

**ENALAPRIL PREVINE ALTERAÇÕES
CARDIOVASCULARES PROMOVIDAS PELO TRATAMENTO
CRÔNICO COM DOSES SUPRAFISIOLÓGICAS DE
DECANOATO DE NANDROLONA EM RATOS
SEDENTÁRIOS**

LEONARDO ZANOTELI LOIOLA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

**Mestrado em Ciências Fisiológicas
Universidade Federal do Espírito Santo**

Vitória, Novembro de 2011



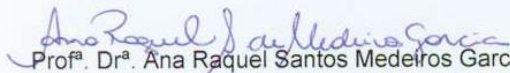
UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas

REGISTRO DE JULGAMENTO DA DEFESA PÚBLICA DE DISSERTAÇÃO DO CANDIDATO AO GRAU DE MESTRE PELO PPGCF/CCS/UFES

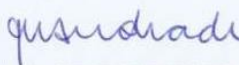
Nº Matrícula do Candidato: 2009130022

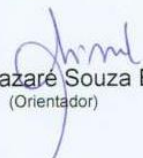
A Comissão Julgadora que examinou a Dissertação Pública de Mestrado, intitulada **“Enalapril previne alterações cardiovasculares promovidas pelo decanoato de nandrolona em ratos”**, apresentada e defendida pelo aluno **Leonardo Zanoteli Loiola**, no dia 11 de novembro de 2011 às 09:00h. decidiu aprovar a referida dissertação de Mestrado e, portanto, declara que a aluna faz jus à obtenção do Grau de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Vitória – ES, 11 de novembro de 2011.


Profª. Drª. Ana Raquel Santos Medeiros Garcia


Prof. Dr. Wellington Lunz


Prof. Dr. Tadeu Uggere de Andrade


Profª. Drª. Nazare Souza Bissoli
(Orientador)

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

Vitória, Novembro de 2011

Leonardo Zanoteli Loiola, 1984

ENALAPRIL PREVINE ALTERAÇÕES CARDIOVASCULARES PROMOVIDAS PELO TRATAMENTO CRÔNICO COM DOSES SUPRAFISIOLÓGICAS DE DECANOATO DE NANDROLONA EM RATOS SEDENTÁRIOS. [Vitória], 2011 xi , 53 p., 27,3 cm (UFES, M. Sc, Ciências Fisiológicas, 2011)

Dissertação, Universidade Federal do Espírito Santo, PPGCF

I. Esteróides anabólicos androgênicos II. Hipertrofia cardíaca III. Reflexo Bezold-Jarisch 4. Enalapril

Dedico aos meus pais, irmãos e amigos. E em especial à minha querida companheira, Samira, pela força e incentivo.

AGRADECIMENTOS

À Deus, fonte de vida e luz para meus caminhos, que me orienta, fortalece e me dá a sabedoria de entender o quanto ainda tenho a aprender.

Aos meus pais, Adoris e Jucélia, por todo o esforço, carinho e dedicação, por tudo que me ofereceram em toda minha vida.

À minha amiga, Samira, que esteve comigo durante esta jornada, me deu força e sustentação para que seguisse firme em busca do meu objetivo. Obrigado pelo amor e dedicação.

À Profª Drª Nazaré Souza Bissoli, por me orientar não somente para o mestrado, mas para a vida. Obrigado por seus conselhos, companhia e por compartilhar seus conhecimentos comigo.

Ao Prof. Dr. Tadeu Uggere Andrade, que me proporcionou o conhecimento e ingresso neste programa, e por ter acreditado em mim mesmo quando pouco tinha a oferecer. Obrigado por ter me dado a força para acreditar em mim mesmo.

Aos alunos que participaram do laboratório comigo e muito contribuíram para meu mestrado: Aline, Ana, Izabela, Phablo e Polyana.

A todos os professores e colegas deste Programa de Pós-Graduação.

À minha família e amigos que souberam entender a minha ausência pelo comprometimento com o desenvolvimento do mestrado.

SUMÁRIO

	Página
Lista de Tabelas	7
Lista de Figuras	8
Lista de Abreviaturas e/ou Siglas	9
RESUMO	10
ABSTRACT	12
1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	20
2.1 OBJETIVO GERAL	20
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
3 MATERIAIS E MÉTODOS	21
3.1 ANIMAIS EXPERIMENTAIS	21
3.2 TRATAMENTO E ADMINISTRAÇÃO DO ESTERÓIDE ANABÓLICO ANDROGÊNICO	21
3.3 TRATAMENTO E ADMINISTRAÇÃO DE ENALAPRIL	22
3.4 GRUPOS EXPERIMENTAIS	22
3.5 PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS E REGISTROS HEMODINÂMICOS	23
3.6 AVALIAÇÃO DO REFLEXO BEZOLD-JARISCH	23
3.7 AVALIAÇÃO DO PESO CORPORAL	23
3.8 AVALIAÇÃO DA HIPERTROFIA CARDÍACA, PROSTÁTICA E RENAL	24
3.9 ANÁLISE HISTOLÓGICA DOS CARDIOMIÓCITOS	24
3.10 PROTOCOLO EXPERIMENTAL	24
3.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA	25
4 RESULTADOS	26
4.1 DADOS HEMODINÂMICOS	26
4.2 AVALIAÇÃO DO REFLEXO BEZOLD-JARISCH	27
4.3 AVALIAÇÃO DA HIPERTROFIA CARDÍACA, PROSTÁTICA E RENAL	30
4.4 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DOS CARDIOMIÓCITOS	31

4.5 PESO CORPORAL DOS ANIMAIS	33
5 DISCUSSÃO E CONCLUSÃO	34
6 REFERÊNCIAS	44

Lista de Tabelas

	Páginas
Tabela 1. Influência do tratamento crônico com o Decanoato de Nandrolona (DN) sobre a pressão arterial media (PAM) e frequência cardíaca (FC).	25
Tabela 2. Percentual de queda reflexa da pressão arterial diastólica (PAD) induzida por doses crescentes de serotonina (5-HT) nos ratos controle (CON e CONE) e tratados com decanoato de nandrolona (DECA e DECAE).	27
Tabela 3. Percentual de queda reflexa da frequência cardíaca (FC) induzida por doses crescentes de serotonina (5-HT) nos ratos controle (CON e CONE) e tratados com decanoato de nandrolona (DECA e DECAE).	27
Tabela 4. Relação do peso úmido do coração (COR) e próstata (PROST), pelo peso corporal (PC) dos grupos controle (CON e CONE) e tratados com decanoato de nandrolona (DECA e DECAE).	29
Tabela 5. Peso corporal inicial (PCI), peso corporal final (PCF), variação do peso corporal (Δ PC) e porcentagem de aumento do peso(%) dos animais controle (CON e CONE) e tratados com decanoato de nandrolona (DECA e DECAE) após oito semanas.	32

Lista de Figuras

	Páginas
Figura 1. Valores basais da pressão arterial média (PAM) do grupo controle (CON e CONE) e dos grupos tratados (DECA e DECAE) após oito semanas de tratamento com decanoato de nandronola. **p<0,01 nos animais DECA em relação aos CON, CONE e DECA.	26
Figura 2. Avaliação do reflexo Bezold-Jarisch através da queda da pressão arterial diastólica (PAD) e frequência cardíaca (FC) frente à administração intravenosa de serotonina nos grupos controle (CON e CONE) e nos grupos tratados (DECA e DECAE), após oito semanas de tratamento com decanoato de nandronola. **p<0,01 nos animais DECA em relação aos CON, CONE e DECAE	28
Figura 3. Registro típico do efeito da administração (16µg.Kg ⁻¹) de serotonina (5-HT) sobre os parâmetros hemodinâmicos dos animais CON (A), CONE (B), DECA (C) e DECAE (D). As setas indicam o momento da injeção de 5-HT <i>in bolus</i> . PAP: pressão arterial pulsátil; FC: frequência cardíaca.	29
Figura 4. Relação do peso úmido do coração (COR), rins e próstata (PROST), pelo peso corporal (PC) dos grupos controle (CON e CONE) e tratados com decanoato de nandrolona (DECA e DECAE). **p<0,01 nos animais DECA em relação aos CON, CONE e DECAE	30
Figura 5. Superior: Corte histológico do coração dos animais do grupo CON(A), CONE(B), DECA (C) e DECAE (D). Inferior: Contagem de núcleos dos miócitos em animais controle (CON e CONE) e tratados (DECA e DECAE). **p<0,01 nos animais DECA em relação aos CON, CONE e DECAE	31

Lista de Abreviaturas e/ou Siglas

5HT: Serotonina

COR: Coração

CON: Grupo controle

CONE: Grupo controle com enalapril

DECA: Grupo tratado

DECAE: Grupo tratado mais enalapril

DN: Decanoato de nandrolona

EAA: Esteróides anabólicos androgênicos

ECA: Enzima Conversora de Angiotensina

FC: Frequência cardíaca

PA: Pressão Arterial

PAM: Pressão Arterial Média

PC: Peso Corporal

PROST: Próstata

RA: Receptores de androgênios

RBJ: Reflexo Bezold-Jarisch

SHR: Ratos espontaneamente hipertensos

SNC: Sistema Nervoso Central

SRA: Sistema renina angiotensina

VE: Ventrículo esquerdo

RESUMO

O decanoato de nandrolona (DN) induz anormalidades cardiovasculares, como atenuação do reflexo Bezold-Jarisch (RBJ), hipertrofia cardíaca e elevação da pressão arterial média (PAM), e uma relação entre androgênios e o sistema renina angiotensina (SRA) tem sido reportada.

Objetivo: O propósito deste estudo foi avaliar a influência do SRA nas alterações do RBJ, hipertrofia cardíaca e prostática e elevação da PAM, promovidas pelo DN.

Métodos: Ratos Wistar machos foram tratados com decanoato de nandrolona (DECA; 10mg.Kg.PC⁻¹.semana⁻¹) and nandrolona plus enalapril (DECAE; 10mg.Kg.PC⁻¹.dia⁻¹) ou veículo (animais controle; CON e CONE). Após 8 semanas de tratamento, o Reflexo Bezold-Jarisch foi avaliado pela resposta bradicardica provocada pela administração de serotonina (2-32 µg.Kg⁻¹). A pressão arterial média foi acessada e a hipertrofia cardíaca foi determinada pela razão peso do coração por peso corporal.

Resultados: Após oito semanas, ratos wistar tratados com DN apresentaram elevação da PAM, e o enalapril foi capaz de normalizá-la (CON = 98±1; CONE = 97±2; DECA = 109±2**; DECAE = 99±1 mmHg). Este mesmo comportamento foi verificado quanto a hipertrofia cardíaca (CON = 2,52±0,05; CONE = 2,47±0,08; DECA = 2,78±0,06**; DECAE = 2,49±0,07) e prostática (CON = 1,23±0,17; CONE = 1,23±0,09; DECA = 1,78±0,17**; DECAE = 1,36±0,14). Observamos ainda prejuízo no controle reflexo da frequência cardíaca pelo RBJ nas doses de 8, 16 e 32µg.Kg⁻¹ de 5-HT (S 8µg.Kg⁻¹: CON=-42±7%, CONE=-40±3%, DECA=-32±2%*, DECAE=-41±2%; S 16µg.Kg⁻¹: CON=-54±4%, CONE=-55±6%, DECA=-44±2%, DECAE=-53±2%; S 32µg.Kg⁻¹: CON=-71±3%, CONE=-68±2%, DECA=-59±2%, DECAE=-68±2%, **p<0,01 *p<0,05 dos animais DECA em relação aos grupos CON, CONE e DECAE) e da PAD nas doses de 16 e 32µg.Kg⁻¹ de 5-HT (S 16µg.Kg⁻¹: CON=-67±4%, CONE=-68±3%, DECA=-51±2%, DECAE=-63±3%; S 32µg.Kg⁻¹: CON=-81±2%, CONE=-75±3,2%, DECA=-62±3,1%, DECAE=-72±3,4%, **p<0,01 *p<0,05 dos animais DECA em relação aos grupos CON, CONE e DECAE) que também foi normalizado pelo co-tratamento com enalapril.

Conclusão: Nossos resultados indicam que o enalapril é capaz de normalizar a PAM e o prejuízo na sensibilidade do RBJ, assim como prevenir o desenvolvimento de hipertrofia cardíaca e prostática em ratos cujas alterações são decorrentes do tratamento com DN.

ABSTRACT

Nandrolone decanoate (ND) induces cardiovascular abnormalities, such as attenuation of the Bezold-Jarisch Reflex (BJR), cardiac hypertrophy and elevation of mean arterial pressure (MAP), and a relationship between androgens and the renin-angiotensin system (RAS) has been reported.

Objective: The purpose of this study was to evaluate the influence of RAS on the alterations in BJR, cardiac and prostatic hypertrophy and MAP evoked by ND.

Methods: Male Wistar rats were treated with nandrolone decanoate (DECA; 10 mg/kg body.eight.week), and nandrolone plus enalapril (10 mg/kg body weight.day; DECAE) or vehicle (control animals; CON and CONE). After 8 weeks of treatment, the BJR was evaluated by bradycardia response elicited by serotonin administration ($2\text{--}32\text{ }\mu\text{g.kg}^{-1}$). Mean arterial pressure (MAP) was assessed and cardiac hypertrophy was determined by the heart weight/body weight (HW/BW) ratio.

Results: After eight weeks, Wistar rats treated with Nandrolone Decanoate showed increase on the mean arterial pressure, and enalapril was able to normalize it (CON = 98 ± 1 ; CONE = 97 ± 2 ; DECA = $109\pm 2^{**}$; DECAE = 99 ± 1 mmHg). This same behavior was verified on cardiac (CON = $2,52\pm 0,05$; CONE = $2,47\pm 0,08$; DECA = $2,78\pm 0,06^{**}$; DECAE = $2,49\pm 0,07$) and prostatic (CON = $1,23\pm 0,17$; CONE = $1,23\pm 0,09$; DECA = $1,78\pm 0,17^{**}$; DECAE = $1,36\pm 0,14$) hypertrophy. We also observed impairment in the BJR control of heart rate on the 8, 16 and 32 of 5-HT doses (S $8\mu\text{g.Kg}^{-1}$: CON= $-42\pm 7\%$, CONE= $-40\pm 3\%$, DECA= $-32\pm 2\%^*$, DECAE= $-41\pm 2\%$; S $16\mu\text{g.Kg}^{-1}$: CON= $-54\pm 4\%$, CONE= $-55\pm 6\%$, DECA= $-44\pm 2\%$, DECAE= $-53\pm 2\%$; S $32\mu\text{g.Kg}^{-1}$: CON= $-71\pm 3\%$, CONE= $-68\pm 2\%$, DECA= $-59\pm 2\%$, DECAE= $-68\pm 2\%$, $^{**}p<0,01$ $^*p<0,05$ DECA animals related to CON, CONE and DECAE groups) and PAD on the 16 and 32 of 5-HT doses that also had been normalized in associated treatment with enalapril(S $16\mu\text{g.Kg}^{-1}$: CON= $-67\pm 4\%$, CONE= $-68\pm 3\%$, DECA= $-51\pm 2\%$, DECAE= $-63\pm 3\%$; S $32\mu\text{g.Kg}^{-1}$: CON= $-81\pm 2\%$, CONE= $-75\pm 3,2\%$, DECA= $-62\pm 3,1\%$, DECAE= $-72\pm 3,4\%$, $^{**}p<0,01$ $^*p<0,05$ DECA animals related to CON, CONE and DECAE groups).

Conclusions: Our results suggest that enalapril was able to normalize the MAP and the sensibility impairment of BJR, as well as prevent the development of cardiac and prostatic hypertrophy in rats whose alterations was resulted by nandrolone decanoate treatment.

1 INTRODUÇÃO

Androgênios são esteróides de caráter lipofílico que atravessam facilmente a membrana plasmática (HALL & HALL, 2005), dessa forma possuem capacidade de exercer efeitos em diversas partes do corpo, que incluem tecidos reprodutores, musculares e ósseos, órgãos como fígado e rins, além de sistemas como hematopoiético, imunológico e nervoso (MOORANDIAN et al., 1987).

Os efeitos destes hormônios são classificados em androgênicos e anabólicos, quando associados à masculinização e síntese protéica, respectivamente. Os primeiros são caracterizados pelo desenvolvimento do aparelho reprodutor masculino e das características sexuais secundárias, como redução do tom vocal, crescimento de terminais pilosos na face e aumento da agressividade e libido. Os efeitos anabólicos incluem fixação de nitrogênio, inibição da degradação protéica e crescimento muscular e ósseo. Por isso, os androgênios são essenciais à manutenção da função reprodutora e do esqueleto muscular e ósseo, além de participarem da função cognitiva e da sensação de bem estar (KICMAN, 2008; SHAHIDI, 2001; HARTGENS & KUIPERS, 2004).

O principal androgênio secretado no homem é a testosterona, cuja produção se dá em 95% pelas células de Leydig, localizadas nos testículos, e em menor quantidade pelo córtex da supra-renal, em ambos os sexos (LIU et al., 2003; HARTGENS & KUIPERS, 2004). Após secretada, a testosterona difunde-se facilmente pela membrana plasmática nos tecidos, onde exerce seus efeitos através da ligação intracelular com o receptor androgênico formando um complexo que se desloca ao núcleo ativando e inibindo a transcrição de determinados genes (LIU et al., 2003). Este mecanismo clássico é denominado genômico e possui ação lenta. Entretanto, a testosterona também exerce respostas rápidas, não genômicas, como elevação dos níveis de cálcio intracelular e ações centrais como o aumento da agressividade (FORADORI et al., 2008; KICMAN, 2008).

Os efeitos dos androgênios podem ser modulados em nível celular pelas enzimas conversoras que promovem a metabolização destas substâncias e em nível molecular pela distribuição e modulação dos receptores androgênicos (HEINLEIN &

CHANG, 2002b; WOLF & OBENDORF, 2004). Os últimos estão presentes e realizam diferentes funções em vários tecidos (MOORADIAN et al., 1987), promovendo diversas respostas no organismo. Na busca por ações mais específicas e que favorecessem o efeito anabólico em detrimento do androgênico, foram desenvolvidos os esteróides anabólico-androgênicos (EAA), substâncias sintéticas análogas estruturais à testosterona (SHAHIDI, 2001; MARAVELIAS et al., 2005).

Os EAA são largamente utilizados na reposição hormonal de pacientes com hipogonadismo. Também possuem aplicações na terapia de trauma, queimaduras, cirurgia, terapia radioativa, e mais recentemente no tratamento de doenças debilitantes, caquexia decorrente da falência renal crônica, cirrose hepática, câncer e doença pulmonar (BASARIA et al., 2001).

Embora possuam aplicações clínicas, a capacidade anabólica destas substâncias, de promover hipertrofia dos músculos esqueléticos (BHASIN et al., 1996), tornou-as alvo de utilização por atletas profissionais e amadores em busca de desempenho esportivo e estética (HARTGENS & KUIPERS, 2004). Pesquisas revelaram que quatro de cinco usuários são não atletas e fazem uso de grandes doses de EAA com intuito específico de conquistar aparência física. O uso excessivo destas drogas se tornou um caso de saúde pública, e levou a países como Reino Unido, Estados Unidos e Brasil a adotarem medidas de restrição ao uso destas substâncias através do controle sobre suas comercializações (HERMANSSON, 2002; CRAMER, 2005).

O decanoato de nandrolona é um dos EAA mais consumidos no mundo (NIDA, 2000) e possui configurações estruturais semelhantes às da testosterona, derivada do cicloperidrofenantreno, composto por 19 átomos de carbono, nos quais existem radicais metila nas posições C10 e C13, grupo cetônico no C3, e uma hidroxila no C17. A substituição do grupo metil no C19 pelo hidrogênio e a esterificação do grupo hidroxila com um ácido decanóico permitiu a síntese do decanoato de nandrolona (SHAHIDI, 2001).

O uso dos EAA de forma ilegal potencializa o risco de reações adversas que incluem fechamento prematuro das epífises ósseas, ginecomastia, aumento nos níveis de

colesterol LDL e redução de colesterol HDL, irritabilidade, agressividade, atrofia testicular, acne, e desordens no sistema cardiovascular (KICMAN, 2008).

Embora os receptores androgênicos sejam necessários ao desenvolvimento do coração e mediação de respostas bradicardicas (EL-MAS et al., 2001), a presença destes está relacionada ao desenvolvimento de patologias no sistema cardiovascular (MARSH et al., 1998) como hipertensão, embolismo pulmonar, cardiomiopatias, arritmias, hipertrofia cardíaca, fibrose ventricular, insuficiência cardíaca, infarto do miocárdio e morte súbita cardíaca (KENNEDY & LAWRENCE, 1993; SULLIVAN et al., 1998; FINESCHI et al., 2001; LIU et al., 2003; KICMAN, 2008).

Consideradas desequilíbrios do sistema cardiovascular, diversas doenças são relacionadas às desordens nos sistemas regulatórios da circulação (GUYTON et al., 1969). O controle neural do sistema cardiovascular é um dos mecanismos de manutenção da homeostasia cardiovascular, proporcionando níveis pressóricos adequados, que são necessários à perfusão de sangue nos tecidos (VASQUEZ, 1994). O reflexo cardiovascular mais amplamente discutido e relacionado com fisiopatologias cardíacas, inclusive a androgênios, é o baroreflexo (EL-MAS et al., 2001; BEUTEL et al., 2005; WARD & ABDEL-RAHMAN et al., 2005; WARD & ABDEL-RAHMAN et al., 2006). Entretanto, Zanchetti & Mancia apresentaram a importância de outro reflexo cardiopulmonar no controle da circulação, o reflexo Bezold-Jarisch (RBJ) (ZANCHETTI & MANCIA, 1991), que interage com o baroreflexo complementando o controle da pressão arterial (OBERG, 1973).

Ativado por quimioceptores localizados, principalmente, no ventrículo esquerdo e sensíveis a fenilbiguanida e serotonina (SALMOIRAGHI et al., 1956; KRAYER, 1961; COLERIDGE et al., 1964; FOZARD, 1982), o RBJ é dotado de uma via aferente composta por fibras C não-mielinizadas (DONALD, 1978; THÓREN, 1979) e caracteriza-se por uma resposta hipotensora, resultado da inativação da medula ventro-lateral rostral que reduz o tônus simpático eferente ao coração e vasos sanguíneos, e outra bradicárdica, conseqüente a ativação do núcleo ambíguo que ativa o nervo vagal eferente (THÓREN, 1979).

Beutel e col demonstraram prejuízo na sensibilidade do baroreflexo via reposta de bradicardia em ratos após o tratamento com doses suprafisiológicas de EAA por 8 semanas (BEUTEL et al., 2005). Similarmente, estudos desenvolvidos por nosso laboratório e únicos a relacionarem EAA aos reflexos cardiopulmonares, demonstraram a capacidade do tratamento de DN em ratos por 8 semanas em promover prejuízo na sensibilidade do RBJ através do estabelecimento da hipertrofia cardíaca, elevação da PAM e hipertrofia cardíaca, que é conhecida por influenciar negativamente o ganho de receptores pulmonares (VASQUEZ et al., 1993; MEYRELLES et al., 1998; BISSOLI et al., 2000; UGGERE et al., 2000; ANDRADE et al., 2007; BISSOLI et al., 2009). Entretanto, o tratamento realizado por 4 semanas não foi capaz de alterar a resposta bradicárdica realizada pelo RBJ, embora tenha sido suficiente para estabelecer um quadro de hipertrofia (ANDRADE et al., 2008).

Não só o controle neural, mas também o humoral é importante sobre o controle do sistema cardiovascular. A angiotensina (Ang) II atuando em receptores específicos regula a contratilidade cardíaca, comunicação celular e propagação do potencial de ação cardíaco. Adicionalmente, Ang II está envolvida com remodelamento cardíaco levando tanto a hipertrofia quanto a apoptose cardíaca (MELLO, 2000).

A via de produção da Ang II se inicia com a síntese do angiotensinogênio pelo fígado e segue com a clivagem deste peptídeo pela renina plasmática, que é produzida no aparelho justaglomerular renal, formando a Ang I. Esta serve de substrato à enzima conversora de angiotensina (ECA), abundantemente localizada nos pulmões, resultando no produto Ang II, um octapeptídeo biologicamente ativo (TIGERSTED, 1898).

A via sistêmica, descrita anteriormente, por muitos anos foi considerada como única e específica na síntese deste peptídeo. Entretanto, o sistema local no coração e em outros órgãos ganhou suporte com a demonstração da presença de elementos da cascata de síntese da Ang II (DZAU, 1988; JIN et al., 1988).

A síntese de Ang II cardíaca ocorre em condições normais e é responsável por 75% da concentração deste peptídeo neste tecido (DANSER et al., 1992), o que indica a importância do sistema local no coração. Entretanto, em condições patológicas o

nível de Ang II cardíaco é elevado, como no pós infarto miocárdico ou após sobrecarga pressórica ou volêmica (LEENEN et al., 1999; RUZICKA, 1995).

A Ang II possui propriedades proliferativas sobre a musculatura cardíaca capaz de promover um processo hipertrófico (PRICE et al., 1997; FERRARIO, 2006). Além disso, machos apresentam miócitos cardíacos maiores em ratos e expressam mais ECA em camundongos, que fêmeas de sua espécie (BAI et al., 1990, FRESHOUR et al., 2002). Adicionalmente, nosso grupo demonstrou em estudo anterior a capacidade do IECA em prevenir o desenvolvimento da hipertrofia cardíaca em ratos, promovida pelo infarto do miocárdio. Ainda nesse estudo, a inibição do SRA permitiu a manutenção da sensibilidade do RBJ (ANDRADE et al., 2007), e corrobora com a hipótese de prevenção sobre a função cardíaca promovida pelo IECA.

Está bem estabelecido que os EAA são causadores de hipertrofia cardíaca (BISSOLI et al., 2009), e que esta pode influenciar negativamente o ganho de receptores cardiopulmonares (VASQUEZ et al., 1993; MEYRELLES et al., 1998; BISSOLI et al., 2000; UGGERE et al., 2000; ANDRADE et al., 2007). Beutel e col. demonstraram a capacidade dos EAA em reduzir a sensibilidade do baroreflexo (BEUTEL et al., 2005), bem como Bissoli e col. demonstraram o prejuízo sobre o RBJ (BISSOLI et al., 2009). Entretanto, pouco se sabe sobre as influências de fatores humorais nas vias de alterações cardiovasculares induzidas por EAA e, neste caso, especificamente por decanoato de nandrolona.

Estudos indicam uma possível correlação entre a Ang II e os EAA (BAI et al., 1990, FRESHOUR et al., 2002) sobre as alterações cardiovasculares, além disso são conhecidas as propriedades hipertróficas da Ang II sobre o coração (FERRARIO, 2006) bem como a exercida pelos EAA (LIU et al., 2003). Contudo, a relação entre Ang II e EAA no que se refere ao prejuízo do RBJ ainda não foi estudada, nem as vias pelas quais os EAA poderiam promover alterações sobre este reflexo.

Portanto, como objeto de estudo definiu-se avaliar as influências do sistema renina angiotensina sobre alterações cardiovasculares promovidas pelo decanoato de

nandrolona à longo prazo, com foco no controle neural da pressão arterial promovido pelo reflexo Bezold-Jarisch.

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 e compará-los aos com tratamento simultâneo com enalapril.

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) por meio das alterações ocasionadas pela porcentagem de queda da frequência cardíaca (FC) e pressão arterial diastólica (PAD) após a administração de doses crescentes de serotonina;
- Avaliar os efeitos do tratamento crônico de altas doses de decanoato de nandrolona sobre a hipertrofia do coração, rins, e próstata;
- Verificar a existência de efeitos do tratamento crônico sobre o peso corporal dos animais;

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS EXPERIMENTAIS

Foram utilizados ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*) machos com três meses e com peso corporal variando entre 300-370 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 nº 68/2009 de aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa do Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal do Espírito Santo. As gaiolas individuais permitiram o acesso dos animais à ingestão de água e ração (ração Probiotério, Moinho Primor, S.A) ad libitum.

3.2 TRATAMENTO E ADMINISTRAÇÃO DO ESTERÓIDE ANABÓLICO ANDROGÊNICO

O DN (Deca Durabolin®, Organon Inc., São Paulo, Brasil) foi administrado semanalmente, por oito semanas, nos grupos decanoato de nandrolona (DECA) e DECA mais enalapril (DECAE), na dose de 10 mg.Kg⁻¹ 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. Os grupos CON e CONE foram submetidos 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⁻¹ de peso corporal semanal) foi eficaz para efeito anabólico (ANDRADE et al., 2008; TRIFUNOVIC, et al., 1995). A dose utilizada no presente estudo é equivalente à dose de abuso administrada em humanos (TRIFUNOVIC, et al., 1995).

3.3 TRATAMENTO E ADMINISTRAÇÃO DE ENALAPRIL

O enalapril (Sigma Chemical CO., St. Louis, MO, EUA) foi administrado diariamente nos grupos CONE e DECAE, por oito semanas, na dose de 10 mg.Kg^{-1} de peso corporal. Os grupos CON e DECA receberam apenas veículo (salina 0,9%).

3.4 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais:

- Grupo controle (CON, n= 6): os animais receberam semanalmente apenas veículo do DN (óleo de amendoim com álcool benzílico, 90:10, v/v) por via intramuscular, no músculo femoral, durante oito semanas de tratamento e diariamente veículo do enalapril (salina 0,9%) por via intraperitoneal, volume semelhante ao calculado para a droga;
- Grupo tratado com DN (DECA, n=6): os animais receberam semanalmente DN por via intramuscular, no músculo femoral, e diariamente veículo do enalapril por via intraperitoneal, durante oito semanas de tratamento;
- Grupo tratado com enalapril (CONE, n=6): os animais receberam diariamente enalapril via intraperitoneal, e semanalmente veículo do DN, por via intramuscular, durante oito semanas de tratamento;
- Grupo tratado com DN e enalapril (DECAE, n=6): os animais receberam semanalmente DN por via intramuscular e diariamente enalapril por via intraperitoneal, durante oito semanas de tratamento;

3.5 PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS E REGISTROS HEMODINÂMICOS

Dois cateteres de polietileno (Clay Adams, USA) foram previamente preparados para cada animal. A confecção deu-se 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 (50 mg.Kg^{-1} , i.p., Hypnol, Cristália, São Paulo, Brasil), uma incisão na região inguinal, com posterior isolamento do plexo vâsculo-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) 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 administração da droga necessária para estimular o reflexo.

3.6 AVALIAÇÃO DO REFLEXO BEZOLD-JARISCH

O reflexo foi ativado quimicamente pela injeção intravenosa *in bolus* de cinco doses randomizadas de serotonina (5-hidroxitriptamina; 5-HT; Sigma) ($2 \mu\text{g.Kg}^{-1}$; $4 \mu\text{g.Kg}^{-1}$; $8 \mu\text{g.Kg}^{-1}$; $16 \mu\text{g.Kg}^{-1}$; $32 \mu\text{g.Kg}^{-1}$ de peso corporal). O reflexo foi identificado por reduções dose-dependente na FC e PAD, e foi avaliado através do valor relativo máximo de queda da FC após cada dose de 5-HT (ANDRADE et al., 2007; BISSOLI et al., 2000).

3.7 AVALIAÇÃO DO PESO CORPORAL

Os animais foram pesados no início do tratamento (peso corporal inicial - PCI) e separados aleatoriamente em gaiolas individuais entre os diversos grupos: CON, CONE, DECA, DECAE. Foram pesados diariamente para cálculo de dose e

administração das drogas. Uma semana após a última dose de DN os animais foram pesados pela última vez, dia da realização do protocolo experimental, obtendo o peso corporal final (PCF) desses animais.

3.8 AVALIAÇÃO DA HIPERTROFIA CARDÍACA, PROSTÁTICA E RENAL

Ao final do protocolo experimental os animais foram sacrificados por injeção *in bolus* de anestésico. O coração, a próstata e os rins foram isolados e lavados com solução fisiológica, o excesso de líquido foi removido com papel filtro e em seguida foi pesado. A razão do peso dos órgãos (mg) pelo peso corporal final (g) (COR/PC, PROST/PC e RINS/PC) foram usado como índice de hipertrofia. (ANDRADE, et al., 2008).

3.9 ANÁLISE HISTOLÓGICA DOS CARDIOMIÓCITOS

Imagens dos cardiomiócitos foram recortadas de modo a restarem 500 pixels em cada lado, excluindo regiões de baixo contraste. Para isso utilizou-se o Microsoft Power Point Picture Manager (edição 2007). A análise foi realizada usando o CellProfiler software (www.cellprofiler.org). Durante a análise, as imagens foram convertidas a escala de cinza, o contraste foi invertido e os núcleos identificados e contados. Após o término da análise, os dados gerados foram enviados ao Microsoft Excel (edição 2007) e calculados, média e desvio padrão para cada grupo (AKAR et al., 2004; TAKAHASHI et al., 2004).

3.10 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Os animais foram pesados e colocados em gaiolas individuais com livre acesso à água e ração. O grupo DECA recebeu semanalmente DN e veículo do enalapril, o grupo CON os veículos, o grupo CONE recebeu enalapril e veículo do DN e o grupo DECAE recebeu DN e enalapril. Os tratamentos foram feitos semanalmente, por via intramuscular (DN/veículo) e diariamente, por via intraperitoneal (enalapril/veículo), durante oito semanas.

Todos os animais foram pesados diariamente. Uma semana após a administração da última dose, os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico (50 mg.kg^{-1} , *i.p.*; Cristália, São Paulo, SP, Brazil), 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 5-HT foram administradas *in bolus* no cateter conectado à veia femoral, para a avaliação do RBJ. Dados da variação da FC foram registrados e armazenados. Ao final do experimento, os ratos foram sacrificados por meio de injeção *in bolus* de anestésico. Em seguida, o coração, a próstata e os rins foram retirados para obtenção do peso e estimativa das respectivas hipertrofias.

3.11 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 do coração, dos valores da relação COR/PC; os mesmos foram submetidos a análise de variância de uma via (ANOVA). Para análise estatística das mudanças na FC provocadas em resposta ao RBJ 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 apresenta os resultados da PAM e FC obtidos com ratos acordados após receberem o tratamento crônico semanal com DN. Observamos elevação da PAM no grupo DECA em relação aos demais grupos. O enalapril foi capaz de prevenir esta alteração no grupo DECAE (figura 1). Não foi observada diferença nos valores basais da FC entre os diversos grupos experimentais.

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

	<i>COM</i>	<i>CONE</i>	<i>DECA</i>	<i>DECAE</i>
PAM (mmHg)	98±1	97±2	109±2**	99±1
FC (bpm)	379±13	385±11	383±14	377±15

Valores expressos como média ± EPM. ** $p < 0,01$ e * $p < 0,05$ DECA comparado a CON, CONE e DECAE.

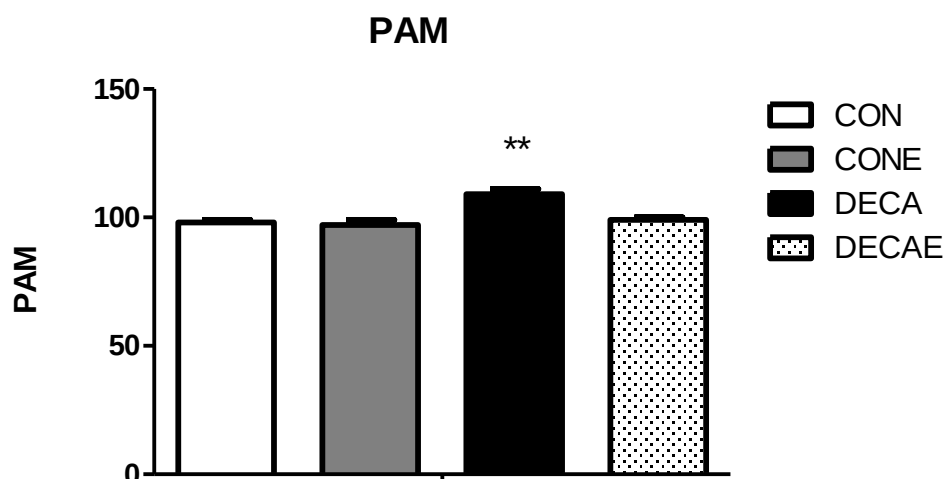


Figura 1. Valores basais da pressão arterial média (PAM) do grupo controle (CON e CONE) e dos grupos tratados (DECA e DECAE) após oito semanas de tratamento com decanoato de nandronola. ** $p < 0,01$ nos animais DECA em relação aos CON, CONE e DECAE

4.2 AVALIAÇÃO DO REFLEXO BEZOLD-JARISCH

Conforme apresentado na tabela 2 e 3 e figura 2, injeções de 5-HT promoveram redução reflexa dose-dependente na FC dos grupos estudados. O grupo DECA apresentou prejuízo na redução do RBJ nas três últimas doses, quando comparado aos demais grupos (CON, CONE e DECAE), demonstrando a capacidade do enalapril em prevenir este prejuízo nos animais DECAE. A figura 3 representa o registro típico do RBJ em cada grupo na dose de $16\mu\text{g.Kg}^{-1}$ de serotonina.

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

<i>Grupos</i>	<i>2 µg.Kg⁻¹</i>	<i>4 µg.Kg⁻¹</i>	<i>8 µg.Kg⁻¹</i>	<i>16 µg.Kg⁻¹</i>	<i>32 µg.Kg⁻¹</i>
COM	34±1,3	40±2	43±3	67±4	81±2
CONE	29±2,3	35±3	46±3	68±3	75±3,2
DECA	31±5	36±3	43±3	51±2*	62±3,1*
DECAE	31±2	38±0,3	38±1,8	63±3	72±3,4

Valores expressos como media ± EPM. ** $p<0,01$ e * $p<0,05$ DECA comparado a CON, CONE e DECAE.

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

<i>Grupos</i>	<i>2 µg.Kg⁻¹</i>	<i>4 µg.Kg⁻¹</i>	<i>8 µg.Kg⁻¹</i>	<i>16 µg.Kg⁻¹</i>	<i>32 µg.Kg⁻¹</i>
CON	18±2	29±2	42±7	54±4	71±3
CONE	17±2	30±3	40±3	55±6	68±2
DECA	21±4	25±3	32±2*	44±2**	59±2**
DECAE	24±6	27±5	41±2	53±2	68±2

Valores expressos como media ± EPM. ** $p<0,01$ e * $p<0,05$ DECA comparado a CON, CONE e DECAE.

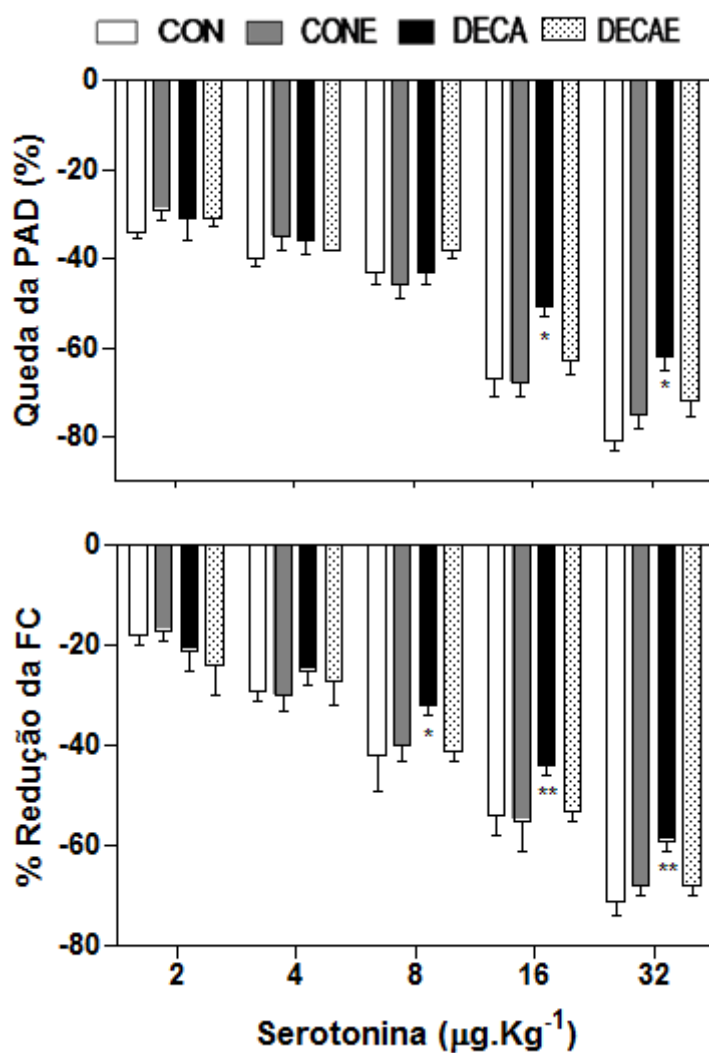


Figura 2. Avaliação do reflexo Bezold-Jarisch através da queda da pressão arterial diastólica (PAD) e freqüência cardíaca (FC) frente à administração intravenosa de serotonina nos grupos controle (CON e CONE) e nos grupos tratados (DECA e DECAE), após oito semanas de tratamento com decanoato de nandronola. **p<0,01 nos animais DECA em relação aos CON, CONE e DECAE

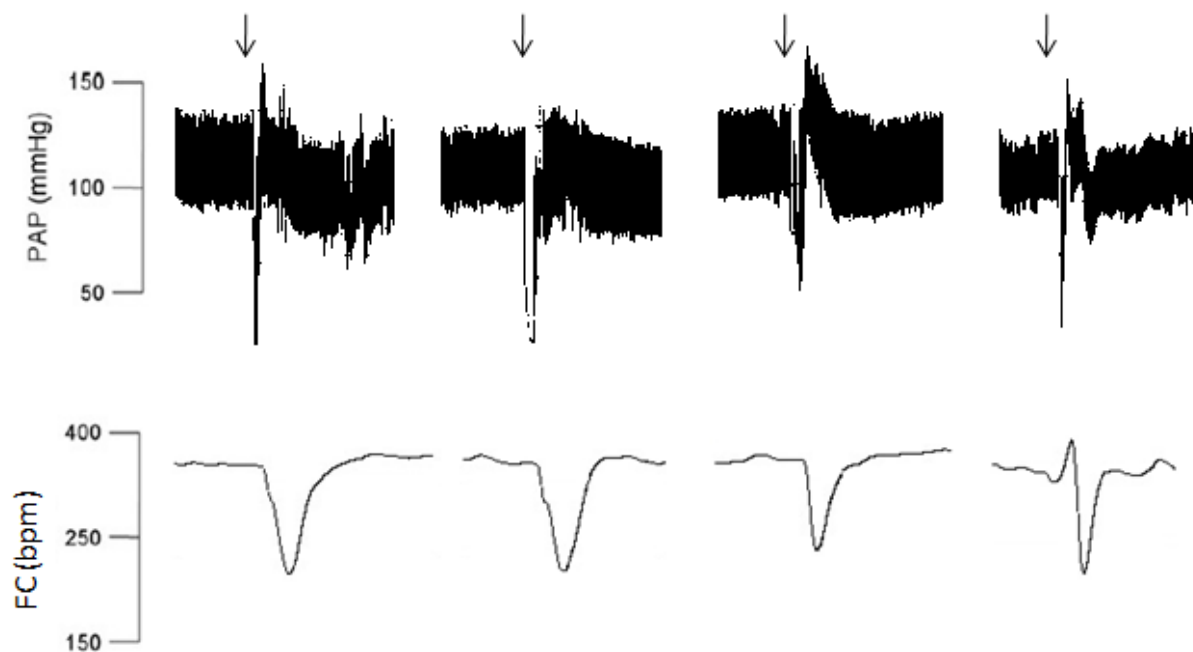


Figura 3. Registro típico do efeito da administração ($16\mu\text{g.Kg}^{-1}$) de serotonina (5-HT) sobre os parâmetros hemodinâmicos dos animais CON (A), CONE (B), DECA (C) e DECAE (D). As setas indicam o momento da injeção de 5-HT *in bolus*. PAP: pressão arterial pulsátil; FC: frequência cardíaca.

4.3 AVALIAÇÃO DA HIPERTROFIA CARDÍACA, PROSTÁTICA E RENAL

Analisando o efeito do tratamento crônico com DN sobre o coração e próstata, verificamos a capacidade desta droga em alterar significativamente a razão COR/PC e PROST/PC do rato DECA em relação aos demais grupos (Tabela 1). O tratamento com enalapril foi capaz de prevenir o desenvolvimento da hipertrofia cardíaca e prostática nos animais do grupo DECAE.

A avaliação renal demonstrou presença de hipertrofia decorrente do tratamento com decanoato de nandrolona, entretanto o enalapril não foi capaz de prevenir esta alteração (dados não apresentados).

Tabela 4. Relação do peso úmido do coração (COR) e próstata (PROST), pelo peso corporal (PC) dos grupos controle (CON e CONE) e tratados com decanoato de nandrolona (DECA e DECAE).

	<i>CON</i>	<i>CONE</i>	<i>DECA</i>	<i>DECAE</i>
COR/PC	2,52±0,05	2,47±0,08	2,78±0,06	2,49±0,07
PROST/PC	1,23±0,17	1,23±0,09	1,78±0,17*	1,36±0,14

Valores expressos como media $\pm$ EPM. ** $p<0,01$ e * $p<0,05$ DECA comparado a CON, CONE e DECAE.

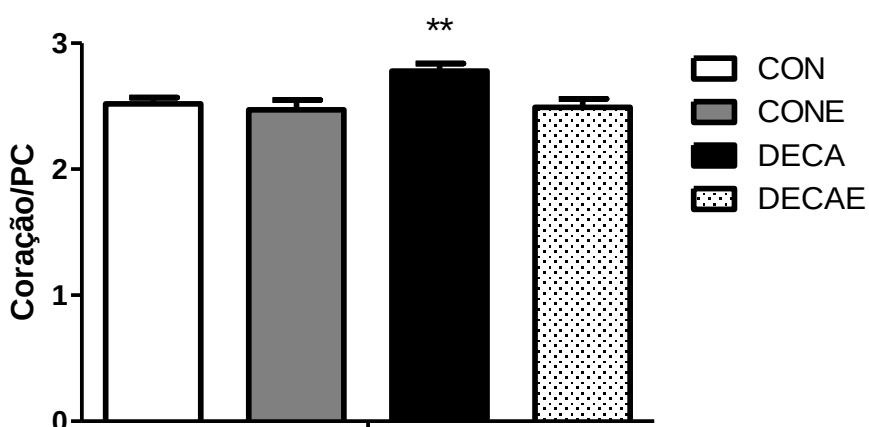


Figura 4. Relação do peso úmido do coração (COR), pelo peso corporal (PC) dos grupos controle (CON e CONE) e tratados com decanoato de nandrolona (DECA e DECAE). ** $p<0,01$ nos animais DECA em relação aos CON, CONE e DECAE

4.4 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DOS CARDIOMIÓCITOS

A contagem de núcleos corrobora com os achados anteriores referentes à hipertrofia cardíaca, apresentando o grupo DECA uma redução no número de núcleos dos miócitos por campo, em relação aos demais grupos (CON = 9.7 ± 1.7 ; CONE = 10.4

± 2.5 ; DECA = 5.9 ± 1.0 ; DECAE = 9.4 ± 2.8 ; $p < 0,01$ nos animais DECA em relação aos CON, CONE e DECAE).

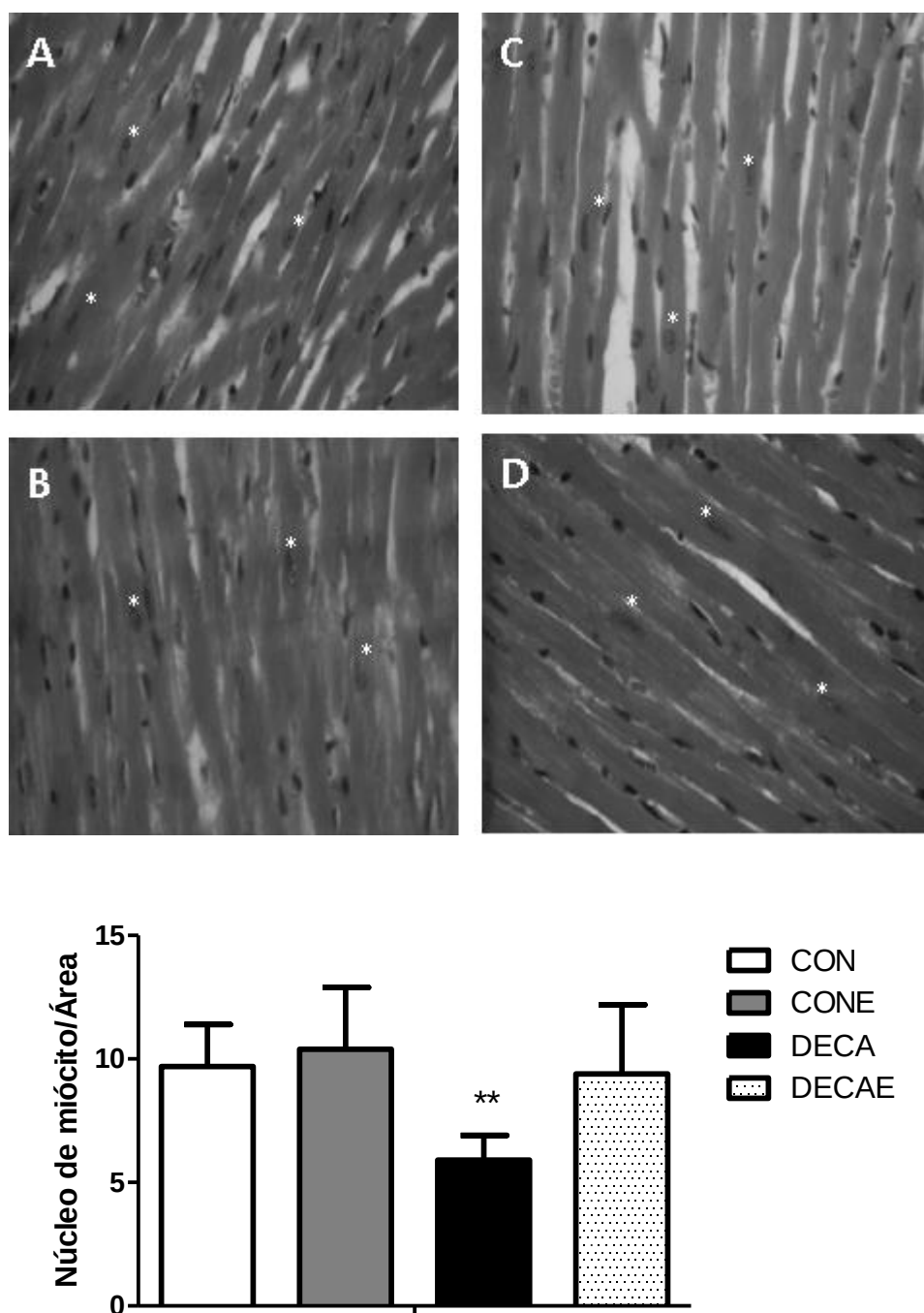


Figura 5. Superior: Corte histológico do coração dos animais do grupo CON(A), CONE(B), DECA (C) e DECAE (D). Inferior: Contagem de núcleos dos miócitos em animais controle (CON e CONE) e tratados (DECA e DECAE). ** $p < 0,01$ nos animais DECA em relação aos CON, CONE e DECAE

4.5 PESO CORPORAL DOS ANIMAIS

Conforme apresentado na tabela 2 não houve diferença estatística no PCI entre os diversos grupos, assim como no PCF, variação entre o PCI e PCF (ΔP) e percentual de ganho de peso.

Tabela 5. Peso corporal inicial (PCI), peso corporal final (PCF), variação do peso corporal (ΔPC) e porcentagem de aumento do peso (%) dos animais controle (CON e CONE) e tratados com decanoato de nandrolona (DECA e DECAE) após oito semanas.

<i>Grupos</i>	<i>PCI (g)</i>	<i>PCF (g)</i>	<i>ΔPC (g)</i>	<i>%</i>
CON	333 $\pm$ 10	418 $\pm$ 13	84 $\pm$ 12	25 $\pm$ 4
CONE	333 $\pm$ 6	439 $\pm$ 10	106 $\pm$ 10	31 $\pm$ 3
DECA	336 $\pm$ 6	428 $\pm$ 14	92 $\pm$ 16	27 $\pm$ 5
DECAE	334 $\pm$ 8	426 $\pm$ 15	92 $\pm$ 13	30 $\pm$ 3

Valores expressos como media $\pm$ EPM. ** $p < 0,01$ e * $p < 0,05$ DECA comparado a CON, CONE e DECAE.

5 DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

O abuso de EAA tem sido associado a complicações cardiovasculares que incluem de danos cardíacos (hipertrofia ventricular e fibrose) a morte súbita, além de aumentarem o risco de eventos trombóticos como infarto do miocárdio e parada cardíaca. Estes últimos efeitos parecem ocorrer em consequência às elevações de LDL, redução de HDL, aumento do hematócrito e redução do fibrinogênio plasmático (KICMAN, 2008).

Em nosso estudo, o principal achado foi a relação entre o SRA e a sensibilidade do RBJ, associados ao tratamento com o decanoato de nandrolona. Observamos atenuação da resposta bradicárdica reflexa às doses crescentes de serotonina em animais tratados com EAA, enquanto o tratamento simultâneo com enalapril (inibidor da ECA) foi capaz de prevenir esta redução, permitindo a manutenção do reflexo. Pela primeira vez o uso de EAA foi relacionado ao RBJ (controle homeostático neural) e SRA (controle homeostático humoral), simultaneamente.

Os animais tratados exclusivamente com o EAA apresentaram PAM basal elevada e hipertrofias: cardíaca, renal e prostática. Entretanto quando o EAA foi associado ao enalapril essas alterações foram prevenidas, com exceção da hipertrofia renal. Observamos, ainda, que o tratamento com oito semanas não alterou a FC, em acordo com estudo anterior (BISSOLI et al., 2009).

Em estudos prévios desenvolvidos por nosso grupo, demonstramos que o DN não foi capaz de alterar a PAM no grupo DECA tratado por 4 semanas, entretanto o tratamento por 8 semanas promoveu elevação da PAM (ANDRADE et al., 2008; BISSOLI et al., 2009). Adicionalmente, Beutel e col (2005) observaram que o estanozolol, outro EAA, por 8 semanas com alta (20 mg/Kg/semana) ou baixa dose (5 mg/Kg/semana), promoveu elevação da PAM em animais acordados ou anestesiados. A literatura é conflitante quanto às alterações dos EAA sobre a PAM e FC, de modo que a resposta obtida pelo tratamento com EAA requer análise do androgênio utilizado, sua dose, tempo de tratamento e estado de consciência do animal. (BAKER et al., 1978; GANTEN et al., 1989; SHARE, 1988; CHEN & MENG,

1991; EL MAS et al., 2001; BEUTEL et al., 2005; WARD & ABDEL-RAHMAN, 2006; ANDRADE et al., 2008).

A hipertensão arterial requer uma análise complexa visto que se trata de uma doença multifatorial. Ratos adultos machos espontaneamente hipertensos (SHR) e Dahl salt-sensitive apresentam PAM elevada comparados às fêmeas (CHEN & MENG, 1991; SHARE, 1988), sugerindo uma possível correlação entre hormônios sexuais e desenvolvimento de hipertensão. Reckelhoff e colaboradores demonstraram que a PAM de ratos SHR aumenta proporcionalmente à concentração sérica de testosterona durante o crescimento, e a castração destes animais promove a redução da PAM, a qual retorna a níveis pré-castração por meio da reposição hormonal com testosterona (RECKELHOFF et al., 1998). Além disso, o tratamento com flutamida (inibidor competitivo do receptor androgênico) atenuou a PAM de ratos SHR mais jovens, demonstrando a relação entre a PAM e receptores androgênicos (GANTEN et al., 1989; RECKELHOFF et al., 1999). Nestes animais o SRA é descrito como capaz de aumentar a PAM, visto que sob influência androgênica este sistema apresenta-se aumentado (RECKELHOFF et al., 2000). Estes dados corroboram com nossos achados, visto que somente os animais submetidos ao tratamento crônico com EAA e sem inibição do SRA apresentaram elevação da PAM.

É comum a presença de anormalidades no SRA em modelos de hipertensão (MARTINEZ-MALDONADO, 1991; MITCHELL & NAVAR, 1995; D'AMOURS et al., 1999). Adicionalmente, modificações cardíacas vinculadas ao sexo são demonstradas como relacionadas ao SRA, sugerindo interferência de hormônios sexuais sobre esse sistema. A expressão da ECA em camundongos machos é aumentada se comparada às fêmeas, indicando maiores níveis de angiotensina II que é um importante fator trófico (FRESHOUR et al., 2002). É plausível supor que o SRA contribui para o desenvolvimento da hipertrofia cardíaca presente nos animais do grupo DECA, e que através desta alteração promova elevação da PAM nos animais deste grupo.

A interferência do gênero sobre o controle autonômico cardiovascular já é bem aceita. Dados clínicos demonstram o prejuízo da função baroreflexa em mulheres

pós-menopausa se comparadas aos homens de mesma idade (Huikuri et al., 1996), e dados experimentais indicaram redução da bradicardia baroreflexa em ratas jovens comparadas aos machos (EL-MAS & ABDEL-RAHMAN, 1998). Embora as alterações reflexas sejam amplamente relacionadas aos hormônios sexuais femininos, pouco se sabe quanto às alterações que os hormônios masculinos promovem no controle da função cardíaca pelo sistema nervoso central.

Estudos anteriores realizados por nosso grupo demonstraram que o tratamento com DN por 4 semanas é capaz de estabelecer hipertrofia cardíaca e bradicardia basal sem alterar o RBJ, e que o tratamento por 8 semanas promove acentuada hipertrofia cardíaca e prejuízo do RBJ. Em acordo com os demais, o presente estudo demonstrou que o DN é capaz de promover hipertrofia cardíaca e atenuação do RBJ, e ainda apresenta que a associação do enalapril é capaz de prevenir essas alterações, permitindo a manutenção da pressão arterial, da arquitetura cardíaca e do RBJ.

A interferência de hormônios sexuais masculinos sobre os reflexos cardiovasculares tem sido alvo de estudos. Enquanto a castração de ratos leva a um prejuízo do baroreflexo, a reposição da testosterona a níveis fisiológicos o normaliza. Ações promovidas pelo 17β -estradiol são excluídas, já que o nível deste hormônio permaneceu inalterado durante o procedimento de castração e reposição hormonal (WARD & ABDEL-RAHMAN, 2005). Além disso, a interferência androgênica parece ser dependente de receptores androgênicos, pois tanto a castração quanto o tratamento com flutamida, um antagonista competitivo destes receptores, provocaram prejuízo da bradicardia baroreflexa em ratos Sprague-Dawley (WARD & ABDEL-RAHMAN, 2006).

Embora a abordagem de estudos relacionando androgênios e baroreflexo seja crescente, pouco se discute sobre o uso crônico desta substância e suas alterações sobre os reflexos cardiopulmonares, exceto os realizados por nosso grupo (ANDRADE et al, 2008; BISSOLI et al., 2009).

É sabido que os mecanismos reflexos realizam o ajuste rápido do sistema cardiovascular através de reflexos arteriais e cardiopulmonares que detectam e

corrigem modificações na pressão arterial, volume sanguíneo e composição química do sangue (VASQUEZ, 1994). Desta forma é possível que alterações cardiovasculares promovidas pelo EAA estejam vinculadas a alterações sobre mecanismos reflexos.

O baroreflexo é o reflexo mais amplamente estudado e relacionado aos EAA. Em contrapartida pouco se sabe quanto a interferência destas substâncias sobre o RBJ, demonstrando a necessidade de estudos direcionados a compreensão deste reflexo, que apresentou atividade atenuada pelo tratamento crônico por 8 semanas de DN.

Fatores neurais e humorais podem se relacionar a essa alteração. Em nosso estudo focamos a interferência do SRA sobre o RBJ de ratos tratados com EAA e verificamos que na presença de enalapril, inibidor da ECA, as alterações sobre o RBJ deixaram de existir, demonstrando a necessidade do SRA na gênese de alterações cardiovasculares provocadas pelo DN. Também foi observado hipertrofia cardíaca nos animais com prejuízo do RBJ, alteração não presente nos animais tratados com enalapril.

Nossos resultados estão em acordo com trabalhos anteriores, nos quais altas doses de EAA promoveram alterações na arquitetura do miocárdio com degeneração de miofibrilas e estabelecimento de fibrose gerando anormalidades na condução e circuitos reentrantes ventriculares (KENNEDY & LAWRENCE, 1993; SULLIVAN et al., 1998; FINESCHI et al., 2001).

No presente estudo, os animais tratados com DN desenvolvem hipertrofia cardíaca e prejuízo do RBJ. A via aferente do RBJ é dotada de fibras C não mielinizadas mecano e quimiossensíveis localizadas nas câmaras cardíacas (COLERIDGE et al., 1964; THÓREN, 1979). Portanto, é plausível supor que a hipertrofia cardíaca resulte em prejuízo na ativação de terminações nervosas sensoriais, reduzindo a sensibilidade do RBJ. Além disso, Meyrelles e col demonstraram que a hipertrofia cardíaca induzida pelo tratamento com isoproterenol (beta adrenérgico) reduziu o controle da FC pelo RBJ (MEYRELLES et al., 1998).

Dados apresentados por nosso laboratório reforçam essa idéia: ratos submetidos ao infarto do miocárdio desenvolveram hipertrofia cardíaca e prejuízo do RBJ após 30 dias da realização do procedimento, enquanto aqueles que, neste período, foram tratados com iECA apresentaram esses parâmetros normalizados (ANDRADE et al., 2007).

Apesar disso, observamos aumento da relação VE/PC em ratos tratados com DN por 4 semanas sem alterações no RBJ. Porém, nestes animais a hipertrofia foi moderada e acompanhada por bradicardia basal (ANDRADE et al., 2007). Uma possível justificativa para esta condição é o fato da testosterona exercer papel modulatório sobre a sensibilidade baroreflexa (EL-MAS et al., 2001; WARD & ABDEL-RAHMAN, 2005; WARD & ABDEL-RAHMAN, 2006) que parece aumentar a atividade eferente vagal cardíaca (EL-MAS et al., 2001).

Dessa forma, considerando que a administração do DN aumenta o nível deste androgênio no sangue (TAKAHASHI et al., 2004), o curto prazo de tratamento foi capaz de aumentar o tônus parassimpático elevando a atividade vagal, resultando em redução da FC. Portanto, embora tenha sido observada hipertrofia cardíaca, o tratamento por 4 semanas não foi capaz de alterar a sensibilidade do RBJ devido o aumento do tônus vagal. Acreditamos que o tratamento por 4 semanas foi insuficiente para promover alterações estruturais significativas, com isso não houve redução no ganho do reflexo cardiopulmonar quimiossensível, diferente do observado em 8 semanas. Em adição, o presente estudo demonstrou que a inibição do SRA preveniu o desenvolvimento de hipertrofia cardíaca e prejuízo na sensibilidade do RBJ.

Estudos observaram que o tratamento crônico com IECA é capaz de prevenir ou reduzir a hipertrofia cardíaca (BISSOLI et al., 1991; THOMAS et al., 1998; UGGERE et al., 2000; ANDRADE et al., 2007), o que demonstra a importância da angiotensina II na gênese da hipertrofia, que é considerada a principal hipótese para redução da sensibilidade do RBJ. Adicionalmente, a expressão de RNAm para ECA cardíaca é aumentada em camundongos machos comparados às fêmeas de mesma idade, e a castração dos machos reduz o nível dessa expressão. Isso sugere que a testosterona exerce função reguladora da expressão da ECA no coração destes

animais (FRESHOUR et al., 2002). Nossos animais desenvolveram hipertrofia cardíaca apenas na presença do SRA inalterado, visto que em presença do iECA, o EAA não foi capaz de induzir a hipertrofia cardíaca.

A síntese da angiotensina II via SRA é resultante da redução do débito cardíaco e tem sido demonstrada em diversos tecidos, inclusive cardíaco (DZAU, 1988; JIN et al., 1988). Os efeitos da angiotensina II são resultantes da ativação de receptores de membrana acoplados ao sistema de transdução de sinal, envolvendo proteína ligadora de nucleotídeo guanina, e consistem na estimulação da contratilidade cardíaca (BAKER et al., 1984; BAKER & ACETO, 1989) e aceleração da síntese protéica (BAKER et al., 1990). Dessa forma, a angiotensina II, via receptores AT1, representa um importante fator trófico para cardiomiócitos e matriz extracelular (CRABOS et al., 1994; PFEFFER, 1995) promovendo hipertrofia cardíaca. Devido a observação de moderada hipertrofia cardíaca após 4 semanas de tratamento com DN, e uma marcada hipertrofia após 8 semanas do mesmo tratamento, acreditamos que o envolvimento do SRA sobre as alterações do RBJ, é tempo dependente.

Embora a hipertrofia seja considerada a principal causa do prejuízo do RBJ, não podemos deixar de discutir o fato de que ambos tratamentos, por quatro (ANDRADE et al., 2008) e oito semanas (BISSOLI et al., 2009), desenvolveram hipertrofia cardíaca, entretanto somente o segundo atenuou o RBJ. Ratos tratados com mesma dose do presente estudo, porém por 10 semanas, apresentaram disfunção no controle autonômico cardíaco tônico, com acentuado prejuízo parassimpático (PEREIRA-JUNIOR et al., 2006). Conforme apresentado, nossos animais apresentaram elevação da PAM basal e atenuação da resposta bradicardica promovida pelo RBJ, o que reforçam a idéia de um prejuízo no controle parassimpático cardíaco, acompanhado ou não de hiperativação simpática, visto que ambas concorrem de maneira que a elevação de uma pode resultar em redução da outra (LEVY, 1971).

Outro ponto a ser levantado em relação aos nossos resultados é o mecanismo pelo qual o enalapril melhorou a atividade do RBJ, pois poderia ser devido ao efeito direto na redução da AII ou à melhoria dos parâmetros cardiovasculares, como a hipertrofia cardíaca. Veelken e col (1998) demonstraram a capacidade da AII em melhorar a

ativação do RBJ, uma vez que, o lisinopril e o losartan reduziram a ação RBJ. Esses resultados demonstram o efeito positivo da AII sobre este reflexo e também que este efeito é mediado pelos receptores AT1. Os animais usados no estudo descrito anteriormente, não apresentavam hipertensão nem hipertrofia cardíaca, diferente do nosso estudo, portanto, é mais plausível que os efeitos da inibição da ECA na melhora observada no RBJ nos animais DECA sejam em consequência a alterações dos parâmetros cardiovasculares, como a hipertrofia cardíaca, causada por este grupo de drogas.

Apesar de nossos achados suportarem a idéia de que o prejuízo do RBJ pelo EAA está vinculado ao SRA, não podemos deixar de citar que há evidências da passagem de esteróides pela barreira hemato-encefálica, que resulta em ação direta no SNC (PARDRIDGE & MIETUS, 1979), em áreas regulatórias do sistema cardiovascular onde receptores androgênicos foram localizados (POULIOT et al., 1996). Adicionalmente RNAm de receptores androgênicos foram demonstrados em células cerebrais de ratos adultos (HAMSON et al., 2004). Em conjunto, e considerando que a testosterona eleva os níveis de receptores de glutamato e este por sua vez é um neurotransmissor excitatório essencial na regulação cardiovascular, esses dados nos leva supor que ativações no Núcleo do Trato Solitário (NTS), sinapse do RBJ (SPYER, 1982), poderia participar do prejuízo observado no RBJ em consequência da ativação do SNC pelo EAA.

Receptores androgênicos também foram demonstrados nos núcleos ambíguos e motores dorsal do vago (PEULER et al., 1990), áreas cerebrais responsáveis pelo controle vagal (VAN GIERBERGEN et al., 1992). Portanto, os androgênios podem agir em neurônios pré-ganglionares controlando a atividade vagal cardiomotora e a descarga simpática ao coração (EL-MAS et al., 2001), causando alteração na sensibilidade do RBJ. Entretanto, estudos posteriores são necessários para elucidar os mecanismos centrais dos androgênios na regulação autonômica cardíaca.

O uso de EAA para obtenção de hipertrofia esquelética leva a efeitos adversos como hipertrofia cardíaca patológica (CAMPBELL et al., 1993). Em nosso estudo demonstramos que o tratamento de ratos com DN por 8 semanas elevou a relação peso do coração por peso corporal, o que indica a capacidade do EAA em atuar

sobre a musculatura cardíaca e promover a hipertrofia deste tecido. Esses dados são consistentes com outros estudos que demonstraram a presença de hipertrofia cardíaca em humanos e animais 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-JUNIOR et al., 2006).

Embora nossos achados sejam condizentes com uma ação do EAA sobre a hipertrofia dependente do SRA, não se pode deixar de considerar uma possível associação deste mecanismo à ação direta do EAA em receptores anabólicos cardíacos. Marsh e colaboradores demonstraram a presença de receptores androgênicos em cardiomiócitos, cuja estimulação por testosterona ou diidrotestosterona induz a incorporação de aminoácidos gerando hipertrofia cardíaca (MARSH et al., 1998).

Não só o coração, mas também outros órgãos sofrem influência dos diversos tipos de EAA (FALANGA et al., 1998; TAKAHASHI et al., 2004; FORTUNATO et al., 2006). A relação RINS/PC e PROST/PC foram maiores no grupo que recebeu somente DN, o que indica efeito anabólico do EAA sobre o tecido renal e prostático. Enquanto a associação do iECA preveniu a alteração prostática, o mesmo não foi observado nos rins. Dessa forma, acreditamos que a hipertrofia da próstata, mas não a renal, seja dependente do SRA.

Estudos indicam que é freqüente a coexistência de hipertensão e hipertrofia prostática em homens idosos (GARRAWAY, 1991; MARUENDA, 1999). Entretanto a literatura é controversa quanto à interferência do EAA sobre a próstata, embora esteja claro que a hipertrofia parece depender do tipo de androgênio, dose e tempo de tratamento utilizado. Doses altas de androgênios são associadas ao aumento do risco de câncer de próstata (PARSONS et al., 2004). Por isso, a ação dos androgênios sobre a próstata é mais abordada em estudos de avaliação da reposição hormonal, nos quais homens idosos submetidos ao tratamento com androgênios a fim de corrigir o hipogonadismo apresentam pequenas melhoras na massa muscular e força (BORST, 2004).

Ratos velhos castrados e submetidos à reposição hormonal com altos níveis de testosterona (1mg/dia), durante 28 dias, desenvolveram aumento de massa da próstata. Entretanto, esse aumento não foi observado naqueles em que o MK-434 (inibidor da 5 α -redutase) foi associado. Esses dados relacionam a hipertrofia prostática à produção da diidrotestosterona, metabólito da testosterona, cuja afinidade pelo receptor androgênico é alta (BORST et al., 2007).

Associados ao fato de que nossos animais desenvolveram hipertrofia prostática na presença do EAA, e que o IECA foi capaz de prevenir o desenvolvimento desta alteração, esses estudos nos permitem supor que a ação hipertrófica do EAA sobre a próstata está relacionada ao metabólito da diidrotestosterona, e que este possivelmente exerça interferência sobre o SRA no estabelecimento da hipertrofia da próstata.

Por outro lado, alguns estudos demonstram redução da massa da próstata. Ratos tratados com DN por 14 semanas (KARBALAY-DOUST & NOORAFSHAN, 2006) ou que receberam Metandrostenolona, por duas semanas (BITRAN et al., 1996) apresentaram diminuição do peso da próstata, e após a supressão deste EAA o peso retornou a níveis normais em 3 dias. Embora o esteróide anabólico, o tempo de tratamento e os metabólitos formados pareçam influenciar as alterações observadas, estudos mais aprofundados são necessários para esclarecer estes diferentes resultados.

A razão RINS/PC também foi aumentada nos animais do grupo DECA em acordo com outros estudos que demonstraram a capacidade do DN, em altas doses e por longo período, em promover hipertrofia renal (TAKAHASHI et al., 2004; FORTUNATO et al., 2006). Diferente da ação do EAA no estabelecimento da hipertrofia tecidual dos demais órgãos, nos rins esta alteração parece não depender do SRA, visto que os animais que receberam enalapril não tiveram esta hipertrofia prevenida. A presença de receptores androgênicos nos rins foi descrita apenas no interior do trato urinário, embora o tratamento por 6 semanas com DN ($8,33 \cdot 10^{-2}$ mg/g) tenha promovido hipertrofia renal e aumento do volume das células epiteliais dos túbulos renais de ratos. Adicionalmente, os androgênios demonstraram ser

capazes de alterar a arquitetura renal (TAKAHASHI et al., 2004), embora ensaios bioquímicos tenham indicado função normal deste órgão (TAKAHASHI et al., 1999).

Observamos no presente estudo que o DN é capaz promover hipertrofia cardíaca levando ao prejuízo na ativação de quimioceptores do RBJ, o que resultou em redução da resposta hipotensora a 5-HT. Estes animais apresentaram ainda hipertrofia prostática e renal, e elevação da PAM. O co-tratamento com enalapril, inibidor da ECA, preveniu o desenvolvimento da hipertrofia cardíaca mantendo o RBJ normalizado. Este IECA foi capaz também de prevenir a elevação da PAM, e o desenvolvimento da hipertrofia prostática. Sendo assim, podemos concluir que o DN promove alterações cardiovasculares, e que pelo menos em parte estas alterações sejam dependentes do SRA, visto que a utilização de um inibidor deste sistema foi capaz de bloquear os efeitos deletérios do DN nestes animais.

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.

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. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2007; 34: 606-611.

ANDRADE, TU; SANTOS, MCS; BUSATO, VCW; MEDEIROS, ARS; ABREU, GR; MOYSÉS, MR; BISSOLI, NS. Higher physiological doses of nandrolone decanoate do not influence the Bezold-Jarish reflex control of bradycardia. *Arch Med Res*. 2008; 39(1): 27-32.

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. *Circ Res*. 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. *Am J Physiol*. 1990; 259: H324-H332.

BASARIA, S; WAHLSTROM, JT; DOBS, AS. Clinical review 138: Anabolic-androgenic steroid therapy in the treatment of chronic diseases. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(11):5108-5117.

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 denervated rats. *Braz J Med Biol Res.* 1991; 24: 191-194.

BISSOLI, NS; CICILINI, MA; VASQUEZ, EC; CABRAL, AM. The diuretic chlortalidone normalizes baroreceptor and Bezold-Jarisch reflexes in DOCA-salt hypertensive rats. *Pharmacol Res.* 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; CONOVER, CF; CARTER, CS; GREGORY, CM; MARZETTI, E; LEEUWENBURGH, C; VANDENBORNE, K; WRONSKI, TJ. Anabolic effects of testosterone are preserved during inhibition of 5 α -reductase. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007; 293(2):E507-154.

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

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

COLERIDGE, JCG; COLERIDGE, HM; KIDD, C. Cardiac receptors in dogs, with particular reference to two types of afferent ending in the ventricular wall. *J Physiol*. 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.

Cramer RJ (2005). Anabolic steroids are easily purchased without a prescription and present significant challenges to law enforcement officials. Available at <http://www.gao.gov/new.items/d06243r.pdf>, dated 3 November 2005.

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. *J Physiol Pharmacol*. 1999; 77: 8-16.

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. *Am J Physiol*. 1992; 263: H429-H437.

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.

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.

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. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1982; 4: 829-838.

FORADORI, CD; WEISER, MJ; HANDA, RJ. Non-genomic actions of androgens. *Front Neuroendocrinol.* 2008; 29(2):169-181.

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.

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.

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. *South Med J*. 2005; 98(5): 550-555.

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

Hermansson G (2002). Doping trade: business for the big ones. In: Play the Game, search for author under <http://www.playthegame.org>, acessado em Janeiro de 2011.

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.

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.

KICMAN, AT. Pharmacology of anabolic steroids. *Br J Pharmacol*. 2008;154(3):502-521

KRAYER, O (1961). The history of the Bezold-Jarisch effect. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Exp Pathol Pharmacol*. 1961; 240: 361-368.

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

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

MARAVELIAS, C; DONA, A; STEFANIDOU, M; SPILIOPOULOU, C. Adverse effects of anabolic steroids in athletes A constant threat. *Toxicol Lett*. 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.

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

MEYRELLES, SS; MAUAD, H; MATHIAS, SC; CABRAL, AM; VASQUEZ, EC. Effects of myocardial hypertrophy on neural reflexes controlling cardiovascular function. *J Auton Nerv Syst*. 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*. 2nd ed. New York: Raven press. 1995: 1437-1450.

MOORANDIAN, AD; MORLEY, JE; KORENMAN, SG. Biological actions of androgens. *Endocr Rev*. 1987;8(1):1-28. Review

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]

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

PARSONS, JK; CARTER, HB; LANDIS, P; WRIGHT, EJ; PLATZ, E; METTER, J. Serum testosterone and the risk of prostate cancer: potential implications for testosterone therapy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005; 14(9):2257-2260.

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.

SALMOIRAGHI, GC; PAGE, IH; McCUBBIN, JW. Cardiovascular and respiratory response to intravenous serotonin in rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 1956; 118:477-481.

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.

SPYER, KM. Central nervous integration of cardiovascular control. *J Exp Biol.* 1982; 100: 109-128.

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. The effect of anabolic-androgenic steroid administered in male rats. *International Budo Univ J.* 1999; 15: 57-64.

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

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

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

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. *Braz J Med Biol Res.* 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 GIERBERGEN, 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; 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. *Braz J Med Biol res.* 1994; 27: 1049-1064.

VEELKEN, R; HILGERS, KF; SCROGIN, KE; MANN, JF; SCHMIEDER, RE. Endogenous angiotensin II and the reflex response to stimulation of cardiopulmonary serotonin 5HT₃ receptors. *Br J Pharmacol.* 1998; 125(8): 1761-1767.

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.

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.

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