 minutos no laboratório, até estarem completamente secos, quando foram transportados ao biotério de experimentação.

Tabela 1 - Protocolo de treinamento físico de alta intensidade

<i>Dia de treinamento</i>	<i>Treinamento</i>	<i>Sobrecarga (% Peso corporal)</i>
1º	2 séries de 5 saltos	50
2º	3 séries de 5 saltos	50
3º	4 séries de 5 saltos	50
4º	4 séries de 7 saltos	50
5º	4 séries de 9 saltos	50
6º ao 15º	4 séries de 10 saltos	50
16º ao 25º	4 séries de 10 saltos	60
26º ao 30º	4 séries de 10 saltos	70

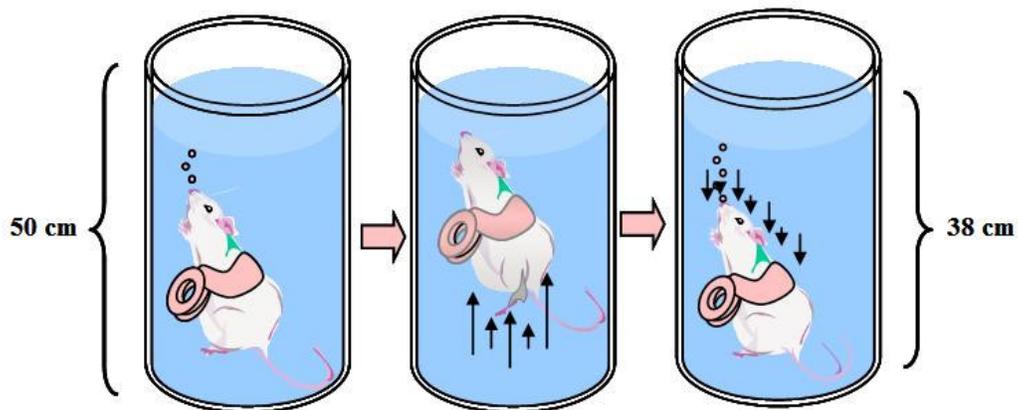
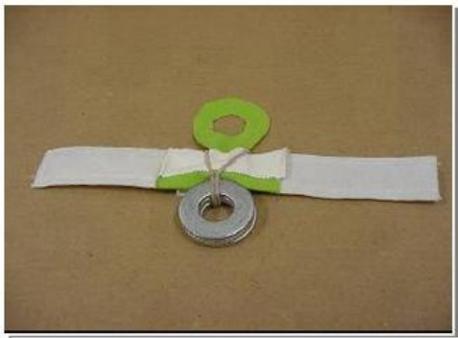


Figura 1 – Esquema do treinamento físico com salto dos animais em cilindro contendo água até a altura de 38cm.

Fonte: Tanno, 2006

A



B



Figura 2: **A** – Colete para treinamento físico com sobrecarga. **B** – colete acomodado nos animais.

4.2. Coleta das amostras

Quarenta e oito horas após a última sessão de treinamento (Cunha *et al.*, 2005a) a aorta torácica foi isolada (terço inferior) e preparada para avaliações histológicas. O terço superior da aorta torácica obtida foi isolado e armazenado a -70°C para posterior determinação da produção tecidual de óxido nítrico.

4.3. Curvas concentração-efeito (CCE) à acetilcolina em aorta torácica isolada

Do terço medial da aorta, foi retirado cuidadosamente 1 anel de cada animal. Os anéis (3 à 5 mm) foram montados sob 2 g de tensão inicial, em câmara para órgão isolado, contendo 20mL de solução de Krebs-Henseleit, com a seguinte composição [mM]: NaCl 115,0; KCl 4,7; CaCl₂.2H₂O 2,5; KH₂PO₄ 1,2; MgSO₄.7H₂O 2,5; NaHCO₃ 25,0; glicose 11,0; ácido ascórbico 0,11. Este último foi adicionado para diminuir a oxidação das catecolaminas, durante a obtenção das CCE. O líquido de incubação foi borbulhado continuamente com 95% de O₂ e 5% de CO₂ e a temperatura foi mantida à 36,5 ± 0,1°C, com auxílio de uma bomba de perfusão (Moura & Marcondes, 2001; Cunha *et al.*, 2005b).

Antes da adição de qualquer droga, os anéis aórticos permaneceram no banho para equilíbrio por 60 min e a solução de Krebs foi trocada a cada 15 min (Moura & Marcondes, 2001). Após o equilíbrio, a presença do endotélio foi comprovada fisiologicamente pela indução do relaxamento com adição de acetilcolina (10⁻⁶M) no anel pré-contraído com fenilefrina (FE) 10⁻⁷M. Considerou-se que o endotélio estava presente nos anéis que apresentaram 100% de relaxamento, e ausente nos anéis que não apresentaram qualquer relaxamento. Anéis que apresentaram relaxamento inferior a 100%, em resposta à acetilcolina, foram descartados. Após este teste, o anel foi lavado e mantido para nova estabilização por um período de 45 min, com troca de Krebs a cada 15 min (Moura & Marcondes, 2001; Cunha *et al.*, 2005b).

Após estabilização e confirmação da integridade do endotélio, o anel foi contraído com FE 10⁻⁶M. E ao atingir uma resposta em platô à FE, uma curva concentração-efeito cumulativa à ACh foi obtida (3 x 10⁻⁸ – 10⁻⁶M) (Feng *et al.*, 2008; Sun *et al.*, 2008). O tempo para observação da resposta de cada anel da aorta torácica foi de 5 minutos para cada concentração adicionada na cuba. O efeito máximo foi determinado quando três concentrações sucessivas e crescentes do agonista não alteravam a resposta obtida. Ao final do experimento os anéis foram pesados. Os resultados foram expressos em % de relaxamento (Moura & Marcondes, 2001; Cunha *et al.*, 2005b).

As CCE foram analisadas por regressão não linear, usando-se o programa GraphPAD prism (San Diego, CA, USA – licença G3-A 14920-830). A sensibilidade da aorta será avaliada pela determinação do valor pD2, que corresponde ao logaritmo negativo da concentração molar do agonista, que determina um efeito igual a 50% da resposta máxima (CE₅₀) em experimentos individuais (Miller *et al.*, 1948).

4.4. Processamento da aorta torácica para análise em microscopia eletrônica de transmissão

O terço inferior da aorta torácica, 5 mm acima do diafragma, foi removido do animal, rapidamente seccionado em fragmentos de 1mm e imersos em fixador de Karnovsky (Karnovsky, 1965) por 6 horas, a 4°C. Após a fixação, os fragmentos foram lavados em tampão fosfato (0,1M; pH 7,2) em 3 trocas de 5 minutos cada, pós-fixados em tetróxido de ósmio 1% em tampão fosfato pH 7,2, por 2 horas em temperatura ambiente. Novamente as amostras foram lavadas em tampão fosfato 0,1M, pH 7,2 (3 trocas por 5 minutos cada). As amostras foram, então, desidratadas em soluções crescentes de acetona 50%, 70%, 90% por 10 minutos cada troca, e mais 3 trocas em acetona pura por 15 minutos cada banho, em seguida procedem-se a infiltração da resina, segundo protocolo usado no laboratório de microscopia eletrônica, sendo: 1º) 3 partes de acetona + 1 parte de resina Araldite (Luft, 1961), por 2 horas; 2º) 1 parte de acetona + 1 parte de resina, overnight; 3º) 1 parte de acetona + 3 partes de resina, por 2 horas e finalmente resina pura em estufa 37°C por 1 hora. Após a infiltração os espécimes foram incluídos em resina Araldite 502 (Composição: Araldite 502, 10ml; Dodenyl Succinic Anhydride - DDSA, 8 ml; Dibutilftalato, 0,1ml; Acelerador DMP₃₀ – Tri(DimethylLaminomethyl)Phenol, 0,5ml) (Luft, 1961) e polimerizados por 48 horas em estufa a 60°C.

Os blocos foram aparados trimados e cortes semi-finos (1 µm de espessura) foram obtidos em um ultramicrotomo MT2B Sorvall Porter Blum com navalhas de vidro. Foram coletados 10 cortes semi-seriados com intervalo de 10 µm entre os cortes. Em seguida os cortes foram corados com azul de toluidina 0,5% + borato de sódio 0,5% por 50 segundos e fucsina 0,5% por 30 segundos. Foram selecionados aleatoriamente cinco cortes para posterior análise. As imagens digitais foram feitas em um fotomicroscópio (Leica, modelo DM LP) equipado com câmera digital (Leica, modelo DFC 280) utilizando objetiva de 20x.

Posteriormente a espessura da camada média foi medida (distância entre a lâmina elástica externa e a lâmina elástica interna da camada íntima) utilizando o software Leica Application Suite (LAS Version 2.8.1; 2003-2007). De cada corte foram adquiridas oito imagens, sendo que para cada imagem foram realizadas três medidas.

4.5. Avaliação *in vitro* em anéis de aorta torácica da produção de óxido nítrico (ON) – Método do 4,5 Diacetato de Diaminofluoresceína (DAF-2)

Abaixo do terço medial da aorta, segmentos deste vaso foram emblocados em meio de inclusão para congelamento (TBS – Triangle Biomedical Sciences) e rapidamente congelada em gelo seco até a real dosagem de NO no Laboratório de Farmacologia do Instituto de Ciências Biomédicas (ICB-USP). Os cortes transversais (7 μm) foram obtidos em criostato a -25°C , colocados em lâminas de vidro contendo poli-L-lisina totalizando três cortes por lâmina. Para determinação da produção de ON utilizou-se o marcador fluorescente sensível que reage com NO, o 4,5 diacetato de diaminofluoresceína (DAF-2). Em cada lâmina foram obtidos 3 cortes por animal os quais foram hidratados a 37°C com 0,1 M de tampão fosfato contendo 0,45 μM CaCl_2 e 100 μM L-arginina (PB+ Ca^{2+} +L-arginina, pH 7,4) por 10 minutos. A solução foi retirada e os cortes foram incubados a 37°C com 0,1 M de PB+ Ca^{2+} +L-arginina, sendo que em um corte foi adicionado somente 100 μL de PB+ Ca^{2+} +L-arginina (basal), e nos outros dois PB+ Ca^{2+} +L-arginina contendo 100 μM de ACh (estimulado), por 30 minutos. Passado este tempo, a solução foi retirada e os 3 cortes foram novamente incubados com PB+ Ca^{2+} +L-arginina contendo 0,1 μM DAF-2, em ambiente escuro. O corte estimulado recebeu 100 μM de acetilcolina e o basal 100 μL de PB+ Ca^{2+} +L-arginina contendo 0,1 μM DAF-2. Após 1 hora de incubação, as imagens digitais foram capturadas em microscópio (Nikon E1000) equipado com epifluorescência (excitação de 485nm; emissão de 538nm); objetiva de 20x. As imagens foram analisadas em software (KS-300) pelo qual foi avaliada a densidade óptica média de fluorescência observada no endotélio. Os resultados foram expressos como aumento de produção ON em relação à produção basal de ON. As avaliações foram realizadas em três campos de cada corte e foram usadas cinco aortas de diferentes animais por grupo experimental.

4.6. Ensaio da concentração de superóxido

Para a medida da geração de ânion superóxido utilizaram-se diferentes segmentos aórticos (n=5 animais/ 3 cortes para cada animal) daqueles utilizados para a metodologia do NO, todavia da mesma porção (medial) cuja avaliação foi determinada pela hidroetidina, substância permeável a membrana celular, sendo que na presença de superóxido é transformada em composto fluorescente, brometo de etídio. Os cortes transversais de aorta torácica (7 mm) foram obtidos em criostato, coletados em lâminas de vidro contendo poli-L-lisina e incubados com hidroetidina 2×10^{-6} M (30 min, 37° C) em tampão fosfato (0,1M). Após o período de incubação, as imagens digitais foram coletadas em microscópio equipado com epifluorescência e foram analisadas em software pela avaliação da densidade óptica média de fluorescência observada. Essa razão de fluorescência foi avaliada em três campos de cada corte e foram usadas cinco aortas de diferentes ratos de cada grupo experimental.

4.7. Análise estatística

Os dados foram analisados por análise de variância bifatorial considerando-se os fatores Treinamento físico (grupos não treinados e treinados) e Tratamento (veículo e EAA), seguido de Teste de Tukey, quando observado valor de F significativo. O nível de significância foi de 5%.

5. RESULTADOS

O peso final de todos os grupos foi maior em relação ao peso inicial (Tabela 2; $p < 0,05$), sem diferença entre grupos no peso inicial ($p > 0,05$). Na comparação entre grupos, não houve efeito significativo para o peso inicial. Por outro lado, para o peso corporal final, o efeito dos fatores treinamento físico e tratamento foram significativos. Animais tratados com anabolizante apresentaram menor peso final em relação aos grupos tratados com veículo (Tabela 2; $p < 0,05$). O treinamento físico diminuiu o peso corporal final em ratos tratados com veículo ou nandrolona, em comparação aos grupos não-treinados (Tabela 1; $p < 0,05$).

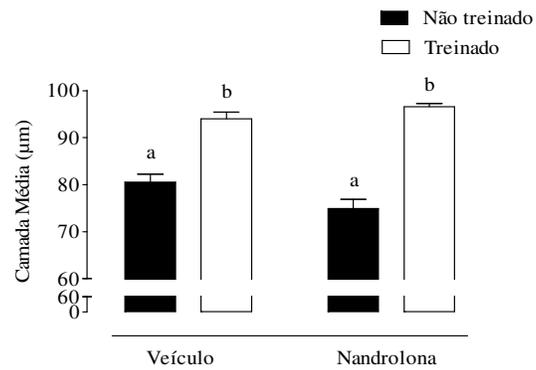
Tabela 2. Peso corporal inicial e final de ratos não-treinados e treinados, tratados com veículo ou nandrolona.

	NTV	TV	NTN	TN
Peso inicial (g)	260.5 ± 18.1	268.5 ± 14.0	256.5 ± 15.6	266.4 ± 12.9
Peso final (g)	377 ± 28.8*	323.6 ± 16.4* #	347.3 ± 24.9* †	314.3 ± 17.1* # †

Os valores representam médias ± desvio padrão do peso corporal inicial e peso corporal final dos grupos NTV (não-treinado veículo); NTN (não-treinado nandrolona); TV (treinado veículo) e TN (treinado nandrolona). n=8/ grupo.* diferença significativa em relação ao peso corporal inicial, no mesmo grupo. # diferença significativa em relação ao respectivo grupo não-treinado. † diferença significativa em relação ao respectivo grupo tratado com veículo. ANOVA bifatorial + Teste de Tukey ($p < 0,05$).

Na Figura 2 estão apresentados os valores da espessura da camada média da aorta torácica isolada de ratos dos quatro grupos experimentais, bem como as imagens digitalizadas deste tecido. Neste parâmetro, houve efeito significativo do fator treinamento físico, sendo que animais treinados apresentaram aumento significativo na espessura da camada média em relação aos respectivos grupos não-treinados ($p < 0,05$), sem efeito do tratamento com nandrolona.

A



B

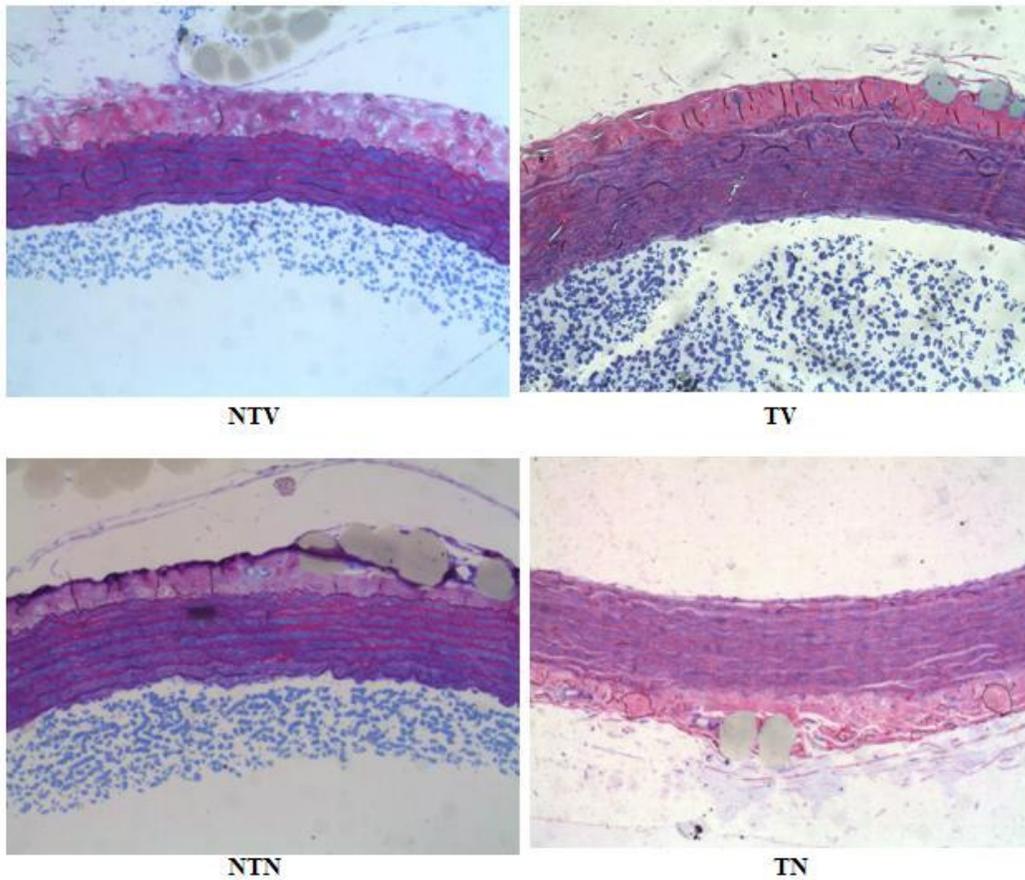


Figura 2. Espessura da camada média (A) e imagens digitalizadas (B) da aorta torácica isolada de ratos treinados e não-treinados tratados com veículo ou nandrolona. (n = 5/grupo). Letras diferentes indicam grupos estatisticamente diferentes entre si (ANOVA bifatorial + Teste de Tukey; significância estatística para valores de $p < 0.05$). Grupos: NTV (não-treinado veículo); NTN (não-treinado nandrolona); TV (treinado veículo) e TN (treinado nandrolona).

A figura 3 mostra as curvas concentração-efeito à acetilcolina (ACh) obtidas em anéis da aorta torácica isolada de ratos dos 4 grupos experimentais. Nos valores de resposta máxima houve efeito significativo da interação entre os fatores analisados. Aortas isoladas de animais tratados com anabolizante apresentaram menor resposta vasodilatadora à ACh comparadas às de ratos tratados com veículo ($p < 0,05$). Anéis isolados de ratos não-treinados tratados com veículo ou nandrolona, apresentaram relaxamento de 100% em resposta à ACh, enquanto em anéis isolados de ratos treinados tratados com veículo e nandrolona observou-se relaxamento de 79 e 51%, respectivamente (Fig. 3; $p < 0,05$).

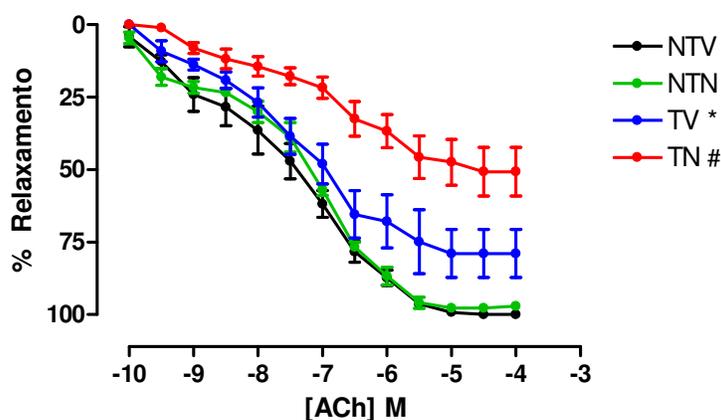
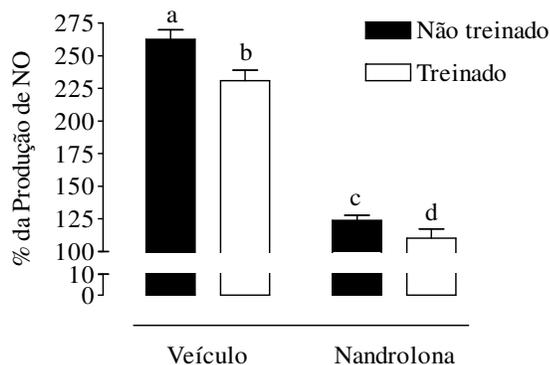


Figura 3. Curvas concentração-efeito à Acetilcolina (ACh) em anéis aórticos, pré-contraídos com fenilefrina, de ratos não-treinados (NT) e treinados (T) tratados com veículo (V) ou nandrolona (N). $n = 5/\text{grupo}$). *, # Diferença significativa em relação aos demais grupos (ANOVA bifatorial + Teste de Tukey; $p < 0,05$).

A análise da produção de ON estimulada por acetilcolina na aorta isolada dos animais dos 4 grupos experimentais mostrou efeito significativo dos fatores treinamento físico e tratamento. Ratos treinados apresentaram menor produção de ON em relação a ratos não-treinados (Figura 4; $p < 0,05$). Ratos tratados com anabolizante apresentaram menor produção de ON quando comparados a ratos tratados com veículo (Figura 4; $p < 0,05$).

A



B

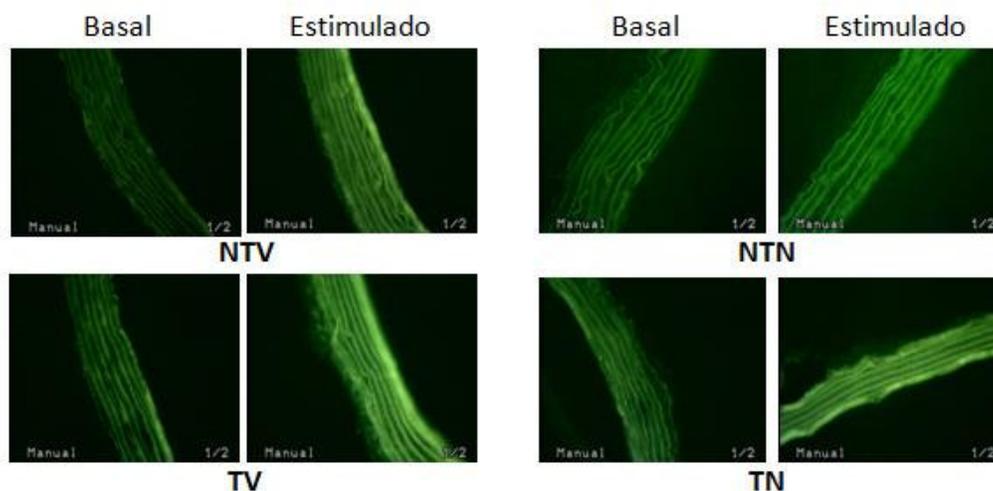
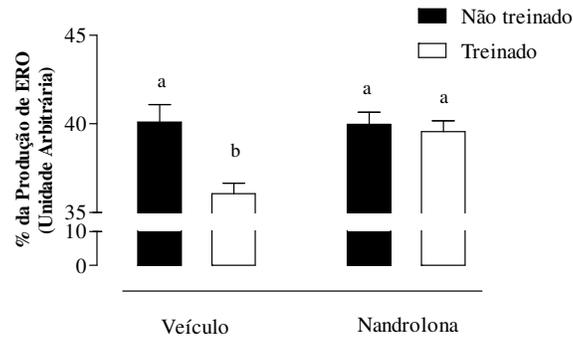


Figura 4. A - Porcentagem de produção de óxido nítrico (ON) em aorta torácica de ratos treinados e não-treinados tratados com veículo ou com nandrolona. Letras diferentes indicam grupos estatisticamente diferentes entre si (ANOVA bifatorial + Teste de Tukey; significância estatística para valores de $p < 0.05$). **B** - Imagens das secções transversais de anéis aórticos tratados com 4, 5 diacetato de diaminofluoresceína (DAF-2) em condição basal (A) e estimulada (B) com acetilcolina. Grupos: NTV (não-treinado veiculo); NTN (não-treinado nandrolona); TV (treinado veiculo) e TN (treinado nandrolona) ($n = 5$ animais/grupo).

Na avaliação da produção de espécies reativas de oxigênio (EROx), observou-se efeito significativo dos fatores treinamento físico e tratamento. Aortas torácicas isoladas de animais treinados e tratados com veículo apresentaram diminuição na produção de EROx, em relação ao tecido isolado do respectivo grupo não-treinado (Figura 5; $p < 0,05$). Por outro lado, em animais tratados com nandrolona, o treinamento físico não alterou a produção de

EROx na aorta torácica isolada (Figura 5; $p < 0,05$). A Figura 5B ilustra as imagens das secções transversais de anéis aórticos tratados com hidroetidina.

A



B

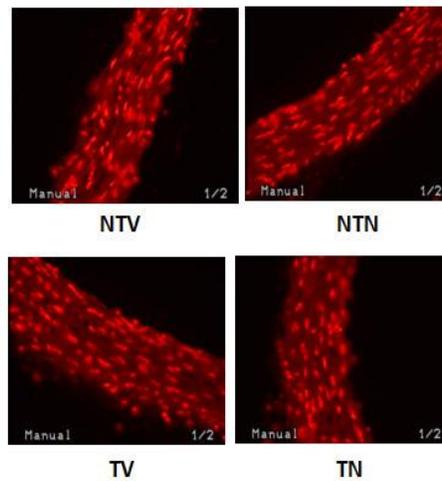


Figura 5. A - Porcentagem de produção de espécies reativas de oxigênio (EROx) em aorta torácica de ratos treinados e não-treinados tratados com veículo propilenoglicol ou com esteróide anabólico androgênico Decanoato de Nandrolona. ($n = 5$ animais/grupo). Letras diferentes indicam grupos estatisticamente diferentes entre si (ANOVA bifatorial + Teste de Tukey; significância estatística para valores de $p < 0,05$). **B** - Imagens das secções transversais de anéis aórticos tratados com hidroetidina. NTV (não-treinado veículo); NTN (não-treinado nandrolona); TV (treinado veículo) e TN (treinado nandrolona) ($n = 5$ animais/grupo).

6. DISCUSSÃO

O exercício físico caracteriza-se por uma situação que retira o organismo de sua homeostase, pois implica no aumento instantâneo da demanda energética da musculatura exercitada e, conseqüentemente do organismo como um todo. Assim, para suprir a nova demanda metabólica, várias adaptações fisiológicas são necessárias e, dentre elas, as referentes à função cardiovascular durante o exercício físico (Brum *et al.*, 2004). A proposta deste estudo em utilizar um protocolo de treinamento físico de alta intensidade baseia-se na maneira como usuários de esteróides anabólicos, sem prescrição médica, realizam exercícios de musculação, não seguindo um programa de treinamento físico adequado. Isto é frequente principalmente no público jovem, cuja intenção é treinar demasiadamente, considerando principalmente a intensidade do treinamento, não respeitando os limites das cargas utilizadas nem os intervalos de recuperação entre as séries. Geralmente estes “atletas de academia” seguem um treinamento caracterizado por altas cargas e séries curtas com o objetivo de desenvolver rapidamente massa muscular (Iriart & Andrade, 2002). O protocolo de treinamento utilizado neste estudo pretendeu mimetizar esta situação muito comum nas academias de musculação.

Assim, optou-se por utilizar um protocolo de treinamento resistido de alta intensidade e longa duração, adaptado a animais. Neste protocolo, ratos submetidos a 5 sessões de salto, com carga correspondente a 50% do peso corporal, apresentaram concentrações de lactato sanguíneo de 5,0 mmol/L (Silva *et al.*, 1999). E após 10 sessões de salto, as concentrações se elevaram para 7,2 mmol/L, evidenciando assim tratar-se de um protocolo de treinamento com características predominantemente anaeróbicas (Tanno *et al.*, 2006; Rogatto, 2001).

Assim como os exercícios aeróbicos, os exercícios anaeróbicos podem fornecer adaptações positivas na composição corporal. Isto é particularmente verdade quando o programa inclui um programa de treinamento com volume alto, baseado na intensidade, frequência e duração (Zanescio & Antunes, 2007) e breves intervalos entre as séries, como, por exemplo, treinamentos realizados por fisiculturistas (Deschenes & Kraemer, 2002). Dependendo do modelo de programa de treinamento, o exercício

resistido é capaz de melhorar cada um de seus constituintes, como força, potência e resistência muscular localizada (Deschenes *et al.*, 1994). A utilização de exercícios aeróbicos em programas voltados à redução e/ou controle ponderal é amplamente difundida, especialmente devido à capacidade dos mesmos promoverem grande mobilização de ácidos graxos livres (AGL) como substrato energético, o que constitui fator fundamental para redução dos depósitos corporais de gordura. Após 30 minutos de exercícios em intensidades intermediárias, por volta de 65% do VO₂ máx, o índice de oxidação dos AGL pode atingir valores 8 a 10 vezes maiores que os de repouso (Romijn *et al.*, 1993). Também os exercícios anaeróbicos podem promover alta mobilização de AGL, e consequente controle sobre os níveis teciduais de gordura, uma vez que a manutenção ou aumento de massa magra ativado por exercícios resistidos (de força) tende a manter o metabolismo basal elevado, por várias horas após os esforços anaeróbicos, já que o tecido muscular mantém-se metabolicamente mais ativo, mesmo em estado de repouso (Santarém, 1996).

Provavelmente devido a estes efeitos, o treinamento físico resistido por salto em água utilizada neste trabalho reduziu o peso corporal final dos animais, em comparação com animais não-treinados, indicando que o exercício físico resistido anaeróbico também pode modificar a composição corporal (Radak *et al.*, 1999). Este resultado está de acordo com estudos anteriores (Cunha *et al.*, 2005a; Cunha *et al.*, 2006). O menor peso corporal final dos animais treinados em relação aos respectivos grupos não-treinados, pode ser explicado pela intensa utilização de lipídios durante a fase de recuperação pós-exercício (Yoshioka *et al.*, 2001) e pelo aumento do metabolismo energético basal, gerando maior gasto calórico e reduzindo a gordura corporal (Hunter *et al.*, 1998). Alguns trabalhos sugerem que após o esgotamento dos estoques de glicogênio induzido pelo exercício, sua ressíntese muscular e hepática é prioridade metabólica, resultando no uso preferencial do triacilglicerol intramuscular e de lipídios circulantes para a recuperação do músculo esquelético (Kiens & Richter, 1998; Cunha *et al.*, 2005a). Portanto, a prioridade metabólica de recuperação muscular é a ressíntese dos estoques de glicogênio, resultando em uma mudança proporcional da oxidação do carboidrato pela oxidação de gordura (Bielinski *et al.*, 1985). Em comparação ao exercício aeróbico, Silva *et al.* (1999) observaram que o teor de gordura

da carcaça de ratos submetidos a um programa de treinamento físico anaeróbico foi menor em relação a ratos treinados aerobicamente e ao grupo sedentário. Isto poderia ser explicado, talvez, pelo fato de um maior gasto energético pós-treinamento anaeróbico por manter a taxa metabólica de repouso (TMR) em níveis elevados por longo período (Sjodin *et al.*, 1996). Além disso, os animais submetidos aos treinamentos anaeróbicos manifestaram tendência a uma maior massa corporal livre de gordura, largamente aceita como o principal determinante da TMR (Silva *et al.*, 1999), mostrando assim que um treinamento físico com características predominantemente anaeróbicas também pode ser eficaz na redução do peso corporal. Embora não tenha sido feita análise do percentual de gordura corporal no presente estudo, o menor peso corporal final dos animais treinados em relação os grupos não-treinados também poderia estar relacionada com o aumento da TMR.

Porém, é importante observar que, no presente estudo, todos os animais apresentaram aumento significativo do peso corporal com relação ao início do período experimental, indicando que o protocolo utilizado, apesar de intenso, não submeteu os animais a uma situação de *overtraining* (Cunha *et al.*, 2006).

O tratamento com nandrolona também promoveu efeito negativo no ganho de peso dos animais, em comparação com os grupos tratados com veículo, confirmando estudo anterior do mesmo grupo de pesquisa (Cunha *et al.*, 2005a). Embora os EAA possam estimular a síntese protéica e aumentar a retenção hídrica, níveis excessivos destas substâncias podem inibir o crescimento corporal e o ganho de peso (Carson *et al.*, 2002). Estes efeitos poderiam ser decorrentes de diminuição de apetite, desequilíbrio hidro-eletrolítico, excessiva conversão de testosterona em estradiol (Hickson & Kurowski, 1986), redução da produção normal de testosterona (Ryan, 1981), diminuição na regulação de ligação androgênio-receptor (Rance & Max, 1984), aumento da atividade da carnitina palmitoltransferase da membrana mitocondrial e aumento da oxidação lipídica (Guzman *et al.*, 1991).

Por outro lado, a administração semanal de nandrolona (Deca-Durabolin® - 15mg/Kg; 5 vezes por semana durante 5 semanas), proporcionou um aumento do peso corporal em ratos submetidos a exercício em esteira rolante à uma velocidade de 1,08Km/h, em relação ao respectivo grupo sedentário e também ao grupo treinado-

veículo (Joumaa & Léoty, 2001). Talvez a diferença de dosagem do anabolizante, tipo e intensidade do exercício físico deste estudo possa explicar o efeito contrário do que foi observado no presente estudo. Em fisiculturistas foi observado que a administração de nandrolona (200 mg/semana i.m., durante 8 semanas) resultou em aumentos significantes na massa corporal (+2,2 kg), massa livre de gordura (+2,6 kg) e água corporal total (+1,4 kg) (Van Marken *et al.*, 2004). Porém em sujeitos com pouca ou nenhuma experiência com treinamento de força não foi observado efeito de EAA na massa corporal (Hervey *et al.*, 1981; Fahey & Brown, 1973). Logo, os efeitos sobre o peso corporal variam de acordo com as características do treinamento físico empregado.

Com relação aos efeitos vasculares, experimentos com animais têm demonstrado efeitos do treinamento físico nas respostas dependentes do endotélio, tanto em vasos coronários quanto da circulação periférica (Chen & Li, 1993; Delp *et al.*, 1993; Muller *et al.*, 1994; Oltman *et al.*, 1995;). No presente estudo, o treinamento físico resistido, em animais tratados com veículo, reduziu a resposta vasodilatadora à ACh e reduziu a produção de ON estimulada por ACh “in vitro”, em relação ao respectivo grupo não-treinado, indicando efeito inibitório sobre a síntese de ON.

Ao contrário, em respostas agudas ao exercício foi observado aumento da resposta vasodilatadora à ACh e diminuição da resposta vasoconstritora à fenilefrina, possivelmente pelo aumento da liberação de ON (Patil *et al.*, 1993; Cheng *et al.*, 1999). A ACh afeta a função celular via sinalização de Ca^{+} intracelular (Usachev *et al.*, 1995; Muller *et al.*, 1999) sendo que Jen *et al.* (2002) demonstraram que o exercício agudo melhorou a resposta vasodilatadora estimulada por ACh e essa resposta foi associada ao aumento do influxo de Ca^{+} . Em resposta a treinamentos por curto prazo, observou-se em ratos, aumento da resposta vasodilatadora em arteríolas de músculo esquelético, o que foi parcialmente abolido pela infusão de um inibidor seletivo da síntese de ON, sugerindo que o aumento da produção endotelial constitui uma fase inicial na resposta adaptativa ao treinamento físico (Koller *et al.*, 1995). Porém este efeito do treinamento físico é mediado pelo endotélio, já que a vasodilatação provocada por agente endotélio-independente não é alterada (Clarkson *et al.*, 1999). Embora isto tenha sido observado tanto em animais espontaneamente hipertensos (Yen *et al.*, 1995; Chen *et al.*, 1996; Graham & Rush, 2004), como em animais normotensos (Delp *et al.*, 1993; Wang *et al.*, 1993; Sun *et al.*, 1994; Delp & Laughlin, 1997; McAllister & Laughlin, 1997; Choate *et al.*, 2000;

Woodman *et al.*, 2005), outros estudos não mostram correlação direta entre aumento na produção de ON e melhora na dilatação endotélio-dependente (Oltman *et al.*, 1992; McAllister *et al.*, 1996; Jasperse & Laughlin, 1999; Henderson *et al.*, 2004), como ocorrido neste estudo, sugerindo a participação de outros mecanismos nas repostas encontradas frente ao treinamento físico.

Em humanos, embora exercícios localizados, realizados por pequenos grupos musculares não alterem a produção e o efeito do ON nos leitos vasculares, exercícios aeróbicos são capazes de promover aumento na biossíntese de ON bem como aumento de seu efeito vasodilatador, em indivíduos normais e saudáveis. Porém, quando o exercício realizado é de alta intensidade, os indivíduos apresentaram queda na vasodilatação mediada pelo ON, o que sugere que uma intensidade adequada de treinamento físico deva ser determinante para que o efeito benéfico de vasodilatação pelo ON apareça (Brandão & Pinge, 2007). Por exemplo, indivíduos normais de meia idade sob regime de treinamento de intensidade moderada 3 vezes por semana durante 8 semanas não apresentaram alterações na vasodilatação mediada por ACh (Maiorana *et al.*, 2001), enquanto observou-se queda na vasodilatação mediada por ACh, em resposta ao treinamento de corrida de alta intensidade (70% -80% do VO_2 máx), de 4 sessões semanais, uma hora de duração em cada sessão, durante 3 meses (Bergholm *et al.*, 1999).

A princípio estes resultados parecem contrários aos dados prévios obtidos por nosso grupo de pesquisa, pois havia sido observado que o mesmo protocolo de treinamento físico havia diminuído a sensibilidade à fenilefrina em anéis aórticos com endotélio, sem efeito em anéis desprovidos de endotélio ou tratados com inibidor da síntese de ON Cunha *et al.*, 2005b), o que sugeria que uma maior produção de ON pudesse estar ocorrendo em resposta ao treinamento. Como os dados do presente estudo evidenciam um efeito inibitório do treinamento resistido sobre a produção de NO, a subsensibilidade à fenilefrina parece ser desencadeada por outros mecanismos.

O alvo fisiológico do ON é a enzima guanilato ciclase que sintetiza GMPc (guanina monofosfato cíclico), que por sua vez fosforila algumas proteínas, entre elas canais de K^+ cálcio-dependente, resultando numa diminuída concentração de Ca^{+} e consequente vasodilatação (Gewaltig & Kodja, 2002). Entretanto, se o endotélio é lesado ou disfuncionante, ocorrem adesão e agregação plaquetária, e os fatores vasoativos plaquetários, como o ADP e a serotonina, atuam diretamente na musculatura lisa

vascular causando vasoconstrição. Os fatores plaquetários podem ainda atingir as terminações nervosas adrenérgicas e inibir a vasodilatação mediada por receptores β_2 -adrenérgicos (Evora *et al.*, 1996). Aliado a isso, o aumento do fluxo sanguíneo decorrente do treinamento físico aeróbico em esteira pode aumentar a densidade de receptores muscarínicos na membrana da célula endotelial, que por sua vez aumenta a liberação de fatores de relaxamento derivados do endotélio (FRDE), estimulado pela ACh (Chen & Li, 1993).

Também tem sido descrito que o aumento da produção de EROx, os quais reagem em alta velocidade com o ON possam ser contribuintes determinantes para diminuir a biodisponibilidade de ON (Zanchi *et al.*, 2006). Períodos de exercício intenso podem aumentar o estresse oxidativo devido à hipóxia e reoxigenação temporárias, que ocorrem no músculo exercitado em função das contrações e relaxamentos estabelecidos ciclicamente. No relaxamento, ocorre a reperfusão e, conseqüentemente, a reoxigenação. Sob condições de hipóxia, os equivalentes reduzidos podem se acumular dentro da cadeia de transporte de elétrons mitocondrial, resultando em um fenômeno conhecido como estresse redutivo. Na reoxigenação, uma “explosão” de reduções monoelétrônicas pode converter o oxigênio molecular em radicais superóxido (Schneider & Oliveira, 2004).

O ânion superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o radical hidroxil (OH^\cdot) são exemplos de radicais livres cuja definição é qualquer átomo, grupo de átomos ou molécula com um elétron não-pareado ocupando uma órbita externa (Droge, 2002). Os radicais superóxido e hidroxil têm elétrons desemparelhados em sua órbita mais externa e são, portanto, chamados radicais livres. O peróxido de hidrogênio não é um radical livre; no entanto, representa um metabólito de oxigênio parcialmente reduzido. Esses metabólitos derivados do oxigênio, considerados em conjunto, são denominados espécies reativas de oxigênio (EROx), em função da sua aumentada reatividade para as biomoléculas (Fischer 1987), e em geral por alterarem o tamanho e a forma dos compostos com os quais eles interagem. Dentre as moléculas que exploram a química oxidante do superóxido, a hidroetidina é a que tem sido amplamente utilizada como marcador da produção de ânion radical superóxido, principalmente pela observação por microscopia da fluorescência total em células e tecidos (Bindokas *et al.*, 1996; Miller *et al.*, 1998). Cada EROx tem suas próprias características, mostrando diferentes

reatividades e tempos de meia-vida (Del Maestro, 1980). Um desequilíbrio oxidativo ocorre quando existe uma maior produção de EROx, ou uma menor atividade das forças antioxidantes, e neste acaso instala-se o chamado estresse oxidativo que está envolvido com diversas condições patológicas, destacando a hipertrofia das células vasculares, a hipertensão arterial, a aterosclerose, lesões de isquemia-reperusão e eventos tromboembólicos (Xia *et al.*, 1996; Kodja & Harisson, 1999; Touyz & Schiffrin, 2004; Nascimento *et al.*, 2005).

Embora o protocolo de treinamento físico por saltos em meio líquido, utilizado no presente estudo, induza os animais à hipóxia até o momento em que saltam para respirar, no presente estudo observou-se redução na produção de EROx na aorta torácica de animais treinados em relação ao grupo não-treinado, quando ambos foram tratados com veículo. Assim, é possível propor que o treinamento físico resistido utilizado tenha induzido outras respostas que possam evitar o aumento de EROx no tecido vascular.

Durante a atividade muscular, a demanda energética pode superar em 35 vezes a demanda de repouso, e dessa forma, durante a sua realização ocorre um grande aumento no consumo de oxigênio, na sua maior parte em decorrência do aumento de trabalho muscular (Åstrand *et al.*, 2003). Segundo Viña *et al.* (2000), o grau de estresse oxidativo e de dano muscular não depende da intensidade absoluta do exercício, e sim do grau de exaustão do indivíduo. Estas moléculas estão aumentadas nos exercícios de alta intensidade (Lovlim *et al.*, 1987; Ebellig & Clarkson, 1989) e extenuantes (Jenkins, 1988).

Por outro lado, sabe-se que a atividade física é uma conhecida forma de estresse e a exposição crônica a ela (o treinamento físico) é capaz de disparar adaptações em resposta a uma maior produção destes radicais livres, (Niess *et al.*, 1999; McArdle *et al.*, 2001), já que foi observado que o estresse oxidativo ocasionado pelo exercício agudo intenso pode ser minimizado pela realização de um treinamento, com sobrecargas progressivamente ajustadas, antes dos indivíduos serem submetidos ao estresse agudo de alta intensidade (Miyazaki *et al.*, 2001). Em geral, os danos musculares causados pelo estresse oxidativo são mais acentuados em indivíduos pouco treinados, que realizam exercícios com intensidade e duração acima de seu estado de condicionamento

físico (Lamprecht *et al.*, 2004). De fato, o exercício crônico de intensidade moderada altera positivamente a homeostase oxidativa de células e tecidos por diminuir os níveis basais de danos oxidativos (Niess *et al.*, 1999; Di Meo & Vendditti, 2001; Cooper *et al.*, 2002) e resulta em adaptações na capacidade antioxidante, as quais protegem as células contra os efeitos deletérios do estresse oxidativo, prevenindo danos celulares subsequentes (Aguilo *et al.*, 2003).

O controle da produção de EROx é estreitamente mantido através de enzimas, tais como superóxido dismutase (SOD), catalase e glutadiona peroxidase (GPX), não-enzimas, os chamados antioxidantes naturais incluindo vitaminas A, C e E (Nascimento *et al.*, 2005) e flavonóides (Droge, 2002). As enzimas antioxidantes são “varredoras” de EROx causando um aumento da biodisponibilidade de ON nas células musculares lisas e melhora da vasodilatação dependente do endotélio (Dimmler *et al.*, 1999; Davis *et al.*, 2001, 2003). A produção diminuída de EROx em ratos treinados observada neste estudo poderia ser atribuída à maior capacidade de defesa antioxidante, proporcionada pelo treinamento físico. Porém, este efeito não seria suficiente para que a biodisponibilidade de ON permitisse melhora na vasodilatação dependente do endotélio.

Foi proposto por Margaritis *et al.* (1997) que a magnitude da melhora do sistema de defesa antioxidante depende das cargas de treinamento. Os mesmos autores demonstraram ainda que quanto mais alto o VO₂máx em triatletas, mais alta a atividade da enzima antioxidante GPX nos eritrócitos, protegendo o organismo do dano à membrana celular. Leeuwenburgh *et al.* (1997) acrescentaram que o estresse oxidativo induzido pelo exercício pode disparar adaptações em resposta ao treinamento e que tais adaptações seriam tecido-específicas, sugerindo um mecanismo regulatório complexo. Em 2000, o estudo de Selamoglu *et al.* (2000) apresentou diferenças adaptativas entre os exercícios aeróbicos e anaeróbicos. A atividade da enzima GPX em eritrócitos estava aumentada nos corredores de longa distância comparados com levantadores de peso. Na mesma linha de trabalho, Inal *et al.* (2001), analisando o metabolismo anaeróbico em exercício agudo de natação, observaram que a produção de radicais livres foi maior do que a capacidade antioxidante. Por outro lado, Subudhi *et al.* (2001), avaliando esquiadores alpinos de elite após treinamento intenso, não observaram mudança nos marcadores de estresse oxidativo, supondo então que estes atletas tiveram uma

adaptação positiva em seus mecanismos antioxidantes com o treinamento. Isto poderia explicar a diminuição na produção de EROx observada no presente estudo.

Com relação aos efeitos do esteróide anabólico, observou-se no presente estudo que, em animais tratados com nandrolona, o exercício físico resistido promoveu maior inibição da resposta vasodilatadora à ACh e redução na produção de ON induzida por ACh, em relação ao respectivo grupo não-treinado e em comparação ao efeito observado em ratos tratados com veículo. Estes achados podem explicar a ausência de subsensibilidade ao efeito vasoconstritor da fenilefrina, observada em ratos submetidos ao mesmo protocolo de treinamento físico aqui usado, e tratados com a mesma concentração de nandrolona (Cunha *et al.*, 2005b).

De acordo com Ferrer *et al.* (1994) coelhos tratados com nandrolona, por 4, 8 e 12 semanas apresentaram respostas vasodilatadoras deprimidas em resposta à ACh e ao inóforo de Ca^{+} , em aorta torácica, sugerindo que a síntese de ON poderia estar alterada, provavelmente causada pela redução da disponibilidade de L-arginina intracelular. De fato, os resultados apresentados comprovam que a nandrolona reduziu a produção de ON e isto poderia estar relacionado à diminuição da resposta vasodilatadora à ACh observada. Ressalta-se que, apesar da curva concentração-efeito à ACh ser a metodologia mais amplamente utilizada para o estudo da função endotelial, ela apresenta a limitação de não ser possível separar os fenômenos biológicos que ocorrem dentro e fora do vaso (Evora *et al.*, 1996). A metodologia utilizada no presente estudo, o DAF-2 fornece um ensaio sensível, rápido e fácil para a detecção de ON, não apenas de macrófagos ativos, mas também de células endoteliais (Nakatsubo *et al.*, 1998).

Um estudo *in vitro* demonstrou a toxicidade de alguns esteróides anabolizantes, frequentemente utilizados em competições esportivas, em células endoteliais humanas. O autor observou alteração no crescimento endotelial, apoptose, e modificações nas concentrações de Ca^{+} intracelular (D'Ascenzo *et al.*, 2007) os quais poderiam estar envolvidos nas respostas do ON observadas neste estudo, até porque o aumento da concentração de Ca^{+} citosólico é o mecanismo mais conhecido e clássico de ativação da enzima eNOS (Laurindo & Leite, 2005) e considerando que a nandrolona pode alterar o metabolismo do Ca^{+} (Organon[®] - Brasil); provavelmente estas alterações possam estar ocorrendo em ratos tratados com nandrolona.

Outro mecanismo proposto seria o aumento do número de receptores de tromboxano A2 em células musculares lisas de aorta de ratos incubadas com testosterona (Matsuda *et al.*, 1991).

Cunha *et al.* (2005b) observaram que o treinamento anaeróbico associado com a nandrolona também induziu aumento nas concentrações de LDL em comparação com os grupos sedentários. E isto, poderia contribuir para diminuir o relaxamento endotélio-dependente por inibição da enzima guanilato ciclase, como observado nos estudos de Jacobs *et al.* e Takahashi *et al.* (1990) em aortas de coelhos incubadas com LDL sob estímulo de vasodilatadores. Os resultados obtidos no presente estudo corroboram esta hipótese, já que a associação entre nandrolona e treinamento resistido potencializou o efeito inibitório deste protocolo de exercício sobre a produção de ON estimulada por ACh na aorta torácica.

A oxidação do LDL tem sido vista como um mecanismo inibidor do relaxamento vascular endotélio-dependente. A exposição a estresse oxidativo ou a lipoproteínas oxidadas reduz o número de cavéolas em células endoteliais, bem como a associação da eNOS com as mesmas, levando a uma menor produção de ON (Goligorsky *et al.*, 2002; Napoli & Ignarro, 2001; Michel, 1997; Govers & Rabelink, 2001).

O protocolo de treinamento utilizado foi eficaz em diminuir a produção das EROx, mas este efeito não foi observado em animais tratados com nandrolona. Assim, poderia ter ocorrido uma inibição do maquinário enzimático antioxidante de animais tratados com nandrolona.

O estresse oxidativo induzido pelo exercício causa diferentes tipos de resposta que parecem ter relação com o tipo de exercício estudado e com os níveis de antioxidantes endógenos (Liu *et al.*, 2002). Os danos associados ao estresse oxidativo induzidos pelo exercício intenso estão relacionados com a diminuição do desempenho físico, fadiga muscular, danos musculares e até síndrome de *overtraining* (Konig *et al.*, 2001) Um dos principais mecanismos de lesão é a lipoperoxidação ou oxidação da camada lipídica da membrana celular e o exercício intenso pode induzir este processo, conduzindo a problemas como inativação de enzimas da membrana celular (Mastaloudis *et al.*, 2004), diminuição da efetividade do sistema imune e progressão de doenças

cardiovasculares (Viitala *et al.*, 2004). O estresse oxidativo pode gerar danos a proteínas e ao DNA, provocando diversas alterações na função celular e, portanto, tecidual (Schneider & Oliveira, 2004).

Os fatores mais importantes na formação do estresse oxidativo são a intensidade e conseqüentemente o nível de exaustão do indivíduo submetido ao exercício e, portanto, a exposição a um maior fluxo de oxigênio. Talvez alguns trabalhos não sejam capazes de demonstrar um desequilíbrio nos sistemas pró e antioxidantes em razão do curto tempo de exposição ao exercício. Além disso, utilizam-se protocolos de exercício diversos, em geral baseados em um percentual do consumo máximo de oxigênio, ou seja, não relativizando a carga de trabalho à amostra do estudo, bem como diferentes técnicas de detecção do estresse oxidativo (Schneider & Oliveira 2004).

Embora as medidas de produção de ON e a atividade de eNOS tenham sido utilizadas como marcadores para investigar os efeitos do exercício físico nos vasos sanguíneos, deve-se ter em mente que a regulação do tônus vascular é um fenômeno complexo. Assim múltiplas interações existem entre o estímulo de um agonista e a resposta vascular incluindo a afinidade do receptor ao agonista, metabolismo das drogas, existência de enzimas antioxidantes e pró-oxidantes nas células, participação de pequenas moléculas na via de transdução de sinais, e a contribuição de diversas proteínas regulatórias nos processos de fosforilação. Considerando ainda a variedade de receptores e vias de sinalização presentes nas células musculares lisas e nas células endoteliais que acionam os processos vasorelaxantes, a avaliação do treinamento físico na responsividade dos vasos sanguíneos é um assunto complexo sendo que novas investigações são necessárias. Além do mais deve-se salientar que as diferenças nos leitos vasculares pode contribuir para os dados não conclusivos relacionando os efeitos do exercício físico e as respostas vasodilatadoras vasculares (Zanesco & Antunes, 2007).

Os resultados referentes à camada média revelam que somente o treinamento físico induziu um aumento na espessura deste tecido, sendo que a nandrolona não promoveu nenhuma alteração. A literatura tem mostrado que o treinamento físico está associado com o aumento da estrutura vascular em artérias coronárias de atletas, verificado através de autópsia e angiografia (Currens & White, 1961; Pelliccia *et al.*, 1990). Entretanto, alguns estudos verificaram aumentos na estrutura de vasos sanguíneos de resistência (Sinoway *et al.*, 1986;

Green *et al.*, 1994). Estes achados suportam o conceito de que alterações encontradas em artérias de grande calibre são respostas adaptativas desencadeadas para atenuar o aumento da pressão transmural e o estresse na parede arterial decorrente de repetidas séries de exercício (Miyachi *et al.*, 1998; Lloyd *et al.*, 2001; Prior *et al.*, 2003) sendo que o *shear stress*, sugerido como o mecanismo envolvido nesta resposta, é o estímulo para o remodelamento arterial (Tuttle *et al.*, 2001) e que o aumento na estrutura do vaso regula homeostaticamente o cisalhamento da parede arterial de uma maneira endotélio-dependente, mais especificamente da ação do ON (Tronc *et al.*, 1996; Rudic *et al.*, 1998). Como observado, o treinamento ocasionou uma diminuição da produção de NO em aorta torácica de ratos, o que poderia favorecer o aumento na espessura da camada média de ratos treinados. Garg & Hassid (1989) demonstraram que o NO inibe a mitogênese e proliferação em células do músculo liso vascular de ratos, por um mecanismo mediado por GMPc, e Sader *et al.* (2001) observaram um aumento na espessura da camada média-íntima em carótidas de fisiculturistas, usuários e não usuários de EAA, quando comparados ao grupo controle.

O remodelamento arterial refere-se a um processo pelo qual artérias de resistência de pequeno calibre e grandes artérias de condução somente aumentam ou diminuem seu diâmetro e/ou sua espessura da parede por alteração em sua composição, em termos de montantes celulares (músculo liso vascular e endotélio) e constituintes da matriz extracelular (Brown, 2003). Este mesmo autor, em uma revisão sobre remodelamento coronariano em resposta ao exercício, concluiu que o remodelamento vascular difere dependendo do tamanho e localização dos vasos ao longo dos leitos vasculares: capilares e pequenas arteríolas estão sujeitas à aumentos longitudinais enquanto que artérias de condução e de resistência expandem circunferencialmente (arteriogênese).

As pesquisas nos últimos anos têm apresentado alguns fatores de crescimento como o VEGF (fator de crescimento do endotélio vascular), FGF-2 (fator de crescimento de fibroblastos), aderência de monócitos às células endoteliais, linfócitos T, células derivadas da medula óssea e fatores endoteliais como β_2 -integrinas, moléculas de adesão (V-CAM e I-CAM), MCP-1 (proteína quimiotática para monócitos), que contribuem para a estimulação da arteriogênese (Heil & Schaper, 2004; Kodja & Hambrecht, 2005). A elevação do *shear stress* na superfície endotelial gera não apenas uma distensão na parede do vaso devido a uma pressão intraluminal aumentada, mas um aumento em seu diâmetro e dimensões da parede,

decorrente do remodelamento de células endoteliais, musculares lisas e de fibroblastos. Este estímulo tem relação com o aumento do estresse de cisalhamento no lúmen arterial, causado pelo aumento do fluxo circulante, sendo que o vaso se alarga para normalizá-lo respondendo com um espessamento da parede (Tronc *et al.*, 1996). Ao contrário, se o fluxo é reduzido na resposta ao exercício o diâmetro da artéria se reduz, em resposta a um menor estresse de cisalhamento e o aporte de sangue é reduzido para o tecido (Prior *et al.*, 2004b). É particularmente evidente que o alargamento dos vasos de condução é mediado pelo *shear stress*.

O treinamento físico modifica outras forças físicas que agem nos vasos sanguíneos como a pressão transmural e o estiramento cíclico. O aumento de frequência cardíaca, pressão arterial e contratilidade miocárdica induzida pelo treinamento aumentam transitoriamente o *shear stress* (devido ao aumento do fluxo sanguíneo), a pressão transmural (devido à pressão arterial aumentada) e o estiramento cíclico dos vasos sanguíneos (devido à frequência cardíaca aumentada e à natureza pulsátil do fluxo sanguíneo). Estas forças físicas exercem significantes efeitos fisiológicos na expressão de genes do músculo liso e função endotelial (Fleming & Busse, 2003; Bowles & Wamhoff, 2003) e são consideradas os mais importantes estímulos das adaptações vasculares ao treinamento físico (Prior *et al.*, 2004b; Green *et al.*, 2004).

Enquanto o estímulo de um aumento no *shear stress*, dentro dos vasos sob uma pressão luminal reduzida, possa ser fator essencial que permite o alargamento do vaso, não há uma compreensão abrangente de todos os sinais e processos envolvidos, nem como eles são orquestrados para produzir o alargamento final do circuito colateral. Inúmeros fatores são regulados dentro dos vasos colaterais sob oclusão de uma artéria. Estes fatores poderiam sinalizar alguns dos processos envolvidos. Por exemplo, assim como no músculo isquêmico que está ativo durante o treinamento diário (Lloyd *et al.*, 2003), a eNOS é regulada em vasos colaterais (Prior *et al.*, 2004a). O aumento da expressão do mRNA da enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) é típica em vasos sanguíneos que estão diretamente em funcionamento durante o exercício, permitindo um aumento no conteúdo protéico da eNOS, e poderia ser uma importante adaptação no controle local vascular dentro do músculo ativo (Laughlin *et al.*, 1996). Entretanto, no caso de remodelamento vascular, é provavelmente mais crítica, já que a sinalização do ON é essencial para o alargamento do vaso (Tronc *et al.*, 1996; Papapetropoulos *et al.*, 1997; Amano *et al.*, 2003). Considerando estes fatores que

estão envolvidos exclusivamente no remodelamento vascular, e que o ON tem participação fundamental nos mecanismos que intermedeiam estas repostas frente ao treinamento físico, talvez possa haver outros mecanismos que estejam envolvidos no aumento da espessura da camada média em aorta de ratos, já que a literatura apresenta poucos trabalhos relacionando esta resposta com o treinamento de característica predominantemente anaeróbica.

Em suma, o presente estudo demonstrou que o treinamento físico resistido por salto em água reduziu o peso corporal final dos animais, em comparação com animais não-treinados e que o tratamento com nandrolona potencializou estes efeitos. Em animais treinados tratados com veículo, a resposta vasodilatadora à ACh reduziu, assim como a produção de ON estimulada por ACh in vitro, em relação ao respectivo grupo não-treinado, efeitos estes potencializados com a administração de nandrolona. A produção de EROx diminuiu em animais treinados tratados com veículo, mas este efeito não foi observado em animais treinados tratados com nandrolona. Já a espessura da camada média aumentou mediante treinamento físico, sem alteração nesta resposta nos animais sob tratamento com nandrolona.

7. CONCLUSÃO

Os resultados encontrados no presente estudo demonstram que o protocolo de treinamento físico de alta intensidade, com características predominantemente anaeróbicas, promoveu adaptações morfológicas, funcionais e metabólicas em aortas de ratos. O estudo também aponta o efeito maléfico do esteróide anabólico nandrolona nestes parâmetros, contribuindo assim para o desenvolvimento de um quadro disfuncional no endotélio vascular, o que pode ser um agravante para manifestação da aterosclerose e complicações cardiovasculares futuras.

8. REFERÊNCIAS

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Lei nº 9.965, 27 de Abril de 2000: restringe a venda de esteróides ou peptídeos anabolizantes e dá outras providências. www.anvisa.gov.br [Internet]. 2000 Abr 27 [Acesso 2010 Mar 06] Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=746>.

Aguilo A, Tauler P, Pilar Guix M, Villa G, Cordova A, Tur JA, Pons A. Effect of exercise intensity and training on antioxidants and cholesterol profile in cyclists. *J Nutri Biochem*. 2003; 14 (6): 319-25.

Amano K, Matsubara H, Iba O, Okigaki M, Fujiyama S, Imada T, Kojima H, Nozawa Y, Kawashima S, Yokoyama M, Iwasaka T. Enhancement of ischemia-induced angiogenesis by eNOS overexpression. *Hypertension* 2003; 41(1):156-62.

Ariel G & Saville W. Anabolic steroids: the physiological effects of placebos. *Med Sci Sports*; 1972; 4: 124-6.

Assunção SSM. Dismorfia Muscular. *Rev Bras Psiquiatr*. 2002; 24 (Supl III): 80-4.

Åstrand PO, Rodhal K, Dahl HA, Strømme SB. Textbook of work physiology. Physiological basis of exercise. 4th ed. Champaign: Human Kinetics, 2003.

Bagchus WM, Smeets JMW, Verheul HAM, De Jager-Van Veen SM, Port A, Geurts TBP. Pharmacokinetic evaluation of three different intramuscular doses of nandrolone decanoate: analysis of serum and urine samples in healthy men. *J Clin Endocrin Metab*. 2005; 90 (5): 2624-30.

Bahrke MS & Yesalis CE. Abuse of anabolic androgenic steroids and related substances in sport and exercise. *Current Opinion in Pharmacology*. 2004; 4 (6): 614-20.

Ballal SH, Domoto DT, Polack DC, Marciulonis P, Martin KJ. Androgens potentiate the effects of erythropoietin in the treatment of anemia in patients on chronic hemodialysis. *Am. J. kidney Dis*. 1991; 17 (1): 29-33.

Bamman MM, Shipp JR, Jiang J, Gower BA, Hunter GR, Goodman A, McLafferty CL, Urban RJ. Mechanical load increases muscle IGF-1 and androgen receptor mRNA concentrations in humans. *Am J Physiol*. 2001; 280 (3): 383-90.

*De acordo com a norma da UNICAMP/FOP, baseada na norma do International Committee of Medical Journal Editors – Grupo de Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com a Medline.

Barbanti VJ, Tricoli V, Ugrinowitsch C. Relevância do conhecimento científico na prática do treinamento físico. *Revista Paulista de Educação Física*. 2004; 18, n. esp: 101-9.

Basaria S & Dobs AS. Risks versus benefits of testosterone therapy in elderly men. *Drugs Aging*. 1999; 15 (2):131-42.

Bhasin SW, Storer TW, Berman N, Callegari C, Clevenger B, Phillips J, Bunnell TJ, Ricker R, Shirazi A, Casaburi R. The effects of supraphysiologic doses of testosterone on muscle size and strength in normal men. *N Engl J Med*. 1996; 335 (1): 1-7.

Bergholm R, Makimattila S, Valkonen N, Liu M, Lahdenpera S, Taskinen M, Sovijarvi A, Malmberg P & Yki-Jarvinen H. Intense physical training decreases circulating antioxidants and endothelium-dependent vasodilatation in vivo. *Atherosclerosis*. 1999; 145 (2), 141-9.

Berne RM & Levy MN. As glândulas reprodutoras. In: Berne RM, Levy, MN. *Fisiologia*. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000 cap. 52, p.910-6.

Berns JS, Rudnick MR, Cohen RM. A controlled trial of recombinant human erythropoietin and nandrolone decanoate in the treatment of anemia in patients on chronic hemodialysis. *Clin Nephrol*. 1992; 37(5): 264-7.

Bielinski R, Schutz Y, Jequier E. Energy metabolism during the post exercise recovery in man. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1985; 42 (1): 69-82.

Bindokas VP, Jordan J, Lee CC, Miller RJ. Superoxide production in rat hippocampal neurons: selective imaging with hydroethidine. *J Neurosci*. 1996; 16 (4):1324-36.

Black PH. Stress and the inflammatory response: A review of neurogenic inflammation. *Brain Behav Immun*. 2002; 16 (6): 622-53.

Black PH. The inflammatory response is an integral part of the stress response: Implications for atherosclerosis, insulin resistance, type II diabetes and metabolic syndrome X. *Brain Behav Immun*. 2003; 17 (5): 350-364.

Bonetti A, Tirelli F, Catapano A, Dazzi D, Dei Cas A, Solito F et al. Side effects of anabolic androgenic steroids abuse. *Int J Sports Med*. 2008; 29 (8): 679-87

Bowles DK & Wamhoff BR. Coronary smooth muscle adaptation to exercise: does it play a role in cardioprotection? *Acta Physiol Scand*. 2003; 178 (2): 117-21.

Brandão AF, & Pinge MCM. Alteração do óxido nítrico na função cardiovascular pelo treinamento físico. *Semina: Ciências Biológicas da Saúde*. 2007; 28 (1): 53-68.

Brower KJ, Eliopoulos GA, Blow FC, Catlin DH, Beresford TP. Evidence for physical and psychological dependence on anabolic androgenic steroids in eight weight lifters. *Am J Psychiatry*. 1990; 147 (4): 510-12.

Brown MD. Exercise and coronary vascular remodelling in the healthy heart. *Experimental Physiology*. 2003; 88 (5): 645-58.

Brum PC, Forjaz CLM, Tinucci T, Negrão CE. Adaptações agudas e crônicas do exercício físico no sistema cardiovascular. *Revista Paulista de Educação Física*. 2004; 18: 21-31.

Burnett KF, & Kleiman ME. Psychological characteristics of adolescent steroid users. *Adolescence*. 1994; 29 (113): 81-9.

Carson JA, Lee WJ, Mcclung J, Hand GA. Steroid receptor concentration in aged rat hind limb muscle: effect of anabolic steroid administration. *J Appl Physiol*. 2002; 93 (1): 242-50.

Cartee GD, Young DA, Sleeper MD, Zierath J, Wallberg-Henriksson H, Holloszy JO. Prolonged increase in insulin-stimulated glucose transport in muscle after exercise. *Am.J.Physiol*. 1989; 256 (4 Pt 1): 494-9.

Catlin DH & Hatton CK. Use and abuse of anabolic and other drugs for athletic enhancement. *Advances in Internal Medicine* 1991; 36: 399-424 *apud* Mottram DR, George AJ. *Anabolic Steroids Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2000; 14 (1): 55-69.

Cavagna G, Dusman B, Margaria R. Positive work done by a previously stretched muscle. *J Appl Physiol*. 1968; 24 (1): 21-32.

CEBRID - Centro Brasileiro de informações sobre drogas Psicóticas. Universidade Federal de São Paulo (Unifesp). Esteróides anabolizantes. [Internet]. 09/02/2003, p.61-63. [Acesso 2010 Mar 04]. Disponível em: <http://www.cebrid.drogasd.com.br>.

Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet*. 1992; 340 (8828): 1111-5, 1992.

- Celotti F & Cesi N. Anabolic Steroids: A review of their effects on the muscles, of their possible mechanisms of action and of their use in athletics. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.* 1992; 43(5): 469-77.
- Chen H, & Li H-Tan. Physical conditioning can modulate endothelium-depedent vasorelaxation in rabbits. *Atherosclerosis and Thrombosis.* 1993; 13 (6): 852-6.
- Chen HI, Chiang IP, & Jen CJ. Exercise training increases acetylcholine-stimulated endothelium-derived nitric oxide release in spontaneously hypertensive rats. *J Biomed Sci.* 1996; 3 (6): 454-60, 1996.
- Cheng L, Yang C, Hsu L, Lin MT, Jen CJ, Chen H. Acute exercise enhances receptor-mediated endothelium-dependent vasodilation by receptor upregulation. *J Biomed Sci.* 1999; 6 (1): 22-7.
- Choate JK, Kato K, Mohan RM. Exercise training enhances relaxation of the isolated guinea-pig saphenous artery in response to acetylcholine. *Exp Physiol.* 2000; 85 (1): 103-8.
- Choi PY, & Pope Jr. HG. Violence toward women and illicit androgenic-anabolic steroid use. *Annals of Clinical Psychiatry.* 1994; 6 (1): 21-5.
- Chou TM, Sudhir K, Hutchison SJ, Ko E, Amidon TM, Collins P, et al. Testosterone induces dilation of canine coronary conductance and resistance arteries in vivo. *Circulation.* 1996; 94 (10): 2614-9.
- Clark BM & Schofiels RS. Dilated cardiomyopathy and acute liver injury associated with combined use of ephedra, gamma-hydroxybutyrate, and anabolic steroids. *Pharmacotherapy.* 2005; 25 (5):756-61.
- Clarkson P, Montgomery HE, Mullen MJ, Donald AE, Powe AJ, Bull T, et al. Exercise training enhances endothelial function in young men. *J Am Coll Cardiol.* 1999; 33 (5): 1379-85.
- Clerico A, Ferdeghini M, Palombo C, Leoncini R, Del Chica MG, Sardano G, et al. Effect of anabolic treatment on the serum levels of gonadotropins, testosterone, prolactin, thyroid hormones and myoglobin of male athletes under physical training. *J Nucl Med Allied Sci.* 1981 25(3): 79-88.
- Cohane GH & Pope HG-Jr. Body image in boys: a review of the literature. *Int J Eat Disord.* 2001; 29 (4): 373-9.
- Conacher GN & Workman DG. Violent crime possibly associated with anabolic steroid use. *Am J Psychiatry.* 1989; 146 (5): 679.

Conceição CA, Wander FS, Massali LP, Vianna LAF, Gonçalves DM, Fossati G. Uso de anabolizantes entre praticantes de musculação em academias. *Rev. Pesq Med.* 1999; 33: 103-16.

Costa JF. Saúde Mental: Produto da Educação? in: *Saúde em Debate.* n. 11. 1981

Cooper CE, Vollaard NB, Choueiri T, Wilson MT. Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochem Soc Trans.* 2002; 30 (2): 280-5.

Creutzberg EC & Schols AMWJ. Anabolic steroids. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 1999; 2 (3): 243-53.

Crist DM, Stackpole PJ, Peake GT. Effects of androgenic anabolic steroids on neuromuscular power and body composition. *J Appl Physiol.* 1983; 54 (2): 366-70.

Cunha TS, Cunha NS, Moura MJCS & Marcondes FK. Esteróides anabólicos e a prática desportiva. *Braz J Pharmac Sci.* 2004; 40 (1):165-79.

Cunha TS, Tanno AP, Moura MJCS, Marcondes FK Influence of high-intensity exercise training and anabolic androgenic steroid treatment on rat tissue glycogen content. *Life Sciences.* 2005a; 77 (9): 1030-43.

Cunha TS, Moura MJCS, Bernardes CF, Tanno AP, Marcondes FK. Vascular sensitivity to phenylephrine in rats submitted to anaerobic training and nandrolone treatment. *Hypertension.* 2005b; 46 (2): 1-6.

Cunha TS, Tanno AP, Marcondes FK, Perez SEA & Selistre-Araújo HS. A Administração de Nandrolona não promove hipertrofia do músculo sóleo em ratos. *ABEM.* 2006; 50 (3): 532-40.

Currens JH, & White PD. Half century of running: clinical, physiological and autopsy findings in the case of Clarence De Mar, 'Mr Marathoner'. *N Engl J Med.* 1961; 16; (265): 988-93.

D'Ascenzo S, Millimaggi D, Di Massimo C, Saccani-Jotti G, Botre F, Carta G, Tozzi-Ciancarelli MG, Pavan A, Dolo V. Detrimental effects anabolic steroids on human endothelial cells. *Toxicology Letters.* 2007; 169 (2): 129-36.

Davis ME, Cai H, Drummond GR, Harrison DG. Shear stress regulates endothelial nitric oxide synthase expression through c-Src by divergent signaling pathways. *Circ Res.* 2001; 89 (11): 1073-80.

Davis ME, Cai H, McCann L, Fukai T, Harrison DG. Role of c-Src in regulation of endothelial nitric oxide synthase expression during exercise training. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003; 284 (4): 1449-53.

Del Maestro RF. An approach to free radicals in medicine and biology. *Acta Physiol Scand.* 1980; 492: 153-68.

Delp MD, McAllister RM, Laughlin MH. Exercise training alters endothelium dependent vasoreactivity of rat abdominal aorta. *J Appl Physiol.* 1993; 75 (3): 1354-63.

Delp MD & Laughlin MH. Time course of enhanced endothelium-mediated dilation in aorta of trained rats. *Med. Sci Sports Exerc.* 1997; 29 (11): 1454-61.

Deschenes MR, Maresh C, Armstrong L, Covault J, Kraemer W, Crivello J. Endurance and resistance exercise induce muscle fiber type specific responses in androgen binding capacity. *J. Ster. Biochem. Mol. Biol.* 1994; 50 (3-4): 175-9.

Deschenes MR & Kraemer WJ. Performance and adaptations to resistance training. *Am J Phys Med Rehabil.* 2002; 81 (suppl 11): 3-16.

Di Belo V, Giorgi D, Bianchi M, Bertini A, Caputo MT, Valenti G, Furioso O, Alessandri L, Paterni M, Giusti C. Effects of anabolic-androgenic steroids on weightlifters' myocardium: an ultrasonic videodensitometric study. *Med Sci Sports Exerc.* 1999; 31(4): 514-21.

Di Meo S, & Venditti P. Mitochondria in exercise-induced oxidative stress. *Biol Signals Recept.* 2001; 10(1-2): 125-40.

Diário de Notícias 07/07/2008. [Acesso 22/01/2010]. Disponível em: http://dn.sapo.pt/especiais/interior.aspx?content_id=1033716&especial=Doping%20O%EDmpico&seccao=DESPORTO.

Dimmler S, Fleming I, Fisslthaler B, Hermann C, Busse R, Zeiher AM. Activation of nitric oxide synthase in endothelial cells by Akt-dependent phosphorylation. *Nature.* 1999; 399 (6736): 601-5.

Droge W. Free radicals in the physiological control of the cell function. *Physiol Rev.* 2002; 82 (1): 47-95.

Duque FLV. Aterosclerose: Aterogênese e fatores de risco. *Revista de Angiologia e Cirurgia Cardiovascular.* 1998; 7 (2): 50-58.

Ebelling CB, & Clarkson PM. Exercise-induced muscle damage and adaptation. *Sports Med.* 1989; 7 (4): 207-34.

Ebenbichler CF, Sturm W, Gänzer H, Bodner J, Mangweth B, Ritsch AA, Sandhofer A, Lechleitner M, Föger B, Patsch, JR. Flow-mediated, endothelium-dependent vasodilatation is impaired in male body builders taking anabolic-androgenic steroids. *Atherosclerosis.* 2001; 158 (2) 483-90.

Evans NA. Current concepts in anabolic-androgenic steroids. *Am J Sport Med.* 2004; 32 (2): 534-42.

Evora PR, Pearson PJ, Seccombe JF, Discigil B, Schaff HV. Métodos experimentais no estudo da função endotelial. *Arq. Bras. Cardiol.* 1996; 66 (5): 291-97.

Fahey TD, Brown CH. The effects of an anabolic steroid on the strength, body composition, and endurance of college males when accompanied by a weight training program. *Med Sci Sports.* 1973; 5 (4): 272-76.

Feng GG, Yamada M, Wongsawatkul O, Li C, Huang L, An J, Komatsu T, Fujiwara Y, Naohisa I. Role of naofen, a novel WD repeated-containing protein, in reducing nitric-oxide-induced relaxation. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2008; 35 (12): 1447-53.

Ferenchick GS, Hirokawa S, Mammen EF, Schwartz KA. Anabolic- androgenic steroid abuse in weight lifters: Evidence for activation of the hemostatic system. *Am J Hematol.* 1995; 49 (4): 282-8.

Ferrera PC, Putnam DL, Verdile VP. Anabolic steroid use as the possible precipitant of dilated cardiomyopathy. *Cardiology.* 1997; 88 (2): 218-20.

Ferrer M, Encabo A, Marín J, Balfagón G. Chronic treatment with the anabolic steroid, nandrolone, inhibits vasodilator responses in rabbit aorta. *Eur J Pharmacol.* 1994; 352 (2): 233-41.

Filho JASB. Síndrome Metabólica: Um estado pró-trombótico. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo*. 2004; 14 (4): 590-5.

Fineschi V, Baroldi G, Monciotti F, Paglicci RL, Turillazzi E. Anabolic steroid abuse and cardiac sudden death: a pathologic study. *Arch Pathol Lab Med*. 2001; 125 (2): 253-5.

Fischer AB. Intracellular production of oxygen-derived free radicals. *Proceedings of a Brook Lodge Symposium Augusta*. 1987; 27 (29): 99-104.

Fischer M, Appleby M, Rittoo D, Cotter L. Myocardial infarction with extensive intracoronary thrombus induced by anabolic steroids. *Br J Clin Pract*. 1996; 50 (4): 222-3.

Fitch KD. Androgenic-anabolic steroids and the Olympic Games. *Asian J Androl*. 2008; 10(3): 384-90.

Fleck SJ. Periodized strength training: a critical review. *J Strength Cond Res*. 1999; 13 (1): 82-9.

Fleming I, & Busse R. Molecular mechanisms involved in the regulation of the endothelial nitric oxide synthase. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2003; 284 (1): 1-12.

Fortunato RS, Rosenthal D, Carvalho DP. Abuso de esteróides anabolizantes e seu impacto sobre a função tireóidea. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2007; 51 (9): 1417-24.

Freed DLJ, Banks AJ, Longson D, Burley DM. Anabolic steroids in athletics: crossover double-blind trial on weightlifters. *Br Med J*. 1975; 2 (5969): 471-3.

Friedl KE, Dettori JR, Hannan CJ, Patience TH, Plymate SR. Comparison of the effects of high dose testosterone and 19-nortestosterone to a replacement dose of testosterone on strength and body composition in normal men. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 1991; 40 (4-6): 607-12.

Garg UC, Hassid A. Nitric oxide-generating vasodilators and 8-bromo-cyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest*. 1989; 83(5): 1774-7.

Gewaltig MT, & Kodja G. Vasoprotection by nitric oxide: mechanisms and therapeutic potential. *Cardiovasc Res*. 2002; 55 (2): 250-60.

Gelfand MM & Wita B. Androgen and estrogen-androgen hormone replacement therapy: a review of the safety literature. *Clin. Ther.* 1997; 19 (3): 383-404.

Geyer H, Parr MK, Mareck U, Reinhart U, Schrader Y, Schanzer W. Analysis of non-hormonal nutritional supplements for Anabolic-Androgenic Steroids – Results of International Study. *Int J Sports Med.* 2004; 25 (2): 124-9.

Gill GV. Anabolic steroid induced hypogonadism treated with human chorionic gonadotropin. *Postgrad Med. J.* 1998; 74 (867): 45-6.

Goligorsky MS, Li H, Brodsky S, Chen J. Relationships between caveolae and eNOS: everything in proximity and the proximity of everything. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2002; 283 (1): 1-10.

Glazer G. Atherogenic effects of anabolic steroids on serum lipid levels. *Arch Intern Med.* 1991; 151 (10): 1925-33.

Goldberg L, Elliot D, Clarke GN, MacKinnon DP, Moe E, Zoref L, et al. Effects of a multidimensional anabolic steroid prevention intervention. *JAMA.* 1996; 276 (19): 1555-62.

Goldwire MA & Price KO. Sports Pharmacy: Counseling Athletes About Banned Drugs. *Amer Pharm.* 1995; NS 35 (5): 24-30.

Gordon CM, Glowacki J, LeBoff MS. DHEA and the skeleton (through the ages). *Endocrine.* 1999; 11 (1): 1-11.

Gotshalk LA, Loebel CC, Nindl BC, Putukian M, Sebastianelli WJ, Newton RU, et al. Hormonal responses of multiset versus single-set-heavy-resistance exercise protocols. *Can J Appl Physiol*; 1997; 22 (3): 244-55.

Govers R & Rabelink TJ. Cellular regulation of endothelial nitric oxide synthase. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2001; 280 (2): 193-206.

Graham DA, & Rush JWE. Exercise training improves aortic endothelium-dependent vasorelaxation and determinants of nitric oxide bioavailability in spontaneously hypertensive rats. *J Appl Physiol.* 2004; 96 (6): 2088-96.

Green DJ, Cable NT, Fox JM, Taylor, R and RR. Modification of forearm resistance vessels by exercise training in young men. *J. Appl.Physiol.* 1994; 77 (4): 1829-33.

Green DJ, Maiorana A, O'Driscoll G, Taylor R. Effect of exercise training on endothelium-derived nitric oxide function in humans. *J Physiol*. 2004; 561 (Pt 1): 1-25.

Greiwe JS, Hickner RC, Hansen PA, Racete SB, Chen MM, Holloszy JO. Effects of endurance exercise training on muscle glycogen accumulation in humans. *J Appl Physiol*. 1999; 87 (1), 222-26.

Grogan S, Shepherd S, Evans R, Wright S, Hunter G. Experiences of anabolic steroids use: In-depth interviews with men and woman bodybuilders. *J Health Psychol*. 2006; 11(6): 845-56.

Gruber AJ & Pope Jr HG. Psychitric and medical effects of anabolic-androgenic steroid use in women. *Psychother. Psychosom*. 2000; 69(1): 19-26.

Guzman M, Saborido A, Castro J, Molano F, Megias A. Treatment with anabolic steroids increases the activity of the mitochondrial outer carnitine palmitoyltransferase in rat liver and fast-twitch muscle. *Biochem Pharmacol*. 1991; 41 (5): 833-5.

Hakkinen K, & Pakarinen A. Acute hormonal responses to heavy resistance exercise in men and women at different ages. *Int J Sports Med*. 1995; 16(8): 507-13.

Handa JR & Price RH. Androgen Action. In: Fink, G., ed. *Encyclopedia of stress*. New York: Academic Press, 2000; 1: 183-188.

Hartgens F, Van ML, Ebbing S, Vollaard N, Rietjens G, Kuipers H. Body composition and anthropometry in body builders: regional changes due to nandrolone decanoate administration. *Int J Sports Med*. 2001; 22 (3): 2352-41.

Haupt HA & Rovere GD. Anabolic steroids: a review of the literature. *Am J Sports Med*. 1984; 12 (6): 469-84.

Heil M & Schaper W. Influence of mechanical, cellular, and molecular factors on collateral artery growth (arteriogenesis). *Circ Res*. 2004; 95 (5): 449-58.

Henderson KK, Turk JR, Rush JWE, Laughlin MH. Endothelial function in coronary arterioles from pigs with early-stage coronary disease induced by high-fat, high-cholesterol diet: effect of exercise. *J Appl Physiol*. 2004; 97 (3): 1159-68.

Hervey GR, Knibbs AV, Burkinshaw L, Morgan DB, Jones PR, Chettle DR, et al. Effects of methandienone on the performance and body composition of men undergoing athletic training. *Clin. Sci.* 1981; 60 (4): 457-61.

Hickson RC & Kurowski TG. Anabolic steroids and training. *Clin Sports Med.* 1986; 5 (3): 461-69.

Hickson RC, Ball KL, Falduto MT. Adverse effects of anabolic steroids. *Med Toxicol Adverse Drug Exp.* 1989; 4 (4): 254-71.

Holma P & Adlercreutz H. Effect of an anabolic steroid (methandienon) on plasma LH, FSH, and testosterone and on the response to intravenous administration of LRH. *Acta Endocrinol (Copenh).* 1976; 83 (4): 856-64.

Holma PK. Effects of an anabolic steroid (metandienone) on spermatogenesis. *Contraception.* 1977; 15 (2): 151-62.

Host HH, Hansen PA, Nolte LA, Chen MM, Holloszy JO. Glycogen supercompensation masks the effect of a training-induced increase in GLUT-4 on muscle glucose transport. *J Appl Physiol.* 1998; 85 (1):133-8.

Huie MJ. An acute myocardial infarction occurring in an anabolic steroid user. *Med Sci Sports Exerc.* 1994; 26 (4): 408-13.

Hunter GR, Weinsier RL, Bamman MM, Larson DE. A role for high intensity exercise on energy balance and weight control. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1998; 22 (6): 489-93.

Ikeda U, Ikeda M, Oohara T, Oguchi A, Kamitani T, Tsuruya Y, Kano S. Interleukin 6 stimulates growth of vascular smooth muscle cells in a PDGF-dependent manner. *Am J Physiol.* 1991; 260 (5 Pt 2): 1713-7.

Inal M, Akyüz F, Turgut A, Getsfrid WM. Effect of aerobic and anaerobic metabolism on free radical generation swimmers. *Med Sci Sports Exerc.* 2001; 33 (4): 564-7.

Iriart JAB & Andrade TM. Musculação, uso de esteróides anabolizantes e percepção de risco entre jovens fisiculturistas de um bairro popular de Salvador, Bahia, Brasil. *Cad Saúde Pública.* 2002; 18 (5): 1379-87.

Jacobs M, Plane F, Bruckdorfer KR. Native and oxidized low-density lipoproteins have different inhibitory effects on endothelium-derived relaxing factor in the rabbit aorta. *Br J Pharmacol.* 1990; 100 (1): 21-6.

Jarow JP & Lipshultz LI. Anabolic steroid-induced hypogonadotropic hypogonadism. *Am J Sports Med.* 1990; 18 (4): 429-31.

Jasperse JL, & Laughlin MH. Vasomotor responses of soleus feed arteries from sedentary and exercise-trained rats. *J Appl Physiol.* 1999; 86 (2), 441-9.

Jen CJ, Chan HP, Chen HI. Acute exercise enhances vasorelaxation by modulating endothelial calcium signaling in rat aortas. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2002; 282 (3): 977-82.

Jenkins RR. Free radical chemistry relationship to exercise. *Sports Med.* 1988; 5 (3): 156-70.

Jornal Estado de São Paulo. São Paulo – SP, 22/09/2009. [Acesso em 21/01/2010] Disponível em: <http://www.estadao.com.br/noticias/esportes/novos-casos-de-doping-atingem-atletismo-brasileiro,439359,0.htm>

Johnson WO. Steroids: a problem of huge dimensions. *Sports Illus.* 1985 5 (13): 38-61.

Joumaa WH & Léoty C. Differential effects of nandrolone decanoate in fast and slow rat skeletal muscles. *Med Sci Sports Exerc.* 2001; 33 (3): 397-403.

Kadi F, Eriksson S, Holmner L-E, Thornell. Effects of anabolic steroids on the muscle cells of strength-trained athletes. *Med Sci Sports Exerc.* 1999; 31 (11): 1528-34.

Kadi F. Adaptation of human skeletal muscle to training and anabolic steroids. *Acta Physiol Scand Suppl.* 2000; 646: 1-52.

Karbalay-Doust S & Noorafshan A. Stereological study of the effects of nandrolone decanoate on the rat prostate. *Micron.* 2006; 37 (7): 617-23.

Karnovsky MJ. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. *J Cell Biol.* 1965; 27: 137A.

Kennedy MC. Anabolic steroid abuse and toxicology. *Internal Med J.* 1992; 22 (4): 374-81.

Kiens B & Richter EA. Utilization of skeletal muscle triacylglycerol during post exercise recovery in humans. *The American Journal of Physiology.* 1998; 275 (2 Pt 1): 332-37.

Kleinman CC. Forensic issues arising from the use of anabolic steroids. *Psychiatric Annals.* 1990; 20: 219-21.

Kodja G, & Harrison D. Interactions between NO and reactive oxygen species: pathophysiological importance in atherosclerosis, hypertension, diabetes and heart failure. *Cardiovasc Res.* 1999; 43 (3): 562-71.

Kodja G & Hambrecht A. Molecular mechanisms of vascular adaptations to exercise. Physical activity as an effective antioxidant therapy. *Cardiovas Res.* 2005; 67 (2): 187-97.

Koenig H, Goldstone A, Lu CY. Testosterone-mediated sexual dimorphism of the rodent heart: ventricular lysosomes, mitochondria, and cell growth are modulated by androgens. *Circulation.* 1982; 50 (6): 782-7.

Konig D, Wagner KH, Elmadfa I, Berg A. Exercise and oxidative stress: significance of antioxidants with reference to inflammatory, muscular, and systemic stress. *Exerc Immunol Rev.* 2001; 7: 108-33.

Koller A, Huang A, Sun D, Kaley G. Exercise training augments flow-dependent dilation in rat skeletal muscle arterioles. Role of endothelial nitric oxide and prostaglandins. *Circ Res.* 1995; 76 (4): 544-50.

Komi PV, & Bosco C. Utilization of stored elastic energy in leg extensor muscles by men and women. *Med Sci Sports.* 1978; 10 (4): 261-5.

Korolkovas A, & Burckhalter JH. *Química Farmacêutica*, Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 1988

Kraemer WJ, Marchetti L, Gordon SE, et al. Hormonal and growth factor responses to heavy resistance exercise protocols. *J Appl Physiol.* 1990; 69 (4): 1442-50.

Kraemer WJ, Gordon SE, Fleck SJ, Marchetti LJ, Mello R, Dziados JE, et al. Endogenous anabolic hormonal and growth factor responses to heavy resistance exercise in males and females. *Int J Sports Med.* 1991; 12 (2): 228-35.

Kraemer WJ, Ratamess N, Fry AC, Triplett-McBride T, Koziris LP, Bauer JA, Lynch JM, Fleck SJ. Influence of resistance training volume and periodization on physiological and performance adaptations in collegiate women tennis players. *Am J Sports Med.* 2000; 28 (5): 626-33.

Kramer J. Appreciation of the clinical documentation of Deca-Durabolin. Organon International B.V. - Product Information Group - Doc. 5283A, 1990.

Kristiansen S, Gade J, Wojtaszewski, JF, Kiens B, Richter EA. Glucose uptake is increased in trained vs. untrained muscle during heavy exercise. *J Appl Physiol*. 2000; 89 (3):1151-58.

Kuhn CM. Anabolic steroids. *Recent Prog Horm Res*. 2000; 57: 411-34.

Kuipers H, Wijnen JA, Hartgens F & Willems SM. Influence of anabolic steroids on body composition, blood pressure, lipid profile and liver functions in body builders. *Int J Sports Med*. 1991; 12 (4): 413-8.

Kutscher EC, Lund BC, Perry PJ. Anabolic steroids: a review for the clinician. *Sports Med*. 2002; 32 (5): 285-96.

Ladeiras D. Ben Johnson lidera casos célebres de doping. *Diário de Notícias* [Internet]. 2008 Jul 08 [Acesso 2010 Jan 22]. Disponível em: http://dn.sapo.pt/especiais/interior.aspx?content_id=1033716&especial=Doping%20O%EDmpico&seccao=DESPORTO.

Lamprecht M, Greilberger J, Oettl K. Analytical aspects of oxidatively modified substances in sports and exercises. *Nutrition*. 2004; 20 (7-8): 728-30.

Landry GL, & Primos WA Jr. Anabolic steroid abuse. *Adv Pediatr*. 1990; 37:185-205.

Laroche GP. Steroid anabolic drugs and arterial complications in an athlete - a case history. *Angiology*. 1990; 41 (11): 964-9.

Laseler JT & Russell JA. Anabolic steroid-induced tendon pathology: a review of the literature. *Med. Sci Sports Exer*. 1991; 23 (1): 1-3.

Laughlin MH, Korthuis RJ, Duncker DJ, Bache RJ. Control of blood flow to cardiac and skeletal muscle during exercise. In: Rowell, LB.; Shepherd, TJ., editors. *Handbook of Physiology*. Vol. 16. Oxford Univ Press; Bethesda, MD: 1996. p. 705-769. Section 12

Laurindo FRM, e Leite PF. Mecanismos de síntese do óxido nítrico. In: Luz PL da, Laurindo FRM, Chagas ACP. *Endotélio & Doenças Cardiovasculares*. São Paulo – SP. Atheneu; 2005. p. 44.

Leeuwenburgh C, Hollander J, Leichtweis S, Griffiths M, Gore M, Ji LL. Adaptations of glutathione antioxidant system to endurance training are tissue and muscle fiber specific. *Am J Physiol.* 1997; 272 (1 Pt 2): 363-9.

Liao J, Keiser JA, Scales WE, Kunkel SL, Kluger MJ. Role of epinephrine in TNF and IL-6 production from isolated perfused rat liver. *Am. J. Physiol.* 1995; 268 (4 Pt 2): 896-901.

Lima, FV. Nada substitui o treinamento. *Ciência Hoje.* 1999; 26 (153): 9-12.

Lise MLZ, Gama-e-Silva TS, Ferigolo M, Barros HMT. O abuso de esteróides anabólico-androgênicos em atletismo. *Rev Assoc Med Bras.* 1999; 45 (4): 364-70.

Littlepage BNC & Perry HM. Misusing anabolic drugs: possibilities for future policies. *Addiction.* 1993; 88 (11): 1469-71.

Liu J, Yeo HC, Overvik-Douki E, Hagen T, Doniger SJ, Chyu DW, Brooks GA, Ames BN, Chu DW. Chronically and acutely exercised rats: biomarkers of oxidative stress and endogenous antioxidants. *J Appl Physiol.* 2002; 92 (1): 21-8.

Lloyd PG, Yang HT, Terjung RL. Arteriogenesis and angiogenesis in rat ischemic hindlimbs: role of nitric oxide. *Am J Physiol.* 2001; 281 (6), 2528-38.

Lloyd PG, Prior BM, Yang HT, Terjung RL. Angiogenic growth factor expression in rat skeletal muscle in response to exercise training. *Am J Physiol.* 2003; 284 (5): 1668-78.

Lovlim R, Cottle W, Pyke I, Kavanagh M, Belcastro AN. Are indices of free radical damage related to exercise intensity? *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1987; 56 (3): 313-6.

Luft JH. Improvements in epoxy resin embedding methods. *J Biophys Biochem Cytol.* 1961; 9: 409-14.

Lukas SE. Current perspectives on anabolic-androgenic steroid abuse. *Trends Pharmacol Sci.* 1993; 14 (2): 61-8.

MacIndoe JH, Perry PJ, Yates WR, Holman TL, Ellingrod VL, Scott SD. Testosterone suppression of the HPT axis. *J Investig Med.* 1997; 45 (8): 441-7.

Maiorana A, O'Driscoll G, Dembo L, Goodman C, Taylor R & Green D. Exercise training, vascular function, and functional capacity in middle-aged subjects. *Med Sci Sports Exerc.* 2001; 33 (12): 2022-8.

Marcondes FK. Efeito de esteróide anabólico decanoato de nandrolona sobre a sensibilidade adrenérgica e sobre o metabolismo em ratos sedentários e treinados. Relatório Final de Auxílio Pesquisa - FAPESP 02/05427-8, 02/2005.

Margaritis I, Tessier F, M-J Richard, Marconnet P. No evidence of oxidative stress after a triathlon race in highly trained competitors. *Int J Sports Med.* 1997; 18 (3): 186-90.

Mastaloudis A, Morrow JD, Hopkins DW, Devaraj S, Traber MG. Antioxidant supplementation prevents exercise-induced lipid peroxidation, but not inflammation, in ultramarathon runners. *Free Radic Biol Med.* 2004; 36 (10): 1329-41.

Matsuda A, Mathur R, Halushka PV. Testosterone increases thromboxane A2 receptors in cultured rat aortic smooth muscle cells. *Circ Res.* 1991; 69 (3): 638-43.

McAllister RM, Kimani KJ, Webster JL, Parker JL & Laughlin MH. Effects of exercise training on responses of peripheral and visceral arteries in swine. *J Appl Physiol.* 1996; 80 (1): 216-25.

McAllister RM & Laughlin MH. Short-term exercise training alters responses of porcine femoral and brachial arteries. *J Appl Physiol.* 1997; 82 (5): 1438-44.

McArdle A, Pattwell D, Vasilaki A, Griffiths RD, Jackson MJ. Contractile activity-induced oxidative stress: cellular origin and adaptive responses. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2001; 280 (3): 621-7.

McCrohon JA, Jessup W, Handelsman DJ, Celermajer DS. Androgen exposure increases human monocyte adhesion to vascular endothelium and endothelial cell expression of VCAM-1. *Circulation.* 1999; 99 (17): 2317-22.

McCrohon JA, Death AK, Nakhla S, Jessup W, Handelsman DJ, Stanley, KK. Androgen receptor expression is greater in male than female macrophages - A sex difference with implications for atherogenesis. *Circulation.* 2000; 25: 224-26.

McEwen BS, Biron CA, Brunson KW, Bulloch K, Chambers WH, Dhabhar FS, Goldfarb RH, Kitson RP, Miller AH, Spencer RL, Weiss JM. The role of

adrenocorticoids as modulators of immune function in health and disease: Neural, endocrine and immune interactions. *Brain. Res. Rev.* 1997; 23 (1-2): 79-133.

Michel T. Nitric oxide synthases: which, where, how, and why. *J Clin Invest.* 1997; 100 (9): 2146-52.

Miller FJ Jr, Gutterman DD, Rios CD, Heistad DD, Davidson BL. Superoxide production in vascular smooth muscle contributes to oxidative stress and impaired relaxation in atherosclerosis. *Circ Res.* 1998; 82 (12): 1298-305.

Miller LC, Becker TJ, Tainter ML. The quantitative evaluation of spasmolytic drugs "in vitro". *J Pharmacol Exp Ther.* 1948; 92 (3): 260-68.

Ministério da Justiça. Conselho Federal de Entorpecentes. Processo n° 08000.003408/95-25. Confederação Brasileira de Culturismo e Musculação. Ofício n°: 201, CONFEN – 1998.

Miyachi M, Iemitsu M, Okutsu M & Onodera S. Effects of endurance training on the size and blood flow of the arterial conductance vessels in humans. *Acta Physiol Scand.* 1998; 163 (1): 13-6.

Miyazaki H, Oh-ishi S, Ookawara T, Kizaki T, Toshinai K, Ha S, Haga S, Ji LL, Ohno H. Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise. *Eur J Appl Physiol.* 2001; 84 (1-2): 1-6.

Moritani T, deVries HA. Neural factors versus hypertrophy in the time course of muscle strength gain. *Am J Phys Medicine.* 1979; 58 (3): 115-30.

Mottram DR & George AJ. Anabolic Steroids. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2000; 14 (1): 55-69.

Moura MJCS & Marcondes FK. Influence of estradiol and progesterone on the sensitivity of rat thoracic aorta to noradrenaline. *Life Sci.* 2001; 68 (8): 81-8.

Muller JM, Myers PR, Laughlin MH. Vasodilator responses of coronary resistance arteries of exercise-trained pigs. *Circulation.* 1994; 89 (5): 2308-14.

Muller JM, Davis MJ, Kuo L, Chilian WM. Changes in coronary endothelial cell Ca²⁺ concentration during shear stress- and agonist-induced vasodilation. *Am J Physiol.* 1999; 276 (5 Pt 2): 1706-14.

Nakatani A, Han D, Hansen, PA, Nolte LA, Host HH, Hickner, RC, Holloszy JO. Effect of endurance exercise training on muscle glycogen supercompensation in rats. *J. Appl. Physiol.* 1997; 82(2):711-15.

Nakatsubo N, Kojimaa H, Kikuchi K, Nagoshi H, Hirata Y, Maeda D, Imai Y, Irimura Nagano T. Direct evidence of nitric oxide production from bovine aortic endothelial cells using new fluorescence indicators: diamino fluoresceins. *FEBS Letters.* 1998; 427 (2): 263-66.

Napoli C, Ignarro LJ. Nitric oxide and atherosclerosis. *Nitric Oxide: Biology and Chemistry.* 2001; 5 (2): 88-97.

Nascimento CA do, Patriarca G, Heimann JC. Estrutura orgânica do endotélio vascular. In: Luz PL da, Laurindo FRM, Chagas ACP. *Endotélio & Doenças Cardiovasculares.* São Paulo – SP. Atheneu; 2005. p. 04-09.

Newman WH, Castresana MR, Webb JG, Wang Z. Cyclic AMP inhibits production of interleukin-6 and migration in human vascular smooth muscle cells. *J. Surg. Res.* 2003; 109 (1): 57-61.

Nicklas BJ, Ryan AJ, Treuth MM, Harman SM, Blackman MR, Hurley BF, Rogers MA. Testosterone, growth hormone and IGF-I responses to acute and chronic resistive exercise in men aged 55-70 years. *Int J Sports Med.* 1995 ;16 (7): 445-50.

Niess AM, Dickhuth HH, Northoff H, Fehrenbach. Free radicals and oxidative stress in exercise – imunological aspects. *Exerc Immunol Rev.* 1999; 5: 22-56.

Noorafshan A, Karbalay-Doust S, Ardekani FM. High doses of nandrolone decanoate reduce volume of testis and length of seminiferous tubules in rats. *APMIS.* 2005; 113 (2): 122-5.

Norton GR, Trifunovic B, Woodiwiss AJ. Attenuated beta-adrenoceptor-mediated cardiac contractile responses following androgenic steroid administration to sedentary rats. *Eur. J. Appl. Physiol.* 2000; 81 (4): 310-16.

Olivardia R. Mirror, morror on the wall, who's the largest of them all? The features and phenomenology of muscle dysmorphia. *Harv Rev Psychiatry*. 2001; 9 (5): 254-59.

Oltman CL, Parker JL, Adams HR, Laughlin MH. Effects of exercise training on vasomotor reactivity of porcine coronary arteries. *Am J Physiol*. 1992; 263 (2): 372-82.

Oltman CL, Parker JL, Laughlin MH. Endothelium dependent vasodilatation of proximal coronary arteries from exercise-trained pigs. *J Appl Physiol*. 1995; 79 (1): 33-40.

Pachaly JR, & Brito HFV. Emprego do método de extrapolação alométrica no caçulo de protocolos posológicos para animais selvagens. *A Hora Verterinária*. 2000; 118: 59-65.

Papapetropoulos A, Garcia-Cardena G, Madri JA, Sessa WC. Nitric oxide production contributes to the angiogenic properties of vascular endothelial growth factor in human endothelial cells. *J Clin Invest*. 1997; 100 (2): 3131-9.

Pärssinen M, Kujala U, Vartiainen E, Sarna S, Seppälä T. Increased premature mortality of competitive powerlifters suspected to have used anabolic agents. *Int J Sports Med*. 2000; 21(3): 225-7.

Patil RD, DiCarlo SE, Collins HL. Acute exercise enhances nitric oxide modulation of vascular response to phenylephrine. *Am J Physiol*. 1993; 265 (4 Pt 2): 1184-8.

Pelliccia A, Spataro A, Granata J, Biffi A, Caselli G & Albaiso A. Coronary arteries in physiological hypertrophy: echocardiographic evidence of increased proximal size in elite athletes. *Int. J. Sports Med*. 1990; 11 (2): 120-6.

Pizzol TDAS, Branco MM, Carvalho RM, Pasqualotti A, Maciel EN, Migott AM. Non-medical use of psychoactive medicines among elementary and high school students in Southern Brazil. *Cad Saúde Pública*. 2006; 22 (1): 109-15.

Pope HG Jr & Katz DL. Affective and psychotic symptoms associated with anabolic steroid use. *Am. J. Psychiatry*. 1988; 145 (4): 487-90.

Pope HG-Jr, Katz DL, Hudson JI. Anorexia nervosa and "reverse anorexia" among 108 male bodybuilders. *Comprehensive Psychiatry*. 1993; 34 (6): 406-9.

Pope HG & Katz DL. Psychiatric and medical effects of anabolic-androgenic steroid use. *Arch Gen Psychiatry*. 1994; 69 (1): 375-82.

Price TB, Laurent D, Petersen KF, Rothman DL, Shulman GI. Glycogen loading alters muscle glycogen resynthesis after exercise. *J Appl Physiol*. 2000; 88 (2): 698-704.

Prior BM, Llodry PG, Yang HT & Terjung. Exercise-induced vascular remodeling. *Ex Sports Sci Rev*. 2003; 31(1): 26-33.

Prior BM, Lloyd PG, Ren J, et al., Time course of changes in collateral blood flow and isolated vessels size and gene expression after femoral artery occlusion in rats. *Am J Physiol*. 2004a; 287 (6): 2434-47.

Prior BM, Yang HT, Terjung RL. What makes vessels grow with exercise training? *J. Appl. Physiol*. 2004b; 97 (3): 1119-28.

Radak Z, Kaneko T, Tahara S, Nakamoto H, Ohno H, Sasvari M, et al., The effect of exercise training on oxidative damage of lipids, proteins, and DNA in rat skeletal muscle: evidence for beneficial outcomes. *Free Radic Biol Med*. 1999; 27 (1-2): 69-74.

Rance NE & Max SR. Modulation of the cytosolic androgen receptor in striated muscle by sex steroids. *Endocrinology*. 1984; 115 (3): 862-6.

Rhea MR, Ball SD, Phillips WT, Burkett LN. A comparison of linear and daily undulating periodized programs with equated volume and intensity for strength. *J Strength Cond Res*. 2002; 16 (2): 250-5.

Ribeiro PCP. O uso indevido de substâncias: esteróides anabolizantes e energéticos. *Adolesc Latinoam*. 2000; 2 (2): 97-101.

Rocha VM, Calil CM, Ferreira R, Moura MJCS, Marcondes FK. Influence of anabolic steroid on anxiety levels in sedentary male rats. *Stress*. 2007; 10 (4): 326-31.

Rockhold RW. Cardiovascular toxicity of anabolic steroids. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1993; 33: 497-520.

Rogatto GP. Efeitos do treinamento físico de alta intensidade sobre aspectos endócrino-metabólicos de ratos wistar. Dissertação de Mestrado. Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista. 181 pp, 2001.

Romijn JA, Coyle EF, Sidossis LS, Gastaldelli A, Horowitz JF, Endert E, Wolf RR. Regulation of endogenous fat and carbohydrate metabolism in relation to exercise intensity and duration. *Am J Physiol.* 1993; 265 (3 Pt 1): 380-91.

Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature.* 1993; 362 (6423): 801-9.

Ross R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999; 340 (2): 115-126.

Rudic RD, Shesely EG, Maeda N, Smithies O, Segal SS, Sessa WC. Direct evidence for the importance of endothelium-derived nitric oxide in vascular remodeling. *J Clin Invest.* 1998; 101(4): 731-6.

Ryan AJ. Anabolic steroids are fool's gold. *Fed Proc.* 1981; 40 (12): 2682-8.

Sader MA, Griffiths KA, McCredie RJ, Handelsman DJ, Celermajer DS. Androgenic anabolic steroids and arterial structure and function in male bodybuilders. *J Am Coll Cardiol.* 2001; 37 (1): 224-30.

Santarém JM. Musculação e qualidade de vida. *Rev Bras Med Esporte.* 1996; 2 (1): 11-4.

Santos AM. O mundo anabólico: Análise do uso de esteróides anabólicos nos esportes. Barueri – São Paulo: Manole. 2003

Santos RC. Nutricionista constata uso indiscriminado de estimulantes e anabolizantes em academias. *Jornal da Unicamp [Internet].* 2009 Jun 1-14 [Acesso 2009 Set 19]. Disponível em: http://www.unicamp.br/unicamp/unicamp_hoje/jul/dezembro2009/jul450-p04.php

Schiotz MK, Potteiger JA, Huntsinger PG, Denmark DC. The short-term effects of periodized and constant-intensity training on body composition, strength and performance. *J Strength Cond Res.* 1998; 12 (3): 173-8.

Schneider CD, & Oliveira AR. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. *Rev Bras Med Esporte*. 2004; 10 (4): 308-13.

Scott DM, Wagner CJ, Barlow TW. Anabolic steroid use among adolescents in Nebraska schools. *Am J Health-Syst Pharm*. 1996; 53 (17): 2068-72.

Selamoglu S, Turgay F, Kayatekin BM, Günenc S, Yslegen C. Aerobic and anaerobic training effects on the antioxidant enzymes of the blood. *Acta Physiol Hung*. 2000; 87 (3): 267-73.

Sheffield-Moore M. Androgens and the control of skeletal muscle protein synthesis. *Ann Med*. 2000; 32 (3): 181-6.

Silva MP, Marcondes MCG, Mello MAR. Exercício aeróbio e anaeróbio: efeitos sobre a gordura sérica e tecidual de ratos alimentados com dieta hiperlipídica. *Revista Brasileira de Atividade Física e Saúde*. 1999; 4 (3): 43-56.

Silva PRP, Danielski R, Czepielewski MA. Esteróides anabolizantes no esporte. *Rev Bras Med Esporte*. 2002; 8 (6): p.235-43.

Silva PRP, Junior Machado LC, Figueiredo VC, Cioffi AP, Prestes MC, Czepielewski MA. Prevalência do Uso de Agentes Anabólicos em Praticantes de Musculação de Porto Alegre. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab*. 2007; 51 (1): 104-10.

Silva PRP. A escola como agente de prevenção ao uso de drogas. CONEN/MA. [Acesso 2010 Mar 04]. Disponível em: <http://www.abmp.org.br/textos/130.htm>.

Sinoway LI, Musch TI, Minotti JR, Zelis R. Enhanced maximal metabolic vasodilation in the dominant forearms of tennis players. *J. Appl Physiol*. 1986; 61 (2): 673-8.

Site www.globoesporte.com. 05/11/2007. [Acesso em 21/01/2010] Disponível em: <http://globoesporte.globo.com/ESP/Noticia/0,,MUL169526-4271,00REBECA+GUSMAO+E+SUSPENSA+POR+DOPING.html>

Sjodin AM, Forslund AH, Westerterp KR, Andersson AB, Forslund JM, Hambraeus LM. The influence of physical activity on BMR. *Med Sci Sports Exerc*. 1996; 28 (1): 85-91.

Smith DA & Perry PJ. The efficacy of ergogenic agents in athletic competition. Part I: androgenic-anabolic steroids. *Ann Pharmacother*. 1992; 26 (4): 520-8.

Steenland P, Blakely G, Nyberg F, Fahlke C, Pohorecky LA. Anabolic androgenic steroid affects social aggression and fear-related behaviors in male pair-housed rats. *Horm. Behav.* 2005; 48 (2): 216-24.

Stergiopoulos K, Brennan JJ, Mathews R, Setaro JF, Kort S. Anabolic steroids, acute myocardial infarction and polycythemia: a case report and review of the literature. *Vasc Health Risk Manag.* 2008; 4(6): 1475-80.

Stolt A, Karila T, Viitasalo M, Mantysaari M, Kujala UM, Karjalainen J. QT interval and QT dispersion in endurance athletes and in power athletes using large doses of anabolic steroids. *Am. J. Cardiol.* 1999; 84 (3): 364-66.

Stromme SB, Meen HD, Aakvaag A. Effects of an androgenic-anabolic steroid on strength development and plasma testosterone levels in normal males. *Med Sci Sports.* 1974; 6 (3): 203-8.

Subudhi AW, Davis SL, Kipp RW, Askew EW. Antioxidant status and oxidative stress in elite alpine ski racers. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2001; 11 (1): 32-41.

Sullivan ML, Martinez CM, Gennis P, Gallagher EJ. The cardiac toxicity of anabolic steroids. *Prog Cardiovasc Dis.* 1998; 41 (1): 1-15.

Sun D, Huang H, Koller A, Kaley G. Short-term daily exercise activity enhances endothelial NO synthesis in skeletal muscle arterioles of rats. *J Appl Physiol.* 1994; 76 (5): 2241-7.

Sun MW, Zhong MF, Gu J, Qian FL, Gu JZ, Chen H. Effects of different levels of exercise volume on endothelium-dependent vasodilation: roles of nitric oxide synthase and heme oxygenase. *Hypertens Res.* 2008; 31 (4): 805-16.

Sylvester LJ. Self-perceptions of the acute and long-range effects of anabolic-androgenic steroids. *J Stren Cond Res.* 1995; 9 (2): 95-8 apud Mottram DR, George AJ. *Anabolic Steroids. Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2000; 14 (1): 55-69.

Takahashi M, Yui Y, Yasumoto H, Aoyama T, Morishita H, Hattori R, Kawai C. Lipoproteins are inhibitors of endothelium-dependent relaxation of rabbit aorta. *AM J Physiol.* 1990; 258 (1 Pt 2): 1-8.

Takeda H, Chodak G, Mutchnick S, Nakamoto T, Chang C. Immunohistochemical localization of androgen receptor with mono and polyclonal antibodies to androgen receptor. *J. Endocrinology*. 1990; 126 (1): 17-25.

Tamaki T, Uchiyama S, Nakano S. A weight-lifting exercise model for inducing hypertrophy in the hindlimb muscles of rats. *Med Sci Sports Exerc*. 1992; 24 (8): 881-6.

Tanno AP, Cunha TS, Moura MJCS, Marcondes FK. Relação entre exercício físico de alta intensidade e o lactato sanguíneo, em ratos. *Saúde em Revista (UNIMEP)*. 2006; 8: 23-9.

Tanno AP. Alterações cardíacas induzidas por esteróide anabólico androgênico em ratos sedentários e treinados. Tese de doutorado. IB – UNICAMP, 2007.

Thein LA, Thein JM, Landry GL. The ergogenic aids. *Physical Therapy*. 1995; 75 (5): 426-39.

Tingus SJ, & Carlsen RC. Effect of continuous infusion of an anabolic steroid on murine skeletal muscle. *Med Sci Sports Exerc*. 1993; 25 (4): 485-94.

Titlestad SD, Lambert MI, Schweltnus MP. A survey to determine types and dosages of anabolic androgenic steroids used by competitive bodybuilders in South Africa. *S Afr J Sports Med*. 1994; 1: 24-8.

Touyz RM & Schiffrin EL. Reactive oxygen species in vascular biology: implications in hypertension. *Histochem Cell Biol*. 2004; 122 (4): 339-52.

Tronc F, Wassef M, Esposito B, Henrion D, Glagov S, Tedgui A. Role of NO in flow induced remodeling of the rabbit common carotid artery. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1996; 16 (10): 1256-62.

Tuttle JL, Nachreiner RD, Bhuller AS, Condict KW, Connors BA, Herring BP, Dalsing MC, Unthank JL. Shear level influences resistance artery remodeling: wall dimensions, cell density, and eNOS expression. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2001; 281 (3): 1380-9.

Tylicki A, Kawalko J, Sokolska S, Strumilo, S. Effect of anabolic steroid nandrolone decanoate on the properties of certain enzymes in the heart, liver, and muscle of rats, and their effect on rats' cardiac electrophysiology. *Horm Metab Res*. 2007; 39 (4): 268-72.

- Urhausen A, Holpes R, Kindermann W. One and two-dimensional echocardiography in bodybuilders using anabolic steroids. *Eur J Appl Physiol.* 1989; 58 (6): 633-44, 1989.
- Usachev YM, Marchenko SM, Sage SO. Cytosolic calcium concentration in resting and stimulated endothelium of excised intact rat aorta. *J Physiol.* 1995; 489 (Pt 2): 309-17.
- Viallard JF, Marit G, Mercie P, Leng B, Reiffers J, Pellegrin JL. Polycythaemia as a complication of transdermal testosterone therapy. *Br J Haematol.* 2000; 110 (1):237-8.
- Viitala PE, Newhouse IJ, LaVoie N, Gottardo C. The effects of antioxidant vitamin supplementation on resistance training induced lipid peroxidation in trained and untrained participants. *Lipids Health Dis.* 2004; 3: 14.
- Viña J, Gomez-Cabrera MC, Lloret A, Marquez R, Miñana JB, Pallardó FV, et al., Free radical in exhaustive physical exercise: mechanism of production, and protection by antioxidants. *IUBMB Life.* 2000; 50 (4-5): 271-7.
- Voy R. *Drugs, Sport, and Politics.* Champaign, 111: Human Kinetics Inc; 1991: 3-11.
- Wagner JC. Abuse of drugs used to enhance athletic performance. *Am J Hosp Pharm.* 1989; 46(10): 2059-67.
- Wang J, Wolin MS, Hintze, TH. Chronic exercise enhances endothelium-mediated dilation of epicardial coronary artery in conscious dogs. *Circ Res.* 1993; 73 (5) 829-38.
- Webb CM, McNeill JG, Hayward CS, de Zeigler D, Collins P. Effects of testosterone on coronary vasomotor regulation in men with coronary heart disease. *Circulation.* 1999; 100 (16): 1690-6.
- Wilson JD. Androgen abuse by athletes. *Endocr Rev.* 1988; 9 (2): 181-199.
- Winett RA, & Carpinelli RN. Potential health-related benefits of resistance training. *Prev Med.* 2001; 33(5): 503-13.
- Woodman RC, Price EM, Laughlin MH. Shear stress induces eNOS mRNA expression and improves endothelium-dependent dilation in senescent soleus muscle feed arteries. *J Appl Physiol.* 2005; 98 (3), 940-6
- Wu FC. Endocrine aspects of anabolic steroids. *Clin Chem.* 1997; 43 (7): 1289-92.

Xia Y, Dawson VL, Dawson TM, Snyder SH, Zweier JL. Nitric oxide synthase generates superoxide and nitric oxide in arginine-depleted cells leading to peroxynitrite-mediated cellular injury. *Proc Natl Acad Sci*. 1996; 93 (13): 6770-4.

Yates WR, Perry PJ, MacIndoe J, MacIndoe J, Holman T, Ellingrod V. Psychosexual effects of three doses of testosterone cycling in normal men. *Biol Psychiatry*. 1999; 45 (3): 254-60.

Yen MH, Yang JH, Sheu JR, Lee YM, & An Ding Y. Chronic exercise enhances endothelium-mediated dilation in spontaneously hypertensive rats. *Life Sci*. 1995; 57 (24): 2205-13.

Yesalis CE, Anderson WA, Buckley WE, Wright JE. Incidence of the nonmedical use of anabolic-androgenic steroids. *NIDA Res Monogr*. 1990; 102: 97-112.

Yesalis CE. Anabolic steroids in sport and exercise. Champaign IL *Human Kinetics*. 1993: 325p.

Yesalis CE & Bahrke MS. Anabolic-androgenic steroids. Current issues. *Sports Medicine*. 1995; 9 (5), 326-40.

Yoshida EM, Karim MA, Shaikh JF, Soos JG, Erb SR. At what price, glory? Severe cholestasis and acute renal failure in an athlete abusing stanozolol. *CMAJ*. 1994; 151 (6): 791-3.

Yoshioka M, Doucet E, St-Pierre S, Almeras N, Richard D, Labrie A, et al., Impact of high-intensity exercise on energy expenditure, lipid oxidation and body fatness. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2001; 25 (3): 332-9.

Zanchi NE, Bechara LRG, Tanaka LY, Debras V, Bartholomeu T, Ramires PR. Efeitos do treinamento físico aeróbio sobre a bioatividade do óxido nítrico e a vasodilatação aórtica. *Rev. Bras. Educ. Fís. Esp*. 2006; 20 (4): 239-47.

Zanescio A, & Antunes E. Effects of exercise training on the cardiovascular system: Pharmacological approaches. *Pharmacology & Therapeutics*. 2007; 114 (3): 307-17.

Zimrin AB, & Maciag T. Progress toward a unifying hypothesis for angiogenesis [editorial]. *J. Clin Invest*. 1996; 97 (6): 1359.

Zukeran V. Novos casos de doping atingem atletismo brasileiro: Leonardo Elisário, Fernanda Gonçalves e João Gabriel dos Santos foram pegos em prova no Peru. *Estadão.com.br* [Internet]. 2009 Set 22 [Acesso 2009 Out 20]. Disponível em:

<http://www.estadao.com.br/noticias/esportes,novos-casos-de-doping-atingem-atletismobrasileiro,439359,0.htm>



Universidade Estadual de Campinas
Instituto de Biologia



CEEA-IB-UNICAMP

Comissão de Ética na Experimentação Animal
CEEA-IB-UNICAMP

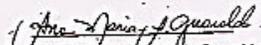
CERTIFICADO

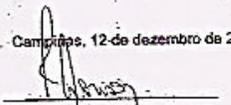
Certificamos que o Protocolo nº 944-1, sobre **"RESPOSTAS CARDIOVASCULARES AO ESTERÓIDE ANABÓLICO NANDROLONA, ASSOCIADO A TREINAMENTO FÍSICO ANAERÓBICO"** sob a responsabilidade de Profa. Dra. Fernanda Klein Marcondes está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA)-IB-UNICAMP em reunião de 12 de dezembro de 2005.

CERTIFICATE

We certify that the protocol nº 944-1, entitled **"CARDIOVASCULAR RESPONSES TO THE ASSOCIATION BETWEEN THE TREATMENT WITH ANDROGENIC ANABOLIC STEROID AND ANAEROBIC PHYSICAL TRAINING"**, is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA). This project was approved by the institutional Committee for Ethics in Animal Research (State University of Campinas - UNICAMP) on December 12, 2005.

Campinas, 12 de dezembro de 2005.


Profa. Dra. Ana Maria A. Guaraldo
Presidente - CEEA/IB/UNICAMP


Fátima Afonso
Secretária - CEEA/IB/UNICAMP

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BILOGIA
CAMPUS UNIVERSITÁRIO ZWILSON VAS
CEP - 13081-970 - CAMPINAS - SP - BRASIL

TELEFONE (51) 3343-4300
FAX 55 19 33893174