

Avaliação de marcadores de remodelamento cardíaco (funcionais, bioquímicos e estruturais) em ratos submetidos a exercício resistido e tratamento com decanoato de nandrolona.

Ewelyne Miranda de Lima

Tese de Doutorado em Ciências Fisiológicas
Fisiologia Cardiovascular

**Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas
Universidade Federal do Espírito Santo**

Vitória, Julho 2015

Avaliação de marcadores de remodelamento cardíaco (funcionais, bioquímicos e estruturais) em ratos submetidos a exercício resistido e tratamento com decanoato de nandrolona.

Ewelyne Miranda de Lima

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências Fisiológicas.

Aprovada em / / por:

Prof^a. Dr^a. Nazaré de Souza Bissoli– Orientadora, UFES

Prof. Dr. Tadeu Uggere de Andrade

Prof^a. Dr^a. Karla Nívea Sampaio

Prof^a. Dr^a. Sônia Alves Gouvêa

Prof^a. Dr^a. Bianca Prandi Campagnaro

Coordenador do PPGCF: Prof^a. Dr^a. Ivanita Stefanon

Universidade Federal do Espírito Santo

Vitória, Julho 2015

Dedico esse trabalho primeiramente a Deus, aos meus pais e amigos.
Em Especial aos meus orientadores Nazaré Souza Bissoli e Tadeu Uggere de Andrade por
toda dedicação e realização dessa vitória.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por conduzir a minha vida, por ser fonte de inspiração e fé a cada amanhecer, por sempre iluminar e abençoar meus caminhos, e que em seu infinito amor, sabedoria e misericórdia colocou em minha vida pessoas tão especiais que tornaram possível essa vitória.

Aos Meus Pais, Fatima M. Miranda de Lima e Elimário Ferreira de Lima, por serem meu alicerce e porto seguro. Por todo amor incondicional que recebo todos os dias. Por serem os maiores incentivadores dos meus sonhos, e por toda dedicação, preocupação, doação e renúncia. Vocês são meus maiores e mais preciosos presentes de Deus. Amor incondicional.

Aos meus irmãos, Sidney Lima e Emanuelle Lima, meu namorado, Fernando Aleluia, minha cunhada Tatiana Rafaela e todos os meus amigos e família, por todo carinho, compreensão, incentivo e paciência. Amo muito vocês.

Ao Programa de Pós Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal do Espírito Santo (PPGCF-UFES) por contribuir com todo conhecimento e estrutura necessária para a realização deste trabalho e o incentivo à pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES e Fundação de Amparo a Pesquisa do Espírito Santo – FAPES, pela concessão da bolsa de doutorado e bolsa de estágio técnico científico, respectivamente, fundamentais para concretizar esse estudo e para meu aperfeiçoamento profissional.

À minha Orientadora Prof^a Dr^a Nazaré Souza Bissoli, por ter me acolhido tão bem em seu laboratório, por toda confiança, generosidade, paciência, atenção e incentivo. Pelos ensinamentos práticos e científicos que com certeza levarei pra vida inteira. Pela oportunidade de realizar esse sonho. Por desempenhar essa missão de ser professora de forma tão suave e com esse coração gigante, que permite ensinar, conviver e respeitar a todos em sua volta. Muito obrigada!

Ao meu Co-orientador Prof. Dr. Tadeu Uggere de Andrade, por toda motivação, disponibilidade, dedicação, atenção e carinho. Por estar ao meu lado e contribuir de forma fundamental, em todas as etapas por que passei até chegar aqui. Por ser este ser humano incrível e profissional admirável, além de um amigo tão especial, um anjo na minha vida.

A Professora Dr^a Sônia Alves Gouvêa, pessoa admirável, por todo incentivo, ajuda incondicional, pelos ensinamentos valiosos e palavras afetuosas e positivas que muito me ajudaram nessa caminhada.

À Girlandia Brasil, por me apoiar em todos os momentos. Por vibrar comigo a cada conquista. Por estar sempre ao meu lado e me encorajar e motivar. Por todo companheirismo inestimável e ajuda neste trabalho. Tenho muito orgulho de você, minha amiga-irmã, pra vida inteira.

Ao Andrews Marques amigo e companheiro de anos nessa jornada acadêmica. Por toda cumplicidade, dedicação e paciência. Por toda eficiência e contribuição neste trabalho. Espero compartilhar muitos momentos de pesquisa, alegria e superação. Torço muito por você.

A todos os Professores e Colaboradores do PPGCF-UFES e da Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Vila Velha, especialmente a Prof^a Dr^a Denise Coutinho Endringer, por toda ajuda, informações e contribuições.

A todos os alunos de Laboratório de Hipertensão Experimental (LHE), alunos de Iniciação científica e colegas do PPGCF-UFES, pelos conhecimentos e momentos compartilhados no decorrer desse tempo, sempre com muito bom humor.

Aos meus amigos maravilhosos, Drielle Pratti, Ana Claudia Hertel, Gilza Nery Hertel, Michele Uliana, Silas Rochi, Mirian Almeida, por todo carinho, atenção e incentivo.

A todos que contribuíram de alguma forma, na realização deste trabalho. Meus sinceros agradecimentos!

RESUMO

O treinamento resistido (TR) tem sido frequentemente associado ao uso abusivo de esteroides anabólicos androgênicos (EAA) por atletas e não atletas. O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos do TR associado ou não ao decanoato de nandrolona, sob os níveis de citocinas e atividade da enzima conversora de angiotensina (AECA) no coração, assim como a sensibilidade do Reflexo cardiopulmonar Bezold-Jarisch (RBJ). Ratos Wistar machos foram divididos em quatro grupos: C (recebeu veículo, não treinado); E (TR: após uma semana de adaptação água, os ratos foram exercitados por saltos na água duas vezes por semana durante 4 semanas); DN (receberam decanoato de nandrolona 10 mg/kg, duas vezes/semana, im) e DNE (receberam decanoato de nandrolona 10 mg/kg, duas vezes/semana, im, associado ao TR). O RBJ foi analisado medindo respostas bradicárdicas e hipotensoras induzidas pela administração *in bolus* de cinco doses randomizadas de serotonina (2, 4, 8, 16, 32 µg/kg) de serotonina. Hipertrofia dos miócitos e deposição de colágeno na matriz foi determinada por análises morfométricas de imagens a partir de laminas coradas em H&E e picosirius, respectivamente. Foram também avaliados níveis de TNF- α e AECA no coração por Elisa. O TR promoveu bradicardia de repouso nos grupos E (312 \pm 9 bpm; p <0,01) e DNE (324 \pm 9 bpm; p <0,05), quando comparado com o grupo C (365 \pm 11 bpm) e o grupo DN não promoveu alteração da FC (381 \pm 13 bpm). Além disso, o treinamento promoveu hipertrofia fisiológica nos miócitos, mas não causou alterações nos outros parâmetros. O tratamento com DN, com ou sem associação com TR promoveu hipertrofia dos miócitos, deposição de colágeno do tipo I, aumento nos níveis de TNF- α (C: 207 \pm 9; E: 211 \pm 8; DN: 269 \pm 10; DNE: 242 \pm 10 pg / mg, p <0,01) e AECA (C: 27,0 \pm 7 ; E: 39,0 \pm 6; DN: 50 \pm 5; DNE: 65,0 \pm 4 %, p <0,01), diminuição da IL-10 (C: 220 \pm 7; E: 231 \pm 5; DN: 165 \pm 5; DNE: 164 \pm 4 pg / mg, p <0,01), comprometimento na sensibilidade do RBJ e hipertensão (C: 104 \pm 2 mmHg; E: 108 \pm 8 mmHg; DN: 144 \pm 7; DNE: 138 \pm 5 mmHg; p <0,01). DN está associada a alterações na estrutura e função cardíaca como resultado do desenvolvimento da hipertrofia cardíaca patológica (desequilíbrio de citocinas no coração, elevação da AECA) e lesão cardíaca, e o treinamento de resistido não foi capaz de impedir esses efeitos deletérios cardiovasculares.

Palavras-chave: Esteroides anabolizantes, angiotensina II, hipertrofia cardíaca, remodelamento cardíaco, reflexo cardiopulmonar, citocinas, treinamento resistido.

ABSTRACT

Resistance training (RT) has often been associated with the abuse of anabolic androgenic steroids (AAS) by athletes and non-athletes. The aim of this study was to evaluate the effects of resistance training (RT) with or without nandrolone decanoate, with the levels of cytokines and activity of angiotensin-converting enzyme (ACE) in the heart, and the sensitivity of cardiopulmonary Bezold-Jarisch reflex (BJR). Male *Wistar* rats were divided into 3 groups: C (receiving vehicle, untrained); E (RT: after one week of adaptation water, rats were trained to jump into the water twice a week for 4 weeks), DN (treated with nandrolone decanoate 10 mg kg twice a week, intramuscularly) e DNE (treated with nandrolone decanoate 10 mg kg twice a week, intramuscularly, associated with RT). The BJR was analyzed by measuring bradycardic and hypotensive responses induced by administration *in bolus* of five serotonin randomized doses (2 to 32 $\mu\text{g}/\text{kg}$ body weight). Myocyte hypertrophy and collagen deposition in the matrix was determined by morphometric analysis of images from slides stained with H&E and picosirius red respectively. The TNF- α levels in the heart and ACE activity was determined by Elisa assay. The RT promoted resting bradycardia in E group (bpm 312 ± 9 , $p < 0.01$) when compared with C group (360 ± 11 bpm) and ND did not influence this parameter NDE (bpm 324 ± 9 , $p < 0.05$), furthermore promoted physiological hypertrophy in myocytes without collagen deposition and no other changes were observed. The ND association with RT shown myocyte hypertrophy, type I collagen deposition, increase on TNF- α levels (C: 207 ± 9 ; E: 211 ± 8 ; DN: 269 ± 10 ; DNE: 242 ± 10 pg / mg, $p < 0,01$) and ACE activity (C: $27,0 \pm 7$; E: $39,0 \pm 6$; DN: 50 ± 5 ; DNE: $65,0 \pm 4$ %, $p < 0,01$), decreased IL-10 levels (C: 220 ± 7 ; E: 231 ± 5 ; DN: 165 ± 5 ; DNE: 164 ± 4 pg / mg, $p < 0,01$), impairment in the sensitivity of BJR and hypertension (C: 104 ± 2 mmHg; E: 108 ± 8 mmHg; DN: 144 ± 7 ; DNE: 138 ± 5 mmHg; $p < 0,01$). ND is associated with changes in cardiac structure and function as a result of the development of pathological cardiac hypertrophy (cytokine imbalance in heart elevation of ACE activity) and cardiac injury, and resistance training was unable to reverse the deleterious cardiovascular effects.

Key words: Anabolic steroids, angiotensin II, cardiac hypertrophy, cardiac remodeling, cardiopulmonary reflex, cytokines, resistance training.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Conversão da testosterona a di-hidrotestosterona (DHT) e estradiol.....14
- Figura 2.** Esquema do mecanismo genômico da Testosterona e seu metabolito ativo DHT, mediados por receptor de membrana e ativação de proteína G.....15
- Figura 3.** Esquema de mecanismo não genômico da Testosterona e seu metabolito ativo DHT, mediados por receptor de membrana e ativação de proteína G.....16
- Figura 4.** Modificações estruturais na molécula da testosterona que confere atividade oral ou de depósito.....17
- Figura 5.** Estrutura química da Testosterona (A), Nandrolona (B) e Decanoato de nandrolona (C).....18
- Figura 6.** Visão esquemática e resumida do sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA).....22
- Figura 7.** Esquema de Protocolo de Treinamento Resistido.....34
- Figura 8.** Registro típico da ativação do RBJ pela administração de serotonina, identificado por redução na pressão arterial diastólica (PAD) e frequência cardíaca (FC), simultaneamente.....36
- Figura 9.** Efeito do treinamento de resistido e do tratamento com DN na PAM e FC nos grupos experimentais C, E, DN e DNE.....40
- Figura 10.** Redução da PAD e FC provocada pela ativação da serotonina no RBJ em animais sedentários (C), animais submetidos a treinamento resistido (E), animais tratados com DN (DN) e animais tratados e treinados com DN (DNE).....41
- Figura 11.** A análise histológica de seções de coração dos grupos C, E, DN e DNE. Painel A: Amostras coradas com Hematoxilina / Eosina (H & E) (400x). B: Picrosirius red (100x). C: Picrosirius sob a luz polarizada. O painel D mostra um gráfico de barras que descreve o tamanho dos núcleos dos miócitos. O painel E mostra um gráfico de barras do número de núcleos de miócitos / campo. Painel F: detecção de colágeno tipo I44

Figura 12: Avaliação da atividade da ECA nos grupos C, E, DN e DNE.....45

Figura 13: Concentração das citocinas: Painel A: TNF- α e Painel B: IL-10 nos grupos experimentais C, E, DN e DNE.....46

LISTA DE ABREVIATURAS

5-HT– serotonina

AECA – Atividade da enzima conversora de angiotensina

Ang II – Angiotensina II

COR/MC- Razão massa do coração pela massa corporal

DN – Decanoato de Nandrolona

EAA – Esteroides anabólicos androgênicos

ECA–Enzima conversora de Angiotensina

FC–frequência cardíaca

H&E–Hematoxilina e Eosina

IFN- γ –Interferon gama

IL-1 β –Interleucina-1 β

IL-10 – Interleucina 10

IL-6–Interleucina-6

MC–massa corporal

MEC–Matriz Extracelular

MMP-2–Metaloproteinase de matriz

PAD–Pressão Arterial Diastólica

PAM–Pressão arterial média

PTC–Proteína total do corpo

RBJ– Reflexo Bezold-Jarisch

SRAA– Sistema renina angiotensina aldosterona

TGF- β –Fator de transformação do crescimento beta

TNF- α –Fator de necrose tumoral alpha

TR– treinamento resistido

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE ABREVIATURAS

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 ESTEROIDES ANABÓLICOS ANDROGÊNICOS (EAA)	13
1.1.1 Uso Abusivo de EAA.....	19
1.1.2 Efeitos adversos	20
1.2 EAA, EFEITOS CARDIOVASCULARES, SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA E CITOCINAS	21
1.3 EAA E REFLEXO BEZOLD JARICSH	26
1.4 EAA E EXERCÍCIO.....	28
2 OBJETIVO	31
2.1 OBJETIVO GERAL	31
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
3 MÉTODOS	32
3.1 ANIMAIS EXPERIMENTAIS	32
3.1.1 Grupos experimentais.....	32
3.2 TREINAMENTO RESISTIDO.....	33
3.3 REGISTROS DE PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA (PAM) E FREQUENCIA CARDÍACA (FC)	34
3.4 AVALIAÇÃO DO REFLEXO BEZOLD JARISCH.....	35
3.5 DETERMINAÇÃO DA MASSA DO CORAÇÃO/MASSA CORPORAL DOS RATOS E ANALISE HISTOLÓGICA	36
3.6 AVALIAÇÃO DA MASSA CORPORAL E EFEITO ANABÓLICO DO DN	37
3.7 DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE CITOCINAS.....	37
3.8 ATIVIDADE DA ECA.....	38
3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	39
4 RESULTADOS	39
4.1 ANÁLISE DE PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA (PAM) E FREQUENCIA CARDÍACA (FC)	39
4.2 ANÁLISE DO REFLEXO BEZOLD-JARISCH	40
4.3 MASSA CORPORAL E EFEITO ANABÓLICO.....	42

4.4 DESEMPENHO DO TREINAMENTO RESISTIDO	42
4.5 MASSA DO CORAÇÃO EM RELAÇÃO À MASSA CORPORAL E ANÁLISE HISTOLÓGICA	42
4.6 ATIVIDADE DA ECA NO CORAÇÃO.....	44
4.7 NÍVEIS DE CITOCINAS.....	46
5 DISCUSSÃO	47
6 CONCLUSÃO.....	56
7 REFERÊNCIAS	57

1. INTRODUÇÃO

1.1. ESTEROIDES ANABÓLICOS ANDROGÊNICOS

A Testosterona é o principal hormônio esteroide androgênico derivado a partir da molécula de colesterol e produzido principalmente pelas células de Leydig nos testículos, e em menor proporção pelas gônadas femininas e glândula suprarrenal. Os efeitos fisiológicos da testosterona são designados como androgênicos e anabólicos, sendo o primeiro responsável pela determinação das características sexuais masculinas primárias e secundárias, e o segundo, associado com ação miotrófica, aumentando a síntese proteica no músculo, e conseqüentemente aumento da massa muscular (KNOBIL, NEILL, 1988, LIU et al. 2003).

A testosterona promove ações em diversos tecidos-alvo, como no sistema reprodutor, o sistema nervoso central, o rim, o fígado, os músculos e o coração e pode ser metabolizada a outros esteroides ativos (SHAHIDI, 2001). Isso ocorre pela ação de enzimas locais, como a 5- α redutase e a aromatase. A primeira forma o metabólito di-hidrotestosterona (DHT), que atua em receptores androgênicos (RA), e a segunda, em estrógenos, que atuam sobre receptores estrogênicos (RE) (Figura 1). O DHT possui uma maior afinidade com receptores androgênicos que a própria testosterona (LIU *et al.*, 2003; HARTGENS, KUIPERS, 2004).

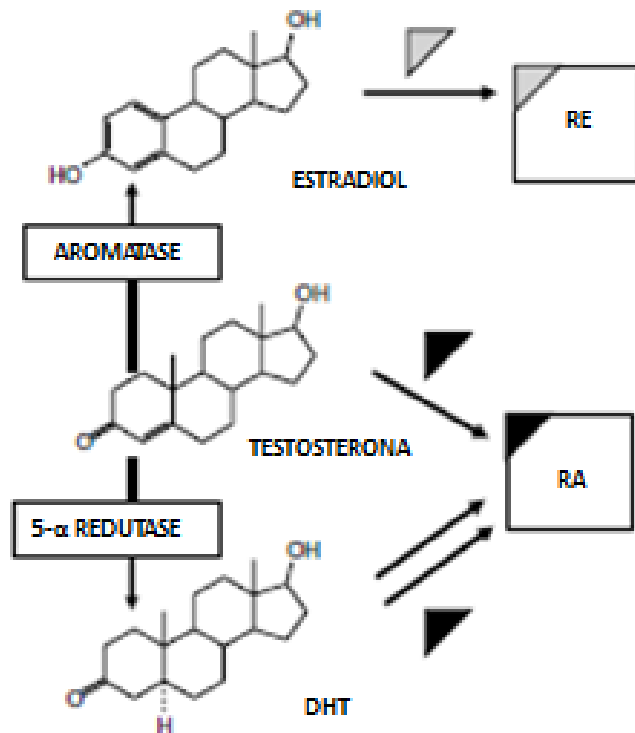


Figura 1. Conversão da testosterona a di-hidrotestosterona (DHT) e estradiol. A testosterona é irreversivelmente convertida pela enzima 5 α -redutase a di-hidrotestosterona (DHT), que se liga com maior afinidade a o receptor de androgênio (AR), ou pela aromatase em estradiol, que se liga ao receptor do estrogênio (ER). Modificado de Kicman (2008).

A testosterona atua por mecanismos genômicos e não-genômicos, sendo o primeiro caracterizado pela difusão na membrana celular, formando complexo com receptores androgênicos intracelulares e assim transportados para o núcleo, onde se liga ao DNA, em uma região específica denominados elementos de resposta ao hormônio androgênico (ERA) e atuarão como fatores de transcrição de elementos específicos do DNA, promovendo consequentemente uma resposta androgênica e ou anabólica (Figura 2) (SHAHIDI, 2001). Esses receptores estão presentes tanto no aparelho reprodutor como nos ossos, tecidos musculares, cérebro, próstata, fígado, rins e adipócitos (WILSON, 1988).

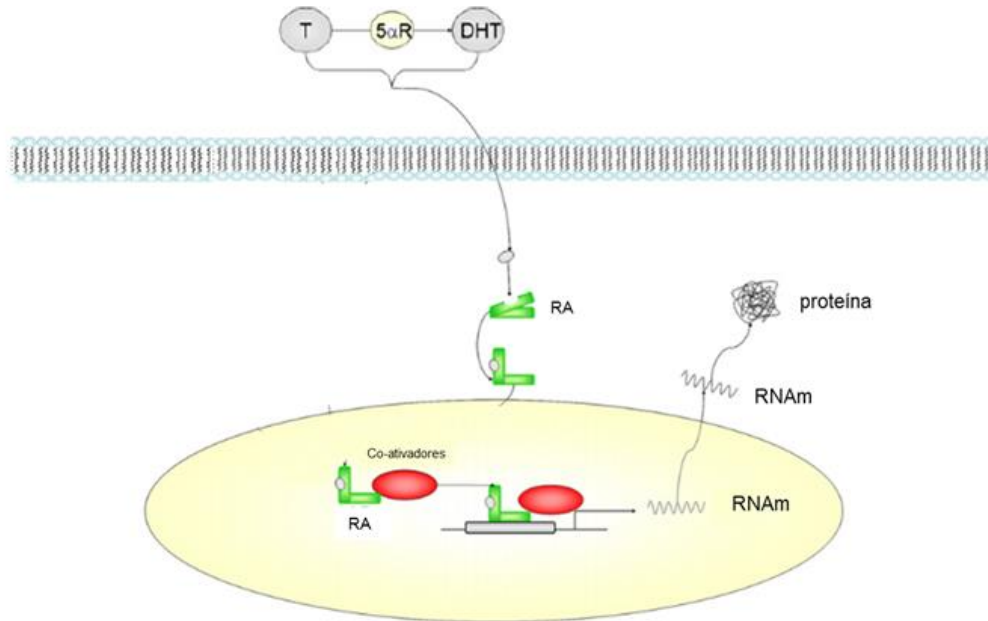


Figura 2. Esquema do mecanismo genômico da Testosterona e seu metabólito ativo DHT, mediada pelo receptor androgênico intracelular. Os andrógenos difundem-se através da membrana plasmática e interagem com receptores androgênicos (RA) no citoplasma. O complexo andrógeno-RA se desloca ao núcleo, onde se liga ao DNA, e essa interação recruta co-ativadores da expressão de genes específicos para regular a transcrição e síntese proteica. Modificado de Foradori *et al.* (2008).

A via não-genômica, inicia a ação mais rapidamente que a genômica e apesar de os mecanismos não serem tão elucidados, evidências demonstram que esta via necessita da participação de segundo mensageiro para exercer as suas ações, como o aumento rápido do cálcio intracelular (Figura 3) e o possível envolvimento com a indução de morte celular por apoptose em cardiomiócitos (VICENZIO *et al.* 2006; MICHELS *et al.*, 2006; CAVALARI *et al.* 2012).

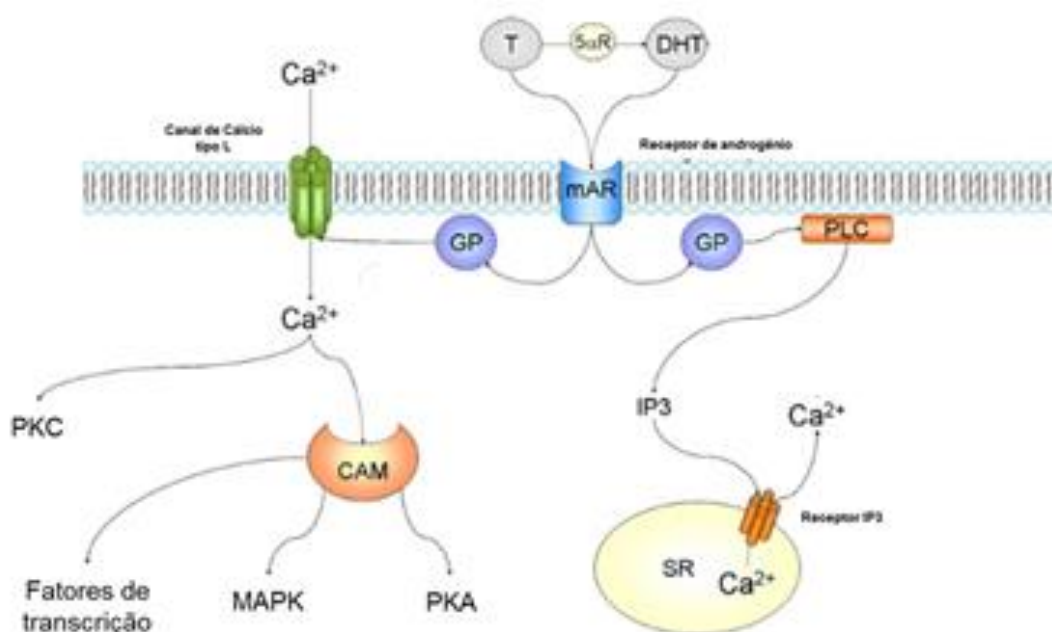


Figura 3. Esquema de mecanismo não genômico da Testosterona e seu metabólito ativo DHT, mediados por receptor de membrana e ativação de proteína G. Os andrógenos interagem com um receptor de androgênio associada à membrana (Mar), levando à ativação de canais de cálcio tipo L através da proteína G (GP). Este aumento de cálcio intracelular pode levar à ativação da proteína quinase C (PKC), e através de calmodulina (CAM) ativar Proteína quinase A (PKA) e vias de proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK), em última análise, influenciar a transcrição de genes através de fosforilação. Os andrógeno podem também interagir com receptores de androgênicos associada à membrana (MAR) levando a modulação da atividade da proteína G e a subsequente ativação de fosfolipase C (PLC), provocando um aumento na IP3 conduzindo à liberação de depósitos intracelulares de cálcio do retículo sarcoplasmático (SR). Modificado de Foradori *et al.* (2008).

Com a descoberta da testosterona e seu isolamento, muitos produtos foram sintetizados e produzidos a partir de modificações em sua molécula, sendo conhecidos como esteroides anabólicos androgênicos (EAA), com objetivo de diminuir os efeitos androgênicos e potencializar os efeitos anabólicos, alterando propriedades farmacocinéticas, aumentando o tempo de meia-vida e biodisponibilidade oral (SHAHIDI, 2001; KICMAN, 2008).

Dessa forma, alterações estruturais foram realizadas (Figura 4), originando diferentes classes de EAA existentes no mercado, dentre estas, a alquilação em C17 α , que resultou em moléculas resistentes ao metabolismo de primeira passagem, oferecendo assim a possibilidade de administração oral, como a metiltestosterona e o stanozolol (SHAHIDI, 2001). A esterificação em C17 β , promove retarda a biodegradação da testosterona a liberação na corrente sanguínea, permitindo assim, a administração de injetável, como a nandrolona (19-nortestosterona) (SHAHIDI, 2001; KUHN, 2002).

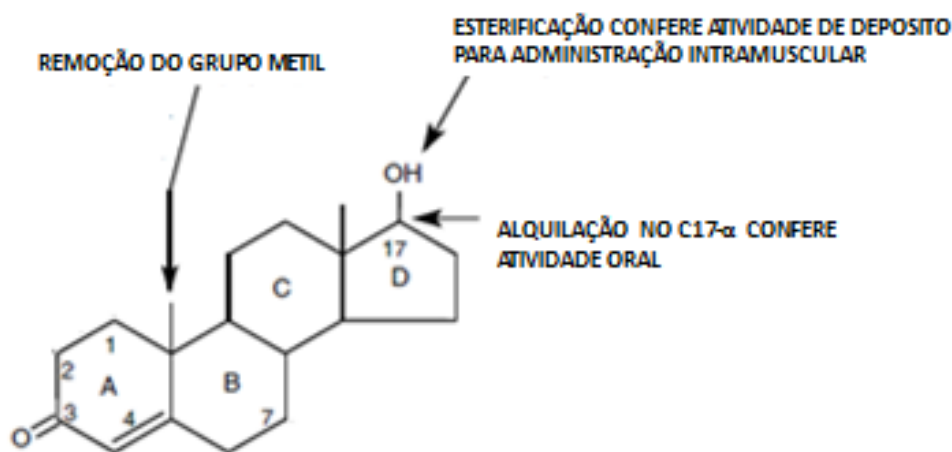


Figura 4. Modificações estruturais na molécula da testosterona que confere atividade oral ou de depósito. Modificado de KICMAN (2008).

O Decanoato de Nandrolona (DN) se destaca como um dos EAA mais utilizados no mundo, por apresentar maior capacidade anabólica que androgênica em relação à testosterona. Isso se deve ao fato do metabólito da nandrolona, conhecido como dihidronandrolona (DHN) pela ação da 5 α -redutase, ter menor afinidade pelo receptor androgênico, além disso, essa enzima é reduzida no músculo, assim, a própria nandrolona medeia resposta anabólica nos receptores sem necessitar de conversão, como ocorre entre a testosterona e seu metabólito ativo, DHT (CELLOTTI; CESI, 1992, KICMAN, 2008).

O DN produzido a partir da esterificação do grupo C17 β da nandrolona, com ácido decanóico (Figura 5), é liberado na circulação lentamente após a administração intramuscular e exerce ótima atividade anabólica durante seis a sete dias (SHAHIDI, 2001; KUHN, 2002). Este EAA é descrito como não-aromatizável, ou seja, sofre pouca ou nenhuma ação metabólica da enzima aromatase, não sendo convertido a estrógenos, reduzindo assim os efeitos feminilizantes de seu uso (HOBBS *et al.*, 1996).

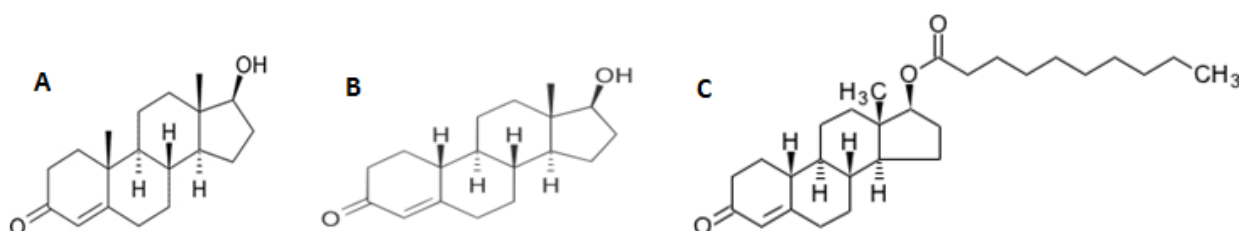


Figura 5. Estrutura química da Testosterona (A), Nandrolona (B) e Decanoato de nandrolona (C).

A terapia clínica com EAA é recomendada para pacientes com hipogonadismo e perda de peso severa, com utilização de ésteres de testosterona na dose de 200 mg, intramuscular a cada 2 semanas, oximetolona (50-150 mg) por dia, e oxandrolona (20 mg) por dia, entretanto, resultados promissores foram verificados em pacientes com HIV/AIDS, queimaduras graves e em doenças crônicas associadas com estados catabólicos (BASARIA *et al.*, 2001; SHAHIDI, 2001).

Inicialmente os efeitos dos EAA sobre o desenvolvimento e restabelecimento da força muscular em indivíduos jovens ou idosos foram vistos com pouco interesse (SAMUELS *et al.*, 1942; SIMONSON *et al.*, 1944). Entretanto, devido aos efeitos anabólicos, a utilização de EAA em doses de 10 a 100 vezes maiores que a

recomendada clinicamente se tornou comum entre desportistas, principalmente halterofilistas e fisiculturistas, com finalidade de melhora no desempenho em competições, aumentando a força, potência e velocidade (LISE *et al.*, 1999; CALFEE, FADALE, 2006).

1.1.1 Uso abusivo de EAA

Na década de 80 o panorama se tornou mais crítico, pois a utilização de EAA de forma abusiva foi difundida a população em geral, incluindo jovens e adolescentes, frequentadores de academias, visando o aumento de força física e massa muscular, além da diminuição das reservas adiposas a fim de alcançarem corpo e estética perfeitos (WILSON, 1988; KANAYAMA *et al.*, 2010; IP *et al.*, 2011).

Evidências epidemiológicas do uso ilícito de EAA foram descritas em numerosos estudos nos Estados Unidos (GRUNBAUM *et al.*, 2004; JOHNSTON *et al.*, 2006; McCABE *et al.*, 2007), Europa (PALLESEN *et al.*, 2006; RACHON *et al.*, 2006; WANJEK *et al.*, 2007; KOKKEVI *et al.*, 2008), e no Brasil (GALDUROZ *et al.*, 2005; CARLINI, 2010).

Levantamento realizado nos Estados Unidos verificou que, aproximadamente, 4 a 6% dos estudantes universitários do sexo masculino e 1 a 2% do sexo feminino utilizam EAA (BAHRKE, YESALIS, 2004), com aumento significativo, principalmente em frequentadores de academias que iniciaram o uso com mais ou menos 15 anos de idade (EVANS, 2004). Em 2010, monitoramento com 15.100 adolescentes realizado pelo Instituto Nacional de Saúde nos EUA, encontrou prevalência de 2,5% no uso de EAA para o sexo masculino (JOHNSTON *et al.*, 2011). Em países da

Europa essa prevalência variou entre 2 a 4%, por adolescentes de 16 anos que utilizaram EAA alguma vez na vida (KOKKEVI *et al.*, 2008).

No Brasil, levantamento realizado em 27 capitais brasileiras pelo Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas (CEBRID), abrangendo 50.890 estudantes do ensino fundamental e médio das redes pública e privada, revelou prevalência de 1,4% de uso de EAA alguma vez na vida, um aumento de 40% em relação ao levantamento anterior, demonstrando uma realidade bastante preocupante (GALDUROZ *et al.*, 2005; CARLINI *et al.*, 2010).

Em Porto Alegre, a prevalência do uso de EAA foi de 11, 1% entre 288 indivíduos em 13 academias, além de revelar que 5,2% utilizavam outros hormônios (SILVA *et al.*, 2007). Segundo IRIART *et al.*, (2009), a principal motivação dos usuários de EAA nas academias de Salvador é a busca pelo corpo ideal, adequado aos padrões valorizados pela sociedade e induzido pela mídia. Revisão sistemática sobre o uso de recursos ergogênicos em academias do Brasil observaram utilização exacerbada de EAA principalmente na região Sudeste (NOGUEIRA, SOUZA, BRITO, 2013), sendo o DN um dos EAA mais utilizados (SILVA *et al.*, 2007; NOGUEIRA, SOUZA, BRITO, 2013).

1.1.2 Efeitos adversos

Devido ao uso ilícito de forma descontrolada dos EAA, muito efeitos adversos são potencializados e reportados na literatura, como alterações sexuais, como, atrofia testicular, hipertrofia prostática, carcinoma da próstata, ginecomastia (MARAVELIAS *et al.*, 2005; CASAVANT *et al.*, 2007; TAN, SCALLY, 2009; AMSTERDAM, OPPERHUIZEN, HARTGENS, 2010); alterações psiquiátricas e comportamentais,

como irritabilidade, euforia, depressão e psicose (MELLONI, RICCI, 2010; RICCI *et al.*, 2013; OLIVARES *et al.*, 2014); alterações hepáticas, como adenomas hepáticos, benignos e carcinomas (BOADA *et al.*, 1999; KAFROUNI , ANDERS, VERMA, 2007);

Sendo o coração um dos órgãos mais frequentemente afetado pela administração de EAA, muitos efeitos deletérios dos EAA sobre o sistema cardiovascular são relatados na literatura, como hipertrofia cardíaca (ANDRADE *et al.*, 2008; HASSAN, KAMAL *et al.*, 2009; FRANQUINI *et al.*, 2013; NEVES *et al.*, 2013), alterações na eletrofisiologia cardíaca promovendo arritmias (SULLIVAN, MARTINEZ, GALLAGHER, 1999; MEDEI *et al.*, 2010), cardiomiopatia dilatada, infarto agudo do miocárdio e morte súbita (SILVA *et al.*, 2002; FINESCHI *et al.*, 2007).

Diante do exposto, a utilização de EAA torna-se problema de saúde pública, por isso é extremamente importante investigar e compreender melhor como altas doses de EAA causam distúrbios cardiovasculares, assim como morte súbita em atletas jovens e saudáveis (SCOTT *et al.*, 1996; LISE *et al.*, 1999; FINESCHI *et al.*, 2007).

1.2 EAA, SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA E CITOCINAS

O sistema cardiovascular é influenciado direta e indiretamente pelo sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA), desempenhando importante função na regulação da pressão arterial e da homeostase eletrolítica (GRADMAN, 2009).

A cascata enzimática clássica do SRAA é ativada fisiologicamente quando há queda de pressão arterial, assim, as células justaglomerulares dos rins produzem renina, uma protease que regula a conversão de angiotensinogênio, produzido pelo fígado,

congestiva e acidente vascular cerebral, bem como distúrbios renais (MA *et al.*, 2010). Assim, a inibição de componentes desse sistema, pode induzir a redução da pressão arterial, prevenir danos em órgãos-alvo da hipertensão e diabetes, e melhorar os resultados em pacientes com insuficiência cardíaca e/ou infarto do miocárdio (MENTZ *et al.*, 2013).

A ECA é uma enzima importante, pois é responsável pela formação de Ang II, um peptídeo efetor do SRAA, com função vasoconstritora direta das arteríolas e envolvida na hipertensão e hipertrofia cardíaca (WEBER *et al.* 1997; MA *et al.*, 2010). Em revisão, MENTZ *et al.*, 2013 descrevem estudos clínicos que utilizaram inibidores da ECA (IECA), como o captopril, enalapril e lisinopril, na redução da morbidade e a mortalidade cardiovasculares de pacientes hipertensos com insuficiência cardíaca, infarto agudo do miocárdio e doenças arteriais com aumento de outros riscos cardiovasculares (MENTZ *et al.*, 2013).

Foi demonstrado que os componentes deste sistema, como a renina, o angiotensinogênio, a ECA e os receptores AT1 e AT2 estão presentes no miocárdio (WOLLERT, DREXLER, 1999; KURDI, DE MELLO, BOOZ, 2005). Além disso, a presença de RNAm para alguns dos seus componentes fornece apoio para a geração local de Ang II (PAUL, POYAN, KREUTZ, 2006).

Dessa forma, sugere-se que os efeitos da Ang II sobre hipertrofia dos miócitos, proliferação de fibroblastos e acúmulo de proteínas da matriz extracelular (MEC) (SADOSHIMA, IZUMO, 1993) seriam decorrentes não só da via clássica do SRAA, mas também da síntese local deste peptídeo e dos componentes desse sistema, resultando na modulação da função cardíaca (WOLLERT, DREXLER, 1999; PAUL,

POYAN, KREUTZ, 2006, BARAUNA *et al.*, 2007; MA *et al.*, 2010; MENTZ *et al.*, 2013).

Animais tratados com altas doses de DN apresentaram hipertrofia e fibrose cardíaca assim como aumento da atividade da ECA (ROCHA *et al.*, 2007; DO CARMO *et al.*, 2011; FRANQUNI *et al.*, 2013). ROCHA *et al.*, (2007) verificaram que o DN é capaz de induzir ativação do SRAA cardíaco, por aumento da atividade da ECA, expressão de receptores AT1 e aumento na concentração de Ang II, associando esses resultados à hipertrofia cardíaca observada após tratamento. Utilizando bloqueios farmacológicos, MARQUES NETO *et al.*, (2013) evidenciaram que a inibição do SRAA utilizando losartan ou espironolactona, impediu disfunção autonômica cardíaca provocada pelo uso de DN, o que pode ter ocorrido pelo fato desse bloqueio prevenir a disfunção diastólica e a deposição de colágeno (DO CARMO *et al.*, 2011).

De fato, foi observado que o losartan é capaz de reduzir o remodelamento cardíaco produzido pela Ang II (LEASK, 2010) e que a atividade dos nervos simpáticos é modulada centralmente pelo SRAA (RAASCHE *et al.*, 2001, LI *et al.*, 2006, KISHI, HIROOKA 2012) reforçando assim, a participação desse sistema nos efeitos deletérios cardíacos, como hipertrofia cardíaca, fibrose e disfunção cardíaca induzidos pelo DN em animais.

Estudos têm demonstrado relação entre EAA e esse sistema, entretanto, apesar de muitos trabalhos demonstrando os efeitos dos EAA no sistema cardiovascular, os mecanismos pelos quais altas doses de EAA exercem esses danos não são totalmente esclarecidos, e a participação do SRAA nesse processo tem sido

extensamente investigada (ROCHA *et al.*, 2004; ROCHA, 2007; DO CARMO *et al.*, 2011; ANDRADE *et al.*, 2011; MARQUES NETO *et al.*, 2013; FRANQUNI *et al.*, 2013; MARQUES NETO *et al.*, 2014).

Adicionalmente, a Ang II também tem sido relacionada com o conteúdo de citocinas, quimiocinas e moléculas de adesão nos vasos sanguíneos (FERRARIO, STRAWN, 2006). Esse peptídeo está relacionado ainda, com o aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias como interleucina-6 (IL-6), TNF- α e Fator de transformação do crescimento beta (TGF- β) em quadros de fibrose cardíaca e hipertensão arterial (FERRARIO, STRAWN, 2006; ANDRZEJCZAK, GÓRSKA, CZARNECKA, 2007; LEASK, 2010; DO CARMO *et al.*, 2011). Portanto, efeitos cardiovasculares da Ang II podem estar relacionados á interferência no balanço das citocinas.

Também tem sido observada a relação de EAA com a modulação do sistema imunológico (HUGHES *et al.*, 1995; LIN *et al.*, 2011; FRANQUNI *et al.*, 2013). HUGHES *et al.*, (1995) verificaram que a nandrolona induz diretamente a produção de TNF- α e interleucina-1 β (IL-1 β) a partir de linfócitos de sangue periférico humano. LIN *et al.*, (2011) sugerem que a utilização de dose elevada de nandrolona pode agravar o choque séptico por aumento dos níveis TNF- α e Interferon gama (IFN- γ). Autores têm observado que o SRAA é capaz de aumentar o TNF- α , provavelmente via NF- κ B (GURANTZ *et al.*, 1999; CARRASCO *et al.*, 2010; LEASK, 2010), e que esta citocina pode aumentar a expressão de receptores AT1 sobre os fibroblastos cardíacos (GURANTZ *et al.*, 1999).

Além disso, tanto as citocinas (WEI et al., 2001; DO CARMO et al., 2011), quanto a Ang II (FERRARIO, STRAWN, 2006, ANDRZEJCZAK, GÓRSKA, CZARNECKA, 2007, LEASK, 2010; DO CARMO *et al.*, 2011) têm sido relacionadas com remodelamento e injúria cardíaca, efeitos observados no uso crônico de EAA.

1.3 EAA E REFLEXO BEZOLD JARISCH

A regulação da pressão arterial em curto prazo é desempenhada por importantes mecanismos conhecidos como reflexos cardiovasculares, dentre os quais se destacam o barorreflexo, quimiorreflexo e os reflexos cardiopulmonares (SHEPHERD, MANCIA, 1986). Esses reflexos são fundamentais para a homeostasia do organismo, pois controlam a manutenção de níveis pressóricos para o fornecimento de um fluxo sanguíneo adequado, capaz de realizar a perfusão dos tecidos de acordo com suas necessidades metabólicas (SHEPHERD, MANCIA, 1986). Para isso, esses reflexos atuam promovendo alterações em parâmetros hemodinâmicos tais como, frequência cardíaca, pressão arterial e resistência vascular periférica e, além disso, podem alterar fatores humorais que influenciam a regulação do sistema cardiovascular (SHEPHERD, MANCIA, 1986). Disfunções nesses reflexos estão relacionadas ao aumento dos níveis pressóricos e desenvolvimento de hipertensão (WIDDOP *et al.* 1990).

Dentre esses, o Reflexo Bezold Jarisch (RBJ) se destaca como o reflexo cardiopulmonar ativado quimicamente e reconhecido desde 1867, quando von Bezold e Hirt relataram bradicardia, hipotensão e apneia induzido pelos alcalóides do *Veratrum* (von BEZOLD, HIRT, 1867), e anos depois confirmados por Jarisch (JARISCH, RICHTER, 1939). Os receptores do RBJ estão distribuídos por toda a câmara cardíaca, mais especificamente no ventrículo esquerdo, cuja inervação

aferente consiste em fibras vagais do tipo C amielinizadas (SHEPHERD, MANCIA, 1986).

A importância funcional desse reflexo atribui-se à ativação dos seus receptores a estímulos químicos, por substâncias produzidas e liberadas no próprio miocárdio, quando em situações isquêmicas, resultando no aumento da atividade parassimpática para o coração, diminuição simpática para o coração e vasos periféricos, protegendo este órgão do infarto agudo do miocárdio e morte súbita, assim como experimentalmente por agentes farmacológicos como serotonina (5-HT) e fenilbiguanida, um agonista do receptor 5-HT₃ (PAINTAL, 1955; KRAYER, 1961; THORÉN, 1979).

A hipertrofia cardíaca tem sido amplamente associada com a diminuição da sensibilidade do RBJ, visto que seus receptores estão localizados principalmente no ventrículo esquerdo (VEELKEN *et al.*, 1994; UGGERE *et al.*, 2000; ANDRADE *et al.*, 2007; 2008), tanto em modelos experimentais de hipertensão (UGGERE *et al.*, 2000), quanto em humanos hipertensos (GRASSI, GIANNATTASIO, CLÉROUX, 1988). Vale ressaltar que tem sido relatada a presença de hipertrofia cardíaca após uso abusivo de EAA (TRIFUNOVIC *et al.*, 1995; URHAUSEN, ALBERTS, KINDERMANN, 2004; BEUTEL, BERGAMASCHI, CAMPOS, 2005; DU TOIT *et al.*, 2005; PEREIRA-JUNIOR *et al.*, 2006; FERMO *et al.*, 2008).

BISSOLI *et al.*, (2009) observaram que o tratamento com 10mg/kg/semana por 8 semanas de DN é capaz de reduzir a sensibilidade do reflexo cardiopulmonar- RBJ, associado com hipertrofia cardíaca e elevação da PAM. O mesmo grupo usando o dobro da dose e menor período de tratamento (20mg/kg/semana, por 4 semanas)

demonstrou prejuízo na sensibilidade do RBJ, além de remodelamento e hipertrofia cardíaca, com injúria cardíaca, hipertensão arterial, provavelmente relacionados com o SRAA e estado pró-inflamatório (FRANQUNI *et al.*, 2013).

Entretanto, não é conhecido na literatura trabalho que tenha investigado a influência do treinamento resistido na sensibilidade do RBJ, e nem da associação com alta dose de DN (20 mg/kg/4sem) no período de 4 semanas de treinamento.

1.4 EAA E EXERCÍCIO

Exercícios físicos regulares promovem efeitos benéficos para a saúde (HASKELL *et al.*, 2007; NELSON *et al.*, 2007; LEUNG *et al.*, 2008), podendo reduzir o colesterol plasmático, a pressão arterial e o peso, bem como a intolerância à glicose, diminuindo assim, as taxas de mortalidade por doenças cardíacas (BAUMAN, 2004).

O exercício tem sido relacionado com uma melhor função contrátil cardíaca, e os mecanismos moleculares envolvidos em suas respostas adaptativas benéficas na proteção do miocárdio, incluem o aumento da expressão de proteína de choque térmico (HSPs) (POWERS, LOCKE, DEMIREL, 2001; DRUMMOND *et al.*, 2013), indução da óxido nítrico sintase (SESSA *et al.*, 1994; PINHO *et al.*, 2010), bem como aumento da atividade de enzimas antioxidantes (YAMASHITA *et al.*, 1999; CHAVES *et al.*, 2006; PINHO *et al.*, 2010), entre outros.

Estudos em modelos animais demonstram que o treinamento físico é capaz de proteger o coração, preservar sua função mecânica e melhorar a resistência do miocárdio após lesões de isquemia e reperfusão, e que a hipertrofia cardíaca fisiológica faz parte desse processo de resistência (JI *et al.*, 1994; MARGANATO *et*

al., 2000; DOMENECH *et al.*, 2002; BROWN *et al.*, 2003). Entretanto, a relação entre EAA e a prática de exercícios físicos parece não ser benéfica. Existem numerosos relatos sobre a ocorrência de morte súbita entre atletas usando EAA, especialmente nandrolona (LUKE *et al.*, 1990; FINESCHI *et al.*, 2007; MONTISCI *et al.*, 2012).

Dentre os vários tipos de treinamento existentes, há o resistido (TR) que aumenta a força muscular, resistência e potência (FLECK, KRAEMER, 2014). Em resposta a este TR, tanto os músculos cardíacos quanto os esqueléticos precisam se adaptar (EFFRON, 1989) ao estímulo hipertrófico conhecido por aumento cardíaco devido à sobrecarga de pressão para o coração durante o treino, sendo capaz de aumentar a massa e espessura da parede do ventrículo esquerdo, mas não de atrapalhar a função cardíaca, dita hipertrofia fisiológica (MacDOUGALL *et al.*, 1985; LENTINI *et al.*, 1993; RIEZZO *et al.*, 2007).

O TR tem sido frequentemente associado ao uso abusivo de EAA por atletas e não atletas (KUHN, 2002). Essa combinação pode resultar em hipertrofia concêntrica da parede ventricular esquerda e função diastólica prejudicada, acarretando uma hipertrofia patológica (DICKERMAN *et al.*, 1995; FINESCHI *et al.*, 2007). Além disso, estudos têm demonstrado que a sobrecarga hemodinâmica ativa o SRAA no coração (DAHLOF *et al.*, 1992; JULIUS, 2007).

Algumas evidências mostram que a nandrolona pode eliminar a proteção do exercício sobre o coração (MEDEI *et al.*, 2010; Do CARMO *et al.*, 2011; MARQUES-NETO *et al.*, 2014). MARQUES-NETO *et al.*, 2014, observaram que o exercício melhora a tolerância do miocárdio à isquemia e reperfusão em ratos machos, mas a

associação de exercício com nandrolona é capaz de abolir esta cardioproteção por um mecanismo que envolve ativação do SRAA cardíaca. Além disso, MEDEI *et al.*, 2010 demonstraram que o consumo elevado e crônico de nandrolona promove remodelamento cardíaco e distúrbios na repolarização ventricular.

Modelos experimentais relacionados com atividade física são geralmente realizados com base em exercícios aeróbicos de longa duração e baixa intensidade, e poucos são os trabalhos que associam o TR com DN, o qual mimetiza o treinamento de musculação realizado em academias (CUNHA *et al.*, 2005; TANNO *et al.*, 2011; MARQUETI *et al.*, 2012; HASSAN, KAMAL *et al.*, 2013; NEVES *et al.*, 2013).

O TR pode levar ao desenvolvimento de hipertrofia cardíaca concêntrica (BARAUNA *et al.*, 2005; BARAUNA *et al.*, 2007; TANNO *et al.*, 2011), assim como alterações nas concentrações de citocinas locais ou sistêmicas (BRUUNSGAARD, 2005). TANNO *et al.*, (2011) observaram que a DN piora a hipertrofia cardíaca induzida pelo TR e conduz a aumento no teor de colágeno ventricular com comprometimento da função diastólica e sistólica. RIEZZO *et al.*, (2011) demonstraram que DN aumenta os níveis de citocina pró-inflamatória (IL-1 β e TNF- α) induzido por exercício de corrida.

A hipertrofia cardíaca sabidamente pode influenciar negativamente a sensibilidade do reflexo cardiopulmonar em muitos estados patológicos (UGGERE *et al.*, 2000, ANDRADE *et al.*, 2007; ANDRADE *et al.*, 2008; FLANAGAN *et al.*, 2008; BISSOLI *et al.*, 2009), entretanto, nenhum estudo anterior avaliou o efeito de TR sob a sensibilidade do reflexo cardiopulmonar, em especial o RBJ, sobre citocinas pró e anti-inflamatórias cardíacas, tais como a TNF- α e IL-10, e a atividade da ECA, assim

como, se a associação do TR com DN pode prevenir os prejuízos sabidamente causado pelo uso de altas doses do DN.

Diante do exposto, o presente estudo pretende responder as seguintes questões: A hipertrofia cardíaca causada pelo treinamento resistido (TR) durante quatro semanas será capaz de afetar a sensibilidade do RBJ? A hipertrofia cardíaca causada por TR seria resultado do estímulo hipertrófico causado pelo SRRA ou desregulação nos níveis de citocinas pró e anti-inflamatórias? Será que TR durante quatro semanas associado à administração de DN na dose de 20mg/kg/4sem impediria os efeitos cardíacos deletérios sobre marcadores de remodelamento cardíaco funcional (RBJ), bioquímico (citocinas e AECA) e estrutural (colágeno e hipertrofia) observados por nosso grupo anteriormente, nas mesmas condições experimentais?

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a influência do treinamento resistido (TR) com e sem administração de Decanoato de Nandrolona (DN) em marcadores funcionais, bioquímicos e estruturais de remodelamento cardíaco em ratos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Verificar o efeito do TR com e sem administração de DN sobre:

- a) Pressão arterial média e frequência cardíaca basais.
- b) A sensibilidade do RBJ como marcador de remodelamento cardíaco funcional.

c) Dosagem de citocinas inflamatória (TNF- α), anti-inflamatória (IL-10) e atividade da enzima conversora de angiotensina (AECA) no coração dos animais, como marcadores de remodelamento cardíaco bioquímico.

d) Modificações histológicas no coração como marcadores de remodelamento cardíaco estrutural, bem como deposição de colágeno tipo I na MEC e hipertrofia cardíaca por análise morfométrica.

3. MÉTODOS

3.1 ANIMAIS EXPERIMENTAIS

Foram utilizados ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), machos, com três meses e massa corporal inicial variando entre 230-260 gramas. Os procedimentos foram realizados de acordo com os princípios éticos de experimentação animal preparado pelo CONCEA (BRASIL, 2014), e avaliado e aprovado pela Comissão de Ética, Bioética e Bem Estar Animal da Universidade Vila Velha (Protocolo; Nº 68/2009). Os animais foram mantidos em ambiente com iluminação artificial (ciclo claro-escuro de 12h) e temperatura de 20–25°C, e tiveram acesso à água e comida (ração Pro Biotério Moinho Primor, S.A) *ad libitum*.

3.1.1 Grupos experimentais

Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais:

Grupo Controle (C; n=7) e grupo Exercício (E; n=7): Os animais receberam semanalmente duas aplicações de apenas veículo (óleo de amendoim com álcool benzílico, 90:10 v/v; 0,1 mL) por via intramuscular, no músculo femoral, durante quatro semanas de tratamento;

Grupo Decanoato de Nandrolona (DN; n=7) e grupo Decanoato de Nandrolona submetido ao exercício (DNE; n=7): Os animais receberam semanalmente DN na

dose de 20mg/kg/semana divididos em duas doses de 10mg/kg/semana, por via intramuscular, no músculo femoral, durante quatro semanas de tratamento;

Os animais dos grupos E e DNE foram submetidos a duas sessões de treinamento resistido (TR) por semana, por quatro semanas.

3.2 TREINAMENTO RESISTIDO

Uma semana antes do início dos treinos resistidos, os animais foram adaptados à água. Esse período de adaptação envolveu deixar os animais em um tanque com água morna rasa ($31 \pm 1^\circ\text{C}$), durante 60 minutos todos os dias, a fim de eliminar uma resposta ao estresse de exposição à água. Os animais do grupo C também foram submetidos a este protocolo de adaptação.

O protocolo aplicado aos grupos E e DNE, foi realizado como descrito anteriormente por VOLTARELLI *et al.*, (2002) com modificações. Primeiro, os ratos foram induzidos a saltar na água, em 6 séries (30 segundos de exercício interrompida por 30 segundos de repouso) com uma carga (platinas de chumbo amarrado ao peito) igual a 40% do sua massa corporal, em um tanque cilíndrico com um diâmetro de 25 cm. A profundidade de água correspondeu a três vezes o comprimento do animal, e a temperatura da água variou entre $31 \pm 1^\circ\text{C}$. Após um intervalo de 9 min de descanso, os animais foram levados de volta para o tanque com uma carga equivalente a 30% da massa corporal, e foram induzidos a pular na água para respirar, por 8 series (60 segundos, com 30 segundos de descanso). Após a última série, amostras de sangue (25 μl) foram obtidas a partir de um corte na ponta da cauda e utilizadas para avaliar os níveis de lactato sanguíneo (Intervalo de medição 0,8 a 22 mmol/L; Tiras BM-Lactate® e Accutrend® Lactato monitorar; Roche, São Paulo, Brasil), a fim de confirmar que o exercício foi realizado em condições

anaeróbicas (indicada por valores de lactato no sangue acima de 7,0 mmol/L; VOLTARELLI *et al.*, 2002).

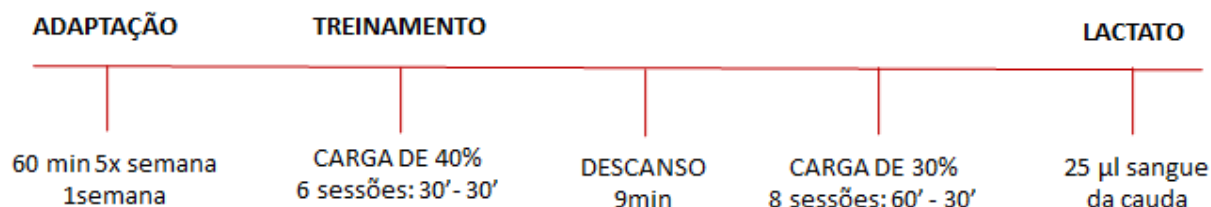


Figura 7. Esquema de Protocolo de Treinamento Resistido.

3.3 REGISTROS DE PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA (PAM) E FREQUENCIA CARDÍACA (FC)

Sete dias após o término do tratamento, tempo necessário para total absorção do DN (SHAHIDI, 2001), os animais foram anestesiados com Quetamina/Xilazina (100 e 10 mg/kg, respectivamente, i.p.), e a cateterização foi realizada por meio de uma incisão na região inguinal, com posterior isolamento do plexo vasculo-nervoso, possibilitando a cateterização da artéria e veia femoral, respectivamente. Os cateteres de polietileno (PE10 acoplado à PE50, Clay Adans, USA) foram preenchidos com solução salina (0,9%) e ocluídos com pinos de aço inoxidável. O cateter arterial femoral esquerdo foi conectado ao transdutor de pressão (Grass Instrument Div., Warwick, NY, USA; Model PT 300) por um cateter flexível, e os valores de registro da pressão arterial média (PAM), e frequência cardíaca (FC) foram obtidos por meio de um sistema computadorizado e um programa para aquisição de dados biológicos no Biopac System[®] (MP100, Santa Barbara, CA,

USA) 24h após o procedimento de Cateterização, como realizado anteriormente por UGGERE *et al.*, (2000) e BISSOLI *et al.*, (2000).

3.4 AVALIAÇÃO DO REFLEXO BEZOLD-JARISCH

Após um período de estabilização de 40 minutos, foi realizado o registro basal da PAM e da FC, e o RBJ foi estudado. O reflexo foi ativado quimicamente pela injeção intravenosa *in bolus* de cinco doses randomizadas de serotonina (2, 4, 8, 16, 32 µg/kg) com um *flush* de salina 0,2 mL, concedendo-se um intervalo de 20 minutos entre as doses, observando-se a bradicardia máxima e a resposta hipotensora. O reflexo foi identificado por reduções dose-dependente na FC e da Pressão Arterial Diastólica (PAD), simultaneamente, e avaliado pelo percentual de queda da FC e PAD após cada dose de serotonina de acordo com BISSOLI *et al.*, (2009) e ANDRADE *et al.*, (2008).

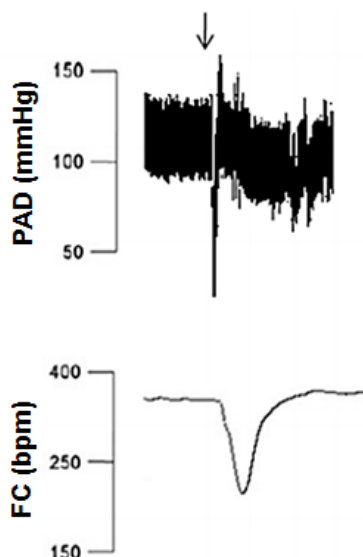


Figura 8. Registro típico da ativação do RBJ pela administração de serotonina, identificado por redução na pressão arterial diastólica (PAD) e frequência cardíaca (FC), simultaneamente.

3.5 DETERMINAÇÃO DA MASSA DO CORAÇÃO À MASSA CORPORAL DOS RATOS E ANÁLISE HISTOLÓGICA

Após as avaliações de PAM e FC basais, os animais foram eutanasiados por decapitação em guilhotina, e o coração foi retirado, lavado com solução fisiológica e o excesso de líquido foi removido com papel de filtro e após esse processo o coração foi pesado. A razão da massa do coração pela massa corporal (COR/MC) foi usada como índice de hipertrofia cardíaca.

Em seguida, o ventrículo esquerdo foi fixado em solução neutra de formol tamponado a 10% durante 24 horas, e após, uma seção intermediária do tecido foi extraída e embebidas em parafina. Cortes de 5 μ m de espessura foram coradas com hematoxilina/eosina ou Picrosirius red para a avaliação de hipertrofia e deposição de colágeno, respectivamente. Amostras de tecidos coradas foram então analisados usando um microscópio de luz e analisadas por um patologista que desconhecia os grupos de tratamento. As amostras de Picrosirius red também foram analisadas, sob a luz polarizada. Dez imagens de cada lâmina foram obtidas, usando um sistema de aquisição de imagem (Moticam plus; Motic Inc., Canada), e a análise morfométrica foi realizada por contagem do número de núcleos de miócitos por campo, o tamanho dos núcleos e a deposição de colágeno na MEC utilizando o software Moticam[®] para as análises (ROCHA *et al.*, 2007; ANDRADE *et al.*, 2008; TANNO *et al.*, 2011).

3.6 AVALIAÇÃO DA MASSA CORPORAL E DO EFEITO ANABÓLICO DO DN.

A avaliação da massa corpórea foi realizada pelo cálculo da diferença entre as massas finais e iniciais dos animais. O efeito anabólico foi determinado medindo o conteúdo de proteína total do corpo (PTC) dos animais de acordo com o protocolo

de BISSOLI *et al.*, (2009). Resumidamente, após a remoção do coração, a carcaça do rato foi colocada em um recipiente de alumínio e transportada a uma estufa para secagem, com temperatura constante (105 °C) durante 24 h. Após isso, a carcaça foi triturada, pesada, e o conteúdo de proteína foi determinado pelo método de Kjeldahl semi-micro. Para isto, aproximadamente 1g de carcaça foi transferida para o recipiente de digestão, contendo cerca de 25mL de ácido sulfúrico concentrado e 6g da mistura catalítica (dióxido de titânio anidro, sulfato de cobre anidro e sulfato de potássio anidro, 0,3:0,3:6), o frasco foi acondicionado em chapa aquecedora, por cerca de 2 horas, ou até a total digestão da matéria orgânica (ausência de pontos pretos no frasco). Após o resfriamento do sistema, este foi neutralizado, utilizando-se uma solução de hidróxido de sódio (30%), esta mistura é aquecida e acoplada ao destilador. Após a neutralização da mistura, ocorre a liberação de amônia (gás), que reage com solução de ácido bórico (0,033 M), formando borato de amônio que por sua vez é reagido com ácido clorídrico (0,05 M), formando cloreto de amônio, que é titulado com solução padrão de hidróxido de sódio (0,1 M). A medida da proteína é indireta, e o teor de nitrogênio é convertido para proteína multiplicando-se o resultado pelo fator 6,25, tal como recomendado pela Associação de Químicos Analíticos Oficiais (FAO 1970).

3.7 DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE CITOCINAS

Os níveis de TNF- α e IL-10 foram avaliados usando amostras de tecidos cardíacos e realizados por ensaio imunoenzimático (ELISA; TP-Reader, Thermoplate) usando kits comerciais (Invitrogen, San Jose, EUA) de acordo com as instruções do fabricante. Para isso, 50 mg do coração foi homogeneizado em sonicador juntamente com 500 μ L de tampão fosfato (pH 7,5), 10 μ L de inibidor de protease e

500µL de EDTA dissódico. Em seguida esta mistura foi centrifugada a 10.000 rpm a 4°C, por 10min. A dosagem de proteína foi realizada pelo método de Bradford (1976) utilizando as curvas de albumina sérica bovina (BSA) (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) como padrão e os valores de citocinas foram normalizados pelo teor de proteína, e expresso em picogramas por miligrama de proteína (FRANQUNI *et al.*, 2013).

3.8 ATIVIDADE DA ECA NO CORAÇÃO

Atividade da ECA foi determinada através da medição Gly-Gly (glicil-glicina), que é o produto de clivagem do peptídeo Hip-Gly-Gly pela ECA, conforme descrito por ENDRINGER *et al.*, (2014). Resumidamente, 100mg do coração do animal foi adicionado a um tubo de centrífuga contendo com tampão fosfato (pH 8,3; 50mM), juntamente com 5 µL de inibidor de protease, em sonicador por 5 minutos. Após esse período, as soluções foram centrifugadas à 3000 rpm por 10 minutos a 4 °C . Para a reação enzimática, 10µL uma alíquota do sobrenadante (concentração final de 100 mg/mL) ou do controle positivo (solução de pulmão de coelho, concentração final 9,1 mg/mL, Sigma, EUA) foi combinado com tampão HEPES (27,3 mM, pH 8,15) e a solução de substrato, Hip-Gly-Gly (27,3 mM; Sigma, EUA). Após homogeneização, a mistura foi incubada durante 35 min à 37°C. A reação foi interrompida pela adição de 100µL de tungstato de sódio (300 mM) e 100µL de ácido sulfúrico (0,33 mM). O sistema foi então misturado com um tampão de fosfato (100 mM, pH 8,5) e 5 µL de TNBS 69 mM (Sigma, EUA). Depois de 20 minutos no escuro, a absorbância da placa foi lida em um leitor de microplacas (TP-Reader, Thermoplate) a 420 nm contra um ensaio em branco. A solução em branco foi preparada de modo.

3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos de pressão arterial média basal (PAM), frequência cardíaca (FC), relação massa do coração/massa corporal (COR/MC), massa corporal (MC), número de núcleos de miócitos por campo, área de núcleos de miócitos, a área de conteúdo de colágeno, citocinas cardíacas e atividade da ECA cardíaca foram analisados por ANOVA de uma via seguido do teste *post-hoc* de *Tukey*. Dados sobre mudanças na PAD e FC produzidos por serotonina foram analisados por ANOVA de duas vias, e o teste *post-hoc* de *Tukey* foi aplicado para comparações múltiplas. Os resultados foram expressos como a média \pm erro padrão da média (E.P.M.). A significância estatística foi definida como $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1 ANÁLISE DE PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA (PAM) E FREQUENCIA CARDÍACA (FC)

A Figura 9 mostra o efeito da DN e/ou treinamento resistido na pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) dos animais. O treinamento resistido não alterou o PAM no grupo E (108 ± 8 mmHg) quando comparado aos animais do grupo controle sedentários (104 ± 2 mmHg). A PAM nos ratos tratados com DN (DN: 144 ± 7 ; DNE: 138 ± 5 mmHg; $p < 0,01$) foi superior em comparação com os grupos E e C, atingindo níveis de hipertensão. O treinamento físico promoveu redução na FC basal com ou sem associação com DN (E: 312 ± 9 bpm; DNE: 324 ± 9 bpm), quando comparado com o grupo C (365 ± 11 bpm). O DN sozinho (381 ± 13 bpm) não influenciou neste parâmetro.

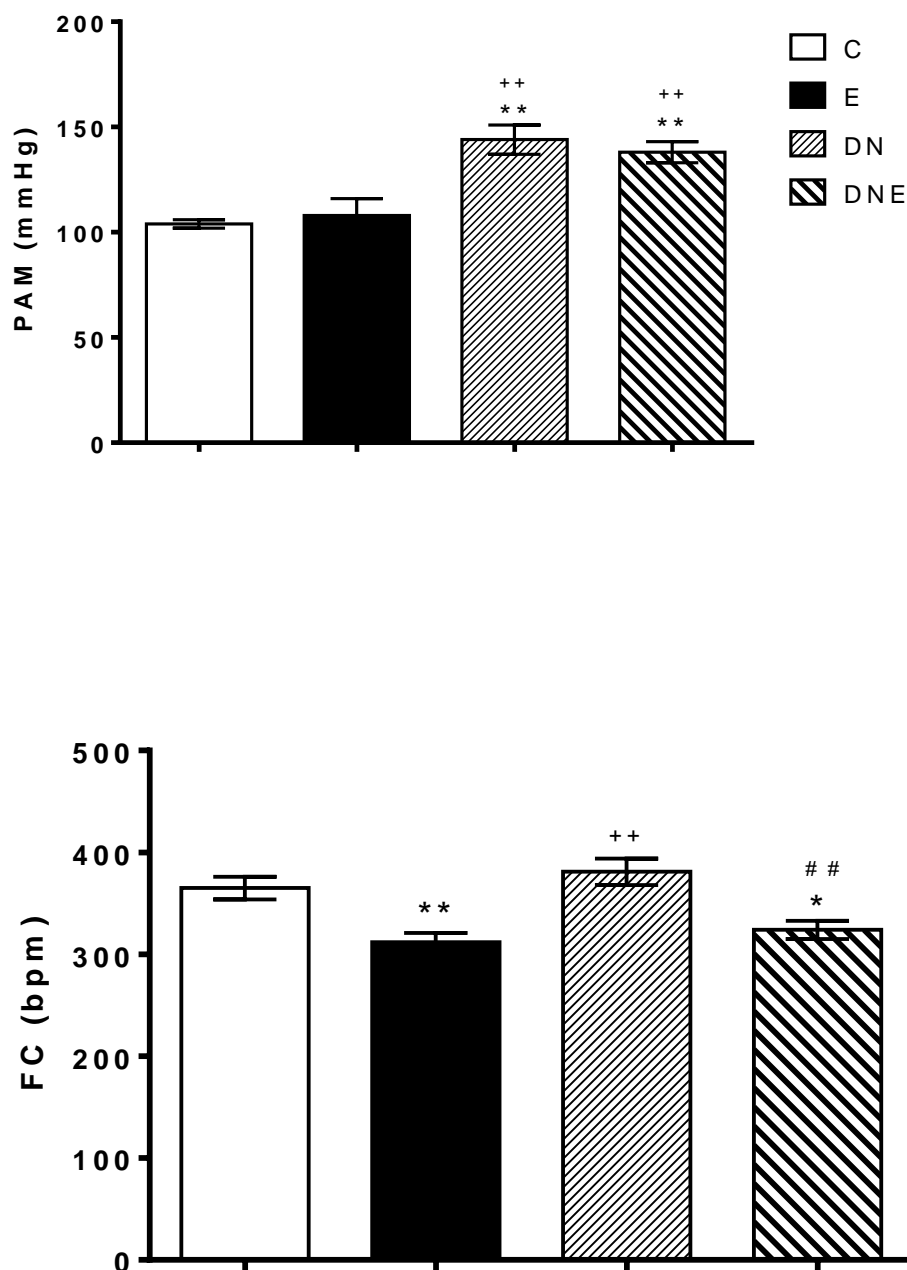


Figura 9: Efeito do treinamento resistido e tratamento com decanoato de nandrolona (DN) sobre a pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) em ratos, demonstrado nos painéis superior e inferior, respectivamente. Os valores são expressos como a média \pm E.P.M. * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$ comparado com o grupo C. ++ $p < 0,01$ em comparação com o grupo E. # $p < 0,05$ e ## $p < 0,01$ comparado com o grupo DN.

4.2. ANÁLISE DO REFLEXO BEZOLD-JARISCH

A serotonina ativou o RBJ por provocar redução dose-dependente da PAD e FC em todos os grupos experimentais. Como mostrado na Figura 10, o treinamento resistido não alterou o controle do RBJ da pressão arterial e FC. O tratamento com DN nos grupos DN e DNE reduziu a sensibilidade do RBJ.

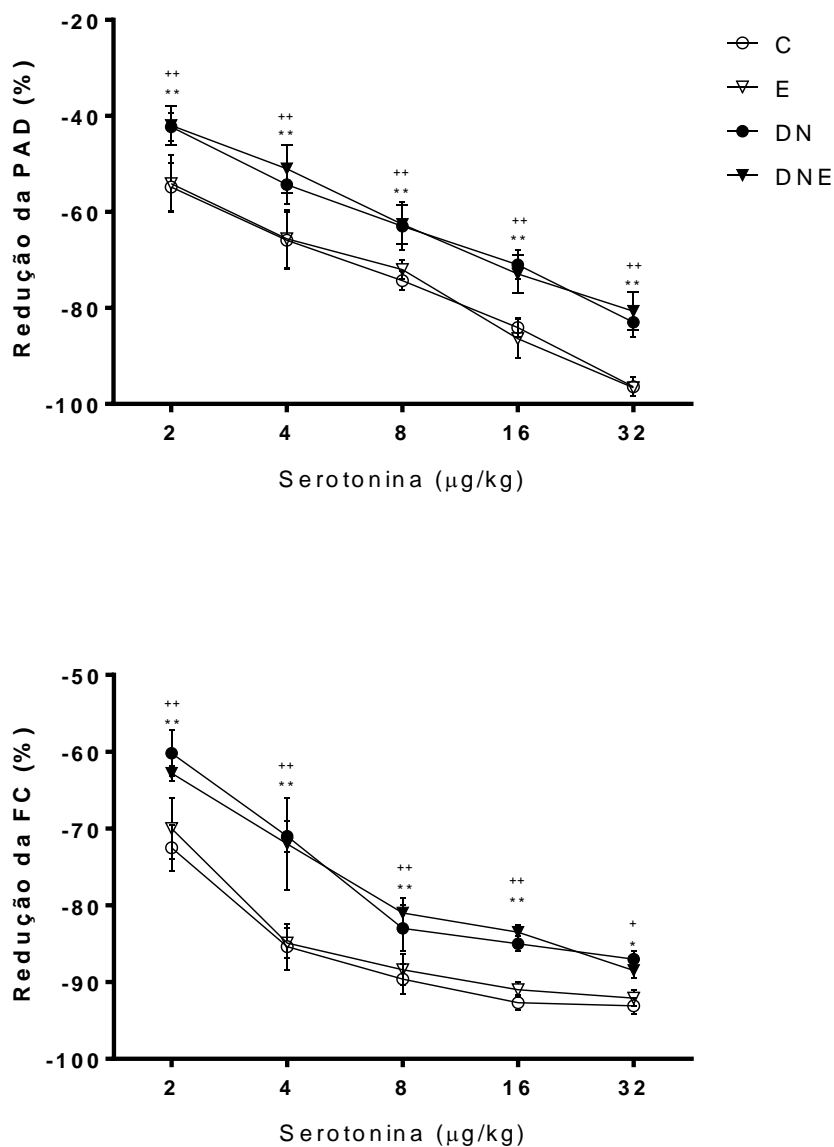


Figura 10. Percentual de queda na pressão arterial diastólica (PAD) e frequência cardíaca (FC), provocada pela ativação do RBJ por meio da aplicação *in bolus* de serotonina, demonstrada nos painéis superior e inferior, respectivamente, em animais sedentários (C), animais submetidos ao treinamento resistido (E), animais tratados com decanoato de nandrolona (DN) e treinados e tratados com DN (DNE). Os valores são expressos como a média \pm E.P.M. * p < 0,05 e ** p < 0,01 comparado com o grupo C. + < 0,05 e ++ p < 0,01 em comparação com grupo E.

4.3. MASSA CORPORAL E EFEITO ANABÓLICO

O treinamento resistido promoveu redução na massa corporal observada pela variação das médias e porcentagem das massas corporais durante o período experimental e o tratamento com DN diminuiu ainda mais estes parâmetros, além de induzir efeito anabólico observado pelo aumento do conteúdo total de proteína corporal em ratos submetidos ou não ao treinamento resistido (Tabela 1).

Tabela 1: Massa corporal inicial (MI), Massa corporal final (MF), variação das médias da massa corporal (ΔM), porcentagem da massa corporal (% M), relação massa do coração/ massa corporal (COR / MC), e conteúdo de proteína corporal total (PCT) dos grupos experimentais.

GRUPOS	MI (g)	MF (g)	ΔM (g)	%M	COR/MC (mg.g ⁻¹)	PCT (%)
C	244±17	310±16	66,7±12	28,0±6	3,13±0.07	18±4
E	255±14	287±9	43,0±8*	17,8±5*	3,21±0.08*	23±3
DN	249±12	264±16* ⁺	19±9***	7,32±4***	3,81±0,11***	33±4***
DNE	246±12	259±12** ⁺	12,4±4***	5,43±2***	3,77±0.13***	36±3***

Os valores são expressos como a média \pm o E.P.M. *p<0,05 e **p<0,01 comparado com o grupo

C. *p<0,05 e **p<0,01 em comparação com grupo E.

4.4. DESEMPENHO DO TREINAMENTO RESISTIDO

Os grupos E e DNE exibiram valores de lactato no sangue em níveis anaeróbicos, não havendo diferença entre os dois grupos (E = 9,0 \pm 0,4 mmol.L⁻¹ vs. DNE = 9,3 \pm 0,3 mmol.L⁻¹). O número de saltos por minuto, no entanto, aumentou quando o tratamento com DN foi combinado com o treinamento resistido (E = 13,2 \pm 0,7 saltos.min⁻¹ vs. DNE: 16,1 \pm 0,5 saltos.min⁻¹; p <0,01).

4.5. MASSA DO CORAÇÃO EM RELAÇÃO A MASSA CORPORAL E ANÁLISE HISTOLÓGICA

Como observado na Tabela 1, o treinamento resistido aumentou a relação COR/MC dos animais do grupo E em relação ao C, e o tratamento com DN, promoveu aumento adicional desse parâmetro, com ou sem associação ao TR.

Os resultados da análise histológica (Figura 11A; 11B; 11C) mostraram uma elevação na área dos núcleos dos miócitos cardíacos (DN: $950,1 \pm 40 \mu\text{m}^2$; DNE: $1064,3 \pm 29 \mu\text{m}^2$; $p < 0,01$) (Figura 11D) e uma redução no número de núcleos de miócitos cardíacos por campo (DN: $4,1 \pm 0,2$; DNE: $3,5 \pm 0,2$; $p < 0,01$) nos grupos tratados com DN (Figura 11E), quando comparados com os grupos C ($708,5 \pm 13 \mu\text{m}^2$ e $6,3 \pm 0,3$ núcleos / campo) e E ($822,5 \pm 12 \mu\text{m}^2$ e $5,0 \pm 0,2$ campo núcleos / campo) (Figura 11D e 11E). Os dados do grupo E foram significativamente diferentes ($p < 0,05$) em comparação com aquelas dos animais C, e o grupo DNE foi significativamente diferentes ($p < 0,05$) em comparação ao grupo DN. Análise do colágeno tipo I indicou que o tratamento DN resultou em aumento de colágeno na MEC cardíaca dos grupos DN e DNE ($715 \pm 50 \text{ mm}^2$ e $340,9 \pm 35 \text{ mm}^2$; $p < 0,01$, respectivamente) em comparação com os animais C e E ($92,9 \pm 2 \text{ mm}^2$ e $101 \pm 25 \text{ mm}^2$, respectivamente) (Figura 11F). Entretanto, este parâmetro foi maior nos animais tratados apenas com DN em comparação aos que associaram o treinamento (DNE).

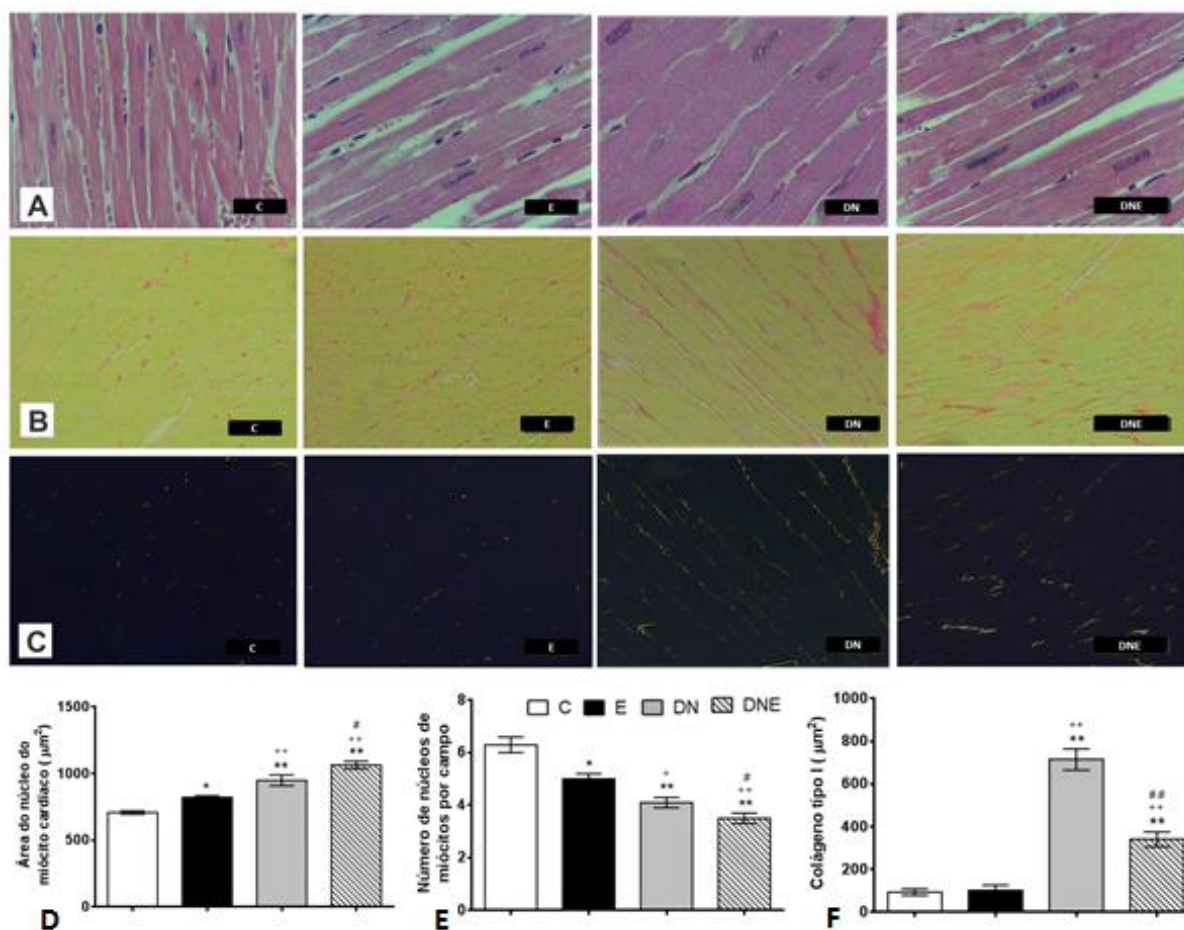


Figura 11. A análise histológica de seções do coração dos grupos C, E, DN e DNE. **A:** amostras coradas com Hematoxilina/Eosina (H&E) (400x). **B:** Picrosirius red (100x). **C:** Picrosirius red sob luz polarizada. Painéis **D**, **E** e **F** são gráficos de barras que demonstram área dos núcleos dos miócitos, número de núcleos de miócitos por campo e área de colágeno tipo 1, respectivamente entre os grupos experimentais. Análises morfométricas foram realizadas utilizando Moticam software de 2000. Os valores estão expressos como a média \pm E.P.M. * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$ comparado com o grupo C. + $p < 0,05$ e ++ $p < 0,01$ comparado com o grupo E. # $p < 0,05$ e ## $p < 0,01$ comparado com o grupo DN.

4.6. ATIVIDADE DA ECA NO CORAÇÃO

O treinamento resistido não afetou a atividade da ECA ($39,0 \pm 5 \%$) em comparação com os animais sedentários ($27,0 \pm 4 \%$). O tratamento com DN, no entanto, aumentou significativamente a atividade da ECA nos grupos tratados (DN: $58 \pm 5 \%$;

DNE: $65,0 \pm 4 \%$; $p < 0,01$ em comparação com os grupos C e E) (Figura 12).

Captopril inibiu a atividade de ECA em todos os grupos (dados não apresentados).

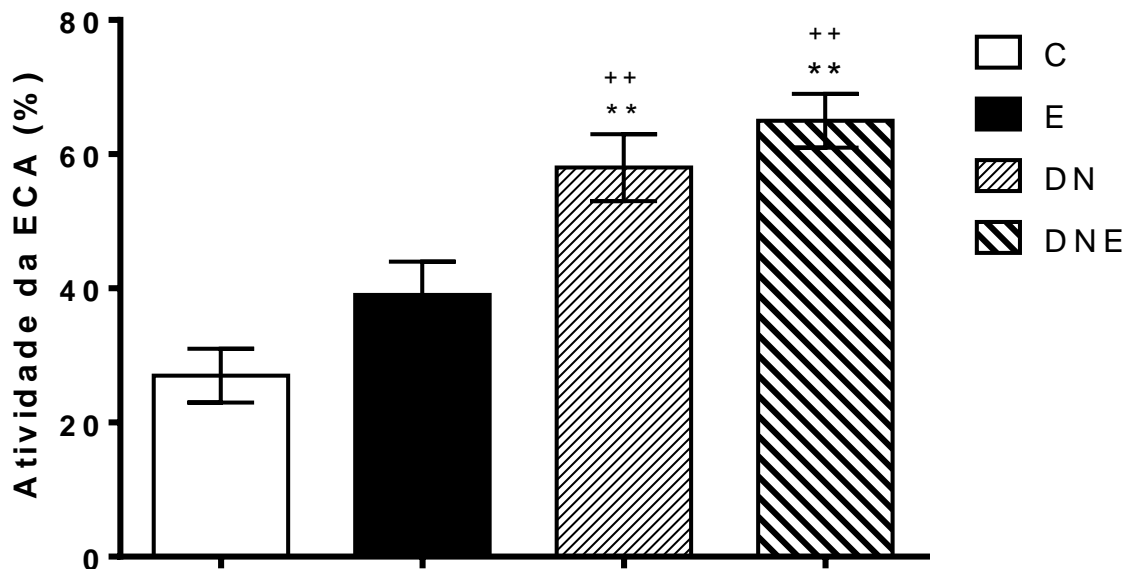


Figura 12. Avaliação da atividade da enzima conversora de angiotensina (ECA) no coração nos grupos C, E, DN e DNE. Os valores estão expressos como a média \pm E.P.M. ** $p < 0,01$ comparado com o grupo C. ++ $p < 0,01$ comparado com o grupo E. # $p < 0,05$ comparado com o grupo DN.

4.7 NÍVEIS DE CITOCINAS

A Figura 13 mostra que os grupos tratados com DN exibiram aumento de TNF- α (C: 207 ± 9 ; E: 211 ± 8 , DN: 269 ± 10 ; e DNE: 242 ± 10 pg / mg; $p < 0,01$) e redução dos níveis de IL-10 (C: 220 ± 7 ; E: 231 ± 5 ; DN: 165 ± 5 e DNE: 164 ± 4 pg / mg; $p < 0,01$), quando comparado com os grupos C e E. O TR apenas não foi capaz de alterar os níveis dessas citocinas. O grupo DN apresentou aumento nos níveis de TNF- α ($p < 0,05$) em comparação com o grupo DNE.

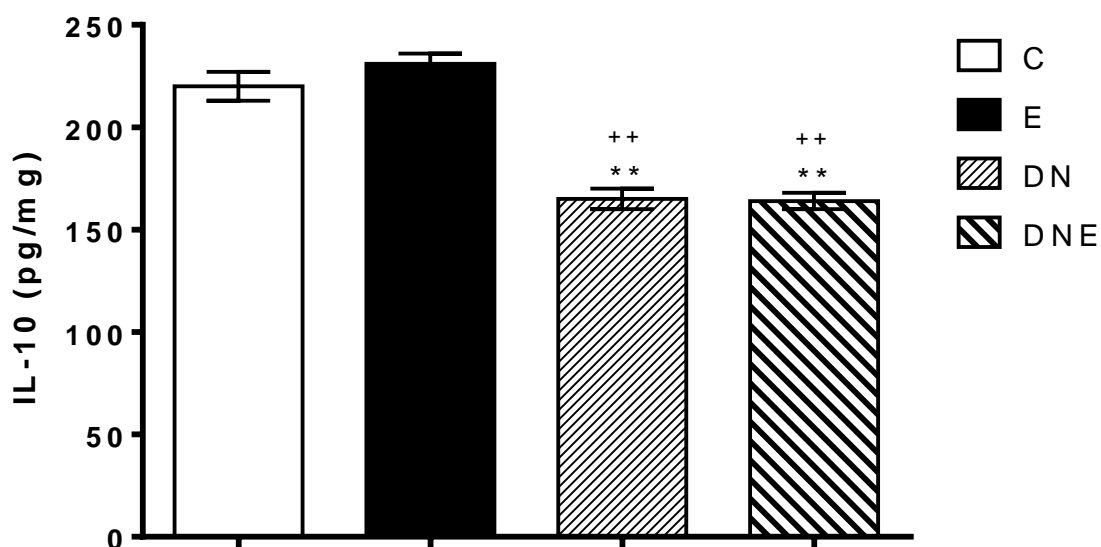
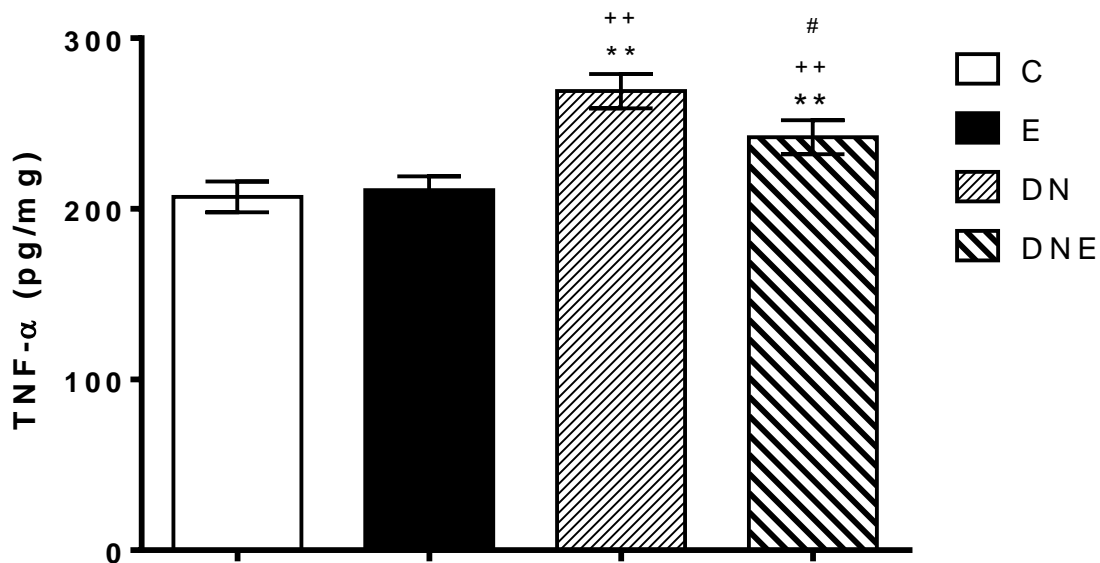


Figura 13. Concentrações das citocinas TNF- α e IL-10 nos grupos experimentais, demonstrada nos painéis superior e inferior, respectivamente. Os valores são expressos como a média \pm o E.P.M. ** p <0,01 comparado com o grupo C. ++ p <0,01 comparado com o grupo E. ## p <0,01 comparado com o grupo DN.

5. DISCUSSÃO

No presente estudo os resultados demonstram pela primeira vez que o TR não foi capaz de promover prejuízo na sensibilidade do RBJ apesar da hipertrofia cardíaca observada nos animais exercitados, não estando relacionada com TNF- α , IL-10, nem com a participação da ECA. Além disso, a associação desse tipo de treinamento com DN não foi capaz de prevenir os efeitos negativos deste EAA, ocorrendo aumento da atividade da ECA e níveis de TNF- α , diminuição de IL-10, hipertrofia, assim como redução na sensibilidade do RBJ, com desenvolvimento de hipertensão tanto no grupo DN como no grupo DNE.

O exercício é conhecido por ser um potente estímulo hipertrófico cardíaco, mas a magnitude e padrão de hipertrofia ventricular esquerda são dependentes da natureza, duração e intensidade do exercício (PLUIM *et al.*, 2000; HAYKOWSKY *et al.*, 2002). Apesar de o período de treinamento do protocolo do presente trabalho ser mais curto que outros da literatura (TANNO *et al.*, 2011; HASSAN, KAMAL *et al.*, 2013; NEVES *et al.*, 2013), foi possível observar a presença de hipertrofia nos animais treinados.

Utilizando protocolo semelhante de TR em água por cinco semanas, TANNO *et al.*, (2011) não verificaram deposição de colágeno, nem alterações na expressão do peptídeo natriurético atrial e disfunção sistólica e diastólica nos animais exercitados. NEVES *et al.*, (2013) não observaram alterações na pressão arterial, na eletrofisiologia cardíaca, e na expressão dos receptores β 1- e β 2-adrenérgico no coração de ratos treinados. Esta adaptação cardíaca conhecida como hipertrofia fisiológica observada nesses estudos, ajuda o coração a suportar aumento das

demandas de exercício, mantendo sua função normal (IEMITSU *et al.*, 2001) e não está relacionado com acúmulo de colágeno na matriz extracelular, como observado no presente estudo.

Diferentemente da hipertrofia fisiológica, a hipertrofia cardíaca patológica está associada à deposição de colágeno e hipertrofia dos cardiomiócitos em animais tratados com DN com ou sem TR, descritos recentemente (TANNO *et al.*, 2011; HASSAN, KAMAL *et al.*, 2013; NEVES *et al.* 2013). O tratamento com DN na dose de 10 mg/kg apresentou esses marcadores de hipertrofia patológica, associados à função sistólica e diastólica prejudicada e alterações na eletrofisiologia cardíaca TANNO *et al.*, 2011; HASSAN, KAMAL *et al.*, 2013; NEVES *et al.* 2013). Juntos esses trabalhos demonstraram, assim como os nossos resultados, que o treinamento resistido não foi capaz de evitar os efeitos deletérios provocados pelo DN, com potencial risco cardíaco aos usuários.

Dados da literatura apontam que a perda da massa corporal observada no presente estudo, estaria associada ao maior metabolismo de gordura corporal em função do TR e também devido às altas doses de nandrolona (ROCHA *et al.*, 2007; TANNO *et al.*, 2011; NEVES *et al.*, 2013).

O treinamento de força está associado ao aumento da síntese proteica muscular (TAMAKI *et al.*, 1992), e concentração total de proteína (PHILLIPS *et al.*, 1997), que poderiam explicar o efeito anabólico do DN observado pela medição do teor de proteína total do corpo, que foi aumentada em animais DN e DNE. O aumento do teor de proteína corporal total foi avaliado como um indicador para o efeito anabólico do EAA.

A determinação da intensidade de exercício na qual o lactato sanguíneo começa a se acumular é denominada Limiar Anaeróbio (LAN) e tem se mostrado ferramenta útil na prescrição de exercícios (BILLAT *et al.*, 2003). A eficácia do protocolo de treinamento na indução de exercício anaeróbico foi confirmada pela medição do lactato sanguíneo, já que este limiar segundo VOLTARELLI *et al.*, 2002, é de 7,0 mmol/L, e os nossos animais apresentaram níveis acima de 7,0 mmol/L (VOLTARELLI *et al.*, 2002). O tratamento com DN no grupo DNE resultou em melhor desempenho físico, como mostrado pelo número aumentado de saltos por minuto, enquanto os níveis de lactato permaneceram iguais ao grupo E.

Apesar de alguns trabalhos já terem associado o TR e DN sobre a hipertrofia cardíaca (CUNHA *et al.*, 2005; TANNO *et al.*, 2011; MARQUETI *et al.*, 2012; HASSAN, KAMAL *et al.*, 2013; NEVES *et al.*, 2013), nenhum verificou os parâmetros avaliados na mesma dose e tempo do presente estudo, sendo que estes, utilizaram doses menores por tempo maior de tratamento e treinamento, em comparação ao presente estudo.

MARSH *et al.*, (1998) demonstraram que os receptores de andrógenos estão presentes em miócitos cardíacos de ratos adultos masculinos e femininos. Estes receptores são capazes de modular o fenótipo cardíaco e produzir hipertrofia, aumentando a síntese de proteínas e o tamanho da fibra. O crescimento dos miócitos cardíacos é fator importante na hipertrofia miocárdica. No processo de remodelamento observa-se aumento do volume dos miócitos em consequência de aumento no diâmetro celular devido a novos sarcômeros em paralelo com os já existentes (WEBER, BRILLA, JANICKI, 1991).

Em análise morfométrica, além do aumento da deposição de colágeno na MEC cardíaca, observamos aumento da área dos núcleos de miócitos e diminuição do número de núcleos de miócitos cardíacos nos grupos DN e DNE, dados que condizem com FRANQUIN *et al.*, (2013), que demonstraram esses mesmos resultados no grupo tratado com DN em situação sedentária. Assim, podemos inferir que o remodelamento cardíaco observado no grupo DNE é devido ao EAA e não ao TR.

A hipertrofia patológica tem sido demonstrada por envolver remodelamento cardíaco associado com estímulos inflamatórios induzindo estes fibroblastos a sintetizar colágeno (De HAAS *et al.*, 2012). TNF- α é conhecido por ser expresso por todos os tipos de células nucleadas que residem no miocárdio, incluindo os miócitos, o que sugere que esta molécula pode não só orquestrar a resposta inflamatória, como também participar diretamente no remodelamento cardíaco (SASAYAMA *et al.*, 1999). Em nosso estudo, não foi observado deposição de colágeno da matriz cardíaca, nem desequilíbrio das citocinas nos animais exercitados, indicando que a hipertrofia observada foi fisiológica.

Em contrapartida, os EAA têm sido associados com mudanças nas citocinas no coração quando combinadas com exercício aeróbico (RIEZZO *et al.*, 2011; DU TOIT *et al.*, 2005) ou em condições sedentárias (FRANQUINI *et al.*, 2013). RIEZZO *et al.*, (2011) e DU TOIT *et al.*, (2005) demonstraram que o DN aumenta o teor de TNF- α cardíaco em ratos, mesmo quando administrada em combinação com o exercício aeróbico

Nosso protocolo de exercício resistido não alterou o conteúdo cardíaco das citocinas avaliadas, mas os grupos DN e DNE apresentaram aumento de TNF- α e redução de IL-10. Além disso, observamos no grupo DNE uma diminuição nos níveis de TNF- α quando comparado ao grupo DN, demonstrando que o exercício resistido não foi capaz de prevenir o processo inflamatório e as alterações deletérias do DN no perfil das citocinas estudadas.

A este respeito, a IL-10 pode atuar em diferentes tipos de células e induzir a supressão da resposta inflamatória. MEADOR *et al.*, (2008) evidenciaram aumento expressivo da IL-6, uma citocina também de caráter pró-inflamatório, quando utilizaram animais *knockout* para o gene da IL-10. Além disso, a IL-10 é uma importante citocina imunoreguladora, de caráter anti-inflamatório, associada com mudanças inibitórias mediada por TNF- α (MOORE *et al.*, 2001) e pode ser uma citocina chave na proteção cardiovascular (CALIGIURI *et al.*, 2003; GUNNETT, HEISTAD, FARACI, 2002). A importância da IL-10 na proteção cardíaca pode ser demonstrada, pelo fato de que a redução na produção desta citocina favorece o desenvolvimento de insuficiência cardíaca (STUMPF *et al.*, 2003; YAMAOKA *et al.*, 1999).

Citocinas e SRAA parecem desempenhar um papel significativo no processo de crescimento de miócitos cardíacos (PENG *et al.*, 2002; BRILLA *et al.*, 1994; SUZUKI *et al.*, 2003). TNF- α tem efeito direto sobre os fibroblastos cardíacos, e também promove uma regulação positiva do receptor AT1 favorecendo a deposição de tecido fibroso mediada por Ang II (PENG *et al.*, 2002).

BRILLA *et al.*, (1994) demonstraram que a Ang II promove acúmulo de colágeno em cultura de células de fibroblastos, devido a alterações na síntese e a degradação do mesmo. Além disso, este peptídeo participa na reparação e remodelação do tecido, por meio da regulação do crescimento celular e a síntese da MEC, promovendo hipertrofia (SUZUKI *et al.*, 2003). Juntos, estes resultados indicam a presença de hipertrofia patológica (SHEN *et al.*, 2006; SASAYAMA *et al.*, 1999).

O remodelamento cardíaco observado nos grupos DN e DNE parece estar relacionado com o SRAA, uma vez que nossos resultados demonstraram que o tratamento com DN elevou a atividade ECA nesses grupos, o que não foi observado no grupo somente exercitado. Além disso, a relação do SRAA com a deposição de colágeno e a hipertrofia cardíaca está de acordo com a literatura (ROCHA *et al.*, 2007; DO CARMO *et al.*, 2011).

ROCHA *et al.* (2007) demonstraram que a deposição de colágeno tipo I e III no miocárdio responsável pela hipertrofia cardíaca, está associado com aumento da atividade da ECA e expressão de receptores AT1 no coração de animais tratados com DN em condições sedentárias. MARQUES NETO *et al.*, (2014) sugeriram o papel do SRAA na regulação dos efeitos deletérios do DN, demonstrado pela prevenção de distúrbios na repolarização ventricular e disfunção parassimpática deste EAA pelo bloqueio do receptor AT1 (losartan) e bloqueio do receptor mineralocorticóide (espironolactona), em ratos sedentários e exercitados.

Notavelmente, estudos anteriores demonstram que as citocinas e componentes do SRAA interagem uns com os outros (DALEKOS *et al.*, 1996; DALEKOS *et al.*, 1997; KANG *et al.*, 2008; DALPIAZ *et al.*, 2013, FRANQUINI *et al.*, 2013), mas nenhum

demonstrou essa interação em associação com o exercício mais a administração de DN. Assim, estes nossos dados sugerem a participação do SRAA no aumento da produção de citocinas inflamatórias e que ambos estes sistemas, participam do remodelamento cardíaco causado por DN.

Os animais dos grupos DN e DNE apresentaram-se hipertensos, o que pode ser explicado pela ação do DN, visto que estudos relataram a relação entre esse EAA e o desenvolvimento de hipertensão arterial (BEUTEL *et al.*, 2005; AMSTERDAM, OPPERHUIZEN, HARTGENS, 2010) assim como FRANQUNI *et al.*, (2013), que observou hipertensão em ratos tratados na mesma dose e tempo, que no presente estudo.

Também foi observado bradicardia de repouso, nos grupo E e DNE, que confirmou a eficácia do treinamento físico neste estudo como adaptação do TR mantida no grupo tratado com DN, como descrito anteriormente (NEVES *et al.*, 2013). Redução na frequência cardíaca de repouso no exercício está relacionada com alterações na função do marca-passo cardíaco que influi em redução na frequência cardíaca intrínseca (DE ANGELIS *et al.*, 2004).

Outro achado interessante do nosso estudo é que apenas hipertrofia cardíaca patológica influencia negativamente o RBJ. Em nosso conhecimento, não há estudos anteriores que avaliaram o RBJ em condições de exercício anaeróbico. Apesar da presença de hipertrofia cardíaca no grupo E, que parece ser fisiológica, nenhuma alteração na sensibilidade RBJ foi observada nos animais deste grupo. No entanto, os animais do grupo DN e DNE desenvolveram hipertrofia patológica e

apresentaram redução na função do RBJ. Conseqüentemente, a cardioproteção induzida pelo exercício é perdida com o tratamento com este esteroide.

Dados da literatura comprovam a existência de fibras C não mielinizadas no ventrículo e átrio esquerdo, sendo estes mecano e quimiossensíveis (THOREN, 1979) e animais com hipertrofia cardíaca induzida por tratamento com agonista beta adrenérgico, isoproterenol, apresentaram redução do controle da FC pelo RBJ. (MEYRELLES *et al.*, 1998).

ANDRADE *et al.*, (2008) utilizando DN a 10 mg/kg durante 4 semanas, observaram hipertrofia cardíaca nos animais tratados porém, sem alteração na sensibilidade do RBJ. Em seguida, BISSOLI *et al.*, (2009) aumentaram o tempo de tratamento para 8 semanas, mantendo a mesma dose e verificaram hipertrofia cardíaca, prejuízo na sensibilidade do RBJ e aumento da pressão nos animais tratados com DN, mas não em níveis hipertensivos. Mais recentemente, FRANQUNI *et al.*, (2013), aumentaram a dose de DN para 20 mg/kg e diminuíram o tempo de tratamento para 4 semanas, e evidenciaram hipertrofia cardíaca, prejuízo na sensibilidade do RBJ e hipertensão nesses animais. Esses dados demonstram a influência da dose e do tempo de tratamento nos prejuízos cardiovasculares observado pela utilização de altas doses de DN. Assim, o prejuízo na sensibilidade do RBJ, no controle da frequência cardíaca e na pressão arterial, pode ser importante no aparecimento da hipertensão nesses animais.

Nossos resultados demonstram também a participação do SRAA no prejuízo do RBJ observado no grupo DN e DNE visto que a atividade da ECA estava aumentada nesses animais. Uggere *et al.* (2000) demonstraram que o tratamento com enalapril,

inibidor da ECA, reduziu a hipertrofia e, por conseguinte melhorou o reflexo em ratos espontaneamente hipertensos. Animais submetidos ao infarto do miocárdio apresentaram hipertrofia cardíaca e prejuízo do RBJ e após tratamento com inibidor da enzima conversora de angiotensina (IECA), apresentaram redução da hipertrofia cardíaca e melhora do RBJ (ANDRADE et al., 2007).

Portanto, é plausível que as respostas anormais deste reflexo possam comprometer o controle cardiovascular em usuários de esteroides anabolizantes e praticantes de exercícios resistidos, tanto em repouso quanto durante o treinamento. O reflexo cardiopulmonar prejudicado poderia levar a aumentos exagerados no sistema nervoso autônomo, diretamente através de uma entrada diminuída para centros de controle simpático central e, indiretamente, através da interação neural com o barorreflexo arterial (MANCIA, MARK 1983). No geral, estas deficiências podem levar a um tamponamento insuficiente do sistema nervoso autônomo e contribuir para uma excitação simpática descontrolada e maiores aumentos na pressão arterial com o exercício (FADEL, RAVEN, 2012), no entanto, esta possibilidade merece uma investigação mais aprofundada.

Sumariando os nossos resultados indicam que o exercício anaeróbico não foi capaz de impedir os efeitos deletérios cardíacos do DN por prejudicar a sensibilidade do RBJ associado à hipertrofia cardíaca patológica e hipertensão. Essas alterações estão relacionadas com a deposição de colágeno na MEC, o aumento da AECA e de citocina inflamatória, TNF- α , e redução da citocina anti-inflamatória, IL-10. Adicionalmente, o exercício promoveu hipertrofia cardíaca fisiológica, pois não alterou os marcadores de remodelamento cardíaco bioquímico, estrutural e funcional.

6. CONCLUSÃO

Em conclusão, nossos resultados demonstram que o TR não foi capaz de impedir os efeitos prejudiciais do DN em marcadores funcionais, bioquímicos e estruturais de remodelamento cardíaco. As disfunções observadas pelo tratamento com decanoato de nandrolona contribuem para o estabelecimento e manutenção da hipertensão arterial, comprometendo o controle cardiovascular de usuários de altas doses desse esteroide, tanto em repouso quanto durante o treinamento, aumentando o risco de infarto agudo e morte súbita nestes indivíduos.

7. REFERÊNCIAS

AMSTERDAM, J. V.; OPPERHUIZEN, A.; HARTGENS, F. Adverse health effects of anabolic-androgenic steroids. **Regulatory toxicology and pharmacology**, v. 57, p. 117-123, 2010.

ANDRADE, T. U.; LOIOLA, L. Z.; ALCURE, S. M.; MEDEIROS, A. R.; SANTOS, M. C.; MOYSÉS, M. R.; ABREU, G. R.; LENZ, D.; BISSOLI, N. S. Role of the renin-angiotensin system in the nandrolone-decanoate-induced attenuation of the Bezold-Jarisch reflex. **Canadian journal of physiology and pharmacology**, v. 89, n. 12, p. 891-897, 2011.

ANDRADE, T. U.; SANTOS, M. C.; BUSATO, V. C.; MEDEIROS, A. R.; ABREU, G. R.; MOYSÉS, M. R.; BISSOLI, N. S. Higher Physiological Doses of Nandrolone Decanoate Do Not Influence the Bezold-Jarisch Reflex Control of Bradycardia. **Archives of Medical Research**, v. 39, n. 1, p. 27-32, 2008.

ANDRADE, T. U.; PINTO, V. D.; MEDEIROS, A. R. S.; ABREU, G. R.; MOYSES, M. R.; SAMPAIO, K. N.; BISSOLI, N. S. Effect of enalapril treatment on the sensitivity of cardiopulmonary reflexes in rats with myocardial infarction. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 34, p. 606-611, 2007.

ANDRZEJCZAK, D.; GÓRSKA, D.; CZARNECKA, E. Influence of enalapril, quinapril and losartanon lipopolysaccharide (LPS)-induced serum concentrations of TNF- α , IL-1 β , IL-6 in spontaneously hypertensive rats (SHR), *Pharmacological Reports*, v. 59, p. 437-446, 2007.

BAHRKE, M. S.; YESALIS, C. H. Abuse of anabolic androgenic steroids and related substances in sport and exercise. **Current opinion in pharmacology**, v. 4, p. 614-620, 2004.

BARAUNA, V. G.; BATISTA, M. L. JR.; COSTA ROSA, L. F.; CASARINI, D. E.; KRIEGER, J. E.; OLIVEIRA, E. M. Cardiovascular adaptations in rats submitted to a resistance-training model. **Clinical and experimental pharmacology & physiology**, v. 32, n. 4, p. 249-254, 2005.

BARAUNA, V. G.; ROSA, K. T.; IRIGOYEN, M. C.; DE OLIVEIRA, E. M. Effects of resistance training on ventricular function and hypertrophy in a rat model. **Clinical medicine & research**, v. 5, n. 2, p. 114-120, 2007.

BASARIA, S.; WAHLSTROM, J. T.; DOBS, A. S. Anabolic-androgenic steroid therapy in the treatment of chronic diseases. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, v. 86, p. 5108-5117, 2001.

BAUMAN, A. E. Updating the evidence that physical activity is good for health: An epidemiological review 2000–2003. **Journal of science and medicine in sport**, v. 7, n. 1 suppl, p. 6-19, 2004.

BEUTEL, A.; BERGAMASCHI, C. T.; CAMPOS, R. R. Effects of chronic anabolic steroid treatment on tonic and reflex cardiovascular control in male rats. **The Journal of steroid biochemistry and molecular biology**, v. 93, n. 1, p. 43-48, 2005.

BILLAT, V. L.; SIRVENT, P.; KORALSZTEIN, J. P.; MERCIER, J. The concept of maximal lactate steady state: a bridge between biochemistry, physiology and sport science (review). **Sports Medicine**, v. 33, n. 6, p. 407-426, 2003.

BISSOLI, N. S.; MEDEIROS, A. R.; SANTOS, M. C.; BUSATO, V. C.; JARSKE, R. D.; ABREU, G. R.; MOYSÉS, M. R.; ANDRADE, T. U. Long-term treatment with supraphysiological doses of nandrolone decanoate reduces the sensitivity of Bezold–Jarisch reflex control of heart rate and blood pressure. **Pharmacological Research**, v. 59, n. 6, p.3793-3784, 2009.

BISSOLI, N. S.; CICILINI, M. A.; VASQUEZ, E. C.; CABRAL, A. M. The diuretic chlortalidone normalizes baroreceptor and Bezold-Jarisch reflexes in DOCA-salt hypertensive rats. **Pharmacological Research**, v. 41, n. 4. p. 483-491, 2000.

BOADA, L. D.; ZUMBADO, M.; TORRES, S.; LÓPEZ, A.; DÍAZ-CHICO, B. N.; CABRERA, J. J.; LUZARDO, O. P. Evaluation of acute and chronic hepatotoxic effects exerted by anabolicandrogenic steroid stanozolol in adult male rats. **Archives of toxicology**, v. 73, p. 465-472, 1999.

BRADFORD; M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.

BRASIL. Conselho Nacional de Cuidado na Experimentação Animal - CONCEA. Regula a vinculação de centros públicos ou privados que realizam procedimentos em animais vivos em atividades de ensino, extensão, capacitação, treinamento, transferência de tecnologia, ou quaisquer outras com finalidade didática, ao sistema legal que regula o funcionamento do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA. Resolução Normativa nº 19 Do Concea, de 25 de novembro de 2014. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 25 de set.2014. Seção 1. Nº 185, p. 9, 2014.

BRILLA, C. G.; ZHOU, G.; MATSUBARA, L.; WEBER, K. T. Collagen metabolism in culture adult rat cardiac fibroblasts: response to angiotensin II and aldosterone. **Journal of molecular and cellular cardiology**, v. 26, n. 7, p. 809-820, 1994.

BROWN, D. A.; JEW, K. N.; SPARAGNA, G. C.; MUSCH, T. I.; MOORE, R. L. Exercise training preserves coronary flow and reduces infarct size after ischemia-reperfusion in rat heart. **Journal of Applied Physiology**, v. 95, n. 6, p. 2510-2518, 2003.

BRUUNSGAARD, H. Physical activity and modulation of systemic low level inflammation. **Journal of leukocyte biology**, v. 78, n. 4, p. 819-835, 2005.

CALFEE, R.; FADALE, P. Popular ergogenic drugs and supplements in young athletes. **Pediatrics**, v. 117, n. 3, p. 577-589, 2006.

CALIGIURI, G.; RUDLING, M.; OLLIVIER, V.; JACOB, M. P.; MICHEL, J. B.; HANSSON, G. K.; NICOLETTI, A. Interleukin-10 deficiency increases atherosclerosis, thrombosis, and low-density lipoproteins in apolipoprotein E knockout mice. **Molecular Medicine**, v. 9, p. 10-17, 2003.

CARLINI, E. A.; NOTO, A. R.; SANCHEZ, Z. M.; CARLINI, C. A.; LOCATELLI, D.P.; ABEID, L. R.; AMATO, T. C.; OPALEYE, E. S.; TONDOWSKI, C. S.; MOURA, Y. G. VI Levantamento nacional sobre o consumo de drogas psicotrópicas entre

estudantes do ensino fundamental e médio das redes pública e privada de ensino nas 27 capitais brasileiras. 1. Ed. São Paulo: CEBRID – Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas: UNIFESP – Universidade Federal de São Paulo, 2010.

CARRASCO, J. L. M.; ZAMBRANO, S.; BLANCA, A. J.; MATE, A.; VAZQUEZ, C. M. Captopril reduces cardiac inflammatory markers in spontaneously hypertensive rats by inactivation of NF-Kb. **Journal of Inflammation**, v. 7, p. 21, 2010.

CASAVANT, M. J.; BLAKE, K.; GRIFFITH, J.; YATES, A.; COPLEY, L. M. Consequences of use of anabolic androgenic steroids. **Pediatric clinics of North America**, v. 54, p. 677-690, 2007.

CAVALARI, F. C.; DE CASTRO, A. L.; FRACASSO, B. M.; LOSS, E. S. Non-classic androgen actions in Sertoli cell membrane in whole seminiferous tubules: effects of nandrolone decanoate and catechin. **Steroids**, v. 77, n. 1-2, p. 118-125, 2012.

GRUNBAUM, J. A.; KANN, L.; KINCHEN, S.; ROSS, J.; HAWKINS, J.; LOWRY, R.; HARRIS, W.A.; MCMANUS, T.; CHYEN, D.; COLLINS, J. Youth risk behavior surveillance – United States, 2003. **Morbidity and mortality weekly report. Surveillance summaries**, v. 53, n. 2, p. 1-96, 2004.

CHAVES, E. A.; PEREIRA-JUNIOR, P. P.; FORTUNATO, R. S.; MASUDA, M. O.; DE CARVALHO, A. C.; DE CARVALHO, D. P.; OLIVEIRA, M. F.; NASCIMENTO, J. H. Nandrolone decanoate impairs exercise-induced cardioprotection: Role of antioxidant enzymes. **The Journal of steroid biochemistry and molecular biology**, v. 99, n. 4-5, p. 223-230, 2006.

CUNHA, T. S.; TANNO, A. P.; COSTA SAMPAIO MOURA, M. J.; MARCONDES, F. K. Influence of high-intensity exercise training and anabolic androgenic steroid treatment on rat tissue glycogen content. **Life sciences**, v. 77, n. 9, p. 1030-1043, 2005.

DAHLOF, B.; HERLITZ, H.; AURELL, M.; HANSSON, L. Reversal of cardiovascular structural changes when treating essential hypertension. The importance of the renin-angiotensin-aldosterone system. **American journal of hypertension**, v. 5, p. 900-911, 1992.

DALEKOS, G. N.; ELISAF M. S.; PAPAGALANIS, N.; TZALLAS, C.; SIAMOPOULOS, K. C. Elevated interleukin-1 β in the circulation of patients with essential hypertension before any drug therapy: a pilot study. **European journal of clinical investigation**, v. 26, p. 936, 1996.

DALEKOS, G. N.; ELISAF, M.; BAIRAKTARI, E.; TSOLAS, O.; SIAMOPOULOS, K. C. Increased serum levels of interleukin-1 β in the systemic circulation of patients with essential hypertension: additional risk factor for atherogenesis in hypertensive patients? **The Journal of laboratory and clinical medicine**, v. 129, p. 300, 1997.

DALPIAZ, P. L.; LAMAS, A. Z.; CALIMAN, I. F.; MEDEIROS, A. R.; ABREU, G. R.; MOYSÉS, M. R.; ANDRADE, T. U.; ALVES, M. F.; CARMONA, A. K.; BISSOLI, N. S. The chronic blockade of angiotensin I-converting enzyme eliminates the sex differences of serum cytokine levels of spontaneously hypertensive rats. **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 46, n. 2, p. 171-177, 2013.

DE ANGELIS, K.; WICHI, R. B.; JESUS, W. R. A.; MOREIRA, E. D.; MORRIS, M.; KRIEGER E. M.; IRIGOYEN, M. C. Exercise training changes autonomic cardiovascular balance in mice. **Journal of Applied Physiology**, n. 96, p. 2174-2178, 2004.

DE HAAS, H. J.; VAN DEN BORNE, S. W.; BOERSMA, H. H.; SLART, R. H.; FUSTER, V; NARULA, J. Evolving role of molecular imaging for new understanding: targeting myofibroblasts to predict remodeling. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1254, p. 33-41, 2012.

DICKERMAN, R. D.; SCHALLER, F.; PRATHER, I.; MCCONATHY, W. J. Sudden cardiac death in a 20-year-old bodybuilder using anabolic steroids. **Cardiology**, v. 86, n. 2, p. 172-173, 1995.

DO CARMO, E. C.; FERNANDES, T.; KOIKE, D.; DA SILVA, N. D. JR.; MATTOS, K. C.; ROSA, K. T.; BARRETTI, D.; MELO, S. F.; WICHI, R. B.; IRIGOYEN, M. C.; DE OLIVEIRA, E. M. Anabolic Steroid Associated to Physical Training Induces Deleterious Cardiac Effects. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 43, n. 10, p. 1836 -1848, 2011.

DOMENECH, R.; MACHO, P.; SCHWARZE, H.; SA'NCHEZ, G. Exercise induces early and late myocardial preconditioning in dogs. **Cardiovascular Reserch**, p. 55, n. 3, p. 561-566, 2002.

DRUMMOND, L. R.; GOMES, L. H. L. S.; CARNEIRO-JÚNIOR, M. A.; PRÍMOLA-GOMES, T. N.; NATALI, A. J. Expressão das proteínas de choque térmico (HSPs) no músculo cardíaco em resposta ao treinamento físico: uma revisão sistemática. **Revista de Educação Física-UEM**, v. 24, n. 4, p. 637-647, 2013.

DU TOIT, E. F.; ROSSOUW, E.; VAN ROOYEN, J.; LOCHNER, A. Proposed mechanisms for the anabolic steroid-induced increase in myocardial susceptibility to ischaemia/reperfusion injury. **Cardiovascular journal of South Africa**, v. 16, n. 1, p. 21-28, 2005.

EFFRON, M. B. Effects of resistive training on left ventricular function. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 21, n. 6, p. 694-697, 1989.

ENDRINGER, D. C.; OLIVEIRA, O. V.; BRAGA, F. C. In vitro and in silico inhibition of angiotensin-converting enzyme by carbohydrates and cyclitols. **Chemical Papers**, v. 68, n. 1, p. 37-45, 2014.

EVANS, N. A. Current concepts in anabolic-androgenic steroids. **The American Journal of Sports Medicine**, v. 32, n. 2, p. 535-539, 2004.

FADEL, P. J; RAVEN, P. B. Human investigations into the arterial and cardiopulmonary baroreflexes during exercise. **Experimental physiology**, v. 97, n. 1, p. 39-50, 2012.

FAO. **Amino-acid content of food and biological data on proteins. Nutritional Studies**, 24. Food and Agriculture Organization of the United Nations FAO, Rome, 1970.

FERRARIO, C. M.; STRAWN W. B. Role of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System and Proinflammatory Mediators in Cardiovascular Disease. **American Journal of Cardiology**, v. 98, p. 121-128, 2006.

FERMO, R. S.; REGO, J. N. I.; FRANQUINI, J. V.; ANDRADE, T. U. Efeito da suplementação alimentar sobre ação anabólica do decanoato de nandrolona em ratos. **Revista eletrônica de farmácia**, v. 1, p. 111-121, 2008.

FINESCHI, V., RIEZZO, I., CENTINI, F., SILINGARDI, E., LICATA, M., BEDUSCHI, G., KARCH, S. B. Sudden cardiac death during anabolic steroid abuse: Morphologic and toxicologic findings in two fatal cases of bodybuilders. **International Journal of Legal Medicine**, v. 121, n. 1, p. 48-53, 2007.

FLANAGAN, E. T.; BUCKLEY, M. M.; AHERNE, C. M.; LAINIS, F.; SATTAR, M.; JOHNS, E. J. Impact of cardiac hypertrophy on arterial and cardiopulmonary baroreflex control of renal sympathetic nerve activity in anaesthetized rats. **Experimental physiology**, v. 93, n. 9, p. 1058-1064, 2008.

FLECK, S. J.; KRAEMER, W. J. **Designing Resistance Training Programs**. Human Kinetics, Champaign, IL Fourth Edition CAP 1. p. 1-15. 2014.

FRANQUINI, J. V.; DO NASCIMENTO, A. M.; DE LIMA, E. M.; BRASIL, G. A.; HERINGER, O. A.; CASSARO, K. O.; DA CUNHA T. V.; MUSSO, C.; SILVA SANTOS, M. C.; KALIL, I. C.; ENDRINGER, D. C.; BOËCHAT, G. A.; BISSOLI, N. S.; DE ANDRADE, T. U. Nandrolone decanoate determines cardiac remodelling and injury by an imbalance in cardiac inflammatory cytokines and ACE activity, blunting of the Bezold-Jarisch reflex, resulting in the development of hypertension. **Steroids**, v. 78, n. 3, p. 379-385, 2013.

GALDUROZ, J. C.; NOTO, A. R.; NAPPO, S. A.; CARLINI, E. A. Household survey on drug abuse in Brazil: study involving the 107 major cities of the country - 2001. **Addictive behaviors**, v. 30, p. 545-556, 2005.

GRADMAN, A. H. Evolving understanding of the renin–angiotensin–aldosterone system: pathophysiology and targets for therapeutic intervention. **American heart journal**, v. 157, p. S1-S6, 2009.

GRASSI, G.; GIANNATTASIO, C.; CLÉROUX, J. Cardiopulmonary reflex before and after regression of left ventricular hypertrophy in essential hypertension. **Hypertension**, v. 12, p. 227-237, 1988.

GUNNETT, C. A.; HEISTAD, D. D.; FARACI, F. M. Interleukin-10 protects endothelium-dependent relaxation during diabetes: Role of superoxide. **Diabetes**, v. 51, p. 1931-1937, 2002.

GURANTZ, D.; COWLING, R. T.; VILLARREAL, F. J.; GREENBERG, B. H. Tumor Necrosis Factor- α Upregulates Angiotensin II Type 1 Receptors on Cardiac Fibroblasts. **Circulation Research**, v. 85, p. 272-279, 1999.

HASKELL, W. L.; LEE, I. M.; PATE, R. R.; POWELL, K. E.; BLAIR, S. N.; FRANKLIN, B. A.; MACERA, C. A.; HEATH, G. W.; THOMPSON, P. D.; BAUMAN, A. Physical activity and public health: updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 39, p. 1423-1434, 2007.

HASSAN, A. F.; KAMAL, M. M. Effect of exercise training and anabolic androgenic steroids on hemodynamics, glycogen content, angiogenesis and apoptosis of cardiac muscle in adult male rats. **International journal of health sciences**, v. 7, n. 1, p. 47-60, 2013.

HASSAN, N. A.; SALEM, M. F.; SAYED, M. A. Doping and effects of anabolic androgenic steroids on the heart: histological, ultrastructural, and echocardiographic assessment in strength athletes. **Human & Experimental Toxicology**, v. 28, n. 5, p. 273–283, 2009

HAYKOWSKY, M. J.; DRESSENDORFER, R.; TAYLOR, D.; MANDIC, S.; HUMEN, D. Resistance training and cardiac hypertrophy: unravelling the training effect. **Sports medicine**, v. 32, p. 837-849, 2002.

HOBBS, C. J.; JONES, R. E.; PLYMATE, S. R. Nandrolone, a 19-Nortestosterone, entrances insulina-independent glucose uptake in normal men. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, v. 81, p. 1582-1585, 1996.

HUGHES, T. K.; FULEP, E.; JUELECH T.; SMITH, E. M.; STANTON, G. J. Modulation of immune responses by anabolic androgenic steroids. **International Journal of Immunopathology and Pharmacology**, v. 17, p. 857-863, 1995.

IEMITSU, M.; MIYAUCHI, T.; MAEDA, S.; SAKAI, S.; KOBAYASHI, T.; FUJII, N.; MIYAZAKI, H.; MATSUDA, M.; YAMAGUCHI, I. Physiological and pathological cardiac hypertrophy induce different molecular phenotypes in the rat. **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology**, v. 281, p. R2029-36, 2001.

IP, E. J.; BARNETT, M. J.; TENEROWICZ, M. J.; PERRY P. J. The anabolic 500 survey: characteristics of male users versus nonusers of anabolic–androgenic steroids for strength training. **Pharmacotherapy**, v. 31, n. 8, p. 757-766, 2011.

IRIART, J. A. B.; CHAVES, J. C.; ORLEANS, R. Culto ao corpo e uso de anabolizantes entre praticantes de musculação. **Caderno de Saúde Pública**, v. 25, p. 773-782, 2009.

JARISCH; A.; RICHTER, H. Die kreislauf des veratrins. **Arch Exp Pathol Pharmacol**, v. 193, p. 347-354, 1939.

JI, L. L.; FU, R. G.; MITCHELL, E. W.; GRIFFITHS, M.; WALDORP, T. G.; SWARTZ, H. M. Cardiac hypertrophy alters myocardial response to ischaemia and reperfusion in vivo. **Acta physiologica Scandinavica**, v. 151, n. 3, p. 279-290, 1994.

JOHNSTON, L. D.; O'MALLEY, P. M.; BACHMAN, J. G.; SCHULENBERG, J. E. **Monitoring the future national survey results on drug use, 1975-2005**. Volume II: College students and adults ages 19-45 (NIH Publication No. 06-5884). National Institute on Drug Abuse, Bethesda, MD, 2006.

JOHNSTON, L.D.; O'MALLEY, P.M.; BACHMAN, J.G.; SCHULENBERG, J.E. **Monitoring the future national results on adolescent drug use: Overview keyfindings 2010**. National Institute on Drug Abuse Publication, 2011.

JULIUS, S. Blood pressure lowering only or more? Has the jury reached its verdict? **The American journal of cardiology**, v. 100, p. 32J-37J, 2007.

KAFROUNI, M. I.; ANDERS, R. A.; VERMA, S. Hepatotoxicity associated with dietary supplements containing anabolic steroids. **Clinical gastroenterology and hepatology**, v. 5, p. 809-812, 2007.

KANAYAMA, G.; HUDSON, J. I.; POPE, H. G. Jr. Illicit anabolic-androgenic steroid use. **Hormones and behavior**, v.58, n.1, p.111-121, 2010.

KANG, Y. M.; MA, Y.; ELKS, C.; ZHENG, J. P.; YANG, Z. M.; FRANCIS, J. Cross-talk between cytokines and renin-angiotensin in hypothalamic paraventricular nucleus in heart failure: role of nuclear factor-kappaB. **Cardiovascular research**, v. 79, n. 4, p. 671-678, 2008.

KICMAN, A. T. Pharmacology of anabolic steroids. **British Journal of Pharmacology**, v. 154, p. 502-521, 2008.

KISHI, T.; HIROOKA, Y. Central mechanisms of abnormal sympathoexcitation in chronic heart failure. **Cardiology research and practice**, 2012.

KNOBIL, E.; NEILL, J. **The physiology of reproduction**. New York: Raven Press, p.975-998.1988

KOKKEVI, A.; FOTIOU, A.; CHILEVA, A.; NOCIAR, A.; MILLER, P. Daily exercise and anabolic steroids use in adolescents: a cross-national European study. **Substance use & misuse**, v.43, p.2053-2065, 2008.

KRAYER, O. The history of the Bezold-Jarisch effect. Naunyn- Schmielegeberg's. **Naunyn-Schmiedebergs Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie**, v. 240, p. 361-368, 1961.

KUHN, C. M. Anabolic steroids. **Recent progress in hormone research**, v. 57, p. 411-434, 2002.

KURDI, M.; DE MELLO, W. C.; BOOZ, G. W. Working outside the system: an update on the unconventional behavior of the renin-angiotensin system components. **The international journal of biochemistry & cell biology**, v. 37, p. 1357-1367, 2005.

LEASK, A. Potential Therapeutic Targets for Cardiac Fibrosis TGF β , Angiotensin, Endothelin, CCN2, and PDGF, Partners in Fibroblast Activation. **Circulation Research**, v. 106, p. 1675-1680, 2010.

LEE, S. L.; CHEN, K. W.; CHEN, S. T.; CHU, P. J.; CHEN, C. S.; HSU, M. C.; SHIANG, T. Y.; SU, M. K.; CHANG, M. S.; CHANG, Y. L.; WANG, S. W. Effect of passive repetitive isokinetic training on cytokines and hormonal changes. **The Chinese journal of physiology**, v. 54, n. 1, p. 55-66, 2011.

LENTINI, A. C.; MCKELVIE, R. S.; MCCARTNEY, N.; TOMLINSON, C. W.; MACDOUGALL, J. D. Left ventricular response in healthy young men during heavy intensity weight-lifting exercise. **Journal of applied physiology**, v. 75, n. 6, p. 2703-2710, 1993.

LEUNG, F. P.; YUNG, L. M.; LAHER, I.; YAO, X.; CHEN, Z. Y.; HUANG, Y. Exercise, vascular wall and cardiovascular diseases: an update (part 1). **Sports medicine**, v. 38, p. 1009-1024, 2009.

LIN, C.; CHEN, S. T.; CHIEN, S. Y.; KUO, S. J.; CHEN, D. R. Use of high-dose nandrolone aggravates septic shock in a mouse model. Kaohsiung. **Journal of Medical Sciences**, v. 27, p. 222-229, 2011.

LISE, M. L. Z.; SILVA, T. S. G.; FERIGOLO, M.; BARROS, H. M. T. O abuso de esteróides anabólico-androgênicos em atletismo. **Revista Associação Medico Brasil**, v. 45, n. 04, p. 364-370, 1999.

LIU, P. Y.; DEATH, A. K.; HANDELSMAN, D. J. Androgens and Cardiovascular Disease. **Endocrine reviews**, v. 34, n.3, p. 313-340, 2003.

LUKE, J. L.; FARB, A.; VIRMANI, R.; SAMPLE, R. Sudden cardiac death during exercise in a weight lifter using anabolic androgenic steroids: Pathological and toxicological findings. **Journal of Forensic Sciences**, v. 35, n. 6, p. 1441-1447, 1990.

MA, T. K.; KAM, K. K.; YAN, B. P.; LAM, Y. Y. Renin–angiotensin–aldosterone system blockade for cardiovascular diseases: current status. **British journal of pharmacology**, v. 160, n. 6, p. 1273-1292, 2010.

MACDOUGALL, J. D., TUXEN, D., SALE, D. G., MOROZ, J. R., SUTTON, J. R. Arterial blood pressure response to heavy resistance exercise. **Journal of applied physiology**, v. 58, n. 3, p. 785-790, 1985.

MANCIA, G.; MARK, A. L. **Arterial baroreflexes in humans**. In: Shepherd J.T., Abboud F.M. (Eds). The cardiovascular system IV, Handbook of physiology Vol. 3, part. 2, sect. 2, (p. 755-793). Bethesda, MD: American Physiologic Society, 1983.

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

MARGANATO, V.; MILANO, G.; ALLIBARDI, S.; MERATI G, DE JONGE R, SAMAJA M. Swim training improves myocardial resistance to ischaemia in rats. **International journal of sports medicine**, v. 21, n. 3, p. 163-167, 2000.

MARQUES NETO, S. R.; DA H SILVA, A.; DOS SANTOS, M. C.; FERRAZ, E. F.; NASCIMENTO, J. H. The blockade of angiotensin AT1 and aldosterone receptors protects rats from synthetic androgen-induced cardiac autonomic dysfunction. **Acta physiologica**, v. 208, n. 2, p. 166-117, 2013.

MARQUES NETO, S. R.; FERRAZ, E. B.; RODRIGUES D. C.; NJAINE, B.; RONDINELLI, E.; CAMPOS DE CARVALHO, A. C.; NASCIMENTO, J. H. AT1 and aldosterone receptors blockade prevents the chronic effect of nandrolone on the exercise-induced cardioprotection in perfused rat heart subjected to ischemia and reperfusion. **Cardiovascular drugs and therapy**, v. 28, p. 125-135, 2014.

MARQUETI, R. C.; MICOCCHI, K. C.; LEITE, R. D.; SELISTRE-DE-ARAUJO, H. S. Nandrolone inhibits MMP-2 in the left ventricle of rats. **International journal of sports medicine**, v. 33, n. 3, p. 181-185, 2012.

MARSH, J. D.; LEHMANN, M. H.; RITCHIE, R. H.; GWATHMEY, J. K.; GREEN, G. E.; SCHIEBINGER, R. J. Androgen receptors mediate hypertrophy in cardiac myocytes. **Circulation**, v. 98, p. 256-261, 1998.

MCCABE, S. E.; BROWER, K. J.; WEST, B. T.; NELSON, T. F.; WECHSLER, H. Trends in nonmedical use of anabolic steroids by U.S. college students: results from four national surveys. **Drug and alcohol dependence**, v. 90, p. 243-251, 2007.

McCARTHY, K.; TANG, A. T. M.; DALRYMPLEHAY, M. J. R.; HAW, M. P. Ventricular thrombosis and systemic embolism in bodybuilders: etiology and management. **The Annals of Thoracic Surgiment**, v. 70, p. 658-660, 2000.

MEADOR, B. M.; KRZYSZTON, C. P.; JOHNSON, R. W.; HUEY, K. A. Effects of IL-10 and age on IL-6, IL-1 β , and TNF- α responses in mouse skeletal and cardiac muscle to an acute inflammatory insult. **Journal of Applied Physiology**, v. 104, p. 991-997, 2008.

MEDEI, E.; MAROCOLO, M.; RODRIGUES, D. C.; ARANTES, P. C.; TAKIYA, C. M.; SILVA, J.; RONDINELLI, E.; GOLDENBERG, R. C.; CARVALHO, A. C.; NASCIMENTO, J. H. Chronic treatment with anabolic steroids induces ventricular repolarization disturbances: Cellular, ionic and molecular mechanism. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 49, p. 165-175, 2010.

MELLONI, R.; RICCI L. Adolescent exposure to anabolic/androgenic steroids and the neurobiology of offensive aggression: a hypothalamic neural model based on findings in pubertal Syrian hamsters. **Hormones and behavior**, v. 58, p. 177-191, 2010.

MENTZ, R. J.; BAKRIS, G. L.; WAEBER, B.; MCMURRAY, J. J.; GHEORGHIADE, M.; RUILOPE, L. M.; MAGGIONI, A. P.; SWEDBERG, K.; PIÑA, I. L.; FIUZAT, M.; O'CONNOR, C. M.; ZANNAD, F.; PITT, B. The past, present and future of renin-angiotensin aldosterone system inhibition. **International journal of cardiology**, v. 167, n. 5, p. 1677-1687, 2013.

MEYRELLES, S. S; MAUAD, H.; MATHIAS, S. C.; CABRAL, A. M.; VASQUEZ, E. C. Effects of myocardial hypertrophy on neural reflexes controlling cardiovascular function. **Journal Autonomic Nervous System**, v. 73, n. 2-3, p. 135-142, 1998.

MICHELS, G.; ER, F.; EICKS, M.; HERZIG, S.; HOPPE, U.C. Long-term and immediate effect of testosterone on single T-type calcium channel in neonatal rat cardiomyocytes. *Endocrinology*. v.147, n.11, P.5160-5169, 2006.

MONTISCI, M.; EL MAZLOUM, R.; CECCHETTO, G.; TERRANOVA, C.; FERRARA, S. D.; THIENE, G.; BASSO, C. Anabolic androgenic steroids abuse and cardiac

death in athletes: Morphological and toxicological findings in four fatal cases. **Forensic Science International**, v. 217, n. 1–3, p. e13–e18, 2012.

MOORE, K.; MALEFYT, R.; COFFMAN, R.; O’GARRA, A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. **Annual review of immunology**, v. 19, p. 683-765, 2001.

NELSON; M. E.; REJESKI, W. J.; BLAIR, S. N.; DUNCAN, P. W.; JUDGE, J. O.; KING, A. C.; MACERA, C. A.; CASTANEDA-SCEPPA, C. Physical activity and public health in older adults: recommendation from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. **Circulation**, v. 116, p. 1094-1105, 2007.

NEVES, V. J.; TANNO, A. P.; CUNHA, T. S.; FERNANDES, T.; GUZZONI, V.; DA SILVA, C. A.; DE OLIVEIRA, E. M.; MOURA, M. J.; MARCONDES, F. K. Effects of nandrolone and resistance training on the blood pressure, cardiac electrophysiology, and expression of atrial β -adrenergic receptors. **Life sciences**, v. 92, n. 20-21, p. 1029-1035, 2013.

NOGUEIRA, F. R. S.; SOUZA, A. A.; BRITO, A. F. Prevalência do uso e efeitos de recursos ergogênicos por praticantes de musculação nas academias. **Revista Brasileira de Atividade Física e Saúde**, v. 18, n. 1, p. 16-30, 2013.

OLIVARES, E. L.; SILVEIRA, A. L.; FONSECA, F. V.; SILVA-ALMEIDA, C.; CÔRTEZ, R. S.; PEREIRA-JUNIOR, P. P.; NASCIMENTO, J. H.; REIS, L. C. Administration of an anabolic steroid during the adolescent phase changes the behavior, cardiac autonomic balance and fluid intake in male adult rats. **Physiology & behavior**, v. 14, n. 126, p. 15-24., 2014.

PAINTAL, A. S. A study of ventricular pressure receptors and their role in the Bezold-Jarisch reflex. **Quarterly journal of experimental physiology**, v. 40, p. 348-363, 1955.

PALLESEN, S.; JOSENDAL, O.; JOHNSEN, B. H.; LARSEN, S.; MOLDE, H. Anabolic steroid use in high school students. **Substance use & misuse**, v. 41, p. 1705-1717, 2006.

PAUL, M.; POYAN MEHR, A.; KREUTZ, R. Physiology of local renin-angiotensin systems. **Physiological reviews**, v. 86, p. 747-803, 2006.

PENG, J.; GURANTZ, D.; TRAN, V.; COWLING, R. T.; GREENBERG, B. H. Tumor necrosis factor-alpha-induced AT1 receptor *upregulation* enhances angiotensin II-mediated cardiac fibroblast responses that favor fibrosis. **Circulation research**, v. 91, p. 1119-1126, 2002.

PEREIRA JUNIOR, P. P.; CHAVES, E. A.; COSTA E SOUZA, R. H.; MASUDA, M. O.; CARVALHO, A. C. C.; NASCIMENTO, J. H. M. Cardiac autonomic dysfunction in rats chronically treated with anabolic steroid. **European Journal of Applied Physiology**, v. 96, p. 487-494, 2006.

PINHO, R. A.; ARAÚJO, M. C.; GHISI, G. L. M.; BENETTI, M. Doença Arterial Coronariana, Exercício Físico e Estresse Oxidativo. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v. 94, n. 4, p. 549-555, 2010.

PHILLIPS, S. M.; TIPTON, K. D.; AARSLAND, A.; WOLF, S. E.; WOLFE, R. R. Mixed muscle protein synthesis and breakdown after resistance exercise in humans. **American journal of physiology. Endocrinology and metabolism**, v. 273, p. E99-E107, 1997.

PLUIM, B. M.; ZWINDERMAN, A. H.; VAN DER LAARSE, A.; VAN DER WALL, E. E. The athlete's heart. A meta-analysis of cardiac structure and function. **Circulation**, v. 101, p. 336-344, 2000.

POWERS, S. K.; LOCKE, M.; DEMIREL, H. A. Exercise, heat shock proteins, and myocardial protection from I-R injury. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 33, p. 386-392, 2001.

RAASCH, W. BETGE, S.; DENDORFER, A.; BARTELS, T.; DOMINIAK, P. Angiotensin converting enzyme inhibition improves cardiac neuronal uptake of noradrenaline in spontaneously hypertensive rats. **Journal of hypertension**, v. 19, p. 1827-1833, 2001.

RACHON, D.; POKRYWKA, L.; SUCHECKA-RACHON, K. Prevalence and risk factors of anabolic–androgenic steroids (AAS) abuse among adolescents and young adults in Poland. **Sozial- und Präventivmedizin**, v. 51, p. 392-398, 2006.

RICCI, L. A.; MORRISON, T. R.; MELLONI, R. H. Jr. Adolescent anabolic/androgenic steroids: Aggression and anxiety during exposure predict behavioral responding during withdrawal in Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*). **Hormones and behavior**, v. 64, n. 5, p. 770-780, 2013.

RIEZZO, I.; DE CARLO, D.; NERI, M.; NIEDDU, A.; TURILLAZZI, E.; FINESCHI, V. Heart disease induced by AAS abuse, using experimental mice/rats models and the role of exercise-induced cardiotoxicity. **Mini reviews in medicinal chemistry**, v. 11, p. 409-424, 2011.

ROCHA, F. L.; CARMO, E. C.; ROQUE, F. R.; HASHIMOTO, N. Y.; ROSSONI, L. V.; FRIMM, C.; ANÉAS, I.; NEGRÃO, C. E.; KRIEGER, J. E.; OLIVEIRA, E. M. Anabolic steroids induce cardiac renin-angiotensin system and impair the beneficial effects of aerobic training in rats. **American journal of physiology. Heart and circulatory physiology**, v. 293, n. 6, p. H3575-H3583, 2007.

ROCHA, F. L.; HASHIMOTO, N.; ROQUE, F. R.; ROSSONI, L. V.; COELHO, M. A.; KRIEGER, J.; NEGRÃO, C.; OLIVEIRA, E. M. Effects of anabolic steroids on cardiac hypertrophy, hemodynamic responses and angiotensin converting enzyme activity in exercise trained rats. **Journal of Hypertension**, v. 22, p. 72, 2004.

SADOSHIMA, J.; IZUMO, S. Molecular characterization of angiotensin II induced hypertrophy of cardiac myocytes and hyperplasia of cardiac fibroblasts: critical role of the AT1 receptor subtype. **Circulation Research**, v. 73, p. 412-23, 1993.

SAMUELS, L.T.; HENSCHER, A.F.; KEYS, A. Influence of methyl testosterone on muscular work and creatine metabolism in normal young men. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.2, p.649-654, 1942.

SASAYAMA, S.; MATSUMORI, A.; KIHARA, Y. New insights into the pathophysiological role for cytokines in heart failure. **Cardiovascular research**, v. 42, n. 3, p. 557-564, 1999.

SCOTT, D. M.; WAGNER, C. J.; BARLOW, T. W. Anabolic steroid use among adolescents in Nebraska schools. **American Health-System Pharmacology**, v. 53, p. 2068-2072, 1996.

SESSA, W. C.; PRITCHARD, K.; SEYEDI, N.; WANG, J.; HINTZE, T. H. Chronic exercise in dogs increases coronary vascular nitric oxide production and endothelial cell nitric oxide synthase gene expression, **Circulation research**, v. 74, p. 349-353, 1994.

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

SHEN, J.; O'BRIEN, D.; XU, Y. Matrix metalloproteinase-2 contributes to tumor necrosis factor alpha induced apoptosis in cultured rat cardiac myocytes. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 347, n. 4, p. 1011-1020, 2006.

SHEPHERD, J. T.; MANCIA, G. Reflex control of the human cardiovascular system. **Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology**, v. 105, p. 3-100, 1986.

SIMONSON, E.; KEARNS, W.M.; ENGER, M. Effects of methyl testosterone treatment on muscular performance and the central nervous system of older men. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.4, p.528-534, 1974.

SULLIVAN, M. L.; MARTINEZ, C. M.; GALLAGHER, E. J. Atrial fibrillation and anabolic steroids. **The Journal of Emergency Medicine**, v. 5, p. 851-857, 1999.

SILVA, P. R. P.; DANIELSKI, R.; CZEPIELEWSKI, M. A. Esteróides anabolizantes no esporte. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**. Niterói, v. 8, n. 6, p. 235-243, 2002.

SILVA, P. R. P. D.; MACHADO JÚNIOR, L. C.; FIGUEIREDO, V. C.; CIOFFI, A. P.; PRESTES, M. C.; CZEPIELEWSKI, M. A. Prevalência do uso de agentes anabólicos em praticantes de musculação de Porto Alegre. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**. v. 51, n. 1, p. 104-110, 2007.

STUMPF, C.; LEHNER, C.; YILMAZ, A.; DANIEL, W. G.; GARLICH, C. D. Decrease of serum levels of the anti-inflammatory cytokine interleukin-10 in patients with advanced chronic heart failure. **Clinical science**, v. 105, n. 1, p. 45-50, 2003.

SUZUKI, Y.; RUIZ-ORTEGA, M.; LORENZO, O.; RUPEREZ, M.; ESTEBAN, V.; EGIDO, J. Inflammation and angiotensin II. **The international journal of biochemistry & cell biology**, v. 35, n. 6, p. 881-900, 2003.

TAMAKI, T.; UCHIYAMA, S.; NAKANO, S. A weight-lifting exercise model for inducing hypertrophy in the hindlimb muscles of rats. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 24, p. 881-886, 1992.

TAN, R. S.; SCALLY, M. C. Anabolic steroid-induced hypogonadism – Towards a unified hypothesis of anabolic steroid action. **Medical hypotheses**, v. 72, p. 723-728, 2009.

TANNO, A. P.; DAS NEVES, V. J.; ROSA, K. T.; CUNHA, T. S.; GIORDANO, F. C.; CALIL, C. M.; GUZZONI, V.; FERNANDES, T.; DE OLIVEIRA, E. M.; NOVAES, P. D.; IRIGOYEN, M. C.; MOURA, M. J.; MARCONDES, F. K. Nandrolone and resistance training induce heart remodeling: role of fetal genes and implications for cardiac pathophysiology. **Life sciences**, v. 89, n. 17-18, p. 631-637, 2011.

THOREN, P. Role of cardiac vagal C-fibers in cardiovascular control. **Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology**, v. 86, p. 1-94, 1979.

VAN THIEL, B. S.; VAN DER PLUIJM, I.; TE RIET, L.; ESSERS, J.; DANSER, A. H. The renin-angiotensin system and its involvement in vascular disease. **European journal of pharmacology**, 2015.

TRIFUNOVIC, B.; NORTON, G. R.; DUFFIED, M. J.; AVRAAM, P.; WOODIWIJ, A. J. An androgenic steroid decreases left ventricular compliance in rats. **American Journal of Physiology**, v. 268, p. 1096-1105, 1995.

UGGERE, T. A.; ABREU, G. R.; SAMPAIO, K. N.; CABRAL, A. M.; BISSOLI, N. S. The cardiopulmonary reflexes of spontaneously hypertensive rats are normalized

after regression of left ventricular hypertrophy and hypertension. **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 33, n. 5, p. 589-594, 2000.

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

VEELKEN, R.; HILGERS, K. F.; DITTING, T.; LEONARD, M.; MANN, J. F. E.; GEIGER, H.; LUFT, F. C. Impaired cardiovascular reflexes precede deoxycorticosterone acetate-salt hypertension. **Hypertension**, v. 24, p. 564-570, 1994.

VICENCIO, J. M.; IBARRA, C.; ESTRADA, M.; CHIONG, M.; SOTO, D.; PARRA, V.; DIAZ-ARAYA, G.; JAIMOVICH, E.; LAVANDERO, S. Testosterone induces an intracellular calcium increase by a nongenomic mechanism in cultured rat cardiac myocytes. **Endocrinology**, v. 147, n. 3, p. 1386-1395, 2006.

VILLARREAL, F. J.; KIM, N. N.; UNGAB, G. D.; PRINTZ, M. P.; DILLMANN, W. H. Identification of functional angiotensin II receptors on rat cardiac fibroblasts. **Circulation**, v. 88, n. 6, p. 2849-2861, 1993.

VOLTARELLI, F. A.; GOBATTO, C. A.; MELLO, M. A. R. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 35, n. 11, p. 1389-1394, 2002.

VON BEZOLD, A.; HIRT, L. Über die physiologischen wirkungen des essigsäuren veratrins. **Wurzburg Untersuch Physiol Lab**, v. 1, p. 75, 1987.

WANJEK, B.; ROSENDAHL, J.; STRAUSS, B.; GABRIEL, H. H. Doping, drugs and drug abuse among adolescents in the State of Thuringia (Germany): prevalence, knowledge and attitudes. **International journal of sports medicine**, v. 28, p. 346-353, 2007.

WEBER, K. T. Extracellular matrix remodeling in heart failure: a role for de novo angiotensin II generation. **Circulation**, v. 96, n. 11, p. 4065-4082, 1997.

WEBER, K. T.; BRILLA, C. G.; JANICKI, J. S. Myocardial remodeling and pathological hypertrophy. **Hospital Practice**, v. 26, p. 73-80, 1991.

WEI, M.; KUUKASJARVI, P.; LAURIKKA, J.; KAUKINEN, S.; IISALO, P.; LAINE, S.; LAIPPALA, P.; METSÄNOJA, R.; TARKKA, M. Cytokine responses and myocardial injury in coronary artery bypass grafting. **Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation**, v. 61, p. 161-166, 2001.

WIDDOP, R.E.; VERBERNE, A.J.; JARROTT, B.; LOUIS, W.J. Impaired arterial baroreceptor reflex and cardiopulmonary vagal reflex in conscious spontaneously hypertensive rats. **Journal of hypertension**. v. 8, n.3, p. 269-275, 1990.

WILSON, J. D. Androgen abuse by athletes. **Endocrine reviews**, v. 9, p. 181-199, 1988.

WOLLERT, K. C.; DREXLER, H. The reninangiotensin system and experimental heart failure. **Cardiovascular Research**, v. 43, p. 838-849, 1999.

YAMAOKA, M.; YAMAGUCHI, S.; OKUYAMA, M.; TOMOIKE, H. Anti-inflammatory cytokine profile in human heart failure: behavior of interleukin-10 in association with tumor necrosis factor-alpha. **Japanese circulation journal**, v. 63, n. 12, p. 951-956, 1999.

YAMASHITA, N.; HOSHIDA, S.; OTSU, K.; ASAHI, A.; KUZUYA, T.; HORI, M. Exercise provides direct biphasic cardioprotection via manganese superoxide dismutase activation. **The Journal of experimental medicine**, v. 189, p. 1699-1706, 1999.