

A Administração de Nandrolona Não Promove Hipertrofia do Músculo Sóleo em Ratos

*Tatiana S. Cunha
Ana Paula Tanno
Fernanda K. Marcondes
Sérgio E.A. Perez
Heloisa S. Selistre-Araújo*

*Departamento de Ciências Fisiológicas (TSC, APT, FKM),
Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas; e
Departamento de Ciências Fisiológicas (SEAP, HSS-A),
Universidade Federal de São Carlos, SP.*

*Recebido em 08/12/03
Revisado em 16/04/04, 08/06/04
e 01/03/05
Aceito em 18/03/05*

RESUMO

Os esteróides anabólicos androgênicos (EAA) são compostos formados a partir da testosterona ou um de seus derivados, sendo amplamente utilizados por desportistas amadores e profissionais com o objetivo de melhorar a performance atlética. Entretanto, a literatura a respeito da relação entre EAA e hipertrofia muscular é controversa. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da nandrolona e do treinamento físico sobre a hipertrofia muscular. Ratos Wistar machos receberam injeção i.m. de Deca-Durabolin® ou veículo durante 6 semanas. Os animais dos grupos treinados foram submetidos a treinamento físico resistido, através de sessões de saltos em meio líquido. Os animais sedentários e treinados foram sacrificados após anestesia e o músculo sóleo retirado para quantificação de proteínas totais e DNA. Ao final do tratamento, os animais treinados tratados com veículo ou EAA apresentaram menor peso corporal do que os respectivos grupos sedentários. Não foram observadas diferenças estatísticas na concentração de proteínas totais e na razão peso muscular/peso corporal entre os grupos experimentais. O grupo treinado tratado com EAA apresentou concentração de DNA significativamente menor do que o grupo treinado veículo. A administração de decanoato de nandrolona não promoveu hipertrofia do músculo sóleo, nem mesmo quando associada ao treinamento físico resistido. (**Arq Bras Endocrinol Metab 2006;50/3:532-540**)

Descritores: Exercício físico; Nandrolona; Hipertrofia; DNA

ABSTRACT

Nandrolone Administration Does Not Promote Hypertrophy of Soleus Muscle in Rats.

Anabolic androgenic steroids (AAS) are compounds formed from testosterone or one of its derivatives, which are largely used by amateur and professional athletes to improve the athletic performance. However, the scientific information about the relation between the use of AAS and muscle hypertrophy is controversial. The aim of this study was to evaluate the effects of testosterone and physical training on muscle hypertrophy. Male Wistar rats received i.m. injections of Deca-Durabolin® or vehicle during 6 weeks. Trained rats were submitted to a resistance physical training, by jumping up and down in water carrying an overload. Sedentary and trained animals were anesthetized and sacrificed. Soleus muscle was removed for the quantification of total protein and DNA concentration. In the end of the treatment, body weight of trained animals treated with vehicle or AAS was lower than the body weight of respective sedentary. Total protein concentration and the ratio muscle weight/body weight of all experimental groups were not altered. Trained group treated with AAS presented lower DNA concentration than trained group treated with vehicle. The administration of nandrolone decanoate did not promote hypertrophy on soleus muscle, not even when the use of AAS was associated to resistance physical training. (**Arq Bras Endocrinol Metab 2006;50/3:532-540**)

Keywords: Exercise; Nandrolone; Hypertrophy; DNA

OS ESTERÓIDES ANABÓLICOS ANDROGÊNICOS (EAA) são um grupo de compostos naturais e sintéticos formados a partir da testosterona e seus derivados, cuja indicação terapêutica está associada a quadros de hipogonadismo e deficiência do metabolismo proteico. Existem disponíveis no mercado vários tipos de EAA que desencadeiam de forma indissociável efeitos anabólicos e androgênicos. Um dos EAA mais utilizados no mundo é o decanoato de nandrolona, ou Deca-Durabolin® (1), que comparativamente à testosterona apresenta maior ação anabólica e menor atividade androgênica (2).

O primeiro relato da utilização de EAA com objetivos não terapêuticos ocorreu em 1954, na Áustria. Desde então estas substâncias vêm despertando a atenção de profissionais da área da saúde e pesquisadores devido à sua grande utilização por atletas profissionais e amadores, com o objetivo de aumentar a massa muscular, melhorar o desempenho físico e a estética corporal (3,4). Porém, altas doses de EAA podem acarretar vários efeitos colaterais tais como atrofia do tecido testicular, alterações hepatocelulares, tumores hepáticos e de próstata (5,6), alterações no metabolismo lipídico (7), alterações de humor (8) e de comportamento (9).

Alguns estudos relatam que o uso de EAA está associado à melhora do desempenho físico por aumentar as reservas energéticas musculares, como por exemplo a concentração de glicogênio. Segundo van Breda e cols. (10), animais tratados com EAA apresentam aumento da atividade da enzima glicogênio sintetase I e das reservas de glicogênio no músculo sóleo. Estudos desenvolvidos em nosso laboratório demonstraram que animais sedentários tratados com nandrolona por seis semanas também apresentaram aumento das concentrações de glicogênio no músculo sóleo (11,12). Porém, quando o treinamento físico resistido (saltos em meio líquido) foi associado ao tratamento com EAA, não houve efeito adicional sobre este parâmetro (11,12).

Além disso, existem dados que relatam que a administração de EAA está relacionada à melhora da performance atlética por aumentar a massa muscular e a resistência ao treinamento de alta intensidade (13). Entretanto, cabe salientar que ainda não existe consenso a este respeito, dadas as controvérsias presentes na literatura.

Considerando que o treinamento físico resistido através de saltos em meio líquido é um dos modelos experimentais empregados para o estudo das respostas fisiológicas frente ao exercício (14), que o sóleo é um dos principais músculos utilizados durante o mesmo (15) e que a relação entre o uso de doses supra-fi-

siológicas de EAA e os efeitos do treinamento sobre os processos de hipertrofia muscular não estão claros (2,16,17), o objetivo do presente estudo foi avaliar em ratos os efeitos da nandrolona e do treinamento físico resistido sobre as respostas hipertróficas do músculo sóleo.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados ratos Wistar com 2 meses de idade, no início do experimento, de padrão SPF (*Specific Pathogen Free*), fornecidos pelo Centro Multidisciplinar de Investigação Biológica da UNICAMP (CEMIB). Os animais foram mantidos no Biotério da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, alojados em gaiolas coletivas, com 4 animais cada, em sala climatizada ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), e com ciclo claro/escuro de 12/12 h (luzes acendendo às 6:00 h). Receberam, durante todo o período, água filtrada e ração para ratos à vontade, em ambiente sanitariamente controlado. Todos os procedimentos utilizados foram aprovados pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (Protocolo nº 391-1) da Universidade Estadual de Campinas, de acordo com as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal.

Tratamento

Os animais foram aleatoriamente divididos em quatro grupos experimentais: Sedentário + veículo (n= 6); Treinado + veículo (n= 6); Sedentário + EAA (n= 6); Treinado + EAA (n= 6).

Os animais dos grupos veículo e EAA receberam respectivamente injeções i.m. de veículo (propileno-glicol - 0,2mL/Kg) ou de decanoato de nandrolona (Deca-Durabolin® - 5mg/Kg), duas vezes por semana, entre às 7:30 e 8:00 h (18). Esta dose é equivalente às doses elevadas geralmente utilizadas por atletas: 600 mg/semana ou aproximadamente 8 mg/kg/semana (19). As aplicações foram realizadas no músculo gastrocnêmio esquerdo dos animais. O peso corporal dos animais foi registrado semanalmente, antes da aplicação do veículo ou do EAA.

Treinamento físico

Os animais foram submetidos individualmente a sessões de saltos em um cilindro de PVC, contendo água a 30°C a uma profundidade de 38 cm. Após um período inicial de adaptação ao meio líquido (1º ao 5º dia, com sobrecarga equivalente a 50% do peso corporal e número crescente de saltos e séries), os ani-

mais foram submetidos a um programa de treinamento físico resistido.

O treinamento físico resistido (20) consistiu de 25 sessões de saltos em meio líquido com sobrecarga de peso, 5 dias por semana, entre 13:00 e 15:00h. Em cada sessão, realizavam 4 séries de 10 saltos. Entre as séries houve um intervalo de 30 segundos, durante o qual o animal era retirado da água e mantido em repouso sobre um suporte. O treinamento foi realizado com sobrecarga progressiva de peso, até atingir a carga máxima de 70% do peso corporal do animal. A sobrecarga foi acoplada ao tórax dos mesmos através de um colete.

Após cada sessão de treinamento, os animais eram secados com toalha absorvente e mantidos por cerca de 30 min no laboratório. Após estarem completamente secos, os animais eram transportados ao biotério.

Coleta do material

Ao final do período de seis semanas de treinamento, os animais foram mantidos em repouso por 48 horas após a última sessão de exercícios (21,22), sem jejum prévio. Os animais treinados ou sedentários foram anestesiados por inalação de halotano (23) e em seguida mortos por parada respiratória (pneumotórax). O músculo sóleo foi coletado, colocado em criotubo e imediatamente armazenado em freezer a -80°C .

Quantificação de proteínas

As amostras dos músculos sóleo foram descongeladas em gelo e uma parte de cada amostra (0,1 a 0,2 g de tecido) foi isolada. O tecido foi homogeneizado em 1 mL de tampão PBS mantido em banho com gelo, utilizando-se um homogeneizador de tecido, operando em velocidade máxima. O homogenato foi centrifugado por 15 min, a 3000 rpm em centrífuga refrigerada (4°C). O sobrenadante foi retirado para quantificação de proteínas totais através do método Bradford (24), utilizando-se kit comercial (Biorad®). As concentrações de proteínas totais foram apresentadas em mg/g de tecido muscular.

Quantificação do DNA

As amostras foram retiradas do freezer a -80°C e descongeladas em gelo. Parte dos músculos sóleo (25 a 50 mg) foi homogeneizada em 1 mL do reagente DNazol®. Em seguida, o homogenato foi centrifugado por 10 min a 4000 rpm a 4°C para remover fragmentos de tecidos restantes e RNA da amostra. Após a centrifugação, o sobrenadante foi transferido para um *eppendorf* e a precipitação do DNA foi realizada adi-

cionando-se 0,5 mL de etanol 100%. Foi efetuada a mistura por inversão e mantida em temperatura ambiente por 3 minutos. O precipitado contendo o DNA foi removido e solubilizado em 1 mL de NaOH 8 mM. A quantificação foi feita através de espectrofotometria, com comprimento de onda de 260 nm. O cálculo da concentração de DNA foi realizado considerando-se que cada unidade de densidade óptica das amostras correspondia a 50 μg de DNA por mL. As concentrações de DNA foram apresentadas em mg/mg de tecido muscular (25).

Análise estatística

Para análise dos dados foi utilizada Análise de Variância Bifatorial, seguida do teste de Tukey para comparações múltiplas de médias. Valores de p menores do que 0,05 foram indicativos de significância estatística.

RESULTADOS

A seguir serão apresentados os resultados referentes às análises realizadas em ratos sedentários ou submetidos a treinamento resistido anaeróbio, tratados com veículo ou EAA. Os dados estão apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM).

Na tabela 1 são apresentados os dados referentes ao peso corporal dos animais. Não foram constatadas diferenças estatísticas no peso corporal inicial (primeira semana) entre os quatro grupos experimentais ($p > 0,05$). Ao final do período experimental (sexta semana), houve aumento do peso corporal em relação à primeira semana, em todos os grupos ($p < 0,05$) (tabela 1). Na sexta semana, o peso corporal dos animais treinados tratados com veículo foi significativamente menor do que aquele de animais sedentários tratados com veículo ($p < 0,05$) (tabela 1). Na mesma semana, os animais treinados tratados com EAA apresentaram menor peso corporal em relação ao grupo sedentário também tratado com EAA ($p < 0,05$) (tabela 1). Não houve diferença significativa entre o tratamento com veículo ou EAA sobre o peso corporal dos animais, independentemente da realização ou não de exercício físico ($p > 0,05$) (tabela 1).

Não foram observadas diferenças estatísticas na concentração protéica total no músculo sóleo entre os quatro grupos experimentais ($p > 0,05$) (tabela 2).

Na tabela 3 estão apresentados os dados referentes à concentração de DNA no músculo sóleo nos quatro grupos experimentais avaliados. O grupo treinado tratado com EAA apresentou concentração de DNA significativamente menor do que o grupo trei-

Tabela 1. Peso corporal (g) de ratos sedentários ou submetidos a treinamento físico resistido, tratados com veículo ou EAA, no início e no final do período de seis semanas.

| Grupos | N | Peso Inicial (g) ^a | Peso Final (g) ^a | Ganho de peso (%) ^b |
|----------------------|---|-------------------------------|-----------------------------|--------------------------------|
| Sedentário + Veículo | 6 | 278 ± 8 | 383 ± 12* | 38 |
| Sedentário + EAA | 6 | 280 ± 10 | 367 ± 14* | 31 |
| Treinado + Veículo | 6 | 293 ± 7 | 352 ± 9*# | 20 |
| Treinado + EAA | 6 | 275 ± 4 | 328 ± 5*# | 20 |

^a Valores médios ± erros padrão das médias; ^b Valores médios; * Diferença significativa em relação à primeira semana, no mesmo grupo; # Diferença significativa em relação ao respectivo grupo sedentário, na mesma semana ($p < 0,05$; ANOVA bifatorial + Tukey).

Tabela 2. Concentração protéica total do músculo sóleo (mg/g) de ratos sedentários ou submetidos a treinamento físico resistido, tratados com veículo ou EAA, durante seis semanas.

| Grupos | N | Concentração protéica (mg/g) ^a |
|----------------------|---|---|
| Sedentário + Veículo | 6 | 11,08 ± 1,05 |
| Sedentário + EAA | 6 | 13,87 ± 1,67 |
| Treinado + Veículo | 6 | 16,30 ± 2,07 |
| Treinado + EAA | 6 | 15,20 ± 0,93 |

^a Valores médios ± erros padrão das médias (ANOVA bifatorial + Tukey).

Tabela 3. Concentração de DNA do músculo sóleo ($\mu\text{g}/\text{mg}$) de ratos sedentários ou submetidos a treinamento físico resistido, tratados com veículo ou EAA, durante seis semanas.

| Grupos | N | Concentração DNA ($\mu\text{g}/\text{g}$) ^a |
|----------------------|---|--|
| Sedentário + Veículo | 6 | 0,15 ± 0,02 |
| Sedentário + EAA | 6 | 0,09 ± 0,02 |
| Treinado + Veículo | 6 | 0,24 ± 0,03 |
| Treinado + EAA | 6 | 0,09 ± 0,02* |

^a Valores médios ± erros padrão das médias; * Estatisticamente diferente do respectivo grupo tratado com veículo ($p < 0,05$; ANOVA bifatorial + Tukey).

nado tratado com veículo ($p < 0,05$). Não houve diferença estatística na concentração de DNA entre os demais grupos experimentais ($p > 0,05$) (tabela 3).

Na tabela 4 estão apresentados os dados referentes à razão entre o peso do músculo sóleo (PS) e o peso corporal (PC) dos animais. Ao final das seis semanas de tratamento, não foram observadas diferenças estatísticas nesta razão entre os quatro grupos experimentais ($p > 0,05$) (tabela 4).

DISCUSSÃO

Assim como o exercício aeróbio, o exercício físico resistido anaeróbio pode modificar a composição corporal (26,27). Porém, quando o exercício é realizado de forma inadequada, o desenvolvimento e a função dos sistemas orgânicos podem ser prejudicados (28).

Neste sentido, a perda de peso corporal dos animais é um indicativo da inadequação do protocolo de treinamento físico empregado em experimentos laboratoriais. No presente estudo, todos os animais apresentaram aumento significativo do peso corporal com relação ao início do período experimental, indicando que o protocolo utilizado, apesar de intenso, não submeteu os animais a uma situação de *overtraining*.

Ao final do período experimental, animais treinados apresentaram menor ganho de peso do que os respectivos sedentários, o que pode ser explicado pela intensa utilização de lipídios durante a fase de recuperação pós-exercício (29) e aumento do metabolismo energético basal, gerando maior gasto calórico e reduzindo a gordura corporal (30). Não houve diferenças significativas no peso corporal final entre os animais tratados com EAA e veículo. Embora os EAA possam estimular a síntese protéica e aumentar a re-

Tabela 4. Razão entre o peso do músculo sóleo (PS) e o peso corporal (PC) (mg/g) de ratos sedentários ou submetidos a treinamento físico resistido, tratados com veículo ou EAA, durante seis semanas.

| Grupos | N | PS / PC (mg/g) ^a |
|----------------------|---|-----------------------------|
| Sedentário + Veículo | 6 | 0,43 ± 0,01 |
| Sedentário + EAA | 6 | 0,45 ± 0,01 |
| Treinado + Veículo | 6 | 0,45 ± 0,03 |
| Treinado + EAA | 6 | 0,47 ± 0,01 |

^a Valores médios ± erros padrão das médias (ANOVA bifatorial + Tukey).

tenção hídrica, níveis excessivos destas substâncias podem inibir o crescimento corporal e o ganho de peso (31,32), efeitos decorrentes da diminuição de apetite, do desequilíbrio hidro-eletrolítico, da excessiva conversão de testosterona em estradiol (33), da redução da produção normal de testosterona (34) e do aumento da oxidação lipídica (35).

Dependendo da intensidade, duração e frequência com que o exercício físico resistido é praticado, este pode desencadear o desenvolvimento de hipertrofia das fibras musculares (30) por meio da ativação, proliferação e incorporação de células satélites (36-38), aumento da síntese de proteínas contráteis e não contráteis (39) e adição de novos sarcômeros em um arranjo paralelo, aumentando a capacidade muscular de produção de força. Entretanto, os dados a respeito dos efeitos do treinamento resistido sobre a síntese proteica muscular ainda são controversos (40,41).

Embora tenha sido relatado que o uso de EAA associado ao exercício físico resistido possa estimular a proliferação e a diferenciação de células satélite, bem como o número de mionúcleos e o tamanho individual de cada fibra muscular (36,42), outros trabalhos não evidenciaram efeitos significativos dos EAA sobre os mesmos parâmetros (2,16). Os efeitos placebo, diferenças musculares de sensibilidade ao hormônio e a variabilidade individual (4) poderiam explicar estas diferenças.

Apesar dos exercícios resistidos de alta intensidade serem facilmente aplicáveis em humanos (por exemplo, o levantamento de peso), existem limitações devido ao caráter invasivo das biópsias musculares necessárias para obtenção das amostras. Diante disso, o protocolo de levantamento de peso para ratos, proposto por Tamaki e cols. (43), tem sido utilizado como modelo de exercício resistido de alta intensidade (15), no qual uma sessão do exercício, até a exaustão, é suficiente para desencadear aumento de síntese pro-

téica nos músculos flexores plantares (sóleo, plantar e gastrocnêmio) (15,44). O protocolo de levantamento de peso para ratos em meio líquido é uma variação do modelo proposto por Tamaki e cols. (43), e vem sendo amplamente utilizado como modelo de treinamento de alta intensidade. Entretanto, a literatura sobre as respostas fisiológicas decorrentes da aplicação deste protocolo experimental ainda é reduzida.

No presente estudo, os teores de proteínas totais do músculo sóleo e a relação peso muscular/ peso corporal indicam que a intensidade e/ou duração do protocolo de treinamento, bem como o regime de administração do EAA, foram insuficientes para desencadear os processos hipertróficos neste tecido. A ausência de diferenças estatísticas nas variáveis citadas não estão relacionadas a desajustes no planejamento experimental, já que a utilização de um "n" de seis animais é adequada e suficiente para a reprodução e interpretação dos teores de proteínas e DNA em músculo esquelético (15,45,46).

Porém, respostas hipertróficas miofibrilares foram observadas no músculo flexor plantar, com predominância de fibras glicolíticas, em ratos submetidos ao mesmo protocolo experimental por quatro semanas (47). Apesar do protocolo empregado favorecer as adaptações hipertróficas, sabe-se que o músculo sóleo possui predominância de fibras oxidativas, e devido a pequena especificidade muscular diante do protocolo de treinamento empregado, o padrão de recrutamento do músculo sóleo frente ao exercício pode não ter sido eficaz para desencadear hipertrofia. Também em resposta ao protocolo de exercício em esteira para ratos por 12 semanas (20% de inclinação e sobrecarga de 20% peso corporal acoplada ao tórax do animal), não foi observado aumento da área média de secção das fibras do músculo sóleo (48), dados estes que corroboram o presente estudo, indicando ausência de respostas hipertróficas em resposta ao estímulo aplicado.

Estes resultados não contrariam os conhecimentos básicos acerca da influência do treinamento físico sobre a hipertrofia muscular, mas confirmam que as características metabólicas de cada tipo de fibra muscular (glicolíticas ou oxidativas) determinam as respostas ao estímulo aplicado (49). Chi e cols. (50) demonstraram também que fibras musculares de mesmo tipo podem apresentar comportamento metabólico completamente diferente dependendo do músculo onde estão localizadas.

É importante também destacar que pode ter ocorrido hipertrofia metabólica no músculo sóleo. Neste tipo de adaptação, há aumento das reservas de glicogênio e ATP-CP, do volume e densidade mito-

condrial, e do conteúdo de mioglobina, bem como angiogênese. Essas adaptações melhoram a capacidade metabólica muscular, daí a denominação de hipertrofia metabólica (48,51).

O período de treinamento também precisa ser considerado. Em humanos, já foi demonstrado que o *turnover* protéico após sessão única de exercício resistido de alta intensidade é menor em indivíduos treinados do que em sedentários (39). Estes autores acreditam que a supressão do *turnover* protéico induzido pelo treinamento resistido seja decorrente, pelo menos em parte, da redução do grau de lesão muscular induzido pela contração (39,52,53). Admitindo que, após seis semanas de treinamento, esta adaptação também possa ter ocorrido em nosso modelo, podemos explicar o fato de o exercício não ter aumentado de forma significativa o teor protéico do músculo sóleo.

Além disso, as ações anabólicas e androgênicas dos EAA variam entre as espécies e também entre os diferentes grupos musculares da mesma espécie (54,55), em função do número de receptores androgênicos presentes nos tecidos alvos. Em ratos, os músculos relacionados à reprodução (músculo do bulbo cavernoso e elevador do ânus) são mais responsivos à administração de EAA (56), enquanto que os músculos plantar (54), extensor longo dos dedos e sóleo (57,58) sofrem menores alterações frente à castração ou à administração de andrógenos. Sendo assim, a inexistência de efeitos hipertrofiantes significativos do EAA pode ser decorrente da pequena responsividade do músculo sóleo.

A concentração de DNA também tem sido utilizada como indicador dos processos de hipertrofia, estando diretamente relacionada ao número de núcleos celulares existentes no músculo (59). À medida que o processo de hipertrofia muscular se desenvolve, em resposta à ativação das células satélite, há adição de novos mionúcleos às fibras musculares já existentes, aumentando o material genético das mesmas. No presente estudo, o treinamento físico empregado não promoveu aumento significativo na concentração de DNA no músculo sóleo. Uma das teorias aceitas a respeito da hipertrofia é que a mesma desenvolve-se em resposta a traumas no tecido muscular desencadeados pelo exercício físico praticado (39). Acreditamos que o grau de lesão induzido pelo protocolo de treinamento sobre o músculo sóleo tenha sido insuficiente como estímulo desencadeante da resposta hipertrófica, por motivos já citados anteriormente. Sendo assim, não deve ter havido incorporação de novas células satélites às fibras já existentes do músculo sóleo, nem aumento significativo na concentração de DNA.

Com relação aos efeitos do tratamento com EAA sobre este parâmetro, observamos que o mesmo reduziu a concentração de DNA no músculo sóleo de animais treinados. Estudos recentes mostram que músculos neonatais de mamíferos e células mioblásticas podem sofrer apoptose, em resposta a agentes tóxicos e estresse oxidativo (60,61). Neste contexto, Abu-Shakra e cols. (62) demonstraram que a exposição *in vitro* de células musculares diferenciadas (C2 murina) a doses supra-fisiológicas de EAA induziu apoptose, e que a diminuição da concentração de DNA nestas culturas foi proporcional à concentração de EAA utilizada. Resultados semelhantes foram obtidos após administração de EAA danazol (62). Zaugg e cols. (63) demonstraram que a exposição *in vitro* de cardiomiócitos a doses supra-fisiológicas de estanozolol (10 μ M) ou enantato de testosterona (1 μ M) também induz apoptose celular. Como estes efeitos ocorreram em resposta a concentrações supra-fisiológicas de EAA, acreditamos que a diminuição na concentração de DNA muscular, observada no presente estudo, esteja ocorrendo por processos semelhantes aos descritos.

As concentrações de EAA utilizadas nestes trabalhos são facilmente atingidas durante os ciclos de uso de EAA, quando são administradas doses 100 a 1000 vezes maiores do que as aprovadas para uso terapêutico (64). Apesar de existirem dados na literatura que relatam que o uso de doses supra-fisiológicas de EAA promove algum grau de hipertrofia e incremento de força muscular, muitas vezes estas são mudanças pequenas, da ordem de 1 a 5%, sendo raramente relevantes estatística ou clinicamente. Por esta razão, cientistas, médicos e atletas podem interpretar os dados do mesmo estudo sob diferentes visões. Infelizmente, muitos atletas continuam acreditando que estas mudanças podem representar a margem da vitória e difundem esta cultura. Além disso, muitos efeitos relativos à hipertrofia muscular parecem estar relacionados ao processo denominado *stacking*, em que são utilizados até cinco ou seis drogas simultaneamente, incluindo preparações orais e parenterais, produtos de uso veterinário e outros hormônios não esteróides (19). Esta prática resulta em graves efeitos colaterais como, por exemplo, os distúrbios psiquiátricos apresentados por usuários de nandrolona, em dose equivalente à utilizada no presente estudo (19). Com base nestes relatos da literatura e nos resultados aqui obtidos, concluímos que, além do uso de EAA não ter promovido nenhum efeito hipertrofiante sobre o músculo sóleo, ele parece ter danificado o material genético celular, mais um dentre muitos outros efeitos colaterais resultantes do uso de doses supra-fisiológicas de esteróides anabólicos.

Considerando que a metodologia empregada neste estudo está adequada ao objetivo proposto e que o número de animais utilizados por experimento foi suficiente para a determinação de possíveis diferenças com relação aos parâmetros avaliados (15,45,46), os dados obtidos reforçam a necessidade de mais estudos para avaliação da existência de efeitos significativos do uso de EAA sobre a performance, além daqueles desencadeados pelo treinamento físico resistido.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi financiado por auxílio-pesquisa concedido a FKM pela Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP 02/05427-8). TSC recebeu bolsa CAPES de mestrado. APT recebeu bolsa de doutorado FAPESP (01/13210-6).

REFERÊNCIAS

1. Kutscher EC, Lund BC, Perry PJ. Anabolic steroids: A review for the clinician. **Sports Med** 2002;32(5):285-96.
2. Wilson JD. Androgen abuse by athletes. **Endocr Rev** 1988;9(2):181-99.
3. Creutzberg EC, Schols AMWJ. Anabolic steroids. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care** 1999;2(3):243-53.
4. Cunha TS, Cunha NS, Moura MJCS, Marcondes FK. Esteróides anabólicos androgênicos e sua relação com a prática desportiva. **Rev Bras Ciênc Farmac** 2004;40(2):165-79.
5. Johnson WO. Steroids: a problem of huge dimensions. **Sports Illustrated** 1985;5(13):38-54.
6. Yesalis CE, Courson SP, Wright JE. History of anabolic steroid in sport and exercise. In: Yesalis CE, ed. **Anabolic Steroids in Sport and Exercise**. Champaign:Human Kinetics, 1993. p.51-71.
7. 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;12:413-8.
8. Gruber AJ, Pope Jr HG. Psychiatric and medical effects of anabolic-androgenic steroid use in women. **Psychother Psychosom** 2000;69(1):19-26.
9. Bahrke MS, Yesalis CE, Kopstein AN, Stephens JA. Risk factors associated with anabolic-androgenic steroid use among adolescents. **Sports Med** 2000;29(6):397-405.
10. van Breda E, Keizer HA, Geurten P, van Kranenburg G, Menheere PP, Kuipers H, et al. Modulation of glycogen metabolism of rat skeletal muscles by endurance training and testosterone treatment. **Pflugers Arch** 1993;424(3-4):294-300.
11. Cunha TS, Tanno AP, Moura MJCS, Marcondes FK. Effect of high intensity exercise and anabolic-androgenic steroid administration on liver and muscle glycogen supercompensation in rats. In: **XXI Congresso Latino Americano de Ciências Fisiológicas**, Ribeirão Preto, 2003. p.210.
12. Cunha TS. **Efeito do esteróide anabólico androgênico nandrolona sobre o metabolismo do glicogênio em ratos sedentários e treinados**. Piracicaba, 2004. (Dissertação de Mestrado - Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual de Campinas).
13. Silva PRP, Danielski R, Czepielewski MA. Esteróides anabolizantes no esporte. **Rev Bras Med Esporte** 2002;8(6):235-43.
14. Voltarelli FA, Gobatto CA, Mello MAR. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. **Braz J Med Biol Res** 2002;35:1389-94.
15. Tamaki T, Uchiyama S, Uchiyama Y, Akatsuka A, Yoshimura S, Roy RR, et al. Limited myogenic response to a single bout of weight-lifting exercise in old rats. **Am J Physiol Cell Physiol** 2000;278(6):C1143-52.
16. Elashoff JD, Jacknow AD, Shain SG, Braunstein GD. Effects of anabolic-androgenic steroids on muscular strength. **Ann Intern Med** 1991;115(5):387-93.
17. Kuhn CM. Anabolic steroids. **Recent Prog Horm Res** 2002;57:411-34.
18. Norton GR, Trifunovic B, Woodiwiss AJ. Attenuated beta-adrenoceptor-mediated cardiac contractile responses following androgenic steroid administration to sedentary rats. **Eur J Appl Physiol** 2000;81(4):310-6.
19. Pope HG Jr, Katz DL. Affective and psychotic symptoms associated with anabolic steroid use. **Am J Psychiatry** 1988;145(4):487-90.
20. Rogatto GP. **Efeitos do treinamento físico de alta intensidade sobre aspectos endócrino-metabólicos de ratos Wistar**. Rio Claro, 2001. (Dissertação de Mestrado - Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista).
21. Nakatani A, Han D, Hansen PA, Nolte LA, Host HH, Hickner RC, et al. Effect of endurance exercise training on muscle glycogen supercompensation in rats. **J Appl Physiol** 1997;82(2):711-5.
22. Greiwe JS, Hickner RC, Hansen PA, Racette SB, Chen MM, Holloszy JO. Effects of endurance exercise training on muscle glycogen accumulation in humans. **J Appl Physiol** 1999;87(1):222-6.
23. Tanno AP, Bianchi FJ, Moura MJCS, Marcondes FK. Atrial supersensitivity to noradrenaline in stressed female rats. **Life Sci** 2002;71(25):2973-81.
24. Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem** 1976;72:248-54.
25. Chomczynski P, Mackey K, Drews R, Wilfinger W. DNAzol: A reagent for the rapid isolation of genomic DNA. **BioTechniques** 1997;22:550-3.
26. Åstrand PO. Why exercise? **Med Sci Sports Exerc** 1991;24:153-62.
27. Radak Z, Kaneko T, Tahara S, Nakamoto H, Ohno H, Sasvari M, et al. The effect of exercise training on oxidative damage of lipids, proteins, and DNA in rat skeletal muscle: evidence for beneficial outcomes. **Free Radic Biol Med** 1999;27(1-2):69-74.

28. Rikli RE. Reliability, validity, and methodological issues in assessing physical activity in older adults. **Res Q Exerc Sport** 2000;71(2):89-96.
29. Yoshioka M, Doucet E, St-Pierre S, Almeras N, Richard D, Labrie A, et al. Impact of high-intensity exercise on energy expenditure, lipid oxidation and body fatness. **Int J Obes Relat Metab Disord** 2001;25(3):332-9.
30. Hunter GR, Weinsier RL, Bamman MM, Larson DE. A role for high intensity exercise on energy balance and weight control. **Int J Obes Relat Metab Disord** 1998;22(6):489-93.
31. Bauman DH, Richerson JT, Britt AL. A comparison of body and organ weights, physiologic parameters, and pathologic changes in target organs of rats given combinations of exercise, anabolic hormone, and protein supplementation. **Am J Sports Med** 1988;16(4):397-402.
32. Carson JA, Lee WJ, Mcclung J, Hand GA. Steroid receptor concentration in aged rat hind limb muscle: effect of anabolic steroid administration. **J Appl Physiol** 2002;93:242-50.
33. Hickson RC, Kurowski TG. Anabolic steroids and training. **Clin Sports Med** 1986;5(3):461-9.
34. Ryan AJ. Anabolic steroids are fool's gold. **Fed Proc** 1981;40(12):2682-8.
35. Guzman M, Saborido A, Castro J, Molano F, Megias A. Treatment with anabolic steroids increases the activity of the mitochondrial outer carnitin palmitoyltransferase in rat liver and fast-twitch muscle. **Biochem Pharm** 1991;41:833-5.
36. Tamaki T, Uchiyama S, Uchiyama Y, Akatsuka A, Roy RR, Edgerton VR. Anabolic steroids increase exercise tolerance. **Am J Physiol Endocrinol Metab** 2001;280(6):973-81.
37. Schultz E, Jaryszak DL, Gibson MC, Albright DJ. Absence of exogenous satellite cell contribution to regeneration of frozen skeletal muscle. **J Muscle Res Cell Motil** 1986;7:361-7.
38. Hawke TJ, Garry DJ. Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology. **J Appl Physiol** 2001;91(2):534-51.
39. Phillips SM, Tipton KD, Ferrando AA, Wolfe RR. Resistance training reduces the acute exercise-induced increase in muscle protein turnover. **Am J Physiol** 1999;276:118-24.
40. Yarasheski KE, Campbell JA, Smith K, Rennie MJ, Holloszy JO, Bier DM. Effect of growth hormone and resistance exercise on muscle growth in young men. **Am J Physiol** 1992;262:261-7.
41. Yarasheski KE, Zachwieja JJ, Bier D. Acute effects of resistance exercise on muscle protein synthesis rate in young and elderly men and women. **Am J Physiol** 1993;265:210-4.
42. Joubert Y, Tobin C. Satellite cell proliferation and increase in the number of myonuclei induced by testosterone in the levator ani muscle of the adult female rat. **Dev Biol** 1989;131(2):550-7.
43. Tamaki T, Uchiyama S, Nakano S. A weight-lifting exercise model for inducing hypertrophy in the hind limb muscles of rats. **Med Sci Sports Exerc** 1992;24(8):881-6.
44. Tamaki T, Akatsuka A, Tokunaga M, Ishige K, Uchiyama S, Shiraishi T. Morphological and biochemical evidence of muscle hyperplasia following weight-lifting exercise in rats. **Am J Physiol** 1997;273(1 Pt 1):C246-56.
45. Sandri M, Carraro U, Podhorska-Okolov M, Rizzi C, Arslan P, Monti D, et al. Apoptosis, DNA damage and ubiquitin expression in normal and mdx muscle fibers after exercise. **FEBS Lett** 1995;373(3):291-5.
46. van Royen M, Carbo N, Busquets S, Alvarez B, Quinn LS, Lopez-Soriano FJ, et al. DNA fragmentation occurs in skeletal muscle during tumor growth: A link with cancer cachexia? **Biochem Biophys Res Commun** 2000;270(2):533-7.
47. Rosante MC, Robert-Pires CM, Marquetti RC, Baldissera V, Perez SEA, Ninomyia M. Esteróides Anabólicos Androgênicos não promovem hipertrofia adicional em ratos submetidos a treinamento de força. In: **XVIII Reunião Anual da FeSBE**, Caxambu, 2003. p.7.
48. Robert-Pires CM. **Estudo dos efeitos da administração de esteróides androgênicos sobre o diâmetro das fibras musculares esqueléticas de ratos jovens submetidos ou não ao exercício físico**. São Carlos, 2000. (Dissertação de Mestrado – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos).
49. Daugaard JR, Nielsen JN, Kristiansen S, Andersen JL, Hargreaves M, Richter EA. Fiber type-specific expression of GLUT4 in human skeletal muscle: influence of exercise training. **Diabetes** 2000;49(7):1092-5.
50. Chi MM, Hintz CS, Henriksson J, Salmons S, Hellendahl RP, Park JL, et al. Chronic stimulation of mammalian muscle: enzyme changes in individual fibers. **Am J Physiol** 1986;251(4 Pt 1):C633-42.
51. Santarém JM. Treinamento de força e potência. In: Ghorayeb N, Barros Neto TL. **O Exercício — Preparação Fisiológica, Avaliação Médica, Aspectos Especiais e Preventivos**. Rio de Janeiro: Atheneu, 1999. p.35-50.
52. Faulkner JA, Brooks SV, Opitck JA. Injury to skeletal muscle fibers during contractions: conditions of occurrence and prevention. **Phys Ther** 1993;73:911-21.
53. Newham DJ, Jones DA, Clarkson PM. Repeated high-force eccentric exercise: effects on muscle pain and damage. **J Appl Physiol** 1987;63:1381-6.
54. Antonio J, Wilson JD, George FW. Effects of castration and androgen treatment on androgen-receptor levels in rat skeletal muscles. **J Appl Physiol** 1999;87(6):2016-9.
55. Krieg M, Bartsch W, Herzer S, Becker H, Voigt KD. Quantification of androgen binding, androgen tissue levels, and sex hormone-binding globulin in prostate, muscle and plasma of patients with benign prostatic hypertrophy. **Acta Endocrinol (Copenh)** 1977;86(1):200-15.
56. Rand MN, Breedlove SM. Androgen locally regulates rat bulbocavernosus and levator ani size. **J Neurobiol** 1992;23(1):17-30.
57. Leslie M, Forger NG, Breedlove SM. Sexual dimorphism and androgen effects on spinal motoneurons innervating the rat flexor digitorum brevis. **Brain Res** 1991;561(2):269-73.
58. Tingus SJ, Carlsen RC. Effect of continuous infusion of an anabolic steroid on murine skeletal muscle. **Med Sci Sports Exerc** 1993;25(4):485-94.
59. Gibson MC, Schultz E. Age-related differences in absolute numbers of skeletal muscle satellite cells. **Muscle Nerve** 1983;6(8):574-80.

60. Fidzianska A, Kaminska A. Apoptosis: a basic pathological reaction of injured neonatal muscle. **Pediatr Pathol** **1991**;11(3):421-9.
61. Stangel M, Zettl UK, Mix E, Zielasek J, Toyka KV, Hartung HP, et al. H₂O₂ and nitric oxide-mediated oxidative stress induce apoptosis in rat skeletal muscle myoblasts. **J Neuropathol Exp Neurol** **1996**;55(1):36-43.
62. Abu-Shakra SR, Alhalabi MS, Nachtman FC, Schemidt RA, Brusilow WS. Anabolic steroids induce injury and apoptosis of differentiated skeletal muscle. **J Neurosci Res** **1997**;47(2):186-97.
63. Zaugg M, Jamali NZ, Lucchinetti E, Xu W, Alam M, Shafiq AS, et al. Anabolic-androgenic steroids induce apoptotic cell death in adult rat ventricular myocytes. **J Cell Physiol** **2001**;187(1):90-5.
64. Haupt HA, Rovere GD. Anabolic steroids: a review of the literature. **Am J Sports Med** **1984**;12(6):469-84.

Endereço para correspondência:

Fernanda Klein Marcondes
Departamento de Ciências Fisiológicas
Faculdade de Odontologia de Piracicaba, FOP/UNICAMP
Av. Limeira 901
13414-903 Piracicaba, SP
Fax: (19) 3412-5212
E-mail: fklein@fop.unicamp.br