



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS
PROGRAMA MULTICÊNTRICO DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS

DISSERTAÇÃO

PAPEL DO EXERCÍCIO FÍSICO NAS ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS, NA
REGULAÇÃO HIDROELETROLÍTICA E NO BALANÇO SIMPATO-VAGAL
CARDÍACO NO MODELO DE USO ABUSIVO DE ESTERÓIDES
ANABOLIZANTES EM RATOS

JORGE ANDRÉ VERGUEIRO SANTANA

Seropédica, Rio de Janeiro

Agosto, 2012

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA MULTICÊNTRICO DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS

PAPEL DO EXERCÍCIO FÍSICO NAS ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS, NA
REGULAÇÃO HIDROELETROLÍTICA E NO BALANÇO SIMPATO-VAGAL
CARDÍACO NO MODELO DE USO ABUSIVO DE ESTERÓIDES
ANABOLIZANTES EM RATOS

JORGE ANDRÉ VERGUEIRO SANTANA

Sob a orientação do Professor

Emerson Lopes Olivares

e co-orientação do professor

Fábio Fagundes da Rocha

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Fisiológicas**, no Programa Multicêntrico de Pós Graduação em Ciências Fisiológicas na área de concentração em Fisiologia.

Seropédica, Rio de Janeiro

Agosto de 2012

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA MULTICÊNTRICO DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS

JORGE ANDRÉ VERGUEIRO SANTANA

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Fisiológicas**, no Programa Multicêntrico de Pós Graduação em Ciências Fisiológicas na área de concentração em Fisiologia.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 27 / 08 / 2012

Prof. Dr. Emerson Lopes Olivares – UFRRJ
(Orientador)

Prof. Dr. Fábio Fagundes da Rocha – UFRRJ
(Co-Orientador)

Prof. Dra. Michelle Porto Marassi – UFRRJ

Prof. Dr. Rodrigo Soares Fortunato – UFRJ

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos meus pais, a minha família que tanto me encorajaram a prosseguir em cada desafio, obstáculo surgido nessa fase de aprendizagem e a minha Linda amada sempre presente mesmo antes de conhecê-la meses antes de iniciar o mestrado e que a partir de então tornou não apenas esse sonho possível como os que vieram e virão por não precisar mais sonhar por eles e sim vivê-los ao seu lado. Em memória dedico aos mestres que influenciaram minha formação acadêmica mesmo por não terem um diploma mais amarem lecionar.

AGRADECIMENTOS

Ao meu Orientador, Emerson Lopes Olivares por sua receptividade mesmo sem conhecer-me anteriormente e aceitar em ser fonte de amplo conhecimento científico, de ensinamentos constantes de que tudo se justifica para nossa evolução. E pela sua motivação e dedicação em minhas aventuras acadêmicas e extras acadêmicas mesmo sendo um orientado incomum, difícil e novato em ambiente repleto de tantos talentos.

Aos mestres Wellington, Michelle, Magda e Alba por sua cordialidade, atenção e apoio para hoje ter esse projeto estabelecido.

A Sociedade Brasileira de Fisiologia pela criação do Programa Multicêntrico.

Aos meus colegas de laboratório, entre testes e bancada que puderam contribuir na formação e conclusão desse trabalho. Em especial, ao Cláudio (conselheiro nos apertos acadêmicos) e ao Roberto (por sua intensa ajuda).

Aos meus colegas: Rodrigo Mencialha (mais velho e absurdo), Danilo Lustrino, Gislaine Almeida e Virgínia Tavares que estavam seguindo a novos rumos, locais de suas missões acadêmicas, mas que foram muito receptivos e solícitos a minha chegada e que me apoiaram bastante na jornada que então iniciei em nosso DCF.

A você Ca por tantos momentos ser companheira, contribuidora, dedicada, atenta e conselheira entre tantos testes extras laboratoriais que apenas os que estão envolvidos nessa fase de aprendizagem sabem bem ao que me refiro e por estar comigo todos eles foram superados diante de nossas possibilidades.

Aos funcionários do DCF: Juca, Nei, Leni, Franklin e Rita que sem contarmos com ajuda de vocês ninguém daria um passo no laboratório por além de realizarem bem suas funções, auxiliam a todos sem alardes e com verdadeira intenção de contribuir.

Aos meus pais pela intensa dedicação em educar um filho dentro de suas concepções e desafios que somente aos que um dia também serão passarão a entender melhor que sem eles jamais certos passos são iniciados e porque esses são passos certos.

Obrigado ao Senhor por ter me guiado não somente a chegada do dia de hoje mais por todos os passos antes dados e aos que estão por vir em minha jornada nessa missão maior que se chama vida.

RESUMO

O abuso de esteróides anabólicos androgênicos (EAA), dentro e fora do cenário esportivo, se constitui atualmente em grande problema de saúde pública. Embora, estudos relativos a alterações comportamentais e hidroeletrólíticas induzidas por EAA sejam bem conhecidos, o mesmo já não se observa quando esses parâmetros são analisados em conjunto (no mesmo estudo). Além disso, alterações tardias (na fase adulta) induzidas pelo uso abusivo de EAA na adolescência são ainda mais raras. Assim, o principal objetivo deste estudo, foi avaliar possíveis alterações comportamentais, hidroeletrólíticas e autonômicas de ratos adultos sedentários ou fisicamente ativos submetidos ao tratamento com EAA na fase juvenil.

O presente estudo foi submetido ao Comitê de Ética da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CEPBE/IB/UFRRJ-014/2008), e seguiu as normas propostas pelo “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals” (Instituto Nacional de Saúde Norte Americano). Foram utilizados 40 ratos Wistar jovens (40 dias) e 10 casais de residentes (90 dias). Os animais foram divididos aleatoriamente nos seguintes grupos: tratados com proprionato de testosterona (Grupo PT) na dose de 5mg/kg/dia (i.m.) ou veículo (óleo de milho) no mesmo volume e via de administração (Grupo Controle, CTR) por 5 semanas ininterruptas. Ambos os grupos foram subdivididos em sedentários (PTsed ou CTRsed) e fisicamente ativos (PTexe ou CTRexe). Na 4ª semana de administração (9 semanas de idade), os animais foram submetidos ao teste de agressividade e os resultados mostraram aumento significativo deste parâmetro ($P < 0,05$) no grupo PTsed em relação ao seu controle (CTRsed). Curiosamente, o aumento da agressividade foi amplamente inibido pelo exercício físico resistido, uma vez que não foram observadas diferenças significativas nos parâmetros que avaliam agressividade (ataques efetivos e ameaças) entre os grupos PTexe e CTRexe ($P < 0,05$) sendo ambos similares aos do grupo controle CTRsed. No teste do campo aberto houve aumento significativo tanto da exploração horizontal (número de quadrados percorridos/5 min.) como na vertical (número de rearings/5 min.) e diminuição no tempo de imobilidade no grupo PTsed comparado ao CTRsed ($P < 0,05$). Mais uma vez, o EFR foi capaz de reverter o efeito produzido pelo EAA, pois não houve diferença nestes parâmetros entre os grupos PTexe e CTRexe ($P < 0,05$) sendo ambos similares aos do grupo controle CTRsed. No teste do labirinto em cruz elevado não houve alteração significativa no tempo de permanência em nenhum dos braços entre os grupos, mas, as frequências de entradas nos braços tiveram significativas diferenças por o grupo tratado PTsed ter maior número significativo que do seu respectivo controle CTRsed em ambos os braços, o que sugere inibição do efeito ansiolítico nos protocolos de

administração de EAA e de EFR utilizados neste estudo. No estudo hidroeletrólítico houve aumento significativo ($P < 0,05$) na ingestão cumulativa de água e sódio no CTReXe, a partir de 60 minutos e assim por diante até o término do teste, em relação aos demais grupos em condições basais. O grupo tratado com EAA e que praticou exercício físico (PTexe) não apresentou este efeito, o que sugere que o PT foi capaz de prevenir as respostas adaptativas ao EFR. No estudo da variabilidade da frequência cardíaca observou-se que o tratamento com EAA aumentou a modulação simpática (diminuiu a parassimpática) no grupo sedentário tratado com PT e que este efeito, foi totalmente bloqueado pelo EFR, pois não houve diferença no balanço simpato-vagal cardíaco entre os grupos PTexe e CTReXe ($P < 0,05$) sendo ambos similares aos do grupo controle CTRsed.

O tratamento com EAA na fase juvenil (adolescência) aumentou a agressividade e a atividade exploratória dos ratos na fase adulta e o protocolo de exercício utilizado foi efetivo em prevenir tais alterações. Além disso, as respostas hidroeletrólíticas adaptativas de aumento de ingestão de fluidos induzidos pelo exercício foram bloqueadas pelo uso de EAA na adolescência. É possível que este efeito mal adaptativo observado nos animais fisicamente ativos tratados com EAA, possa ser explicado, pelo menos em parte, pelo aumento da modulação simpática, conhecidamente retentora de sal e água observada na análise espectral.

Apoio Financeiro: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro.

Palavras-chave: exercício físico, uso abusivo de esteróides anabolizantes e alterações fisiológicas em ratos.

ABSTRACT

The abuse of anabolic androgenic steroids (AAS), and off the sports scene, it is currently in big public health problem. Although studies on behavioral changes induced by AAS and electrolyte are well known, the same is not observed when these parameters are analyzed together (in the same study). In addition, late changes (in adulthood) induced by the use of AAS abuse in adolescence are even more rare. Thus, the main objective of this study was to assess possible behavioral changes, electrolyte and rat autonomic sedentary or physically active adults undergoing treatment with AAS in the juvenile phase.

This study was submitted to the Ethics Committee of University Rural of Rio de Janeiro (CEPBE/IB/UFRRJ-014/2008), and followed the guidelines proposed by the "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" (National Institute of North American Health). A total of 40 young Wistar rats (40 days) and 10 pairs of residents (90 days). The animals were randomly divided into the following groups: proprionate treated with testosterone (PT) at a dose of 5mg/kg/day (im) or vehicle (corn oil) in the same volume and route of administration (control group, CTR) for 5 weeks uninterrupted. Both groups were subdivided into sedentary (or PTsed CTRsed) and physically active (or PTexe CTRexe). In the fourth week of administration (9 weeks of age), animals were tested for aggressiveness and the results showed a significant increase of this parameter ($P < 0.05$) in PTsed in relation to its control (CTRsed). Interestingly, the increased aggressiveness was largely inhibited by resistive exercise, since there were no significant differences in parameters that assess aggression (actual attacks and threats) between the groups and PTexe CTRexe ($P < 0.05$) and both are similar to CTRsed the control group. In the open field test showed a significant increase both the horizontal scanning (number of squares crossed / 5 min.) And vertical (number of rearings / 5 min.) And decrease in the immobility time compared to CTRsed PTsed group ($P < 0, 05$). Again, the EFR was able to reverse the effect produced by the AAS, as there was no difference in these parameters between groups and PTexe CTRexe ($P < 0.05$) and both are similar to the control group CTRsed. In testing the elevated plus maze, no significant change in parameter the arms in any group and which probably indicates absence of anxiolytic in management protocols and EFR AAS used in this study. Electrolyte in the study increased significantly ($p < 0.05$) in cumulative intake of water and sodium CTRexe from 60 minutes and so on until the end of the test, compared to other groups at baseline. The group treated with AAS and practiced physical exercise (PTexe) did not show this effect, suggesting that the PT was able to prevent the adaptive responses to the EFR. In the study of

heart rate variability was observed that AAS treatment increased sympathetic modulation (decreased parasympathetic) in the sedentary group treated with PT and that this effect was totally blocked by EFR because there was no difference in cardiac vagal-sympathetic balance between groups and PT_{exe} CTR_{exe} ($P < 0.05$) and both are similar to the control group CTR_{sed}.

The AAS treatment in the juvenile phase (adolescence) increased aggressiveness and exploratory activity of rats in adulthood and the exercise protocol used was effective in preventing such changes. Furthermore, the adaptive responses electrolyte of increased fluid intake induced by exercise have been blocked by the use of EAA in adolescence. It is possible that this effect maladaptive observed in animals treated with AAS physically active, may be explained at least in part, by increasing sympathetic modulation, known to salt and water retaining observed in the spectral analysis.

Financial Support: National Council for Scientific and Technological Development and the Foundation for Research of the State of Rio de Janeiro.

Keywords: exercise, abuse of anabolic steroids and physiological changes in rats.

LISTA DE ABREVIACOES E SMBOLOS

AAS	Atividade autonômica simpática;
AMPc	Adenosina monofosfato cíclico;
CA	Teste de campo aberto;
DN	Decanoato de nandrolona;
EAA	Esteróides anabólicos androgênicos;
ECA	Enzima conversora de angiotensina;
EFR	Exercício físico resistido;
HVE	Hipertrofia ventricular esquerda;
IAM	Infarto agudo do miocárdio;
IGF-1	Proteína de fator de crescimento;
LCE	Teste de labirinto em cruz elevado;
LDL	Lipoproteína de baixa densidade;
RNAm	cido ribonucléico mensageiro;
SNC	Sistema nervoso central;
SRAA	Sistema renina angiotensina aldosterona;
TA	Teste de agressividade;
VFC	Variabilidade da freqncia cardíaca;

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO - - - - -	1
2 REVISÃO DE LITERATURA - - - - -	3
2.1 Esteróides anabolizantes - - - - -	3
2.2 Principais efeitos adversos do uso abusivo de esteróides androgênicos anabolizantes - - -	7
2.3 A prevalência do uso de esteróides anabolizantes entre indivíduos ativos fisicamente de maneira recreativa - - - - -	7
2.4 Alterações Comportamentais oriundas do uso abusivo de EAA - - - - -	9
2.5 Regulação Hidroeletrólítica e EAA - - - - -	13
2.6 Estudo da Variabilidade da Frequência Cardíaca - - - - -	15
2.7 Atividade Física - - - - -	20
2.8 Exercício Físico Resistido - - - - -	21
3 OBJETIVO - - - - -	22
3.1 Objetivos gerais - - - - -	22
3.2 Objetivos específicos - - - - -	22
4 MATERIAL E MÉTODOS - - - - -	24
4.1 Animais - - - - -	24
4.1.1 Residentes - - - - -	24
4.1.2 Ratos <i>Wistar</i> fêmeas - - - - -	25
4.2 Administração de Propionato de Testosterona - - - - -	25
4.3 Modelo Experimental em animais de Exercício Físico Resistido - - - - -	25
4.4 Avaliações Comportamentais - - - - -	27
4.4.1 Teste de Agressividade - - - - -	27
4.4.2 Campo Aberto - - - - -	28
4.4.3 Labirinto em Cruz Elevado - - - - -	29
4.5 Regulação Hidroeletrólítica - - - - -	31
4.5.1 Aferição da ingestão de água e sódio - - - - -	31
4.5.2 Depleção de sódio - - - - -	31
4.5.3 Protocolo Furosemida sem acesso a água - - - - -	32
4.6 Protocolo do Estudo Cardiovascular - - - - -	32
4.6.1 Avaliação eletrocardiográfica - - - - -	32

4.6.2 Análise Espectral - - - - -	32
4.7 Estudo da percentagem de ganho de peso corporal - - - - -	33
4.8 Análise post-mortem - - - - -	33
4.8.1 Peso relativo dos animais - - - - -	33
4.9 Análise Estatística - - - - -	34
5 PROTOCOLO EXPERIMENTAL - - - - -	35
6 RESULTADOS - - - - -	36
6.1 Peso corporal dos animais - - - - -	36
6.2 Testes Comportamentais - - - - -	37
6.2.1 Teste de Agressividade dos animais - - - - -	37
6.2.2 Campo Aberto - - - - -	37
6.2.2.1 Quadrados percorridos - - - - -	37
6.2.2.2 Número de rearings - - - - -	38
6.2.2.3 Tempo de inatividade - - - - -	39
6.2.2.4 Quantidade de bolos fecais - - - - -	40
6.2.3 Labirinto em Cruz Elevado - - - - -	41
6.2.3.1 Número de entradas nos braços fechados - - - - -	41
6.2.3.2 Tempo de permanência nos braços fechados - - - - -	42
6.2.3.3 Número de entradas nos braços abertos - - - - -	42
6.2.3.4 Tempo de permanência nos braços abertos - - - - -	43
6.3 Estudos do equilíbrio hidroeletrólítico - - - - -	44
6.4 Análise Espectral - - - - -	46
6.4.1 Efeito do EFR e das administrações de propionato de testosterona na variabilidade da frequência cardíaca e no balanço simpátovagal - - - - -	46
6.4.1.1 VFC no Domínio da Frequência - - - - -	48
6.4.1.2 VFC no Domínio do Tempo - - - - -	49
6.5 Estudo dos pesos relativos dos órgãos - - - - -	51
7 DISCUSSÃO - - - - -	52
8 CONCLUSÕES - - - - -	68
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS - - - - -	69

1 INTRODUÇÃO

O abuso de esteróides anabólicos androgênicos (EAA), dentro e fora do cenário esportivo, se constitui atualmente uma grande preocupação social e comportamental das mais importantes agências sanitárias e esportivas internacionais como a Organização Mundial de Saúde (OMS) e o Comitê Olímpico Internacional (COI). Estimativas de prevalência do uso dessas substâncias vêm sendo apresentadas em diferentes segmentos da sociedade e da prática desportiva, com resultados bastante variáveis, estando mais disponíveis na literatura norte-americana.

Estima-se que mais de 1.000.000 de pessoas usam ou já tenham usado esteróides anabolizantes por ao menos em uma ocasião de sua vida, nos Estados Unidos. Inclusive há relatos do consumo de anabolizantes entre 4 a 12% dos jovens do Ensino Médio norte-americano. Por um estudo realizado em quatro escolas públicas de Massachusetts, em 1998, foi constatado o uso precocemente de EAA por crianças com idades entre 09 a 13 anos. Esses usuários infantis perfazem 2,6% de um total de 466 meninos e 2,8% de um total de 499 meninas. Além do fato de ser sabido da crescente utilização desses hormônios para fins estéticos e atléticos, cerca de 30% dos usuários dessas substâncias ilícitas apresentam dependência química para essas drogas.

As ações farmacológicas dos androgênios são consequência de suas ações fisiológicas e de três efeitos que decorrem de suas aplicações: ação virilizante, ação antiestrogênica e ação anabólica. Entretanto, nem sempre é possível isolar estes resultados, sobretudo as ações virilizante e anabólica. O efeito anabólico corresponde à propriedade da testosterona de promover um aumento da massa muscular, através da hipertrofia de fibras musculares, devido ao aumento da síntese protéica intracelular. Os esteróides sintéticos conseguem potencializar este efeito, ao promover aumento da força de contratilidade e do volume da célula muscular, através dos seguintes mecanismos: incremento da armazenagem de fósforo creatina (CP); balanço nitrogenado positivo; maior retenção de glicogênio, favorecimento da captação de aminoácidos e bloqueio do cortisol. Os protótipos dos esteróides anabólicos visam minimizar, ou erradicar, tais efeitos, a fim de obter moléculas que apresentem efeito anabólico superior ao da testosterona e mínimo de efeitos andrógenos. Porém, a carga androgênica é responsável pela maior parte dos efeitos colaterais gerados por essas substâncias e dependendo da proporção entre droga utilizada, tempo e quantidade, os riscos do uso de esteróides anabólicos podem ser maiores ou menores, reversíveis ou irreversíveis.

Os sintomas psiquiátricos são nítidos em usuários de dosagem exagerada de EAA sendo as características mais evidentes: irritabilidade, agressividade, euforia, mania de grandeza, sentimento de hostilidade, hiperatividade e comportamento imprudente ou perigoso. Além dos usuários poderem sofrer de ciúme paranóico, irritabilidade extrema, delírios, psicose aguda, exarcebações de tiques, confusão aguda, prejudicada capacidade de julgamento decorrente de sentimentos de invencibilidade. Apresentando-se até mesmo em pessoas que anteriormente não apresentavam sequer tendências violentas. Modelos experimentais animais são empregados para verificarem a correlação da utilização exagerada de esteróides anabólicos androgênicos a série de alterações sócio-comportamentais, principalmente, em ratos adolescentes por nesse período envolver a remodelação de circuitos neurais córtico-sensíveis que medeiam os comportamentos sociais. Ratos na adolescência ao contrário dos adultos exibem respostas comportamentais significativamente mais elevadas quando são expostos aos EAA, sugerindo que o cérebro ainda em desenvolvimento no adolescente seja mais vulnerável para as conseqüências adversas do uso de EAA sobre o comportamento e o sistema nervoso central (SNC) do que o cérebro do rato adulto, já que o uso de anabolizantes afetam áreas do SNC que estão envolvidas em respostas emocionais e cognitivas, tais como: sexualidade, ansiedade e memória.

Estudos que também avaliaram o efeito adverso da administração ilícita de esteróides anabólicos na função vascular observaram comprometimento na participação do endotélio para a produção de substâncias vasodilatadoras. A presença de disfunção endotelial pode ocasionar prejuízo à regulação do tônus vascular contribuindo para o desenvolvimento de diversas doenças cardiovasculares particularmente as de natureza isquêmica além de outras complicações cardíacas que podemos exemplificar como: insuficiência cardíaca, fibrilação ventricular, trombozes, doença isquêmica e infarto agudo do miocárdio (IAM) que pode ocorrer devido a alterações no metabolismo de lipoproteínas e pela presença de disfunção endotelial. Ressaltando-se ainda que o uso indiscriminado de esteróides anabólico androgênicos, associados ou não à atividade física, resulta em várias alterações morfológicas e fisiológicas nos corações similares às encontradas nos quadros iniciais de cardiomiopatias e insuficiência cardíaca.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Esteróides anabolizantes

A testosterona é considerada o principal hormônio andrógênio. No homem, 95% da testosterona (aproximadamente de 5 a 10 mg por dia) são produzidas pelas células de *Leydig* dos testículos. E os 5% restantes são produzidos no córtex da glândula supra-renal e no cérebro. Mulheres também produzem testosterona, porém, de 10 a 20 vezes menos que a quantidade produzida pelo sexo masculino. A produção de testosterona nas mulheres é estimulada por três hormônios encontrados na hipófise: hormônio luteinizante (LH), hormônio folículo estimulante (FSH) e prolactina. Antes de passar para a corrente sanguínea, a testosterona é sintetizada a partir do colesterol. A maior parte da testosterona na circulação sanguínea (97%) está intimamente ligada às proteínas (albumina e SHBG) e a sua forma livre ou biologicamente ativa aparece em menor quantidade (3%) (GONZALEZ & AYESTARAN, 2001). Silva (2002) afirma que a testosterona é rapidamente metabolizada pelo fígado e que a meia-vida da testosterona livre é cerca de 10 a 21 minutos. Segundo Katzung (2003) depois de convertida em substâncias inativas pelo metabolismo essas substâncias são excretadas pela urina, dentre as quais podemos citar a androstenediona e etilcolanolona.

Na sua forma livre, biologicamente ativa, a testosterona penetra na célula muscular mediante um mecanismo de difusão. No citoplasma a testosterona une-se as proteínas receptoras de andrógenos formando o complexo: testosterona-receptor. Esse complexo dirige-se ao núcleo da célula muscular interagindo com ácido desoxirribonucléico (DNA), produzindo ácido ribonucléico mensageiro (RNA_m) específico. O RNA_m tem ação direta sobre a maquinaria genética aumentando desta forma a síntese de proteínas. Essa interação com o código genético da célula pode ser considerada a responsável principal pelo aumento de volume da célula muscular (GONZALEZ & AYESTARAN, 2001).

Durante a puberdade, a testosterona e o seu principal metabólito ativo (a 5 alfa-diidrotestosterona) são responsáveis por numerosas alterações, que dentre as quais se destacam: crescimento geral dos tecidos, crescimento do pênis e do escroto, alterações na pele como o crescimento da barba, pêlos púbicos e axilares, da laringe e espessamento das pregas vocais. Também ocorrem o crescimento da próstata e das vesículas seminais, o escurecimento da pele e o aumento da circulação sanguínea (KATZUNG, 2003).

A testosterona exerce efeitos tanto androgênicos quanto anabólicos por uma extensa variedade de tecidos-alvos incluindo: o sistema reprodutor, o sistema nervoso central, a hipófise anterior, o rim, o fígado, o coração e os músculos. Os efeitos androgênicos ocasionam o crescimento do trato reprodutor masculino e o desenvolvimento das

características sexuais masculinas. Já os efeitos anabólicos estimulam a fixação do nitrogênio e aumentam a síntese protéica. A atividade anabólica da testosterona e de seus derivados é manifestada primariamente em sua ação miotrófica, a qual resulta em aumento da massa muscular por aumentar a síntese protéica no músculo (ROCHA *et al.* 2007). No homem adulto normal, a concentração plasmática de testosterona varia de 300 a 1.000 ng/dl e a taxa de produção diária está entre 2,5 e 11 mg (HARDMAN *et al.* 1996).

Os hormônios esteróides apresentam um núcleo básico derivado da estrutura química do colesterol, portanto são hormônios de natureza lipídica. A biossíntese dos hormônios esteróides é restrita a poucos tecidos, como o córtex das glândulas adrenais e gônadas, os quais expressam diferentes formas do complexo enzimático P-450, responsável pelo processamento da molécula de colesterol (BIANCO & RABELO, 1999).

Os esteróides androgênicos são moléculas lipofílicas, que atravessam facilmente a membrana plasmática. Eles atuam sobre receptores intracelulares citosólicos que se encontram estabilizados pelas proteínas de choque térmico, as *Heat shock protein* (Hsp). Uma vez formado o complexo hormônio-receptor, as Hsp se desligam do receptor e o complexo se desloca ao núcleo. No núcleo, o complexo interage com o DNA nuclear em uma região específica, promovendo aumento da atividade da RNA-polimerase nuclear nos músculos esqueléticos, aumento da síntese de proteínas específicas (actina e miosina) e ainda participa da regulação do processo de transcrição ou a repressão de certos genes. Ocorre aumento da velocidade de incorporação de aminoácidos às proteínas e uma intensificação do metabolismo protéico (LITWACK & SCHIMIDT, 1997).

Segundo Verhoeven & Swinnen (1999); Sheffield-Moore & Urban (2004) existem fortes evidências de que o músculo esquelético é o maior sítio de ação extragenital dos EAA, e que o aumento da massa muscular promovido pela testosterona, tanto em animais quanto em humanos, pode ser mediado por ação direta, indireta e ação anti-glicocorticóide de andrógenos sobre o metabolismo de proteína muscular.

Os mecanismos de ação dos esteróides anabólicos, até o momento, ainda parecem controversos. Basicamente, os esteróides anabolizantes são substâncias sintéticas, similares à testosterona, que podem ser utilizados por administração oral ou injetável. Estas substâncias podem atuar diretamente em receptores específicos, sendo que, uma vez na circulação, elas são transportadas pela corrente sanguínea como mensageiros, na forma livre ou combinada às moléculas transportadoras, mas somente na sua forma livre difundem-se diretamente através da membrana plasmática de células-alvo ligando-se a receptores protéicos intracelulares.

Este processo de entrada na célula, por si só, gera maior produção de adenosina monofosfato cíclico (AMPc), aumentando o metabolismo celular (CELOTTI & CESI, 1992; HEBERT *et al.* 1984). Dentro da célula (citoplasma), a molécula de esteróide ligada ao receptor androgênico específico migra para o núcleo celular, onde inicia o processo de transcrição gênica e, conseqüentemente, de transdução protéica, a qual modula as ações celulares dependentes de andrógeno (SHAHIDI, 2001).

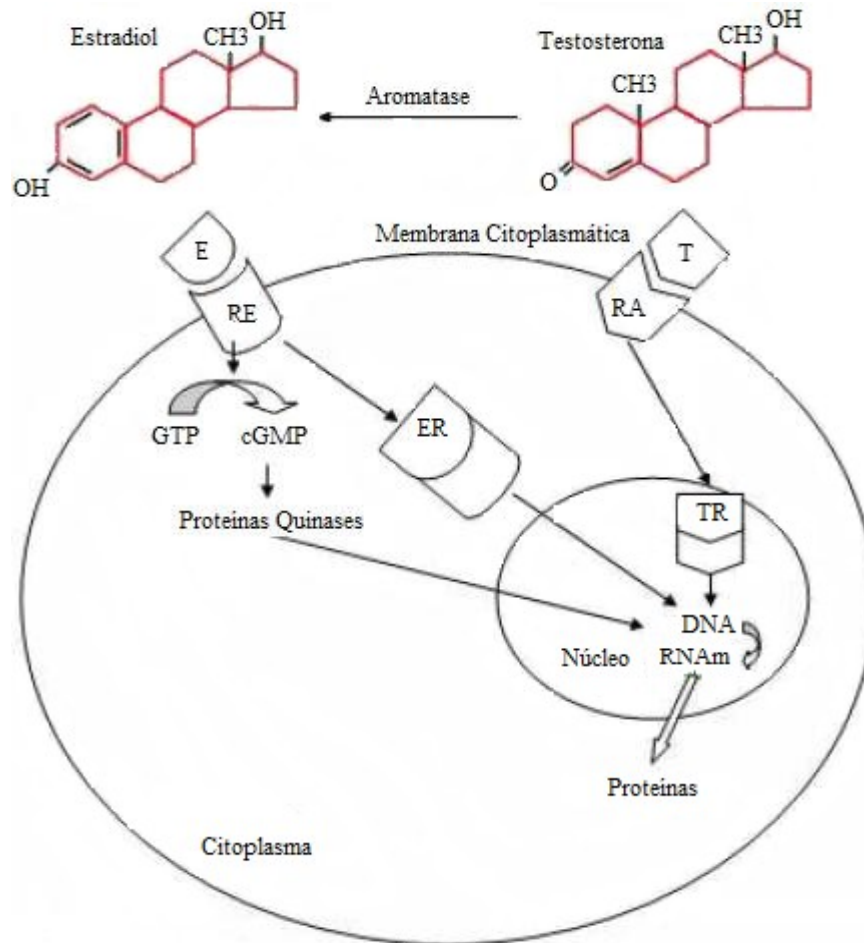


Figura 1: Mecanismos de ação de hormônios esteróides anabólicos com atuação direta em receptores específicos a ligarem-se a receptores protéicos intracelulares. Figura adaptada de Ferrari (2011).

Legenda: E = estradiol; T = testosterona; RE = receptor estrogênico; RA = receptor androgênico; ER e TR = complexos citoplasmáticos esteróide-receptor; GTP = guanina trifosfato; cGMP = guanina monofosfato cíclica.

Os EAA, assim como os andrógenos endógenos, são estruturas de quatro anéis com dezenove átomos de carbonos. Conforme Clark & Henderson (2003) existem três principais classes de EAA. A primeira classe é representada por compostos injetáveis, ésteres do grupo 17-beta-hidroxil (propionato e cipionato de testosterona). A esterificação protela a degradação do composto e prolonga o tempo de ação devido à liberação sistêmica mais lenta (SHAHIDI, 2001; BASARIA *et al.* 2001). Os ésteres de testosterona podem ser hidrolisados a

testosterona livre; reduzidos a 5-alfa-diidrotestosterona, um metabólito com maior atividade biológica, devido a sua grande afinidade pelos receptores andrógenos (RA) do que a testosterona, por essa poder ser aromatizada a estrógenos pela ação da enzima aromatase (MARTINI, 1982; KOCHAKIAN, 1993).

A segunda classe refere-se a compostos injetáveis que abrangem os derivados da 19-nortestosterona. Esses compostos derivam dos ésteres de testosterona através da adição de uma cadeia carbonada longa no carbono dezessete. Também sofrem a substituição de um hidrogênio por uma metila no carbono dezenove. Nesta classe de EAA está inserido o decanoato de nandrolona (DN). A desmetilação do carbono dezenove aumenta a meia-vida dessa classe de compostos e contribui para a sua esterificação. Mesmo havendo a homologia estrutural que envolve a ligação dupla entre o carbono quatro e cinco no DN, de grande importância para a ligação aos receptores andrógenos, o alongamento da cadeia confere atividade androgênica reduzida em relação à diidrotestosterona pela conseqüente redução da afinidade ao RA. O decanoato de nandrolona como outros ésteres de testosterona da primeira classe, pode ser aromatizado a 17-beta-estradiol, embora isso não ocorra de maneira tão eficiente quanto em relação à testosterona (BASARIA *et al.* 2001; SHAHIDI, 2001). Os EAA aromatizáveis, tanto da primeira classe, quanto da segunda classe, possuem efeitos significativos no SNC não somente pela interação farmacológica direta com RA, mais também através de metabólitos ativos (estrógenos) que se ligam a receptores estrogênicos (RE) cerebrais (WILSON, 1988).

A terceira classe refere-se aos compostos alquilados no carbono 17 incluindo a metiltestosterona, oximetolona, metandrostenolona e estanozolol. O processo de alquilação dificulta a metabolização hepática, possibilitando a esse grupo de EAA ser administrado por via oral. Não há conversão de esteróides 17-alfa-alquilados a diidrotestosterona ou 17-beta-estradiol, porém outros metabólitos andrógenos e estrógenos ativos podem ser formados (BASARIA *et al.* 2001).

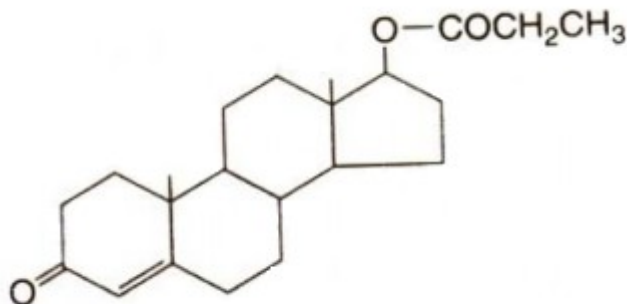


Figura 2: Estrutura química do propionato de testosterona (esteróide anabólico androgênico administrado no experimento). Figura adaptada de Goodman & Gilman (1996).

2.2 Principais efeitos adversos do uso abusivo de EAA

Os efeitos adversos de drogas como os EAA podem ser divididos em cinco categorias gerais: danos hepáticos, cardiovasculares, reprodutivo/endócrino, dermatológico e psiquiátrico (KUTSCHER *et al.* 2002).

Lise *et al.* (1999) também relatam haverem efeitos secundários pelo uso indiscriminado de esteróides anabolizantes como: pêlo facial, engrossamento da voz, aumento de pêlos por todo o corpo, amenorréia, aumento de apetite, crescimento do clitóris e diminuição dos seios (nas mulheres); ginecomastia, atrofia testicular, impotência sexual, diminuição da contagem dos espermatozóides, calvície (nos homens); acnes, queda do cabelo, distúrbios da função do fígado, coágulos de sangue, retenção de líquido no organismo, risco de adquirir doenças transmissíveis, como a síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS) e hepatite entre outras (para ambos os gêneros). E quando essas substâncias ilícitas são administradas durante a puberdade, causam o fechamento das epífises ósseas, acarretando em déficit final do crescimento por consequência do amadurecimento precoce ósseo (DE ROSE *et al.* 1999; CATLIN *et al.* 1996).

2.3 A prevalência do uso de esteróides anabolizantes entre indivíduos fisicamente ativos de maneira recreativa

Podem existir nos Estados Unidos mais de 1,5 milhões de usuários de hormônios adrenais freqüentadores das salas de academias (KANAYAMA *et al.* 2001). Em 1991, através de um estudo aleatório realizado em cinquenta Estados norte-americanos com estudantes adolescentes praticantes de treinamento de força demonstrou-se a freqüência do uso de EAA associado ao uso de cocaína e de outras drogas ilícitas, mostrando haver maior prevalência nos homens do que nas mulheres (DURANT *et al.* 1995). Através de um levantamento sócio-demográfico em estudantes adolescentes de Uppsala, na Suécia, fora observado que o uso de anabolizantes estava relacionado ao consumo de drogas psicotrópicas, tabaco e álcool, objetivando a melhora da aparência e do desempenho atlético (KINDLUNDH *et al.* 1999). É também observado que crianças vítimas de abuso infantil tendem a usar de forma

indiscriminada álcool e outras substâncias ilícitas na sua adolescência (BAHRKE *et al.* 2000; MARTIN & ELMER, 1992).

No Brasil, estudos que abordam o uso de anabolizantes ainda são escassos (IRIART & ANDRADE, 2002). Entretanto, levantamentos feitos pelo Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas (CEBRID), realizados no ano de 2005 em 108 cidades brasileiras com mais de 200 mil habitantes, 0,9% da população total de brasileiros, que 456.000 habitantes já utilizaram esteróides anabolizantes alguma vez na vida (CEBRID, 2005). Sendo observado que o consumidor preferencial no Brasil é representado por homens entre 17 e 34 anos de idade e o maior número de usuários concentra-se na região Sudeste. Esses resultados comparados com a última estimativa realizada em 2001 apresentam aumento de 206% mas, esses números ainda são considerados baixos se comparados às demais drogas de abuso. O perfil e a prevalência dos consumidores dessas substâncias ilícitas também foram investigados por Conceição *et al.* (1999) em praticantes de musculação nas academias da cidade de Porto Alegre. Constatando-se que 24,3% dos indivíduos usavam EAA; sendo que em 34% dos casos as drogas eram utilizadas por vontade própria, e em mais 34%, por indicação de outros indivíduos praticantes de musculação, em 19%, por indicação dos amigos, em 9%, por indicação de professores e, em 4% dos casos, sob prescrição médica. Os anabolizantes mais utilizados entre eles foram a nandrolona (37%), o estanozolol (21%) e a testosterona cristalizada (18%). Demonstrando-se, também, que 80% dos usuários de anabolizantes utilizavam mais de um anabolizante e 35% experimentaram dependência física e psicológica. As principais motivações ao consumo dessas substâncias ilegais citadas por eles foram: a aquisição de força (42,2%), aquisição de beleza (27,3%) e a melhora no desempenho (18,2%). Da Silva & Czepielewski (2001) demonstraram por seu estudo piloto entre 36 atletas competitivos e praticantes recreacionais, de oito academias de musculação porto alegrenses, que 95% dos seus entrevistados estavam usando ou já haviam utilizado EAA pelo menos em uma ocasião de sua vida.

Atualmente, o aumento do comércio desses fármacos (20 a 30% ao ano) para fins não terapêuticos, tornou-se um grave problema de saúde pública (EVANS, 2004). O uso abusivo de EAA é baseado em doses suprafisiológicas que são de 10 a 100 vezes maiores que as doses terapêuticas (BROWER, 1993; CLARK & FAST, 1996). Visando combater ao aumento do consumo dessas substâncias, à fabricação clandestina e ao seu comércio ilegal, os EAA foram classificados em 1991 como substâncias de uso controlado do tipo 3 pelo congresso norte

americano (SHAHIDI, 2001) e no Brasil esses fármacos também são substâncias de consumo controladas (KICMAN, 2008).

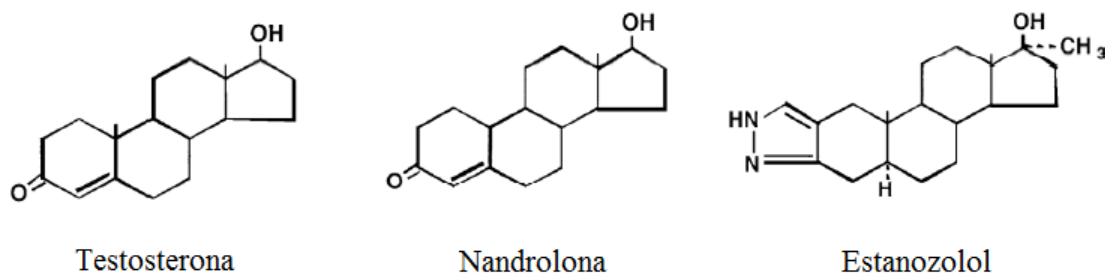


Figura 3: Estrutura química dos EAA mais usualmente utilizados de forma abusiva. Figura adaptada de McGinnis (2004).

2.4 Alterações Comportamentais oriundas do uso abusivo de EAA

O uso indevido de esteróides anabolizantes implica em múltiplos efeitos psicológicos por os andrógenos terem papel crítico no comportamento masculino, embora este seja profundamente influenciado por fatores psíquicos, sociais, somáticos e culturais. Estudos demonstram que os EAA podem ter atividade deletéria sobre o SNC de humanos que pode se manifestar por alterações morfológicas, funcionais e comportamentais. O aumento da agressividade, euforia, depressão, transtornos de humor, alterações na libido, e em casos mais graves, até alucinações (psicose) são frequentemente relatados em indivíduos que utilizam os EAA (PARROTT, 1994; CHOI & DAVIES, 1994; COOPER *et al.* 1996; SU *et al.* 1993; HARTGENS & KUIPERS, 2004; UZYCH, 1992; HALL, 2005; HALL & CHAPMAN, 2005). Em humanos, o uso de EAA também está fortemente associado com comportamento agressivo e violento, todavia cabe ressaltar que a agressividade é uma resposta biológica natural, proeminente no gênero masculino, na busca da satisfação das necessidades básicas como comida e água, abrigo e território. Nos mamíferos, a agressividade é geralmente empregada para a defesa do território e acesso às fêmeas. Ao contrário, a violência é inapropriada, inadequada ou exagerada expressão de agressividade (MCGINNIS *et al.* 2004).

Os andrógenos são reconhecidos como moduladores do comportamento agressivo (BARFIELD, 1972; BUSCH & WALLEN, 1972; SVARE, 1990). Em modelos experimentais com roedores, o comportamento agressivo associado ao uso de EAA é de caráter contraditório, pois a análise dos resultados é afetada por diversas variáveis, como a classe, a combinação ou não de classes de EAA, dose, gênero, tempo de tratamento, idade dos animais

e a metodologia empregada para avaliar o comportamento agressivo (CLARK & HENDERSON, 2003; MCGINNIS, 2004). A maioria dos estudos sobre os efeitos dos EAA no comportamento agressivo utilizam roedores machos (CHRISTIE & BARFIELD, 1979; CLARK & HENDERSON, 2003).

Os efeitos comportamentais dos esteróides androgênicos anabolizantes, em homens e mulheres, incluindo relativamente o comportamento sexual, as habilidades cognitivas, a agressão e o humor foram examinados por alguns estudos (LUKAS *et al.* 1996; CHRISTIANSEN *et al.* 2001, 2004; KUHN *et al.* 2002). Além de serem também discutidos no Instituto Nacional de Abuso de Drogas – NIDA - (KATZ & POPE, 1990; SVARE, 1990; YESALIS *et al.* 1990).

Os andrógenos são fundamentais para o comportamento sexual humano do sexo masculino e também possibilitam o aumento do desejo sexual feminino e de sua excitação sexual. A testosterona parece desempenhar um papel importante no funcionamento cognitivo, tais como da atenção e do estado de alerta, da memória e das habilidades espaciais. Embora com base nas conclusões de certo número limitado de estudos. Nos Estados Unidos fora realizado um amplo estudo com usuários de anabolizantes, obtendo-se como resultado que 25% desses sofriam de algum tipo de transtorno de humor, desde mania e transtorno bipolar até depressão profunda. No que diz respeito ao humor, há correlação positiva significativa das concentrações de androgênios endógenos, com uma sensação de bem-estar e alegria, e correlações negativas com a depressão e ansiedade (POPE & KATZ, 1994). Silva *et al.* (2002) apontam a correlação entre o uso indiscriminado de esteróides anabolizantes e atos agressivos em geral, destacando-se mudanças súbitas de temperamento, síndromes comportamentais e, inclusive crimes contra a propriedade. E mencionam, além disso, aumento da irritabilidade, raiva e hostilidade, ciúme patológico, alterações da libido e sentimentos de invencibilidade. Daigle (1990) encontrou em sua pesquisa a correlação entre pessoas que utilizam de forma indiscriminada anabolizantes e um decréscimo na tolerância à frustração ou ao baixo desempenho, especialmente em situações que envolviam provocação. Corrigan (1996) e Silva *et al.* (2002) categorizam os efeitos psicológicos dos esteróides androgênicos anabolizantes em três subdivisões. A primeira enquadra-se os efeitos imediatos do uso inadequado: aumento da confiança, da energia e da auto-estima, acompanhados por um maior entusiasmo e motivação, além de insônia, menor fadiga, maior habilidade para suportar a dor em exercícios resistidos, irritação, raiva e agitação, isto é, efeitos ligados a mudanças de humor e euforia. Na segunda categoria, corresponde-se ao uso prolongado com doses

exageradas, observando-se a perda de inibição, com alterações ainda mais acentuadas do humor. E a terceira subdivisão, os efeitos tornam-se mais graves por haverem evoluído sentimentos de agressividade para comportamentos violentos, hostis e anti-sociais. Homicídio, suicídio e abuso infantil são algumas conseqüências destes acessos de fúria. Entretanto, Su *et al.* (1993) assinalaram que costuma haver aumento tanto nas formas positivas quanto nas negativas do humor, ou seja, o indivíduo torna-se simultaneamente mais eufórico e irritável. Já Lise (1999) comenta sobre estudos envolvendo jovens atletas usuários e não usuários de anabolizantes cujos resultados apontam para maior agressividade, maior impulsividade e menor cooperatividade do primeiro grupo em relação ao segundo sendo que tal agressividade pode levar a crimes, como assassinatos, por parte de alguns usuários e também demonstra que o narcisismo patológico e a personalidade anti-social estão relacionados com o uso esteróides androgênicos anabolizantes, e que o uso abusivo pode vir a causar graves distúrbios de humor. Corrigan (1996) e Silva *et al.* (2002) ainda formulam a hipótese de que casos de esquizofrenia aguda podem ser gerados pelo uso do esteróide metandienona. Mas o uso de oxandrolona e oximetolona estaria ligado a casos de mania, hipomania, confusão mental, paranóia e depressão. Annitto & Layman (1980) acrescentam ainda que certos sintomas psicóticos agudos, como alucinações e ilusões não são incomuns. Outros estudos parecem demonstrar que o uso de metandienona pode estar relacionado com crises comportamentais, devido à alteração da função serotoninérgica causada pela mesma (SILVA *et al.* 2002).

A interrupção do uso de anabolizantes determina uma síndrome de abstinência, durante a qual surgem sintomas adrenérgicos e *craving* (fissura), bem como depressão (LISE, 1999). De fato, as evidências são tão consistentes que a Associação Psiquiátrica Americana (APA) em 1994 codificou o “transtorno de dependência do hormônio esteróide sexual” (KASHKIN & KLEBER, 1999).

No plano cognitivo, SILVA *et al.* (2002) encontraram com certa freqüência sintomas como distração, esquecimento e confusão mental.

Para Assunção (2002), o uso indevido de anabolizantes pode trazer conseqüências psicológicas ainda mais graves quando o usuário passa a apresentar sintomas de um transtorno dismórfico corporal (TDC). Por o usuário ter uma distorção de sua auto-imagem corporal ao não sentir-se musculoso o bastante em todo o seu corpo (dismorfia muscular).

Os andrógenos por muito tempo têm sido reconhecidos como moduladores de agressividade nos ratos (SVARE, 1990; BARFIELD *et al.* 1972). Segundo Breuer *et al.*

(2001) a administração, em níveis suprafsiológicos, de propionato de testosterona em ratos aumenta a propensão desses apresentarem comportamento agressivo durante a interação social. E a administração suprafsiológica prolongada desse esteróide anabolizante consistentemente aumenta o comportamento agressivo em ratos (KLEIGER *et al.* 1987; BREUER *et al.* 2001). Porém, outro anabolizante como o estanozolol pode não estimular ou até mesmo inibir a agressividade em ratos (SVARE, 1990; BREUER *et al.* 2001; MCGINNIS *et al.* 2002).

Algumas evidências recentes indicam que os EAA podem alterar aspectos morfológicos e neuroquímicos de sinapses glutamatérgicas no hipotálamo, hipocampo e córtex cerebral e, com isso, ter implicações comportamentais importantes (LE GREVES *et al.* 1997; ROSSBACH *et al.* 2007). O sistema glutamatérgico é o principal mecanismo de neurotransmissão excitatório do sistema nervoso central de mamíferos. Ele está envolvido em processos de memória e aprendizado, proliferação e sobrevivência celular. Uma vez liberado na fenda sináptica, o glutamato se liga a seus receptores do tipo ionotrópicos (NMDA, AMPA e Kainato) e, ou metabotrópicos (acoplados a proteína G). A remoção do glutamato da fenda sináptica é feita por transportadores específicos, principalmente astrocitários, que protegem os neurônios da excitotoxicidade decorrente dos altos níveis de glutamato na fenda sináptica (DANBOLT, 2001). A hiperestimulação glutamatérgica causa aumento de cálcio intracelular, causando danos neuronais e reatividade glial. Dos cinco transportadores de glutamato em mamíferos clonados, GLAST e GLT-1 (predominantemente localizado em astrócitos) são os principais responsáveis pela manutenção do tônus glutamatérgico fisiológico, evitando o tônus neurotóxico (SWANSON *et al.* 2000).

2.5 Regulação Hidroeletrólítica e EAA

A água e o sódio são importantes componentes para o controle da homeostase. A manutenção do equilíbrio é de extrema importância para a constância do meio interno, condição básica para a funcionalidade de diversos órgãos e sistemas devido o organismo dispor de uma estrutura funcional que compreende sistemas neurais prosencefálicos integrados ao eixo hipotálamo-hipofisário. Os mecanismos homeostáticos envolvem ajustes no volume de água e de íons ingeridos e excretados, por meio de regulações neuroendócrinas comportamentais. O processo da sede e da ingestão de sódio, bem como a excreção de água e eletrólitos, são regulados ao nível central por um circuito neural complexo. Assim, tanto o

comportamento de ingestão de água quanto de sódio são críticos para a correção do volume dos líquidos extracelular e intracelular para assegurar uma osmolaridade normal (KAWAKO, 1992). Em circunstâncias normais a alteração da homeostase dos fluidos do corpo será primariamente corrigida pelos rins. O papel renal nessa função é de restabelecer os níveis de sódio via ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), que é o correspondente sistema acionado mediante uma condição de hiponatremia, como uma diminuição do volume do líquido extracelular (LEC). Esse sistema renal promove a liberação de renina, que é a responsável pela ativação do SRAA (DAVIS & FREEMAN, 1976; PEART, 1978; FITZSIMONS, 1985; GANTEN & STOCK, 1978; KATER *et al.* 1982; BOOTH *et al.* 2002; SAKAI & EPSTEIN, 1996; NIU *et al.* 2002). Um subproduto importante do sistema renina-angiotensina-aldosterona é a angiotensina II (ANG II), por ela induzir diretamente o aumento da reabsorção de sódio pelo túbulo proximal e por indiretamente aumentar a reabsorção de sódio pelo túbulo distal e coletor via atuação da aldosterona. A ANG II tem um importante papel na indução de sede e no apetite ao sódio, e na sua atuação em estruturas neurais. Além dessas funções a mesma pode atuar promovendo o aumento da liberação de arginina vasopressina (AVP), uma via de ativação dos núcleos hipotalâmicos, a regulação da pressão arterial e também pode atuar no mecanismo de aprendizado e memória (FITZSIMONS, 1985). A aldosterona é o produto final do SRAA (GANTEN & STOCK, 1978; KATER *et al.* 1982) e essa tem a sua liberação modulada pela ANG II e pela concentração plasmática de potássio; atuando periféricamente na regulação e na reabsorção de sódio e potássio nos dutos coletores e colón (BOOTH *et al.* 2002). Sakai *et al.* (1996) também descreveu uma atuação central da aldosterona para aumentar o apetite por sódio. Nesse panorama de regulação da homeostase do íon sódio ainda podemos incluir importantes sistemas fisiológicos que são acionados em condição de hipernatremia e aumento do volume do líquido extracelular, tais sistemas integram fatores inibidores como o peptídeo natriurético atrial (ANP) e a ocitocina (OT).

A partir dos anos 90 começaram a serem identificados alguns polimorfismos do sistema SRAA, estando entre esses os da ECA (I/D), do angiotensinogênio (AGT) (M235T), dos receptores da angiotensina AT1 (A1166C) e AT2 (G1675A) e do receptor da bradicinina (+9/-9B2BKR). Permitindo assim o desenvolvimento de novas perspectivas de contribuições genéticas nas doenças ou situações de adaptação fisiológica mediada pelo treinamento físico.

A retenção hídrica é um dos efeitos adversos do uso indiscriminado de esteróides androgênicos anabolizantes. Caracterizada pelo acúmulo de água e sais no tecido muscular e

subcutâneo, sendo diversos os mecanismos pelos quais os esteróides androgênicos a causam. Alguns esteróides como a testosterona são aromatizados em estrógenos e esse hormônio estimula a retenção hídrica. O estrógeno, proveniente da aromatização, estimula a secreção de somatotrofina (WEISSBERGER, AJ *et al.* 1993) e conjuntamente com seu derivado IGF-1 provocam a retenção de fluido por mecanismos ainda difusos (IKKOS, D. *et al.* 1954). Demais estudos defendem que os receptores de IGF-1 e de hormônio de crescimento (GH) presentes nos túbulos renais sejam os responsáveis pela retenção ocasionada (CHIN, E. *et al.* 1992), assim como o fato de IGF-1 estimular o transporte renal de sódio (BLAZER & COX, 1988). Todavia, outros autores defendem existir um mecanismo indireto, através da estimulação do sistema renina angiotensina aldosterona pelo GH (MOLLER, J. *et al.* 1997) e por último, existe a possibilidade do GH suprimir a concentração plasmática do peptídeo natriurético atrial (ANP) (MOLLER, J. *et al.* 2000; JOHANSSON, G. *et al.* 2002). Além do estrógeno reduzir a concentração plasmática do hormônio antidiurético (ADH) causando uma diminuição do *set point* de osmolaridade plasmática (AITKEN, JM *et al.* 1974; STACHENFELD, NS *et al.* 1998) e de estimular a síntese hepática de angiotensinogênio (MICHELAKIS, AM *et al.* 1975), aumentando a atividade do SRAA. Além desse mecanismo, os esteróides parecem diminuir o nível de alfa(1B)-adrenoreceptores nos rins (UHLÉN, S. *et al.* 2003). Esses receptores são responsáveis pelo controle neural direto da retenção de sódio, sendo seus agonistas responsáveis pela excreção de Na⁺ e seus antagonistas pela retenção (GOODMAN & GILMAN, 1996). A diminuição do nível dos receptores leva a uma retenção de sódio e de água (UHLÉN, S. *et al.* 2003). Porém, o andrógeno por si só é capaz de estimular a retenção de forma direta por também existirem receptores androgênicos nos rins (WILSON & MCPHAUL, 1996) e através da estimulação da expressão do gene do angiotensinogênio nos rins (ELLISON, KE *et al.* 1989; YANG, G *et al.* 1994). Dessa forma ocorre uma estimulação do sistema SRAA levando a uma retenção de sódio e água por mecanismos parácrinos e autócrinos (INGELFINGER, JR *et al.* 1990). Por último, os andrógenos estimulam a expressão do RNA_m da subunidade alfa e do canal epitelial de sódio presente nas células renais (QUINKLER, M. *et al.* 2004).

Outros estudos indicam que os andrógenos também estimulam o núcleo paraventricular do hipotálamo, que por sua vez influencia no RNA_m parvocelular medial da arginina vasopressina (AVP/ADH), hormônio que é responsável pela retenção de líquidos no organismo (VIAU, V *et al.* 2001). A arginina vasopressina (AVP) também age de forma indireta causando *up-regulate* do SRAA.

O aumento da quantidade de óxido nítrico (NO) provocado pelos esteróides anabolizantes e o seu conseqüente papel na vasodilatação também tem efeito na retenção hídrica (NEUGARTEN, J. *et al.* 1997; FRIEDL, R. *et al.* 2000). A vasodilatação arterial periférica, assim como o baixo débito cardíaco, provocam o desenvolvimento de um quadro onde ocorre diminuição do volume sanguíneo efetivo, que atenua a inibição central normal da atividade do sistema nervoso simpático e a liberação da AVP não osmótica mediada pelos barorreceptores (SCHRIER, RW; 2006). A resultante disso é o aumento da resistência vascular sistêmica, como a forma de compensar a vasodilatação arterial primária e a ativação do eixo neurohumoral resultam em menor entrega de água e sódio aos túbulos renais, onde agem a aldosterona, AVP e o peptídeo natriurético, podendo esse conjunto de ações provocar a retenção hídrica (SCHRIER, RW; 2006).

2.6 Estudo da Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC)

O estudo da VFC é um método que nos permite analisar as flutuações que ocorrem durante períodos curtos ou prolongados (24h), tendo a vantagem de possibilitar uma avaliação não invasiva e seletiva da função autonômica. Este tipo de análise granjeou muita atenção, principalmente pelo estabelecimento da forte e independente relação entre VFC e mortalidade pós infarto agudo do miocárdio (KLEIGER *et al.* 1987; BIGGER, 1992).

As medidas no domínio do tempo são índices obtidos de um registro contínuo de eletrocardiograma (ECG), a partir do qual se determina a dispersão da duração dos intervalos entre complexos QRS normais, isto é, resultantes de despolarização sinusal (Tabela 1). Os vários índices propostos para mensuração da VFC no domínio do tempo podem ser derivados de cálculos aritméticos, estatísticos ou geométricos (histograma R-R).

Tabela 1: Definição dos índices do domínio do tempo da variabilidade da frequência cardíaca

Índices	Unidade	Definição
RR médio	ms	Média de todos os intervalos RR normais
SDNN	ms	Desvio padrão de todos os intervalos RR normais
SDNNi	ms	Média dos desvios padrões dos intervalos RR normais calculados em intervalos de 5 minutos
SDANN	ms	Desvio padrão das médias dos intervalos RR normais calculados em intervalos de 5 minutos
RMSSD	ms	Raiz quadrada da soma das diferenças sucessivas entre intervalos RR normais adjacentes ao quadrado
pNN50	%	Percentual de intervalos RR normais que diferem mais que 50 ms sde seu adjacente

A VFC também pode ser avaliada através das medidas no domínio de frequência. Estas medidas são derivadas da análise da densidade do espectro de potência que descreve a distribuição da densidade (variância) em função da frequência. Em outras palavras, a análise espectral decompõe a variabilidade total da frequência cardíaca em seus componentes causadores, apresentando-os segundo a frequência com que alteram a frequência cardíaca. Independentemente do método utilizado para cálculo da densidade espectral (transformação rápida de Fourier ou modelo auto-regressivo), delimitam-se normalmente quatro faixas de frequências distintas, ilustradas na Figura 4:

1) Alta frequência (AF: 0,15 a 0,40 Hz), modulada pelo sistema nervoso parassimpático e gerado pela respiração (FURLAN *et al.* 1990); 2) baixa frequência (BF: 0,04 a 0,15 Hz), modulada tanto pelo simpático quanto pelo parassimpático (CHESS *et al.* 1975 & SAUL, 1990). Esta, já foi correlacionada ao sistema barorreceptor e termorregulador (KITNEY & ROMPELMAN, 1980) à atividade periférica vasomotora e ao sistema renina-angiotensina (AKSELROD *et al.* 1985 & MALIK, 1993); 3) muita baixa frequência (MBF; 0,01 à 0,04 Hz) tem sido proposta como um marcador da atividade simpática (MALIK, 1993), embora isto ainda não esteja bem definido; 4) ultra baixa frequência (UBF: 10-5 à 10-2 Hz) sua correspondência fisiológica ainda permanece obscura (MALIK, 1993).

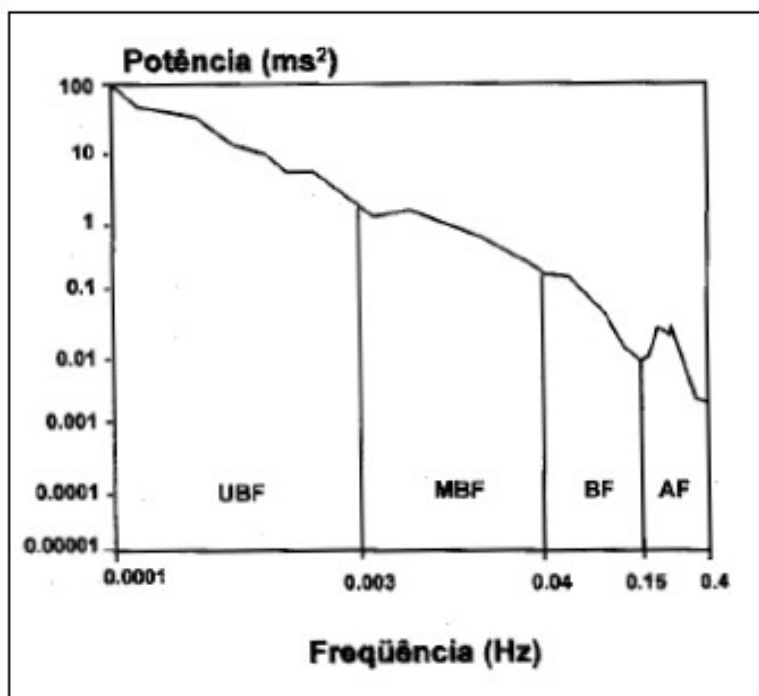


Figura 4. Gráfico representativo das quatro faixas principais que compõem a potência total de uma análise espectral obtida de um Holter 24h. Observar que as faixas UBF e MBF são proporcionalmente maiores que as de AF e BF (Fonte: Dos Reis, 1998; Bastos *et al.* 1998).

Os componentes da BF e AF são medidos em unidades absolutas de potência (milissegundos ao quadrado (ms^2)) ou podem ser representados em valores relativos à potência total menos o componente de MBF, também conhecido como unidade normalizada (UN). A relação da potência de BF para a de AF (BF/AF) pode ser considerada uma medida de equilíbrio simpato-vagal (AKSELROD *et al.* 1985; TIGERSTEDT & BERGMAN, 1988; BUONINCONTI, 1966; SADOWSKA & KOCHANOWSKA, 1966).

A maioria dos trabalhos utiliza as faixas de AF e BF como indicadores de VFC, provavelmente devido ao maior conhecimento de seus componentes autonômicos. Entretanto, os sinais com frequência $< 0,04$ Hz (faixas de MBF e UBF) correspondem à maior parte da densidade espectral (Figura 4).

Como as medidas de VFC no domínio do tempo e de frequência são apenas métodos diferentes de avaliar o mesmo fenômeno, tem sido possível demonstrar uma correlação entre alguns índices dos dois domínios (POULSEN, 1970). Por exemplo, o SDNN, ao avaliar o desvio padrão de todos os intervalos RR do traçado de 24h apresenta uma correspondência com a potência total do espectro de frequência, ou seja, variabilidade total. Por outro lado o pNN50 e o RMSSD, por considerarem diferenças entre intervalos R-R adjacentes, quantificam variações rápidas da FC e, conseqüentemente, correlacionam-se com o componente de alta frequência do espectro de potência. É importante ressaltar que a magnitude dos componentes do espectro de potência reflete a modulação autonômica (maior diferença entre ativação e inibição fisiológica) e não o grau de atividade tônica do sistema nervoso autônomo (média da atividade flutuante que existe entre a ativação e inibição) (MALIK *et al.* 1993). Por exemplo, uma diminuição da densidade do componente de AF, que ocorre durante a mudança da posição de decúbito para a ortostática, significa diminuição da modulação parassimpática com diminuição concomitante da atividade tônica vagal (Figura 4). Por outro lado, em situações onde o sistema parassimpático está estimulado intensa e continuamente, como durante aumentos da pressão arterial com fenilefrina, a frequência cardíaca diminui e pode sofrer menor influência do efeito da respiração e da modulação parassimpática da VFC. Nestas condições, o componente de AF, ou seja, a modulação vagal, diminui em vigência de atividade tônica aumentada (MALIK *et al.* 1993).

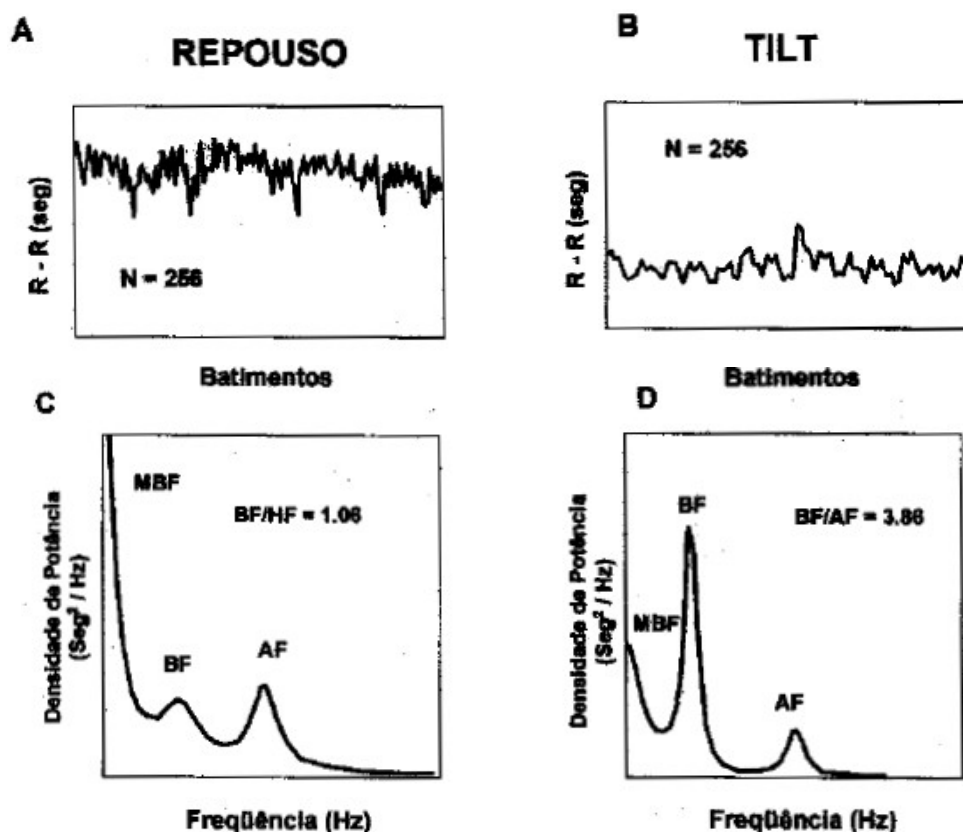


Figura 5 - Exemplo de tacograma (gráficos A e B) e das curvas de análise espectral com suas diferentes faixas de repouso na posição supina e após teste de inclinação (*tilt test*). A análise espectral realizada através do método auto-regressivo de cada situação (repouso e *tilt test*) é apresentada nos gráficos C e D. (Adaptado de: *Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology*, 1996).

Efeitos deletérios dos EAA sobre as células do miocárdio dependem da dose de EAA administrada e da duração da exposição. A toxicidade cardíaca resultante do abuso de EAA inclui um amplo espectro de doenças que vai desde anormalidades lipídicas até a morte súbita (BOWMAN, 1990). Melchert & Welder (1995) propõem quatro mecanismos para explicar a toxicidade cardiovascular dos EAA: aterogênico (anormalidade das lipoproteínas), trombótico (hipercoagulabilidade), vasoespástico (disfunção endotelial e de óxido nítrico) e lesão direta do miocárdio.

A hipertrofia miocárdica ocorre em quase todas as doenças que acometem o coração e é considerado um fenômeno adaptativo às sobrecargas hemodinâmicas. Nesse contexto, a hipertrofia miocárdica tem como substrato histológico o aumento da quantidade de elementos ultra-estruturais das células que resulta da ativação da síntese protéica (WEBER & BRILLA, 1991). É importante ainda salientar que a hipertrofia do ventrículo esquerdo é uma

manifestação fenotípica complexa influenciada por um grande número de fatores ambientais e biológicos como, por exemplo, exercício, idade, sexo e pressão sanguínea (MONTGOMERY, 1997).

Em ratos submetidos a treinamento físico anaeróbio e tratados com nandrolona foram observados aumentos nas concentrações plasmáticas de LDL (lipoproteína de baixa densidade) podendo diminuir o relaxamento dependente do endotélio e a ativação da guanilato ciclase (CUNHA *et al.* 2005), diminuindo, assim, a produção de GMPc e ocasionando um menor relaxamento do músculo liso vascular. Além do uso prolongado de esteróides androgênicos poder estimular a agregação plaquetária (FERENCHICK, 1991) e aumentar a atividade da lipase triglicéridica hepática (HTGL). O aumento na atividade desta enzima pode estar correlacionado com a diminuição nos níveis plasmáticos de HDL (GLAZER, 1991), ou, ainda, com o aumento nas concentrações plasmáticas de LDL como resultado do aumentado catabolismo das VLDL (lipoproteínas de baixíssimas densidades), podendo potencializar a aterosclerose (BALDO-ENZI *et al.* 1990). Esse perfil favorece a aterogênese e, embora sejam mudanças reversíveis, estima-se um aumento do risco cardiovascular de três vezes para as pessoas que utilizam EAA (MELCHERT *et al.* 1995).

Portanto, a facilitação da formação de trombo pelo uso de anabolizantes pode estar associada a aumentos na agregação plaquetária, ou, ainda, a aumentos de fatores pré-coagulantes (SADER *et al.* 2001). Pela presença de inflamações no miocárdio e no pericárdio em ratos tratados com esteróides anabolizantes atribui-se poder ser esta a causa de arritmias fatais que ocorrem em atletas usuários destas substâncias ilícitas (TAKAHASHI *et al.* 2004). A maior rigidez aórtica também já foi demonstrada em atletas que fazem o uso de anabolizantes e podem também contribuir para a morbidade cardiovascular (KASIKCIOGLU *et al.* 2007). Redução na complacência ventricular esquerda (TRIFUNOVIC *et al.* 1995) e alterações no controle reflexo e tônico no sistema cardiovascular também foram demonstradas em animais tratados cronicamente com o esteróide anabólico decanoato de nandrolona e estanozolol, respectivamente, detectando-se a presença de hipertensão arterial, hipertrofia cardíaca e alterações no controle barorreflexo da frequência cardíaca destes animais (BEUTEL *et al.* 2005).

Outros efeitos adversos ao sistema cardiovascular são associados ao uso de esteróides, como: os prejuízos do controle parassimpático e, ainda, uma tendência de super estimulação do sistema nervoso simpático em ratos que receberam administração crônica de nandrolona (PEREIRA-JUNIOR *et al.* 2006). No trabalho de Pereira-Junior *et al.*(2006), os autores não

encontraram nenhuma alteração cardíaca importante pela ecocardiografia no modelo de uso abusivo de EAA e sugeriram que talvez as alterações no balanço simpato-vagal ao coração possa acontecer primariamente aquelas e talvez até precipitá-las.

Em síntese, a hipertrofia cardíaca é controlada de maneira multifatorial e complexa que inclui fatores físico hemodinâmicos, genéticos e neuro-humorais. O estímulo mecânico tem papel central no desenvolvimento da hipertrofia cardíaca e na deterioração estrutural e funcional progressiva que caracteriza o estágio de descompensação (MANN, 1999; RUWHOF *et al.* 2000).

2.7 Atividade Física

Em termos gerais, a atividade física compreende qualquer movimento corporal causado por uma contração muscular que resulte em gasto de energia. Tais como as atividades ocupacionais (trabalho), atividades da vida diária – (AVD) – (vestir-se, banhar-se, alimentar-se), o deslocamento e as atividades realizadas como alternativa de lazer, incluindo o exercício físico, esportes, danças, artes marciais, jogos, etc. Podendo ser classificada em não estruturada (atividades comuns do dia a dia, como caminhar, subir escadas, andar de bicicleta, dançar, cuidar do jardim, ocupações domésticas e atividades ocupacionais laborais) e estruturada (que se entende como exercício físico; atividade física planejada, estruturada e repetitiva que tem por objetivo a melhoria e manutenção de um ou mais componentes da aptidão física) (GUISELINI, 2006). Segundo o Conselho Federal de Educação Física (CREF), o movimento corporal é inerente ao ser humano e quando o mesmo apresenta-se de modo voluntário pode ser considerado como uma atividade física.

O conceito de sedentarismo por não ser científico, apresenta dificuldades para a sua determinação. Devido os critérios para a sua análise não serem semelhantes e os seus valores serem distintos (PALMA, 2009).

2.8 Exercício físico resistido (EFR)

O exercício físico resistido consiste em uma atividade física voltada para o desenvolvimento das funções musculares esqueléticas através da aplicação de sobrecarga que pode ser imposta através de pesos livres (halteres, barras e anilhas), máquinas específicas, elásticos ou o próprio peso corporal (FRONTERA *et al.* 1988).

Os EFR são regidos pelos princípios do treinamento físico e, conseqüentemente, são prescritos em volume e intensidade apropriados aos objetivos pretendidos. Tendo o volume geralmente expresso por número de séries e repetições enquanto a intensidade é representada por um determinado percentual maior da sobrecarga possível a ser superada em uma única repetição - 1 RM – (POLLOCK *et al.* 2000).

Esse modelo animal de EFR reproduz a parâmetros de treinamento e adaptações observadas em indivíduos submetidos a programas de EFR com a mesma intensidade, freqüência e volume obtendo hipertrofia muscular no mesmo período de tempo (Yarasheski *et al.* 1993, Duncan *et al.* 1998). Como observado por Hornberger *et al.* (2003) em que os animais tiveram significativo aumento percentual da sobrecarga transportada na plataforma de EFR (de 383,5g ± 21,9 para 1099,5g ± 53,5 com #P< 0,001, ou seja, aumento máximo de 287% da sobrecarga inicial) e de ganho de peso corporal (258 ± 26%) em 8 semanas de sessões realizadas.

3 OBJETIVOS

Embora, estudos relativos a alterações comportamentais, autonômicas e hidroeletrólítica induzidas por EAA sejam facilmente encontrados na literatura, o mesmo já não se observa quando esses parâmetros são analisados em conjunto (no mesmo estudo) e, ainda mais raros, quando se procura trabalhos que tentam caracterizar alterações tardias, isto é, repercussão na fase adulta do uso abusivo de EAA na adolescência (no caso dos modelos, a administração na fase juvenil dos animais). Portanto, para se avaliar nesse modelo de estudo os impactos de efeitos precoces e tardios induzidos por anabolizantes, foram empregados uma série de protocolos experimentais.

Além da caracterização das alterações comportamentais, da variabilidade da freqüência cardíaca e do equilíbrio hidroeletrólítico na fase adulta de ratos machos tratados com EAA na fase juvenil, foi adicionado um grupo de ratos que praticou exercício físico resistido concomitantemente à administração de EAA para se avaliar a influência do exercício na diminuição ou controle dessas possíveis alterações. Por fim, também se deu ênfase à

relação inversa entre EAA e exercício, i.e., avaliou-se a interferência do uso de EAA nas alterações fisiológicas induzidas pelo exercício.

3.1 Objetivos gerais:

Este estudo foi conduzido com o objetivo central de observar a relação bidirecional entre o exercício físico resistido e o EAA, por meio da investigação das alterações comportamentais, hidroeletrólíticas e autonômicas observadas na fase adulta de ratos tratados com EAA na fase adolescente.

3.2 Objetivos específicos:

Investigar as alterações comportamentais na fase adulta ocasionadas pela administração de esteróides anabolizantes na adolescência de ratos.

Estudar as possíveis modificações no padrão ingestivo de água e salina hipertônica na fase adulta induzidas pela administração de esteróides anabolizantes na adolescência de ratos.

Avaliar possíveis alterações no balanço simpato-vagal cardíaco na fase adulta jovem induzida pela administração de esteróides anabolizantes na adolescência de ratos.

Estudar o papel do exercício físico resistido nas alterações comportamentais, hidroeletrólíticas e autonômicas induzidas pela administração suprafisiológica de EAA.

Observar possíveis influências de doses suprafisiológicas de EAA nas alterações fisiológicas induzidas pelo exercício

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais

Utilizamos 40 ratos *Wistar* pesando aproximadamente 130 gramas e 10 casais de residentes, sendo todos procedentes do Biotério do Departamento de Ciências Fisiológicas da UFRRJ. Todos os animais permaneceram mantidos em salas com temperaturas ideais e controladas (a 23°C), com exposição de 12 horas diárias de ciclo claro-escuro sendo a iluminação acionada a partir das 6 horas da manhã até as 6 horas da noite e mais água e ração *ad libitum*. Os animais foram divididos aleatoriamente nos seguintes grupos: tratados com propionato de testosterona (Grupo PT) na dose de 5mg/kg/dia (i.m.) ou veículo (óleo de milho) no mesmo volume e via de administração (Grupo Controle, CTR) por 5 semanas ininterruptas. Ambos os grupos foram subdivididos em sedentários (PTsed ou CTRsed) e fisicamente ativos (PTexe ou CTRexe).

O projeto de pesquisa foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CEPBE/IB/UFRRJ-014/2008), e seguiu as normas propostas pelo *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* publicado pelo Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos.

4.1.1 Residentes

Animais mais velhos e pesados, inicialmente com aproximadamente 450 gramas (n =10) foram utilizados no conflito social com os intrusos e permaneceram ao longo de todo experimento alojados com fêmeas ovariectomizadas, exceto durante o teste de agressividade, quando ficavam em contato com os intrusos. Os residentes em companhia das fêmeas ovariectomizadas foram alojados em caixas de plástico (35 cm x 50 cm x 35 cm), com o objetivo de estimular a agressividade territorial além de terem recebido, por quatro semanas consecutivas, treinamentos (5 vezes por semana) com outros animais *sparrings* (com menor peso e idade, i.e, aproximadamente 200 gramas e 50 dias de idade) durante 10 minutos diários e com rodízio semanal dos seus respectivos oponentes.

4.1.2 Ratos *Wistar* fêmeas

As fêmeas inicialmente com aproximadamente 250 gramas (n = 10) não utilizadas no conflito social, permaneceram ao longo do experimento alojadas com os machos residentes, com o objetivo de estimular a agressividade territorial. As fêmeas eram retiradas da caixa imediatamente antes da interação entre os machos residentes e intrusos.

4.2 Administração de Propionato de Testosterona (PT)

O hormônio propionato de testosterona, Perinon®, do laboratório Perini (frasco ampola com 100 ml, contendo 1 g de propionato de testosterona e óleo de milho q.s.p. 100 ml) foi administrado na mesma proporção de dose (CUNNINGHAM & MCGINNIS, 2008) em que é administrada em seres humanos. A administração do medicamento ocorreu por cinco vezes semanais, entre 10h: 00min às 11h: 00min da manhã, na dose 5mg/Kg de peso corporal por dia, via intramuscular, no músculo glúteo médio de forma alternada totalizando 25 aplicações durante todo o tratamento.

4.3 Modelo Experimental em animais de Exercício Físico Resistido (EFR)

A duração dos protocolos de treinamento de força em modelos experimentais não tem uma única sistematização e a literatura sugere que a duração dos programas de treinamento possa variar de 5 a 16 semanas. Os EFR são regidos pelos princípios do treinamento, sendo prescritos em volume, intensidade e frequência apropriados aos objetivos pretendidos a serem alcançados.

Estabelecemos aos animais, a duração de cinco semanas ao programa de exercício (5 vezes por semana) assim que eles encerraram a adaptação prévia ao protocolo de treinamento e do equipamento (especificado adiante) por 5 dias consecutivos.

A sobrecarga imposta aos ratos é estabelecida a partir da proposta por Heyward (1998):

$\text{Sobrecarga/peso corporal} = \text{coeficiente de adaptação para os modelos experimentais ou Peso corporal} \times \text{coeficiente de adaptação} = \text{sobrecarga a ser utilizada.}$
--

Sendo o aumento da sobrecarga fator importante no ganho de peso corporal dos animais treinados, estes foram pesados semanalmente para posterior reajuste da sobrecarga utilizada. Caso o peso corporal dos animais diminuísse em comparação a semana anterior, a sobrecarga maior entre essas semanas era mantida devido ao fato dos animais já estarem adaptados a mesma. A sobrecarga foi empregada por pesos de chumbo de oliva presos à cauda dos animais por um mosquete. De acordo com o princípio da sobrecarga, a cada semana aumentamos em 10% as suas referências. Iniciamos o protocolo com 70% de sobrecarga correspondente ao peso corporal do animal a ser treinado e a encerramos com 110% de referência.

O equipamento utilizado para a realização do programa de treinamento consistiu em uma escada toda confeccionada em madeira. Com a sua altura correspondente a 110 cm e os degraus com 80° de inclinação. O topo da plataforma continha uma caixa de madeira para a acomodação dos animais no intervalo de descanso entre as séries (DUNCAN *et al.* 1998).



Figura 6: A plataforma utilizada para o treinamento de força com ratos, escada de madeira com a altura da escada de 110 cm e com inclinação de 80° (DUNCAN *et al.* 1998).

O objetivo do treinamento era propiciar a escalada dos ratos na plataforma de exercício, com sobrecarga presa em suas caudas, a fim de alcançarem no seu topo a área de descanso por seis vezes consecutivas, mas, tendo entre as repetições o intervalo de 45 segundos. Os animais dos grupos controles também tiveram de escalar a escada, mas, somente uma única vez por dia e sem sobrecarga adicionada a eles para que tivessem as condições de estresse similares aos ratos treinados.

4.4 Avaliações Comportamentais

4.4.1 Teste de Agressividade (TA)

O teste de agressividade consiste em pôr os ratos intrusos e residentes sozinhos durante 10 minutos em uma caixa de polipropileno limpa, sem a disponibilidade de água e ração, fechada com uma tampa alta, transparente e acrílica. Observando na duração do teste, a

agressividade do rato intruso, através de um escore em que se contabiliza pontuação cada vez que o rato executar uma destas seguintes situações: ameaça de ataque, ataques por mordidas, por chutes laterais ou por pugilismo, pressão pélvica ou posição de dominância (submissão). O teste foi realizado no início da última semana do ciclo de propionato de testosterona e do programa de exercício físico resistido. Sendo filmado para depois ser feita a sua análise individual (CUNNINGHAM & MCGINNIS, 2008).

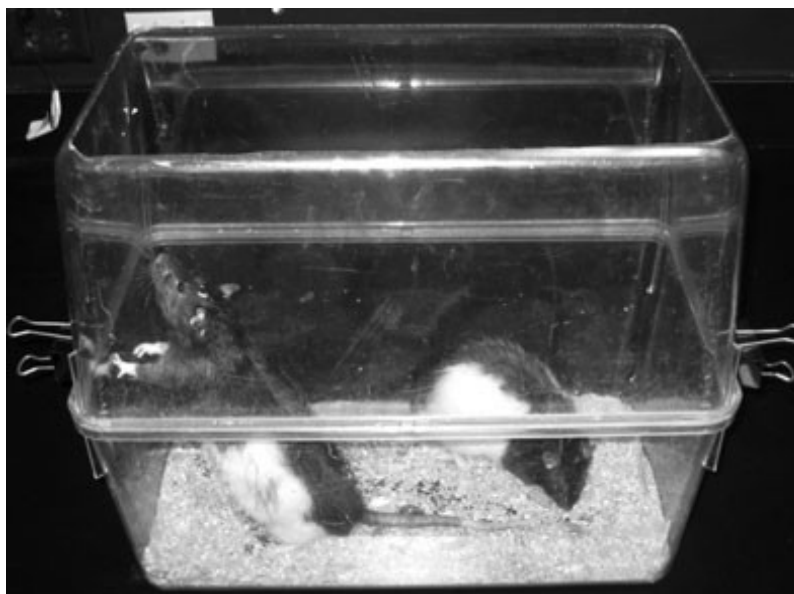


Figura 7: Teste de Agressividade residente vs. Intruso. Figura Adaptada de Cunningham & Mcginnis (2008). Note que uma caixa sem fundo foi fixada na caixa do residente para permitir interações completas entre os ratos.

4.4.2 Teste do Campo Aberto (CA)

Segundo Nahas (1999), o Teste do Campo Aberto foi descrito originalmente por Hall em 1941 para testar os efeitos de ambientes não familiares sobre as reações emocionais de ratos, isto é, ambientes estranhos que eliciam reações naturais de medo nestes animais. Uma das aplicabilidades freqüente do teste tem sido avaliar a propriedade ansiolítica de drogas injetadas no animal. Mais, recentemente, porém, o teste tem se prestado também para fazer estudos de fenômenos cognitivos em animais, como: representação interna, mapeamento cognitivo, memória espacial e aprendizagem, ou, ainda, o efeito da aprendizagem na mediação das suas respostas emocionais de medo. Segundo Nahas (1999), mudanças no aparelho e nos procedimentos do Teste do Campo Aberto vêm permitindo (1) especificar a natureza das alterações ambientais que são detectadas pelos animais, (2) investigar as

propriedades de seus sistemas de memória e (3) avaliar sob que condições é possível induzir a atividade exploratória; ou seja, vem permitindo avaliar as habilidades cognitivas em animais. Como os organismos tendem a se adaptar aos novos ambientes, gradualmente, as respostas de medo do animal só podem ser observadas antes que a adaptação aconteça por isso às sessões são breves, de 10 minutos. Segundo Nahas (1999), não mais que quatro sessões de exposições do mesmo animal a este ambiente. Os comportamentos observados em cada sessão são as taxas de ambulação e/ou permanência nos círculos (periféricos e centrais), a taxa de excreção de fezes e urina. A elevação da taxa de ambulação, a exploração de setores mais centrais e a diminuição da frequência de fezes e urina tendem a indicar uma condição de menor resposta emocional de medo

Para avaliação da atividade exploratória dos animais utilizamos um campo aberto quadrangular (100 x 100 x 30 cm), dividido em 25 quadrantes iguais. O ensaio experimental foi realizado em uma sala escura com luz vermelha. No início do teste, cada animal é individualmente colocado no centro do campo aberto, sendo contabilizados: a atividade locomotora (número de vezes em que o animal invade com as quatro patas um dos campos da arena): contabilizado como o número total de quadrados percorridos ou atravessados; *rearing* (animal apoiado nas patas posteriores, com o tronco perpendicular ao piso, tendo a cabeça dirigida para cima e tocando ou não, com as patas anteriores, as paredes do campo aberto); tempo de imobilidade (o tempo gasto imóvel): contabilizado como tempo total sem movimentação; episódios de *grooming* (número de execuções de movimentos com as patas anteriores e posteriores em direção à boca ou à cabeça, podendo haver continuidade destes em direção aos pavilhões auriculares e/ou movimento de lambar dirigidos principalmente às porções laterais do corpo e à região genital) contabilizado como o número total de *groomings* e o tempo de “*grooming*” (tempo utilizado para a realização das atividades de *grooming*) contabilizado como tempo total gasto para realizar o *grooming*.

Sendo a arena limpa por uma solução etanólica de 5% entre cada teste e durante o tempo do teste, a atividade locomotora foi gravada e elementos da atividade exploratória pontuadas pela observação e contados *off-line*.



Figura 8: Teste de Campo Aberto realizado em um rato na sala de comportamento do DCF/UFRRJ. Note que o animal é colocado inicialmente no centro do CA no início do experimento.

4.4.3 Teste do Labirinto em Cruz Elevado (LCE)

Para avaliação de aspectos relacionados à ansiedade dos animais foi realizado o labirinto em cruz elevado (LCE) validado por Pellow *et al.* (1985) e que se constitui em teste para a medida de categorias comportamentais que refletem o conflito resultante da tendência dos animais de explorar ambientes desconhecidos e evitar situações potencialmente perigosas.

O aparelho consiste de dois braços abertos opostos (50 x 10 x 40 cm) e dois fechados (50 x 10 x 1 cm), também opostos, em forma de cruz grega, conectados por uma plataforma central (10 x 10 cm) e elevado a 45 cm do nível do chão (PELLOW *et al.* 1985; RODGERS *et al.* 1997). O teste foi conduzido sob luz vermelha (85 lux), em ambiente de penumbra. Os animais são colocados no centro do aparelho com a cabeça voltada para um dos braços fechados e o seu comportamento observado por 5 minutos. São avaliados os seguintes parâmetros: número de entradas no braço aberto, tempo nos braços abertos, número de entradas nos braços fechados, tempo no braço fechado, assim como os parâmetros etológicos: número de levantamentos e auto-limpezas (PRICKAERTS *et al.* 1996).

Uma alteração nos parâmetros relativos aos braços (frequência de entradas e o tempo gasto em cada tipo de braço) é indicativa de parâmetros relacionados à ansiedade. Foi quantificado também no labirinto medidas de avaliação etológica como o número de *rearings*, utilizado na avaliação da atividade exploratória (RODGERS & COLE, 1993).

Aumento seletivo nos parâmetros correspondentes aos braços abertos (entrada e tempo) revela um efeito ansiolítico, e o inverso é verdade. O número de entradas no braço

fechado avalia a atividade motora dos animais. Este teste é considerado um excelente modelo de avaliação do *status* de ansiedade (RODGERS *et al.* 1999). Além disso, durante este teste é possível avaliar aspectos que envolvem emocionalidade e a tomada de decisão dos animais que está diretamente relacionado com o status de ansiedade.

Treit, Menard & Royan (1993) sugeriram que os espaços abertos, mais do que a altura ou a novidade, são os principais estímulos ansiogênicos presentes no teste do LCE. Segundo esses autores, roedores preferem os braços fechados do labirinto devido à possibilidade de realizarem o comportamento de tigmotaxia.

Além de detectar efeitos de drogas ansiolíticas e ansiogênicas, o LCE tem se mostrado bastante válido no entendimento das bases biológicas das emoções e tem também contribuído para a compreensão dos mecanismos associados à aprendizagem e memória, dependência e abstinência a drogas de abuso e vários subtipos de transtornos de ansiedade, como ansiedade generalizada, fobia e estresse pós-traumático (GRAEFF, 2001; RASMUSSEN *et al.* 2001; BANNERMAN *et al.* 2004; BERTOGLIO, 2005). Sua ampla utilização é derivada do resultado da eficiência e facilidade do uso desse teste, que decorre do fato de ser um procedimento simples e rápido, baseado no comportamento espontâneo do animal e de não necessitar de treinamento, utilização de estímulos nociceptivos e privação de água ou alimento (PELLOW *et al.* 1985; RODGERS *et al.* 1997).



Figura 9: Teste do LCE realizado em um rato na sala de comportamento do DCF/UFRRJ. Note que o animal inicialmente é colocado no centro do LCE no início do experimento e seguidamente promove um *rearing*, i.e. , ao erguer-se apoia-se no braço fechado do LCE.

4.5 Regulação Hidroeletrólítica

4.5.1 Aferição da ingestão de água e sódio

A aferição da ingestão de água e sódio (após oferta de NaCl, 1,8%) foi realizada em gaiolas metabólicas dotadas de bebedouros volumétricos. A salina hipertônica é normalmente aversiva ao paladar de ratos bem como para os seres humanos. A ingestão de salina por ratos apenas ocorre quando se manifesta um déficit na concentração de Na⁺ e no volume dos líquidos corporais. A ingestão de fluidos é expressa em ml/animal por períodos variáveis, em minutos, de acordo com o protocolo experimental (60, 120, 180, 240, 300, 330 minutos).

4.5.2 Depleção de sódio

A depleção de sódio foi realizada através da administração de furosemida na dose de 20mg/kg, mais associação de dieta pobre sem sódio (fubá) 24 horas antes do experimento (avaliação da resposta ingestiva). Devido ao seu potente efeito natriurético/diurético, a furosemida é amplamente utilizada (por administração s.c.) como modelo clássico de indução de hiponatremia e hipovolemia em ratos, objetivando induzir a avidez por sal, isto é, o apetite ao sódio (FITZSIMONS, 1998, BADAUÊ-PASSOS *et al.* 2003, OLIVARES *et al.* 2003, CAVALCANTE-LIMA *et al.* 2005 & REIS, 2007).

4.5.3 Protocolo Furosemida sem acesso a água

Os procedimentos foram basicamente os mesmos do anterior (depleção de sódio), exceto que após a administração de furosemida, os animais foram privados de água 24 horas antes do experimento. Os animais foram colocados nas gaiolas metabólicas e receberam bebedouros graduados contendo água e salina hipertônica 1,8% para mensuração da ingestão por um período de até 330 minutos.

4.6. Protocolo do Estudo Cardiovascular

4.6.1 Avaliação eletrocardiográfica

Realizou-se o eletrocardiograma (ECG) nos animais de cada um dos grupos tratados. Vinte e quatro horas antes da avaliação, os animais foram imobilizados e tricotomizados em toda a extensão torácica, sendo acoplado, a cada hemitórax, um eletrodo de espuma (3M do Brasil Ltda, Sumaré-SP, Brasil) de aproximadamente 1,5 centímetros de diâmetro. Momentos antes do registro foram conectados ao sistema de aquisição eletrocardiográfico do Departamento de Ciências Fisiológicas da UFRRJ (Amplificador 3A9, Interface TEKTRONIX / Tl-2, Axon instruments), para registro do ECG. Os sinais foram adquiridos com a frequência de 10 k-hertz e amplitude com resolução de 12 bits e, para visualização e análise dos registros, foi utilizado o software AcqKnowledge® (versão 3.8.1).

Todos os animais foram rigorosamente avaliados no mesmo período do dia e em posição semelhante, para obter orientação coerente e magnitude dos vetores cardíacos.

4.6.2 Análise Espectral

Inicialmente, os animais foram submetidos ao mesmo protocolo descrito no item 4.6.1. Neste protocolo, os registros eletrocardiográficos foram de 600 segundos.

Todo o processamento dos sinais da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) foi feito utilizando algoritmos baseados em Matlab (Pereira-Júnior *et al*, 2006) do *software Cardioseries* (Versão1.1). Após a detecção de pico da onda R, foram gerados tacogramas de 600 segundos, contando todas as flutuações cardíacas dentro deste período de tempo (Pereira-Júnior *et al*, 2006). No domínio do tempo, os índices obtidos foram os seguintes: média do

intervalo RR, desvio padrão dos intervalos RR, raiz quadrada das diferenças da média quadrada dos intervalos sucessivos RR (Pereira-Júnior *et al*, 2006; Aubert *et al*, 1999). Para análise espectral da VFC (domínio da frequência), os tacogramas foram redimensionados para intervalos iguais, pelo método de interpolação cúbica, a 10 Hz, e a tendência linear foi removida (Pereira-Júnior *et al*, 2006; Aubert *et al*, 1999). O espectro de potência foi obtido com uma decomposição rápida baseada no método de Fourier (periodograma de Welch: 256 pontos, 50% de sobreposição, e janela Hamming). Duas faixas de frequência foram determinadas: baixa frequência (LF: 0,2-0,8 Hz), e alta frequência (HF: 0,8-2,5 Hz) e a potência (ms^2) foi estimada como a área sob o espectro dentro dessas amplitudes de frequência (Pereira-Júnior *et al*, 2006; Aubert *et al*, 1999).

4.7 Estudo da percentagem de ganho de peso corporal

O monitoramento do peso corporal dos animais foi realizado semanalmente tendo os animais o seu peso corpóreo aferido com a utilização de uma balança (*eletronic Kitchen scale* – SF-400) na qual eles eram pesados semanalmente no primeiro dia da semana experimental entre as 08h: 00min e 10h: 00min da manhã. O ganho de peso corporal foi calculado como a média da porcentagem de ganho de peso em relação ao basal (antes do experimento) em cada medida (semana).

4.8 Análise *post-mortem*

4.8.1 Peso relativo dos órgãos

Os animais foram submetidos à eutanásia na semana seguinte ao término do protocolo de EFR e da administração de propionato de testosterona. Em seguida, obtivemos o peso absoluto e relativo (normalizado pelo peso corporal dos mesmos em gramas) do coração dos ratos (em miligramas). Desta forma tivemos uma medida indireta da hipertrofia cardíaca (SJAASTAD *et al*. 2000; MIRCOLI *et al*. 2002). Já o índice gonadossomático calculou-se a partir do peso médio dos dois testículos dividido pelo peso corporal (PORTES *et al*. 2006). Isto nos permitiu analisar a atrofia testicular em razão da administração de esteróides anabolizantes androgênicos, o que sugere sucesso na administração do EAA (YESALIS & BAHKKE, 1995). A fim de obter maior aproveitamento dos tratamentos dos animais para fornecer dados adicionais sobre este tipo de exposição, realizou-se também a retirada dos rins,

pulmões, fígado, glândula adrenal, ducto deferente e epidídimo para avaliação dos pesos úmidos.

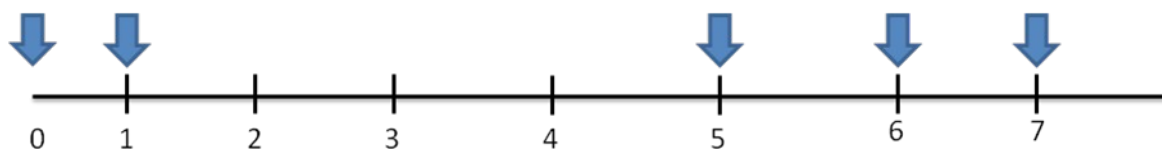
4.9 Análise Estatística

Os dados foram apresentados como média \pm SEM (erro padrão da média) e para verificar a diferença entre os grupos usamos a análise de variância univariada (ANOVA) ou bivariada, dependendo do teste seguidamente o teste de comparação múltipla de *Bonferroni* quando indicado. Em todos os testes, o grau mínimo de significância fora de 95% ($P < 0,05$) ou de 99% ($P < 0,01$) e os cálculos realizados no computador pelo programa *GraphPad Prism*® (versão 4, *GraphPad software, Inc., San Diego, USA*).

5 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

O experimento apresentou a seguinte ordem cronológica:

Os animais (na fase adolescente, com 40 dias de idade e pesando aproximadamente 130 gramas) foram divididos em quatro grupos: animais sedentários tratados com veículo (CTRsed), animais sedentários tratados com testosterona (PTsed), animais submetidos ao exercício e tratados com veículo (CTRexe) e os animais submetidos ao exercício e tratados com testosterona (PTexe). Após as definições dos grupos por escolha aleatória dos seus integrantes, esses permaneceram por 72 horas em período de adaptação ao biotério de experimentação. Em seguida passaram por uma semana de adaptação sem sobrecarga ao equipamento do modelo de exercício físico resistido e nas cinco semanas seguintes foram submetidos à administração de propionato de testosterona ou veículo e realizaram ou não o exercício físico resistido. Além disso, os animais realizaram no começo da 5ª semana, o teste de agressividade com a interação entre ratos adultos residentes. Ao término da última semana, os ratos foram submetidos aos testes do campo aberto e também ao teste do labirinto em cruz elevado e do ECG. Após 24 horas do último protocolo aplicado os animais foram submetidos a eutanásia para estudo *post-mortem*. A Figura 10 ilustra o protocolo experimental utilizado neste estudo.



Semana 0 _ Início do experimento com a adaptação do programa de EFR

Semana 1 _ Início do programa de EFR com sobrecarga correspondente e o começo do ciclo de EAA

Semana 5 _ Teste de Agressividade e penúltima semana do EFR e da administração de EAA

Semana 6 _ Término do EFR e do ciclo de propionato de testosterona e os últimos testes comportamentais

Semana 7 _ Testes de regulação hidroeletrólítica, tacograma e eutanásia dos animais

Figura 10: Protocolo Experimental. Escala temporal, em semanas, do estudo

6 RESULTADOS

6.1 Peso corporal dos animais

A Figura 11 mostra o peso corporal dos animais tratados com propionato de testosterona (PT) ou veículo e que realizaram exercício físico resistido ou não. Observa-se na semana basal que não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre o peso corporal dos animais dos grupos sedentários ($123,8 \pm 4,630$ versus $129,4 \pm 4,75$, sendo CTRsed vs. PTsed respectivamente) e o mesmo para os animais do grupo fisicamente ativos ($138,4 \pm 5,377$ versus $120,4 \pm 3,354$, sendo grupo controle versus grupo tratado, respectivamente) estendendo-se a ausência de diferença significativa até a última semana de estudo entre o peso corporal dos animais sedentários ($248,0 \pm 7,337$ versus $233,0 \pm 8,279$ sendo grupo controle versus grupo tratado, respectivamente) e conseguinte para os animais fisicamente ativos ($259,1 \pm 6,997$ versus $228,7 \pm 4,835$ sendo grupo controle versus grupo tratado, respectivamente).

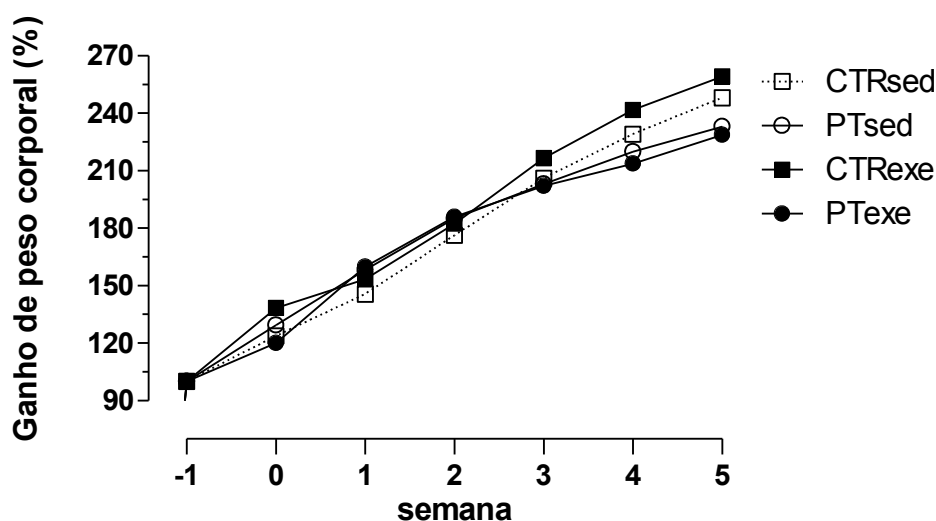


Figura 11: Delta do ganho de peso corporal dos diferentes grupos tratados com propionato de testosterona e o seu respectivo veículo. Os dados estão representados em média \pm SEM.

6.2 Testes comportamentais

6.2.1 Teste de Agressividade dos animais

A Figura 12 mostra os resultados dos testes de agressividade obtidos em todos os animais. Como observado, houve aumento significativo tanto nos ataques (colocar valores dos dois primeiro grupos, $P < 0,01$) como nas ameaças (colocar valores dos dois primeiro grupos, $P < 0,01$) no grupo PTsed vs. CTRsed respectivamente. Além disso, o exercício evitou o aumento desses parâmetros, uma vez que tanto os ataques ($4,8 \pm 1,6$; $1,66 \pm 1,30$, $P < 0,05$) como as ameaças ($3,4 \pm 1,1$; $2,11 \pm 0,93$, $P < 0,05$) foram reduzidos significativamente no grupo PTexe vs. PTsed respectivamente. Quanto aos outros parâmetros do teste (pressão pélvica e submissão) não houve diferença significativa entre os grupos ($P > 0,05$).

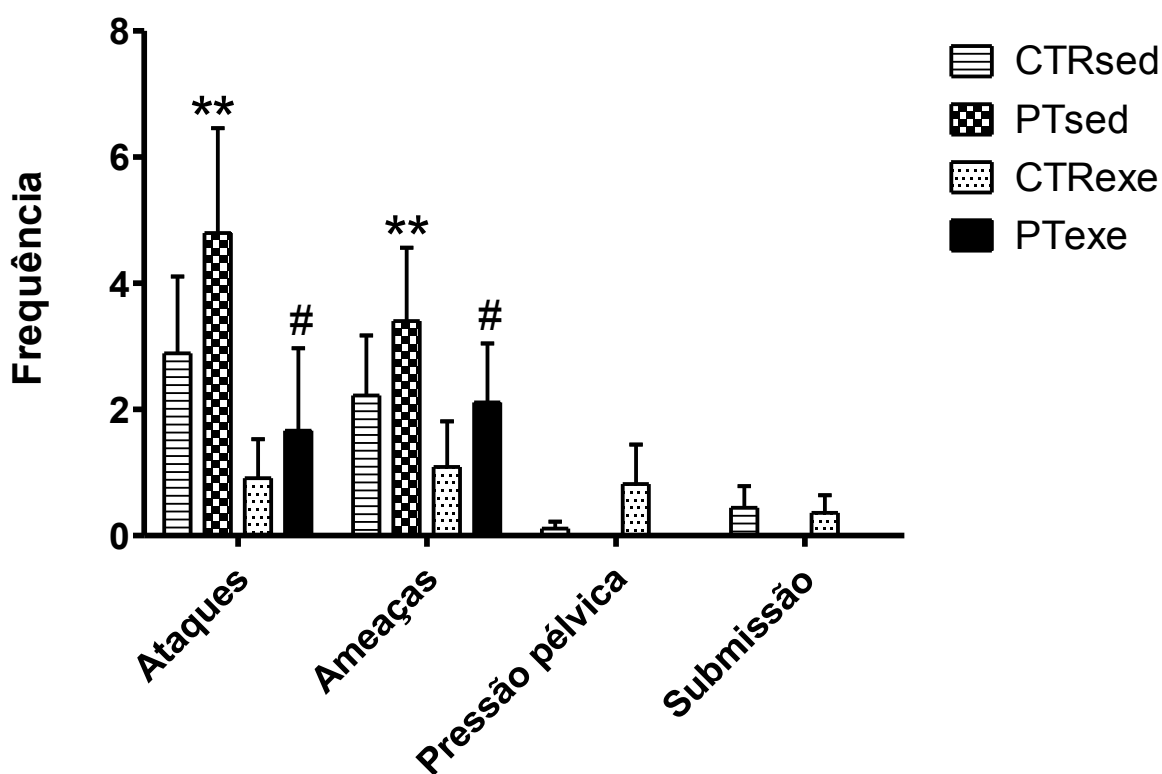


Figura 12: Médias das frequências agressivas dos animais dos diferentes grupos tratados com propionato de testosterona e o seu respectivo veículo. Os dados estão representados em média \pm SEM * $P < 0,05$, vs CTRsed e # $P < 0,01$ vs. PTsed.

6.2.2 Campo Aberto

6.2.2.1 Quadrados percorridos

A atividade locomotora foi avaliada utilizando como parâmetro o número de quadrados percorridos pelos animais. A figura 13 mostra que o grupo tratado com EAA

(PTsed) apresentou aumento significativo em relação ao seu controle ($166,0 \pm 17,5$ versus $185,6 \pm 12,4$ CTRsed e PTsed respectivamente) durante os 5 minutos em que foram expostos ao teste do campo aberto. Embora não tenhamos observado diferença entre os grupos CTRsed e CTRexe, houve diminuição neste parâmetro no grupo PTexe comparado tanto ao grupo PTsed como ao CTRexe ($141,00 \pm 8,51$ versus $185,60 \pm 12,46$ e versus $164,18 \pm 13,26$, $P < 0,01$), sugerindo que o exercício físico tenha revertido o efeito do EAA.

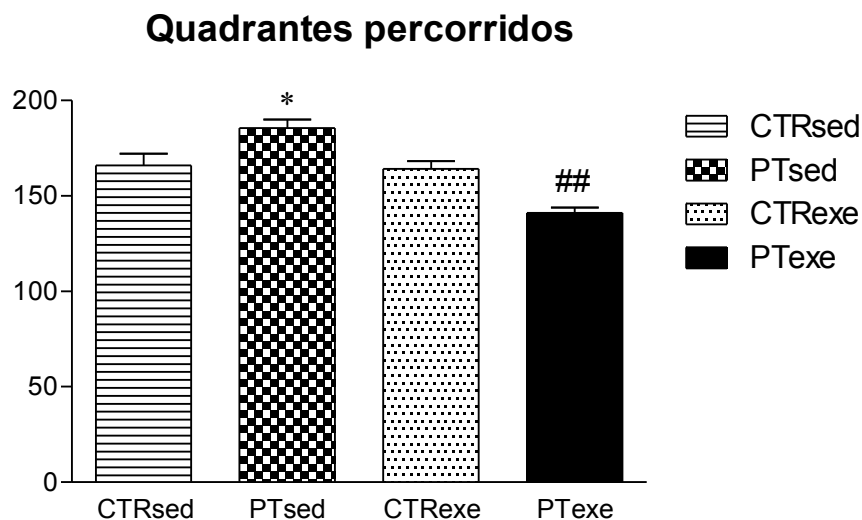


Figura 13: Quadrantes percorridos. Os dados estão representados em média \pm SEM * $P < 0,05$, vs CTRsed e # $P < 0,01$ vs. PTsed.

6.2.2.2 Número de *rearings*

Mais um parâmetro para avaliação da atividade exploratória é o número de *rearings* (exploração vertical) realizados pelos animais. A figura 14 mostra resultados similares aos do número de quadrantes percorridos. O grupo sedentário tratado (PTsed) diferiu significativamente do grupo controle (CTRsed), quanto ao número de atividades de *rearings*, durante os 5 minutos em que foram expostos ao teste do campo aberto, (sedentário $42,2 \pm 3,53$ versus $48,5 \pm 1,73$ *rearings* e fisicamente ativo $40,8 \pm 3,93$ versus $42,8 \pm 2,19$ *rearings* sendo, respectivamente, grupo controle versus grupo tratado). Mais uma vez, o grupo PTexe exibiu diminuição significativa neste parâmetro comparado ao PTsed ($42,87 \pm 2,19$ versus $48,50 \pm 1,73$) o que corrobora o efeito contrário (reversão) do exercício sobre as alterações comportamentais induzidas pelo EAA.

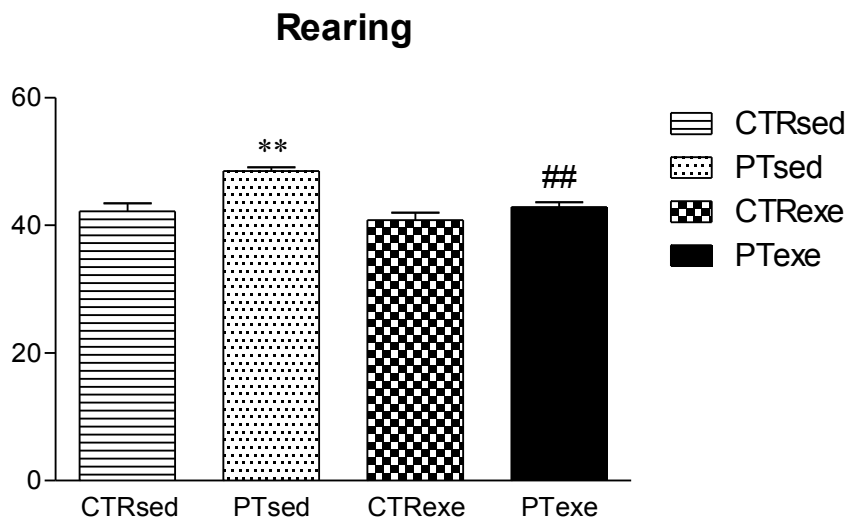


Figura 14: Rearing. Os dados estão representados em média \pm SEM *P < 0,05, vs CTRsed e #P < 0,01 vs. PTsed.

6.2.2.3 Tempo de inatividade

O tempo de inatividade pode ser também relacionado à atividade exploratória. A figura 15 mostra que apenas o grupo sedentário tratado diferiu significativamente do grupo controle, quanto ao tempo de inatividade, durante os 5 minutos em que foram expostos ao teste do campo aberto, (sedentário $30,8 \pm 6,75$ versus $19,4 \pm 4,47$ segundos e fisicamente ativo $33,4 \pm 10,2$ versus $25,3 \pm 5,52$ segundos sendo, respectivamente, grupo controle versus grupo tratado). Este resultado também corrobora os dos quadrados percorridos e do *rearing* apresentados anteriormente, i.e., enquanto o tratamento com EAA aumenta a atividade motora e exploratória e diminui a imobilidade, o exercício parece ter efeito contra-regulatório a essas alterações induzidas pela testosterona.

Tempo de Inatividade

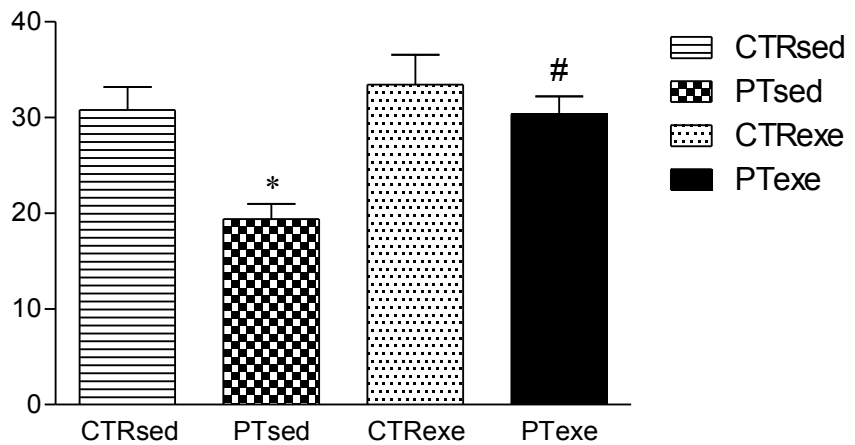


Figura 15: Tempo de inatividade dos animais. Os dados estão representados em média \pm SEM * $P < 0,05$, vs CTRsed e # $P < 0,01$ vs. PTsed.

6.2.2.4 Quantidade de bolos fecais

A quantidade de bolos fecais pode ser relacionada à ansiedade dos animais. A figura 16 mostra que o grupo sedentário tratado foi o único que diferiu significativamente do grupo controle, quanto ao número de bolos fecais, durante os 5 minutos em que foram expostos ao teste do campo aberto, (sedentário $3,6 \pm 0,61$ versus $4,9 \pm 1,12$ bolos fecais e fisicamente ativo $2,45 \pm 0,62$ versus $2,25 \pm 0,94$ bolos fecais sendo, respectivamente, grupo controle versus grupo tratado). Assim como nos testes de avaliação da atividade locomotora/exploratória, a quantidade de bolo fecal emitido, que pode estar relacionada a ansiedade, aumentou com o tratamento com EAA mas foi bloqueada no grupo também tratado com EAA mas ativo fisicamente ($2,25 \pm 0,94$ versus $4,90 \pm 1,12$, $P < 0,01$).

Outro dado a ser mencionado que tanto na frequência quanto na duração do *grooming* não houve diferença significativa entre os grupos experimentais ($P > 0,05$).

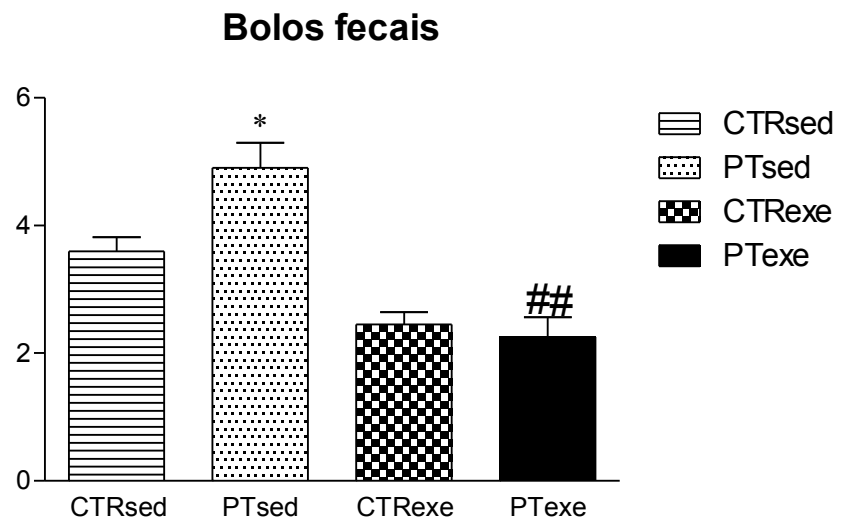


Figura 16: Bolos fecais. Os dados estão representados em média \pm SEM * $P < 0,05$, vs CTRsed e # $P < 0,01$ vs. PTsed.

6.2.3 Labirinto em cruz elevado

6.2.3.1 Número de entradas nos braços fechados

O número de entradas nos braços fechados do LCE pode ser utilizado como medida para atividade exploratória dos animais. Na figura 17 pode-se visualizar que, assim como no campo aberto, os animais do grupo PTsed apresentou aumento no número de entradas nos braços fechados durante 5 minutos, em relação ao seu grupo controle, CTRsed, ($18,30 \pm 2,19$ vs. $13,75 \pm 1,17$). No grupo ativo fisicamente, também assim como no campo aberto, o EAA não manteve o aumento da atividade exploratória no grupo ativo fisicamente e os valores de entradas nos braços fechados foram significativamente menores no grupo PTexe comparados aos apresentados pelo PTsed ($10,55 \pm 2,17$ vs. $18,30 \pm 2,19$ respectivamente, $P < 0,01$).

Frequências de entradas nos braços fechados

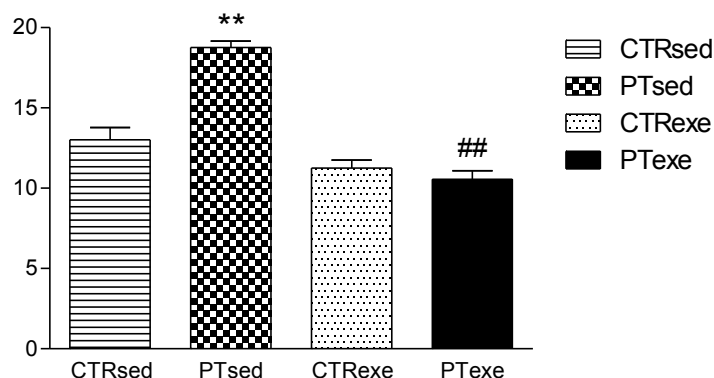


Figura 17: Frequências de entradas nos braços fechados. Os dados estão representados em média \pm SEM *P < 0,05, vs CTRsed e #P < 0,01 vs. PTsed.

6.2.3.2 Tempo de permanência nos braços fechados

Na figura 18 pode-se visualizar que os animais do grupo tratado não diferem significativamente no tempo gasto nos braços fechados em comparação ao grupo controle (sedentário $245,50 \pm 20,42$ versus $233,62 \pm 19,18$ segundos e fisicamente ativo ($234,37 \pm 16,13$ versus $242,11 \pm 15,12$ segundos sendo, respectivamente, grupo controle versus grupo tratado).

Tempo de permanência nos braços fechados

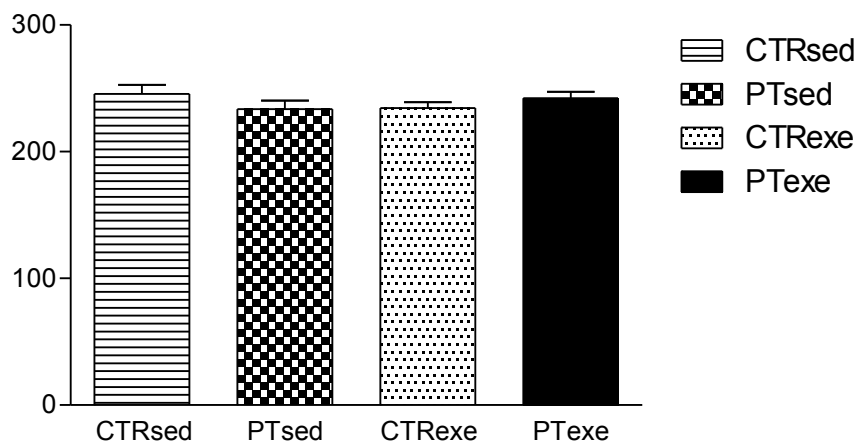


Figura 18: Tempo de permanência nos braços fechados (segundos). Os dados estão representados em média \pm SEM.

6.2.3.3 Número de entradas nos braços abertos

Na figura 19 pode-se visualizar que os animais do grupo PTsed apresentam significativamente mais entradas nos braços abertos, durante 5 minutos, em relação ao grupo

CTRsed ($3,87 \pm 0,88$ vs. $2,75 \pm 0,81$). Como também observado, o tratamento o exercício físico evitou este aumento ($2,88 \pm 0,75$ vs. $2,87 \pm 0,76$, respectivamente, $P < 0,05$).

Frequências de entradas nos braços abertos

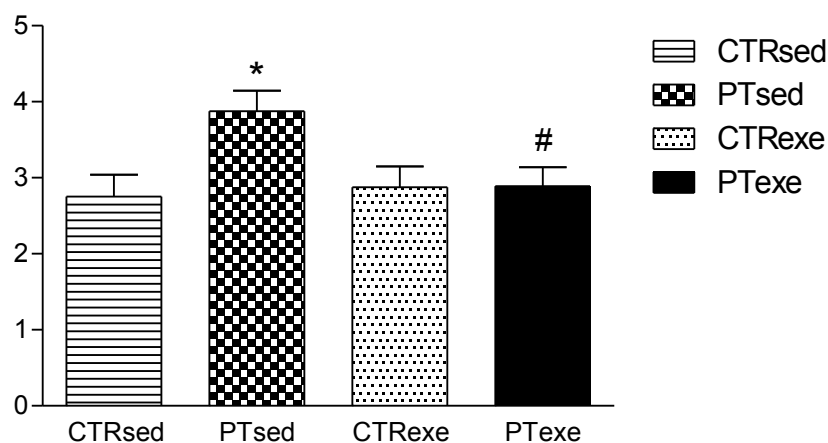


Figura 19: Frequências de entradas nos braços abertos. Os dados estão representados em média \pm SEM * $P < 0,05$, vs CTRsed e # $P < 0,01$ vs. PTsed.

6.2.3.4 Tempo de permanência nos braços abertos

O tempo gasto pelos animais nos braços abertos do LCE pode ser utilizado como um parâmetro para avaliação da ansiedade. Na figura 20 pode-se visualizar que os animais do grupo tratado não diferem significativamente quanto ao tempo gasto nos braços abertos, durante 5 minutos, em relação ao grupo controle (sedentário $38,62 \pm 18,10$ versus $32,00 \pm 15,15$ segundos e fisicamente ativo ($45,25 \pm 16,05$ versus $35,77 \pm 10,53$ segundos sendo, respectivamente, grupo controle versus grupo tratado).

Tempo de permanência nos braços abertos

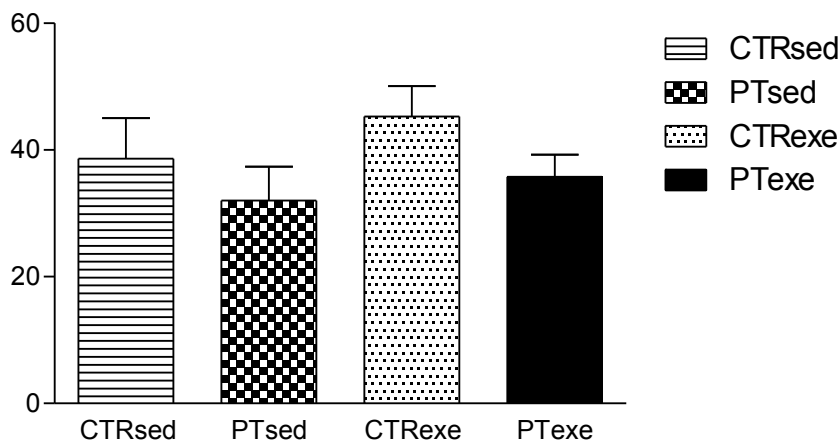


Figura 20: Tempo de permanência nos braços abertos (segundos). Os dados estão representados em média \pm SEM.

6.3 Estudo do equilíbrio hidroeletrólítico

Os resultados apresentados nas Figuras 21 e 22 demonstram que houve aumento significativo na ingestão cumulativa de água do grupo exercício veículo (CTRexe), a partir de 60 minutos e assim por diante até o término do teste, em relação aos demais grupos em condições basais. O mesmo ocorre quanto à ingestão de sódio, mas, em um intervalo de tempo menor (já na primeira aferição de 30 minutos do teste). Possivelmente decorrente de uma freqüente adaptação desses a necessidade de regulação hidroeletrólítica em condições que afetam o equilíbrio hidroeletrólítico como durante a execução da atividade física. Curiosamente, o grupo que realizou atividade física e foi tratado com EAA apresentou diminuição em ambos parâmetros quando comparado com o grupo que também realizou atividade física mas não foi tratado com EAA ($P < 0,01$). Isto sugere que o tratamento com EAA deva ter alterado a regulação hidroeletrólítica esperada (adequada) após a realização do exercício físico.

Os resultados nas Figuras 23 e 24 demonstram que não houve diferença significativa na ingestão cumulativa de água dos grupos tratados em relação aos seus respectivos controle em condições depletadas e o mesmo ocorre quanto à ingestão de sódio.

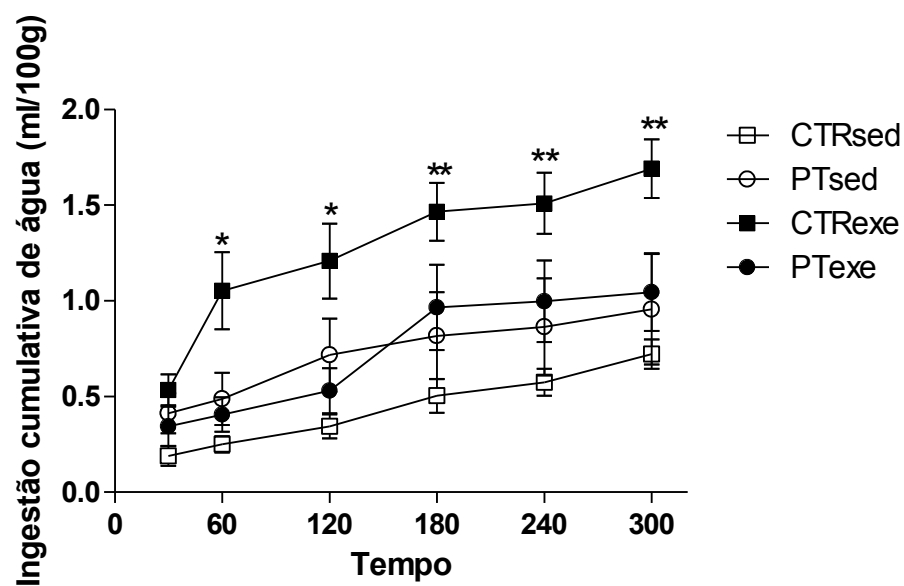


Figura 21: Ingestão de água basal. Os dados estão representados em média \pm SEM *P < 0,05, vs CTRsed e #P < 0,01 vs. PTsed.

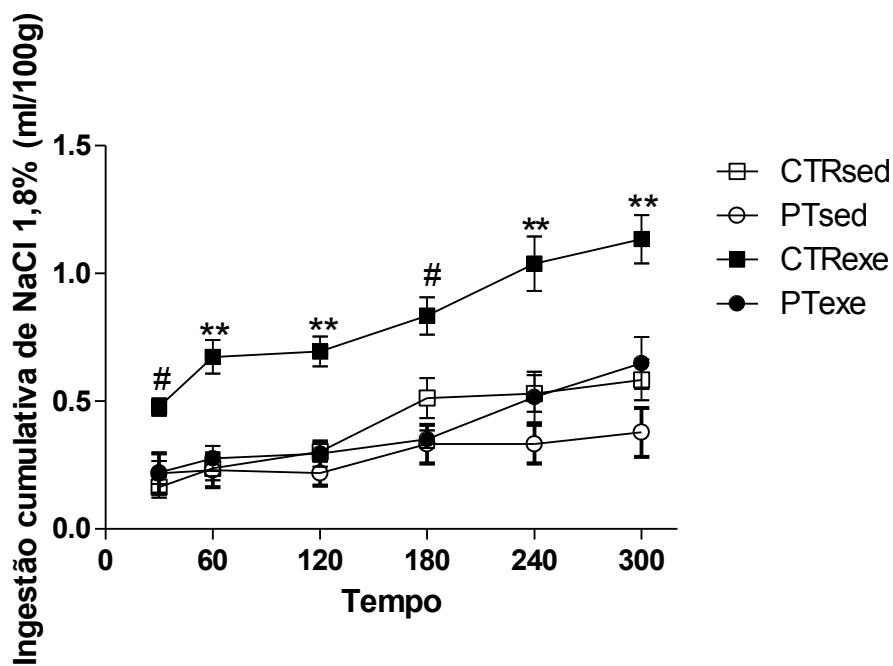


Figura 22: Ingestão de salina basal. Os dados estão representados em média \pm SEM *P < 0,05, vs CTRsed e #P < 0,01 vs. PTsed.

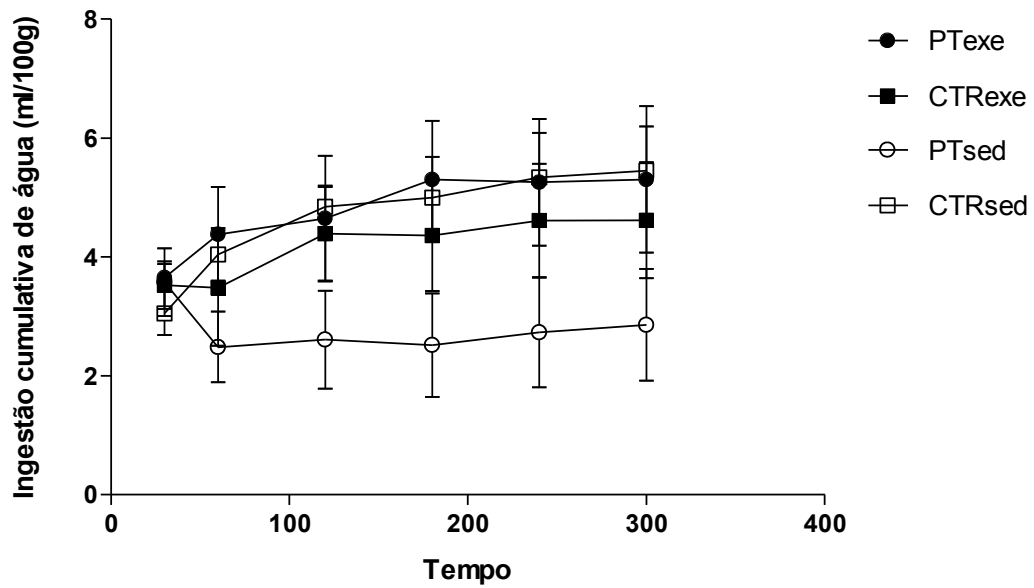


Figura 23: Ingestão de água depletado. Os dados estão representados em média \pm SEM.

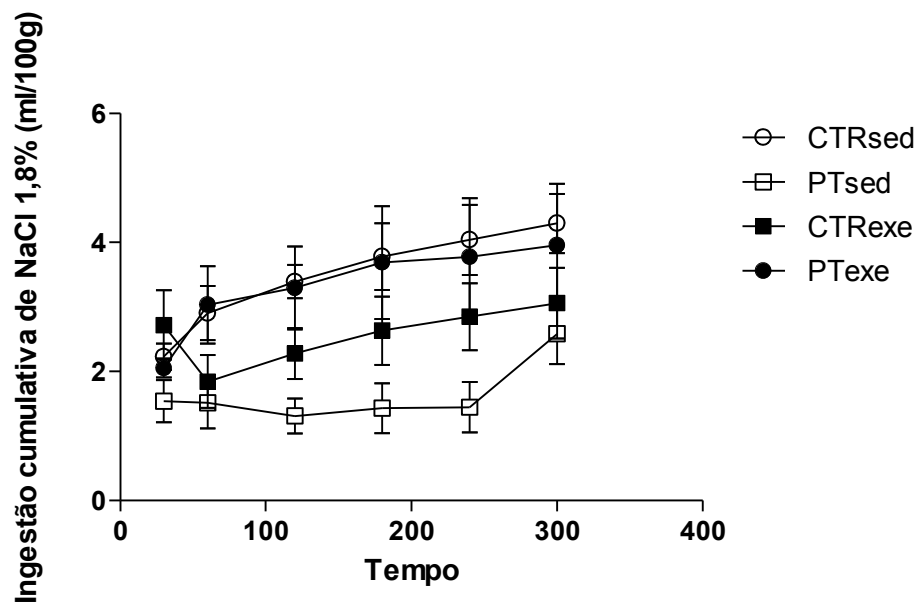


Figura 24: Ingestão de salina depletado. Os dados estão representados em média \pm SEM.

6.4 Análise Espectral.

6.4.1. Efeito do EFR e das administrações de propionato de testosterona na variabilidade da frequência cardíaca e no balanço simpátovagal.

Observou-se que não houve diferenças significativas entre os grupos na frequência cardíaca dos animais (Figura 25, $P > 0,05$) e com o objetivo de estudar mais profundamente os efeitos observados anteriormente na VFC no domínio do tempo, foi realizado um estudo da VFC no domínio da frequência, i.e., do balanço simpato-vagal cardíaco em todos os grupos. Como observado nas Figuras 25, 26 e 27, embora não tenha sido observado diferenças significativas entre os grupos na potência da onda de baixa frequência (LF), houve diminuição significativa (Figura 27, $P < 0,05$) na potência da onda de alta frequência (HF) no grupo PTsed em relação ao CTRsed ($459,28 \pm 183,71$ vs. $2494,71 \pm 2351,67$) o que aumentou a relação LF/HF de forma significativa (Figura 28) também no grupo PTsed em relação ao CTRsed ($94,71 \pm 13,07$ vs. $111,39 \pm 41,32$). Neste caso, tanto a diminuição de HF como o aumento da relação LF/HF foram bloqueados pelo exercício físico ($760,11 \pm 287,92$ vs. $459,28 \pm 183,71$, respectivamente, $P < 0,05$ e $47,79 \pm 10,54$ vs. $94,71 \pm 13,07$, respectivamente, $P < 0,05$).

Portanto, provavelmente, a Testosterona deve ter alterado o balanço simpato-vagal na direção do simpático e o exercício físico, embora não deva ter exercido quaisquer efeitos sobre os animais não tratados, foi efetivo em impedir a desautonomia cardíaca induzida pelo EAA.

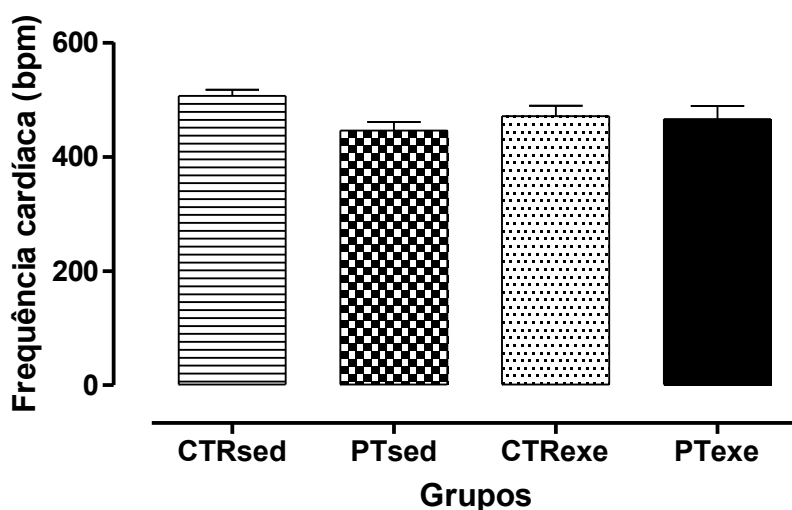


Figura 25: Frequência Cardíaca (batimentos por minuto, bpm) em todos os grupos. Os dados estão representados em média \pm SEM.

6.4.1.1 VFC no Domínio da Frequência

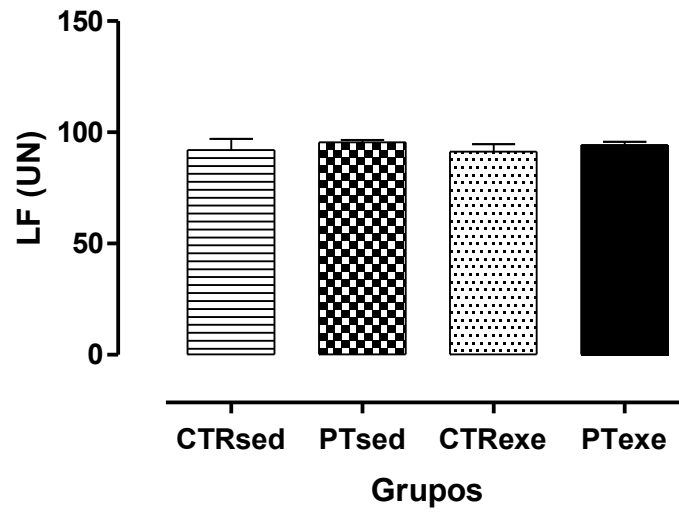


Figura 26: Amplitudes da onda de baixa frequência (LF) em unidades normalizadas. Os dados estão representados em média \pm SEM.

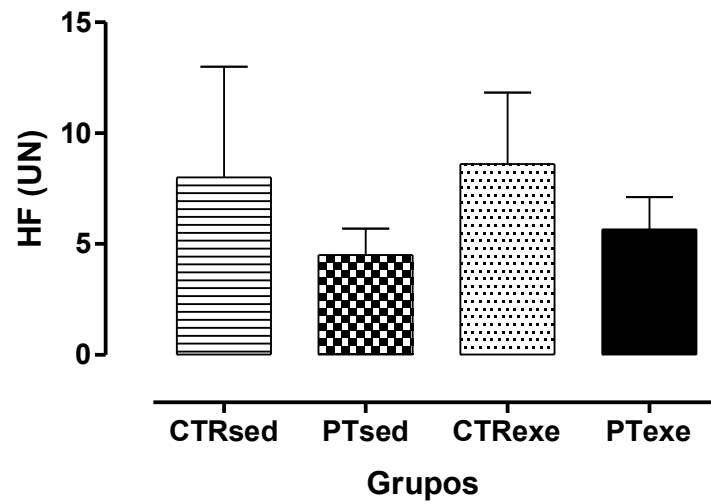


Figura 27: Amplitudes da onda de alta frequência (HF) em unidades normalizadas. Os dados estão representados em média \pm SEM.

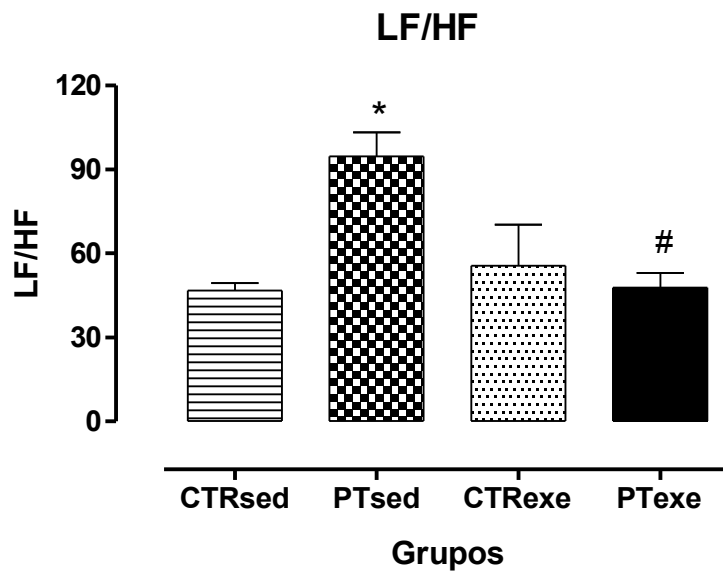
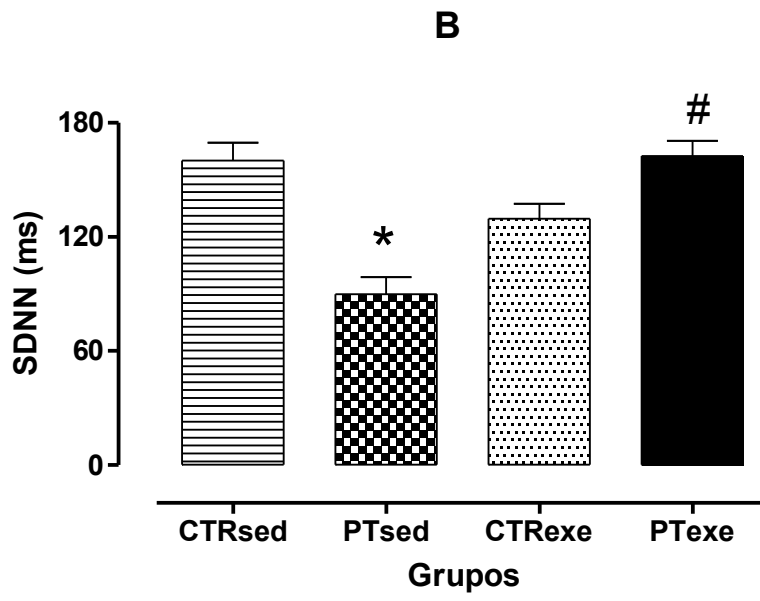
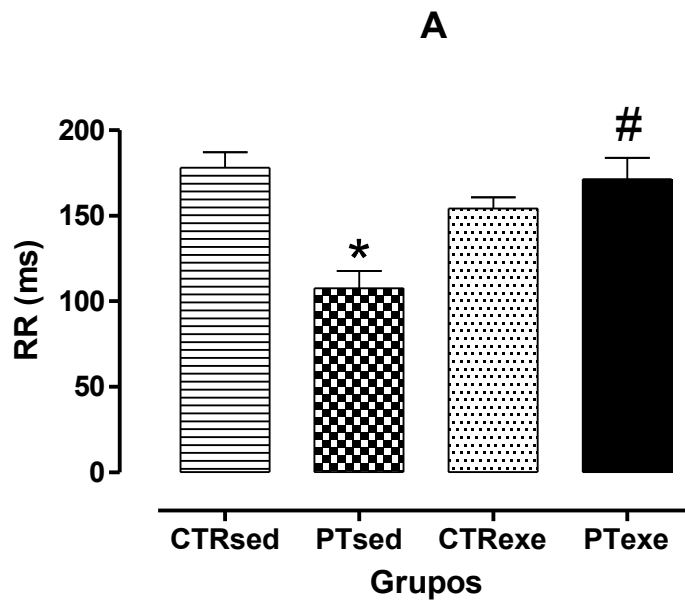


Figura 28: Relação entre as ondas de baixa (LF) e alta (HF) frequências. Os dados estão representados em média \pm SEM * $P < 0,05$ vs CTRsed e # $P < 0,01$ vs. PTsed.

6.4.1.2 VFC no Domínio do Tempo

Embora a frequência cardíaca dos animais (Figura 25) não tenha sido diferente entre os grupos ($P > 0,05$), houve diminuição significativa da variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo (Figura 29) em todos os parâmetros estudados no grupo PTsed em relação ao seu controle CTRsed: 1.média de todos os intervalos RR normais (124,27 vs. 178,01, em segundos, $P < 0,05$), 2.desvio-padrão de todos os intervalos RR normais em segundos (13,06 vs. 9,06, em segundos, $P < 0,05$) e 3. RMSSD (ms) a raiz quadrada da soma das diferenças sucessivas entre intervalos RR normais adjacentes ao quadrado em segundos ($162,34 \pm 17,64$ vs. $213,03 \pm 19,93$, em segundos, $P < 0,01$). Os demais grupos não apresentaram diferenças significativas.

Estes dados em conjunto sugerem que o tratamento com EAA reduziu a variabilidade da frequência cardíaca em animais sedentários, provavelmente pela diminuição da modulação parassimpática exercida por esta droga. Curiosamente, embora o exercício não tenha alterado a VFC no grupo não tratado, ele foi efetivo em impedir a diminuição da mesma induzida pela testosterona.



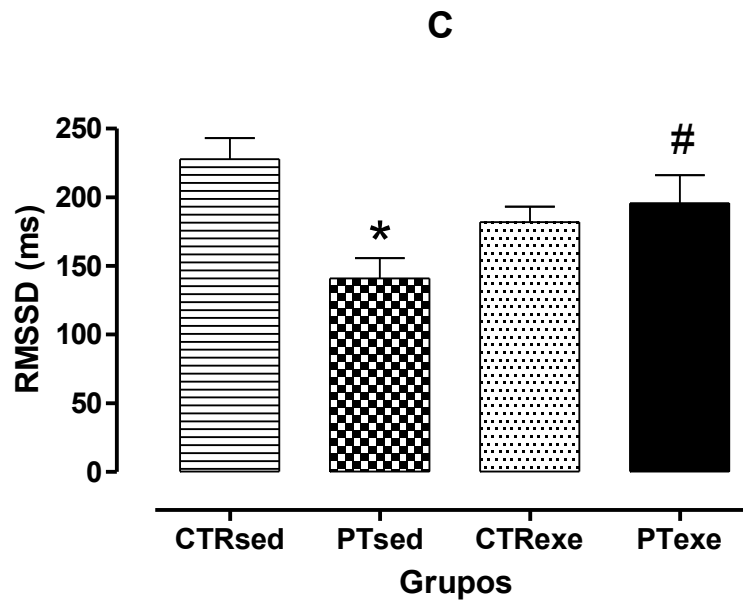


Figura 29: Estudo da variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo. A) RR (ms) a média de todos os intervalos RR normais em segundos; B) SDNN (ms) o desvio-padrão de todos os intervalos RR normais em segundos e C) RMSSD (ms) a raiz quadrada da soma das diferenças sucessivas entre intervalos RR normais adjacentes ao quadrado em segundos. Os dados estão representados em média \pm SEM *P < 0,05, vs CTRsed e #P < 0,01 vs. PTsed.

6.5 Estudo dos pesos relativos dos órgãos

A Tabela 2 mostra o peso dos tecidos dos animais de todos os grupos, normalizados pelo peso corporal dos mesmos (em mg/100g p.c.). Nos animais que receberam doses supra-fisiológicas de EAA houve diminuição do peso relativo dos testículos quando comparados aos animais controle, além disso, os animais tratados com esteróide anabólico apresentaram aumento do peso relativo dos rins quando comparados aos animais controle. O peso relativo do fígado, do coração, das adrenais e dos pulmões não se alterou significativamente entre os grupos tratados e os grupos controles.

Tabela 2 Pesos relativos dos tecidos animais do modelo experimental

Peso Relativo (mg.g-1)	CTRsed	PTsed	CTRexe	PTexe
Cardíaco	3,529 \pm 0,20	3,493 \pm 0,05	3,474 \pm 0,07	3,604 \pm 0,08
Testicular	11,842 \pm 0,37	7,612 \pm 0,36**	9,193 \pm 0,72	8,639 \pm 0,47*
Pulmonar	5,528 \pm 0,18	5,689 \pm 0,26	7,368 \pm 0,91	6,889 \pm 1,13
Hepático	33,409 \pm 0,45	32,598 \pm 0,48	31,243 \pm 0,48	32,518 \pm 1,47
Renal	7,058 \pm 0,13	7,276 \pm 0,18	6,814 \pm 0,10	7,725 \pm 0,23#
Adrenal	0,170 \pm 0,007	0,166 \pm 0,007	0,166 \pm 0,008	0,198 \pm 0,014

Os valores são médias \pm SEM e o peso relativo expresso como peso do tecido (mg)/ 100 g p.c.; teste t; *P < 0,05, vs CTRsed e #P < 0,01 vs. PTsed.

7 DISCUSSÃO

Os principais achados deste estudo foram que as alterações comportamentais, hidroeletrólíticas e autonômicas observadas na fase adulta de ratos e induzidas pelo tratamento com testosterona na fase pré-púbere dos animais, foram quase todas impedidas pela prática de exercício físico resistido. Curiosamente, o modelo de EFR utilizado neste estudo, embora não tenha induzido a alterações importantes, excetuando o aumento da ingestão de água e salina hipertônica no estudo hidroeletrólítico, que foram ambos antagonizados pela testosterona, foi capaz de prevenir em quase sua totalidade, o aparecimento das alterações comportamentais e autonômicas induzidas pelo EAA.

A administração via intramuscular, em doses suprafsiológicas, do propionato de testosterona no período de cinco semanas não resultou em diferença significativa entre os grupos tratados e os grupos veículo no ganho de peso corporal, diferente do estudo de Cunningham & McGinnis (2008), que observaram queda do peso corporal nos animais tratados com EAA a partir da quarta semana mantendo-se assim na semana seguinte em relação ao controle tratado com veículo. Essa diferença, entre o nosso estudo e o de Cunningham & McGinnis (2008), pode ter sido devido a diferenças no programa de exercício físico resistido e ao protocolo de administração de EAA.

Embora não tenha sido o objetivo principal deste estudo, essa ligeira redução (não significativa) quanto ao ganho de peso dos animais do grupo tratado comparada ao grupo controle constatada a partir da terceira semana de administração do PT, sendo estendida a diferença até a última semana, ou seja, no momento da eutanásia. Permite que algumas considerações em relação a este parâmetro possam ser discutidas.

Os andrógenos influenciam na expressão de receptores beta-adrenérgicos, na lipase hormônio sensível e como resultado estimula a lipólise e reduz o armazenamento de gordura nos adipócitos. Ainda, alteram a expressão de receptores de IGF e PPAR (WU & ECKARDSTEIN, 2003). Em conjunto, esses achados da literatura podem ajudar a explicar a ligeira queda no ganho de peso corporal nos animais tratados com EAA neste estudo comparados aos seus respectivos controles. Entretanto, a relação ao efeito dos EAA sobre o peso corporal de ratos em estudos experimentais são conflitantes por haverem informações no sentido de redução (BAUMAN *et al.* 1988), aumento (MEIRELES, 2006) e a não alteração do peso corporal dos animais (MARINHO *et al.* 2006). Em estudos realizados por Beutel *et al.* (2004), doses suprafsiológicas de decanoato de nandrolona determinaram a diminuição do

peso corporal dos ratos tratados, caracterizado por inibição do apetite e diminuição da gordura abdominal mas, este efeito no entanto foi observado somente após a quarta semana de tratamento em animais. Já Marinho *et al.* (2006) demonstraram experimentalmente que animais tratados apenas com decanoato de nandrolona com uma dose semanal, durante quatro semanas, não apresentaram diferenças estatísticas significativas de peso corporal final quando comparados ao seu respectivo grupo controle, o que assemelha-se ao nosso achado, porém Bauman *et al.* (1988) que por seus resultados encontraram inibição do aumento da massa corpórea dos animais tratados por doses supra-fisiológicas de EAA acreditam que os mecanismos envolvidos nessa redução no ganho de peso estariam relacionados à redução da produção dos níveis normais de testosterona endógena, à excessiva conversão de testosterona em estradiol, bem como ao aumento da oxidação lipídica (GUZMAN *et al.* 1991)

Em usuários de altas doses de EAA há alta incidência e prevalência de sintomas psiquiátricos. A diferença entre os sintomas entre os usuários pode estar relacionada à intensidade e níveis da terapia farmacológica. Sintomas psicóticos estão associados aos usuários que consomem mais que 1000 mg de testosterona por semana. Normalmente os sintomas desaparecem após a descontinuação do uso de EAA, mas podem persistir por até um mês, mesmo com medicação anti-psicótica adequada (HALL *et al.* 2005).

As figuras 12 a 20 apresentam os resultados dos testes comportamentais obtidos em todos os animais. Os resultados do teste de agressividade sugerem que o grupo tratado com propionato de testosterona (que não foi submetido às sessões de exercício físico resistido, PTsed) teve maior pontuação de forma significativa comparada aos demais grupos em ocasiões de ataque (ameaças ou efetivos). Por outro lado, os grupos que praticavam atividade física obtiveram menores pontuações. Quanto aos outros parâmetros do teste (pressão pélvica e submissão) não houve resultado significativo e os grupos tratados com o anabolizante sequer pontuaram ($P > 0,05$). Esses resultados corroboram o estudo de Breuer *et al.* (2001) que demonstraram que a administração de propionato de testosterona em ratos *Long-Evans* durante doze semanas (dose de 5mg/kg/dia por cinco vezes semanais) aumentava significativamente a agressividade desses animais quando comparados ao grupo controle. Assim, é possível concluir que o EFR pode ter contribuído para a diminuição da agressividade dos ratos tratados com EAA.

O estudo de Lumia *et al.* (1994), demonstrou que o tratamento por 10 semanas com testosterona (1mg/Kg, por 3 vezes semanais), em ratos *Long-Evans*, aumentou a postura dominante e reduziu a postura submissa quando comparados com os ratos controle. Por outro

lado, Breuer *et al.* (2001) administrou propionato de testosterona (PT), decanoato de nandrolona (DN) e estanozolol em ratos *Long-Evans* (5mg/Kg, por 5 vezes por semana durante 12 semanas contínuas) e o comportamento agressivo aumentou significativamente no grupo tratado com PT quando comparado com o seu respectivo controle. O grupo tratado com decanoato de nandrolona e o seu grupo controle demonstraram níveis similares de agressividade e surpreendentemente, o grupo tratado com estanozolol exibiu níveis significativamente menores de agressividade que os outros grupos tratados e da mesma maneira quando comparados ao seu controle. Esse efeito paradoxal do estanozolol em abolir o comportamento agressivo foi atribuído aos diferentes mecanismos de ação envolvendo alvos celulares e moleculares dos EAA no sistema nervoso central (SNC). O estudo de McGinnis *et al.* (2002) demonstrou que o tratamento com PT associado a provocação física dos animais (através da puxada da cauda, “tail pinch”) aumentou a agressividade dos roedores. Os autores desse trabalho especulam que o PT sensibiliza o animal para inferir os ataques ao animal intruso e estimula a agressividade por eles apresentada. Os resultados de Breuer, McGinnis & Lumia (2002) sugerem ausência de efeitos do decanoato de nandrolona (DN) sobre a agressividade e uma supressão do comportamento agressivo em roedores machos tratados com estanozolol.

Em contrapartida, o estudo de Long *et al.* (1996) demonstrou que ratos *Sprague-Dawley* que receberam DN (2mg/kg/dia ou 20mg/Kg/semana, durante 4 semanas) apresentaram altos níveis de agressividade quando comparados ao grupo controle. Usando o teste de competição para ingestão de água como medida de agressividade, ratos machos tratados com DN demonstraram dominância diante do acesso ao bebedouro em relação ao grupo controle (LINDQVIST *et al.* 2001). O estudo de Farrell & McGinnis (2004) demonstrou que a provocação física estimula a agressividade em ratos tratados com testosterona, decanoato de nandrolona e estanozolol, sendo significativamente diferente do grupo controle. Todavia, na ausência de provocação física os animais tratados com EAA não demonstraram comportamento agressivo em nenhum dos três grupos, quando comparados ao controle (MCGINNIS *et al.* 2002). A maioria dos estudos que avaliam os efeitos da testosterona demonstra que a mesma causa alterações sobre a interação social no que diz respeito ao comportamento sexual e agressivo (CLARK *et al.* 1997; MCGINNIS, 2004; SALAS-RAMIREZ *et al.* 2008). Porém, esses efeitos são de natureza contraditória por ser dependente do tipo de andrógeno, dose administrada, tempo de tratamento e idade ou sexo do animal (CLARK & HENDERSON, 2003).

Em suma, os efeitos dos EAA sobre a agressividade são dependentes do tipo de composto, da espécie estudada, como do gênero dos animais. A administração do PT em doses supra-fisiológicas por longo período de tempo aumenta o comportamento agressivo em ratos machos não castrados. A provocação física aumenta esse comportamento agressivo em contexto social e ambiental não provocando esse comportamento em animais controle. O estanozolol, por exemplo, não estimula a agressividade, ou às vezes, até a atenua (CLARK & HENDERSON, 2003). Esse conjunto de resultados sugere que o decanoato de nandrolona e outros EAA podem aumentar o comportamento agressivo sobre condições que ainda não são bem compreendidas, assim novos estudos podem auxiliar no entendimento da neurobiologia do comportamento agressivo associado ao uso de EAA (MCGINNIS, 2004).

Estudos recentes estão começando a investigar mecanismos moleculares cerebrais relacionados aos efeitos comportamentais de doses elevadas de EAA em roedores. O uso crônico de EAA em camundongos mostrou-se indutor de mudanças dependentes de dose, sexo e idade na expressão gênica da subunidade do receptor GABA_A em áreas cerebrais anteriores (MCINTYRE *et al.* 2002) sugerindo o envolvimento do sistema GABAérgico. O envolvimento do sistema glutamatérgico foi recentemente demonstrado em hamsters adolescentes tratados com EAA pelo aumento nos neurônios que expressam glutamato e na expressão do receptor GluR1 em áreas específicas da agressividade (FISCHER *et al.* 2007). Hamsters tratados com decanoato de nandrolona durante seu período de desenvolvimento apresentaram aumento do receptor V_{1A} em estudos de ligação (estudos de “*binding*”) e na densidade de fibras imunorreativas de arginina vasopressina no hipotálamo anterior e em áreas relacionadas a agressividade (HARRISON *et al.* 2000, DE LEON *et al.* 2002). Camundongos tratados com a mesma droga cronicamente apresentaram diminuição na quantidade de RNAm do receptor dopaminérgico D1 nos núcleos caudado-putámen e núcleo *acumbens* (KINDLUNDH *et al.* 2001, KINDLUNDH *et al.* 2003), receptor também implicado a modulação do comportamento agressivo (VOLAVKA *et al.* 2004). Outros estudos tentam correlacionar as alterações comportamentais aos efeitos dos EAA nas neurotransmissões centrais serotoninérgicas, gabaérgicas, entre outras, em diversas áreas do cérebro (THIBLIN *et al.* 1999, HALLBERG *et al.* 2000, YANG, 2002). A utilização de hamsters sírios também reforça a interação entre os EAA e o sistema 5-HT na modulação de comportamentos emocionais, especialmente o comportamento agressivo (NELSON & CHIAVEGATTO, 2001). Esse grupo de pesquisadores mostrou diminuição na inervação serotoninérgica e alterações na expressão de receptores 5-HT_{1A} e 5-HT_{1B} em áreas cerebrais

(GRIMES & MELLONI, 2002; 2006, RICCI *et al.* 2006) assim como diminuição na imunorreatividade do receptor 5-HT_{1A} comprovada por ensaios quantitativos no hipotálamo anterior nos animais tratados com EAA (RICCI *et al.* 2006). Considerando o importante papel do sistema serotoninérgico na regulação hidroeletrólítica (REIS, LUÍS C. *et al.* 2005), não seria surpresa admitir a possibilidade, como observado neste estudo, do tratamento com EAA bloquear o aumento da ingestão de fluidos induzido pelo exercício físico resistido, pelo mecanismo de redução da expressão do receptor 5-HT_{1A} somato-dentrítico, um importante modulador da atividade do neurônio serotoninérgico (REIS, LUÍS C. *et al.* 2005) no núcleo dorsal da rafe mesencefálica, uma das principais regiões envolvidas no controle da ingestão de fluidos e mamíferos (REIS, LUÍS C. *et al.* 2005). Em humanos, o uso indiscriminado dos EAA está associado a comportamentos como agressividade e violência sem provocação. O uso crônico intensifica a agressividade, principalmente por intermédio de agressão verbal, provocação para combate, briga e aumento da violência contra a mulher. Essa forma de administração também contribui para a elevação dos níveis de homicídios praticados por adolescentes. Os usuários adolescentes são mais suscetíveis a atos de violência, impaciência, impulsividade e irritabilidade, e tais efeitos se correlacionam positivamente com níveis séricos de testosterona (MCGINNIS, 2004; BROOKS & REDDON, 1996). Em controvérsia, alguns estudos não demonstraram evidências do aumento da agressividade em indivíduos saudáveis quando administradas doses elevadas de EAA (TRICKER *et al.* 1996; WANG *et al.* 1994). No nosso estudo, começamos o tratamento com EAA na fase adolescente de ratos e observamos aumento do comportamento agressivo na quinta semana de tratamento, i.e., com os animais na fase adulta jovem. O protocolo utilizado aqui pode ter sido decisivo para explicar possíveis diferenças nos resultados encontrados em outros trabalhos que não observaram aumento no comportamento agressivo de ratos tratados com EAA, já que seus tratamentos foram iniciados já na fase adulta dos ratos, como nos estudos de McGinnis *et al.* (2002) e Kindlundh *et al.* (2002).

Sintomas psicóticos também já foram associados aos usuários que consomem mais que 1000 mg de testosterona por semana (HALL *et al.* 2005). O termo “roid rage” tem sido empregado para definir efeitos colaterais específicos decorrentes do uso exacerbado de EAA, caracterizado por atos de agressividade e violência indiscriminada e sem provocação. Análises neuroquímicas feitas em animais apontaram a administração de EAA como indutor de modificações relacionadas à patologias como: depressão, raiva e comportamentos sexuais anormais. Foi apontada redução dos receptores inibitórios de GABA na amígdala medial e

núcleo ventromedial do hipotálamo, redução em número e densidade de receptores serotoninérgicos no hipocampo, hipotálamo e amígdala, além de hiperatividade no sistema arginina vasopressina no hipotálamo anterior (HALL *et al.* 2005). Aumentos agudos na secreção de ACTH (hormônio adrenocorticotrófico) e corticosterona foram demonstrados, permanecendo por até 24 horas, demonstrando também influência no eixo HPA (hipotálamo-pituitária-adrenais) (KUHN, 2002).

O teste do Campo Aberto é empregado para avaliar a atividade exploratória dos animais. A tendência natural de um animal em um ambiente novo é explorá-lo, apesar do estresse e do conflito provocado por este ambiente novo (MONTGOMERY, 1958). No teste do campo aberto, seis parâmetros foram avaliados: 1) o número total de quadrantes percorridos; 2) o número total de *rearings* e 3) o tempo de inatividade que avaliam a atividade exploratória do animal; 4) o número de *groomings*; 5) o tempo de *grooming*; 6) a quantidade de bolos fecais que podem ser utilizados para avaliar o grau de ansiedade (ARCHER, 1973). Desta forma a locomoção, *rearing*, *grooming* em roedores, observados no campo aberto, são os parâmetros comportamentais mais usados para descrever influências dos eventos da vida (MONTGOMERY, 1958; REX *et al.* 1996).

No caso de baixa atividade motora (reduzida quantidade de quadrados percorridos ou cruzados) indica-se, freqüentemente, haver uma reação de medo do animal. Ratos com medo evitam ficar sobre as patas traseiras (*rearing*). Os ratos apresentam tal comportamento de medo quando introduzidos em um campo aberto desconhecido. Este comportamento tende a diminuir à medida que o animal se familiariza com a caixa (CRUZ, 1997), desta forma não são recomendada exposições sucessivas ao campo aberto.

Notamos no teste do campo aberto que houve aumento tanto da exploração horizontal (número de quadrados cruzados) como da exploração vertical (número de *rearings*), bem como diminuição no tempo de inatividade nos animais sedentários tratados com propionato de testosterona em comparação aos seus controles, i.e., animais sedentários tratados com veículo. Este resultado corrobora os de Buddenberg *et al.* (2009) que demonstraram que a administração de testosterona atenuou de forma dose-dependente o comportamento de imobilidade no teste do nado forçado em ratos indicando um efeito antidepressivo deste EAA neste modelo.

Por outro lado, esses resultados divergem de outros estudos, que sugerem que o tratamento com EAA não altera a atividade locomotora espontânea (BING *et al.* 1998;

BITRAN *et al.* 1993; BRONSON, 1996; CLARK & FAST, 1996; CLARK & HARROLD, 1997; CLARK *et al.* 1997; MARTINES-SANCHIS *et al.* 1996; MARTÍNEZ-SANCHIS *et al.* 2002; MINKIN *et al.* 1993). Diferenças no tipo de EAA, no protocolo e idade dos animais e na linhagem de ratos utilizada podem explicar essa controvérsia nos resultados encontrados pelos diferentes grupos de pesquisa supracitados.

De qualquer forma, um dado interessante do presente estudo, foi à observação de que, embora o protocolo de exercício físico resistido utilizado não tenha alterado padrões comportamentais normais dos animais controles, i.e, tratados com veículo (ratos do grupo CTReXe: animais ativos fisicamente não tratados com EAA), ele foi suficiente para impedir todas alterações comportamentais de aumento da exploração/diminuição da imobilidade apresentados pelos ratos sedentários tratados com testosterona. Recentemente, Zlebnik *et al.* (2012) publicaram um trabalho interessante em que demonstraram que o exercício físico foi capaz de reduzir o consumo espontâneo de cocaína em ratos adolescentes. Curiosamente, o mesmo não foi observado em ratos adultos. Considerando que o EAA e a cocaína aumentam a transmissão excitatória em várias regiões cerebrais, inclusive naquelas relacionadas à adição de drogas e ao aumento da atividade motora espontânea, o primeiro por reduzir os receptores inibitórios de GABA na amígdala medial e núcleo ventromedial do hipotálamo (HALL *et al.* 2005) e o segundo por bloquear a recaptação pré-sináptica catecolaminérgica, o exercício físico tanto no nosso modelo como no do grupo do Zlebnik pode ter exercido o mesmo efeito benéfico na normalização da neurotransmissão nessas regiões. Estudos futuros empregando técnicas de biologia no sistema nervoso central neste modelo serão fundamentais para investigar esta hipótese. Apesar do teste de campo aberto ser empregado para avaliar o comportamento de ansiedade através da observação da exploração do animal no centro e na periferia do aparato, o estudo de Ramos (2008) relata que há necessidade de múltiplos testes comportamentais como o teste de labirinto em cruz elevado para um melhor entendimento do mecanismo do comportamento emocional em roedores. Portanto, o teste do LCE é considerado um instrumento bastante útil e válido para medir ansiedade, investigando aspectos comportamentais (PELLOW *et al.* 1985).

A ansiedade pode ser caracterizada como a antecipação emocional de uma situação aversiva, de difícil controle e de provável ocorrência. Medo, no entanto, pode ser definido como uma reação a uma situação perigosa real e bem definida e é visto por vários autores

como entidade independente da ansiedade. Ainda assim, por vezes pode ser difícil uma separação entre as duas (RAMOS *et al.* 1997).

Alguns modelos animais de ansiedade evocam, pela simples exposição do animal a um novo ambiente ou estímulo, comportamentos de medo ou defensivos, análogos a manifestações ansiosas em indivíduos com transtornos de ansiedade. Considera-se a percentagem da preferência (entradas e tempo gasto) pelos braços abertos e pelos fechados um índice fidedigno de ansiedade: quanto maiores os níveis de ansiedade, menor a percentagem de entradas nos braços abertos e de tempo gasto nos mesmos e o inverso é verdadeiro. O número de entradas nos braços fechados também pode ser correlacionado positivamente com a atividade exploratória dos animais (HANDLEY & MITHANI, 1984).

Sabe-se muito pouco sobre os efeitos dos EAA na ansiedade. O primeiro estudo destes efeitos dos EAA foi realizado por Bitran *et al.* 1993 o qual demonstrou que altas doses de propionato de testosterona alteram o comportamento de ratos *Long-Evans* no aparato de labirinto em cruz elevado. Neste estudo, os animais foram testados em 6 e 14 dias de tratamento com propionato de testosterona. Com 6 dias de tratamento, os animais aumentaram a exploração nos braços abertos, isto é, teve um efeito ansiolítico. Porém com 14 dias de tratamento, os animais tratados com propionato de testosterona não foram diferentes do grupo controle. Estes resultados indicam um caráter ansiolítico transitório do tratamento com propionato de testosterona. De uma maneira geral os poucos estudos que abordaram EAA e ansiedade apresentaram resultados controversos. Mais especificamente, o tratamento com decanoato de nandrolona em ratos apresentou tanto efeitos ansiolíticos como ansiogênicos (BITRAN *et al.* 1993; CLARK & HENDERSON, 2003).

No labirinto em cruz elevado não houve diferença significativa nas percentagens do número de entradas e permanências tanto nos braços abertos como fechados entre os grupos. Dessa forma, a alteração observada no grupo sedentário tratado com EAA no aumento do comportamento de exploração dos animais, aparentemente não se relacionou com nenhum efeito ansiolítico induzido pelo EAA, como descrito anteriormente (Bitran *et al.* 1993). Logo, no presente estudo a administração de propionato de testosterona em ratos machos *Wistar*, não apresentaram efeitos ansiogênicos e nem ansiolíticos, diferente do que se observa nos trabalhos de Kouvelas *et al.* (2008), que tratou com DN na dose 15mg/Kg (s.c) por 6 semanas diariamente. O estudo de Bing *et al.* (1998) também demonstrou efeito ansiolítico em ratos *Wistar* causado por uma exclusiva injeção de testosterona (5mg/Kg), testados no teste de VOGEL'S, 24 horas depois da administração do fármaco. É possível que o tempo de

avaliação no LCE empregado no presente estudo (5 semanas após o início do tratamento com EAA) não tenha sido adequado para a avaliação de um possível efeito ansiolítico do EAA, uma vez que, como descrito anteriormente, o proprionato de testosterona promove efeito ansiolítico transitório (Bitran *et al.* 1993).

A normalidade hidroeletrólítica e suas conseqüências fisiológicas têm constituído o foco de muitos estudos. A ingestão hídrica, muitas vezes tem sido vista como um dos muitos mecanismos regulatórios do volume e da osmolaridade corporal (JORDAN *et al.* 2000). Diversos peptídeos vasoativos, dentre eles a ANG II, que circulam no plasma e são produzidos em diversos tecidos inclusive o cérebro (STANDAERT *et al.* 1988) também atuam no SNC alterando a ingestão hídrica (SAMSON *et al.* 1991). Existem diversas vias centrais peptidérgicas que são capazes de modular a ingestão hídrica e podem exercer um papel sobre a pressão arterial (PA) e a regulação osmótica. Esses diversos sistemas peptidérgicos podem modular a ingestão hídrica através de alterações na função barorreceptora e da regulação da osmolaridade do fluido extracelular (MURPHY *et al.* 1995). Kraemer *et al.* (1999) através de estudo realizado com homens adultos, mostraram que o exercício físico afeta dramaticamente a secreção hormonal e a regulação dos fluidos corporais, uma vez que aumenta os níveis plasmáticos de noradrenalina, dopamina, peptídeo atrial e ácido láctico. Além disso, durante a atividade física, ocorre também aumento do metabolismo corporal que pode aumentar a osmolaridade plasmática e estimular a ingestão hídrica.

Há de considerarem-se duas importantes alterações ocorridas durante a atividade física que atuam sobre o volume de líquidos corporal. A primeira se refere ao aumento da osmolaridade plasmática e a segunda ao aumento da acidose plasmática. Esses parâmetros estão aumentados principalmente devido ao aumento de células vermelhas no sangue durante a atividade física em alta intensidade e estão moderadamente alterados em atividade física de baixa e média intensidade. Durante a atividade física de alta intensidade a osmolaridade plasmática pode aumentar cerca de até 40 mosmol/ Kg H₂O. A causa do aumento da osmolaridade não é devido ao aumento da concentração de eletrólitos tais como Na⁺, K⁺ ou Cl⁻. Os movimentos dos íons são acompanhados por movimentos da água, uma vez que existe uma grande permeabilidade para a água nas células musculares (SEJERSTED *et al.* 1982).

No presente estudo, as primeiras análises da regulação hidroeletrólítica representadas nas figuras 21 e 22 demonstraram que houve aumento significativo na ingestão cumulativa de água do grupo exercício veículo (CTReXe), a partir de 60 minutos e assim por diante até o

término do teste, em relação aos demais grupos em condições basais. Ocorrendo o mesmo quanto à ingestão de sódio, mas, em um intervalo de tempo menor (já na primeira aferição de 30 minutos do teste). Possivelmente decorrente de uma freqüente adaptação desses a necessidade de regulação hidroeletrolítica em condições que afetam o equilíbrio hidroeletrolítico como durante a execução da atividade física.

A hipovolemia e hiperosmolalidade ativam diversas respostas comportamentais e neuroendócrinas, que podem ser induzidas pelo modelo animal de privação hídrica. Neste sentido só a restrição por um período de 24 horas pode evocar respostas de apetite ao sódio devido á deficiência de sódio (WEISINGER *et al.* 1985). Dessa forma uma condição de depleção de sódio induzida pela administração de furosemida acarreta uma intensa diurese e natriurese onde o animal fica em condição de hiponatremia.

Racca *et al.* (2012) encontraram resultados no seu trabalho indicando que doses crônicas de decanoato de nandrolona (uma vez por dia durante duas semanas consecutivas) em ratos podem não afetar de maneira notável o sistema hipotalâmico pituitária adrenal (HPAA) e a atividade dos transportadores de serotonina, em ratos tratados mas não estressados, porém podem desregular, na indução de estresse, a cascata hormonal que desempenha papel crucial na regulação comportamental e por que não, hidroeletrolítica, uma vez que o sistema serotoninérgica é crucial em ambos os processos regulatórios. Esses dados corroboram os nossos que mostraram que a administração de testosterona não afetou o aumento no apetite de sódio e água nos animais sedentários, mas bloqueou as mesmas respostas nos animais ativos fisicamente e, portanto, submetidos a um tipo de estresse.

Diferentemente do paradigma de depleção de sódio descrito em condições basais esse protocolo induziu uma diminuição tardia da ingestão de NaCl 1,8% no tratamento sistêmico, tal achado parece está atrelado a necessidade de repor tal íons e com isso tal reposta evocaria sinalizações da circuitaria serotoninérgica objetivando modular essa ingestão induzida. Estudo realizado por Rouah-Rosilio *et al.* (1994) consideram a existência de dois substratos morfológico e fisiológico do sistema serotoninérgico que integra a regulação da ingestão de sódio espontânea e induzida. Nos experimentos realizados por Tanaka *et al.* (1998) demonstraram que circuitos neurais que integram o SFO (órgão subfornicial) e regiões da Rafe evocariam respostas intrínsecas para regulação dos fluidos corporais. Dessa forma, o papel desse sistema serotoninérgico modulada pela sinalização de autorreceptores somatodendriticos localizados na região dorsal-ventral do DRN parece ser crítica na

modulação induzida por esse protocolo de depleção de sódio. Com isso tal achado sugere um envolvimento central desse sistema no comportamento motivado de apetite ao sódio sem interrupção de sinalização de sede. Com essa metodologia podemos atribuir que uma sinalização mais específica a regulação do íon sódio parece está constantemente sendo modulada por essa região do DRN já que a ativação desses receptores parece está reunida em núcleos menores que compõem este maior.

O sistema nervoso autônomo (SNA) influencia de forma importante a homeostase corporal e diferentes sistemas vegetativos, que inclui a função cardiovascular, pressão arterial e o metabolismo. O SNA é composto por um sistema de aferências que transmite sinais para sistema nervoso central (SNC), o qual responde de forma reflexa aos órgãos alvo. Sabe-se até então, que pelo menos três arcos reflexos (componentes das aferências) estão envolvidos na modulação da atividade parassimpática para o coração e simpática para coração e vasos. Os barorreceptores arteriais são sensíveis às deformações da parede vascular e controlam a pressão arterial instantânea ou de curto prazo. Os receptores cardiopulmonares são ativados por mudança de pressão das câmaras cardíacas induzindo respostas principalmente na frequência cardíaca e vasodilatação muscular periférica e os quimiorreceptores arteriais que respondem a aumentos plasmáticos da pressão de O₂ e CO₂, além do pH (DE ANGELIS *et al.* 2004). Além disso, os dois maiores componentes do SNA, simpático e parassimpático usam neurotransmissores pós-ganglionares distintos, noradrenalina para o primeiro e acetilcolina para o segundo (LISE *et al.* 1999). Ambos os componentes do SNA têm sinapses nos gânglios com a acetilcolina como o neurotransmissor entre os neurônios que originam no SNC e as eferências pós gangliônicas.

A maioria dos órgãos recebe inervação simpática e parassimpática, as quais costumam mediar ações opostas (SHELLI, 2004). O sistema nervoso autônomo influencia tônica e reflexamente o sistema cardiovascular, modificam o débito cardíaco por alterar a força de contração das fibras miocárdicas e a frequência cardíaca. Nos vasos modificam a contratilidade do músculo liso vascular e assim, a resistência vascular periférica (DE ANGELIS, 2004). Dessa forma, o SNA é um importante mecanismo de controle da pressão arterial. Alterações neste sistema podem levar a disautonomia, o que pode afetar adversamente a saúde. Esta mudança atinge desde episódios ocasionais de hipotensão mediadas neuralmente até doenças neurodegenerativas progressivas. Aumento no tônus da inervação simpática cardíaca e renal provoca o desenvolvimento da hipertensão essencial, na insuficiência cardíaca crônica a ativação simpática cardíaca prejudica a função miocárdica. Vários outros distúrbios ainda estão

relacionados com a disfunção autonômica, como o diabetes tipo II, a síndrome da fadiga crônica, a obesidade visceral, a dislipidemia, o Parkinson, dentre outros (SHELLI, 2004).

Até então são escassos na literatura estudos de efeitos diretos da administração de EAA na atividade do SNA. Um estudo relacionou o estanozolol (esteróide anabólico androgênico de grande potência) com aumento na pressão arterial, mudança na atividade barorreflexa, sem alteração na atividade simpática nos animais tratados com estanozolol (PEREIRA *et al.* 2006). Os mecanismos propostos para modificação no controle reflexo cardiovascular incluem a síntese de óxido nítrico (NO) e controle central do nervo vago, como o aumento da atividade glutamatérgica no hipotálamo e hipocampo (BEUTEL *et al.* 2005). No entanto, outro estudo relacionado ao decanoato de nandrolona observou redução da modulação vagal e tendência ao aumento da modulação simpática após sua administração (PEREIRA *et al.* 2006). Por último, um estudo experimental induziu rato à isquemia e fibrilação ventricular com doses de 40 e 160mg/kg/min de nandrolona por mecanismos não elucidados (PHILLIS *et al.* 2007). Portanto mais investigações são necessárias relativas a este assunto (HALL *et al.* 2005).

Em função dos dados comportamentais sugerirem que o tratamento com EAA deva ter aumentado a ansiedade dos animais, montamos um protocolo experimental para avaliar o possível aumento da modulação autonômica simpática (SNS) no grupo tratado com EAA. Vários trabalhos já mostraram aumento da atividade do SNS em modelos de ansiedade, por exemplo: SHAJI & KULKARNI, 1998 e PETIT *et al.* 2004. Além disso, os resultados do estudo hidroeletrólítico mostraram aumento na ingestão de fluidos e, embora não avaliada, possível retenção de sódio e água nos animais sedentários tratados com EAA. Considerando que o SNA simpático exerce influência fundamental neste último processo, procuramos investigar a modulação autonômica (balanço simpato-vagal) em todos os grupos. Portanto, já que o tratamento com EAA aumentou a ansiedade e as respostas comportamentais de ingestão de fluidos, levantamos a

A avaliação da variabilidade da frequência cardíaca realizada tanto no domínio do tempo como da frequência sugeriu que o tratamento com EAA nos animais sedentários aumentou a modulação simpática e diminuiu a parassimpática, e o modelo de exercício físico utilizado aqui foi efetivo em bloquear (normalizar) essas respostas. No grupo sedentário tratado com EAA tanto RR (ms), SDNN (ms) e RMSSD (ms) foram significativamente reduzidos o que corrobora a diminuição da modulação parassimpática conforme visto por AUBERT *et al.* (2003). Na análise espectral no domínio da frequência observou-se

predomínio da modulação simpática também no grupo sedentário tratado com testosterona, sugerido pelo aumento da relação entre as potências das ondas de baixa (LF) e alta (HF) frequências (LF/HF). O exercício físico resistivo utilizado neste estudo, embora não tenha afetado de forma significativa a VFC no grupo não tratado com EAA, foi efetivo em normalizar o balanço simpato-vagal em condição de desafio da homeostase pela injeção crônica de testosterona. Pereira *et al.* (2006) demonstraram que a administração suprafisiológica de EAA, neste caso decanoato de nandrolona, alterou a regulação autonômica cardíaca com prejuízo ao controle parassimpático em ratos. Os autores ainda especulam que tais alterações na regulação autonômica cardíaca induzidas pelo EAA, podem desencadear arritmias ou morte súbita, antes que as alterações cardiovasculares se tornem evidentes.

Os grupos que receberam propionato de testosterona apresentaram os menores resultados dos pesos relativos dos testículos ($P < 0,05$) corrigidos pelo seu respectivo peso corporal (testículos/peso). Este dado sugere que, provavelmente, a atrofia testicular se deu por consequência da inibição do eixo hipotálamo-hipófise testicular pela ação do esteróide anabolizante. Assim, deve ter ocorrido inibição do hormônio liberador de gonadotrofina no hipotálamo e dos hormônios luteinizante (LH) e folículo estimulante (FSH) na hipófise em resposta ao aumento suprafisiológico de testosterona, estabelecendo, portanto, um alça de *feed-back* negativo nestes animais. Noorafshan *et al.* (2005) encontraram a mesma redução no peso testicular dos animais mas, em doses e período superiores aos do nosso protocolo de administração de EAA. Eles também sugeriram que a explicação deste resultado esteja no estabelecimento de uma alça de retroalimentação negativa, ao menos parcial, no hipotálamo e na hipófise dos ratos submetidos a este tratamento.

Os resultados de redução do peso testicular normalizado pelo peso corporal, corrobora com diversos estudos em humanos, nos quais altas doses de EAA promoveram esse efeito deletério sobre os órgãos sexuais em indivíduos do gênero masculino, causando impotência sexual (J. TORRES-CALLEJA *et al.* 2001; HARTGENS & KUIPERS, 2004; GOODMAN & GILMAN, 9ª edição). Em indivíduos do sexo masculino, a administração exógena, a partir de 15 a 150 mg ao dia, já causa significativa diminuição da testosterona plasmática, intensificam-se os efeitos feminilizantes e há atrofia testicular (DA SILVA *et al.* 2001) por tais problemas estarem associados ao desequilíbrio no eixo hipófise pituitária gonadal (HPG) (WU, 1997).

Observamos aumento significativo nos pesos do rim direito e esquerdo do grupo exercício tratado com EAA (PTexe) em relação ao seu respectivo controle (CTRexe) e o

mesmo não foi observado nos grupos sedentários (CTRsed vs. PTsed). Embora não tenhamos explicação para isso sabe-se que os anabolizantes produzem retenção de água no organismo dos animais, e talvez o aumento de peso dos rins esteja relacionado com uma sobrecarga hídrica exagerada devido a realização concomitante de exercício físico, que deve ter alterado a hemodinâmica cardiovascular e renal, propiciando este tipo de efeito. A retenção hídrica é um mecanismo freqüente em resposta a utilização de anabolizantes, pois provocam uma redução da eliminação urinária de sódio, potássio e cloro. Os efeitos desta retenção causam hipertensão arterial e a insuficiência cardíaca sendo esta última certamente favorecida por uma fibrose miocárdica induzida (HATFIELD, 1986; TAKAHASHI *et al.* 2004). Assim, estes efeitos podem ter sido amplificados pelas alterações hemodinâmicas induzidas pelo exercício (elevação do débito cardíaco, da pressão de filtração, da liberação de catecolaminas, etc.).

No estudo de Blantz *et al.* (1988), ratos tratados por seis e por 16 semanas com decanoato de nandrolona apresentaram comportamentos diferentes, ou melhor, o tratamento de seis semanas ocasionou aumento moderado proporcional dos segmentos tubulares e do glomérulo no néfron. No entanto, no tratamento de 16 semanas ocorreu aumento desproporcional, em que os segmentos tubulares e os glomérulos nos néfrons e tubulares do néfron (DUBEY *et al.* 2001).

No presente estudo não encontramos diferenças significativas no peso relativo do fígado entre os grupos experimentais. Na literatura alguns autores descrevem haver uma relação entre o desenvolvimento de tumores benignos e malignos no fígado com a utilização de EAA (WATANABE & KOBAYASHI, 1993; SOE *et al.* 1994; FRIEDL, 2000; VELAZQUEZ & ALTER, 2004), o que poderia provocar um peso aumentado. Talvez em um período maior de tratamento pudessem ocorrer tais alterações no peso relativo hepático. Estudos conduzidos por Sánchez Osorio *et al.* (2008), apresentaram resultados consistente do aumento da massa hepática, assim como elevação da deposição de colágeno hepático, após o uso prolongado de EAA. A estrutura do fígado e sua função também podem ser alteradas pela administração de anabólicos incluindo: icterícia colestática, peliose hepática, hiperplasia hepatocelular e adenoma hepatocelular (LABREE, 1991; LISE, 1999), aumento das enzimas no fígado como a aspartato aminotransferase, que pode ser observada na necrose hepática e o aumento no risco de surgimento de tumores de acordo com o tempo de exposição à droga (PAVLATOS *et al.* 2001).

Em relação ao peso relativo cardíaco não observamos diferenças significativas. Urhausen *et al.* (2004) em estudo envolvendo humanos relacionaram o uso de anabolizantes com alterações no músculo do miocárdio caracterizadas por hipertrofia do ventrículo esquerdo. Liu *et al.* (2003) também relataram hipertrofia em humanos e ratos. Além disso, trabalhos na literatura têm sido relacionados ao abuso de EAA por atletas jovens, do sexo masculino com diversos efeitos cardiovasculares adversos (FALKENBERG *et al.* 1997; FERRERA *et al.* 1997; DI BELO, 1999 & MCCARTHY, 2000). Provavelmente o protocolo de utilização de EAA do nosso estudo, não foi suficiente para induzir alterações grosseiras (peso do coração/hipertrofia cardíaca) em nosso modelo. Mas vale lembrar, que o mesmo protocolo foi suficiente para alterar o balanço simpato-vagal cardíaco em direção ao aumento da modulação simpática, importante gerador de arritmias cardíacas (HAUTALA; 2001). Assim, do ponto de vista translacional, este estudo cresce em sua importância, pois, não é rara a ocorrência de morte súbita em usuários de EAA que não apresentam quaisquer alterações cardiovasculares importantes em exames de rotina (BOWMAN, S;1990).

Dentre as alterações cardiovasculares já foi demonstrado que animais tratados com testosterona e análogos sintéticos desenvolvem hipertensão e ainda lesões renais e cardíacas (BEUTEL *et al.* 2005). O mecanismo que pode estar relacionado a estas alterações inclui o NO (óxido nítrico). Estudos demonstraram redução no relaxamento arterial em resposta à guanilato ciclase em coelhos e nitroprussiato de sódio em humanos (BEUTEL *et al.* 2005) . Há evidências em que a atividade simpática modula a hipertensão em ratos administrados com testosterona. Além disso, há alterações no barorreflexo após utilização de estanozolol, onde baixas doses aumentaram atividade fibrinolítica e altas doses demonstraram predomínio de atividade pró-trombótica (BEUTEL *et al.* 2005). Como pela literatura não há definições claras a respeito da hipertrofia cardíaca em adaptação ao exercício físico resistido, a especificidade da atividade física estruturada pode ser a razão do resultado exposto em nosso experimento.

Quanto ao peso relativo dos pulmões não observamos diferenças significativas entre os grupos do estudo. Este dado também sustenta a hipótese de que o protocolo de administração de EAA deste estudo não afeta de forma importante a hemodinâmica cardiovascular ao ponto de induzir insuficiência cardíaca congestiva ou hipertensão arterial pulmonar grave, mas é capaz de induzir a alterações sutis hidroeletrólíticas e autonômicas que podem ajudar a explicar o surgimento de mortes súbitas em usuários (atletas ou não) de EAA aparentemente saudáveis. Estudos hemodinâmicos em nosso modelo serão fundamentais para fortalecer ou não esta hipótese.

8. CONCLUSÕES

Nesse estudo, avaliamos a importância do EFR em vários aspectos, inclusive o seu papel nas alterações induzidas pelo uso de EAA. A partir dos resultados obtidos neste estudo, pode-se concluir:

Por meio de avaliações comportamentais no campo aberto, pode-se concluir que, embora o protocolo de exercício físico resistido utilizado aqui não altere de forma importante o comportamento normal de ratos, ele é suficientemente eficaz em bloquear o aumento da exploração horizontal e vertical e a diminuição do tempo de imobilidade induzidos por doses suprafsiológicas de testosterona em ratos.

Baseado nos testes no labirinto em cruz elevado pode-se concluir que o EAA não foi capaz de induzir efeitos ansiolíticos ou ansiogênicos, pelo menos no tempo de avaliação e na dose utilizados neste estudo. Da mesma forma, o protocolo de exercício físico resistido também não foi capaz de induzir estes efeitos nos ratos fisicamente ativos.

Em condições basais, o exercício físico resistido aumentou a ingestão cumulativa de água e sódio, em intervalos distintos, possivelmente em razão de uma adaptação a regulação hidroeletrólítica necessária durante a atividade física, e o uso de EAA bloqueou esta resposta adaptativa dos animais ativos fisicamente.

A avaliação da variabilidade da frequência cardíaca demonstrou que, embora o protocolo de exercício físico empregado aqui, não tenha alterado a modulação autonômica cardíaca, este foi efetivo em impedir o aumento da modulação simpática ao coração induzida pelo uso de EAA em ratos.

Nenhum dos protocolos experimentais utilizados neste estudo, nem o de tratamento com doses suprafsiológicas de testosterona nem o de exercício físico resistido foram capazes, de forma independente, alterar os pesos do coração, fígado e pulmão, bem como, o peso corporal dos animais. No entanto, quando utilizados juntos, i.e., exercício + EAA, estes foram capazes de aumentar o peso relativo dos rins provavelmente devido a alterações sinérgicas na hemodinâmica e morfologia renais.

Em suma, protocolos experimentais como os empregados nesse estudo devem prosseguir a fim de que novos estudos tragam respostas mais incisivas às lacunas existentes.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AITKE, JM; LINDSAY, R.; HART, DM The redistribution of body sodium in women on long-term oestrogen therapy. **Clin Sci Mol Med** 47: 179-187; 1974.

AKSELROD S., et al. Power spectrum analysis of heart rate fluctuation: a quantitative probe of beatto-beat cardiovascular control. **Science Wash DC**; v. 213, p. 220-222, 1981.

AMARAL, S.L and MICHELINI, L.C. Sistema cardiovascular no exercício. **In: Tirapegui J. Nutrição**, metabolismo e suplementação na atividade física. São Paulo: Atheneu, p. 229-242, 2005.

AMARAL, S.L, ZORN, T.M.T. and MICHELINI, L.C. Exercise training normalizes wall-tolumen ratio of the gracilis muscle arterioles and reduces pressure in spontaneously hypertensive rats. **J hypertens**, v. 18, p. 1563-1572, 2000.

ANDERSON CM & SWANSON RA. Astrocyte glutamate transport: review of properties, regulation, and physiological functions. **Glia** 32:1-14, 2000.

ANNITTO, W.J. & LAYMAN, W.A. Anabolic steroids and acute schizophrenic episode. **J.Clin. Psychiat.** 41:143-144, 1980.

APOR, P, TIHANYI, J, BORKA, P. Improving of muscle mass and force in rehabilitation of heart-lung patients. Aerobic interval training, resistance-exercises, excentric exercises, vibration. **Orv Hetil**, v.146, n. 38, p. 1971-1975, 2005.

ARCHER, J. 1973 Tests for emotionality in rats and mice: a review. **Anim Behav.** May; 21(2): 205-35, 1973.

ASSUNÇÃO, S.S.M. Muscle dysmorphia. **Rev.Bras.Psiquiatr.** 24:80-84, 2002.

AUBERT AE, SEPS B, BECKERS F. Heart rate variability in athletes. **Sports Med.** 33(12):889-919, 2003.

BADAUÊ-PASSOS, D. Jr.; VENTURA, R. R.; SILVA L. F. S.; OLIVARES, E. L. & REIS, L. C. Effect of brain serotonergic stimulation on sodium appetite of euthyroid and hypothyroid rats. **Exp Physiol**, 88: 251-260, 2003.

BAHRKE MS, YESALIS CE, KOPSTEIN AN, STEPHENS JA. Risk factors associated with anabolic-androgen steroid use among adolescents. **Sports Med** 29: 397–405, 2000.

BAHRKE MS, YESALIS CE, BROWER KJ. Anabolic androgenic steroid abuse and performance-enhancing drugs among adolescents. **Child Adolesc Psychiatr Clin N Am** 7(4):821-38, 1998.

BALDO-ENZI G, GIADA F, ZULIANI G, BARONI L, VITALE E, ENZI G et al. Lipid and apoprotein modifications in body builders during and after self administration of anabolic steroids. **Metabol.** 30(2):203-8, 1990.

BANNERMAN DAVID M, ARIANPOUR ROOZBEH, DEACON ROBERT MJ, SEEBURG PETER H, SPRENGEL ROLF, RAWLINS J NP, AND SCHMITT WOLFRAM B. The role of hippocampal glutamate receptor-A-dependent synaptic plasticity in conditional learning: the importance of spatiotemporal discontinuity. **J Neurosci**, 24(33):7277-82. 2004.

[BARFIELD](#) RJ, BUSCH DE & WALLEN K Gonadal influence on agonistic behavior in the male domestic rat. **Horm Behav.** Sep;3(3):247-59. 1972.

BARROS, H.M.T. et al. The effects of GABAergic drugs on grooming behavior in the open field. **Pharmacology e Toxicology**. v. 74, p. 339-344. 1994.

BASARIA et al. Anabolic-Androgenic Steroid Therapy in the Treatment of Chronic Diseases. **J Clin Endocrinol Metab**, November, 86(11):5108–5117, 2001.

BAUMAN, D.H.; RICHERSON, J.T. and BRITT A.L. A comparison of body and organ weights, physiologic parameters, and pathologic changes in target organs of rats given

combinations of exercise, anabolic hormone, and protein supplementation. **Am. J. Sports Med.** 16, 397–402, 1988.

BERTOGLIO, L. J., ANZINI, C., LINO DE OLIVEIRA, C. and CAROBREZ, A.P. Enhanced dorsolateral periaqueductal gray counteracts the anxiolytic response to midazolam on the elevated plus maze Trial 2 in rats. **Behavioural Brain Research.** 162, 99-107, 2005.

BEUTEL, A.; BERGAMASCHI, C. T.; CAMPOS, R. B. Effects of chronic anabolic steroid treatment on tonic and reflex cardiovascular control in male rats. **Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology.** N. 93, p. 43–48. 2005.

BEUTEL A, BERGAMASCHI CT, CAMPOS RR. Effects of chronic anabolic steroid treatment on tonic and reflex cardiovascular control in male rats. **J Steroid Biochem Mol Biol.** 93(1): 43, 2005.

BIANCO AC, RABELO R. Introdução à fisiologia endócrina. **In: Aires MM. Fisiologia. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan 65, p.741-65, 1999.**

BIGGER JT JR, et al. Frequency domain measures of heart period variability and mortality after myocardial infarction. **Circulation**, v.85, p. 164-171, 1992

BING O, HEILIG M, KAKOULIDIS P, SUNDBLAD C, WIKLUND L, ERIKSSON E. High doses of testosterone increase anticonflict behaviour in rat. **Eur Neuropsychopharmacol.** 321–3, 1998.

BITRAN D, KELLOGG CK and HILVERS RJ. Treatment with an anabolicandrogenic steroid affects anxiety-related behavior and alters the sensitivity of cortical GABA A receptors in the rat. **Horm Behav.** 27:568–83, 1993.

BLANCHARD, CAROLINE, D.; GRIEBEL, G.; BLANCHARD, ROBERT J. Mouse defensive behaviors: pharmacological and behavioral assays for anxiety and panic. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews.** v.25, p. 205- 218. 2001.

BLANTZ RC, PETERSON OW, BLANTZ ER, WILSON CB. Sexual differences in glomerular ultrafiltration: effect of androgen administration in ovariectomized rats. **Endocrinology**. 122(3):767-73, 1988.

BLAZER-YOST, BL & COX, M Insulin-like growth factor 1 stimulates renal epithelial Na⁺ transport. **Am J Physiol** 255: 413-417; 1988.

BOOTH, R. E.; JOHNSON, J. P. & STOCKAND, J. D. Aldosterone. **Adv Physiol Educ**, 4: 8-20. 2002.

BOWMAN, S. Anabolic steroids and infarction. **BMJ**. March 17; 300 (6726): 750, 1990.

[BREUER](#) ME, MCGINNIS MY, LUMIA AR & POSSIDENTE BP. Aggression in male rats receiving anabolic androgenic steroids: effects of social and environmental provocation. **Horm Behav**. Nov;40(3):409-18. 2001.

BRIDGES, MANN AND COPPETA. Hypothalamic Involvement in the Regulation of Maternal Behaviour in the Rat: Inhibitory Roles for the Ventromedial Hypothalamus and the Dorsal/Anterior Hypothalamic. **Journal of Neuroendocrinology**, 11: 259–266, 1999.

BRONSON FH. Effects of prolonged exposure to anabolic steroids on the behavior of male and female mice. **Pharmacol Biochem Behav** 53(2):329–34, 1996.

BROOKS JH and REDDON JR. Serum testosterone in violent and nonviolent young Offenders. **J Clin Psychol** 52:475–473, 1996.

BROWER, K J. Anabolic steroids. **Psychiatr Clin North Am**. 16(1):97-103; 1993.

BUCKLEY, WE; YESALIS, CE; FRIEDL, KE et al. Estimated prevalence of anabolic steroid use among high school seniors. **JAMA** . 260:3441-3445, 1988.

BUDDENBERG TE, KOMOROWSKI M, RUOCCO LA, SILVA MA, TOPIC B. Attenuating effects of testosterone on depressive-like behavior in the forced swim test in healthy male rats. **Brain Res Bull.** 79(3-4):182-6; 2009.

BUONINCONTI, R. The juxtaglomerular apparatus: physiopathology and clinical aspects of renin-angiotensin system. **Recenti Prog Med.** Aug;41(2):81-165, 1966.

BURGUERA, B., MURUAIS, C., PENALVA, A., DIEGUEZ, C., CASANUEVA, F. Dual and selective action of glucocorticoids upon basal and stimulated growth hormone release in man. **Neuroendocrinology**, v.51, p.51-8, 1990.

CARLINI, E.A.; GALDURÓZ, J.C.; NOTO, A.R.; CARLINI, C.M.; OLIVEIRA, L.G.; NAPPO, S.A.; MOURA, Y.G.; SANCHEZ, Z.V.D.M. - II Levantamento domiciliar sobre o uso de drogas psicotrópicas no Brasil: estudo envolvendo as 108 maiores cidades do país. **CEBRID** v. 01. p. 472; 2005.

CARSON, J.A. et al. Steroid receptor concentration in age rat hindlimb muscle: Effect of anabolic steroid administration. **J. Applied Physiol.** 93:242-250, 2002.

CATLIN DH, MURRAY TH. Performance-enhancing drugs, fair competition and Olympic sport. **JAMA** 276:231-7, 1996.

CAVALCANTE-LIMA, H. R.; BADAUÊ-PASSOS, D. Jr.; DE-LUCCA, J. R. W.; LIMA, H. R. C.; COSTA-e-SOUSA, R. H.; OLIVARES, E. L.; CEDRAZ-MERCEZ, P. L.; REIS, R. O; MEDEIROS, M. A.; CÔRTEZ, W. S. & REIS, L. C. Chronic excitotoxic lesion of dorsal raphe nucleus induces sodium appetite. **Braz J Med Biol Res**, 38: 1669-1675. 2005^a.

CAVALCANTE-LIMA, H. R.; LIMA, H. R. C.; COSTA-e-SOUSA, R. H.; OLIVARES, E. L.; CEDRAZ-MERCEZ, P. L.; REIS, R. O.; BADAUÊ-PASSOS, D. Jr.; DE-LUCCA, J. R. W.; MEDEIROS, M. A.; CÔRTEZ, W. S. & REIS, L. C. Dipsogenic stimulation in ibotenic DRN-lesioned rats induces concomitant sodium appetite. **Neurosci Lett**, 374: 5-10, 2005b.

CEJUDO P et al. Exercise training in mitochondrial myopathy: a randomized controlled trial. **Muscle Nerve**. 32(3):342-50, 2005.

CELOTTI F, CESI PN. Anabolic steroids: a review of their effects on the muscle, of their possible mechanisms of action and of their use in athletics. **J Steroid Biochem Mol Biol**. 43(5):469-77, 1992.

CHESS GF, TAM RMK, CALARESU FR. Influence of cardiac neural inputs on rhythmic variations of heart period in the cat. **AM J PHYSIOL** 228:775–8, 1975.

CHIN, E.; ZHOU, J.; BONDY, CA Renal growth hormone receptor gene expression: relationship to renal insulin-like growth factor system. **Endocrinology** 131:3061-3066; 1992.

[CHRISTIE MH](#) & [BARFIELD RJ](#). Effects of aromatizable androgens on aggressive behaviour among rats (*rattus norvegicus*). **J Endocrinol**. Oct;83(1):17-26. 1979.

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

CLARK AS, HARROLD EV, FAST AS. Anabolic-androgenic steroid effects on the sexual behavior of intact male rats. **Horm Behav** 31:35–46; 1997.

CLARK AS and FAST AS. Comparison of the effects of 17 α -methyltestosterone, methandrostenolone, and nandrolone decanoate on the sexual behavior of castrated male rats. Behav Neurosci 110(6):1478–86, 1996.

CLARK, S. & HENDERSON, L. Behavioral and physiological responses to anabolic-androgenic steroids. Neuroscience & Biobehavioral Reviews. Volume 27, Issue 5, August, Pages 413–436, 2003.

CONCEIÇÃO CA, WANDER FS, MASSILI LP, VIANNA LAF, GONÇALVES DM, FOSSATI G. Uso de anabolizantes entre praticantes de musculação em academias. **Revista Pesquisa Médica** 33:103-16, 1999.

[COOPER, CJ](#) et al. A high prevalence of abnormal personality traits in chronic users of anabolic-androgenic steroids. **Br J Sports Med.** 30(3):246-50. 1996.

CORRIGAN B. Anabolic steroid and the mind. **Med J Aust.** 165:222-6, 1996.

COSTA ROSA, L.F. Exercise as a time-conditioning effector in chronic disease: a complementary treatment strategy. *Evid Based Complement Alternat Med* 1:63–70, 2004.

CRUZ, ANTÔNIO PEDRO DE MELLO; JÚNIOR, HÉLIO ZAGROSSI; GRAEFF, FREDERICO GUILHERME; LANDEIRA-FERNANDEZ, J. Modelos Animais de Ansiedade: Implicações Para a Seleção de Drogas Ansiolíticos. **Psicologia: Teoria e Pesquisa.** Vol.13 n3. p. 269-278. Set-Dez 1997

CUNHA TS, MOURA MJ, BERNARDES CF, TANNO AP, MARCONDES FK. Vascular sensitivity to phenylephrine in rats submitted to anaerobic training and nandrolone treatment. **Hypertension** 46(4):1010-5, 2005.

CUNNINGHAM, RL and MCGINNIS, MY. Prepubertal social subjugation and anabolic androgenic steroid-induced aggression in male rats. **J Neuroendocrinol.** Aug;20(8):997-1005, 2008.

[DANBOLT](#) NC, HAZELL AS, RAO KV, POW DV & BUTTERWORTH RF. Selective down-regulation of the astrocyte glutamate transporters GLT-1 and GLAST within the medial thalamus in experimental Wernicke's encephalopathy. **J Neurochem.** Aug;78(3):560-8. 2001.

DA SILVA PRP, CZEPIELEWSKI MA. Uso de agentes esteróides anabólicos, estimulantes, diuréticos, insulina e GH em amostra de praticantes de musculação de Porto Alegre. **Revista Brasileira de Toxicologia** 14 (Supl):71, 2001.

DAVIS, J. O. & FREEMAN, R. H. Mechanisms regulating renin release. **Physiol Rev,** 56:1-56. 1976.

DE ANGELIS K, WICHI RB, JESUS WRA, MOREIRA ED, MORRIS M, KRIEGER EM, IRIGOYEN MC. Exercise training changes autonomic cardiovascular balance in mice. **Journal of Applied Physiology**, v.96, p.2174-2178, 2004.

DE LEON, K.R., GRIMES, J.M., CONNOR, D.F., MELLONI, R.H. Adolescent cocaine exposure and offensive aggression: involvement of serotonin neural signaling and innervation in male Syrian hamsters. **Behav. Brain Res.** 133 (2), 211–220, 2002a.

DE LEON, K.R., GRIMES, J.M., MELLONI, R.H. Repeated anabolic–androgenic steroid treatment during adolescence increase vasopressin V1A receptor binding in Syrian hamsters: correlation with offensive aggression. **Horm. Behav.** 42, 182–191, 2002b.

DE ROSE EH, NÓBREGA ACL. Drogas lícitas e ilícitas. **In: Ghorayeb N, Barros TO. Exercício.** São Paulo: Atheneu, 395-405, 1999.

DI BELO V, GIORGI D, BIANCHI M, BERTINI A, CAPUTO MT, VALENTI G, et al. Effects of anabolic-androgenic steroids on weight-lifters' myocardium: an ultrasonic videodensitometric study. **Med Sci Sports Exerc** 31: 514-21, 1999.

DOBS AS. Is there a role for androgenic anabolic steroids in medical practice? **JAMA** 281:1326-27, 1999.

DOS REIS, AF et al. Disfunção Parassimpática, Variabilidade da Frequência Cardíaca e Estimulação Colinérgica após Infarto Agudo do Miocárdico. **Arq Bras Cardiol** vol. 70, (nº 3), 1998.

DUBEY, R. & JACKSON, E. Estrogen-induced cardiorenal protection: potential cellular, biochemical and molecular mechanisms. **Am J Physiol Renal Physiol** 280: 365–388, 2001.

DUNCAN, N.D.; DAVID A. W.; GORDON, S. L. – Adaptations in rat skeletal muscle following long-term resistance exercise training. **Eur J Appl Physiol** 77:372-378,1998.

DURANT RH, ESCOBEDO LG, HEATH GW. Anabolic-steroid use, strength training, and multiple drugs use among adolescents in the United States. **Pediatrics** 96:23-8, 1995.

ELLISON, KE; INGELFINGER, JR; PIVOR, M; DZAU, VJ. Androgen regulation of rat renal angiotensinogen messenger RNA expression. **J Clin Invest** 83: 1941-1945, 1989.

[EVANS](#) NA. Current concepts in anabolic-androgenic steroids. **Am J Sports Med.** Mar;32(2):534-42, 2004.

FAIGENBAUM AD, ZAICHOWSKY LD, GARDNER DE, MICHELI LJ. Anabolic steroid use by male and female middle school students. **Pediatrics** 101:1-6, 1998.

FALKENBERG M, KARLSSON J, ÖRTENWALL P. Peripheral arterial thrombosis in two young men using anabolic steroids. **Eur J Vasc Endovasc Surg** 13:223-6, 1997.

FARRELL SF & MCGINNIS MY. Long-term effects of pubertal anabolic-androgenic steroid exposure on reproductive and aggressive behaviors in male rats. **Horm Behav.** Aug;46(2):193-203, 2004.

FERENCHICK GS. Anabolic/androgenic steroid abuse and thrombosis: is there a connection? **Med Hypotheses** 35:27-31, 1991.

FERRARA, N. Vascular endothelial growth factor: molecular and biological aspects. **Curr Top Microbiol Immunol**, v. 237, p. 1-29, 1999.

FERRERA PC, PUTNAM DL and VERDILE VP. Anabolic steroid use as the possible precipitant of dilated cardiomyopathy. **Cardiology** 88:218-20, 1997.

FERRARI, C. Abuso de hormônios esteróides anabólicos: O que não contaram para você! **SaBios: Rev. Saúde e Biol.**, v.6, n.3, p.59-69, set./dez., 2011.

FISCHER, S.G., RICCI, L.A., & MELLONI, R.H. Repeated anabolic-androgenic steroid exposure during adolescence alters phosphate-activated glutamase and glutamate receptor 1

(GluR1) subunit immunoreactivity in hamster brain: Correlation with offensive aggression. **Behavioral Brain Research**. 180, 77-85, 2007.

FITZSIMONS, J. T. Angiotensin, thirst, and sodium appetite. **Physiol Rev**, 78: 583-686, 1998.

FITZSIMONS, J. T. Physiology and Pathology of thirst and sodium appetite. In: SELDIN DW; GIEBISCH G (Eds). **The kidney: physiology and pathophysiology**. New York: Raven Press, P 885-901,1985.

FOSTER, M.T., SOLOMON, M.B., HUHMAN, K.L., BARTNESS, T.J., 2006 May. Social defeat increases food intake, body mass, and adiposity in Syrian hamsters. **American Journal Physiology Regulation Integration and Comparative Physiology**; n.290, v.5, p.1284-93. 2005.

FRIEDLL, K.E. Effect of anabolic steroids on physical health. In: YESALIS, C.E. (Ed). **Anabolic Steroids in Sports and Exercise, Champaign**. p.175-225, 2000.

FRIEDL, R.; BRUNNER, M.; MOESLINGER, T. and Spieckermann, PG. **Life Sci** 68: 417-429, 2000.

FRONTERA WR, MEREDITH CN, O'REILLY KP, KNUTTGEN HG, EVANS WJ. Strength conditioning in older men: skeletal muscle hypertrophy and improved function. **J Appl Physiol**. 64: 1038-1044, 1988.

FURLAN *et al*. Continuous 24-hour assessment of the neural regulation of systemic arterial pressure and RR variabilities in ambulant subject. **Circulation**. *Vol. 81:537-547, 1990*.

GALVÃO, D.A. and TAAFFE, D.R. Resistance exercise dosage in older adults: single-versus multiset effects on physical performance and body composition. **J Am Geriatr Soc**. 53(12):2090-7, 2005.

GANTEN. D. & STOCK, G. Humoral and neurohormonal aspects of blood pressure regulation: focus on angiotensin. **Klin Wochenschr**, 1:31-41. Review. 1978.

GLAZER G. Atherogenic effects of anabolic steroids on serum lipid levels. **Arch Internal Med**. 151(10):1925-33, 1991.

GONZALEZ BADILLO, I.J.; AYESTARÁN, E.S. Fundamentos do Treinamento de Força: aplicação ao alto rendimento desportivo. **Artmed** 94-98, 2001.

GOODMAN & GILMAN. As Bases Farmacológicas da Terapêutica. **Editora Artmed** 9ª Edição. 1996.

GRAEFF, F. G. AND GUIMARÃES, F. S. Fundamentos de Psicofarmacologia. **1º Edição. Editora Atheneu**. São Paulo, pp: 123-160. 2000.

GUISELINI, MAURO. Aptidão Física saúde bem-estar: Fundamentos teóricos e exercícios práticos. **Phorte** 2ª Ed. – São Paulo: 2006.

GUYTON, Arthur C., HALL, John E.. **Tratado de Fisiologia Médica**. 10ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara. p. 312-318. 2002.

GUZMAN et al. Treatment with anabolic steroids increases the activity of the mitochondrial outer carnitine palmitoyltransferase in rat liver fast twitch muscle. **Biochemical Pharmacology** 41 (5): 833-835, 1991.

HALLBERG, M et al. Anabolic-androgenic steroids affect the content of substance P and substance P (1-7) in the rat brain. **Peptides**. 21(6):845-52, 2000.

HALL, C.S. Temperament: A survey of animal studies. **Psycholl Bull** v.38 p.909-943, 1941.

HALL, RYAN C. W.; HALL, RICHARD C. W.; CHAPMAN, MARCIA Psychiatric Complications of Anabolic Steroid Abuse. **J.Psychosomatics: Journal of Consultation Liaison Psychiatry**, Vol 46(4), Jul-Aug 2005

HANDLEY, S. L. AND S. MITHANI. Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of 'fear'-motivated behavior. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**. n.327, v.1. p.1-5. 1984.

HARDMAN JG, GILMANN AG, LINBIRD LE, EDITORS. GODMAN AND GILMAN'S. **The pharmacological basis of therapeutics**. New York: McGraw-Hill, 1996.

HARRISON G. POPE, JR Anabolic–Androgenic Steroids as a Gateway to Opioid Dependence **N Engl J Med** **342:15-32, 2000**.

HARTGENS F, RIETJENS G, KEIZER HA, KUIPERS H, WOLFFENBUTTEL BH. Effects of androgenic-anabolic steroids on apolipoproteins and lipoprotein (a). **Br J Sports Med** 38(3):253-9, 2004.

HARTLEY JE AND FLETCHER A. The effects of WAY-100135 and 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin on feeding in the rat. **Eur J Pharmacol** 252:329–332, 1994.

HATFIELD, F. C. Esteróides anabólicos. **Editora Sprint**, v. 4, n. 6, p. 246 - 256, 1986.

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

HEYWARD V.H. Designing resistance training programs Advanced fitness assessment and exercise prescription. **Human Kinetics** 3.ed. Champaign, illinois,, p 121 – 144, 1998.

HICKSON, RC and KUROWSKI, TG. Anabolic steroids and training. **Clin Sports Med** 5(3):461, 1986.

HORNBERGER TA, MCLOUGHLIN TJ, LESZCZYNSKI JK, ARMSTRONG DD, JAMESON RR, BOWEN PE, HWANG ES, HOU H, MOUSTAFA ME, CARLSON BA, HATWELD DL, DIAMOND AM, ESSER KA. Selenoprotein-deficient transgenic mice exhibit enhanced exercise-induced muscle growth. **J Nutr** 133:3091–3097, 2003.

HUNTER, I., HOPKINS, J. and FELAND, J. "A comparison of four methods of calculating vertical stiffness in distance running." **Medicine and Science in Sports and Exercise**. Vol. 37. S-345, 2005.

IKKOS, D.; LUFT, R.; SJÖGREN, B. Body water sodium in patients with acromegaly. **J Clin Invest** 33: 989-994; 1954.

INGELFINGER, JR; ZUO, WM; FON, EA; ELLISON, KE; DZAU, VJ. In situ hybridization evidence for angiotensinogen messenger RNA in the rat proximal tubule. An hypothesis for the intrarenal rennin angiotensin system. **J Clin Invest** 85: 417-423, 1990.

IRIART, JORGE ALBERTO BERNSTEIN; ANDRADE, TARCÍSIO MATOS. Body-building, steroid use, and risk perception among young body-builders from a low-income neighborhood in the city of Salvador, Bahia State, Brazil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 18(5):1379-1387, set-out, 2002.

JILL M. GRIMES, LESLEY A. RICCI, AND RICHARD H. MELLONI JR. Plasticity in Anterior Hypothalamic Vasopressin Correlates With Aggression During Anabolic–Androgenic Steroid Withdrawal in Hamsters. **Behavioral Neuroscience**. Vol. 120, No. 1, 115–124, 2006.

JILL M. GRIMES and RICHARD H. MELLONI JR Prolonged Alterations in the Serotonin Neural System Following the Cessation of Adolescent Anabolic–Androgenic Steroid Exposure in Hamsters (*Mesocricetus auratus*). **Behavioral Neuroscience**. Vol. 120, No. 6, 1242–1251, 2006.

JILL M. GRIMES and RICHARD H. MELLONI JR. Serotonin modulates offensive attack in adolescent anabolic steroid-treated hamsters. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**. 73: 713 – 721, 2002.

JOHANSSON, C., AHLENIUS, S. Evidence for the involvement of 5-HT1A receptors in the mediation of exploratory locomotor activity (LMA) refers to the movement from place to place. In psychopharmacology, locomotor activity of lab animals is often monitored to assess

the behavioural effects of these drugs. in the rat. **Journal. Psychopharmacology.** n.3, p.32-35. 1989.

JORDAN, J.; SHANNON, J.R.; BLACK, B. K.; ALI, Y.; FARLEY, M.; COSTA, F.; DIEDRICH, A.; ROBERTSON, R.M.; BIAGGIONI, I.; ROBERTSON, D. The Pressor Response to Water Drinking in Humans: A Sympathetic Reflex? **Circulation**, 101:504-509; 2000.

J. TORRES-CALLEJA, M. GONZÁLEZ-UNZAGA, R. DECELIS-CARRILLO, L. CALZADA-SÁNCHEZ AND N. PEDRÓN. Effect of androgenic anabolic steroids on sperm quality and serum hormone levels in adult male bodybuilders. **Life Sciences.** 68: 1769–1774, 2001.

KACSOH, B., MEYERS, J.S., CROWLEY, W.R., GROSVENOR, C.E. Maternal modulation of growth hormone secretion in the neonatal rat: involvement of mother-infant interactions. **Journal Endocrinology.**, v.40, p.224-33, 1990.

KAWACO, Y.; SUDO, R.T.; FERRARO, C.M. Effects of chronic intraventricular sodium on blood pressure and fluid balance. **Hypertension**, 17, p. 28-35, 1992.

KANAYAMA et al. Issues for DSM-V: Clarifying the Diagnostic Criteria for Anabolic-Androgenic Steroid Dependence. **Am J Psychiatry** 166: 642-645, 2009.

KANAYAMA G, GRUBER AJ, POPE JR HG, BOROWIECKI JJ, HUDSON JI. Over the counter drug use in gymnasiums: an underrecognized substance abuse problem? **Psychother Psychosom** 70:137-40, 2001.

KASHKIN, K.B. & KLEBER, H.D. Hooked on hormones? An anabolic steroid addiction hypothesis. **J.Am.Med.Assoc** 262: 3166-3170, 1989.

KASIKCIOGLU E, OFLAZ H, ARSLAN A, TOPCU B, KASIKCIOGLU HA, UMMAN B et al. Aortic elastic properties in athletes using anabolic-androgenic steroids. **Int J Cardiol.** 114910;132-4, 2007.

KATER, C. E.; BIGLIERI, E. G.; BRUST, N.; CHANG, B. & HIRAI, J. Regulation of the mineralocorticoid hormones in adrenocortical disorders with adrenocorticotropin excess. **Clin Exp Hypertens A.** 10:1749-58. 1982.

KATZ DL, POPE HG JR. Anabolic-androgenic steroid-induced mental status changes. **NIDA Res Monogr.** 102:215-23, 1990.

KATZUNG, B.G. **Farmacologia: básica e clínica.** Guanabara Koogan 609-611, 2003.

KAZLAUCKAS, V. et al. Distinctive effects of unpredictable subchronic stress on memory, serum corticosterone and hippocampal BDNF levels in high and low exploratory mice. **Behavioural Brain Research.** v. 218 pages 80-86, 2011.

KELLEY, G.A, KELLEY, K.S, Z, Vu. Tran. Aerobic exercise, lipids and lipoproteins in overweight and obese adults: a meta-analysis of randomized controlled trials. **Int J Obesity,** v. 29, p. 881-893, 2005.

KICMAN, AT. Pharmacology of anabolic steroids. **Br J Pharnacol.** 154 (3): 502-521.

KINDLUNDH, AMS; LINDBLOM, J and NYBERG, F. Chronic administration with nandrolone decanoate induces alterations in the gene-transcript content of dopamine D(1)- and D(2)-receptors in the rat brain. **Brain Res** 979:37-42, 2003.

KINDLUNDH, A.M.S.; JONAS, LINDBLOM; LENA, BERGSTRÖM; JARL, E. S. WIKBERG and FRED, NYBERG. The anabolic-androgenic steroid nandrolone decanoate affects the density of dopamine receptors in the male rat brain. **The European journal of neuroscience.** 13(2):291-6, 2001.

KINDLUNDH AMS, ISACSON DGL, BERGLUND L, NYBERG F. Factors associated with adolescent use of doping agents: anabolic-androgenic steroids. **Addiction** 94:543-53, 1999.

KITNEY, R.I.; ROMPELMAN O. The Study of Heart Rate Variability. London: **Oxford Clarendon**; 457p. 1980.

KLEIGER RE, MILLER JP, BIGGER JT JR AND MOSS, AJ. Decreased heart-rate-variability and its association with increased mortality after acute myocardialinfarction. **Am J Cardiol** 59: 256–262, 1987.

KOCHAKIAN, CD. History, chemistry and pharmacodynamics of anabolic-androgenic steroids. **Wien Med Wochenschr.** 143(14-15):359-63, 1993.

KOUVELAS, DIMITRIOS et al. Nandrolone abuse decreases anxiety and impairs memory in rats via central androgenic receptors. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 11, p. 925-934, 2008.

KRISTINA MAGNUSSON et al. Nandrolone decanoate administration elevates hippocampal prodynorphin mRNA expression and impairs Morris water maze performance in male rats. **Neuroscience Letters** 467:189–193, 2009.

KUHN CM. Anabolic steroids. **Recent Prog Horm Res.** 57:411-34, 2002.

KUTSCHER et al. Anabolic Steroids. **A Review for the Clinician.** **Sports Med** 32 (5): 285-296, 2002.

KYROU, I., TSIGOS, C. Stress mechanisms and metabolic complications. **Horm Metab Res.**, v.39, p.430-8, 2007.

LABREE, M. A. A review of anabolic steroids: uses and effects. **J Sport Med Phys Fit**, v. 31, n. 4, p. 618 - 626, 1991.

LE GREVÈS P, HUANG W, JOHANSSON P, THÖRNWALL M, ZHOU Q & NYBERG F. Effects of an anabolic-androgenic steroid on the regulation of the NMDA receptor NR1, NR2A and NR2B subunit mRNAs in brain regions of the male rat. **Neurosci Lett.** Apr 18;226(1):61-4. 1997.

LEWANDOWSKI, MAIELE BERTOLDO. Leptina: mecanismos de ação na obesidade. Centro Universitário Franciscano. Santa Maria, RS: 2006. Disponível em: <<http://www.nutricaoativa.com.br/arquivos/monografia6.pdf>> Acesso em: 30 março 2012.

LIMA, F. F. T. Esteróides Anabolizantes. **Centro de Estudos e Pesquisas da Psicologia do Esporte**. Disponível em: <<http://www.ceppe.com.br>> Acesso em 30 de março de 2012.

LINDQVIST, A. S. Anabolic androgenic steroid affects competitive behaviour, behavioural response to ethanol and brain serotonin levels. **Behavioural Brain Research**, 133: 21-29; 2001.

LISE, MLZ et al. O abuso de esteróides anabólicos androgênicos em atletismo. **Rev Ass Med Brasil**. 45(4):364-370, 1999.

LITWACK G, SCHIMIDT TJ. Biochemistry of hormones II: steroids hormones. In: Devlin TM, editor. **Textbook of biochemistry with clinical correlations**. New York: Wiley-Liss 893-918, 1997.

LIU PY, DEATH AK, HANDELSMAN DJ Androgens and cardiovascular disease. **Endocr Rev** 24:313–340, (2003a).

LIU PY, YEE BJ, WISHART SM, JIMENEZ M, JUNG DG, GRUNSTEIN RR, HANDELSMAN DJ The short-term effects of high dose testosterone on sleep, breathing and function in older men. **J Clin Endocrinol Metab** 88:3605–3613, (2003b).

[LUKAS](#) SE. CNS effects and abuse liability of anabolic-androgenic steroids. **Annu Rev Pharmacol Toxicol**. 36:333-57. 1996.

LUKE et al. Bioavailability assessment of cyclosporine in the rat. Influence of route of administration. **Drug Metab Dispos** March, 18:158-162, 1990.

LUMIA, A. R., THORNER, K. M., and MCGINNIS, M. Y. Effects of chronically high doses of the anabolic androgenic steroid, testosterone, on intermale aggression and sexual behavior in male rats. **Physiol. Behav.** 55, 331–335, 1994.

MACFARLAND, C., & W. G. REEDER. Cleaning symbiosis involving Galapagos tortoises and two species of Darwin's finches. **Z. Tierpsychol.** n.34, p.464-483. 1974.

MALIK M, CAMM J - Components of heart rate variability - what they really mean and what we really measure. **Am J Cardiol** 72: 821-2, 1993.

MANGER, T. A., & MOTTA, R. W. The impact of an exercise program on posttraumatic stress disorder, anxiety, and depression. **International Journal of Emergency Mental Health**, 7, 49 –57, 2005.

MARAVELIAS, C., DONA, A., STEFANIDOU, M. & SPILIOPOULOU, C. Adverse effects of anabolic steroids in athletes: a constant threat. **Toxicology Letters.** 158, 2005.

MARTIN JA, ELMER E. Battered children grown up: a follow-up study of individuals severely maltreated as children. **Child Abuse Negl** 16: 75–87, 1992.

MARTÍNEZ-SANCHIS S, BRAIN PF, SALVADOR A, SIMON VM. Long-term chronic treatment with stanozolol lacks significant effects on aggression and activity in young and adult male laboratory mice. **Gen Pharmacol** 27(2):293–8, 1996.

MARTÍNEZ-SANCHIS S, ARAGON CM, SALVADOR A. Cocaine-induced locomotor activity is enhanced by exogenous testosterone. **Physiol Behav** 2002;76:605–9.

MCARDLE ED, KATCH FI, KATCH VL. Fisiologia do exercício: energia, nutrição e desempenho humano. 6ª ed. Rio de Janeiro. **Guanabara Koogan**, 2008.

MCCARTHY K, TANG ATM, DALRYMPLE-HAY MJR, HAW MP. Ventricular thrombosis and systemic embolism in bodybuilders: etiology and management. **Ann Thorac Surg** 70:658-60, 2000.

[MCGINNIS, MY](#). Anabolic androgenic steroids and aggression: studies using animal models. **Ann N Y Acad Sci.** 1036:399-415, 2004.

[MCGINNIS](#) MY, LUMIA AR, BREUER ME & POSSIDENTE B. Physical provocation potentiates aggression in male rats receiving anabolic androgenic steroids. *Horm Behav.* Feb;41(1):101-10. 2002.

McINTYRE, KL; PORTER, DM and HENDERSON, LP. Anabolic androgenic steroids induce age-, sex-, and dose-dependent changes in GABA_A receptor subunit mRNAs in the mouse forebrain. **Neuropharmacology** 43:634–645, 2002.

MELCHERT, RB & WELDER, AA. Cardiovascular effects of androgenic-anabolic steroids. **Medicine and Science in Sports and Exercise** 27(9):1252-62, 1995.

MICHELAKIS, AM; YOSHIDA, H.; DORMOIS, JC Plasma rennin activity and plasma aldosterone during the normal menstrual cycle. **Am J Obstet Gynecol** 123: 724-726; 1975.

MINKIN DM, MEYER ME, VAN HAAREN F. Behavioral effects of longterm administration of an anabolic steroid in intact and castrated male Wistar rats. **Pharmacol Biochem Behav** 44:959–63, 1993.

MIRCOLI, L.; FEDELE, L.; BENETTI, M.; BOLLA, G. B.; RADAELLI, A.; PERLINI, S.; FERRARI, A. U. Preservation of the baroreceptor heart rate reflex by chemical sympathectomy in experimental heart failure. **Circulation.** v. 106, p. 866 - 872, 2002.

MOLLER, J.; MOLLER, N.; FRANDBSEN, E.; WOLTERS,T.; JORGENSEN, JOL; CHRISTIANSEN, JS Blockade of the rennin-angiotensin-aldosterone system prevents growth hormone induced fluid retention in humans. **Am J Physiol** 272: 803-808; 1997.

MOLLER, J.; JORGENSEN, JOL.; MARQVERSEN, J.; FRANDBSEN, E.; CHRISTIANSEN, JS Insulin-like growth factor 1 administration induces fluid and sodium retention in healthy adults: possible involvement of rennin and atrial natriuretic factor. **Clin Endocrinol** 52:181-186; 2000.

MONTGOMERY HE, CLARKSON P, DOLLERY CM, et al. Association of angiotensin-converting enzyme gene I/D polymorphism with change in left ventricular mass in response to physical training. **Circulation** 96:741–7, 1997.

MONTGOMERY, K. C. The elevated plus-maze. **Pharmacol methodology Ethology and psychopharmacology** s.1, v. 53, p. 334-342, 1958.

MOODY, T.W., MERALI, Z., CRAWLEY, J.N. The effects of anxiolytics and other agents on rat grooming behavior. **Annals of the New York Academy of Sciences**. v.90, p.281-290. 1993.

MUNIZ, M., AFONSO, R. & COSTA, V. R. Anabolizantes: bombas-relógio nos músculos. **Ciência Hoje**, RJ, 22(131), set. 1997.

MURPHY TC, SAMSON WK. The novel vasoactive hormone, adrenomedullin, inhibits water drinking in the rat. **Endocrinology**. Jun;136 (6):2459-63, 1995.

NAHAMA, PETIT et al. Girls are more successful than boys at the university: Gender group differences in models integrating motivational and aggressive components correlated with test-anxiety. **Encephale**. 30: 1-15, 2004.

NAHAS, T.R. O Teste do Campo Aberto In: XAVIER, G.F. **Técnicas para o Estudo do Sistema Nervoso**. São Paulo: Ed. Plêiade, 1999. p.197-215. 1999.

NEGRÃO, ANDRÉ B, LICINIO, JULIO. Leptina: o Diálogo entre Adipócitos e Neurônios. *Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia*. São Paulo, junho. 2000. Disponível em: <http://www.rgnutri.com.br/sap/tr-cientificos/leptina.php>. Acesso em: 30 de março de 2012.

NELSON, R. J. and CHIAVEGATTO, S. Molecular basis of aggression. **Trends Neurosci** 24:713–719, 2001.

NEUGARTEN, J.; DING, Q.; FRIEDMAN, A.; LEI, J. and SILBIGER, S. **J Am Soc Nephrol.** 8: 1240-1246, 1997.

[NIU](#) T, CHEN X & XU X. Angiotensin converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and cardiovascular disease: therapeutic implications. **Drugs.** 62(7):977-93, 2002.

NOORAFSHAN, A; KARIMIPOOR, M; BAHMANPOOR, S.; DEHGHANI, F. The influence of exposure to stress of pregnant rats on the adrenal gland structure of their offspring. An unbiased stereological study. **Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science.** Estocolmo, v.32, n.3, p.161-166, sept. 2005.

OLIVARES, E. L.; COSTA-E-SOUSA, R. H.; CAVALCANTE-LIMA, H. R.; LIMA, H. R.; CEDRAZ-MERCEZ, P. L. & REIS, L.C. 2003. Effect of electrolytic lesion of the dorsal raphe nucleus on water intake and sodium appetite. **Braz. J. Med. Biol. Res.** 36, 1709–1716. 2003.

PALMA, A. Exercício físico e saúde; sedentarismo e doença: epidemia, causalidade e moralidade. Motriz, Rio Claro, v.15, n.1, p.185-191, jan/mar, 2009.

[PARROTT](#) AC, [CHOI](#) PY & [DAVIES](#) M. Anabolic steroid use by amateur athletes: effects upon psychological mood states **J Sports Med Phys Fitness.** 34(3):292-8. 1994.

PAVLATOS, A. M. et al. Review of oxymetholone: a 17 -alkylates anabolic androgenic steroids. **Clin Ther,** v. 23, n. 6, p. 789 - 801, 2001.

PEART, W. S. Renin 1978. **Johns Hopkins Med J,** 143:193-206, 1978.

PELLOW S, CHOPIN P, FILE SE, BRILEY M Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **J Neurosci Methods** 14:149-167, 1985.

PEREIRA JR PP, CHAVES EA, COSTA E SOUSA RH, MASUDA MO, CARVALHO AC, NASCIMENTO JH. Cardiac autonomic dysfunction in rats chronically treated with anabolic steroid. **Eur J Applied Physiol.** 96(5):487-94, 2006.

PESCATELLO, L.S. et al. American College of Sports Medicine Position Stand. Exercise and Hypertension. **Med Sci Sports Exerc**, v.36, n.3, p. 533-53; 2004.

PHILLIS, B. D.; PHILLIS, B. D.; ABEYWARDENA, M. Y.; ADAMS, M. J.; KENNEDY, J. A.; IRVINE, R. J. Nandrolone potentiates arrhythmogenic effects of cardiac ischemia in the rat. **Toxicological Sciences.** n. 99, v. 2, p. 605–611. 2007.

POLLOCK M.L. et al. Resistance exercise in individuals with and without cardiovascular disease. Benefits, rationale, safety, and prescription. An advisory from the committee on exercise, rehabilitation, and prevention, Council on clinical cardiology, **American Heart Association. Circulation** 101: 828 – 833, 2000.

POPE HG JR & KATZ DL. Psychiatric and medical effects of anabolic-androgenic steroid use. A controlled study of 160 athletes. **Arch Gen Psychiatry.** May;51(5):375-82, 1994.

PORTES LA, TUCCI PJ [Swim training attenuates myocardial remodeling and the pulmonary congestion in wistar rats with secondary heart failure to myocardial infarction]. **Arq Bras Cardiol** 87:54-59, 2006.

POULSEN J. Ototoxic effect of readily soluble acetylsalicylic acid **Ugeskr Laeger.** 132(51):2435-7, 1970.

PRICKAERTS J, RAAIJMAKERS W, BLOKLAND A Effects of myocardial infarction and captopril therapy on anxiety-related behaviors in the rat. **Physiol Behav** 60:43-50, 1996.

QUINKLER, M.; IJB, KAUR K, HUGHES, SV.; HEWISON, M.; STEWART, PM. Testosterone enhances renal expression of the subunit of the epithelial sodium channel

(ENaC). **Program of the 86th Annual Meeting of the Endocrine Society**, New Orleans, LA, p. 150, 2004.

RACCA, L et al. Hearing loss and depressive symptoms in elderly patients. **Geriatr Gerontol Int.** 12(3):440-5, 2012.

RAMOS A, BERTON O, MORMEDE P, CHAOULOFF F. **Behavioural Brain Research**, 85: 57-69, 1997.

RAMOS A, PEREIRA E, MARTINS GC, WEHRMEISTER TD, IZIDIO GS. Integrating the open field, elevated plus maze and light/dark box to assess different types of emotional behaviors in one single trial. **Behav Brain Res** 193:277–88, 2008.

RANGH, P., DALE, M. M. & PITTER, J. M. Farmacologia. 4 ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 2001.

REIS, LUÍS C. et al. A reassessment of the role of serotonergic system in the control of feeding behavior. **An. Acad. Bras. Ciênc.** vol.77 no.1;2005

REIS, LUÍS C. Role of the serotonergic system in the sodium appetite control. **An Acad Bras Cienc** 79: 261-283. 2007.

REX. A.; SONDERN, U.; VOIGT, J.P.; FRANCK, S.; FINK, H. Strain differences in fearmotivated behavior of rats. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 54, n.1, p. 107-111, 1996.

RIBEIRO FILHO, FERNANDO F. et al . Gordura visceral e síndrome metabólica: mais que uma simples associação.**Arquivo Brasileiro Endocrinologia Metabologia**, São Paulo, v. 50, n.2, 2006.

RICCI LA, RASAKHAM K, GRIMES JM, MELLONI RH JR. Serotonin-1A receptor activity and expression modulate adolescent anabolic/androgenic steroid-induced aggression in hamsters. **Pharmacol Biochem Behav.** 85(1):1-11, 2006.

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

R.L. CUNNINGHAM AND M.Y. MCGINNIS Prepubertal Social Subjugation and Anabolic Androgenic Steroid-Induced Aggression in Male Rats. **Journal of Neuroendocrinology**, 20, 997-1005, 2008.

ROCHA, F.L. et al Esteróides anabolizantes: mecanismos de ação e efeitos sobre o sistema cardiovascular. **O mundo da saúde** out/dez 31(4): 470-477, 2007.

RODGERS, R.J., COLE, J.C. An ethological analysis of chlordiazepoxide and bretazenil (Ro16-6028) in the murine elevated plus-maze. **Behavior Pharmacology.** v.4, p.573–580. 1993.

RODGERS, R. J. et al. Animal models of anxiety: an ethological perspective. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 30: 289-304, 1997.

RODGERS, R.J., HALLER, J., HOLMES, A., HALASZ, J., WALTON, T.J., BRAIN, P.F. Corticosterone response to the plus-maze: high correlation with risk assessment in rats and mice. **Physiology Behavior.** v.68, p. 47–53. 1999.

[ROSSBACH](#) UL, STEENSLAND P, NYBERG F, LE GREVÈS P. Nandrolone-induced hippocampal phosphorylation of NMDA receptor subunits and ERKs. **Biochem Biophys Res Commun.** Jun 15;357(4):1028-33. Epub Apr 17, 2007.

ROUAH-ROSILIO M, OROSCO M, NICOLAIDIS S. Serotonergic modulation of sodium appetite in the rat. **Physiol Behav.** 55(5):811-6, 1994.

RUWHOF et al. **Cyclic stretch induces the release of growth promoting factors from cultured neonatal cardiomyocytes and cardiac fibroblasts. Molecular and cellular biochemistry Volume 208, Numbers 1-2, 89-98, 2000.**

RYAN, A.J. Anabolic steroids are fool's gold. **Fed Proc.** Oct;40 (12):2682-8, 1981.

RYDER, J.W, CHIBALIN, A.V, ZIERATH, J.R. Intracellular mechanisms underlying increases in glucose uptake in response to insulin or exercise in skeletal muscle. **Acta Physiol Scand**, v.171, n.3, p. 249-57, 2001.

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** 37(1):224-30, 2001.

SADOWSKA & KOCHANOWSKA. A review of the present knowledge of the renin-angiotensin-aldosterone system. **Endokrynol Pol.** 17(4):423-31,1966.

SAKAI, R.R.; Ma, L.Y.; ZHANG, D. M.; McEWEN, B. S. FLUHARTY, S.J. Intracerebral administration of mineralocorticoid receptor antisense oligonucleotides attenuate adrenal steroid-induced salt appetite in rats. **Neuroendocrinology**, 64:425-429. 1996.

SALAS-RAMIREZ, KALIRIS Y. et al. Anabolic steroids have long-lasting effects on male social behaviors. **Behavioural Brain Research**, 2008. 8 p. (a)

SALAS-RAMIREZ, KALIRIS Y. et al. Anabolic androgenic steroids differentially affect social behaviors in adolescent and adult male Syrian hamsters. **Hormones and Behavior**, v. 53, p. 378-385, 2008. (b)

SAMSON WK, SKALA KD, HUANG FL. CNP-22 stimulates, rather than inhibits, water drinking in the rat: evidence for a unique biological action of the C-type natriuretic peptides. **Brain Res.** 24;568(1-2):285-8, 1991.

SÁNCHEZ-OSORIO M, DUARTE-ROJO A, MARTÍNEZ-BENÍTEZ B, TORRE A, URIBE M. Anabolic-androgenic steroids and liver injury. **Liver Int.** 28(2):278-82, 2008.

SAUL, JP. Beat-to-Beat Variations of Heart Rate Reflect Modulation of Cardiac Autonomic Outflow. **NIPS** Volume 5/February 1990

SCHRIER, RW. Water and sodium retention in edematous disorders: role of vasopressin and aldosterone. **Am J Med.** Suppl. 1: 547-553, 2006.

SEJERSTED OM, MEDBØ JI, HERMANSEN L. Metabolic acidosis and changes in water and electrolyte balance after maximal exercise. **Ciba Found Symp.** 87:153-67, 1982.

SHAHIDI NT. A review of the chemistry, biological action, and clinical applications of anabolic-androgenic steroids. **Clin Ther.** 23(9):1355-90, 2001.

SHAJI, A.V. and KULKARNI, S.K. Evidence of GABAergic modulation in melatonin-induced short-term memory deficits and food consumption. **Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.** v. 20 p. 311-319, 1998.

SHEFFIELD-MOORE, M.; URBAN, R. G. An overview of endocrinology of skeletal muscle. **Trends in endocrinology and metabolism**, v. 15, p. 110-115, 2004.

SHELLI, L. Autonomic nervous system pharmacogenomics: A progress report. **Pharmacological Reviews.** n. 56, p. 31-52. 2004.

SHOJI, V.M. and FORJAZ, C.L. de M. Treinamento físico na Hipertensão Arterial. **Rev Soc Cardiol.** Estado de São Paulo, v.10, n.6, supl A, p. 7-14, 2000.

SILVA et al 2007. Prevalência do Uso de Agentes Anabólicos em Praticantes de Musculação de Porto Alegre. **Arq Bras Endocrinol Metab** 51/1, 2007.

SILVA, P.R.P et al. Anabolic steroids in sports. Rev.Bras.Med.Esp 8: 235-243, 2002.

SJAASTAD, I.; SJERSTED, O. M.; ILEBEKK, A.; BJORNERHEIM, R. Echocardiographic criteria for detection of postinfarction congestive heart failure in rats. **J Appl Physiol.** v. 89, p. 1445 - 1454, 2000.

SMITH JC et al. Impaired vasoreactivity in bodybuilders using androgenic anabolic steroids. **Eur J Clin Invest.** 36(7):483-8, 2006.

SOE, K.L.; SOE, M.; GLUUD, C.N. Liver pathology associated with anabolic-androgenic steroids. **Ugeskr Laeger,** v.156, p.2585-2588, 1994.

SPRUIJT, B.M. et al. Ethology and Neurobiology of grooming behavior. **Physiol Rev** 72 (3): 825-852, 1992.

STANDAERT DG, NEEDLEMAN P, DAY ML, WEIGAND R, KRAUSE JE. Expression of the gene for preproatriopectin in the central nervous system of the rat. **Brain Res.** 464(1):7-13, 1988.

STACHENFELD, NS; DI PETRO, L.; PALTER, SF; NADEL, ER Estrogen influences osmotic secretion of AVP and body water balance in postmenopausal women. **Am J Physiol** 274: 187-195; 1998.

SU et al. Neuropsychiatric Effects of Anabolic Steroids in Male Normal Volunteers **JAMA.** 269(21):2760-2764. 1993.

SULLIVAN ML, MARTINEZ CM, GENNIS P, GALLAGHER EJ. The cardiac toxicity of anabolic steroids. **Progr Cardiovasc Disease** 41(1):1-15, 1998.

SVARE BB. Anabolic steroids and behavior: a preclinical research prospectus. **NIDA Res Monogr.** 102:224-41, 1990.

[SWANSON](#) DA, SUI X, BRAMLETT KS, JORGE MC, VON ESCHENBACH AC & JENSTER G. Specific androgen receptor activation by an artificial coactivator. **J Biol Chem.** Apr 2;274(14):9449-54. 1999.

TAKAHASHI M, TATSUGI Y, KOHNO T. Endocrinological and pathological effects of anabolic-androgenic steroid in male rats. **Endocr J.** 51(4):425-34, 2004.

TANAKA, M. et al. Dopamine autoreceptors in rat nucleus accumbens modulate prepulse inhibition of acoustic startle. **Pharmacology, Biochemistry, and Behavior**, 60, 803-808, 1998.

TERADA, S. et al. Effects of high-intensity swimming training on GLUT-4 and glucose transport activity in rat skeletal muscle. **J Appl Physiol**, v.90, p. 2019-2024, 2001.

THIBLIN I et al. Anabolic androgenic steroids and suicide. **Ann Clin Psychiatry.** 11(4):223-31, 1999.

TIGERSTEDT R& P.BERGMAN: Niere und Kreislauf. **Arch Physiol** 8, 223-271, 1998.

TREIT, D.; MENARD, J.; ROYAN, C. Anxiogenic stimuli in the elevated plus-maze. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, 44: 463-469, 1993.

TRICKER, R., CASABURI, R. STORER, T.W., CLEVINGER, B., BERMAN, N., SHIRAZI, A., & BHASIN, S. The effects of supraphysiological doses of testosterone on angry behavior in healthy eugonadal males - a clinical research center study. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, 81, 3754-58, 1996.

TRIFUNOVIC B, NORTON GR, DUFFIELD MJ, AVRAAM P, WOODIWISS AJ. An androgenic steroid decreases left ventricular compliance in rats. **Am Journal of Physiology**, v.268, n.3, Pt2, p.H1096-1105, 1995.

TOMANARI, GV, PINEAS SILVA MTA, Ratos Wistar sob regimes rotineiros de restrição hídrica e alimentar. **Rev Bras Ter Comp Cogn.**V(1)57-71,2003.

UHLÉN S, LINDBLOM J, KINDLUNDH A, MUGISHA P, NYBERG F. Nandrolone treatment decreases the level of rat kidney alpha (1B)-adrenoceptors. **Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.** 2003.

URHAUSEN A, ALBERS T, KINDERMANN W. Are the cardiac effects of anabolic steroid abuse in strength athletes reversible? **Heart** 90(5):496-501, 2004.

[UZYCH, L.](#) Physicians and the treatment of domestic violence. **J Am Med Womens Assoc.** 47(6):239-40, 1992.

VIAU, V.; SORIANO, L.; DALLMAN, MF. Androgens alter corticotropin releasing hormone and arginine vasopressin mRNA within forebrain sites known to regulate activity in the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. **J Neuroendocrinol**, 13(5): 442-452, 2001.

VELAZQUEZ, I. and ALTER, B.P. Androgens and liver tumors: Fanconi's conditions. **Am.J.Hematol**, v.77, p.257-67, 2004.

VERHOEVEN, G.; SWINNEN, J. V. Indirect mechanisms and cascades of androgen action. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 151, p. 205-212, 1999.

VOLAVKA, J., BILDER, R., & NOLAN, K. Catecholamines and aggression: The role of COMT and MAO polymorphisms. **Annals of the New York Academy of Sciences**, 1036, 393–398, 2004.

WANG MG, YESALIS CE and FITZHYGH EC. Desire for weight gain and potential risks of adolescent males using anabolic steroids. **Percept Hot Skills.** 78:267, 1994.

WATANABE, S. and KOBAYASHI, Y. Exogenous hormones and human cancer. **J.Clin.Oncol**, v.23, p.1-13, 1993.

WEBER, MD & BRILLA, G. Remodeling and reparation of the cardiovascular system. **Journal of the American College of Cardiology.** Volume 20, Issue 1, Pages 3-16, July, 1992.

WEISINGER RS, DENTON DA, MCKINLEY MJ, MULLER AF, TARJAN E. Cerebrospinal fluid sodium concentration and salt appetite. **Brain Res.** 326(1):95-105, 1985.

WEISSBERGER, AJ & HO, KK. Activation of the somatotropic axis by testosterone in adult males: evidence for the role of aromatization. **J Clin Endocrinol Metab** 76: 1407-1412; 1993.

[WICKLMAYR](#) M, DIETZE G, BRUNNBAUER H, RETT K & MEHNERT H. Dose-dependent effect of bradykinin on muscular blood flow and glucose uptake in man. **Hoppe Seylers Z Physiol Chem.** Jul;364(7):831-3, 1983.

WILSON et al. The Rat Androgen Receptor: Primary Structure, Autoregulation of its Messenger Ribonucleic Acid, and Immunocytochemical Localization of the Receptor Protein. **Molecular Endocrinology.** 2: 1276-1285, 1988.

WILSON, CM & MCPHAUL, MJ A and B forms of the androgen receptor are expressed in variety of human tissues. **Mol Cell Endocrinol** 120: 51-57, 1996.

WU, F. & VON ECKARDSTEIN, A. Androgens and coronary artery disease. **Endocrine Reviews** 24 (2):183-217, 2003.

WU, F. C. W. Endocrine aspects of anabolic steroids. **Clin Chemistry.** 43(7):1289-92, 1997.

YANG, G; MERRILL, DC; THOMPSON, MW; ROBILLARD, JE; SIGMUND, CD. Functional expression of the human angiotensinogen gene in transgenic mice. **J Biol Chem** 269: 32497-32502, 1994.

YANG, P et al. Mechanisms of anabolic androgenic steroid modulation of $\alpha 1\beta 3\gamma 2\text{L}$ GABAA receptors. **Neuropharmacology.** 43(4):619–33, 2002.

YARASHESKI KE, ZACHWIEJA JJ & BIER DM. Acute effects of resistance exercise on muscle protein synthesis rate in young and elderly men and women. **Am J Physiol Endocrinol Metab** 265, E210–E214, 1993.

YESALIS CE **et al.** Indications of psychological dependence among anabolic-androgenic steroid abusers. **NIDA Res Monogr.** 102:196-214, 1990.

YESALIS CE, KENNEDY NJ, KOPSTEIN NA, BAHRKE MS. Anabolic androgenic steroid use in the United States. **JAMA** 270:1217-21, 1993.

YESALIS, CE & BAHRKE, MS. Anabolic-androgenic steroids. Current issues. **Sports Med** 19:326–340, 1995.

ZLEBNIK NE, ANKER JJ, CARROLL ME. Exercise to reduce the escalation of cocaine self-administration in adolescent and adult rats. **Psychopharmacology.**2012.