

**ATENUAÇÃO DO REFLEXO BEZOLD-JARISCH APÓS  
TRATAMENTO CRÔNICO COM DOSES  
SUPRAFISIOLÓGICAS DE DECANOATO DE NANDROLONA  
EM RATOS SEDENTÁRIOS**

**ANA RAQUEL SANTOS DE MEDEIROS**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

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

**Vitória, Setembro de 2007**

**ANA RAQUEL SANTOS DE MEDEIROS**

**ATENUAÇÃO DO REFLEXO BEZOLD-JARISCH APÓS  
TRATAMENTO CRÔNICO COM DOSES  
SUPRAFISIOLÓGICAS DE DECANOATO DE NANDROLONA  
EM RATOS SEDENTÁRIOS**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Ciências Fisiológicas.

***Orientadora***

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Nazaré Souza Bissoli

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

**Vitória, Setembro de 2007**

***Medeiros, Ana Raquel Santos, 2007***

**ATENUAÇÃO DO REFLEXO BEZOLD-JARISCH APÓS TRATAMENTO CRÔNICO COM DOSES SUPRAFISIOLÓGICAS DE DECANOATO DE NANDROLONA EM RATOS SEDENTÁRIOS. Ana Raquel Santos de Medeiros, Setembro de 2007, 73 p.**

Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Espírito Santo.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Nazaré Souza Bissoli

1. Reflexo Bezold-Jarisch 2. Hipertrofia cardíaca 3. Esteróides anabólicos androgênicos 4. Decanoato de nandrolona

# **ATENUAÇÃO DO REFLEXO BEZOLD-JARISCH APÓS TRATAMENTO CRÔNICO COM DOSES SUPRAFISIOLÓGICAS DE DECANOATO DE NANDROLONA EM RATOS SEDENTÁRIOS**

**ANA RAQUEL SANTOS DE MEDEIROS**

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

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nazaré Souza Bissoli (Orientadora)  
Departamento de Ciências Fisiológicas - UFES

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ivanita Stefanon  
Departamento de Ciências Fisiológicas - UFES

---

Prof. Dr. Tadeu Uggere Andrade  
Departamento de Farmácia - UVV

---

Prof. Dr. Luiz Carlos Schenberg  
Coordenador do PPGCF - UFES

Universidade Federal do Espírito Santo  
Vitória, Setembro de 2007

Dedico a meus pais, irmãos e ao Gabriel.  
Em especial ao meu marido pelo fundamental  
amor, apoio e incentivo.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus criador que me fortalece todos os dias nessa longa caminhada da vida. Não esquecendo da mãe de Jesus por quem intercedo e me acolhe em todos os momentos.

Aos meus pais, Luiz Gonzaga e Aparecida, que souberam encaminhar meus irmãos e eu aos estudos, acompanhando e incentivando a conquista de cada grau. Aos meus irmãos, Rodolfo e Lygia, e ao meu sobrinho querido Gabriel, pelas horas de descontração e companheirismo.

Ao meu namorado, noivo e atualmente marido que esteve comigo em todos os instantes, desde a graduação até mais essa vitória. Obrigada pela dedicação, amor e carinho.

À Tânia e Robison, atualmente minha sogra e sogro, que acompanharam e deram apoio a essa caminhada.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Nazaré Souza Bissoli, por ser muito mais que uma orientadora, uma amiga em todas as horas que deixa transparecer de modo suave às exigências necessárias à formação de seus alunos. Obrigada pela sua generosidade, companhia e por compartilhar seus conhecimentos em todas as etapas que passei em seu laboratório, desde a iniciação científica até ao mestrado. Obrigada também por dispor seu tempo aos alunos de iniciação científica, concorrendo a bolsas, no qual fui beneficiada e tive oportunidade de chegar até estar aqui. MUITO OBRIGADA!!!

Ao Prof. Dr. Tadeu Uggere Andrade, que me ensinou muito do que eu sei hoje quando ainda era aluno de doutorado e que continua sendo fundamental na minha formação. Obrigada Tadeu por todo esse tempo que pude apreender com você e compartilhar de sua amizade.

Aos alunos de mestrado que passaram pelo laboratório quando eu ainda era aluna de iniciação científica, que partilharam a oportunidade de aprender junto com eles e de me ensinar, em especial ao João Vicente, a Renata e a Ivy.

Aos alunos e ex-alunos de iniciação científica, Camilo, Francielle, Aline, Juliana e Renê, parceiros fundamentais no cumprimento das rotinas dos experimentos. Muito obrigada pelas horas dedicadas, muitas vezes até nos finais de semana.

A Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Margareth pela ajuda com a serotonina e a permissão de compartilhar junto com seus alunos de seus seminários, além da oportunidade de ter sido aluna de uma excelente professora do Programa de Pós-Graduação.

A todos os professores deste Programa de Pós-Graduação.

Ao Centro Universitário de Vila Velha – UVV pela sua contribuição e incentivo à pesquisa, fundamentais para concretizar esse estudo.

A todos os colegas de pós-graduação.

Aos meus colegas da graduação e a todos que por muitas vezes não pude compartilhar a companhia, devido estar envolvida nesse projeto.

A todos os meus mestres da graduação do curso de Farmácia e Bioquímica da UFES que com certeza contribuíram para esse momento.

## SUMÁRIO

	Página
Lista de Tabelas	9
Lista de Figuras	10
Lista de Abreviaturas e/ou Siglas	11
RESUMO	12
ABSTRACT	14
<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>16</b>
1.1 ASPECTOS FISIOLÓGICOS DA TESTOSTERONA	16
1.2 ESTRUTURA QUÍMICA E BIOTRANSFORMAÇÃO DA TESTOSTERONA E DO DECANOATO DE NANDROLONA	17
1.3 MECANISMO DE AÇÃO DA TESTOSTERONA E DOS EAA	19
1.4 DN E EFEITOS CARDIOVASCULARES	21
<b>2 OBJETIVOS</b>	<b>26</b>
2.1 OBJETIVO GERAL	26
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>27</b>
3.1 ANIMAIS EXPERIMENTAIS	27
3.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS	27
3.3 PROTOCOLO EXPERIMENTAL	27
3.4 PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS E REGISTROS HEMODINÂMICOS	28
3.5 TRATAMENTO E ADMINISTRAÇÃO DO ESTERÓIDE ANABÓLICO ANDROGÊNICO	29
3.6 AVALIAÇÃO DO REFLEXO BEZOLD-JARISCH	29
3.7 AVALIAÇÃO DO PESO CORPORAL	30
3.8 AVALIAÇÃO DA HIPERTROFIA CARDÍACA E PESO DAS VÍSCERAS	30
3.9 AVALIAÇÃO DOS EFEITOS ANABÓLICOS DO DECANOATO DE NANDROLONA	30
3.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA	31



<b>4 RESULTADOS</b>	32
4.1 DADOS HEMODINÂMICOS	32
4.2 AVALIAÇÃO DO REFLEXO BEZOLD-JARISCH (RBJ)	34
4.3 PESO CORPORAL E AVALIAÇÃO DO EFEITO ANABÓLICO DO DECANOATO DE NANDROLONA	37
<b>4.4 AVALIAÇÃO DA HIPERTROFIA CARDÍACA, RENAL, DO FÍGADO E DA PRÓSTATA AVALIAÇÃO DA HIPERTROFIA CARDÍACA, RENAL, DO FÍGADO E DA PRÓSTATA</b>	38
<b>5 DISCUSSÃO E CONCLUSÃO</b>	41
<b>6 REFERÊNCIAS</b>	59

## Lista de Tabelas

	Página
<b>Tabela 1.</b> Influência do tratamento crônico com o Decanoato de Nandrolona (DN) sobre a pressão arterial media (PAM) e frequência cardíaca (FC).	32
<b>Tabela 2.</b> Percentual de queda reflexa da pressão arterial diastólica (PAD) induzida por doses crescentes de serotonina (5-HT) nos ratos controle (CON) e tratados com decanoato de nandrolona (DECA).	34
<b>Tabela 3.</b> Percentual de queda reflexa da frequência cardíaca (FC) induzida por doses crescentes de serotonina (5-HT) nos ratos controle (CON) e tratados com decanoato de nandrolona (DECA).	34
<b>Tabela 4.</b> Peso corporal inicial (PCI), peso corporal final (PCF), teor de proteína corporal total (PCT) e teor de lipídio corporal total (LCT) dos animais controle (CON) e tratados com decanoato de nandrolona (DECA) após oito semanas.	37
<b>Tabela 5.</b> Relação do peso úmido do ventrículo direito (VD), ventrículo esquerdo (VE), rins, fígado (FÍG), próstata (PROST) e adrenais (ADRE), pelo peso corporal (PC) dos grupos controle (CON) e tratados com decanoato de nandrolona (DECA).	38
<b>Tabela 6.</b> Relação do peso seco do ventrículo direito (VD), ventrículo esquerdo (VE), rins, fígado (FÍG) e próstata (PROST), pelo peso corporal (PC) dos grupos controle (CON) e tratados com decanoato de nandrolona (DECA).	39

## Lista de Figuras

	Página
<b>Figura 1.</b> Valores basais da pressão arterial média (PAM) do grupo controle (CON) e do grupo tratado (DECA) após oito semanas de tratamento com decanoato de nandronola. ** $p < 0,01$ quando comparado ao grupo controle (CON).	33
<b>Figura 2.</b> Valores basais da frequência cardíaca (FC) do grupo controle (CON) e do grupo tratado (DECA) após oito semanas de tratamento com decanoato de nandronola.	33
<b>Figura 3.</b> Avaliação do reflexo Bezold-Jarisch através da queda da pressão arterial diastólica (PAD) frente à administração intravenosa de serotonina no grupo controle (CON) e no grupo tratado (DECA), após oito semanas de tratamento com decanoato de nandronola. ** $p < 0,01$ quando comparado ao grupo controle (CON).	35
<b>Figura 4.</b> Avaliação do reflexo Bezold-Jarisch através da queda da frequência cardíaca (FC) frente à administração intravenosa de serotonina no grupo controle (CON) e no grupo tratado (DECA), após oito semanas de tratamento com decanoato de nandronola. ** $p < 0,01$ e * $p < 0,05$ quando comparado ao grupo controle (CON).	36
<b>Figura 5.</b> Efeito do tratamento com doses suprafisiológicas de decanoato de nandrolona sobre as câmaras cardíacas úmidas. Painel A: relação ventrículo direito (VD)/peso corporal (PC). Painel B: relação ventrículo esquerdo (VE)/PC. ** $p < 0,01$ e * $p < 0,05$ quando comparado ao grupo controle (CON).	39
<b>Figura 6.</b> Efeito do tratamento com doses suprafisiológicas de decanoato de nandrolona sobre as câmaras cardíacas secas. Painel A: relação ventrículo direito (VD)/peso corporal (PC). Painel B: relação ventrículo esquerdo (VE)/PC. ** $p < 0,01$ e * $p < 0,05$ quando comparado ao grupo controle (CON).	40

## Lista de Abreviaturas e/ou Siglas

5HT: Serotonina  
CON: Grupo controle  
DECA: Grupo tratado  
DHT: 5 $\alpha$ -diidrotestosterona  
DN: Decanoato de nandrolona  
EAA: Esteróides anabólicos androgênicos  
ECA: Enzima Conversora de Angiotensina  
FC: Frequência cardíaca  
LCT: Lipídio corporal total  
PA: Pressão Arterial  
PAD: Pressão arterial diastólica  
PAM: Pressão Arterial Média  
PCT: Proteína corporal total  
PNA: peptídio natriurético atrial  
RA: Receptores de androgênios  
RBJ: Reflexo Bezold-Jarisch  
RE: Receptor de estrogênio  
RNAm: Ácido ribonucléico mensageiro  
SHR: Ratos espontaneamente hipertensos  
SNC: Sistema Nervoso Central  
SRA: Sistema renina angiotensina  
VD: Ventrículo direito  
VE: Ventrículo esquerdo

## RESUMO

Os esteróides anabólicos androgênicos (EAA) são utilizados em diversas condições clínicas. Entretanto, o mau uso do EAA é comum e não está limitado a atletas profissionais, mas a maioria do abuso por EAA ocorre entre atletas amadores e recreacionais e, até não atletas.

**Objetivo:** investigar a influência do tratamento com EAA no controle da frequência cardíaca (FC) mediada pelo reflexo Bezold-Jarisch (RBJ) e, se esse tratamento induz hipertrofia cardíaca e efeitos anabólicos nos ratos.

**Métodos:** ratos machos foram tratados com decanoato de nandrolona (DN; 10 mg/kg peso corporal/8 semanas; DECA) ou grupo controle (CON; veículo). Depois de oito semanas o RBJ foi avaliado pela resposta bradicárdica produzida pela administração de serotonina (2 - 32  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). A pressão arterial média (PAM) foi avaliada e a hipertrofia cardíaca foi determinada pelo peso ventricular esquerdo ou direito/peso corporal (VE/PC; VD/PC, respectivamente). A quantidade de proteína corporal total dos animais foi realizada.

**Resultados:** tratamento com DN elevou a PAM dos animais DECA comparado ao grupo controle (CON =  $99 \pm 1$ ; DECA =  $109 \pm 2$  mmHg;  $p < 0.01$ ). Não houve alteração na média basal da FC nos animais DECA (CON =  $356 \pm 13$ ; DECA =  $367 \pm 11$  bpm). A razão VE/PC e VD/PC indicou hipertrofia significativa no VE e VD nos animais DECA (CON =  $1.86 \pm 0.04$ , DECA =  $2.17 \pm 0.04$ ,  $p < 0.01$ ; CON =  $0.42 \pm 0.02$ , DECA =  $0.53 \pm 0.03$   $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,  $p < 0.05$ ; respectivamente). O teor de proteína corporal total foi maior no grupo DECA comparados com os ratos controle (CON =  $18.2 \pm 1\%$ , DECA =  $28.0 \pm 1\%$ ;  $p < 0.01$ ). Nas duas últimas doses de serotonina o controle RBJ pela FC foi significativamente prejudicado nos ratos DECA (CON =  $-61 \pm 4\%$  e  $-76 \pm 3\%$ ; DECA =  $-47 \pm 4\%$  e  $-66 \pm 3\%$ ;  $p < 0.01$  e  $p < 0.05$ , respectivamente).

**Conclusão:** o tratamento de oito semanas com DN induz efeito anabólico, hipertrofia cardíaca e aumento da PAM nos ratos DECA. O tratamento reduziu a sensibilidade

do controle RBJ mediado pela bradicardia que pode ser explicada pela presença da hipertrofia cardíaca ou aumento da PAM nos animais DECA.

## ABSTRACT

While there clinical applications of anabolic-androgenic steroids (AAS), the misuse of AAS is widespread and is not limited to competitive athletes but the majority of AAS abusers are noncompetitive recreational bodybuilders and even nonathletes.

**Objective:** we investigated the influence of treatment with an AAS on the Bezold-Jarisch reflex (BJR) control of heart rate (HR) and whether this treatment induced cardiac hypertrophy and anabolic effects in rats.

**Methods:** male rats were treated with nandrolone decanoate (ND; 10 mg.Kg<sup>-1</sup> body weight/8 wks; DECA) or vehicle control (CON). After 8 wks, the BJR was evaluated by bradycardia responses elicited by serotonin administration (2-32 µg.Kg<sup>-1</sup>). Mean arterial pressure (MAP) was assessed and cardiac hypertrophy was determined by the left or right ventricle weight/body weight (LVW/BW; RVW/BW; respectively). The measurement of the total body protein content of the animals was performed.

**Results:** ND treatment determined an elevation of the MAP of DECA animals compared with CON group (CON = 99 ± 1; DECA = 109 ± 2 mmHg; p<0.01). There was no change in the mean basal HR of DECA animals (CON = 356 ± 13; DECA = 367 ± 11 bpm). The LVW/BW and RVW/BW ratios indicated significant hypertrophy of the LV and RV in DECA animals (CON = 1.86 ± 0.04, DECA = 2.17 ± 0.04, p<0.01; CON = 0.42 ± 0.02, DECA = 0.53 ± 0.03 mg.g<sup>-1</sup>, p<0.05; respectively). Total body protein content was enhanced in DECA group compared with CON rats (CON=18.2 ± 1%, DECA = 28.0 ± 1%; p<0.01). In the last two doses of serotonin the BJR control of HR was significantly blunted in DECA rats compared with CON group (CON = -61 ± 4% and -76 ± 3%; DECA = -47 ± 4% and -66 ± 3%; p<0.01 and p<0.05, respectively).

**Conclusions:** We conclude that 8-wks ND treatment induces an anabolic effect, cardiac hypertrophy and an elevation of the MAP in DECA rats. The treatment

reduces the sensitivity of the BJR control of bradycardia, what could be explained by the presence of a cardiac hypertrophy and/or an elevated MAP in DECA animals.



## 1 INTRODUÇÃO

Esteróides anabólicos androgênicos (EAA) são derivados sintéticos da testosterona que exibem uma maior potência anabólica com reduzida atividade androgênica (Shahidi, 2001; Maravelias et al., 2005). Esses são utilizados em diversas condições clínicas, embora, desde a década de 50 são utilizados entre atletas para melhorar o desempenho físico. Entretanto, o abuso de EAA não está limitado a atletas de elite, mas também é comum entre muitos atletas amadores e recreacionais, que usam essas drogas com objetivo maior de melhorar a estética do que o desempenho no esporte (Hartgens & Kuipers, 2004). Além disso, dados obtidos através da aplicação de questionários pela Internet, revelaram que quatro de cinco usuários anônimos de EAA são não atletas que fazem uso de grandes doses de EAA obtidos de forma ilegal, com a intenção de melhorar somente a aparência física (Parkinson & Evans, 2006). Em adição, estimativas indicam que são mais de 3 milhões de usuários de EAA nos EUA e que 2,7% a 2,9% de adultos jovens americanos usaram EAA pelo menos uma vez na vida, no qual o decanoato de nandrolona (DN) é um dos mais freqüentemente consumido (NIDA, 2000).

O abuso de EAA virou questão de saúde pública (Payne et al., 2004) e, nos últimos anos, atenção especial tem sido dada para o papel de EAA no desenvolvimento de alterações cardiovasculares, com dados apontando para a ocorrência de hipertensão, insuficiência cardíaca, cardiomiopatias, arritmias e morte súbita cardíaca, no qual, esses efeitos adversos parecem depender da relação temporal de uso (Kennedy & Lawrence, 1993; Sullivan et al., 1998; Fineschi et al., 2001; Liu et al., 2003).

### 1.1 ASPECTOS FISIOLÓGICOS DA TESTOSTERONA

Desde que a testosterona foi isolada, sintetizada e caracterizada em 1935 por vários estudos independentes na Europa, diversas pesquisas se desenvolveram na tentativa de esclarecer seus efeitos biológicos (Shahidi, 2001; Maravelias et al., 2005). A testosterona é o principal hormônio sexual masculino sintetizado nos

testículos, embora possa ser sintetizada, em menor quantidade, pelo córtex da supra-renal em ambos os sexos. Todavia, é metabolizada a outros esteróides ativos nos tecidos periféricos. Dessa forma, a ação da testosterona é a soma da ação da própria testosterona, do androgênio  $\alpha$ -reduzido diidrotestosterona, que agem sobre receptores de androgênios e, dos metabólitos estrogênicos que agem sobre receptores estrogênicos (Liu et al., 2003; Hartgens & Kuipers, 2004).

A testosterona exerce efeitos androgênicos e anabólicos em tecidos de órgãos reprodutores e não reprodutores (Shahidi, 2001; Maravelias, et al., 2005). Os efeitos androgênicos são responsáveis pelo crescimento do aparelho reprodutor masculino e o desenvolvimento das características sexuais secundárias. Já os efeitos anabólicos estimulam a fixação de nitrogênio, aumento da síntese protéica e inibição da degradação protéica (Shahidi, 2001; Hartgens & Kuipers, 2004), diminuição de gordura corporal, aceleração do crescimento dos ossos antes do fechamento da epífise, aumento da densidade óssea, estimulação da eritropoiese, aumento da área do coração, fígado e rins (Hall & Hall, 2005).

O valor potencial terapêutico da atividade anabólica da testosterona em várias situações catabólicas, como no hipogonadismo, anemia, osteoporose associado ao hipogonadismo, tem levado a síntese de muitos derivados, mais apropriadamente chamados de esteróides anabólicos androgênicos (EAA). Esses são desenvolvidos com objetivo de prolongar a atividade biológica em relação a atividade da testosterona *in vivo*, além de possuírem menor atividade androgênica e maior atividade anabólica (Shahidi, 2001; Maravelias, et al., 2005).

## 1.2 ESTRUTURA QUÍMICA E BIOTRANSFORMAÇÃO DA TESTOSTERONA E DO DECANOATO DE NANDROLONA

A testosterona tem estrutura química derivada do ciclo pentanoperidrofenantreno e contém 19 átomos de carbono em sua molécula. Apresenta radical metil na posição C10 e C13, um grupo cetônico na posição C3 e uma hidroxila na posição C17. O primeiro passo do metabolismo da testosterona é a redução do C4,5 na dupla ligação, resultando na formação de derivados 5 $\alpha$ -diidrotestosterona (DHT) com ação

androgênica e 5 $\beta$ -diidrotestosterona sem ação androgênica, no qual o hidrogênio no C5 estão acima e abaixo da molécula planar, resultando em diferentes conformações espaciais (Shahidi, 2001).

A 5 $\alpha$ -DHT é sintetizada pela ação da 5 $\alpha$ -redutase no órgão alvo, como no cérebro e órgão reprodutores, e é o principal metabólito da testosterona. A 5 $\alpha$ -DHT possui uma afinidade maior pelo receptor de androgênio, transforma-se mais rapidamente no complexo hormônio receptor que se dissocia mais lentamente do receptor do que a testosterona. Os derivados 5 $\beta$  esteróides são formados no fígado pela ação da 5 $\beta$ -redutase (Shahidi, 2001).

A redução da dupla ligação em C4,5 é irreversível. Dessa forma, a molécula da testosterona e alguns de seus derivados sintéticos com insaturações em C4,5 podem ser convertidos em estradiol pela ação da enzima aromatase, presente em tecidos como nos adipócitos e cérebro. Já a DHT e outros derivados 5 $\alpha$  sintéticos não podem sofrer essa conversão (Shahidi, 2001).

Outro importante metabólito da via do metabolismo da testosterona é a oxidação do grupo 17 $\beta$ -hidroxi. Neste passo reversível, que é mediado pela 17 $\beta$ -hidroxi desidrogenase, 17-ceto metabólitos são formados, a androsterona e a eticolanolona, que são os principais metabólitos urinários da testosterona. Assim, a administração oral ou parenteral de derivados 17 $\beta$ -hidroxilados é rapidamente oxidada para metabólitos polares biologicamente inativos (Shahidi, 2001).

A substituição do grupo metil no C19 pelo hidrogênio resultou na formação do 19-nortestosterona (nandrolona). A nandrolona foi sintetizada entre 1950 a 1953. A esterificação do grupo 17-hidroxi da nandrolona com ácido decanóico, um ácido graxo de cadeia longa, produziu o decanoato de nandrolona (DN), que é liberado na circulação lentamente após a administração profunda intramuscular e exerce ótima atividade anabólica durante seis a sete dias. Devido a insaturação entre C4,5, os derivados da 19-nortestosterona tem significativamente baixa atividade androgênica comparada com ésteres de testosterona. Por sua vez, a substituição de grupo metil no C19 pelo hidrogênio é responsável pela criação de um novo centro assimétrico no C10, que pode ser responsável pela razão anabólica/androgênica favorável da

droga. O metabolismo da nandrolona é similar ao da testosterona, e seus principais metabólitos são 3-norandrosterona,  $5\alpha$  derivados,  $5\beta$  derivados e 2-noreticolanolona (Shahidi, 2001). Estudos *in vitro* mostraram que nandrolona, assim como a testosterona endógena, pode ser aromatizada (Gaillard & Silberzahn, 1987). De fato, estudo realizado com ratos que receberam altas doses de DN por seis semanas tiveram os níveis de  $17\beta$ -estradiol superiores aos animais controle (Takahashi et al., 2004).

### 1.3 MECANISMO DE AÇÃO DA TESTOSTERONA E DOS EAA

Está claro que os androgênios influenciam nos processos reprodutivos, cardiovasculares, na hipertrofia muscular, no metabolismo ósseo, na função cognitiva e comportamento, apesar dos mecanismos de ação ainda não serem totalmente compreendidos (Maravelias, et al., 2005).

Os esteróides androgênicos são moléculas lipofílicas, que atravessam facilmente a membrana plasmática (Hall & Hall, 2005). Dessa forma, o mecanismo clássico de ação dos androgênios, também chamado de mecanismo genômico, se dá através da ligação a receptores de androgênios (RA) intracelulares que estão presentes tanto no aparelho reprodutor como também em muitos tecidos que não fazem parte dos órgãos sexuais, incluindo ossos, tecidos musculares, cérebro, próstata, fígado, rins e adipócitos. Os androgênios sintéticos ligam-se aos mesmos receptores da testosterona e DHT (Shahidi, 2001).

Quando o androgênio se liga ao seu receptor intracelular forma-se o complexo androgênio-RA que se desloca ao núcleo. No núcleo, o complexo se liga ao DNA nuclear em uma região específica denominada elementos de resposta ao hormônio androgênico (ERA). Esta interação promove a transcrição ou a repressão de certos genes. Embora, os androgênios circulem por todo o corpo, os fatores responsáveis pela variação da sensibilidade androgênica nos tecidos precisam ser elucidados (Liu et al., 2003).

Por outro lado, o mecanismo de ação dos EAA pode diferir entre os compostos devido às variações das moléculas dos esteróides. Essas variações são responsáveis pelas diferenças na especificidade de ligação ao receptor de androgênio ou da interação com várias enzimas que realizam o metabolismo dos esteróides. Alguns EAA apresentam maior afinidade aos RA (ex: 19-nortestosterona e metenolona), enquanto outros EAA possuem baixa afinidade aos RA sendo, portanto, substâncias androgênicas fracas (ex, estonozolol e fluoxymetolona) (Hartgens & Kuipers, 2004; Maravelias, et al., 2005).

Além disso, os EAA podem sofrer ação das aromatases, que são enzimas intracelulares responsáveis pela conversão dos EAA em estradiol e estrona. Esses hormônios femininos ligam-se a receptores de estrogênios intracelulares que serão inseridos no DNA que levarão à produção de proteínas e a respostas fisiológicas estrogênicas. Contudo, esse mecanismo somente será ativado quando os RA estiverem saturados pelos androgênios circulantes e esteróides anabólicos. Dessa forma, os EAA podem ter uma ação antagônica pela transformação a estrogênio quando níveis suprafisiológicos no soro de EAA estão presentes. Contudo, os resultados dessas duas conflitantes vias não são conhecidos (Hartgens & Kuipers, 2004).

Efeitos não-genômicos têm sido descritos para esteróides, incluindo androgênios. Esses efeitos são caracterizados com respostas rápidas comparadas as respostas genômicas lentas, onde a inibição do RNAm não interfere na resposta e não são usualmente bloqueados por antagonistas clássicos de receptores intracelulares. Assim como nos outros esteróides, efeitos androgênicos não-genômicos envolvem ligação a receptores de membrana que levam a síntese de segundo mensageiro que ativa a cascata de transdução de sinais (Liu et al., 2003).

Outro mecanismo para ação anabólica dos EAA também é descrito na literatura. Devido existir um limitado número de RA, que são freqüentemente saturados em machos que têm níveis fisiológicos normais de testosterona, tem sido hipotetizado que um mecanismo secundário exista para que os EAA promovam um balanço de nitrogênio positivo quando estão em excesso (Hall & Hall, 2005). Os EAA competem pelos receptores de glicocorticosteróide, causando um efeito anti-catabólico por

bloquear os efeitos do glicocorticosteróide. O cortisol é secretado quando o corpo passa por estresse, como no exercício físico, e o bloqueio de sua ação catabólica pelo excesso de EAA pode aumentar a massa muscular (Liu et al., 2003; Hall & Hall, 2005). Entretanto, recentes estudos demonstram que RA podem ser supra expressados por exposição a EAA e que o número de RA está aumentado durante exercícios de resistência (Carson et al., 2002; Evans, 2004).

Há relatos na literatura que os EAA também exercem efeitos no SNC, uma vez que essas substâncias foram reportadas serem capazes de aumentar o intelecto e gerar euforia e comportamento agressivo (Liu et al., 2003; Hall & Hall, 2005). Adicionalmente, Tamaki e colaboradores observaram que a melhora do desempenho físico após o uso EAA, em ratos tratados com DN, coincidiu com aumento de aminas adrenérgicas e serotoninérgicas no hipotálamo, levando esses pesquisadores a acreditar que esses níveis elevados podem contribuir para um comportamento agressivo e melhora do desempenho físico (Tamaki et al., 2003).

Como o DN foi o hormônio escolhido para o nosso trabalho e o RBJ, por sua vez, foi o reflexo cardiovascular estudado faremos um breve resumo sobre eles. Adicionalmente, também falaremos da relação entre os EAA e os reflexos cardiovasculares.

#### 1.4 DN E EFEITOS CARDIOVASCULARES

O DN, um androgênio anabólico sintético que exibe grande potência anabólica, baixa degradação hepática e é administrado por via parenteral intramuscular, é utilizado em diversas condições clínicas, assim como outros EAA, como estimulantes da eritropoiese e no hipogonadismo associado ou não a osteoporose. Contudo essas drogas não estão livres de efeitos adversos (Shahidi, 2001). Além disso, atletas, fisiculturistas, atletas recreacionais e não atletas que fazem uso abusivo de EAA administram altas doses desses EAA aumentando a probabilidade de ocorrência de efeitos adversos. De fato, os efeitos adversos causados pelos EAA são dose, tempo e tipo de EAA dependentes (Maravelias et al., 2005).

Os efeitos adversos cardiovasculares do abuso de EAA tem sido extensivamente estudados e esses efeitos incluem infarto do miocárdio, hipertensão, arritmia, insuficiência cardíaca, embolismo pulmonar, ataque e morte súbita cardíaca (Liu et al., 2005). Entretanto, os mecanismos e os riscos do desenvolvimento de alterações cardiovasculares devido à administração de doses suprafisiológicas de EAA não foram esclarecidos.

Em relação aos reflexos cardiovasculares, é sabido que os mesmos são fundamentais para a homeostasia do organismo, haja vista que, a manutenção de níveis pressóricos adequados é de grande importância para o fornecimento de um fluxo sanguíneo ideal, através de boa pressão de perfusão aos tecidos, de acordo com suas necessidades metabólicas (Vasquez, 1994). Mecanismos reflexos neurais que exercem seus efeitos promovendo alterações em parâmetros hemodinâmicos tais como, frequência cardíaca, pressão arterial e resistência vascular periférica, medeiam os ajustes rápidos realizados sobre o sistema cardiovascular. Esses reflexos podem, ainda, alterar os níveis circulantes de vários fatores humorais que influenciam a regulação do sistema cardiovascular através de suas ações periféricas e centrais (Brody et al., 1980).

O controle neural da circulação é mediado por reflexos arteriais e cardiopulmonares que detectam e corrigem modificações na pressão arterial, volume sanguíneo e alterações na composição química do sangue (Vasquez, 1994).

O reflexo cardiovascular mais extensivamente estudado em diversas condições fisiopatológicas e inclusive com o uso de androgênios (El-Mas et al., 2001; Beutel et al., 2005; Ward et al., 2005; Ward et al., 2006) é aquele ativado através dos barorreceptores arteriais. A função barorreflexa tem como meta principal promover uma estabilização rápida e eficiente da pressão arterial a cada batimento cardíaco, o que é possível graças à estratégica localização destes sensores arteriais, no seio carotídeo e no arco aórtico, os quais são sensíveis aos níveis de pressão elevados. (Mark et al., 1988, Vasquez et al., 1992; Vasquez et al., 1997).

Os barorreceptores arteriais são capazes de se adaptar a diversos níveis de PA, o que via de regra acontece devido ao estiramento e ativação dos barorreceptores por uma

elevação mantida da PA, o que pode ocorrer de forma aguda ou crônica. Define-se essa adaptação dos barorreceptores como um aumento do limiar de pressão que é necessário para a ativação do baroreceptor sendo expressa por meio de um deslocamento para a direita da relação pressão-atividade após exposição a valores elevados e mantidos de pressão arterial. Esse fenômeno capacita estes receptores para a regulação da pressão arterial em níveis de pressão elevados. (Krieger et al., 1982). Apesar da capacidade de adaptação dos barorreceptores aos níveis de pressão arterial, a disfunção da atividade baroreceptora tem sido reportada na hipertensão arterial e em outras desordens cardiovasculares ( Zanchetti & Mancia, 1991).

Os reflexos cardiopulmonares são, também, de extrema importância na regulação da pressão arterial. Dentre os reflexos cardiopulmonares, destacamos o RBJ, que é um reflexo ativado principalmente por receptores ventriculares, mais especificamente o ventrículo esquerdo. A inervação aferente consiste principalmente de fibras do tipo C, não mielinizadas, podendo em menor extensão ser também do tipo mielinizada, ambas vagais (Paintel, 1955; Krayer, 1961; Coleridge et al., 1964; Muers & Sleight, 1972). A via eferente envolve um aumento da atividade do nervo vago e diminuição do tônus simpático para os vasos da periferia (Thorén, 1979) e nervo renal (DiBona, 1989).

Várias substâncias são descritas como sendo capazes de ativar estas terminações quimiossensíveis, as quais, são capazes de estimular especificamente aferências vagais não mielinizadas, sendo elas, a bradicinina, as prostaglandinas, a serotonina e a fenilbiguanida (Salmoiraghi et al., 1956; Krayer, 1961; Coleridge et al., 1964 e Fozard, 1982).

Estudos realizados em animais e humanos mostraram que o controle reflexo da circulação depende não somente dos barorreceptores arteriais, mas também e, em grande extensão, dos receptores localizados na região cardiopulmonar (Zanchetti & Mancia, 1991). Animais que sofreram desnervação sinoaórtica apresentaram uma maior labilidade da PAM, entretanto, ocorre elevação da pressão arterial devido à constrição dos vasos de resistência e redução da capacitância venosa, quando esses animais são submetidos à secção do vago, o que indica que as aferências vagais que inervam a região cardiopulmonar exercem uma inibição tônica sobre o



fluxo simpático eferente para os vasos da periferia (Mancia et al., 1973; Mancia & Donald, 1975).

Outro aspecto é a influência de fatores humorais sobre o comportamento dos reflexos cardiopulmonares, dentre os quais o peptídeo natriurético atrial (PNA) vem se tornando cada vez mais evidente, principalmente no que concerne ao controle reflexo da frequência cardíaca (Imaizumi & Takeshita, 1993; Lang & Struthers, 1992; Clemo et al., 1996). A administração de PNA intravenosamente melhora a resposta de bradicardia reflexa quando os receptores cardiopulmonares são ativados em ratos normotensos (Thomas et al., 1997). Todavia, em ratos espontaneamente hipertensos, o efeito positivo do PNA está reduzido, o que parece estar correlacionado com a hipertrofia cardíaca desenvolvida por esses animais, haja vista que após tratamento farmacológico onde ocorreu redução dos níveis pressóricos e do nível de hipertrofia ventricular esquerda, a influência do PNA sobre as respostas vagais reflexas tornou-se novamente evidente, ao passo que quando houve redução exclusiva da pressão arterial não se conseguiu observar o mesmo comportamento (Thomas et al., 1998).

Os reflexos cardiovasculares sofrem processos de adaptação em diversas doenças cardiovasculares, como hipertensão, infarto agudo do miocárdio e insuficiência cardíaca (Meyrelles et al., 1996; Meyrelles et al., 1997; Bissoli et al., 2000; Uggere et al., 2000; Ando et al., 2002; Rocha et al., 2003; Andrade et al., 2007a). Entretanto, os dados com relação ao comportamento desses reflexos frente à modulação pelos androgênios, ainda são pouco explorados, justificando estudos a respeito da sensibilidade dos reflexos cardiovasculares na ausência desses hormônios, em níveis fisiológicos ou em doses suprafisiológicas em diferentes tempos de exposição.

Vários trabalhos têm demonstrado haver alterações nos componentes reflexo de controle do sistema cardiovascular, principalmente com relação ao barorreflexo arterial, sobre influência dos androgênios. El-Mas e colaboradores mostraram que animais, ratos machos, castrados têm a função bradicárdica mediada pelo barorreflexo arterial prejudicada, contudo, após a reposição desses hormônios em níveis fisiológicos o reflexo recupera sua sensibilidade (El-Mas et al., 2001). Esses dados foram confirmados por outros estudos que acrescentaram o fato de essa

modulação da testosterona sobre o barorreflexo ser mediado por receptores de androgênios e excluem a possibilidade de ser devido à ação da aromatase, via ação estrogênica (El-Mas et al., 2002; Ward & Abdel-Rahman, 2005; Ward & Abdel-Rahman, 2006).

Já o estudo de Beutel e colaboradores avaliou a sensibilidade do barorreflexo via resposta bradicárdica, após ratos serem tratados com doses supra fisiológicas de EAA, mostrando um prejuízo do reflexo após oito semanas de tratamento (Beutel et al., 2005).

Embora alguns estudos tenham brevemente explorado a função barorreflexa, não há registros sobre a influência da administração de EAA na sensibilidade de reflexos cardiopulmonares, exceto em nosso trabalho anterior, no qual o curto tempo de tratamento com DN não prejudicou o RBJ (Andrade et al., 2007b). Entretanto, sabemos que hipertrofia cardíaca é uma mudança morfológica conhecida induzida pelos EAA (Urhausen et al., 1989; Trifunovic et al., 1995; Beutel et al., 2005; Urhausen et al., 2004; Toit et al., 2005; Pereira-Júnior et al., 2006), até mesmo em condições sedentárias (Beutel et al., 2005; Pereira-Júnior et al., 2006; Andrade et al., 2007) e, devido à hipertrofia ser conhecida por influenciar negativamente o ganho dos receptores cardiopulmonares (Vasquez et al., 1993; Meyrelles et al., 1998; Bissoli et al., 2000; Uggere et al., 2000; Andrade et al., 2007a), resolvemos investigar se há alguma associação entre a hipertrofia induzida pelo EAA e prejuízo do RBJ após tratamento de oito semanas com doses supra fisiológicas de DN.

Dessa forma, no presente estudo, examinamos a influência do tratamento crônico com doses supra fisiológicas de EAA sobre parâmetros hemodinâmicos, no controle reflexo da PA e FC pelo reflexo Bezold-Jarisch, na hipertrofia de órgãos e na existência de efeito anabólico por meio da medida do teor de proteína e lipídios corporal total dos animais.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o comportamento do reflexo Bezold-Jarisch após a administração crônica (8 semanas) de altas doses de decanoato de nandrolona (10 mg/Kg/semana) em ratos sedentários.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar o efeito do tratamento proposto sobre os parâmetros de hemodinâmica cardiovascular, tais como, pressão arterial média e frequência cardíaca;
- Investigar o comportamento do reflexo cardiopulmonar quimio-sensível (Bezold-Jarisch) através das alterações ocasionadas pela porcentagem de queda da frequência cardíaca (FC) e pressão arterial diastólica (PAD), após a administração de doses randomizadas de serotonina;
- Avaliar os efeitos do tratamento crônico de altas doses de decanoato de nandrolona sobre a hipertrofia do coração, rins, fígado e próstata;
- Verificar a existência de efeitos do tratamento crônico sobre o peso corporal dos animais;
- Verificar a existência de efeito anabólico por meio da medida do teor PCT e LCT dos animais.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 ANIMAIS EXPERIMENTAIS

Foram utilizadas ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), machos com três meses e com peso corporal variando entre (250-350 g). Esses animais foram fornecidos pelo Biotério de Pesquisa do Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal do Espírito Santo.

Os animais foram mantidos em ambiente com iluminação artificial (ciclo claro-escuro de 12h) e temperatura de 20-25° C de acordo com o recomendado pelos biotérios de pesquisa (FINEP). As gaiolas individuais permitiam o livre acesso dos animais à ingestão de água e ração (ração Probiotério, Moinho Primor, S.A) *ad libitum*.

#### 3.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os animais foram divididos em dois grupos experimentais:

- Grupo controle (CON, n= 8): os animais receberam semanalmente apenas veículo (óleo de amendoim com álcool benzílico, 90:10, v/v) por via intramuscular, no músculo femoral, durante oito semanas de tratamento;
- Grupo tratado (DECA, n=8): os animais receberam semanalmente decanoato de nandrolona (DN; Deca Durabolin®, São Paulo – SP, Organon Inc.) na dose 10 mg/Kg de peso corporal por via intramuscular, no músculo femoral, durante oito semanas de tratamento.

#### 3.3 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Os animais foram pesados e colocados em gaiolas individuais com livre acesso à água e ração. O grupo tratado (DECA) recebeu semanalmente DN (10mg /Kg de peso corporal) e o grupo controle (CON) recebeu o veículo. O tratamento foi feito semanalmente, por via intramuscular, mais precisamente no músculo femoral,

durante oito semanas. Os experimentos foram realizados uma semana após a última administração do esteróide e do veículo.

Todos os animais foram pesados semanalmente. Uma semana após a administração da última dose, os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico (Hypnol, Cristália, Brasil) 50 mg/kg, i.p., para possibilitar o cateterismo da artéria e veia femoral. No mínimo doze horas depois foram realizados os registros hemodinâmicos basais de PAM e FC. Em seguida, cinco doses randomizadas de serotonina (2 µg/Kg; 4 µg/Kg; 8 µg/Kg; 16 µg/Kg; 32 µg/Kg por peso corporal) foram administradas *in bolus* no cateter conectado a veia femoral, para a avaliação do reflexo cardiovascular Bezold-Jarisch. Dados das variações da pressão arterial distólica (PAD) e da frequência cardíaca (FC) foram registrados e armazenados. Ao final do experimento, os ratos foram sacrificados por meio de injeção *in bolus* de anestésico, quando o coração, rins, fígado e próstata foram isolados para obtenção do peso úmido e peso seco. A carcaça do animal foi levada à estufa para posterior avaliação do teor PCT e LCT.

### 3.4 PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS E REGISTROS HEMODINÂMICOS

Dois cateteres de polietileno (Clay Adans, USA) foram previamente preparados para cada animal. Foram confeccionados pela conexão, através de aquecimento de um cateter PE 50, de 15 cm de comprimento, a um cateter PE 10, medindo 5 cm, os quais se destinaram à veia e à artéria femoral. Sob anestesia pelo pentobarbital sódico (Hypnol, Cristália, Brasil) 50 mg/kg, i.p., uma incisão na região inguinal, com posterior isolamento do plexo vaso-nervoso, possibilitou a cateterização da aorta e da veia cava inferior, via artéria e veia femoral, respectivamente. As terminações livres dos cateteres foram mantidas preenchidas com solução salina (0,9%) e ocluídas com pinos de aço inoxidável.

O cateter arterial femoral esquerdo foi conectado a transdutores de pressão (Spectramed – Statham, P23XL, USA) através de um cateter flexível, e os valores de registro da pressão arterial média (PAM), pulsátil (PAP) e FC foram obtidos através de um sistema computadorizado (Pentium MMX 233 MHz) e um programa para

aquisição de dados biológicos (BIOPAC – BIOPAC Systems, Inc., Santa Barbara, Califórnia, USA, mod. MP 100A/série 94111065). O cateter venoso femoral foi utilizado para infusão da droga necessária para estimular o reflexo.

### 3.5 TRATAMENTO E ADMINISTRAÇÃO DO ESTERÓIDE ANABÓLICO ANDROGÊNICO

O Decanoato de Nandrolona (DN; Deca Durabolin®, Organon Inc.) foi administrado semanalmente, por oito semanas, apenas no grupo tratado (DECA), na dose de 10 mg.Kg<sup>-1</sup> de peso corporal. A administração da droga foi realizada por via intramuscular na forma de rodízio, sendo uma semana no músculo femoral direito e na outra semana no músculo femoral esquerdo e assim por diante. O grupo CON foi submetido aos mesmos procedimentos, porém, apenas com a administração de volume equivalente do veículo (óleo de amendoim com álcool benzílico, 90:10, v/v).

As doses de DN administradas foram baseadas em estudos prévios em ratos, no qual, o tratamento com DN (10 mg/Kg de peso corporal semanal) foi efetivo (Trifunovic et al., 1995; Woodiwiss et al., 2000; Andrade et al., 2007b). A dose utilizada no presente estudo é equivalente à dose de abuso administrada em humanos (Trifunovic et al., 1995).

### 3.6 AVALIAÇÃO DO REFLEXO BEZOLD-JARISCH

O reflexo foi ativado quimicamente pela injeção intravenosa *in bolus* de cinco doses randomizadas de serotonina (2 µg/Kg; 4 µg/Kg; 8 µg/Kg; 16 µg/Kg; 32 µg/Kg por peso corporal). O reflexo foi identificado por reduções dose-dependente na frequência cardíaca (FC) e pressão arterial diastólica (PAD), simultaneamente, e foi avaliado através do valor relativo máximo de queda da FC e PAD após cada dose de serotonina (Bissoli et al., 2000; Andrade et al., 2007a).

### 3.7 AVALIAÇÃO DO PESO CORPORAL

Os animais foram pesados no início do tratamento (peso corporal inicial) e separados aleatoriamente em gaiolas individuais entre grupo tratado com DN (DECA) e grupo controle (CON). Os animais eram pesados semanalmente para administração da droga (DN 10 mg/kg) e tinham livre acesso à água e ração. Uma semana após a última dose de DN, os animais foram pesados pela última vez, no dia da realização do protocolo experimental, obtendo o peso corporal final desses animais.

### 3.8 AVALIAÇÃO DA HIPERTROFIA CARDÍACA E DAS VÍSCERAS

Ao fim do protocolo experimental os animais foram sacrificados por injeção in bouls de anestésico. O coração, os rins, o fígado e a próstata foram então isolados, lavados com solução fisiológica e o excesso de líquido foi removido com papel de filtro e em seguida foram pesados. O ventrículo direito (VD) foi separado do ventrículo esquerdo (VE) e o septo interventricular foi considerado parte do VE. A razão do peso ventricular pelo peso corporal (VE/PC ou VD/PC) foi usado como índice de hipertrofia cardíaca (Andrade et al., 2007a). Dessa forma, o índice de hipertrofia dos outros órgãos foi estimado e corrigido, dividindo o peso do tecido úmido (mg) pelo peso corporal do rato (g). Para obtenção do peso seco destes órgãos, esses foram colocados em estufa a temperatura de 100° C por 24 horas para eliminação da água. Após este procedimento, os órgãos foram novamente pesados e o índice de hipertrofia dos órgãos foram calculados dividindo o peso do tecido seco (mg) pelo peso corporal do rato (g).

### 3.9 AVALIAÇÃO DOS EFEITOS ANABÓLICOS DO DECANOATO DE NANDROLONA

O efeito anabólico foi determinado pela quantificação do teor de proteína corporal total (PCT) e do teor de lipídio corporal total (LCT). Ao final do experimento e após a retirada das vísceras que foram analisadas no estudo, as carcaças dos animais e o restante das vísceras não retiradas foram colocadas em estufa a temperatura de 100

°C por 24 horas para eliminação da água. Posteriormente, essas foram trituradas e homogeneizadas em gral com pistilo e em seguida pesadas. Os conteúdos de gordura e proteína totais foram determinados, a partir de uma amostra de cada animal posterior a trituração, através dos métodos de Soxhlet e de Kjeldahl modificado, respectivamente (FAO, 1970).

### 3.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). Para análise estatística dos valores basais de PAM e FC, peso corporal, peso das câmaras cardíacas, das vísceras, dos valores de hipertrofia cardíaca; os mesmos foram submetidos ao *Teste t student's* para amostras pareadas. Para análise estatística das mudanças na FC e PAD provocadas pela resposta do reflexo Bezold-Jarisch foi efetuada análise de variância de duas vias (ANOVA). A significância da diferença entre as médias foi determinada por um teste *post hoc* pelo método de Fisher, ajustado para múltiplas comparações, com significância aceita acima de 5% ( $p < 0,05$ ). Para análise estatística e apresentação gráfica dos resultados foram empregados os “softwares” GB-Stat (S.N.96003126) e Slide Write Plus (S.N.WSWP – C018529), respectivamente.



## 4 RESULTADOS

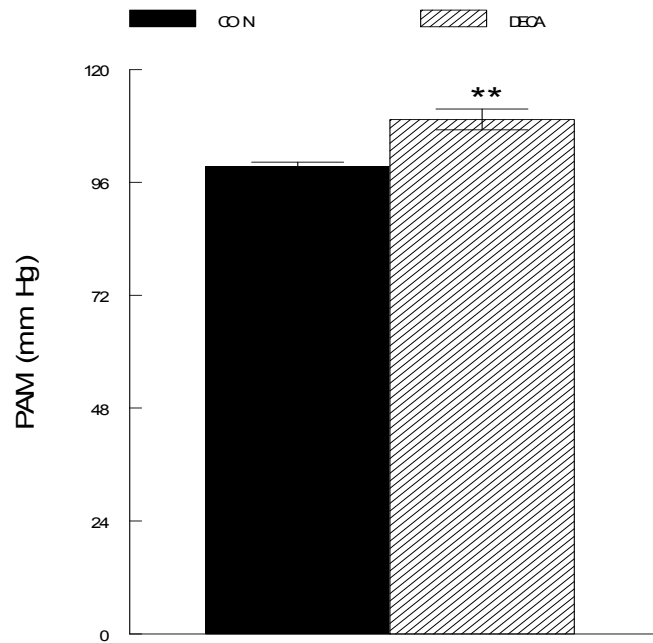
### 4.1 DADOS HEMODINÂMICOS

A tabela 1 e as figuras 2 e 3 apresentam os resultados da pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC), respectivamente, obtidos com ratos acordados, após receberem o tratamento crônico semanal com decanoato de nandrolona (DN). O tratamento crônico com DN elevou significativamente a PAM (tabela 1 e figura 1) nos animais tratados (grupo DECA). Entretanto, em relação à FC basal (tabela 1 e figura 2), não foram observadas diferenças significativas entre os grupos após o tratamento.

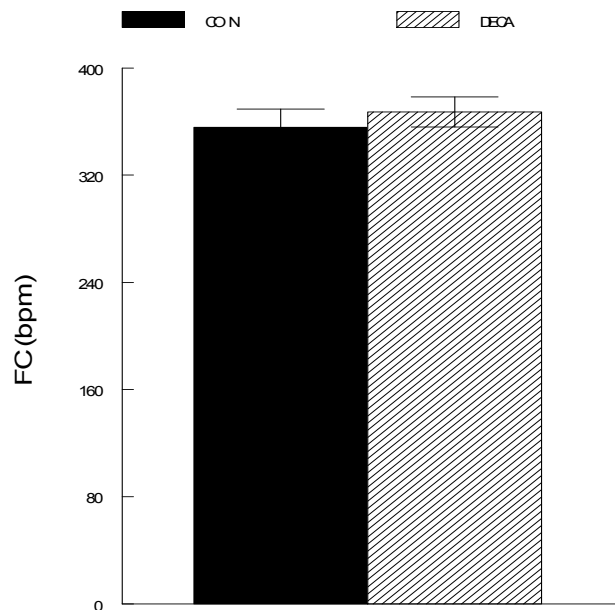
**Tabela 1.** Influência do tratamento crônico com o decanoato de nandrolona (DN) sobre a pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC).

GRUPOS	PAM (mmHg)	FC (bpm)
CON (n=8)	99 ± 1	356 ± 13
DECA (n=8)	109 ± 2 **	367 ± 11

Valores expressos como média ± EPM. \*\*  $p < 0,01$  quando comparado ao grupo controle (CON).



**Figura 1.** Valores basais da pressão arterial média (PAM) do grupo controle (CON) e do grupo tratado (DECA) após oito semanas de tratamento com decanoato de nandronola. \*\*  $p < 0,01$  quando comparado ao grupo controle (CON).



**Figura 2.** Valores basais da frequência cardíaca (FC) do grupo controle (CON) e do grupo tratado (DECA) após oito semanas de tratamento com decanoato de nandronola.

#### 4.2 AVALIAÇÃO DO REFLEXO BEZOLD-JARISCH (RBJ)

Como pode ser observado nas figuras 3 e 4, injeções de serotonina (5-HT) levaram a redução reflexa, dose-dependente, da PAD e da FC nos grupos estudados. Entretanto, em todas as dose de serotonina administradas observou-se um prejuízo, estatisticamente significativo, do RBJ demonstrados pela taxa de queda da pressão arterial diastólica (PAD, tabela 2 e figura 3) no grupo tratado (DECA) comparado ao grupo controle (CON). Em relação à porcentagem de queda da frequência cardíaca (FC, tabela 3 e figura 4), os dados mostram prejuízo no reflexo no grupo DECA, pois, quando administradas as doses mais elevadas de serotonina, foi observado uma menor resposta bradicárdica comparada ao grupo controle.

**Tabela 2.** Percentual de queda reflexa da pressão arterial diastólica (PAD) induzida por doses crescentes de serotonina (5-HT) nos ratos controle (CON) e tratados com decanoato de nandrolona (DECA).

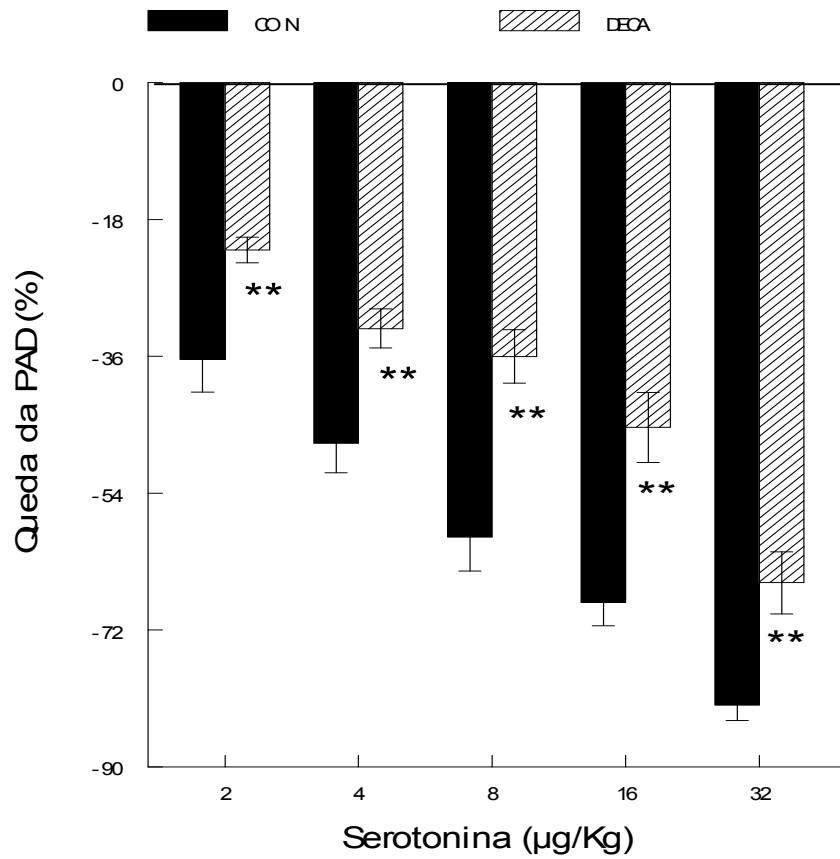
GRUPOS	DOSES DE SEROTONINA				
	2 µg/Kg	4 µg/Kg	8 µg/Kg	16 µg/Kg	32 µg/Kg
CON	- 36 ± 4	- 47 ± 4	- 60 ± 4	- 68 ± 3	- 82 ± 2
DECA	- 22 ± 2 **	- 32 ± 2 **	- 36 ± 3 **	- 45 ± 4 **	- 66 ± 4 **

Valores expressos como media ± EPM. \*\*  $p < 0,01$  quando comparado ao grupo controle (CON).

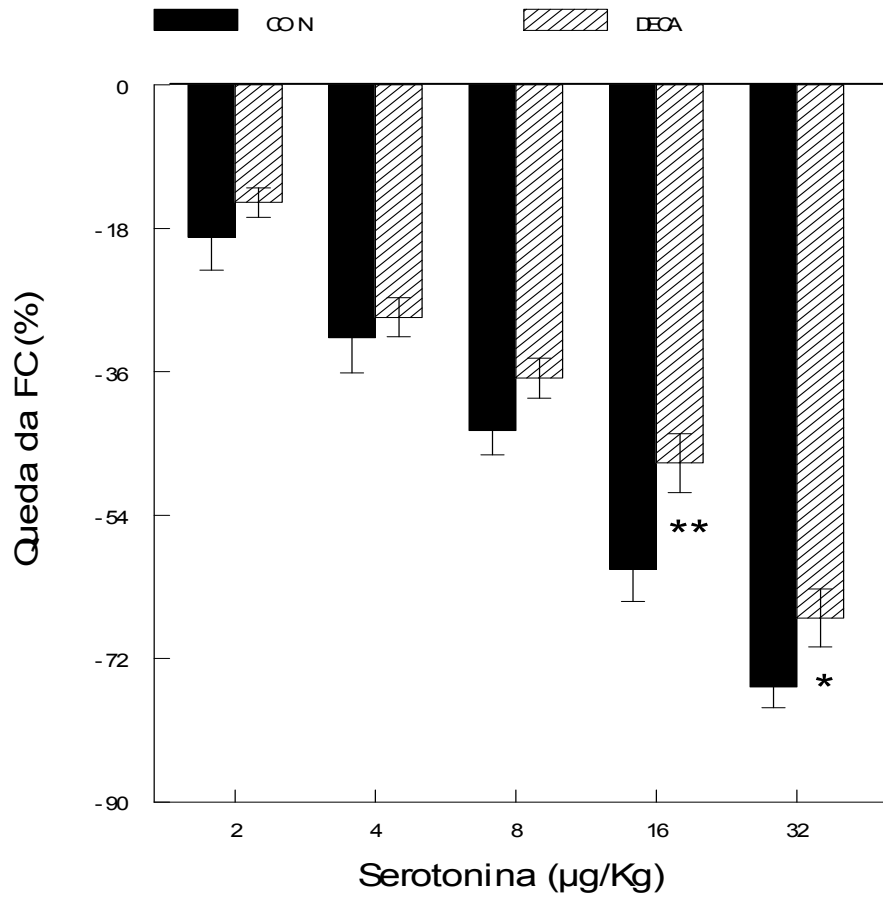
**Tabela 3.** Percentual de queda reflexa da frequência cardíaca (FC) induzida por doses crescentes de serotonina (5-HT) nos ratos controle (CON) e tratados com decanoato de nandrolona (DECA).

GRUPOS	DOSES DE SEROTONINA				
	2 µg/Kg	4 µg/Kg	8 µg/Kg	16 µg/Kg	32 µg/Kg
CON	- 19 ± 3	- 32 ± 4	- 43 ± 3	- 61 ± 4	- 76 ± 3
DECA	- 15 ± 2	- 29 ± 2	- 37 ± 3	- 47 ± 3 **	- 66 ± 3 *

Valores expressos como media ± EPM. \*\*  $p < 0,01$  e \*  $p < 0,05$  quando comparado ao grupo controle (CON).



**Figura 3.** Avaliação do reflexo Bezold-Jarisch através da queda da pressão arterial diastólica (PAD) frente à administração intravenosa de serotonina no grupo controle (CON) e no grupo tratado (DECA), após oito semanas de tratamento com decanoato de nandronola. \*\*  $p < 0,01$  quando comparado ao grupo controle (CON).



**Figura 4.** Avaliação do reflexo Bezold-Jarisch através da queda da frequência cardíaca (FC) frente à administração intravenosa de serotonina no grupo controle (CON) e no grupo tratado (DECA), após oito semanas de tratamento com decanoato de nandronola. \*\*  $p < 0,01$  e \*  $p < 0,05$  quando comparado ao grupo controle (CON).

### 4.3 PESO CORPORAL E AVALIAÇÃO DO EFEITO ANABÓLICO DO DECANOATO DE NANDROLONA

Na tabela 4 encontram-se os resultados obtidos nos diferentes grupos, com relação ao peso corporal ao iniciar o protocolo experimental, o peso final e a variação do peso corporal ( $\Delta$ PC) dos grupos controle (CON) e tratados (DECA) após o tratamento com decanoato de nandrolona (DN). O efeito anabólico do tratamento com DN foi investigado através da medida do teor de proteína corporal total (PCT) nos grupos CON e DECA. O teor de proteínas corporal total (PCT) e do teor de lipídios corporal total (LCT) foram avaliados após o tratamento com DN nos diferentes grupos (tabela 4). Antes de iniciar o tratamento, os dois grupos não apresentavam diferenças estatísticas em relação ao peso corporal, entretanto, ao final de oito semanas, o tratamento com DN levou a uma diminuição de peso no grupo DECA. Contudo, a  $\Delta$ PC não apresentou diferença estatística. No final de experimento, os animais de ambos os grupos tiveram o teor de proteínas e lipídios avaliados. Os resultados mostraram que os animais tratados com DN (grupo DECA) tiveram um aumento na concentração corporal protéica e uma diminuição do conteúdo de lipídios corporal quando comparado aos animais controle (grupo CON).

**Tabela 4.** Peso corporal inicial (PCI), peso corporal final (PCF), variação do peso corporal ( $\Delta$ PC), teor de proteína corporal total (PCT) e teor de lipídio corporal total (LCT) dos animais controle (CON) e tratados com decanoato de nandrolona (DECA) após oito semanas.

GRUPOS	PCI (g)	PCF (g)	$\Delta$ PC	PCT (%)	LCT (%)
CON	328 $\pm$ 12	401 $\pm$ 12	65 $\pm$ 6	18,2 $\pm$ 1	51 $\pm$ 3
DECA	311 $\pm$ 12	375 $\pm$ 11 *	57 $\pm$ 4	28 $\pm$ 1 **	41 $\pm$ 2*

Valores expressos como media  $\pm$  EPM. \*\*  $p < 0,01$  e \*  $p < 0,05$  quando comparado ao grupo controle (CON).

#### 4.4 AVALIAÇÃO DA HIPERTROFIA CARDÍACA, RENAL, DO FÍGADO E DA PRÓSTATA

Com o objetivo de avaliar os efeitos do tratamento crônico com o decanoato de nandrolona (DN) sobre o coração, rins, fígado e próstata, ao final do tratamento, as vísceras foram retiradas e pesadas. O tratamento crônico com DN foi capaz de alterar de forma significativa a relação, razão peso da víscera (mg) / peso corporal (g) das vísceras analisadas, exceto do fígado (tabela 5 e 6). Pela relação, razão peso úmido (mg)/peso corporal (g), observa-se aumento da relação do ventrículo direito (VD/PC) e ventrículo esquerdo (VE/PC); rins (RINS/PC) e próstata (PROST/PC) no grupo tratado com ND (DECA). A única víscera que não apresentou diferença após o tratamento foi o fígado (FIG/PC), como mostra a tabela 5. Na tabela 6 estão apresentados os resultados da razão peso seco (mg)/ peso corporal (g) das vísceras analisadas.

Após a análise do peso seco das vísceras, confirma-se que a hipertrofia cardíaca está presente nos animais que foram submetidos ao tratamento com DN. A relação VE/PC e VD/PC demonstradas pelos resultados da tabela 6 indica claramente uma hipertrofia ventricular que foi desenvolvida devido ao tratamento crônico com DN. A razão do peso seco dos rins e da próstata, pelo peso corporal do animal, indica hipertrofia desses órgãos, conforme os dados da tabela 6, no grupo DECA.

**Tabela 5.** Relação do peso úmido do ventrículo direito (VD), ventrículo esquerdo (VE), rins, fígado (FÍG) e próstata (PROST), pelo peso corporal (PC) dos grupos controle (CON) e tratados com decanoato de nandrolona (DECA).

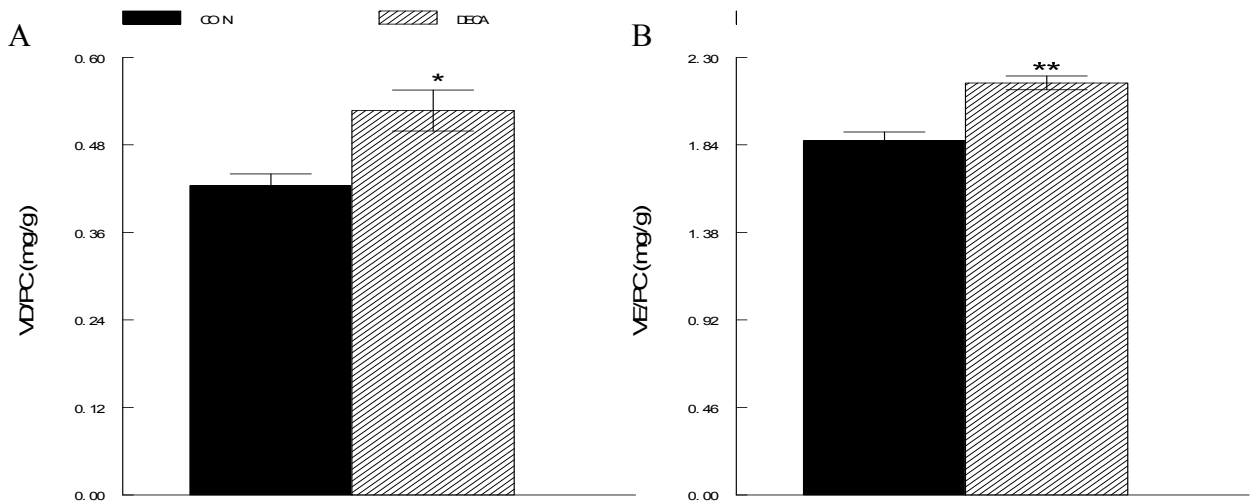
GRUPOS	VD/PC (mg/g)	VE/PC (mg/g)	RINS/PC (mg/g)	FÍG/PC (mg/g)	PROST/PC (mg/g)
CON	0,42 ± 0,02	1,86 ± 0,04	7,17 ± 0,19	38,8 ± 1,2	1,17 ± 0,06
DECA	0,53 ± 0,03*	2,17 ± 0,04**	8,53 ± 0,23**	36,8 ± 1,4	1,51 ± 0,07**

Valores expressos como média ± EPM. \*\*  $p < 0,01$ , \*  $p < 0,05$  quando comparado ao grupo controle (CON).

**Tabela 6.** Relação do peso seco do ventrículo direito (VD), ventrículo esquerdo (VE), rins, fígado (FÍG) e próstata (PROST), pelo peso corporal (PC) dos grupos controle (CON) e tratados com decanoato de nandrolona (DECA).

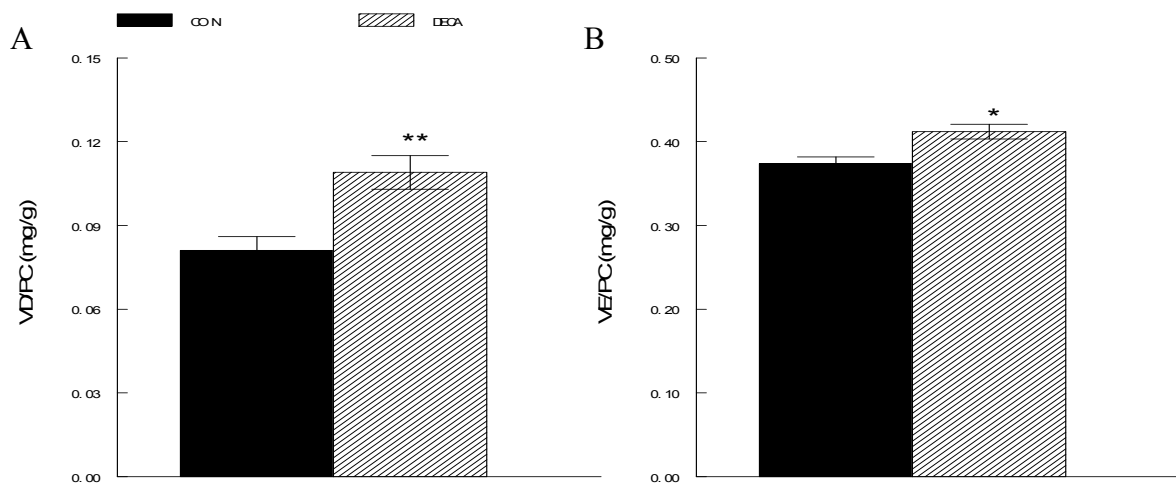
GRUPOS	VD/PC (mg/g)	VE/PC (mg/g)	RINS/PC (mg/g)	FÍG/PC (mg/g)	PROST/PC (mg/g)
CON	0,081 ± 0,005	0,374 ± 0,008	0,93 ± 0,03	7,28 ± 0,33	0,121 ± 0,008
DECA	0,109 ± 0,006**	0,412 ± 0,009*	1,14 ± 0,05**	6,75±0,43	0,160 ± 0,009**

Valores expressos como media ± EPM. \*\*  $p < 0,01$ , \* $p < 0,05$  quando comparado ao grupo controle (CON).



**Figura 5.** Efeito do tratamento com doses suprafsiológicas de decanoato de nandrolona sobre as câmaras cardíacas úmidas. Painel A: relação ventrículo direito (VD)/peso corporal (PC). Painel B: relação ventrículo esquerdo (VE)/PC. \*\* $p < 0,01$  e \* $p < 0,05$  quando comparado ao grupo controle (CON).





**Figura 6.** Efeito do tratamento com doses suprafsiológicas de decanoato de nandrolona sobre as câmaras cardíacas secas. Painei A: relação ventrículo direito (VD)/peso corporal (PC). Painei B: relação ventrículo esquerdo (VE)/PC. \*\* $p < 0,01$  e \* $p < 0,05$  quando comparado ao grupo controle (CON).

## 5 DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Evidências mostram uma relação entre o abuso de esteróide anabólico androgênio (EAA) e alterações cardiovasculares, dessa forma, a administração crônica de EAA está relacionada a um aumento do risco de doenças cardiovasculares, como hipertensão, alterações no perfil lipídico e aparecimento precoce de doenças coronarianas (Rockhold, 1993).

Conforme os resultados apresentados, o principal achado foi que o tratamento crônico, de oito semanas, com DN prejudicou o reflexo Bezold-Jarisch (RBJ), uma vez que a resposta de hipotensão e bradicardia reflexa às injeções crescentes dose-dependentes de 5HT estão atenuadas no grupo DECA. Pela primeira vez, dados indicam o prejuízo do reflexo cardiopulmonar após a submissão de animais sedentários ao tratamento semanal crônico com doses supra-fisiológicas de DN.

O tratamento realizado foi capaz ainda de alterar a PAM basal, sem alterar a FC basal. Nossos dados também indicam desenvolvimento de hipertrofia cardíaca, renal e de próstata, diminuição de peso corporal, aumento do teor protéico e diminuição do teor lipídico corporal ao final do tratamento crônico com DN.

Grollman e colaboradores foram os primeiros a mostrar que animais tratados com testosterona desenvolvem aumento da PAM (Grollman et al., 1940), resultado reproduzido no presente estudo com DN. Contudo, há diversos dados conflitantes na literatura, que levam a concluir que as alterações da PAM e da FC parecem depender do androgênio administrado, da dose do androgênio, do tempo de tratamento, além do estado de anestesia (Baker et al., 1978; Ganten et al., 1989; Share et al., 1988; Reckelhoff et al., 1998; Chen & Meng, 1991; El-Mas et al., 2001; Beutel et al., 2005; Ward & Abdel-Rahman, 2005; Pereira-Júnior et al., 2006; Ward & Abdel-Rahman, 2006; Andrade et al., 2007b)

Em trabalho desenvolvido com outro EAA, o estanozolol, Beutel e colaboradores, trataram por oito semanas grupos de ratos utilizando baixa dose (5 mg/Kg/semana) e alta dose (20 mg/Kg/semana) do EAA, comparando ao grupo controle que recebeu salina como veículo. Em ambos os grupos tratados, comparados ao grupo controle,

houve aumento da PAM nos registros dos animais anestesiados e acordados, sem haver diferença estatística entre os grupos em relação à FC após o efeito da anestesia (Beutel et al., 2005); dados que corroboram com os nossos achados. Em contrapartida, ratos sexualmente maduros castrados e que, posteriormente receberam reposição de testosterona em doses semelhantes a fisiológicas, não apresentaram diferença na PAM e FC basal (El-Mas et al., 2001; Ward & Abdel-Rahman, 2005; Ward & Abdel-Rahman, 2006). Além disso, o tratamento por quatro semanas com DN, em estudos prévios, não foi capaz de alterar a PA no grupo DECA, além de haver uma diminuição da FC (Andrade et al., 2007b). Entretanto, após o aumento do período de tratamento para oito semanas, no presente trabalho, esses animais normalizaram a FC, contudo apresentaram um aumento da PAM.

Os mecanismos envolvidos no aumento da pressão arterial (PA), ainda, não foram totalmente elucidados. Em alguns modelos animais a diferença de sexo influencia no desenvolvimento da hipertensão, suspeitando-se de a influência dos hormônios sexuais ser a responsável por essa condição clínica. Ratos adultos espontaneamente hipertensos (SHR) e *Dahl salt-sensitive* apresentam elevação PAM comparados a fêmeas da mesma idade (Chen & Meng, 1991; Share et al., 1988). Além disso, ratas fêmeas tratadas com acetato de desoxicorticosterona (DOCA) e dieta suplementar de sódio, modelo DOCA-sal, apresentam uma atenuação no desenvolvimento da hipertensão (Baker et al., 1978). Contudo, em nossos achados, está claro que o aumento da PAM foi devido à exposição crônica dos ratos machos a altas doses de DN, já que o tratamento por um período menor não alterou a PAM (Andrade et al., 2007b).

Reckelhoff e colaboradores (1998) mostraram que em ratos espontaneamente hipertensos (SHR) o aumento da PA é proporcional ao aumento da concentração de testosterona no soro desses animais ao longo do crescimento e que após a castração, a PAM estava atenuada. Entretanto, com a reposição hormonal de testosterona esses níveis elevam-se novamente. Nesse mesmo estudo eles encontraram uma menor reabsorção de íons sódio, nos animais SHR machos castrados e SHR fêmeas, comparado ao grupo SHR macho intacto, sugerindo que a testosterona, ou seus metabólitos, promovem um aumento na reabsorção de sódio devido à presença de receptores de androgênios no túbulo proximal renal, um dos

mecanismo sugerido para explicar a diferença do sexo no desenvolvimento da hipertensão nesses animais (Reckelhoff et al., 1998). Além disso, em animais SHR, o tratamento crônico com a flutamida, um antagonista competitivo de receptor de androgênio, atenuou a pressão arterial em SHR machos jovens, mostrando que o aumento da PAM em ratos machos SHR é mediada por receptores de androgênios (Ganten et al., 1989; Reckelhoff et al., 1999). Em adição, nesses animais a participação do Sistema Renina Angiotensina (SRA) é também descrita influenciar a elevação da PAM uma vez que, sob a influência androgênica, o papel do SRA está aumentado (Reckelhoff et al., 2000).

Freshour e colaboradores (2002) mostraram também que a expressão da Enzima Conversora de Angiotensina (ECA) está aumentada em camundongos machos comparados a camundongos fêmeas e que a produção cardíaca de angiotensina II está, como consequência, maior (Freshour et al., 2002). Levando em consideração que nossos animais apresentaram hipertrofia cardíaca e que essa, por sua vez, pode ser causada pela elevação de angiotensina II, isso poderia também contribuir para o aumento da PA no grupo DECA. Além disso, anormalidades no sistema renina angiotensina (SRA) estão presentes em diversos modelos de hipertensão (Martinez-Maldonado, 1991; Mitchell & Navar, 1995; D'Amours et al., 1999), sendo plausível supor que o aumento da atividade do SRA sob influência androgênica teria um papel importante no aumento da PAM no grupo DECA.

Outros dados que reforçam e tentam esclarecer os possíveis mecanismos para o aumento da PA mediada pelos androgênios são estudos que relacionam esses esteróides ao aumento da resposta vascular a norepinefrina e a alteração na vasodilatação mediada pelo óxido nítrico (NO). Assim, há evidências que a testosterona pode seletivamente inibir a captação extra-neuronal de neuroaminas e aumentar a resposta vascular a norepinefrina (Greenberg et al., 1974; Green et al., 1993). Em coelhos hipercolesterolêmicos, após serem tratados por seis semanas com testosterona (25 mg/Kg/semana) ou com DN (50 mg/Kg/semana), os anéis de aorta isolados apresentaram uma potente resposta vasoconstrictora a epinefrina, serotonina e endotelina-1, além de apresentarem um atenuado vasorrelaxamento em resposta ao nitroprussiato sódico (Ferrer et al., 1994). Assim, alterações

humorias, parecem contribuir com o aumento da PAM em animais tratados com altas doses de DN.

Diversos estudos apontam a influência dos hormônios sexuais sobre o sistema cardiovascular. De fato, dados epidemiológicos mostram uma menor mortalidade de doenças cardiovasculares em mulheres na idade reprodutiva e que, posteriormente, após a menopausa, esses índices se igualam com homens da mesma idade (Lerner & Kannel, 1986; Barrett-Connor, 1997; Dantas et al. 1999). Portanto, a hipótese de que o estrogênio confere uma cardioproteção em mulheres na idade fértil tem sido extensivamente estudada, embora, um dos mais relevantes estudo clínico falhou em mostrar o benefício da reposição hormonal na prevenção das doenças cardiovasculares (Hulley, et al. 1998). Contudo, diversos achados em modelos animais apontam para o real benefício do hormônio feminino, estrogênio, sobre mecanismos reflexos neurais da circulação, dentre esses, a facilitação do estrogênio no controle do barorreflexo (El-Mas & Abdel-Rahman, 1998; Mohamed et al., 1999; He et al., 1998; Saleh & Connell, 1998).

Está cada vez mais clara, a importância do gênero como um fator determinante no controle autonômico cardiovascular. Evidências clínicas e experimentais sugerem que a função barorreflexa está prejudicada em mulheres pós-menopausa se comparado a homens da mesma idade (Huikuri et al., 1996) e, estudos em modelos animais mostram similar prejuízo da bradicardia mediada pelo barorreflexo em ratas jovens comparadas a ratos jovens (El-Mas & Abdel-Rahman, 1998; Abdel-Rahman, 1999). Contudo, em relação aos hormônios sexuais masculinos, as suas ações sobre o sistema cardiovascular, ainda estão pouco claras.

Estudos em modelos experimentais indicam que os efeitos desses hormônios sobre os reflexos cardiovasculares parecem depender da dose (fisiológica ou supra-fisiológica), do tempo de tratamento (agudo ou crônico), da espécie animal, da comorbidade apresentada e a submissão do animal ao exercício físico ou não durante ao tratamento (El-Mas et al., 2001; El-Mas et al., 2002; Beutel et al., 2005; Ward & Abdel-Rahman, 2005; Pereira-Júnior et al., 2006; Ward & Abdel-Rahman, 2006; Andrade et al., 2007b).

O trabalho atual foi realizado para dar continuidade aos estudos prévios com objetivo de observar o efeito tempo dependente da administração de doses supra-fisiológicas de DN sobre alguns parâmetros hemodinâmicos e sobre o comportamento do RBJ. Em estudo anterior (Andrade et al., 2007b), após um curto tratamento (quatro semanas) em ratos Wistar, esses apresentaram bradicardia basal, hipertrofia de ventrículo esquerdo e reflexo Bezold-Jarisch (RBJ) inalterado, comparados ao grupo controle. Entretanto, como visto nos achados atuais, após o tratamento crônico (oito semanas), uma elevação da PAM foi observada sem alteração da FC basal, além de hipertrofia de ventrículo direito e esquerdo e, prejuízo do RBJ.

Alguns estudos têm avançado no entendimento do efeito dos hormônios sexuais masculinos sobre os reflexos cardiovasculares. El-Mas e colaboradores e Ward & Abdel-Rahman mostraram o papel facilitatório da testosterona sobre o controle barorreflexo da bradicardia e seus possíveis mecanismos (El-Mas et al., 2001; El-Mas et al., 2002; Ward & Abdel-Rahman, 2005; Ward & Abdel-Rahman, 2006). De maneira geral, esses estudos foram realizados em ratos Wistar (El-Mas et al., 2001; El-Mas et al., 2002) e ratos Sprague-Dawley (Ward & Abdel-Rahman, 2005; Ward & Abdel-Rahman, 2006) que tiveram a bradicardia mediada pelo barorreflexo avaliada em grupos após a castração e/ou após reposição de testosterona para doses fisiológicas, comparados a grupos controles. Todos esses achados, mostraram que ratos castrados apresentam prejuízo do barorreflexo e após a reposição hormonal de testosterona a níveis fisiológicos, a bradicardia mediada pelo barorreflexo normaliza, comparado ao grupo controle. Também se exclui a possibilidade de essas ações serem mediadas pela ação do  $17\beta$ -estradiol via enzima aromatase, pois os níveis desse hormônio se mantiveram inalterado durante a castração e a reposição hormonal com testosterona, não apresentando diferença estatística com o grupo controle (Ward & Abdel-Rahman, 2005).

Além disso, há fortes indícios que essa facilitação androgênica sobre o barorreflexo é mediada por receptores de androgênios. Estudo conduzido por Ward & Abdel-Rahman (2006) demonstrou prejuízo da bradicardia barorreflexa em ratos Sprague-Dawley castrados ou que receberam flutamida, um antagonista competitivo de androgênios, o que corrobora a idéia da facilitação androgênica sobre a função

barorreflexa. Contudo, um grupo de animais submetidos por longo tempo de castração (seis semanas) apresentou melhora da bradicardia barorreflexa, sem a observação de aumento da testosterona e diidrotestosterona no soro desses animais. Esses achados sugerem que outros androgênios circulantes, além da testosterona e androstenodiona, poderiam contribuir para restaurar a bradicardia mediada pelo barorreflexo subsequente ao longo tempo de castração. Outra possibilidade levantada seria a adaptação do barorreflexo para as baixas concentrações de androgênios circulantes envolvendo diferentes locais do arco reflexo (Ward & Abdel-Rahman, 2005).

Entretanto, apesar de crescentes os estudos que relacionam os androgênios com alterações na sensibilidade barorreflexa, há poucos relatos sobre o uso crônico de altas doses de androgênios na modulação reflexa sobre o sistema cardiovascular, sendo que não há relatos na literatura, das possíveis interações dos androgênios sobre os reflexos cardiopulmonares, exceto de estudos prévios em nosso laboratório (Andrade et al., 2007b).

Poucos estudos têm relatado a ação dos EAA nos mecanismos reflexos que medeiam os ajustes rápidos realizados sobre o sistema cardiovascular, apesar de esses achados serem de grande interesse para tentar desvendar os mecanismos pelos quais altas doses de EAA estão associadas a arritmias ventriculares e morte cardíaca súbita. O controle neural da circulação é mediado por reflexos arteriais e cardiopulmonares que detectam e corrigem modificações na pressão arterial, volume sanguíneo e alterações na composição química do sangue (Vasquez, 1994). Apesar de os barorreceptores arteriais serem mais extensivamente estudados, os reflexos cardiovasculares são, também, de extrema importância na regulação da pressão arterial. O mecanismo pelo qual o DN modula o reflexo Bezold-Jarisch (RBJ) não é conhecido.

A redução da sensibilidade do RBJ pode ser atribuída a diversos fatores, neurais e humorais, que podem ser levantados pela observação dos resultados deste trabalho e de dados da literatura. Uma dessas observações é a presença de hipertrofia cardíaca que estariam determinando alterações estruturais dos receptores nesta região.

É bem claro na literatura que alterações na arquitetura do miocárdio, com degeneração de miofibrilas e estabelecimento de fibrose, pode ser responsável por anormalidades na condução ventricular e pela geração de circuitos reentrantes ventriculares, que podem levar a arritmias cardíacas e morte súbita, com abuso de altas doses de EAA no exercício (Kennedy and Lawrence, 1993; Sullivan et al., 1998; Fineschi et al., 2001).

De acordo com resultados mostrados, os animais submetidos ao tratamento crônico com doses supra fisiológicas de DN, apresentaram um aumento da razão do peso úmido e seco do VD/PC e VE/PC, caracterizando presença de hipertrofia cardíaca no grupo DECA comparado ao controle (CON). Dados da literatura comprovam a existência de fibras C não mielinizadas (que representam o braço aferente dos reflexos cardiopulmonares) mecano e quimiossensíveis nas câmaras cardíacas, sendo ventrículo e átrio esquerdos mais sensíveis aos estímulos químicos que as câmaras do lado direito do coração (Colerige & Colerige, 1964; Thoren, 1979). Desta maneira, é plausível supor que a hipertrofia da região cardiopulmonar estaria envolvida com prejuízo na ativação dessas terminações nervosas, reduzindo a sensibilidade dos reflexos cardiopulmonares. Outro estudo que corrobora a hipertrofia cardíaca como fator de redução da sensibilidade dos reflexos cardiopulmonares foi realizado por Meyrelles e colaboradores que observaram redução do controle da FC pelo RBJ em animais com hipertrofia cardíaca induzida por tratamento com agonista beta adrenérgico, isoproterenol (Meyrelles et al., 1998).

Estudos em nosso laboratório também confirmam esses achados, pois ratos submetidos ao infarto do miocárdio, após trinta dias, apresentaram hipertrofia cardíaca e prejuízo do RBJ. Além disso, os animais infartados que foram tratados por um mês com um inibidor da enzima conversora de angiotensina (IECA), apresentaram redução da hipertrofia cardíaca e melhora do RBJ (Andrade et al., 2007a).

Por outro lado, divergente da atual justificativa de a hipertrofia estar influenciando no prejuízo da sensibilidade do RBJ, em estudos prévios, o tratamento a curto prazo dos animais com DN promoveu um aumento da razão VE/PC indicando presença de uma modesta hipertrofia, entretanto o RBJ não teve sua sensibilidade alterada e, adicionalmente, esses animais ainda apresentaram uma bradicardia basal em



relação ao grupo controle. Esses dados indicam que o controle reflexo da FC não foi prejudicado pelo tratamento por quatro semanas (Andrade, 2007b). Uma justificativa encontrada para essa condição seria devido ao fato de estudos em animais (ratos) indicarem um papel modulatório de níveis fisiológicos da testosterona na sensibilidade barorreflexa (El-Mas et al., 2001; El-Mas et al., 2002; Ward & Abdel-Rahman, 2005; Ward & Abdel-Rahman, 2006), que parece envolver um aumento da atividade eferente vagal cardíaca (El-Mas et al., 2001; El-Mas et al., 2002).

Dessa forma, partindo da justificativa que o tratamento com DN promove aumento dos níveis de androgênios no sangue (Takahashi et al., 2004), o curto tratamento foi capaz de aumentar a atividade vagal, uma vez que os animais DECA tiveram valores baixos de FC basal que os ratos controle, indicando um aumento no tônus parassimpático. Portanto, apesar da hipertrofia cardíaca e início de remodelamento do VE observadas após quatro semanas de uso de DN, a sensibilidade do RBJ não foi alterada, o que pode ser justificado pelo aumento do tônus vagal. Entretanto, ao finalizarmos os dados do estudo atual, submetendo os animais ao tratamento por oito semanas com DN, acreditamos na possibilidade que o grau de mudanças morfológicas cardíacas causado por quatro semanas de tratamento com DN foram insuficientes para alterar a sensibilidade do RBJ e, como consequência, não reduzir o ganho do reflexo cardiopulmonar quimiossensível, diferente do que observamos com oito semanas de tratamento.

Embora a hipertrofia seja bastante discutida com uma das possíveis causas do prejuízo do RBJ, não podemos negligenciar que ambos animais, tratados por quatro (Andrade et al., 2007b) e por oito semanas com DN apresentaram hipertrofia cardíaca, contudo, apenas o tratamento crônico prejudicou o RBJ. Pereira-Júnior e colaboradores (2006) mostraram que ratos sedentários tratados com DN por dez semanas, utilizando a mesma dose do presente estudo, apresentaram disfunção na regulação autonômica cardíaca tônica, com marcado prejuízo do controle parassimpático (Pereira-Júnior et al., 2006). Dessa forma, o aumento da PAM basal e prejuízo da queda PAD pelo RBJ, em todas as doses frente às injeções de 5-HT e o prejuízo da queda da FC pelo RBJ apenas nas duas maiores doses de 5-HT no grupo DECA, pode servir como suspeita de um marcado prejuízo do controle parassimpático cardíaco acompanhado ou não de uma possível hiperativação simpática, já que, é sabido que influências vagais e simpáticas concorrem de

maneira que um estado de hiperativação simpática pode levar para um decréscimo no controle cardíaco vagal ou vice-versa (Levy, 1971).

Ao abordar os achados sobre as alterações dos androgênios sobre o sistema nervoso, não podemos excluir a possibilidade de alterações em outros pontos do arco-reflexo para justificar o prejuízo do RBJ.

Os mecanismos pelo qual o DN pode modular a função do RBJ ainda precisam ser extensivamente estudados. Há evidências mostrando que esteróides podem atravessar a barreira hemato-encefálica e agir no SNC (Pardridge & Mietus, 1979), onde receptores de androgênios específicos em regiões regulatórias cardiovasculares centrais tem sido demonstrada (Pouliot et al., 1996). Em adição, estudos em animais (ratos) mostram que a testosterona aumenta a densidade de receptores de glutamato facilitando a neurotransmissão glutamatérgica em várias áreas centrais (Diano et al., 1997). Por sua vez, o glutamato é um neurotransmissor excitatório essencial no processo central da regulação cardiovascular (van Giersbergen et al., 1992). Simerly e colaboradores (1990), demonstraram a distribuição de células cerebrais que expressam RNAm que codificam receptores de androgênios (RA) e estrogênios (RE) em ratos adultos machos e fêmeas usando hibridização "*in situ*", detectando RNAm de RE e de RA em células do núcleo do trato solitário (NTS); dados confirmados por Hamson e colaboradores (Hamson et al., 2004). É sabido que tanto os barorreceptores quanto os receptores cardiopulmonares projetam e fazem sinapses com neurônios localizados no NTS (Spyer, 1982; Felder, 1986), tornando possível à ação central do DN na modulação do RBJ no animais DECA.

Outros estudos em animais mostram receptores androgênios localizados em núcleos ambíguos e núcleos motores dorsal do vago (Peuler et al., 1990), áreas cerebrais que têm um crucial papel no controle central de descargas vagais (van Giersbergen et al., 1992). Esses achados, portanto, sugerem que androgênios possam agir em neurônios pré-ganglionares vagal cerebral para modular a atividade vagal cardiomotora bem como a entrada simpática para o coração (El-Mass et al., 2001), sendo, portanto, um dos possíveis mecanismos capazes de alterar a sensibilidade do RBJ após o tratamento crônico com DN. Todavia está claro que futuros estudos

são necessários para conduzir um possível mecanismo envolvendo efeitos centrais androgênicos na regulação autonômica cardíaca.

Fatores humorais não são excluídos de terem sua participação no prejuízo do RBJ após tratamento crônico com altas doses de DN em ratos sedentários. Dentre esses, há relatos na literatura da influência dos hormônios sexuais na expressão cardíaca da enzima conversora de angiotensina (ECA) em animais (Lim et al., 2002; Freshour et al., 2002). Dessa forma, não devemos desprezar a possível influência de fatores humorais e parácrinos de forma direta e indireta na alteração encontrada no reflexo cardiopulmonar. Potenciais mecanismos contribuem para diferença sexual na expressão de ECA cardíaca que incluem regulação negativa da expressão da ECA pelo estrogênio e regulação positiva da expressão ECA pela testosterona (Freshour et al., 2002).

Vários trabalhos demonstraram que o tratamento crônico com inibidor de enzima conversora de angiotensina é capaz de reverter ou reduzir o nível de hipertrofia cardíaca (Bissoli et al., 1991; Thomas et al., 1998; Uggere et al., 2000; Andrade et al., 2007a), tornando evidente a importância da angiotensina II na gênese da hipertrofia, que como descrito anteriormente, pode ser considerada como uma das hipóteses para a redução da sensibilidade do reflexo cardiopulmonar. Além disso, Freshour e colaboradores encontraram um aumento na expressão de RNAm para ECA cardíaca em camundongos adultos machos comparados com fêmeas da mesma idade. Após a castração dos camundongos machos houve uma diminuição da expressão da ECA, sugerindo que a testosterona pode ter um papel na regulação da expressão da ECA no coração desses animais (Freshour et al., 2002). Apesar de nossos estudos terem sido realizados em ratos, esses foram submetidos a doses suprafisiológicas de um EAA por um longo período, levando a uma possível contribuição da angiotensina II no desenvolvimento da hipertrofia encontrado no grupo DECA.

A ECA é responsável pela conversão da Angiotensina I a Angiotensina II (Danser et al., 1992) e diversas linhas de estudos têm mostrado as ações da angiotensina II sobre a regulação do sistema cardiovascular, entretanto as ações combinadas do uso crônico de DN e a angiotensina II precisam ser esclarecidas. A angiotensina II

age no sistema nervoso central, com a estimulação da sede e aumento do fluxo simpático. Ela também promove estimulação da síntese e secreção de aldosterona, diminuição da excreção renal de sódio, manutenção do tônus vascular e aumento da FC em virtude do incremento do fluxo simpático (Morgan & Baker, 1991). Todos esses fatores, de uma forma ou de outra, levam ao aumento da pré ou pós-carga ou ainda do trabalho cardíaco, contribuindo para o desenvolvimento da hipertrofia cardíaca.

A ativação endócrina de angiotensina II, via sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), a qual é secundária a redução do débito cardíaco, tem sido demonstrada em vários tipos de tecidos, inclusive no coração (Dzau, 1988; Jim et al., 1988), portanto a angiotensina de formação parácrina seria também responsável pelos efeitos diretos observados para essa substância. Esses efeitos da angiotensina II, que são mediados por receptores de membrana que estão acoplados ao sistema de transdução de sinal, envolvendo proteína ligadora de nucleotídeo de guanina, incluem a estimulação da contratilidade cardíaca (Baker et al., 1984; Baker & Aceto, 1989) e a aceleração da síntese protéica que resultam em hipertrofia (Baker et al., 1990). Portanto, a angiotensina II, através de receptores AT1, representa um importante fator trófico não somente para os miócitos cardíacos, mas também para os componentes da matriz extracelular no coração (Crabos et al., 1994; Pfeffer, 1995), elevando a massa cardíaca. Devido os dados de quatro semanas apresentarem hipertrofia de VE com início de remodelamento cardíaco (Andrade et al., 2007b) e os animais tratados por oito semanas apresentarem hipertrofia de VD e VE, acreditamos em um crescente envolvimento do SRA tempo dependente do tratamento com DN estar contribuindo para o prejuízo do RBJ.

Não se pode negligenciar as possíveis interações do RBJ com o peptídeo natriurético atrial (PNA) e androgênios. Em 1987 foi demonstrado que o PNA é capaz de aumentar a influência inibitória das aferências vagais sobre a atividade simpática renal e lombar, entretanto, com prejuízo do controle reflexo pelos barorreceptores arteriais (Imaizumi et al., 1987). Alguns anos mais tarde ficou estabelecido que o PNA aumenta a sensibilidade do RBJ, bem como do baroreceptor cardiopulmonar, sem o fazer com o barorreflexo arterial (Woods et al., 1994; Thomas et al., 1997; Thomas et al., 1998), o que suporta a hipótese de que esse hormônio exerceria seus efeitos

cardioprotetores via ação seletiva sobre as aferências vagais quimiossensíveis e mecano-sensíveis do coração (Schultz et al., 1988; Thomas et al., 1997; Thomas et al., 1998; Thomas et al., 1999). Posteriormente, estudos em animais mostraram que o peptídeo natriurético cerebral (PNB) e o central (PNC) também aumentam as respostas hipotensoras e bradicárdicas do RBJ (Thomas et al., 1999; Thomas et al., 2001). Portanto esses trabalhos trazem à tona evidências de que todos os três tipos de peptídeos natriuréticos teriam ações similares sobre o RBJ.

Hwu e colaboradores (1993), dosaram a partir do extrato atrial direito, por imunoreatividade, a concentração atrial e plasmática de PNA em ratos machos adultos controle, castrados (3 semanas) e castrados com tratamento de reposição hormonal (propionato de testosterona – 20 mg/Kg por 5dias). Houve um aumento do PNA plasmático e nos estoques atriais nos animais castrados, comparados aos animais controle. Além disso, a reposição com androgênios diminui a concentração plasmática de PNA a valores próximos ao controle, mas não foi capaz de diminuir os estoques atriais de PNA (Hwu et al., 1993). Em outro estudo, o tratamento crônico com PNA (20 ng/hora/g por 7dias) em camundongos, levou a diminuição dos níveis plasmáticos e testiculares de testosterona (Lee et al., 2003).

Apesar de não termos dados suficientes, a hipótese de que a relação inversa, ou seja, que altos níveis de androgênios levariam a uma diminuição na concentração de PNA, seria uma das causas que poderiam contribuir para o prejuízo do RBJ após 8 semanas de tratamento com altas doses de DN.

Em atletas usando EAA ilícito com propósito de aumentar a massa muscular esquelética, efeitos cardíacos adversos, incluindo hipertrofia patológica, são mostrados (Campbell et al., 1993). Nossos dados de oito semanas revelaram aumento da razão VE/PC e VD/PC após o tratamento de altas doses com DN, mostrando que esteróides anabólicos afetam células musculares cardíacas e podem produzir hipertrofia cardíaca. Estudos prévios, no qual os ratos foram submetidos a um curto tempo de tratamento, foi observado hipertrofia cardíaca modesta, apenas no VE, mostrando processo de remodelamento e fibrose inicial através de análises histológicas (Andrade et al., 2007b). Esses dados são consistentes com outros estudos, em humanos e animais, que demonstram a presença de hipertrofia

cardíaca após o uso de EAA (Urhausen et al., 1989; Woodiwiss et al., 2000; Urhausen et al., 2004; Beutel et al., 2005; Toit et al., 2005; Pereira Júnior et al., 2006).

Apesar das possíveis influências cardíacas do androgênio através do sistema renina angiotensina, não se pode excluir uma ação direta via receptores androgênicos. Dados evidenciam que androgênios podem produzir um efeito hipertrófico diretamente nos miócitos cardíaco independente de outros efeitos neurohormonais ou hemodinâmicos (Marsh et al., 1998). Marsh e colaboradores demonstraram a presença de receptores androgênicos no coração em cultura de miócitos de mamíferos (incluindo ratos) e que ambos, testosterona e dihidrotestosterona, induzem uma resposta hipertrófica pela ação direta nas células musculares cardíacas, aumentando incorporação de aminoácidos dentro de proteínas (Marsh et al., 1998).

Além disso, Falanga e colaboradores, mostraram que o estanozolol, outro EAA, de maneira dose dependente, aumentou a síntese de colágeno em cultura de fibroblastos da derme de humanos adultos, e que isto pareceu ser mediado por uma super estimulação de RNAm que codifica o fator- $\beta$ 1 de crescimento tumoral (TGF- $\beta$ 1). Esses efeitos não ocorreram na presença de testosterona, apenas do EAA (Falanga et al., 1998). Tomados juntos, esses dados suportam a idéia que a hipertrofia ventricular e o remodelamento cardíaco que foi presenciado após quatro semanas de tratamento, somando-se aos dados do estudo atual, no qual o tratamento crônico aumentou o grau de hipertrofia cardíaca e possivelmente o remodelamento parecem resultar da ação de EAA em receptores de androgênios no coração via uma ação direta e/ou a elevação da ANG II contida nos ventrículos.

Somado-se ao efeito hipertrófico do tratamento crônico com DN no coração, a razão RINS/PC e PROST/PC também foi maior no grupo DECA, indicando um potencial efeito anabólico do longo tratamento com DN sobre essas víscera. Fato não observado na razão FÍG/PC que se manteve semelhante no grupo CON e DECA, que está de acordo com outros achados (Takahashi et al., 2004), embora altas doses EAA estejam associados a indução de toxicidade hepática em fisioculturistas

com valores de aspartato amino transferase (AST) e alanina amino transferase (ALT) elevados (Stimac et al., 2002).

O aumento da razão RINS/PC nos animais tratados está de acordo com alguns estudos que também utilizaram altas doses de DN por longo tempo (Takahashi et al., 2004; Fortunato et al., 2005). Alguns trabalhos indicam receptores de androgênios nos rins (Xie et al., 1996; Wilson & McPhaul, 1996), embora outro estudo tenha sugerido a presença de receptores de androgênios somente no interior do trato urinário (Bentvelsen et al., 1996). O tratamento de ratos machos adultos com seis semanas com DN ( $8,33 \times 10^{-2}$  mg/g) elevou a razão RINS/PC, corroborando com nossos achados. Além da análise histológica do tubo distal revelar hipertrofia proliferativa de células epiteliais com aumento de volume, indicando que EAA afeta as células epiteliais dos túbulos renais via um mecanismo dependente de androgênio direta e/ou indiretamente (Takahashi et al., 2004). Em contrapartida, um estudo prévio realizado por Takahashi e colaboradores citado no trabalho de 2004, indicou função renal normal através de ensaios bioquímicos (Takahashi et al., 1999).

A razão PROST/PC foi elevada no grupo DECA comparada ao grupo controle, contudo, há divergências de dados na literatura, embora, esteja claro que a presença dessa hipertrofia parece depender do androgênio o qual o animal foi submetido, da dose e do tempo de tratamento (Dadrass et al., 1991; Bitran et al., 1996; Borst et al., 2004; Takahashi et al., 2004; Karbalay-Doust & Noorafshan, 2006; Borst et al., 2007). É sabido que algumas ações dos androgênios são mediadas por enzimas locais, devido a presença de  $5\alpha$ -redutases e aromatases, de forma que, androgênios sintéticos se ligam a mesmos receptores que a testosterona e seus metabólitos ativos (Shahidi, 2001). A ação dos androgênios sobre a próstata é bem explorada nos estudos de reposição hormonal, no qual, homens idosos com hipogonadismo utilizam baixas doses de androgênios obtendo uma pequena melhora na massa muscular e na força (Borst, 2004).

Contudo, doses maiores são temidas, pois, apesar de apresentarem um maior efeito anabólico, estão associadas ao aumento de efeitos adversos, como uma possível associação com aumento do risco de câncer de próstata (Parsons et al., 2004). Borst e colaboradores (2004) mostraram que ratos Brown Norway velhos castrados que

receberam reposição com altas doses de testosterona, através de implantação de pellets subcutâneos (1mg/dia) por 28 dias, tiveram um aumento da massa da próstata. Entretanto, esse aumento não foi observado nos animais castrados que além da reposição com testosterona foram tratados com um inibidor da 5 $\alpha$ -redutase, MK-434 (0,75 mg/dia) (Borst et al., 2004). Além disso, o MK-434 não bloqueou a ação anabólica de altas doses de testosterona sobre o músculo, ossos e concentração de hemoglobina, levando a acreditar que possivelmente a hipertrofia de próstata parece depender a ação da 5 $\alpha$ -redutase pela produção de diidrotestosterona (metabólico da testosterona que exibe maior afinidade pelo receptor de androgênio) o que não ocorreu nos outros tecidos estudados (Borst et al., 2007). A dependência da ação 5 $\alpha$ -redutase metabolizando a testosterona à diidrotestosterona sobre o crescimento da próstata, também foi demonstrado por Dadrass e colaboradores (Dadrass et al., 1991).

Adicionalmente, Takahashi e colaboradores (2004) trataram ratos adultos com EAA, o DN (1,67x10<sup>-1</sup> mg/g) por seis semanas e encontraram um aumento da razão PROST/PC nesses animais, além disso, a partir de análises histológicas essa hipertrofia não foi acompanhada da presença de carcinomas (Takahashi et al., 2004). Contudo, outros estudos que também utilizaram EAA mostraram um atrofia da próstata, contrário a nossos achados. Ratos adultos que receberam DN por quatorze semanas (Karbaly-Doust & Noorafshan, 2006) ou que foram tratados com outro EAA, o dianabol, por duas semanas (Bitran et al., 1996), ambos, apresentaram uma diminuição do peso da próstata, que após a supressão do dianabol, a próstata retornou ao normal dentro de três a dez dias. Os mecanismos que causam essas discrepâncias de resultados precisam ser mais bem estudados, contudo é plausível que o tempo de tratamento, o EAA utilizado como também os metabólitos formados a partir do metabolismo do EAA influenciam na hipertrofia prostática.

Nossos resultados ainda mostram uma diminuição de peso corporal após oito semanas de tratamento com altas doses de DN acompanhado de um aumento do teor de proteína corporal total (PCT) e diminuição do teor de lipídio corporal total (LCT), apesar dos dados da  $\Delta$ PC não apresentarem diferença estatística.. Similarmente como mostrado por Trifunovic et al. (1995), Yu-Yahiro et al. (1995), Lindblom et al. (2003), Takahashi et al. (2004), Beutel et al. (2005) e Pereira-Júnior et al. (2006) o



tratamento crônico com doses suprafsiológicas de DN diminui o peso corporal nos animais tratados, comparado ao controle, embora, em estudo prévio, o tratamento por quatro semanas com DN não ter sido suficiente para alterar o peso corporal dos animais tratados (Andrade et al., 2007b). Contudo, dados que estão de acordo com esses achados são os Toit e colaboradores que trataram ratos por seis semanas com laurato de nandrolana (0,35mg/Kg) e também não observaram diferença entre o grupo controle sedentário, controle com atividade física, tratados sem exercício e tratados submetidos ao exercício (Toit et al., 2005). Por outro lado, ratos tratados por dezessete dias com DN administrado através de cápsula subcutânea apresentaram um aumento do PC em relação ao grupo controle (Lewis et al., 2002). Dessa forma, os dados da literatura com relação ao efeito dos EAA sobre o ganho de PC não são homogêneos e o resultado obtido parece estar relacionado ao tempo e à dose utilizada no tratamento.

Os trabalhos que apontam para uma diminuição de PC dos animais após o uso de EAA ainda não conseguiram elucidar quais mecanismos estariam envolvidos com o uso de EAA e a diminuição de peso. Trifunovic e colaboradores falharam em demonstrar uma possível redução na ingestão de comida ou uma diminuição de absorção gastrointestinal nos animais tratados por três meses com DN (5mg/kg), pois, a análises da quantidade de comida ingerida e a análise da energia contida nas fezes desses animais não demonstraram diferença significativa entre os grupos tratados e controle (Trifunovic et al., 1995). Nos dados atuais, a diminuição do peso corporal poderia ser justificada devido à diminuição do teor de LCT, uma vez que, estudo citado no trabalho de Trifunovic e colaboradores (Trifunovic et al., 1995), mostrou que Kochakian e colaboradores também falharam em demonstrar um menor consumo de comida associado a um menor peso corporal em ratos tratados com esteróide androgênico, entretanto, esses sugeriram que o excesso de androgênios levariam a um maior uso de gordura (Kochakian et al., 1959), o que estaria de acordo com nossos dados. Entretanto, Pereira-Júnior e colaboradores (2006) acreditam que essa diminuição de PC não deve ser atribuída a um efeito estimulatório lipolítico, devido um estudo paralelo em seu laboratório não terem encontrado uma redução na massa gorda peritonial em ratos sedentários tratados com DN, comparados a ratos sedentários não tratados. Essa divergência no teor de

LCT pode ser atribuída em parte, pelos métodos utilizados para avaliar a massa de gordura corporal.

Alguns estudos apontam a capacidade de EAA interferirem no balanço energético que é regulado por um complexo sistema neuroendócrino. Lindblom e colaboradores observaram uma inibição de ingestão de comida e diminuição na massa da gordura abdominal em ratos tratados com DN que pode ser mediada por alterações no sistema melanocortina, devido eles terem encontrado evidências do aumento níveis do hormônio alfa-melanócito-estimulante que está relacionado ao estado de anorexia (Lindblom et al., 2003). Essa alteração no sistema melanocortina poderia também explicar nossos achados.

Nós também demonstramos uma elevação no teor PCT presente nos animais DECA que mostrou que a duração e a dose de DN foi eficiente na produção dos efeitos anabólicos. A atividade anabólica da testosterona e seus derivados é primariamente manifestada em sua ação miotrófica, que resulta em aumento de força e massa muscular (Shahidi, 2001). Em animais castrados, a reposição de testosterona aumenta a retenção de nitrogênio e a massa muscular (Griggs et al., 1989), que são fundamentais para síntese protéica. Recentemente, Monkes e colaboradores mostraram que a sensibilidade anabólica do músculo esquelético correlaciona-se com proteínas de receptores de androgênios, mas não com RNAm (Monkes et al., 2006). Apesar da necessidade de mais estudos para esclarecer os mecanismos anabólicos dos EAA, está claro que o aumento do teor TPC reflete a ação anabólica do tratamento com DN.

Em conclusão, pode-se afirmar que o tratamento crônico com esteróide anabólico prejudica a RBJ, de forma que, o aumento da PA, hipertrofia cardíaca e prejuízo do RBJ pode ser importantes fatores a serem considerados nas ações cardiovasculares dos EAA. Desta maneira, parece plausível que a disfunção no reflexo cardiovascular Bezold-Jarisch constitui um sinal de alteração cardíaca que é dependente do tempo à exposição aos EAA e esta disfunção pode estar associada à hipertrofia cardíaca e aumento da PAM. Adicionalmente, tratamento crônico com doses supra-fisiológicas de DN foi eficiente na produção dos efeitos anabólicos devido ao aumento do teor PCT, além de causar hipertrofia nos rins e na próstata. Esses dados indicam que há

um aumento tempo-dependente no desenvolvimento de alterações cardiovasculares com o uso de EAA.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-RAHMAN, AA. Gender difference in baroreflex-mediated bradycardia in young rats: role of cardiac sympathetic and parasympathetic components. *Can J Physiol Pharmacol*. 1999; 77: 358-366.

ANDO, M; YAMABE, H; SAKURAI, K; KAWAI, H; YOKOYAMA, M. Relationship between cardiac sympathetic function and baroreceptor sensitivity after acute myocardial infarction. *Circulation Journal*. 2002; 66: 247-252.

ANDRADE, TU; PINTO, VD; MEDEIROS, ARS; ABREU, GR; MOYSÉS, MR; SAMPAIO, KN; BISSOLI, NS. Effect of enalapril treatment on the sensitivity of cardiopulmonary reflexes in rats with myocardial infarction. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2007a; 34: 606-611.

ANDRADE, TU; SANTOS, MCS; BUSATO, VCW; MEDEIROS, ARS; ABREU, GR; MOYSÉS, MR; BISSOLI, NS. The effect of supraphysiological doses of nandrolone decanoate on Bezold-Jarisch reflex control of heart rate. *Archives of medical research*. 2007b; (in press).

BAKER, PJ; RAMEY, ER; RAMWELL, PW. Androgen mediated sex difference of cardiovascular responses in rats. *Am J Physiol*. 1978; 235: H242-H246.

BAKER, KM; CAMPANILE, CP; TRACHTE, GJ; PEACH, MJ. Identification and characterization of rabbit angiotensin II myocardial receptors. *Circulation Research*. 1984; 54: 286-293.

BAKER, KM; ACETO, JÁ. Characterization of avian angiotensin II cardiac receptors: coupling to mechanical activity and phosphoinositide metabolism. *J Mol Cell Cardiol*. 1989; 21: 375-382.

BAKER, KM; CHERIN, MI; WIXON, SK; ACETO, JF. Renin angiotensin system involvement in pressure-overload cardiac hypertrophy in rats. *American Journal of Physiology*. 1990; 259: H324-H332.

BARRET-CONNOR, E. Sex differences in coronary heart disease: why a women so superior? The 1995 Ancel Keys Lecture. *Circulation*. 1997; 95: 252-264.

BENTVELSEN, FM; MCPHAUL, M; WILSON, CM; WILSON, JD; GEORGE, FW. Regulation of immunoreactive androgen receptor in the adrenal gland of the adult rat. *Endocrinology*. 1996;137(7):2659-63.

BEUTEL, A; BERGAMASCHI, CT; CAMPOS, RR. Effects of chronic anabolic steroid treatment on tonic and reflex cardiovascular control in male rats. *J Steroid Bioch Mol Biol*. 2005; 93:43–48.

BISSOLI, NS; MOYSES, MR; VASQUEZ, EC; CABRAL, AM. Captopril prevents ventricular hypertrophy in sinoaortic denevated rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 1991; 24: 191-194.

BISSOLI, NS; CICILINE, MA; VASQUEZ, EC; CABRAL, AM. The diuretic chlortalidone normalizes baroreceptor and Bezold-Jarisch reflexes in DOCA-salt hypertensive rats. *Pharmacological Research*. 2000; 41(4): 483-491.

BITRAN, D; HILVERS, RJ; FRYE, CA; ERSKINE, MS. Chronic anabolic-androgenic steroid treatment affects brain GABA(A) receptor-gated chloride ion transport. *Life Sci*. 1996; 58 (7): 573-583.

BORST, SE. Interventions for sarcopenia and muscle weakness in older people. *Age Ageing*. 2004; 33: 548–555.

BORST, SE,; LEE, JH; CONOVER, CF. Inhibition of 5alpha-reductase blocks prostate effects of testosterone without blocking anabolic effects. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2004; 288(1): 222-227.

BORST, SE; CONOVER, CF; CARTER, CS; GREGORY, CM; MARZETTI, E; LEEUWENBURGH, C; VANDENBORNE, K; WRONSKI, TJ. Anabolic effects of testosterone are preserved during inhibition of 5alpha-reductase. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007; 293(2):E507-154.

BRODY, MJ; HAYWOOD, JR; TOWN, KB. Neural mechanisms in hypertension. *Annu Rev Physiol.* 1980; 42:441-553.

CAMPBELL, SE; FARB, A; WEBER, KT. Pathologic remodeling of the myocardium in a weightlifter taking anabolic steroids. *Blood Press.* 1993; 2(3): 213-216.

CARSON, JA; LEE, WJ; McCLUNG, J; ET AL. Steroid receptor concentration in aged rat hind-limb muscle: effect of anabolic steroid administration. *J Appl Physiol.* 2002; 93: 242-250.

CHEN, YF; MENG, QM. Sexual dimorphism of blood pressure in spontaneously hypertensive rats in androgen dependent. *Life Sci.* 1991; 48: 85-96.

CLEMO, HF; BAUMGARTEN, CM; ELLENBOGEN, KA; STAMBLER, BS. Atrial natriuretic peptide and cardiac electrophysiology: autonomic and direct effects. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology.* 1996; 7: 149-162.

COLERIDGE, JCG; COLERIDGE, HM; KIDD, C. Cardiac receptors in dogs, with particular reference to two types of afferent ending in the ventricular wall. *Journal of Physiology (Lond).* 1964; 174: 323-339.

CRABOS, M; OTH, M; HAHN, AWA; ERNE, P. Characterization of angiotensin II receptors in culture adult rat cardiac fibroblasts – coupling to signaling systems and gene expression. *J Clin Invest.* 1994; 93: 2372-2378.

D'AMOURS, M; LEBEL, M; GROSE, J; LAREVIÈRE, R. Renal and vascular effects of chronic nitric oxide synthase inhibition: involvement of endothelin 1 and angiotensin II. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology.* 1999; 77: 8-16.

DADRAS, SS; CAI, X; ABASOLO, I; WANG, Z. Inhibition of 5alpha-reductase in rat prostate reveals differential regulation of androgen-response gene expression by testosterone and dihydrotestosterone. *Gene Expr.* 2001; 9(4-5): 183-194.

DANTAS, AP; SCIVOLETTO, R; NIGRO, D; FORTES, ZB; CARVALHO, MH. Influence of female sex hormones on endothelium-derived vasoconstrictor prostanoid generation in microvessels of spontaneously hypertensive rats. *Hypertension.* 1999; 34: 914-919.

DANSER, AH; KONIN, MM; ADMIRAAL, PJ; SASSEN, LM; DERKX, FH; VERDOUW, PD; SCHALEKAMP, MA. Production of angiotensins I and II at tissues sites in intact pigs. *American Journal of Physiology.* 1992; 263: H429-H437.

DIANO, S; NAFTOLIN, F; HORVATH, TH. Gonadal steroids target AMPA glutamate receptor-containing neurons in the rat hypothalamus, septum and amygdala: a morphological and biochemical study. *Endocrinology.* 1997; 138: 778-789.

DIBONA, GF. Neural control of renal function: cardiovascular implications. *Hypertension.* 1989; 13: 539-548.

DZAU, VJ. Circulating versus local rennin-angiotensin systems in cardiovascular homeostasis. *Circulation.* 1988; 77 (suppl. 1): I4-I13.

EL-MAS, MM; ABDEL-RAHMAN, AA. Ovariectomy abolishes ethanol-induced impairment of baroreflex control of heart rate in conscious rats. *Eur J Pharmacol.* 1998; 349: 253-261.

EL-MAS, MM; AFIFY, EA; EL-DIN, MMM; OMAR, AG; SHARABI, FM. Testosterone Facilitates the Baroreceptor Control of Reflex Bradycardia: Role of Cardiac Sympathetic and Parasympathetic Components. *J Card Pharmacol.* 2001; 38:754-763.

EL-MAS, MM; AFIFY, EA; OMAR, AG; SHARABI, FM. Cyclosporine Adversely Affects Baroreflexes via Inhibition of Testosterone Modulation of Cardiac Vagal Control. *J Pharmacol Exp Therap.* 2002; 301:346-354.

EVANS, NA. Current concepts in anabolic-androgenic steroids. *Am J Sports Med.* 2004; 32: 534-542.

FALANGA, V; GREENBERG, AS; ZHOU, L; OCHOA, SM; ROBERTS, AB; FALABELLA, A; et al. Stimulation of collagen synthesis by the anabolic steroid stanozolol. *J Invest Dermatol.* 1998; 111: 1193-1197.

FELDER, RB. Excitatory and inhibitory interactions among renal and cardiovascular afferent nerves in the dorsomedial medulla of the cat. *American Journal of Physiology.* 1986; 250: R580-R588.

FERRER, M; ENCABO, A; MARIN, J; BALFAGON, G. Chronic treatment with anabolic steroid, nandrolone, inhibits vasodilatory responses in rabbit aorta. *Eur J Pharmacol.* 1994; 252: 232-241.

FINESCHI, V; BAROLDI, G; MONCIOTTI, F; PAGLICCI REATTELLI, L; TURILLAZZI, E. Anabolic steroid abuse and cardiac sudden death: a pathologic study. *Arch Pathol Lab Med.* 2001; 125: 253-255.

Food and Agriculture Organization. Amino-acid content of food and biological data on proteins. Roma; 1970. (FAO Nutritional Studies, 24).

FORTUNATO, RS; MARASSI, MP; CHAVES, EA; NASCIMENTO, JH; ROSENTHAL, D; CARVALHO, DP. Chronic administration of anabolic androgenic steroid alters murine thyroid function. *Med Sci Sports Exerc.* 2006; 38(2): 256-261.

FOZARD, JR. Mechanism of the hypotensive effect of Ketanserin. *Journal of Cardiovascular Pharmacology.* 1982; 4: 829-838.

FRESHOUR, JR; CHASE, SE; VIKSTROM, KL. Gender differences in cardiac ACE expression are normalized in androgen-deprived male mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2002; 283: H1997-H2003.



GAILLARD, JL; SILBERZAHN, P. Aromatization of 19-norandrogens by equine testicular microsomes. *J Biol Chem.* 1987; 262: 5717-5722.

GANTEN, U; SCHRODER, G; WITT, M. Sexual dimorphism of blood pressure in spontaneously hypertensive rats: effects of anti-androgen treatment. *J Hypertens.* 1989; 7: 721-726.

GREEN, DJ; CABLE, NT; RANKIN, JM; FOX, C; TAYLOR, RR. Anabolic steroid and vascular responses. *Lancet.* 1993; 342: 863.

GREENBERG, S; GEORGE, WR; KADOWITZ, PJ; WILSON, WR. Androgen-induced enhancement of vascular reactivity. *Can J Physiol Pharmacol.* 1974; 52: 14-22.

GRIGGS, RC; KINGSTON, W; JOZEFOWICZ, RF; HERR, BE; FORBES, G; HALLIDAY, D. Effect of testosterone on muscle mass and muscle protein synthesis. *J Appl Physiol.* 1989; 66(1): 498-503.

GROLLMAN, TR; HARRISON, JR; WILLIAMS Jr. The effects of various sterol derivatives on the blood pressure of the rat. *J Pharmacol Exp Ther.* 1940; 69: 149-155.

HAMSON, DK; JONES, BA; WATSON, NV. Distribution of androgen receptor immunoreactivity in the brainstem of male rats. *Neuroscience.* 2004; 127(4):797-803.

HALL, RCW; HALL, RCW. Abuse of supraphysiologic doses of anabolic steroids. *Southern Medical Association.* 2005; 98(5): 550-555.

HARTGENS, F; KUIPERS, H. Effects of androgenic-anabolic steroids in athletes. *Sports Med.* 2004; 34(8): 513-554

HE, X-R; WANG, W; CROFTON, JT; ET AL. Effects of 17 $\beta$ -estradiol on sympathetic activity and pressor response to phenylephrine in ovariectomized rats. *Am J Physiol.* 1998; 275(44): R1202-1208.

HUIKURI, HV; PIKKUJAMSA, SM; AIRAKSINEN, J; et al. Sex-related differences in autonomic modulation of heart rate in middle-aged subjects. *Circulation*. 1996; 94: 122-125.

HULLEY, S; GRADY, D; BUSH, T; FURBERG, C; HERRINGTON, D; RIGGS, B; VITTINGHOFF, E. Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study (HERS) Research Group. *JAMA*. 1998; 280: 605-613.

HWU, CM; TSAI, SC; LAU, CP; PU, HF; WANG, TL; CHIANG, ST; WANG, PS. Increased concentrations of atrial and plasma atrial natriuretic peptide in castrated male rats. *Life Sci*. 1993; 52(2): 205-12.

IMAIZUMI, T; TAKESHITA, A; HIGASHI, H; NAKAMURA, M. A-ANP alters reflex control of lumbar and renal sympathetic nerve activity and heart rate. *American Journal of Physiology*. 1987; 253: H1136-H1140.

IMAIZUMI, T; TAKESHITA, A. Influence of PNA on sympathetic nerve activity and chronotropic regulation of the heart. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*. 1993; 4: 719-729

JIM, M; MARKUS, JW; LANG, RE; UNGER, T; LINDPAINTER, K; GANTEN, D. Endogenous tissue rennin-angiotensin systems. *American Journal of Medicine*. 1988; 84: 24-36.

KARBALAY-DOUST, S; NOORAFSHAN, A. Stereological study of the effects of nandrolone decanoate on the rat prostate. *Micron*. 2006; 37 (7): 617-623.

KENNEDY, MC; LAWRENCE, C. Anabolic steroid abuse and cardiac death. *Med J Aust*. 1993; 158: 346-348.

KOCHAKIAN, CD; ENDAHL, BR. Changes in body weight of normal and castrated rats by different doses of testosterone propionate. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1959; 100: 520-522.

KRAYER, O (1961). The history of the Bezold-Jarisch effect. *Naunyn-Schmiedeberg's Archiv fur Experimentelle Patologie und Pharmakologie*. 1961; 240: 361-368.

KRIEGER, EM; SALGADO, HC; MICHELINI, LC. Resetting of the barorreceptores. *Cardiovascular Physiology*. 1982; 26: 119-146.

LANG, CC; STRUTHERS, AD. Interactions between atrial natriuretic factor and the autonomic nervous system. *Clinical Autonomic Research*. 1992; 5: 488-493.

LEE, TT; CHENG, BH; TSAI, EM; YANG, CH; CHANG, Y; LI, S; LEE, JN. Chronic administration of atrial natriuretic peptide reduces testosterone production of testes in mice. *J Androl*. 2003; 24(6): 912-917.

LEVY, MN. Sympathetic-parasympathetic interactions in the heart. *Circ Res*. 1971; 437-445.

LERNER, DJ; KANNEL, WB. Patterns of coronary heart disease morbidity and mortality in the sexes: a 26-year follow-up of the Framingham population. *American Heart Journal*. 1986; 111: 383-390.

LEWIS, MI; HORVITZ, GD; CLEMMONS, DR; FOURNIER, M. Role of IGF-I and IGF-binding proteins within diaphragm muscle in modulating the effects of nandrolone. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2002; 282(2):E483-490

LIM, YK; RETNAM, L; BHAGAVATH, B; SETHI, SK; BIN ALI, A; LIM, SK. Gonadal effects on plasma ACE activity in mice. *Atherosclerosis*. 2002; 160(2): 311-6.

LINDBLOM, J; KINDLUNDH, AMS; NYBERG, F; BERGSTRÖM, L; WIKBERG, JES. Anabolic androgenic steroid nandrolone decanoate reduces hypothalamic proopiomelanocortin mRNA levels. *Brain Res.* 2003; 139-147.

LIU, PY; DEATH, AK; HANDELSMAN, DJ. Androgens and cardiovascular disease. *Endocrine Reviews.* 2003; 24(3): 313-340.

MANCIA, G; DONALD, DE; SHEPHERD, JT. Inhibition of adrenergic outflow to peripheral blood vessels by vagal afferents from the cardiopulmonary region in the dog. *Circulation Research.* 1973; 32 :9-14.

MANCIA, G; DONALD, DE. Demonstration that the atria, ventricles and lungs each are responsible for a tonic inhibition of the vasomotor center in the dog. *Circulation Research.* 1975; 36: 310-318.

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

MARSH, JD; LEHMANN, MH; RITCHIE, RH; GWATHMEY, JK; GREEN, GE; SCHIEBINGER, RJ. Androgen Receptors mediate hypertrophy in cardiac myocytes. *Circulation.* 1998; 98: 256-261.

MARK, AL; MANCIA, G. Cardiopulmonary baroreflexes in humans, in Sheferd JT, Abboud FM (eds): Handbook of Physiology, Section 2: The Cardiovascular System, Volume III, Part 2. Bethesda, Md, *American Physiological Society.* 1988 p795-813.

MARTINEZ-MALDONADO, M. Pathophysiology of renovascular hypertension. *Hypertension.* 1991; 17:707-719

MEYRELLES, SS; MILL, JG; CABRAL, AM; VASQUEZ, EC. Cardiac baroreflex properties in myocardial infarcted rats. *Journal of the Autonomic Nervous System.* 1996; 60: 163-168.

MEYRELLES, SS; BERNARDES, CF; MODOLO, RP; MILL, JG; VASQUEZ, EC. Bezold-Jarisch reflex in myocardial infarcted rats. *Journal of the Autonomic Nervous System*. 1997; 63: 144-152

MEYRELLES, SS; MAUAD, H; MATHIAS, SC; CABRAL, AM; VASQUEZ, EC. Effects of myocardial hypertrophy on neural reflexes controlling cardiovascular function. *Journal Autonomic Nervous System*. 1998; 73(2-3): 135-142.

MITCHELL, KD; NAVAR, LG. Intrarenal actions of angiotensin II in the pathogenesis of experimental hypertension. In: Laragh JH; Brenner BM (eds.) *Hypertension, Pathophysiology, Diagnosis and Management*. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Raven press. 1995: 1437-1450.

MOHAMED, MK; EL-MAS, MM; ABDEL-RAHMAN, AA. Estrogen enhancement of baroreflex sensitivity is centrally mediated. *Am J Physiol*. 1999; 276(45):R1030-1037.

MONKS, DA; KOPACHILK, W; BREEDLOVE, SM; JORDAN, CL. Anabolic responsiveness of skeletal muscles correlates with androgen receptor protein but not mRNA. *Canad J Physiol Pharmacol*. 2006; 84: 273-277.

MORGAN, HE; BAKER, KM. Cardiac hypertrophy: mechanical, neural and endocrine dependence. *Circulation*. 1991; 83: 13-25.

MUERS, MF; SLEIGHT, P. The reflex cardiovascular depression, caused by occlusion of the coronary sinus in the dog. *Journal of Physiology (Lond)*. 1972; 221: 259-282.

NIDA – National Institute on Drug Abuse. Research report series: Anabolic steroid abuse (2000) [Online]. U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health. <http://www.nida.nih.gov/PDF/RRSteroi.pdf> [10 Jul. 2007]

PAINTAL, AS. A study of ventricular pressure receptors and their role in the Bezold-Jarisch reflex. *Q J exp Physiol*. 1955; 40: 348-363.

PARDRIDGE, WM; MIETUS, LJ. Transport of Steroid Hormones through the Rat Blood-Brain Barrier. *J Clin Invest.* 1979; 64: 145-154.

PARKINSON, AB; EVANS, NA. Anabolic androgenic steroid: a survey of 500 users. *Med Sci Sports Exerc.* 2006; 38: 644-651.

PARSONS, JK; CARTER, HB; LANDIS, P; WRIGHT, EJ; PLATZ, E; METTER, J. Higher serum free testosterone is associated with an increased risk of prostate cancer: results from the Baltimore longitudinal study on aging. *Ann Meet Am Urol Soc San Francisco.* 2004.

PAYNE, JR; KOTWINSKI, PJ; MONTGOMERY, HE. Cardiac effects of anabolic steroids. *Heart.* 2004; 90: 473-475

PEREIRA-JUNIOR, PP; CHAVES, EA; COSTA-E-SOUSA, RH; MASUDA MO; CARVALHO, ACC; NASCIMENTO, JHM. Cardiac autonomic dysfunction in rats chronically treated with anabolic steroid. *Eur J Appl Physiol.* 2006; 96: 487-494.

PEULER, JD; EDWARDS, GL; SCHMID PG; et al. Area postrema and differential reflex effects of vasopressin and phenylephrine in rats. *Am J Physiol.* 1990; 258: H1255-1259.

PFEFFER, MA. Left ventricular remodeling after acute myocardial infarction. *Annu Ver Med.* 1995; 46: 455-466.

POULIOT, WA; HANDA, RJ; BECK, SG. Androgen modulates N-methyl-D-aspartate-mediated depolarization in CA1 hippocampal pyramidal cells. *Synapse.* 1996; 138: 778-789.

RECKELHOFF, JF; ZHANG, H; GRANGER, JP. Testosterone exacerbates hypertension and reduces pressure-Natriuresis in male Spontaneously Hypertensive Rats. *Hypertension.* 1998; 31[part 2]: 435-439.

RECKELHOFF, JF; ZHANG, H; SRIVASTAVA, K; GRANGER, JP. Gender Differences in Hypertension in Spontaneously Hypertensive Rats: Role of Androgens and Androgen Receptor. *Hypertension*. 1999; 34[part 2]: 920-923.

RECKELHOFF, JF; ZHANG; SRIVASTAVA, K. Gender Differences in Development of Hypertension in Spontaneously Hypertensive Rats: Role of the Renin-Angiotensin System. *Hypertension*. 2000; 35[part 2]: 480-483.

ROCHA, I; ROSÁRIO, LB; DE OLIVEIRA, EI; BARROS, MA; SILVA-CARVALHO, L. Enhancement of carotid chemoreceptor reflex and cardiac chemosensitive reflex in the acute phase of myocardial infarction of the anesthetized rabbit. *Basic Research Cardiology*. 2003; 98: 175-180.

ROCKHOLD, RW. Cardiovascular toxicity of anabolic steroid. *Annu Ver Pharmacol Toxicol*. 1993; 33: 497-520.

SALEH, TM; CONNELL, BJ. Role of 17 $\beta$ -estradiol in the modulation of baroreflex sensitivity in male rats. *Am J Physiol*. 1998; 275(44): R770-778.

SALMOIRAGHI, GC; PAGE, IH; McCUBBIN, JW. Cardiovascular and respiratory response to intravenous serotonin in rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1956; 118:477-481.

SCHULTZ, HD; GARDNER, DG; DESCHEPPER, CF; COLERIDGE, HM; COLERIDGE, JC. Vagal C-fiber blockade abolishes sympathetic inhibition by atrial natriuretic factor. *American Journal of Physiology*. 1988; 255: R6-R13.

SHAHIDI, NT. A Review of the Chemistry, Biological Action, and Clinical Applications of Anabolic-Androgenic Steroids. *Clin Therap*. 2001; 23(9): 1355-1390.

SHARE, L; CROFTON, JT; OUCHI, Y. Vasopressin: sexual dimorphism in secretion, cardiovascular actions and hypertension. *Am J Med Sci*. 1998; 295: 314-319.

SIMERLY, RB; CHANG, C; MURAMATSU, M; et al. Distribution of androgen and estrogen receptor mRNA-containing cells in the rat brain: an in situ hybridization study. *J Comp Neurol*. 1990; 294: 76-95.

SPYER, KM. Central nervous integration of cardiovascular control. *Journal of Experimental Biology*. 1982; 100: 109-128.

STIMAC, D; MILIC, S; DINTINJANA, RD; KOVAC, D; RISTIC, S. Androgenic/Anabolic steroid-induced toxic hepatitis. *J Clin Gastroenterol*. 2002; 35(4): 350-352.

SULLIVAN, ML; MARTINEZ, CM; GENNIS, P; GALLAGHER, EJ. The cardiac toxicity of anabolic steroids. *Prog Cardiovasc Dis*. 1998; 41: 1-15

TAKAHASHI, M; TATSUGI, Y; KOHNO, T. Endocrinological and pathological effects of anabolic-androgenic steroid in male rats. *Endocr J*. 2004; 51(4): 425-434.

TAKAHASHI, M; TATSUGI, Y; KOHNO, T. The effect of anabolic-androgenic steroid administered in male rats. *International Budo Univ J*. 1999; 15: 57-64.

TAMAKI, T; SHIRAIISHI, T; TAKEDA, H; et al. Nandrolone decanoate enhances hypothalamic biogenic amines in rats. *Med Sci Sports Exercise*. 2003; 35: 32-38.

THOMAS, CJ; RANKIN, AJ; HEAD, GA; WOODS, RL. ANP enhances bradycardic reflexes in normotensive but not SHR. *Hypertension*. 1997; 29: 1126-1132.

THOMAS, CJ; HEAD, GA; WOODS, RL. ANP and bradycardic reflexes in hypertensive rats: influence of cardiac hypertrophy. *Hypertension*. 1998; 32: 548-555.

THOMAS, CJ; HEAD, GA; WOODS, RL. Similar baroreflex bradycardic actions of atrial natriuretic peptides in conscious rats. *Journal of Hypertension*. 1999; 17: 801-806.



THOMAS, CJ; MAY, CN; SHARMA, AD; WOODS, RL. ANP, BNP and CNP enhance bradycardic responses to cardiopulmonary chemoreceptors activation in conscious sheep. *American Journal of Physiology*. 2001; 280: 282-288.

THÓREN, P. Role of cardiac vagal C-fibers in cardiovascular control. *Ver Physiol Biochem Pharmacol*. 1979; 86: 1-94.

TOIT, EF; ROSSOUW, E; ROOYEN, JV; LOCHNER, A. Proposed mechanisms for the anabolic steroid-induced increase in myocardial susceptibility to ischemia/reperfusion injury. *Cardiovasc J S Afr*. 2005; 16: 21-28.

TRIFUNOVIC, B; NORTON, GR; DUFFIELD, MJ; AVRAAM, P; WOODIWISS, AJ. An androgenic steroid decreases left ventricular compliance in rats. *Am J Physiol*. 1995; 268: H1096–1105.

UGGERE, TA; SAMPAIO, KN; ABREU, GR; CABRAL, AM; BISSOLI, NS. The cardiopulmonary reflexes of spontaneously hypertensive rats are normalized after regression of left ventricular hypertrophy and hypertension. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2000; 33: 589-594.

URHAUSEN, A; HOPLES, R; KINDERMANN, W. One- and two-dimensional echocardiography in bodybuilders using anabolic steroids. *Eur J Appl Physiol*. 1989; 58: 633-640.

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

VAN GIERSBERGEN, PLM; PALKOVITS, M; DE JONG, W. Involvement of neurotransmitters in the nucleus tractus solitarius in cardiovascular regulation. *Physiol Rev*. 1992; 72: 789-824.

VASQUEZ, EC; LEWIS, SJ; VARNER, KJ; BRODY, MJ. Chronic lesions of rostral ventrolateral medulla in SHR. *Hypertension*. 1992; 19 (supl. II):II-154 – II-158.

VASQUEZ, EC; BERNARDES, CF; MODOLO, RP; MILL, JG. Cardiopulmonary and baroreceptor reflexes in rats with chronic myocardial infarction. *Hypertension*. 1993; 21:544.

VASQUEZ, EC. Contribution of the cardiopulmonary reflex to the cardiovascular regulation in normal and pathophysiological states. *Brazilian Journal of Medical and Biological research*. 1994; 27: 1049-1064.

VASQUEZ, EC; MEYRELLES, SS; MAUAD, H; CABRAL, AM. Neural reflex regulation of arterial pressure in pathophysiological conditions: interplay among the baroreflex, the cardiopulmonary reflexes and the chemoreflex. *Brazilian Journal of Medical and Biological research*. 1997; 30: 521-532.

WARD, GR; ABDEL-RAHMAN, AA. Effect of testosterone replacement or duration of castration on baroreflex bradycardia in conscious rats. *BMC Pharmacol*. 2005 30; 5(1):9.

WARD, GR; ABDEL-RAHMAN, AA. Orchirctomy or androgen receptor blockade attenuates baroreflex-mediated bradycardia in conscious rats. *BMC Pharmacol*. 2006 23;6:2.

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

WOODIWISS, AJ; TRIFUNOVIC, B; PHILIPPIDES, M; NORTON, GR. Effects of an androgenic steroid on exercise-induced cardiac remodeling in rats. *J Appl Physiol*. 2000; 88: 409–415.

WOODS, RL; COURNEYA, CA; HEAD, GA. Nonuniform enhancement of baroreflex sensitivity by atrial natriuretic peptide in conscious rats and dogs. *American Journal of Physiology*. 1994; 267: R678-R686.

XIE, D; NARASIMHAN, P; ZHENG, YW; DEWEY, MJ; FELDER, MR. Ten kilobases of 5'-flanking region confers proper regulation of the mouse alcohol dehydrogenase-1 (Adh-1) gene in kidney and adrenal of transgenic mice. *Gene*. 1996; 181: 173-178.

YU-YAHIRO, JA; MICHAEL, RH; NASRALLAH, DV; SCHOFIELD, B. Morphological and histologic abnormalities in female and male rats treated with anabolic steroid. *Am J Sports Med*. 1989; 17: 686-689.

ZANCHETTI, A; MANCIA, G. Cardiovascular reflexes and hypertension. *Hypertension*. 1991; 18 (supl.III): III-13 – III-21.