

Perfil Electrocardiográfico y Contenido Glicogénico Muscular de Ratones Tratados con Nandrolona

Carlos Alberto da Silva, Adriano Cesar Rocco Pardi, Talita Moral Gonçalves, Sergio Henrique Borin

Universidade Metodista de Piracicaba - UNIMEP, Piracicaba, SP - Brasil

Resumen

Fundamento: Se consideró el uso indiscriminado de esteroides tanto por atletas de elite como por practicantes de actividades físicas.

Objetivo: Evaluar los efectos del decanoato de nandrolona sobre el perfil electrocardiográfico, contenido glicogénico y de proteínas totales de los músculos cardíacos y esqueléticos, así como las concentraciones plasmática de albúmina.

Métodos: Los animales del grupo tratado recibieron la droga en la concentración 5mg/kg por vía subcutánea, dos veces por semana, durante tres semanas. Una vez por semana, los ratones fueron anestesiados con Pentobarbital sódico (50mg/Kg, ip) y sometidos a evaluación por medio de electrocardiograma (ECG). Después del período experimental, muestras de los músculos cardíaco (ventrículo izquierdo – VI), sóleo (S), gastrocnemio blanco (GB), gastrocnemio rojo (GV), pectoral (P), intercostal (IC) y diafragma (D) fueron colectadas y analizadas. Los datos (media±epm) fueron evaluados de acuerdo con ANOVA, segundo test de Tukey ($p>0,05$).

Resultados: Los ratones del grupo tratado presentaron alteraciones en los siguientes parámetros cardíacos: intervalo QRS, intervalo QTc y frecuencia cardíaca, caracterizados por un aumento de estos, teniendo el ápice en el intervalo de la semana de pretratamiento a la primera semana. Las reservas de glicógeno en el VI presentaron aumento de 127%. En relación a la cantidad de proteínas totales, una diferencia significativa fue constatada en el S, GV y D. En cuanto al perfil bioquímico y al hematocrito, fue observado un aumento en el porcentaje de eritrocitos.

Conclusión: El estudio muestra que importantes alteraciones cardíacas son provocadas precozmente, sugiriendo una jerarquía en la secuencia de modificaciones que comprometen la homeostasia del organismo. (Arq Bras Cardiol 2010; 95(6): 720-725)

Palabras clave: Decanoatos / efectos adversos, Nandrolona / efectos adversos, esteroides / contraindicaciones, estándar de electrocardiograma, ratones.

Introducción

Atletas de alta performance procuran maximizar los resultados a todo costo y, para eso, muchas veces asocian al entrenamiento físico la utilización de sustancias ilegales en el mundo deportivo, como los esteroides anabólicos androgénicos (EAA). Estas sustancias son compuestos naturales o sintéticos, formados a partir de la testosterona y sus derivados, siendo divididos en dos grupos, a saber: los derivados esterificados y los derivados alcalinizados. Los primeros son representados por el propionato de testosterona, enantato de testosterona y cipionato de testosterona y son utilizados preferentemente por vía intramuscular, permaneciendo activos por días y semanas. El segundo grupo, sin embargo, es utilizado por vía oral¹.

Recientes estudios dirigidos a la evaluación del comportamiento farmacológico de esos agentes indican una prescripción volcada a procesos catabólicos manifestados en enfermedades y situaciones específicas como infecciones crónicas, cirugías extensas, deficiencia hormonal de testosterona, desnutrición, anemia aplásica, impotencia sexual (por insuficiencia testicular), pubertad masculina retardada, eunequismo (castración), climaterio, en personas portadoras de SIDA (disminución de la degradación del músculo y manutención de la masa muscular), tratamiento de angioedema hereditario, hipogonadismo y disminución de dihidroepiandrosterona y DHEAS que comúnmente ataca a los añosos, tratamiento de pacientes para aumento de peso, después de trauma grave o infección continua, además de, en animales, activar la regeneración de tejidos como el sanguíneo, córneo, entre otros^{2,3}.

En la década de 70, hubo un creciente interés y desarrollo de estudios cuyo eje orientador estuviese contenido en la manutención y en el restablecimiento de la fuerza muscular en individuos jóvenes o añosos⁴. Secuencialmente, un estudio de Ryan⁵ demostró que durante la Segunda Guerra Mundial, los

Correspondencia: Adriano Cesar Rocco Pardi •

Rua Haldumont Campos Ferraz, 118 - Castelinho - 13403-052 - Piracicaba, SP - Brasil

E-mail: adoparde@terra.com.br

Artículo recibido en 01/12/08; revisado recibido en 05/09/09; aceptado en 09/10/09.

EAA fueron ampliamente utilizados para restaurar el balance positivo de nitrógeno en víctimas desnutridas y sometidas a ayuno forzado.

Desarrollado por el laboratorio Organon e introducido en el mercado en 1962, el decanoato de nandrolona o Deca-Durabolín®, cuya sustancia activa es la nandrolona, es uno de los EAA más utilizados en el mundo⁶. Se encuentra disponible comercialmente como una preparación anabólica inyectable con acción prolongada de hasta tres semanas, después de administración intramuscular en humanos⁷. Comparativamente a la testosterona, la nandrolona presenta mayor acción anabólica y menor actividad androgénica⁸.

Todos los esteroides llamados anabólicos son compuestos derivados de la testosterona, los cuales, actuando sobre los receptores androgénicos, modulan de forma indisoluble tanto los efectos androgénicos como los anabólicos. Tales sustancias varían con relación a la actividad anabólica androgénica, existiendo una jerarquía en cuanto a su relación. Así, la metandrostenolona es 2-5 veces más potente que la testosterona, y la oximetolona, oxandrolona, nandrolona y estanozol presentan relaciones 9, 10, 10, 30 veces mayor, respectivamente. Por su vez, ningún fármaco actualmente disponible es capaz de desencadenar solamente efectos anabólicos⁹.

Los EAA vienen despertando la atención de investigadores en el área de la salud, debido a la utilización de ese fármaco sin prescripción médica y en altas dosis por atletas, con el objetivo de aumentar la masa muscular, para fines estéticos o mejorar el desempeño físico¹⁰. Esa utilización presenta varios efectos colaterales, tales como atrofia del tejido testicular, tumores hepáticos y prostáticos¹¹, alteraciones en el metabolismo lipídico¹², alteraciones emocionales¹³ y el surgimiento de síntomas psicóticos¹⁴.

Además de eso, existen trabajos que relacionan el abuso de los EAA con alteraciones cardiovasculares, como predisposición a hipercoagulabilidad, aumento de la agregación plaquetaria, disminución de la fibrinólisis¹⁵, aumento del espesor del septo interventricular, pero con preservación de las funciones sistólicas y diastólicas normales¹⁶, trombosis ventricular, embolismo sistémico¹⁷, cardiomiopatía dilatada, infarto agudo de miocardio por oclusión de la arteria descendente anterior y muerte súbita por hipertrofia ventricular izquierda¹⁸.

Hace algún tiempo, el metabolismo energético, en especial en lo que se refiere al contenido muscular de glicógeno, ha sido el eje orientador de la investigación de inúmeros científicos, siendo consenso que el tiempo de sustentación de determinado ejercicio está relacionado con la cantidad de glicógeno muscular disponible.

De esa forma, altos contenidos se refieren a la mejora en la performance, y bajas reservas tienen relación directa con el agotamiento¹⁹. Con la prolongación del ejercicio, las reservas musculares de glicógeno disminuyen progresivamente, y parte de la energía gastada en el esfuerzo pasa a ser provista por los triglicéridos, por glucosa y por ácidos grasos libres (AGL) circulantes en el plasma^{20,21}.

El presente estudio fue pautado en la evaluación de los efectos de la nandrolona en la dosis de 5mg/Kg/semana, que

equivale a la dosis indicada en la literatura y es considerada abusiva, siendo generalmente administrada a atletas en el comienzo de la práctica deportiva⁶. Dentro de la propuesta, la evaluación fue dirigida al perfil electrocardiográfico, contenido glicogénico y de proteínas totales de los músculos cardíacos y esqueléticos, bien como a las concentraciones plasmáticas de albúmina.

Material y métodos

Fueron utilizados ratones Wistar con tres meses de edad, adquiridos en la empresa ANILAB®. Los animales fueron alojados en jaulas colectivas con un máximo de cuatro animales, fueron mantenidos en sala climatizada ($23 \pm 2^\circ\text{C}$) con ciclo claro/oscuras de 12/12h y recibieron agua y ración a voluntad. Todos los procedimientos utilizados en el experimento siguieron las normas del Colegio Brasileño de Experimentación Animal (COBEA) y de los *Guidelines of the Department Comparative Medicine at the University of Toronto*²². Los animales fueron aleatoriamente divididos en dos grupos experimentales, denominados Control (n=10) y Tratado con Decanoato de Nandrolona (n=13) (Deca-Durabolín®; 5mg/Kg) con n=23. Los ratones fueron anestesiados con Pentobarbital sódico (50mg/Kg, ip) y fueron sometidos a evaluación de la actividad eléctrica cardíaca (ECG) en la semana de pretratamiento y en las tres subsecuentes, con el aparato ECG 98 – HEART WARE®. El grupo tratado recibió inyecciones subcutáneas de decanoato de nandrolona dos veces por semana, durante tres semanas, entre 10h y 10h30min, el grupo control recibió, en los mismos días y horarios, inyecciones de PBS (*phosphate buffer solution*). Después del período experimental, muestras de los músculos cardíaco (ventrículo izquierdo – VI), sóleo (S), gastrocnemio blanco (GB), gastrocnemio rojo (GV), pectoral (P), intercostal (IC) y diafragma (D) fueron colectadas y sometidas a evaluación del contenido de glicógeno, según la propuesta de Siu y cols.²³, siendo los valores expresados en mg/100mg de peso húmedo. Alícuotas de los músculos también fueron utilizadas para la evaluación de la cantidad de proteínas totales (g/dL), así como muestras de sangre fueron dirigidas a la evaluación de la glicemia y a la concentración de ácidos grasos libres²⁴. Los datos (media \pm epm) fueron evaluados de acuerdo con ANOVA, seguido por el test de Tukey ($p > 0,05$).

Resultados

Inicialmente, dirigimos la evaluación al comportamiento de los siguientes parámetros electrocardiográficos: duración del QRS, intervalo QT, QTc y frecuencia cardíaca de reposo (FC).

Al evaluar el comportamiento eléctrico de la musculatura cardíaca de ratones tratados con el esteroide nandrolona, se verificó que el intervalo QRS presentó aumento en el intervalo de la semana de pretratamiento a la segunda semana, como puede ser observado en la Tabla 1. Con relación al intervalo QT, fue observada homogeneidad en el comportamiento de ese intervalo, como es demostrado en la misma tabla. Por otro lado, el intervalo QTc alcanzó la acrofase en la primera semana de tratamiento, llegando a valores 19% mayores, y a partir de ésta hubo reducción de 10% y 17%, respectivamente. En el

Artículo Original

análisis de la frecuencia cardíaca, fue verificado un aumento significativo de, aproximadamente, 10% en la interfase de la semana de pretratamiento a la primera semana ($p > 0,05$), habiendo, a partir de allí, una pequeña disminución de 2%, que fue mantenida en la última semana (Tabla 1).

A continuación, fueron evaluadas las reservas musculares de glicógeno, y fue verificado que el grupo control presentó un estándar de reservas glicogénicas similares a las observadas en la literatura, acompañando recientes publicaciones²⁵⁻²⁷. Con relación al grupo tratado con nandrolona, como puede ser observado en la Figura 1, en relación al tratamiento, solamente las reservas glicogénicas de la cámara ventricular presentaron modificaciones, exhibiendo reserva 127% mayor que el grupo control. En cuanto a los demás músculos, no hubo diferencia estadística. A su vez, la evaluación del contenido de proteínas totales demostró aumento significativo en los músculos sóleo, gastrocnemio porción roja y diafragma. Sin embargo, en los músculos gastrocnemio, porción blanca, pectoral e intercostal, no hubo diferencia significativa (Figura 2).

Por fin, fueron evaluados el perfil bioquímico plasmático y el hematocrito. Con relación a alteraciones de cuño metabólico, no fue observada diferencia en los valores glicémicos y en la concentración plasmática de ácidos grasos

libres. En el mismo sentido, tampoco fue observada diferencia en el peso corporal o en las siguientes estructuras: corazón, grasa epididimal o próstata. Mientras tanto, al evaluarse el hematocrito, fue verificado que el grupo tratado presentó un porcentaje de eritrocitos 18% mayores que el grupo control. Sin embargo, cabe destacar que otros parámetros evaluados no fueron estadísticamente significativos (Tabla 2).

Discusión

La indicación terapéutica clásica de los EAA busca suplir deficiencias androgénicas o estados patológicos que puedan generar deficiencia en el metabolismo proteico¹⁰. Es sabido que, dentro y fuera del medio deportivo, hay una amplia utilización del esteroide nandrolona aplicado en altas dosis en la búsqueda de obtener cambios estéticos y mejora de la performance. Sin embargo, concomitantemente a esa práctica, la literatura muestra una creciente tasa de mortalidad entre usuarios de esa sustancia²⁸. La evaluación electrocardiográfica reveló cambios en el estándar eléctrico en el músculo cardíaco representado por la elevación en el tiempo de propagación de la señal en la cámara ventricular, una vez que el QRS se hizo más largo. Ese hecho fue acompañado por un evento

Tabla 1 - Parámetros electrocardiográficos y frecuencia cardíaca de ratones del grupo tratado con nandrolona (Deca-Durabolín®; 5mg/Kg). Los valores corresponden a la media \pm epm, n=23

Semanas	QRS (ms)	QT (ms)	QTc (ms)	FC (bpm)
Pre-tratamiento	92,57 \pm 5,42	210,14 \pm 8,55	341,09 \pm 15,06	186,46 \pm 8,53
1ª Semana	94,46 \pm 7,62	210,3 \pm 8,47	408,1 \pm 1,9*	203,69 \pm 4,43*
2ª Semana	128,36 \pm 9,53*	200,3 \pm 6,65	367,07 \pm 1,2*	199,61 \pm 4,08
3ª Semana	106,18 \pm 8,25	196,92 \pm 5,4	338,75 \pm 1,79	199,83 \pm 8,72

* Significativo ($p > 0,05$) en relación a la semana de pretratamiento.

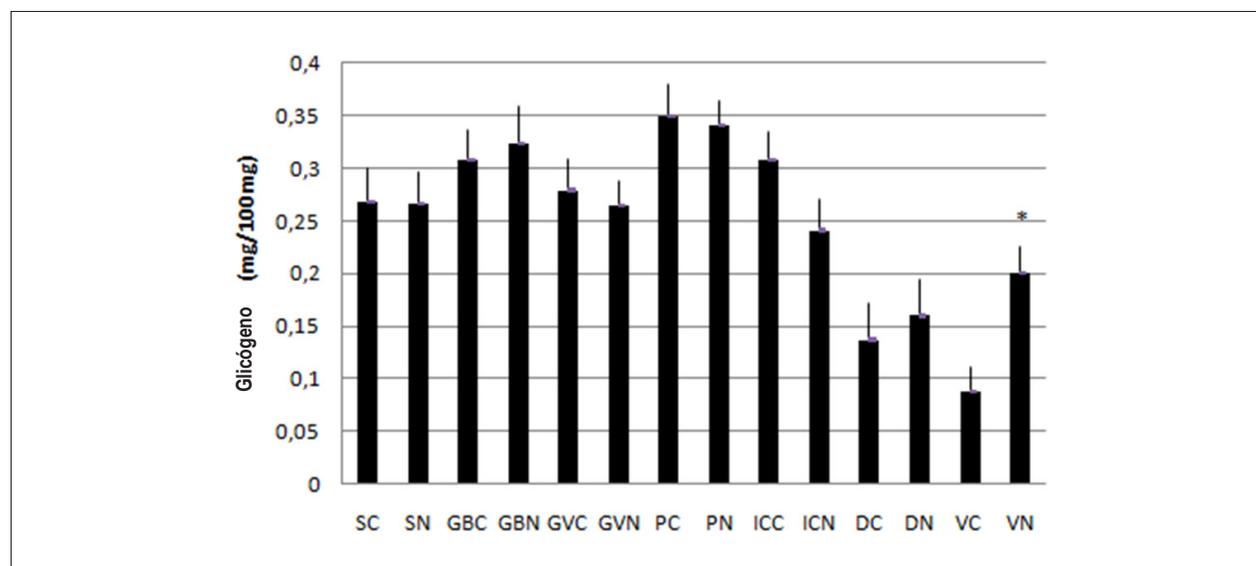


Figura 1 - Contenido de glicógeno (mg/100mg) de los músculos sóleo (S), gastrocnemio blanco (GB), gastrocnemio rojo (GV), pectoral (P), intercostal (IC), diafragma (D) y ventrículo izquierdo (V) de ratones del grupo control (C) y del grupo tratado con nandrolona (N, Deca-Durabolín®; 5mg/Kg). Los valores corresponden a la media \pm epm, n=23. * $p < 0,05$ en relación al control.

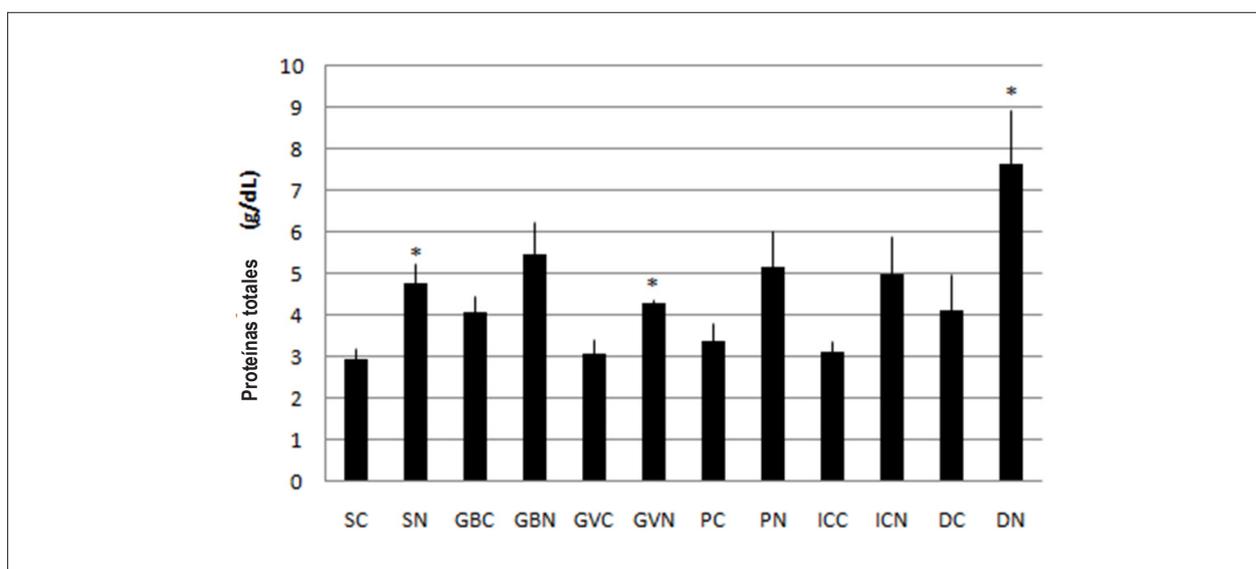


Figura 2 - Contenido de proteínas totales (g/dL) de los músculos sóleo (S), gastrocnemio blanco (GB), gastrocnemio rojo (GV), pectoral (P), intercostal (IC) y del diafragma (D) de ratones del grupo control (C) y del grupo tratado con nandrolona (N, Deca-Durabolin®; 5mg/Kg). Los valores corresponden a la media ± epm, n=23. * p<0,05 en relación al control.

Tabla 2 - Peso corporal, parámetros bioquímicos y hematológicos de ratones del grupo control y del grupo tratado con nandrolona (Deca-Durabolin®; 5mg/Kg). Los valores corresponden a la media ± epm, n=23

	Control	Nandrolona
AGL (mmol/l)	0,41±0,1	0,47±0,07
Glicemia (mg/dl)	139,42±11	139,42±9,1
Grasa Epididimal (g)	6,32±0,49	7,11±0,8
Próstata (g)	0,64±0,06	0,57±0,04
Albumina (g/dl)	1,69 ± 0,07	1,93 ± 0,05
Peso corporal (g)	404,46 ± 9,3	433,68 ± 6,3
Peso corazón (g)	1,382 ± 0,4 g	1,430 ± 0,4
Hematócrito (%)	43,9 ± 1,6	51 ± 2,4*

* Significativo (p>0,05) en relación al grupo control.

similar observado en el intervalo QTc, el cual también se presentó elevado e indicó retardo en los procesos inherentes a la repolarización de las cámaras ventriculares.

Un punto a considerar es que la presencia de receptores estrogénicos ya fue demostrada en una multiplicidad de tejidos, inclusive en el sistema cardiovascular²⁹. En especial, en lo que se refiere al tejido muscular, los receptores expresados son del tipo ERα, cuya expresión ya fue caracterizada en ratones, bovinos y humanos, y cuya acción está ligada a la regulación del metabolismo energético celular en el que puede actuar tanto por la vía no genómica, citosólica, como por la vía genómica³⁰. Una vez que esos receptores ejercen acción bajo el metabolismo, es sugestivo que la acción de la nandrolona sea multifactorial y representada por la capacidad de modificar la expresión de receptores androgénicos, la

afinidad y la actividad de las vías post receptor. Además de eso, hay una relación directa entre cambios en la sensibilidad adrenérgica del nódulo sino atrial y la presencia de esteroides, pudiendo indicar que, en la presencia de dosis suprafisiológicas de la nandrolona, haya modificaciones en la sensibilidad del corazón, las cuales pueden ser expresadas por la elevación en la población de receptores β adrenérgicos, hipersensibilizando el marcapasos cardíaco, como fue sugerido por Norton y cols.³¹. Es importante destacar que la frecuencia cardíaca también se elevó, indicando cambio en la interfase sensibilidad/actividad del nódulo sino atrial.

Considerando que la nandrolona puede elevar estándares metabólicos, otra hipótesis está dirigida a una acción cardiotrópica de fondo bioquímico, una vez que la nandrolona puede promover activación de las enzimas glucosa-6-fosfato, 6-fosfogluconato deshidrogenasa e isocitrato deshidrogenasa presentes en el músculo cardíaco³². Ese cambio en el estándar bioquímico de las fibras cardíacas promueve, inicialmente, un aumento en la generación de NADPH y, consecuentemente, la modificación en el tiempo de conducción de la señal eléctrica, induciendo sobrecarga en la función cardíaca y elevando el tiempo de sístole de la cámara ventricular.

Al evaluar el contenido glicogénico de la musculatura cardíaca, observamos que, en la presencia de la nandrolona, hubo elevación en las reservas. Ese aumento en el contenido de glicógeno puede reflejar la acción del esteroide, que tiene capacidad de alterar la responsividad tisular a otras hormonas, como, por ejemplo, el IGF, que es el factor similar a la insulina, expresando una acción potente sobre la vía glicogénica, favoreciendo, con eso, la formación de esa reserva de sustratos metabolizables. Así, sugerimos que, paralelamente al aumento de la exigencia funcional y de la actividad metabólica del músculo cardíaco,

ocurren cambios en las relaciones funcionales que pueden ser caracterizados por el aumento en la captación y metabolización de sustratos, con consecuente elevación en el gasto energético, como sugirió Falkenberg y cols.¹⁵. O sea, la nandrolona actúa en el músculo cardíaco y promueve elevación de la frecuencia cardíaca y de la tasa metabólica, pero, en contrapartida, tiene potencial de ampliar las reservas energéticas, haciendo que el corazón presente mayor aporte de sustratos metabolizables e implantando un *status* metabólico que sustenta la mayor exigencia. En ese sentido, una señal que sugiere elevación en las exigencias energéticas puede ser la elevación en el hematocrito, indicando que hace parte de una responsividad precozmente activada.

Hay que considerar que la acción anabólica, que es expresada por elevación en el peso de algunos órganos e inherente a la nandrolona, no fue verificada y posiblemente se deba al período de observación experimental, una vez que se trata de acciones ligadas a códigos nucleares expresados a largo plazo. Ese hecho sugiere que los efectos inherentes a la acción de los esteroides puedan tener una relación temporal.

Referencias

1. Snyder PJ. Androgens. In: Hardman Limbird JGLE, Goodman & Gilman A. (eds). The pharmacological basis of therapeutics, 10th ed. New York: McGraw Hill; 2001. p. 1635-48.
2. Gebara OCE, Vieira NW, Meyer JW, Calich ALG, Tai EJ, Pierri H, et al. Efeitos cardiovasculares da testosterona. *Arq Bras Cardiol*. 79 (6): 644-9.
3. Larsson CE, Farias MR, Andrade SF, Brito AF. Terapêutica tópica e sistêmica: pele, ouvido e olho. In: Andrade SF. Manual de terapêutica veterinária. 2ª ed. São Paulo: Roca; 2001. p. 116-78.
4. Simonson E, Kearns WM, Enger M. Effects of methyl testosterone treatment on muscular performance and the central nervous system of older men. *J Clin Endocrinol*. 1974; 4 (11): 528-34.
5. Ryan AJ. Anabolic steroids are fool's gold. *Fed Proc*. 1981; 40 (12): 2682-8.
6. Cunha TS, Tanno AP, Marcondes FK, Perez SEA, Selistre-Araujo HS. A administração de nandrolona não promove hipertrofia do músculo sóleo em ratos. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2006; 50 (3): 532-40.
7. Kutscher EC, Lund BC, Perry PJ. Anabolic steroids: a review for the clinician. *Sports Med*. 2002; 32 (5): 285-96.
8. Wilson JD. Androgen abuse by athletes. *Endocr Rev*. 1988; 9 (2): 181-99.
9. Lise MLZ, Gama e Silva TS, Ferigolo M, Barros HMT. O abuso de esteróides anabólicoandrogênicos em atletismo. *Rev Ass Med Bras São Paulo*. 1999; 45 (4): 364-70.
10. Creutzberg EC, Schols AMWJ. Anabolic steroids. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 1999; 2: 243-53.
11. Yesalis CE. Anabolic steroids in sport and exercise. Champaign, (IL): Human Kinetics; 1993. p. 325-9.
12. Kuipers H, Wijnen JA, Hartgens F, Willems SM. Influence of anabolic steroids on body composition, blood pressure, lipid profile and liver functions in body builders. *Int J Sports Med*. 1991; 12 (4): 413-8.
13. Gruber AJ, Pope HG Jr.. Psychiatric and medical effects of anabolic-androgenic steroid use in women. *Psychother Psychosom*. 2000; 69 (1): 19-26.

Conclusión

El estudio muestra que importantes alteraciones cardíacas son provocadas precozmente, sugiriendo una jerarquía en la secuencia de modificaciones que comprometen la homeostasia del organismo. Así, recomendamos que nuevos trabajos deban ser realizados para esclarecer la relación entre la nandrolona y la génesis de esas alteraciones que señalan sobrecarga de la musculatura cardíaca, pudiendo acarrear arritmias y muerte súbita.

Potencial Conflicto de Intereses

Declaro no haber conflicto de intereses pertinentes.

Fuentes de Financiamiento

El presente estudio no tuvo fuentes de financiamiento externas.

Vinculación Académica

Este artículo es parte de disertación de Maestría de Adriano Cesar Rocco Pardi por la Universidad Metodista de Piracicaba.

14. Pope Jr HG, Katz DL. Affective and psychotic symptoms associated with anabolic steroid use. *Am J Psychiatry*. 1988; 145 (4): 487-90.
15. Falkenberg M, Karlsson J, Ortenwall P. Peripheral arterial thrombosis in two young men using anabolic steroids. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 1997; 13 (2): 223-6.
16. Di Bello V, Giorgi D, Bianchi M, Bertini A, Caputo MT, Valenti G. Effects of anabolic-androgenic steroids on weight-lifters' myocardium: an ultrasonic videodensitometric study. *Med Sci Sports Exerc*. 1999; 31 (4): 514-21.
17. McCarthy K, Tang ATM, Dalrymple-Hay MJR, Haw MP. Ventricular thrombosis and systemic embolism in bodybuilders: etiology and management. *Ann Thorac Surg*. 2000; 70 (2): 658-60.
18. Ferrera PC, Putnam DL, Verdile VP. Anabolic steroid use as the possible precipitant of dilated cardiomyopathy. *Cardiology*. 1997; 88 (2): 218-20.
19. Baldwin J, Snow RJ, Gibala MJ, Garnham A, Howarth K, Febbraio MA. Glycogen availability does not affect the TCA cycle or TAN pools during prolonged, fatiguing exercise. *J Appl Physiol*. 2003; 94 (6): 2181-7.
20. Romijn JA, Coyle EF, Sidossis LS, Gastaldelli A, Horowitz JF, Ender E. Regulation of endogenous fat and carbohydrate metabolism in relation to exercise intensity and duration. *Am J Physiol*. 1993; 265 (3): E380-91.
21. Lima-Silva AE, Fernandes TC, De-Oliveira FR, Nakamura FY, Gevaerd MS. Metabolismo do glicogênio muscular durante o exercício físico: mecanismos de regulação. *Rev Nutr*. 2007; 20 (4): 417-29.
22. Chan CB, De Leo D, Joseph JW, McQuaid TS, Ha XF, Xu F, et al. Increased uncoupling protein-2 levels in beta-cells are associated with impaired glucose-stimulated insulin secretion: mechanism of action. *Diabetes*. 2001; 50 (6): 1302-10.
23. Siu LO, Russeau JC, Taylor AW. Determination of glycogen in small tissue samples. *J Appl Physiol*. 1970; 28 (2): 234-6.
24. Regouw BJM, Cornelisse PJH, Helder R, Spijkers JBF, Weeber YMM. Specific determination of the free fatty acid in plasma. *Clin Chim Acta*. 1971; 31 (1): 187-95.
25. Petermann CED, Silva CA. Tratamento com nifedipina, um bloqueador de canais de cálcio, melhora o conteúdo muscular de glicogênio de membro imobilizado de ratos. *Rev bras fisioter*. 2005; 9 (2): 181-6.

26. Chingui LJ, Branquinho RP, Munhoz MT, Silva CA. Comportamento quimiometabólico do músculo sóleo na fase aguda da imobilização articular. *Fisioterapia e Pesquisa*. 2008; 15 (2): 194-9.
27. Albino WJ, Silva CA, Taliari KRS. Suplementação com glutamina melhora as reservas de glicogênio de músculo de ratos tratados com dexametasona. *Rev bras Educ Fís Esp*. 2004; 18 (3): 283-91.
28. Silva PRP, Danielski R, Czepielewski MA. Esteróides anabolizantes no esporte. *Rev Bras Med Esporte*. 2002; 8 (6): 235-43.
29. Gustafsson JA. What pharmacologists can learn from recent advances in estrogen signaling? *Trends Pharmacol Sci*. 2003; 24 (9): 479-85.
30. Glenmark B, Nilsson M, Gao H, Gustafsson JA, Dahlman-Wright K, Westblad H. Difference in skeletal muscle function in males vs. female: role of estrogen receptor- β . *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2004; 287 (6): E1125-E1131.
31. Norton GR, Trifunovic B, Woodiswiss AJ. Attenuated beta-adrenoceptor-mediated cardiac contractile responses following androgenic steroid administration to sedentary rats. *Eur J Appl Physiol*. 2000; 81 (4): 310-6.
32. Tylicki A, Kawalko A, Sokolska J, Strumilo S. Effect of anabolic steroid nandrolone deaconate on enzymes in the heart, liver and muscle of rats and rat's electrophysiology. *Horm Metab Res*. 2007; 39 (4): 268-72.