

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

SECRETARIA  
DE  
PÓS-GRADUAÇÃO  
I. B.

ANA PAULA TANNO

ALTERAÇÕES CARDÍACAS INDUZIDAS POR ESTERÓIDE  
ANABÓLICO ANDROGÊNICO EM RATOS SEDENTÁRIOS E  
TREINADOS

Este exemplar corresponde à redação final  
da tese defendida pelo(a) candidato (a)

**ANA PAULA TANNO**

*Fernando Kl. Maucond*

e aprovada pela Comissão Julgadora.

*Tese apresentada ao Instituto de Biologia da  
Universidade Estadual de Campinas, para  
obtenção do Título de Doutor em Biologia  
Funcional e Molecular, Área de  
Concentração Fisiologia.*

Campinas  
2007

UNIDADE BC  
 Nº CHAMADA:  
TI UNICAMP  
T158a  
 V. \_\_\_\_\_ Ed. \_\_\_\_\_  
 TOMBO BC/ 72732  
 PROC. 16.115-07  
 C  D   
 PREÇO 1,00  
 DATA 30/05/07  
 BIB-ID 412938

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
 BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP

*Título diferente  
 da página de  
 rosto*

**T158a** Tanno, Ana Paula  
 Alterações cardíacas induzidas por esteróide anabólico em ratos sedentários e treinados / Ana Paula Tanno.  
 – Campinas, SP: [s.n.], 2007.

Orientadora: Fernanda Klein Marcondes.  
 Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.

1. Nandrolona. 2. Treinamento físico. 3. Hipertrofia ventricular esquerda. 4. Fibrose. 5. Ecocardiograma. I. Marcondes, Fernanda Klein. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

(scs/ib)

*Ecocardiograma*

**Título em inglês:** Cardiac alterations induced of anabolic steroid in sedentary and trained rats.  
**Palavras-chave em inglês:** Nandrolone; Physical training; Hypertrophy, left ventricular; Fibrosis; Echocardiography.  
**Área de concentração:** Fisiologia.  
**Titulação:** Doutora em Biologia Funcional e Molecular.  
**Banca examinadora:** Fernanda Klein Marcondes, Iraídes Nunes dos Santos, Maria Cecília Ferraz de Arruda Veiga, Maria Cláudia Costa Irigoyen, Oduvaldo Câmara Marques Pereira.  
**Data da defesa:** 14/02/2007.  
**Programa de Pós-Graduação:** Biologia Funcional e Molecular.

Campinas, 14 de fevereiro de 2007.

**BANCA EXAMINADORA**

Profª Dra. Fernanda Klein Marcondes (Orientadora)

*Fernanda Kle Marcondes*

Assinatura

Profª Dra. Iraídes Nunes Santos

*Iraídes Nunes Santos*

Assinatura

Profª Dra. Maria Cecília Ferraz de Arruda Veiga

*Maria Cecília Ferraz de Arruda Veiga*

Assinatura

Profª Dra. Maria Cláudia Irigoyen

*Maria Cláudia Irigoyen*

Assinatura

Prof. Dr. Oduvaldo Pereira

*Oduvaldo Pereira*

Assinatura

Profª Dra. Edilamar Menezes de Oliveira

Assinatura

Prof. Dr. Miguel Arcanjo Areas

Assinatura

Prof. Dr. Sérgio Eduardo A Perez

Assinatura

## **DEDICO**

### *Aos meus pais*

Joana e Dorival, por guiarem meus passos, por confiarem seus sonhos à mim e por acreditarem que eu pudesse realizá-los. Obrigada por todo amor, carinho, esforços e, compreenderem a minha ausência!

### *Ao Paulino*

Essa conquista eu divido com você, que sempre esteve ao meu lado! Obrigada pelo amor, carinho, respeito, pela força e orações nos momentos em que pensei em desistir e principalmente, por compreender, nesses anos todos, a minha ausência. Certamente, você conseguiu fazer com que a minha vida fosse melhor!!!

## **AGRADECIMENTO ESPECIAL**

*Tatiana de Sousa da Cunha*

Tati, obrigada pela sincera e verdadeira amizade, pelos conselhos e pelo apoio nos momentos difíceis que passamos juntas, e que não foram poucos....., pelo carinho, pela dedicação, pelo ombro amigo, pela paciência durante os desabafos e pela cumplicidade cultivada durante estes anos. Você é a minha irmãzinha, que esteve sempre presente, seja nos dias ensolarados, como nos chuvosos.... Quero agradecer por tudo que você fez por mim, pois sem o seu apoio e sem o seu convívio, seria muito difícil chegar até aqui. Muito obrigada por tudo e essa conquista, divido com você!!!

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a todos que me ajudaram na realização deste trabalho e, em especial:

A Deus, por tornar possível mais esta conquista e guiar meus passos nessa caminhada. Obrigada por ter me concedido discernimento e paciência para encontrar soluções quando tudo parecia perdido.

A minha orientadora, Profa. Fernanda Klein Marcondes, que não apenas transmitiu seus conhecimentos, e sim foi uma grande incentivadora em minha vida acadêmica. Exemplo de dedicação, de dignidade pessoal e de doação. O meu sincero carinho, respeito e gratidão por permitir o meu crescimento profissional e também pessoal, e por me ouvir, nos momentos difíceis dessa jornada. Obrigada por confiar no meu trabalho e por dedicar seu tempo me ajudando a melhorá-lo em cada detalhe.

À Profa. Regina Célia Spadari-Bratfisch, por aceitar ser co-orientadora nesse trabalho.

Ao meu irmão, Ronaldo, minha sogra, Catarina, meus cunhados e cunhadas (...quantos são...), obrigada por compartilharem mais este momento de felicidade e por todo o incentivo e torcida para que tudo corresse bem, em cada etapa vencida.

À Fernanda Cristina, obrigada por toda ajuda, tanto na realização dos experimentos no laboratório, como na vida pessoal. Você que foi minha aluna, hoje é uma grande amiga e saiba que você pode contar comigo pra tudo que precisar.

À Caroline Calil, pela amizade e por todas as conversas ao longo desses anos. Muito obrigada pelo “transporte” dos animais até o Incor/São Paulo e pelo auxílio na realização das análises do ecodopplercardiograma.

À Profa. Maria Cláudia Irigoyen que permitiu a realização do exame ecodopplercardiograma no Incor, e principalmente, por todas as contribuições valiosas na discussão dos resultados deste trabalho.

Aos professores Pedro Duarte Novaes e Maria Luíza Ozores Polacow pelo auxílio na realização das análises histológicas no tecido cardíaco.

À todos os professores que contribuíram para a minha formação, especialmente à professora Maria Cecília, por todo conhecimento transmitido e pelo apoio ao longo desses anos.

Aos amigos, Gerson, Gustavo, Leonardo e Luciano por todos os momentos agradáveis que passamos juntos.

Aos colegas de laboratório, Rafaela, Mariana, Vander, Rose, pelo auxílio no treinamento dos animais.

Às amigas distantes: Flávia, Daniela, Luciana, Milene, Sintia, Patrícia, Fabiane, por compreenderem que a distância não interrompe as amizades verdadeiras.

À Faculdade de Americana, em especial às coordenadoras Adriana e Neusa, que me deram a oportunidade de iniciar a minha carreira acadêmica nessa instituição e por confiarem em meu trabalho.

Aos amigos da Faculdade de Americana: Adriana, Alik, Daniele, Márcia, Neusa, Paulo, pelas conversas e desabafos durante esses anos.

À secretária Andréia Vigilato, muito obrigada por toda a atenção e dedicação na resolução dos problemas.

À Profa. Helena Coutinho Franco de Oliveira, coordenadora da SCPG-BFM-IB, pela atenção e disponibilidade com que sempre respondeu as nossas dúvidas.

Aos funcionários da FOP/UNICAMP, especialmente ao Feliciano e Eliete pelo carinho e atenção com que sempre me atenderam.

A FAPESP e FAEPEX/UNICAMP pelo apoio financeiro recebido durante a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	01
ABSTRACT .....	03
1 INTRODUÇÃO.....	05
2 OBJETIVOS.....	15
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1 Animais.....	16
3.2 Delineamento Experimental .....	16
3.3 Tratamento com EAA.....	17
3.4 Treinamento Físico Resistido .....	17
3.5 Átrio Direito Isolado.....	19
3.6 Curva Concentração Efeito às Catecolaminas.....	20
3.7 Determinação do valor pA <sub>2</sub> do metoprolol.....	21
3.8 Análise Farmacológica das Curvas Concentração Efeito.....	22
3.9 Fármacos e Soluções .....	23
3.10 Avaliação Morfofuncional da Função Cardíaca pelo ecodopplercardiograma .....	23
3.11 Quantificação da Concnetação Tecidual de Colágeno.....	25
3.12 Análise Estatística.....	25
4 RESULTADOS .....	26
5 DISCUSSÃO .....	47
6 CONCLUSÃO.....	60
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	61

**RESUMO**

Altas doses de esteróides anabólicos androgênicos (EAA) são utilizadas, sem indicação terapêutica, por indivíduos que visam aumentar a força muscular ou melhorar a aparência física. Entretanto, os efeitos benéficos destas substâncias sobre o desempenho atlético são questionáveis, e sabe-se que esta prática é acompanhada de muitos efeitos colaterais. Como os efeitos dos EAA sobre o sistema cardiovascular ainda não estão esclarecidos, o objetivo do presente estudo foi avaliar a influência da nandrolona e do treinamento físico resistido sobre a função cardíaca de ratos Wistar machos, de 2 meses de idade, divididos em quatro grupos experimentais: sedentário + veículo (SV); treinado + veículo (TV); sedentário + EAA (SEAA); treinado + EAA (TEAA). Os animais foram tratados, por 6 semanas, com veículo (propilenoglicol, 0,2 mL/Kg) ou decanoato de nandrolona (Deca-Durabolin<sup>®</sup>, 5 mg/Kg), i.m., 2 x/ semana. O treinamento físico foi realizado através de saltos em meio líquido (4 séries, 10 repetições, 30 segundos de intervalo entre as séries), 50-70% do peso corporal, 5 dias/semana, 6 semanas. Ao final do período experimental, os ratos foram sacrificados, o átrio direito foi isolado para obtenção de curvas concentração-efeito às catecolaminas *in vitro* e o ventrículo esquerdo (VE) foi analisado para quantificação de colágeno (n = 5-10/grupo). Outros animais, submetidos aos mesmos tratamentos, foram anestesiados e submetidos a ecodopplercardiograma (n=7-10/grupo). Os dados foram analisados por Análise de Variância Bifatorial e teste de Tukey (p<0,05). O EAA e o treinamento físico induziram supersensibilidade às catecolaminas e redução na densidade de adrenoceptores  $\beta_1$  no átrio direito de ratos. O treinamento físico e o tratamento com EAA induziram hipertrofia concêntrica do VE, e esse efeito foi mais pronunciado no grupo TEAA, como demonstrado pelo aumento na relação massa VE/peso corporal (SV:1,78±0,06 < TV:1,98±0,06 = SEAA:2,07±0,05 < TEAA:2,27±0,05 g/Kg) e espessura relativa da parede (SV:0,38±0,01 < TV:0,46±0,01 = SEAA:0,51±0,02 < TEAA:0,56±0,02). O EAA diminuiu o débito cardíaco (SV:213±11 = TV:204±19 > SEAA:184±18 = TEAA:151±14 mL/min/g) e aumentou o conteúdo de colágeno no coração (SV:2,93±0,22 = TV:6,48±1,01 < SEAA:10,32±0,75 < TEAA:34,34±2,77  $\mu\text{m}^2$ ) de ratos sedentários e treinados. O treinamento físico e o tratamento com EAA diminuíram a razão E/A, e esse efeito foi mais

pronunciado no grupo TEAA (SV:1,91±0,10 < TV:1,50±0,06 = SEAA:1,46±0,08 < TEAA:1,25±0,10). O tratamento com EAA aumentou o tempo de relaxamento isovolumétrico (SV:1,80±0,02 = TV:1,98±0,08 < SEAA:2,34±0,08 = TEAA:2,24±0,07 ms). Esses resultados mostram que em ratos, o tratamento, por 6 semanas, com altas doses do EAA decanoato de nandrolona promoveu hipertrofia concêntrica do VE e disfunção cardíaca, e que esses efeitos foram potencializados pela associação do EAA ao treinamento físico resistido de alta intensidade. A ocorrência de *down-regulation* de adrenoceptores  $\beta_1$ , acompanhada de aumento da participação do subtipo  $\beta_2$  no controle do cronotropismo cardíaco, parece representar uma resposta compensatória aos efeitos negativos do EAA sobre o músculo cardíaco, tanto em animais sedentários como treinados.

Palavras-Chave: nandrolona, treinamento físico, hipertrofia cardíaca, fibrose, ecocardiograma.

**ABSTRACT**

High doses of anabolic androgenic steroids (AAS) are used without therapeutic indication in order to increase the muscle power or improve the physical appearance. However the beneficial effects of AAS on the athletic performance are still questionable and it is well established that AAS abuse is associated with many detrimental side-effects. Since the side-effects of AAS on the cardiovascular system are not well understood, the aim of this study was to evaluate the influence of nandrolone and resistance physical training on the cardiac function in male Wistar rats divided into 4 groups: sedentary + vehicle (SV), trained + vehicle (TV), sedentary + AAS (SAAS) and trained + AAS (TAAS). The animals were treated for 6 weeks with vehicle (propyleneglycol, 0.2 mL/Kg) or nandrolone decanoate (Deca-Durabolin<sup>®</sup>, 5 mg/Kg), i.m., 2x/ week. Training was performed by jumping into water (4 sets, 10 repetitions, 30 seconds rest), 50-70% body weight-load, 5 days/week, 6 weeks). At the end of experimental period, the rats were sacrificed, right atria was isolated to obtain *in vitro* concentration-effect curves (CEC) to catecholamines and left ventricle (LV) was analyzed for collagen quantification (n=5-10/group). Other rats, submitted to the same treatments were anesthetized and submitted to echodopplercardiography (n=7-10/group). Data were compared by two-way ANOVA and Tukey test (p<0.05). AAS and physical training induced supersensitivity to catecholamines and reduced the density of  $\beta_1$  adrenoceptors in right atria. Physical training and AAS induced left ventricular concentric hypertrophy, and this effect was more pronounced in TAAS group, as demonstrated by the increase in left ventricle mass/body weight ratio (SV:1.78±0.06 < TV:1.98±0.06 = SAAS:2.07±0.05 < TAAS:2.27±0.05 g/Kg) and relative wall thickness index (SV:0.38±0.01 < TV:0.46±0.01 = SAAS:0.51±0.02 < TAAS:0.56±0.02). AAS decreased cardiac output index (SV:213±11 = TV:204±19 > SAAS:184±18 = TAAS:151±14 mL/min/g) and increased cardiac collagen content (SV:2.93±0.22 = TV:6.48±1.01 < SAAS:10.32±0.75 < TAAS:34.34±2.77  $\mu\text{m}^2$ ) in sedentary and trained rats. Physical training and AAS treatment decreased E/A ratio, and this effect was more pronounced in TAAS group (SV:1.91±0.10 < TV:1.50±0.06 = SAAS:1.46±0.08 < TAAS:1.25±0.10). AAS treatment increased the isovolumetric relaxation time (SV:1.80±0.02 = TV:1.98±0.08

< SAAS:2.34±0.08 = TAAS:2.24±0.07 ms). These findings show that the treatment with high doses of the AAS nandrolone decanoate for 6 weeks induced left ventricular concentric hypertrophy, impairment of the cardiac function in rats. These effects were increased when AAS was associated to resistance physical training. Down-regulation in the  $\beta_1$ -adrenoceptor associated with enhanced in  $\beta_2$ -adrenoceptor seem to be a compensatory response to the negative effects of AAS in the cardiac muscle, in sedentary and trained animals.

Key-words: nandrolone, physical training, cardiac hypertrophy, fibrosis, echocardiography.

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 Esteróides Anabólicos Androgênicos (EAA)

Formados a partir da testosterona ou um de seus derivados, os EAA são um grupo de compostos naturais ou sintéticos utilizados na medicina há pelo menos cinco décadas (Lise *et al.*, 1999) e sua indicação clássica está associada a deficiência de hormônios masculinos, com o objetivo de aumentar a concentração de testosterona e metabólitos essenciais para o desenvolvimento e manutenção de características sexuais masculinas. E, como além dos efeitos androgênicos, os EAA também possuem efeitos anabólicos, a sua utilização terapêutica também ocorre em casos de queimaduras, politraumatismos, períodos pós-operatórios (Wilson, 1988; Creutzberg & Schols, 1999) e tratamento da síndrome da imunodeficiência adquirida, auxiliando na estimulação da síntese protéica e no restabelecimento do peso corporal (Creutzberg & Schols, 1999; Currier, 2000; Rabkin *et al.*, 2000). Também há indicação dos EAA nos casos de anemias e doenças renais, por estimularem a síntese de eritropoetina e eritropoiese, e nos casos de insuficiência renal aguda, por diminuir a produção de uréia e conseqüentemente o número de diálises necessárias (Ballal *et al.*, 1991; Berns *et al.*, 1992). No tratamento clínico da osteoporose, os EAA apresentam resultados satisfatórios, uma vez que estimulam os osteoblastos, melhorando a deposição de tecido ósseo e conseqüentemente o quadro algico (Gordon *et al.*, 1999).

Desenvolvido pelo laboratório Organon e introduzido no mercado em 1962, o decanoato de nandrolona ou Deca-Durabolin<sup>®</sup>, cuja substância ativa é a nandrolona, encontra-se disponível comercialmente como uma preparação anabólica injetável com ação prolongada de até três semanas, após administração intramuscular em humanos. Uma vez no meio intracelular, a nandrolona sofre ação da 5 $\alpha$ -redutase. Esta conversão ocorre em grandes proporções nos órgãos sexuais, devido às altas concentrações da enzima 5 $\alpha$ -redutase, e em menor escala nos músculos esquelético e cardíaco. Como o metabólito da nandrolona, ao contrário da diidrotestosterona, tem baixa afinidade pelo receptor androgênico, os efeitos androgênicos da nandrolona são menores do que os da testosterona

(Cunha *et al.*, 2004). Nos músculos, como a presença de  $5\alpha$ -redutase é menor, a própria nandrolona interage com os receptores para esteróides, produzindo respostas anabólicas relativamente maiores (Celotti & Cesi, 1992). Assim, comparativamente à testosterona, a nandrolona apresenta maior ação anabólica e menor atividade androgênica (Wilson, 1988), sendo por isso, um dos EAA mais utilizados mundialmente (Kutscher *et al.*, 2002).

Devido aos efeitos anabólicos, e dentre estes, o estímulo da síntese protéica, o uso não terapêutico dos EAA, com o objetivo de melhorar o desempenho atlético, vem despertando a atenção de pesquisadores e profissionais na área da Saúde devido aos importantes efeitos colaterais resultantes do uso indiscriminado dos EAA em altas doses e/ou por períodos prolongados (Creutzberg & Schols, 1999). Além disso, apesar de existirem estudos que associam o uso de doses supra-fisiológicas de EAA a algum grau de hipertrofia e incremento de força muscular, muitas vezes estas são mudanças pequenas, da ordem de 1 a 5%, sendo raramente relevantes estatística ou clinicamente (Kuhn, 2002). Entretanto, infelizmente muitos atletas, inclusive os de elite, acreditam que estas mudanças representam a margem da vitória e difundem esta cultura. Cabe ressaltar ainda que alguns estudos científicos revelaram a inexistência de efeitos significativos sobre o desempenho atlético, decorrente do uso de EAA, destacando a importância de efeitos placebo (Cunha *et al.*, 2004).

Dentre os graves efeitos colaterais do uso de altas doses de EAA, sem necessidade terapêutica, podemos citar: atrofia do tecido testicular, causando infertilidade e disfunção erétil; ginecomastia, devido à maior quantidade de hormônio androgênico convertido a estrógeno, pela ação da enzima aromatase; masculinização, evidenciada pelo engrossamento de voz e crescimento de pêlos no corpo; irregularidade menstrual; calvície, aparecimento de erupções acnéicas; fechamento epifisário prematuro; aumento da libido (Wu, 1997); ruptura de tendão, devido ao aumento exagerado de massa muscular sem equivalente desenvolvimento do tecido tendinoso; tumores de próstata; disfunções hepatocelulares e tumores hepáticos, aumentando os níveis séricos das transaminases aspartato aminotransferase (AST/TGO) e alanina aminotransferase (ALT/TGP) (Johnson, 1985; Yesalis, 1993). Tanto em estudos em humanos, como em estudos em animais de laboratório, também já foram evidenciadas alterações no metabolismo lipídico, com

elevação dos níveis de LDL (lipoproteína de baixa densidade) e diminuição dos níveis de HDL (lipoproteína de alta densidade) (Kuipers *et al.*, 1991; Cunha *et al.*, 2005a); alterações de humor (Gruber & Pope Jr, 2000) e de comportamento (Bahrke *et al.*, 2000), e aumento do nível de ansiedade (Rocha, 2006). Além disso, existem vários relatos a respeito do efeito de dependência que o uso de altas doses de EAA pode causar. Este efeito foi pela primeira vez apresentado na literatura médica em 1980, e desde então vários outros estudos envolvendo atletas apresentaram evidências de que os EAA causam dependência química e que, após a retirada, alguns atletas sofrem síndrome de abstinência (Parssinen & Seppala, 2002). A ocorrência de suicídio em indivíduos com predisposição genética também foi relacionada ao uso de altas concentrações de EAA (Thiblin *et al.*, 1999).

Com relação aos efeitos colaterais do consumo abusivo de EAA sobre o sistema cardiovascular, foram observadas alterações endoteliais em aorta torácica de ratos (Cunha *et al.*, 2005a), diminuição da ação vasodilatadora à acetilcolina (Ferrer *et al.*, 1994a) e da resposta contrátil da aorta (Ferrer *et al.*, 1994b), em coelhos. Quanto ao controle adrenérgico da função cardíaca em ratos sedentários, a resposta inotrópica mediada pelos adrenoceptores (AR)  $\beta$  encontra-se reduzida após administração de doses supra-fisiológicas de esteróide anabólico (Norton *et al.*, 2000).

Em humanos, alterações eletrocardiográficas (Stolt *et al.*, 1999), aumento da pressão arterial (Kuipers *et al.*, 1991); cardiomiopatias; infarto agudo do miocárdio e embolia (Wu, 1997) foram evidenciadas em usuários de altas doses de EAA. Também foi observado que o exercício físico, associado ao uso de EAA, promoveu hipertrofia cardíaca patológica e anormalidades na estrutura e função sistólica e diastólica do ventrículo esquerdo (Nottin *et al.*, 2006; Urhausen *et al.*, 2004; Woodiwiss *et al.*, 2000). Além disso, a morte súbita de jovens atletas poderia também estar relacionada ao uso indevido de tais hormônios (Fineschi *et al.*, 2001; Urhausen *et al.*, 2004) associado ou não à estimulação simpática desencadeada pelo exercício físico.

## 1.2 As catecolaminas e os adrenoreceptores

Durante a realização do exercício físico, o sistema nervoso simpático e a medula da glândula adrenal liberaram as catecolaminas (noradrenalina e adrenalina), as quais têm um importante papel em controlar a frequência e força de contração cardíaca, permitindo o bombeamento adequado de sangue para os tecidos durante o exercício físico (Tanno & Marcondes, 2002). O controle positivo da força e frequência cardíaca é feito por meio da interação das catecolaminas endógenas, noradrenalina e adrenalina, com os receptores  $\alpha$  e  $\beta$  adrenérgicos. Estes foram identificados por Ahlquist (1948), e inicialmente classificados em dois tipos:  $\alpha$  e  $\beta$ . Aceita-se que existam três subgrupos de receptores adrenérgicos:  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  e  $\beta$ , que diferem entre si quanto à sequência de aminoácidos de sua estrutura protéica (Bylund *et al.*, 1994), quanto à afinidade a agonistas e antagonistas adrenérgicos e quanto ao sistema de segundo mensageiro a que estão acoplados: aumento de fosfatidil inositol e cálcio citoplasmáticos - receptores  $\alpha_1$ ; diminuição dos níveis intracelulares de adenosina monofosfato cíclico (AMPC) - receptores  $\alpha_2$ ; e aumento dos níveis intracelulares de AMPC - receptores  $\beta$  (Chakraborti *et al.*, 2000).

Estudos *in vivo* mostraram que os adrenoreceptores  $\beta_1$  e  $\beta_2$  estão envolvidos nos efeitos cronotrópicos e inotrópicos positivos no coração humano e de animais de laboratório (Bylund *et al.*, 1994). A participação desses receptores é importante para manutenção da função cardíaca em resposta às catecolaminas (Lefkowitz *et al.*, 1993); entretanto, a contribuição de cada um deles varia dependendo de cada espécie (Santos, Spadari-Bratfisch, 2006). Os adrenoreceptores  $\beta$  estão acoplados a uma proteína  $G_s$  (estimulatória) e ativam a adenilil ciclase promovendo aumento dos níveis intracelulares de AMPC, e subsequente ativação da proteína quinase A, com fosforilação do canal de cálcio voltagem-dependente e aumento nos níveis intracelulares de cálcio (Chakraborti *et al.*, 2000), resultando em aumento da frequência e força de contração cardíaca.

A resposta dos tecidos às catecolaminas é resultante não só de sua interação com os receptores adrenérgicos, e dos eventos intracelulares que se seguem a essa interação, mas também da atividade dos sistemas de metabolização das catecolaminas: a recaptação

neuronal, e inativação pela enzima monoamino-oxidase (MAO) (Trendelenburg, 1991) e a captação extraneuronal, e subsequente metabolização pela enzima catecol-o-metil transferase (COMT) (Mannisto & Kaakkola, 1999).

A resposta dos tecidos periféricos à estimulação adrenérgica pode ser substancialmente modificada por variações da concentração de agonistas adrenérgicos, alterações de temperatura ou da composição química do plasma e níveis circulantes de vários hormônios, tais como hormônios tireoidianos (Kupfer *et al.*, 1986), glicocorticóides (Spadari *et al.*, 1988; Linardi, 1992; Nourani *et al.*, 1992; Marcondes, 1998), esteróides sexuais femininos (Moura & Marcondes, 2001) e esteróides anabólicos (Ramo, 1987; Norton *et al.*, 2000). Alterações da sensibilidade adrenérgica também podem ser causadas pelas modificações de natureza neural e hormonal ligadas ao exercício físico.

A dessensibilização pode diminuir a resposta celular a agonistas adrenérgicos e normalmente ocorre após a exposição prolongada ou breve a altas concentrações do agonista (Stiles *et al.*, 1984). O processo de dessensibilização pode ocorrer devido ao desacoplamento entre o receptor e a proteína G, como conseqüência da fosforilação do receptor. Este é um processo rápido, que pode ocorrer em segundos ou minutos após a exposição do tecido a um agonista. O seqüestro do receptor, que consiste no seu deslocamento da superfície celular para um local intracelular e a diminuição no número de receptores - *downregulation*, em conseqüência de aumento na sua degradação e/ou diminuição de sua síntese, também provocam diminuição na resposta a agonistas (Lohse, 1993).

Por outro lado, o aumento da sensibilidade a agonistas adrenérgicos resulta de aumento no número de receptores específicos na membrana plasmática ou no acoplamento destes com os sistemas de segundos mensageiros, ou ainda de alterações na estrutura dos receptores adrenérgicos que resultem em maior afinidade pelos agonistas (Stiles *et al.*, 1984). Além disso, a inibição dos processos de metabolização das catecolaminas também pode contribuir para o desenvolvimento de supersensibilidade adrenérgica.

O papel das alterações de sensibilidade do tecido cardíaco às catecolaminas ainda não está totalmente esclarecido. Observou-se supersensibilidade da resposta cronotrópica à isoprenalina e noradrenalina em átrios direitos isolados de ratos e ratas

submetidos a uma sessão de natação (Spadari & De Moraes, 1988; Tanno *et al.*, 2002), e subsensibilidade a noradrenalina, após três sessões de natação (Spadari *et al.*, 1988; Marcondes *et al.*, 1996). As alterações hormonais ou comportamentais associadas indicaram que a alteração no controle simpático do cronotropismo cardíaco parece ter sido uma resposta para assegurar a sobrevivência do indivíduo, ou um sinal de prejuízo funcional do músculo cardíaco.

Neste sentido, também foi demonstrado que os níveis de catecolaminas aumentam significativamente, e proporcionalmente à intensidade do exercício físico (Isawa *et al.*, 1989) e a exposição celular a altos níveis de catecolaminas resulta em alterações nos AR presentes na membrana celular, o que pode causar disfunção progressiva da célula miocárdica e morte celular (Limbird & Vaughan, 1999). Corroborando estes achados, foi descrito que a estimulação dos AR- $\beta_1$  cardíaco pode desencadear a ocorrência de hipertrofia cardíaca *in vivo* (Boluyit *et al.*, 1995) e *in vitro* (Zou *et al.*, 1999), sendo que, em ratos, a hipertrofia cardíaca é acompanhada de necrose, fibrose, apoptose e morte celular, contribuindo para a falência cardíaca (Morisco *et al.*, 2001; Zaugg *et al.*, 2000).

A estimulação crônica de AR- $\beta_1$  promove diminuição na densidade desses receptores como um mecanismo adaptativo de proteção, entretanto, isso promove prejuízo na função cardíaca (Gu *et al.*, 1998). Nessas circunstâncias, a ativação simultânea do subtipo  $\beta_2$  pode contribuir para a manutenção da função cardíaca e proteger os miócitos da apoptose (Xiang *et al.*, 2002), pois os AR- $\beta_2$  podem não apenas ativar a proteína Gs, mas também a proteína Gi (inibitória). Quando essa via é ativada, ocorre inibição do sistema adenilil ciclase-AMPC-proteína quinase (Jo *et al.*, 2002), promovendo um efeito anti-apoptótico nos cardiomiócitos (Zhu *et al.*, 2001). A estimulação dos AR- $\beta_2$  através da via de sinalização da proteína Gi tem sido demonstrada em algumas situações patológicas, como pacientes com falência cardíaca e insuficiência cardíaca congestiva (Bohm *et al.*, 1994; Eschenhagem *et al.*, 1992). A infusão crônica de catecolaminas em ratos aumenta a expressão de proteína Gi no tecido cardíaco (Eschenhagem *et al.*, 1992; Mende *et al.*, 1992), sugerindo que essa via de sinalização poderia ter um efeito adaptativo de proteção ao tecido cardíaco em resposta aos efeitos deletérios da ativação crônica do sistema nervoso simpático (Santos, Spadari-Bratfisch, 2006).

Assim, o estudo do efeito de altas doses de EAA sobre a sensibilidade às catecolaminas e sua possível associação com a hipertrofia cardíaca patológica, poderia contribuir para uma melhor compreensão dos mecanismos relacionados aos efeitos cardíacos dos EAA.

### **1.3 Hipertrofia Cardíaca**

Classicamente, a hipertrofia cardíaca é definida como uma resposta adaptativa do miócito à sobrecarga funcional imposta (Flenning *et al.*, 2003), caracterizada pelo aumento de seu tamanho, e pode ser modulada e/ou modificada pela presença de estímulos neuroendócrinos e neurohumorais (Morales *et al.*, 1999). Na hipertrofia moderada, a performance do cardiomiócito pode estar normal ou aumentada, enquanto na hipertrofia severa, observa-se redução na amplitude e aumento na duração da contração da fibra muscular cardíaca (Hart, 2003). A hipertrofia cardíaca pode ocorrer como uma resposta fisiológica adaptativa, em resposta ao treinamento físico ou em situações patológicas, como ocorre na obesidade, hipertensão ou disfunções valvulares (Safi, 1998, Evangelista *et al.*, 2003). Através deste mecanismo adaptativo é possível compensar o estresse cardíaco, diminuindo o consumo do oxigênio pelo miocárdio e normalizando a função ventricular (Opie, 1998). É possível que este mecanismo adaptativo, dependendo da intensidade e duração do estímulo, e de fatores coadjuvantes como ativação neuro-humoral e fatores genéticos venha acompanhado de alterações intrínsecas dos miócitos cardíacos ou de outras células cardíacas, predispondo a um déficit de relaxamento, falência contrátil e instabilidade elétrica no coração (Franchini, 2001) promovendo assim, independente de sua causa, uma elevação nas taxas de morbidade e mortalidade entre os indivíduos acometidos (Levy *et al.*, 1990).

Neste sentido, Stolt *et al.* (1999) descreveram que usuários de altas doses de esteróides anabólicos que praticavam exercícios físicos resistidos, apresentaram hipertrofia ventricular esquerda associada a aumento do intervalo QT. O aumento deste intervalo predispõe à ocorrência de arritmias e morte súbita, e caracteriza a chamada síndrome do intervalo QT prolongado, e poderia estar relacionado a alterações no controle do

cronotropismo cardíaco (Tanno *et al.*, 2002). Apesar de geralmente esta síndrome apresentar um componente congênito, a ingestão de substâncias que favorecem a taquicardia ventricular também podem resultar nesta alteração eletrocardiográfica (Hart, 2003).

A hipertrofia cardíaca pode ser concêntrica ou excêntrica. Quando tem como causa uma sobrecarga pressora e apresenta um aumento na espessura da parede e redução discreta e/ou manutenção do diâmetro da cavidade ventricular, é denominada como hipertrofia concêntrica (Anversa *et al.*, 1984). Neste tipo de hipertrofia, ocorre uma adição em paralelo de sarcômeros com crescimento lateral dos cardiomiócitos (Carreño *et al.*, 2006). Por outro lado, a hipertrofia excêntrica é caracterizada pelo aumento do diâmetro da cavidade ventricular, sem alteração na espessura da parede e promove aumento da sobrecarga volumétrica (Morales *et al.*, 1999) além de promover adição de sarcômeros em série celular longitudinal (Dorn *et al.*, 2003).

Estudos realizados com miócitos isolados de ratos mostraram que o exercício aeróbio de baixa e média intensidade induz hipertrofia excêntrica, enquanto que o exercício anaeróbio de alta intensidade promove hipertrofia concêntrica (Natali, 2004). Embora raramente o condicionamento atlético seja puramente isotônico ou isométrico, já que a maioria das atividades físicas envolvem componentes dinâmicos e estáticos com predomínio de um deles (Barros Neto, 1994; Ghorayeb & Batlouni, 1998), as diversas modalidades esportivas encontram-se divididas em dois grupos: esportes de resistência, onde há predominância das formas isotônicas ou dinâmicas do exercício, e esportes de força, nos quais predominam as formas isométricas ou estáticas do exercício (Ghorayeb *et al.*, 2005).

De acordo com Plum *et al.* (1999), atletas envolvidos com exercícios aeróbios, altamente dinâmicos e isotônicos, como por exemplo, a corrida, desenvolvem predominantemente um aumento no tamanho da câmara do ventrículo esquerdo com um aumento proporcional na espessura da parede do ventrículo decorrente da sobrecarga cardíaca promovida pelo exercício de resistência, caracterizando assim, uma hipertrofia excêntrica. Além disso, uma sobrecarga de volume secundário ao aumento do retorno venoso proveniente deste tipo de atividade, produz um aumento nos tamanhos dos miócitos

que se hipertrofiam em sentido longitudinal (Morales *et al.*, 1999). Por outro lado, atletas envolvidos com exercícios anaeróbios, estáticos ou isométricos, como levantamento de peso, estariam predispostos ao aumento da espessura da parede do ventrículo esquerdo sem alterações no tamanho da câmara cardíaca, sendo esta alteração decorrente do aumento da pressão e acompanhada pelo aumento da pressão arterial sistêmica em decorrência deste tipo de exercício, desenvolvendo assim, uma hipertrofia concêntrica (Pluim *et al.*, 1999).

Cabe ressaltar que a hipertrofia fisiológica conserva um fluxo coronário normal, preserva uma capacidade vasodilatadora com distribuição homogênea deste fluxo entre o endocárdio e o pericárdio tanto em condição de repouso como durante o exercício, e não promove alterações irreversíveis no interstício, consolidando o padrão de reversibilidade deste processo, uma vez que decorre de um processo fisiológico de adaptação (Morales *et al.*, 1999). Além disso, promove uma melhora no débito cardíaco e uma diminuição na rigidez cardíaca (Fenning *et al.*, 2003).

A hipertrofia cardíaca ocorre por modificações no processo de síntese protéica através de estímulos hemodinâmicos e neuro-humorais (Samesina & Amodeo, 2001). O aumento do estresse circunferencial, representado pelo aumento do sarcômero, aumento da tensão na superfície da célula e da ativação de receptores de membrana (receptores adrenérgicos, receptores de hormônios tireoideanos, angiotensina II e insulina) atua como um estímulo mecânico da síntese protéica (Safi, 1998).

Durante o desenvolvimento da hipertrofia cardíaca, seja por sobrecarga sistólica ou diastólica, pode haver alteração da proporção entre fibras elásticas, células musculares cardíacas e colágeno (Arnett, 2000), com tendência ao acúmulo de colágeno no interstício do miocárdio (Weber *et al.*, 1991). Nas hipertrofias secundárias ao hipertireoidismo, treinamento físico aeróbio ou acromegalia, a proporção do colágeno em relação aos demais componentes do miocárdio se mantém constante (Mill & Vassalo, 2001).

No tecido cardíaco os principais tipos de colágenos encontrados são tipo I e III (85 e 11% respectivamente) (Souza, 2002), sendo os tipos IV, V e VI, específicos de membranas (Eghbali, 1990), com o diâmetro individual de suas fibras variando entre 30 a 80 nm (Debessa *et al.*, 2001). O colágeno tipo I, o mais rígido de todos, é responsável pela rigidez das câmaras cardíacas e tem como função promover resistência às tensões (Pelouch

*et al.*, 1994). O colágeno tipo III forma pontes entre os feixes de colágeno tipo I, que se alinha longitudinalmente ao longo dos feixes de miócitos, exercendo um papel importante na manutenção estrutural e no alinhamento do músculo cardíaco (Montes & Junqueira, 1982; Mill & Vassalo, 2001).

Durante o processo do envelhecimento, o conteúdo de colágeno no músculo cardíaco sofre um aumento significativo (Debessa *et al.*, 2001), podendo contribuir de forma direta para a diminuição da elasticidade dos ventrículos (Werzár, 1969). Apesar dos fatores responsáveis pelo aumento nas concentrações de colágeno no músculo cardíaco serem desconhecidos, é bem estabelecido que o envelhecimento cardíaco leva a perda de miócitos, e conseqüente acúmulo de colágeno na parede dos ventrículos (Olivetti *et al.*, 1991). Outra hipótese para explicar o aumento nas concentrações de colágeno no músculo cardíaco durante o envelhecimento, é a inibição das enzimas que degradam o colágeno (Robert *et al.*, 1997).

Diante dos diferentes protocolos experimentais empregados e dos resultados controversos na literatura, o impacto que doses supra-fisiológicas de EAA podem causar ao organismo e a relação das mesmas como o exercício físico resistido, não estão totalmente esclarecidos. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar, em animais de laboratório, a relação causa-efeito entre o tratamento com altas doses de nandrolona e o treinamento físico resistido sobre as alterações cardíacas. A utilização de ratos de laboratório permitiu um maior controle das variáveis experimentais (dose, tempo de tratamento, carga e tempo de treinamento físico, influências ambientais), em relação aos estudos em humanos.

## **2 OBJETIVO**

Avaliar, em ratos, o efeito da administração do esteróide anabólico androgênico nandrolona e do treinamento físico resistido de alta intensidade na função e morfologia cardíaca. Para tanto, os objetivos específicos foram:

2.1 Avaliar a sensibilidade às catecolaminas no átrio direito isolado de ratos.

2.2 Avaliar os mecanismos subjacentes às alterações de sensibilidade adrenérgica que foram observadas avaliando, no tecido atrial, a atividade dos sistemas de metabolização das catecolaminas, a densidade dos adrenoreceptores  $\beta$ -adrenérgicos e a afinidade de ligantes específicos por estes adrenoreceptores.

2.3 Avaliar a função cardíaca através do exame ecodopplercardiograma.

2.4 Avaliar através de análise histológica as alterações na concentração tecidual de colágeno no músculo cardíaco.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Animais**

Foram utilizados ratos Wistar com 2 meses de idade, no início do experimento, de padrão SPF (*Specific Patogen Free*), fornecidos pelo Centro Multidisciplinar de Investigação Biológica da UNICAMP (CEMIB). Os animais foram mantidos no Biotério da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, alojados em gaiolas coletivas, com 4 animais, no máximo, em sala climatizada ( $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ ), e com ciclo claro/escuro de 12/12 h (luzes acendendo às 6:00 h). Receberam, durante todo o período, água e ração para ratos à vontade, em ambiente sanitariamente controlado. Todos os procedimentos utilizados neste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, de acordo com as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (protocolos 391-1 e 944-1).

#### **3.2 Delineamento Experimental**

Os animais foram aleatoriamente divididos em quatro grupos experimentais: Sedentário + veículo (SV); Treinado + veículo (TV); Sedentário + EAA (SEAA); Treinado + EAA (TEAA). Para a realização das análises, foi utilizado um número de 5 a 10 animais por grupo experimental, de acordo com o tipo de análise realizada.

Em 100 animais, divididos entre os grupos acima descritos, 24 h após a última sessão de treinamento físico, foram realizadas análises funcionais *in vitro* dos receptores adrenérgicos no átrio direito isolado e quantificação de colágeno no ventrículo esquerdo. Para isso, foram obtidas:

- 1) curvas concentração-efeito (CCE) à noradrenalina, na presença e ausência de inibidores dos sistemas de metabolização das catecolaminas - fenoxibenzamina e estradiol (n = 20, sendo 5/grupo);
- 2) CCE à adrenalina, na presença e ausência de inibidores dos sistemas de metabolização das catecolaminas - fenoxibenzamina e estradiol (n = 21, sendo 5-6/grupo);

3) CCE à isoprenalina e xamoterol (n = 22, sendo 5-6/grupo);

4) CCE à noradrenalina na presença e ausência de antagonista seletivo, o metoprolol (n = 37, sendo 9-10/grupo). O ventrículo esquerdo destes animais foi preparado para análise histológica e quantificação do conteúdo tecidual de colágeno.

Outros 34 animais, divididos nos mesmos grupos experimentais acima descritos, foram anestesiados para a realização de análises da função cardíaca através do exame ecodopplercardiograma, 48 h após a última sessão de treinamento físico.

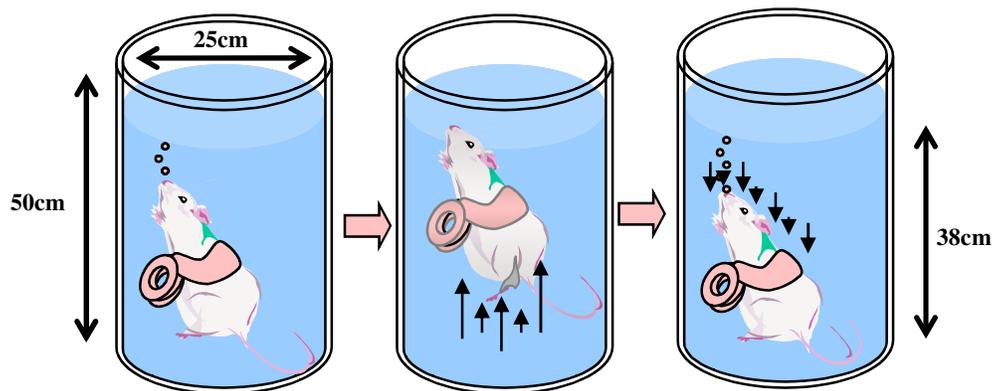
### **3.3 Tratamento com EAA**

Os animais dos grupos veículo e EAA receberam respectivamente injeções i.m. de veículo (propilenoglicol – 0,2mL/Kg) ou de decanoato de nandrolona (Deca-Durabolin<sup>®</sup> - 5mg/Kg), duas vezes por semana (segundas e quintas-feiras) entre às 7:30 e 8:00 h (Cunha *et al.*, 2005a; Cunha *et al.*, 2005b; Cunha *et al.*, 2006). Esta dose é equivalente às doses muito altas geralmente utilizadas por atletas: 600 mg/semana ou aproximadamente 8 mg/Kg/semana (Norton *et al.*, 2000; Pope & Katz, 1988). As aplicações foram realizadas no músculo gastrocnêmio esquerdo dos animais. O peso corporal dos animais foi determinado semanalmente, às segundas-feiras, antes da aplicação do veículo ou do EAA.

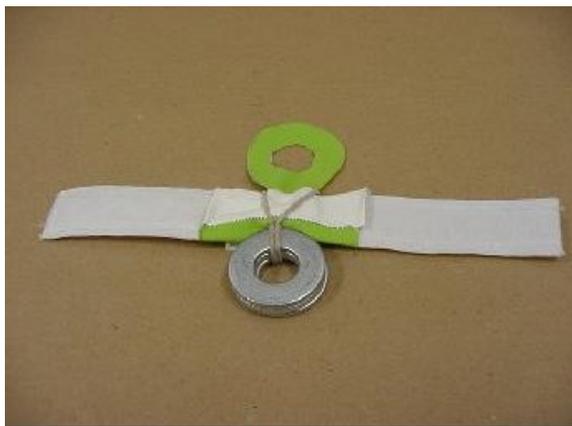
### **3.4 Treinamento Físico Resistido**

Os animais foram submetidos individualmente a sessões de saltos em um cilindro de PVC, contendo água a 30°C (Harri & Kuusela, 1986) a uma profundidade de 38 cm (Figura 1), durante 6 semanas.

Após um período inicial de adaptação ao meio líquido (1º ao 5º dia, com sobrecarga equivalente a 50% do peso corporal e número crescente de saltos e séries), os animais dos grupos treinados foram submetidos a um programa de treinamento físico resistido de alta intensidade (Cunha *et al.*, 2005a; Cunha *et al.* 2005b; Cunha *et al.*, 2006). A sobrecarga de peso foi acoplada ao tórax dos animais através de um colete, como ilustrado na Figura 2.



**Figura 1** - Dimensões do cilindro de PVC utilizado para o treinamento físico dos animais.



**A**



**B**

**Figura 2** - Colete de sobrecarga (A) e seu acoplamento ao tórax do animal (B).

O treinamento físico resistido (Cunha *et al.*, 2005a; Cunha *et al.* 2005b) consistiu de 25 sessões de saltos em meio líquido com sobrecarga de peso, 5 dias por semana, entre às 13:00 e 15:00h (Tabela 1). Em cada sessão, realizavam 4 séries de 10 saltos. Entre as séries houve um intervalo de 30 segundos, durante o qual o animal era retirado da água e mantido em repouso sobre um suporte (Cunha *et al.*, 2005a; Cunha *et al.* 2005b).

**Tabela 1** - Protocolo de treinamento físico resistido.

Dia de treinamento	Treinamento	Sobrecarga (% Peso corporal)
1°	2 séries de 5 saltos	50
2°	3 séries de 5 saltos	50
3°	4 séries de 5 saltos	50
4°	4 séries de 7 saltos	50
5°	4 séries de 9 saltos	50
6° ao 15°	4 séries de 10 saltos	50
16° ao 25°	4 séries de 10 saltos	60
26° ao 30°	4 séries de 10 saltos	70

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

### 3.5 Átrio Direito Isolado

No dia seguinte à última sessão de natação, os animais treinados e sedentários foram anestesiados por inalação de halotano (Tanno *et al.*, 2002). O tórax foi aberto, o animal foi morto por parada respiratória, e o coração removido. O átrio direito foi excisado e preparado para registro isométrico das contrações espontâneas, sob tensão diastólica de 0.5gf, em câmara para órgãos isolados contendo 20 mL de solução de Krebs-Henseleit, com a seguinte composição [mM]: NaCl 115,0; KCl 4,7; CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 2,5; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1,2; MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 2,5; NaHCO<sub>3</sub> 25,0; glicose 11,0; ácido ascórbico 0,11. Este último foi adicionado para diminuir a oxidação das catecolaminas, durante a obtenção das CCE. O líquido de incubação foi borbulhado continuamente com 95% de O<sub>2</sub> e 5% de CO<sub>2</sub> e a temperatura mantida a 36,5 ± 0,1°C, com auxílio de uma bomba de perfusão. Para registro

das contrações espontâneas foi utilizado um transdutor isométrico de tensão acoplado a um polígrafo (Marcondes *et al.*, 1996; Tanno *et al.*, 2002).

### **3.6 Curvas Concentração-Efeito às Catecolaminas**

Após a montagem do átrio, o líquido de incubação foi trocado a cada 15 min durante 45-60 min para estabilização da frequência de batimentos. Esta foi determinada por variações de frequência menores que 5 batimentos por minuto (bat/min), durante 15 min, com contagens sucessivas a cada 5 min. Átrios que apresentaram irregularidades rítmicas, ou que não estabilizaram sua frequência após 60 min de incubação foram descartados (Marcondes *et al.*, 1996; Tanno *et al.*, 2002).

Para a análise da frequência inicial (FI) foram utilizados os dados obtidos após a montagem e estabilização do tecido atrial e imediatamente antes do início da primeira CCE. Após o período de estabilização, foram obtidas CCE à noradrenalina ou adrenalina. Foi utilizado o método cumulativo e os incrementos sucessivos da concentração molar do agonista foram de 0,5 unidade logarítmica (Van Rossum, 1963). A resposta máxima (RM) foi determinada quando três concentrações sucessivas e crescentes do agonista adrenérgico não alteraram a resposta obtida com a concentração imediatamente anterior (Marcondes *et al.*, 1996). A RM indica a diferença entre a FI e a frequência máxima de batimentos induzida pelo agonista adrenérgico utilizado.

A sensibilidade do átrio direito foi avaliada pela determinação do valor  $pD_2$ , que corresponde ao negativo do logaritmo da concentração molar do agonista que determina 50% do efeito máximo, em experimentos individuais (Miller *et al.*, 1948). Ao final da CCE à noradrenalina ou adrenalina, o tecido foi lavado com solução de Krebs-Henseleit até que a frequência retornasse ao nível obtido antes da realização da primeira curva (Tanno *et al.*, 2002).

Em seguida, para avaliação da atividade dos sistemas de metabolização das catecolaminas, antes da segunda curva realizada à noradrenalina ou adrenalina, o tecido foi tratado com 10  $\mu$ M de fenoxibenzamina (PBZ), a qual bloqueia o sistema de recaptção neuronal (Vanderlei *et al.*, 1996; Spadari-Bratfisch *et al.*, 1999). Após 30 min, a solução de

incubação foi trocada a cada quinze min durante uma hora, para remover o excesso de PBZ. Para avaliação da atividade do sistema de captação extraneuronal das catecolaminas foi adicionado 5  $\mu\text{M}$  de estradiol (Zanesco *et al.*, 1997), um dos principais inibidores endógenos deste sistema (Salt, 1972). Após 15 min, na presença do estradiol, foi obtida a segunda CCE à noradrenalina ou adrenalina. Ao compararmos CCE na presença e na ausência de inibidores dos mecanismos de metabolização, espera-se que a inibição de tais processos determine um desvio significativo à esquerda na curva na ausência dos inibidores (Kenakin, 1993). Se isto não ocorrer, o sistema analisado provavelmente encontra-se inibido por outro fator, que não o tratamento *in vitro* (Rodrigues *et al.*, 1995; Zanesco *et al.*, 1997; Tanno *et al.*, 2002).

Para avaliarmos se o protocolo experimental induziu alteração na densidade de receptores adrenérgicos  $\beta_1$ , foram obtidas CCE ao xamoterol, agonista parcial  $\beta_1$  seletivo. Para isso, átrios direitos isolados de outros animais foram submetidos ao mesmo protocolo anteriormente descrito (estabilização do tecido e bloqueio dos sistemas de metabolização) e foi obtida a primeira CCE a isoprenalina, agonista pleno não-seletivo de AR- $\beta$ . Após a determinação da RM, o tecido foi lavado com solução de Krebs-Henseleit até que a frequência retornasse ao nível obtido antes da realização da primeira curva. Foi realizada a 2ª CCE ao agonista parcial xamoterol. Alterações na RM a agonistas parciais, em comparação àquela determinada por agonistas plenos, fornecem informações indiretas sobre a densidade de receptores ativos no tecido estudado (Kenakin, 1993).

### **3.7 Determinação do valor $pA_2$ do Metoprolol**

Para avaliação da afinidade dos AR- $\beta_1$  por ligantes específicos e avaliação da homogeneidade de AR do átrio direito isolado, foram obtidas CCE à noradrenalina, na presença e ausência de concentrações diferentes do antagonista seletivo de AR- $\beta_1$  metoprolol. Átrios direitos de outros animais foram isolados e submetidos ao mesmo protocolo anteriormente descrito (estabilização do tecido e bloqueio dos sistemas de metabolização). Foi obtida uma CCE à noradrenalina e após a determinação da RM, o tecido foi lavado com solução de Krebs-Henseleit até que a frequência retornasse ao nível

obtido antes da realização da primeira curva. Em seguida o tecido foi incubado com metoprolol. O antagonista permaneceu em contato com a preparação durante 60 min antes do início da CCE (Spadari & De Moraes, 1988). Uma segunda CCE à noradrenalina foi então obtida na presença do metoprolol. Somente duas CCE foram obtidas em cada átrio isolado, sendo a primeira, na ausência do metoprolol.

A determinação do valor  $pA_2$  do metoprolol foi realizada utilizando-se o método de Schild (Schild, 1947; Arunlakshana & Schild, 1959). Foram obtidas CCE para a noradrenalina, na presença e ausência de concentrações diferentes de metoprolol.

Após a obtenção das CCE foi calculada a razão das concentrações equiefetivas (DR), a partir da  $EC_{50}$  ( $pD_2 = -\log EC_{50}$ ) do agonista, na presença e na ausência do antagonista. A partir desses resultados, os gráficos de Schild foram construídos, comparando-se os logaritmos de (DR - 1) com os logaritmos negativos das concentrações molares do antagonista.

O procedimento experimental foi considerado aceitável, para cálculo do valor  $pA_2$ , quando a reta de regressão do gráfico de Schild apresentou coeficiente angular não diferente estatisticamente de 1,0, e o valor  $pA_2$  for independente das concentrações do antagonista (Mackay, 1978). Quando isso ocorreu, o valor  $K_B$  ( $pA_2 = -\log K_B$ ) foi determinado através do método de Besse & Furchgott (1976), como:  $K_B = [B] / (DR - 1)$ , onde [B] indica a concentração molar do antagonista. Esse valor foi apresentado como logaritmo negativo, ou  $pA_2$ .

### **3.8 Análise farmacológica das Curvas Concentração-Efeito**

As CCE foram analisadas por regressão não linear, usando-se o programa Prism (GraphPAD software San Diego, CA, USA – licença G3-A 14920-830) de acordo com a equação  $E = E_{max} / ((1+(10^c/10^x)^n) + \Phi)$ , onde E é o aumento da frequência de batimentos atriais em resposta ao agonista (efeito);  $E_{max}$  é o efeito máximo do agonista; c é o logaritmo da concentração do agonista que produz 50% do  $E_{max}$ ; n representa o coeficiente angular e  $\Phi$ , o efeito na ausência do agonista. A sensibilidade do átrio foi avaliada pela determinação do valor  $pD_2$ , que corresponde ao logaritmo negativo da concentração molar do agonista

que determina um efeito igual a 50% da resposta máxima (EC<sub>50</sub>) em experimentos individuais (Miller *et al.*, 1948).

### **3.9 Fármacos e Soluções**

Para a solução de Krebs-Henseleit foram utilizados sais de padrão analítico (Merck) e água destilada e deionizada. A noradrenalina (Sigma Chemical Co), adrenalina (Sigma Chemical Co), metoprolol (Sigma Chemical Co) e xamoterol (Tocris Cookson Inc) foram diluídas em solução de ácido ascórbico a 2% e armazenada a -20°C, por uma semana. As diluições foram feitas em solução de Krebs-Henseleit imediatamente antes do uso, e descartadas em seguida. A fenoxibenzamina (RBI) e o estradiol (Merck) foram diluídos em etanol (Merck) e armazenados a -20°C durante um mês. A qualidade da água destilada e deionizada foi confirmada semanalmente por verificação de sua condutividade (Condutímetro Quikchek-ORION) e pH (papel indicador de pH – Merck).

### **3.10 Avaliação Morfofuncional da Função Cardíaca pelo Ecodopplercardiograma**

Para avaliação da função cardíaca foram realizadas medidas ecocardiográficas, de acordo com as recomendações do Comitê de Padronização do Modo M da Sociedade Americana de Ecocardiografia. Os exames ecocardiográficos transtorácicos foram realizados após o término do período experimental, por um único observador. Foram coletadas cinco medidas consecutivas de cada variável, sendo posteriormente calculada a média das mesmas.

Para realização dos exames ecocardiográficos (SEQUOIA 512, ACUSON Corporation, Mountain View, CA), 48 h após a última sessão de treinamento físico, os animais foram anestesiados com cloridrato de xilazina (12mg/Kg, i.p., Rompun, Bayer) e cloridrato de ketamina (50mg/Kg, i.p., Ketalar, Park Davis-Aché). Após a sedação, os animais foram colocados em decúbito dorsal, em uma mesa cirúrgica apropriada para o posicionamento do transdutor (10-14 MHz) no hemitórax direito do animal. Para otimização da resolução e penetração do feixe ultra-sonográfico no animal, as imagens

foram feitas a uma frequência de 13 MHz utilizando-se gel de transmissão para ultra-som de viscosidade média/alta (General Imaging Gel, ATL, Reedsville, USA). As imagens foram armazenadas em fitas de videocassete (Sony SVO-9500 MD) e em papel fotográfico através de impressão colorida (Sony, Color Video Printer Mavigraph UP-5600 MDU).

A partir da visualização do ventrículo esquerdo (corte transversal), ao nível dos músculos papilares, foi realizado o modo M e obtidas as medidas das seguintes variáveis: diâmetro diastólico (DDVE) e sistólico (DSVE) do ventrículo esquerdo, espessura do septo interventricular (SIV) e da parede posterior do ventrículo esquerdo (PP) em diástole. Após a realização das medidas foi calculada a massa do ventrículo esquerdo ( $MVE = [(DDVE+SIV+PP)^3 - (DDVE)^3] \times 1,047$ , onde 1,047 ( $\text{mg}/\text{mm}^3$ ) corresponde à densidade do miocárdio de acordo com a Sociedade Americana de Ecocardiografia. Além da massa do ventrículo esquerdo, foi calculada a fração de encurtamento do ventrículo esquerdo (VE) ( $\Delta D\% = [(DDVE-DSVE)/DDVE] \times 100$ ).

Como a massa ventricular esquerda varia entre animais de diferentes pesos corporais, os valores absolutos da mesma foram normalizados para posterior obtenção do grau de hipertrofia. O índice de massa ventricular foi calculado através da razão entre massa ventricular esquerda (g) e peso corporal (Kg). Através da normalização da massa do ventrículo esquerdo obtém-se uma variável não influenciável por fatores externos, e portanto um índice de hipertrofia cardíaca fidedigno.

As análises do Doppler foram realizadas através do estudo dos fluxos transmitral (picos E e A, relação E/A e tempo de desaceleração de E, importantes índices da função diastólica); aórtico (via de saída do Ventrículo Esquerdo) e tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV). Estas análises geram índices que complementam o estudo da função cardíaca, quais sejam: Índice de Performance Miocárdica (IPM) ( $[\text{tempo de fechamento da válvula mitral} - \text{tempo de ejeção}] / [\text{tempo de ejeção}]$ ); velocidade de encurtamento circunferencial (VEC) ( $\{[\text{volume diastólico do VE}] - [\text{volume sistólico do VE}] / [\text{volume diastólico do VE}]\}^3 - [\text{tempo de ejeção}]$ ). O tempo de desaceleração de E, o TRIV e o IPM foram corrigidos pelo tempo.

### **3.11 Quantificação da concentração tecidual de colágeno**

O ventrículo esquerdo foi isolado, pesado e fixado em Bouin por 24 horas e processados para inclusão em parafina, obtendo-se cortes não seriados de 6µm de espessura por meio de um micrótomo rotativo (Modelo RM 2155 – Marca Leica®). Os cortes foram corados com Picrosirius, coloração que evidencia a deposição de colágeno no tecido (Junqueira *et al.*, 1979; Borges *et al.*, 2005). Quando o colágeno é corado com o corante vermelho Sirius, numa solução supersaturada de ácido pícrico, a sua birrefringência aumenta mais do que 5 vezes (Constantine & Mowry, 1968; Souza, 2002).

Para a quantificação do colágeno, foram analisadas as lâminas correspondentes a cada grupo de animais, contendo cada lâmina 5 cortes e cada corte sendo dividido em 3 áreas. Sabe-se que as células presentes no músculo cardíaco encontram-se dispostas longitudinalmente em sua porção mais interna e transversalmente em sua porção mais externa. Sendo assim, no presente estudo, foi analisada a porção transversa. As lâminas foram observadas em microscópio de polarização para evidenciar as áreas birrefringentes (brilhantes). Esta imagem foi projetada em um monitor de computador, e as fibras de colágeno (áreas birrefringentes) foram quantificadas pelo programa KS-400 versão 2.0 Kontron - Zeiss® (Debessa *et al.*, 2001; Benedito & Bombonato, 2003), e expressas em µm<sup>2</sup>. O aumento das fibras de colágeno foi avaliado pelo aumento da área de birrefringência (brilho), que foi comparada entre os grupos experimentais.

### **3.12 Análise Estatística**

Para análise dos dados foi utilizada Análise de Variância Bifatorial, seguida do teste de Tukey para comparações múltiplas de médias. A comparação entre a primeira e a segunda curvas às catecolaminas, obtidas no mesmo tecido, foi realizada por teste t de Student para amostras pareadas. Para a análise dos valores pA<sub>2</sub> foi feita regressão linear. Valores de p menores do que 0,05 foram indicativos de significância estatística.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Análise funcional do átrio direito isolado

Os dados referentes à FI e RM à noradrenalina estão apresentados na Tabela 2. O protocolo de treinamento físico resistido não promoveu alterações significativas na FI de átrios direitos isolados dos animais nos diferentes grupos experimentais, bem como nos valores de RM à noradrenalina.

**Tabela 2** - Valores de frequência inicial (FI) e resposta máxima (RM) à noradrenalina de átrios direitos isolados de animais sedentários ou treinados, tratados com veículo ou EAA.

Grupos	N <sup>a</sup>	FI <sup>b</sup> (bat/min)	RM <sup>b</sup> (bat/min)
Sedentário Veículo	5	256±04	174±09
Treinado Veículo	5	236±05	200±14
Sedentário EAA	5	248±07	198±12
Treinado EAA	5	242±07	178±13

<sup>a</sup>Número de experimentos. <sup>b</sup>Valores médios (acompanhados dos respectivos erros-padrão das médias).

Na Tabela 3 estão apresentados os valores pD<sub>2</sub> da noradrenalina em átrios direitos isolados dos animais tratados com veículo ou EAA, submetidos ou não ao protocolo de treinamento físico resistido. Átrios direitos de animais treinados tratados com veículo apresentam supersensibilidade à noradrenalina, evidenciada por desvio significativo à esquerda de 2,7 vezes na CCE, quando comparado com o respectivo grupo sedentário (Tabela 3 – curva 1; Figura 3A). Supersensibilidade à noradrenalina também foi observada em átrios direitos de animais treinados tratados com veículo quando comparados com o

grupo treinado tratado com EAA, com desvio à esquerda de 2,5 vezes na CCE (Tabela 3 – curva 1; Figura 3A).

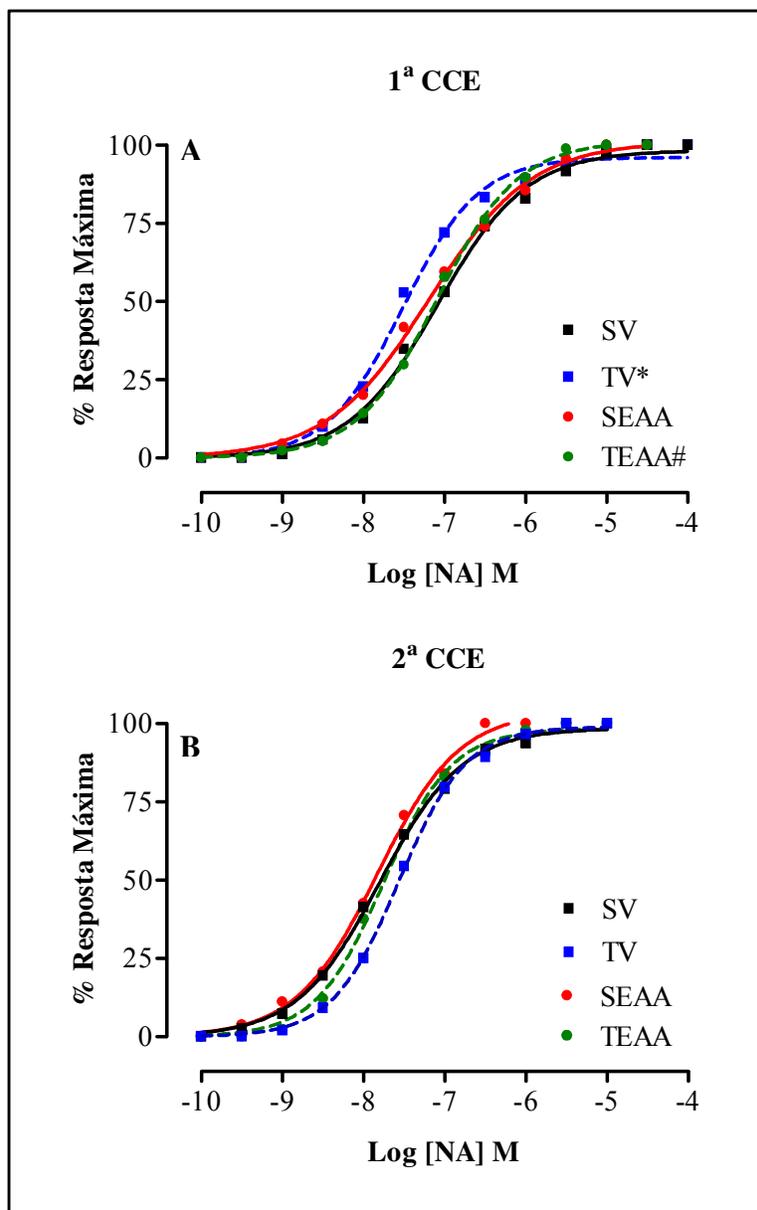
Após o bloqueio dos sistemas de metabolização das catecolaminas não foi observado diferença entre os grupos sedentário e treinado tratados com veículo, bem como nos grupos treinado tratado com veículo em comparação com os grupos de animais treinados e tratados com EAA.

Na tabela 3 também estão apresentados os valores  $pD_2$  da noradrenalina, obtidos na 2<sup>a</sup> CCE, realizada no mesmo tecido, na presença de bloqueadores dos sistemas de metabolização de catecolaminas. Nos grupos sedentário veículo, sedentário EAA e treinado EAA ocorreu um desvio significativo à esquerda da CCE à noradrenalina (Tabela 3 – curva 2), em relação à curva obtida na ausência de tais bloqueadores. Entretanto, no tecido atrial de animais submetidos ao treinamento físico tratados com veículo, após o bloqueio dos sistemas de metabolização das catecolaminas, não foi observado um desvio significativo na CCE à noradrenalina (Tabela 3; Figura 3B).

**Tabela 3** - Valores  $pD_2$  da noradrenalina de átrios direitos isolados de animais sedentários ou treinados, tratados com veículo ou EAA, antes e após bloqueio dos sistemas de metabolização das catecolaminas.

Grupo	N <sup>a</sup>	$pD_2^b$ curva 1 <sup>c</sup>	$pD_2^b$ curva 2 <sup>d</sup>	Desvio <sup>e</sup>
Sedentário Veículo	5	7,06±0,06	7,74±0,05♣	4,78
Treinado Veículo	5	7,49±0,03*	7,56±0,06	1,17
Sedentário EAA	5	7,12±0,09	7,82±0,07♣	5,01
Treinado EAA	5	7,09±0,06#	7,75±0,05♣	4,57

<sup>a</sup>Número de experimentos. <sup>b</sup>Valores médios (acompanhados dos respectivos erros padrão das médias) do negativo do logaritmo da concentração molar de noradrenalina que determinou 50% da resposta máxima nos tecidos isolados. <sup>c</sup>Curva realizada na ausência de inibidores de metabolização das catecolaminas. <sup>d</sup>Curva realizada na presença de inibidores dos sistemas de metabolização neuronal e extraneuronal. <sup>e</sup>Média dos desvios entre as curvas concentração efeito à noradrenalina na presença e na ausência de inibidores dos sistemas de metabolização das catecolaminas. \*Estatisticamente diferente do respectivo grupo sedentário. #Estatisticamente diferente do grupo treinado veículo. ♣Estatisticamente diferente da curva realizada antes do bloqueio dos sistemas de metabolização, no mesmo tecido.



**Figura 3** - Curvas concentração-efeito à noradrenalina, antes (1<sup>a</sup> CCE) (A) e após (2<sup>a</sup> CCE) (B) o bloqueio dos sistemas de metabolização das catecolaminas obtidas em átrios direitos isolados de animais tratados com veículo ou EAA, sedentários ou submetidos ao treinamento físico resistido. \*Estatisticamente diferente do grupo sedentário veículo. #Estatisticamente diferente do grupo treinado veículo ( $p < 0,05$ ).

Os dados referentes à adrenalina estão apresentados na tabela 4. O protocolo de treinamento físico resistido não promoveu alterações significativas na FI de átrios direitos isolados dos animais nos diferentes grupos experimentais, bem como nos valores de RM à adrenalina.

**Tabela 4** - Valores de frequência inicial (FI) e resposta máxima (RM) à adrenalina de átrios direitos isolados de animais sedentários ou treinados, tratados com veículo ou EAA.

Grupos	N <sup>a</sup>	FI <sup>b</sup> (bat/min)	RM <sup>b</sup> (bat/min)
Sedentário Veículo	5	280±14	202±22
Treinado Veículo	5	244±17	224±23
Sedentário EAA	6	254±06	192±15
Treinado EAA	5	248±06	190±19

<sup>a</sup>Número de experimentos. <sup>b</sup>Valores médios (acompanhados dos respectivos erros-padrão das médias).

O treinamento físico resistido promoveu supersensibilidade à adrenalina em átrios direitos isolados de animais tratados com veículo, com um desvio significativo à esquerda de 1,7 vezes na CCE e também no tecido atrial de animais tratados com EAA, com um desvio significativo à esquerda de 2,15 vezes na CCE à adrenalina (Tabela 5 - curva 1; Figura 4A;  $p < 0,05$ ), quando comparados com os respectivos grupos sedentários. O grupo sedentário tratado com EAA apresentou supersensibilidade à adrenalina quando comparado com o respectivo grupo tratado com veículo. O grupo treinado tratado com EAA também apresentou supersensibilidade à adrenalina quando comparado com o respectivo grupo tratado com veículo (Tabela 5 - curva 1; Figura 4A;  $p < 0,05$ ).

Após o bloqueio dos sistemas de metabolização das catecolaminas não foram observadas diferenças de sensibilidade à adrenalina entre os grupos analisados (Figura 4B).

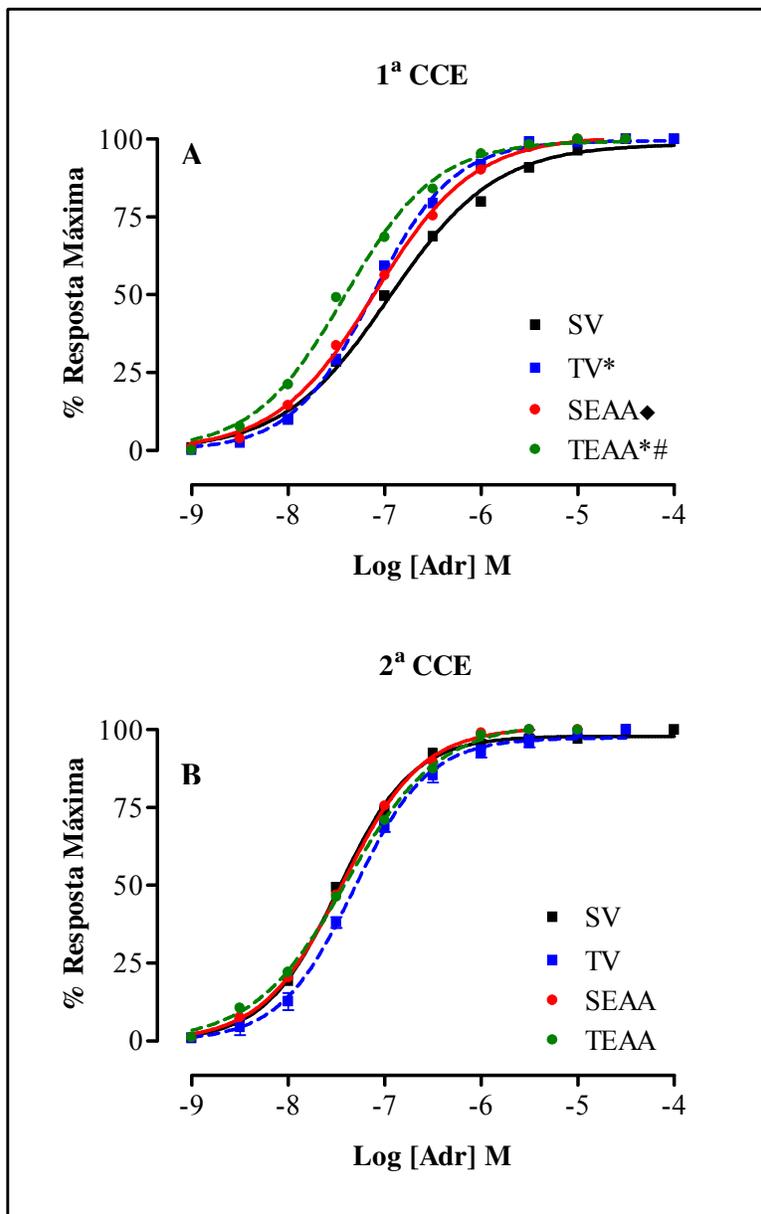
Na Tabela 5 também estão apresentados os valores  $pD_2$  da adrenalina obtidos na 2ª CCE realizada no mesmo tecido, na presença de bloqueadores dos sistemas de metabolização de catecolaminas. Nos grupos sedentário veículo, treinado veículo e sedentário EAA ocorreu um desvio significativo à esquerda na CCE à adrenalina (Tabela 5 – curva 2;  $p < 0,05$ ), em relação à curva obtida na ausência de tais bloqueadores.

Entretanto no grupo submetido ao treinamento físico e tratado com EAA, o bloqueio dos sistemas de metabolização das catecolaminas não provocou desvio significativo na CCE à adrenalina, em relação à curva obtida na ausência de bloqueadores de metabolização das catecolaminas (Tabela 5;  $p > 0,05$ ).

**Tabela 5** - Valores  $pD_2$  da adrenalina de átrios direitos isolados de animais sedentários ou treinados, tratados com veículo ou EAA, antes e após bloqueio dos sistemas de metabolização das catecolaminas.

Grupo	N <sup>a</sup>	$pD_2^b$ curva 1 <sup>c</sup>	$pD_2^b$ curva 2 <sup>d</sup>	Desvio <sup>e</sup>
Sedentário Veículo	5	6,88±0,05	7,43±0,05♣	3,55
Treinado Veículo	5	7,11±0,06*	7,31±0,04♣	1,58
Sedentário EAA	6	7,07±0,05♦	7,44±0,02♣	2,34
Treinado EAA	5	7,40±0,02*#	7,38±0,01	1,05

<sup>a</sup>Número de experimentos. <sup>b</sup>Valores médios (acompanhados dos respectivos erros padrão das médias) do negativo do logaritmo da concentração molar de adrenalina que determinou 50% da resposta máxima nos tecidos isolados. <sup>c</sup>Curva realizada na ausência de inibidores de metabolização das catecolaminas. <sup>d</sup>Curva realizada na presença de inibidores dos sistemas de metabolização neuronal e extraneuronal. <sup>e</sup>Média dos desvios entre as curvas concentração efeito à adrenalina na presença e na ausência de inibidores dos sistemas de metabolização das catecolaminas. \*Estatisticamente diferente do respectivo grupo sedentário. #Estatisticamente diferente do grupo treinado veículo. ♦Estatisticamente diferente do grupo sedentário veículo. ♣Estatisticamente diferente da curva realizada antes do bloqueio dos sistemas de metabolização, no mesmo tecido.



**Figura 4** - Curvas concentração-efeito à adrenalina, antes (1ª CCE) (A) e após (2ª CCE) (B) o bloqueio dos sistemas de metabolização das catecolaminas obtidas em átrios direitos isolados de animais tratados com veículo ou EAA, sedentários ou submetidos ao treinamento físico resistido. \*Estatisticamente diferente do respectivo grupo sedentário. #Estatisticamente diferente do grupo treinado veículo. ♦Estatisticamente diferente do grupo sedentário veículo ( $p < 0,05$ ).

Os dados referentes à FI, RM e valores  $pD_2$  ao agonista pleno isoprenalina estão apresentados na Tabela 6. Não houve diferenças de FI e RM (Tabela 6;  $p>0,05$ ) à isoprenalina, entre os grupos analisados. Também não foram observadas alterações de sensibilidade à isoprenalina entre os grupos estudados (Tabela 6;  $p<0,05$ ).

**Tabela 6** - Valores de frequência inicial (FI), resposta máxima (RM) e  $pD_2$  à isoprenalina em átrios direitos isolados de animais sedentários ou treinados, tratados com veículo ou EAA.

Grupos	N <sup>a</sup>	FI <sup>b</sup> bat/min	RM <sup>b</sup> bat/min	$pD_2$ <sup>bc</sup>
Sedentário Veículo	6	260±11	194±10	8,90±0,04
Treinado Veículo	5	267±09	167±11	9,00±0,05
Sedentário EAA	6	276±07	170±11	8,95±0,05
Treinado EAA	5	286±12	142±13	9,00±0,07

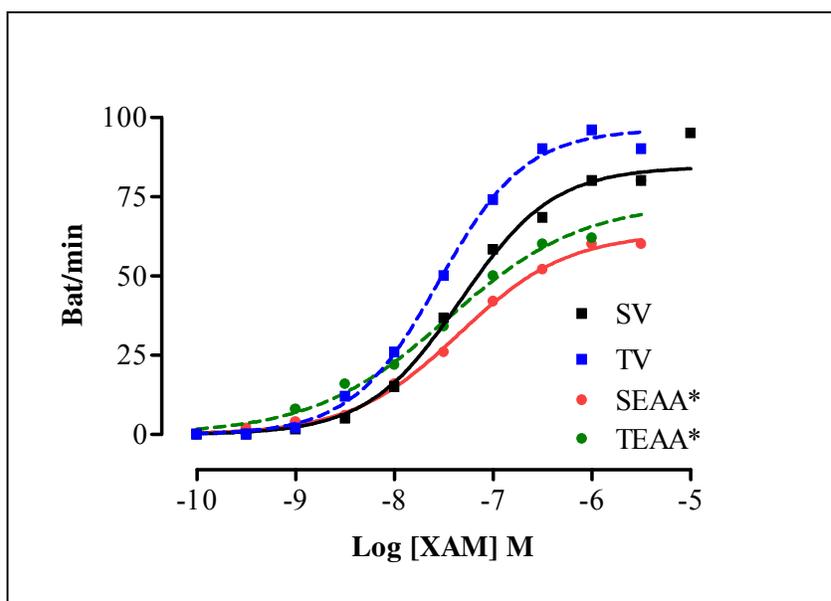
<sup>a</sup>Número de experimentos. <sup>b</sup>Valores médios (acompanhados dos respectivos erros-padrão das médias). <sup>c</sup>negativo do logaritmo da concentração molar de isoprenalina que determinou 50% da resposta máxima nos tecidos isolados.

Na Tabela 7 estão apresentados os valores de FI, RM e valores  $pD_2$  ao agonista parcial xamoterol em átrios direitos isolados de animais tratados com veículo ou EAA, submetidos ou não ao treinamento físico resistido. Não foram observadas alterações de FI e sensibilidade ao xamoterol (Tabela 7;  $p<0,05$ ). Porém o tratamento com EAA, tanto nos animais do grupo sedentário, como nos animais treinados resultou em diminuição de resposta máxima ao xamoterol quando comparados com os respectivos grupos tratados com veículo (Tabela 7, Figura 5;  $p<0,05$ ). Para evidenciarmos a diminuição de resposta máxima apresentada nos resultados, na figura 5 os dados estão apresentados em batimentos por minuto e não em % de resposta máxima como nas figuras anteriores.

**Tabela 7** - Valores de frequência inicial (FI), resposta máxima (RM) e  $pD_2$  ao xamoterol em átrios direitos isolados de animais sedentários ou treinados, tratados com veículo ou EAA.

Grupos	N <sup>a</sup>	FI <sup>b</sup> bat/min	RM <sup>b</sup> bat/min	$pD_2$ <sup>bc</sup>
Sedentário Veículo	6	254±05	84±06	7,40±0,04
Treinado Veículo	5	282±11	96±07	7,50±0,04
Sedentário EAA	6	262±08	58±06*	7,38±0,06
Treinado EAA	5	277±12	62±05*	7,58±0,12

<sup>a</sup>Número de experimentos. <sup>b</sup>Valores médios (acompanhados dos respectivos erros-padrão das médias). <sup>c</sup>negativo do logaritmo da concentração molar de xamoterol que determinou 50% da resposta máxima nos tecidos isolados. \*Estatisticamente diferente dos respectivos grupos tratados com veículo ( $p<0,05$ ).



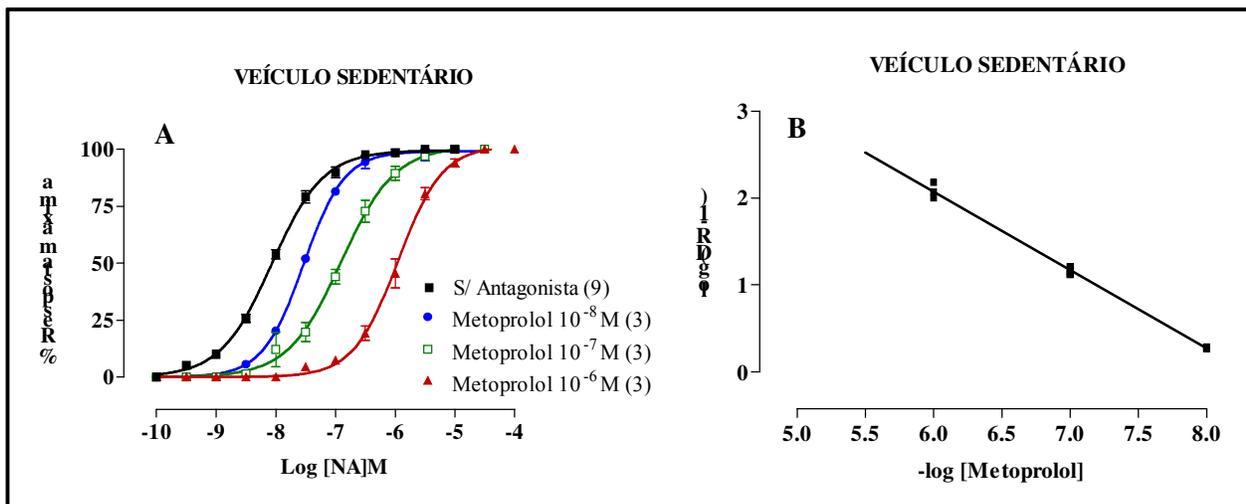
**Figura 5** – Curvas concentração-efeito ao xamoterol obtidas em átrios direitos isolados de animais tratados com veículo ou EAA, sedentários ou submetidos ao treinamento físico resistido.

\*Estatisticamente diferente dos respectivos grupos tratados com veículo ( $p<0,05$ ).

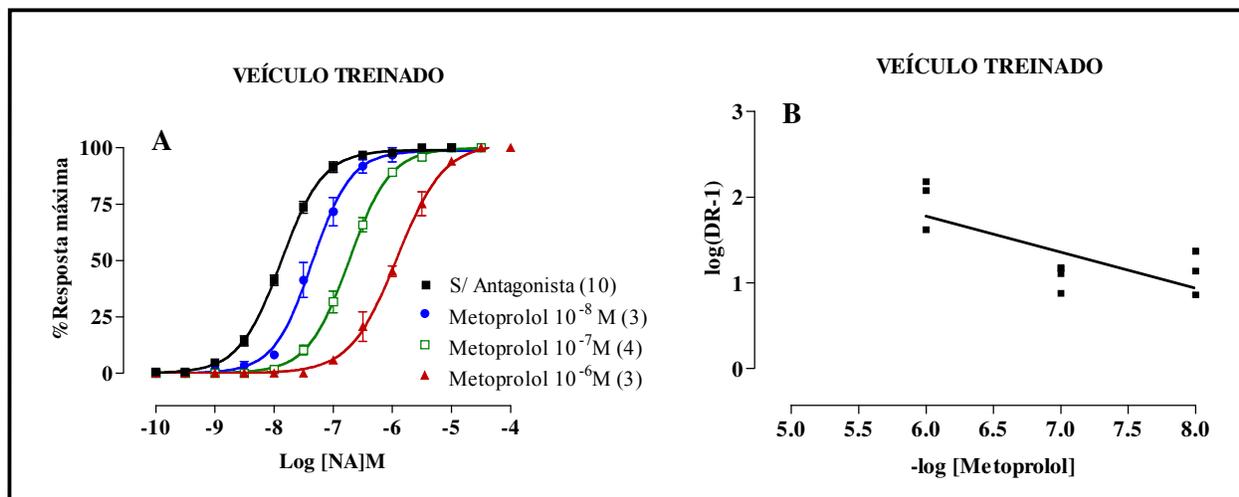
Para avaliar se a população de AR mediando a resposta às catecolaminas no tecido estudado era homogênea  $\beta_1$ , foi obtida a constante de dissociação do antagonista  $\beta_1$  - seletivo metoprolol. Foram obtidas CCE à noradrenalina na presença de diferentes concentrações deste antagonista de AR- $\beta_1$ , em átrios direitos isolados de ratos sedentários e treinados, tratados com veículo ou com EAA.

Os desvios à direita promovidos pelo metoprolol nas CCE à noradrenalina, em átrios direitos de ratos sedentários tratados com veículo, ratos treinados tratados com veículo, ratos sedentários tratados com EAA e ratos treinados tratados com EAA estão ilustrados nas figuras 6A, 7A, 8A e 9A, respectivamente. Em todos os grupos, houve desvios significativos à direita nas CCE à noradrenalina, induzidos pelas concentrações crescentes do antagonista metoprolol.

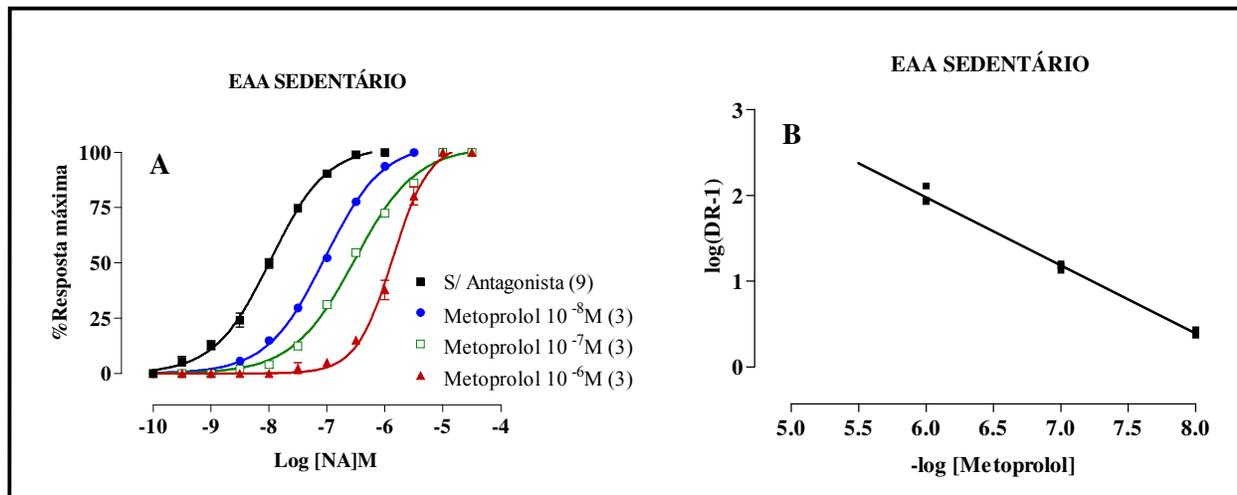
Os respectivos plots de Schild para estes grupos experimentais estão apresentados nas Figuras 6B, 7B, 8B e 9B, respectivamente.



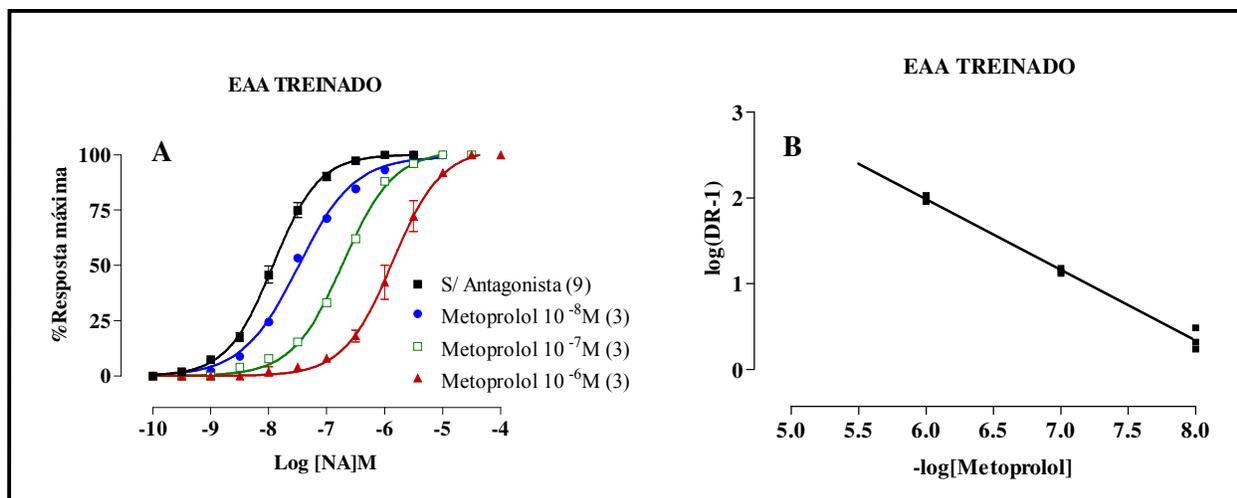
**Figura 6** – Curvas concentração-efeito à noradrenalina, na presença de três concentrações diferentes de metoprolol, obtidas em átrios direitos isolados de ratos sedentários tratados com veículo (A), e respectivo Plot de Schild (B). Entre parênteses está indicado o número de experimentos / concentração de metoprolol.



**Figura 7** - Curvas concentração-efeito à noradrenalina, na presença de três concentrações diferentes de metoprolol, obtidas em átrios direitos isolados de ratos treinados tratados com veículo (A), e respectivo Plot de Schild (B). Entre parênteses está indicado o número de experimentos / concentração de metoprolol.



**Figura 8** - Curvas concentração-efeito à noradrenalina, na presença de três concentrações diferentes de metoprolol, obtidas em átrios direitos isolados de ratos sedentários tratados com EAA (A), e respectivo Plot de Schild (B). Entre parênteses está indicado o número de experimentos/ concentração de metoprolol.



**Figura 9** – Curvas concentração-efeito à noradrenalina, na presença de três concentrações diferentes de metoprolol, obtidas em átrios direitos isolados de ratos treinados tratados com EAA (A), e respectivo Plot de Schild (B). Entre parênteses está indicado o número de experimentos/ concentração de metoprolol.

A partir dos resultados apresentados nas figuras 6 a 9 foram calculados os coeficientes angulares e os valores  $pA_2$  do metoprolol, os quais estão apresentados na Tabela 8. No grupo sedentário veículo, o coeficiente angular do plot de Schild não foi estatisticamente diferente de 1. Nos demais grupos experimentais, os coeficientes angulares foram significativamente diferentes da unidade, o que impossibilitou o cálculo do valor  $pA_2$  para os grupos treinado veículo, sedentário EAA e treinado EAA

**Tabela 8** - Valores do coeficiente angular e  $pA_2$  para o metoprolol obtidos em átrios direitos isolados de animais sedentários ou treinados, tratados com veículo ou EAA.

Grupos	N <sup>a</sup>	Coeficiente angular (IC 95%)	$pA_2$ <sup>b</sup>
Sedentário Veículo	9	0,90 (0,85 – 1,06)	8,17 ± 0,03
Treinado Veículo	10	0,42 (0,11 – 0,73)*	-
Sedentário EAA	9	0,79 (0,73 – 0,85)*	-
Treinado EAA	9	0,82 (0,75 – 0,89)*	-

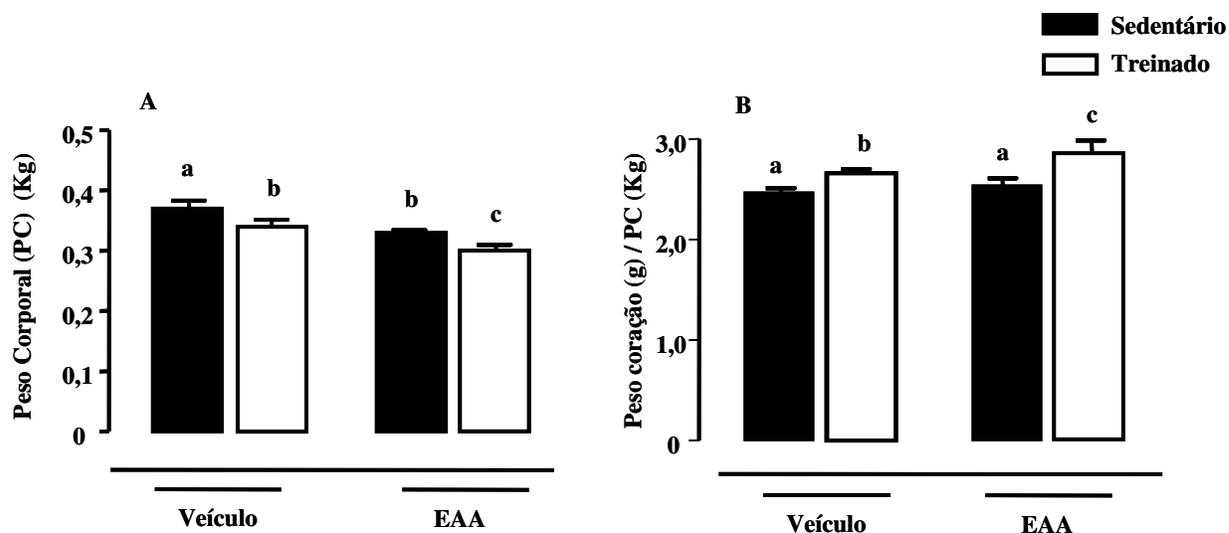
<sup>a</sup>Número de experimentos. <sup>b</sup>Valores médios (acompanhados dos respectivos erros-padrão das médias). \*Valores estatisticamente diferente de 1,00 ( $p < 0,05$ ).

#### 4.2 Análise morfofuncional da atividade cardíaca

Ao final do período experimental, o peso corporal dos animais treinados tratados com veículo ou com EAA foi significativamente menor do que nos respectivos animais sedentários (Figura 10A;  $p < 0,05$ ). O tratamento com EAA promoveu um efeito negativo no ganho de peso desses animais, pois tanto os animais sedentários, como os treinados tratados com EAA apresentaram menor ganho de peso quando comparado com os respectivos animais tratados com veículo (Figura 10A;  $p < 0,05$ ).

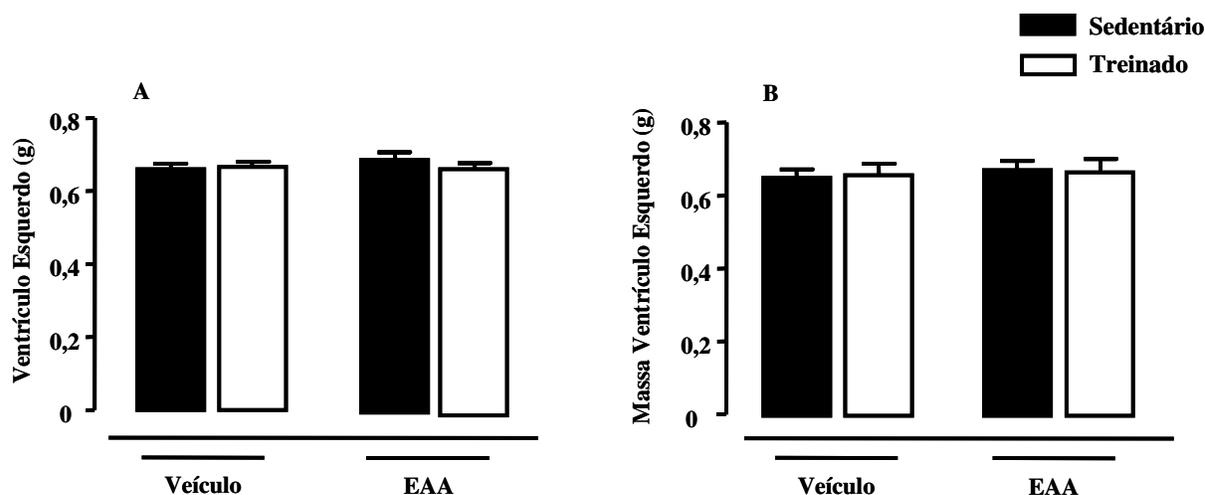
Na Figura 10 também estão apresentados os dados referentes ao peso do coração, apresentado como a razão peso do coração / peso corporal dos animais. A relação

peso coração / peso corporal dos animais treinados tratados com veículo e com EAA foi significativamente maior que a dos respectivos grupos sedentários (Figura 10B;  $p < 0,05$ ). Nos animais sedentários, o tratamento com EAA não alterou esta relação (Figura 10B;  $p > 0,05$ ). Porém, entre os grupos treinados, o tratamento com EAA induziu aumento significativo na razão peso coração/peso corporal, em relação ao grupo tratado com veículo.



**Figura 10** - Peso corporal (PC) (A) e relação peso do coração/peso corporal (B), em ratos sedentários e treinados, tratados com veículo ou com EAA. Letras diferentes indicam grupos estatisticamente diferentes (ANOVA bifatorial + Teste de Tukey;  $p < 0,05$ ).

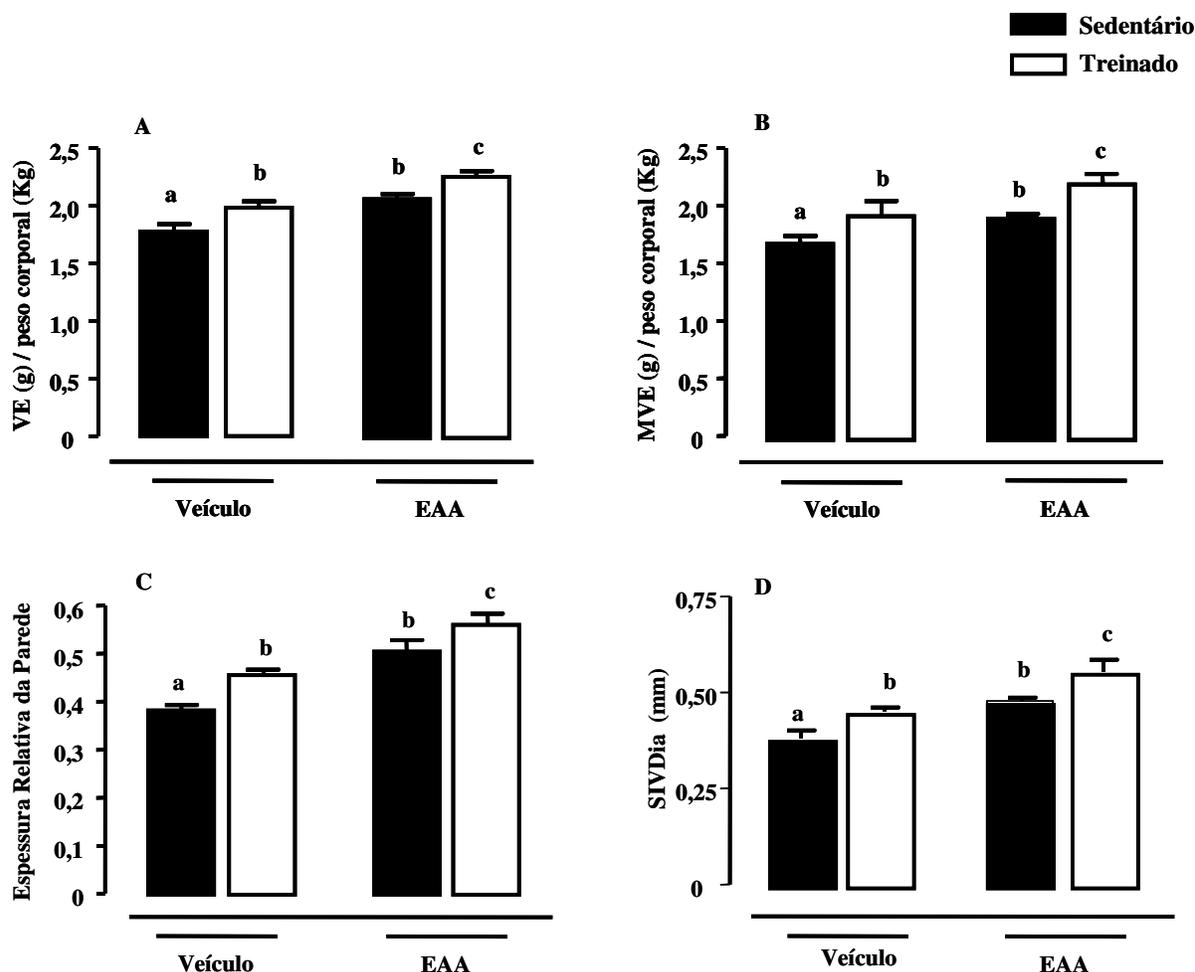
Não foram observadas diferenças entre os grupos experimentais no peso do ventrículo esquerdo (VE) e na massa do ventrículo esquerdo obtida pelo ecodopplercardiograma (MVE) (Figura 11A e 11B, respectivamente;  $p > 0,05$ ).



**Figura 11** - Peso do ventrículo esquerdo (A), e massa do ventrículo esquerdo (B), em ratos sedentários e treinados, tratados com veículo ou com EAA.

Entretanto, quando esses valores de peso e massa do ventrículo esquerdo foram corrigidos pelo peso, índice que determina a ocorrência de hipertrofia cardíaca, ratos tratados com o EAA apresentaram razão peso do VE / peso corporal e razão MVE / peso corporal significativamente maiores em relação aos respectivos grupos tratados com veículo (Figura 12A, 12B;  $p < 0,05$ ). O treinamento físico também induziu aumento na razão VE ou MVE / peso corporal em relação aos animais sedentários tratados com veículo ou EAA (Figura 12A, 12B;  $p < 0,05$ ), sendo este efeito mais acentuado quando o treinamento físico foi associado ao EAA.

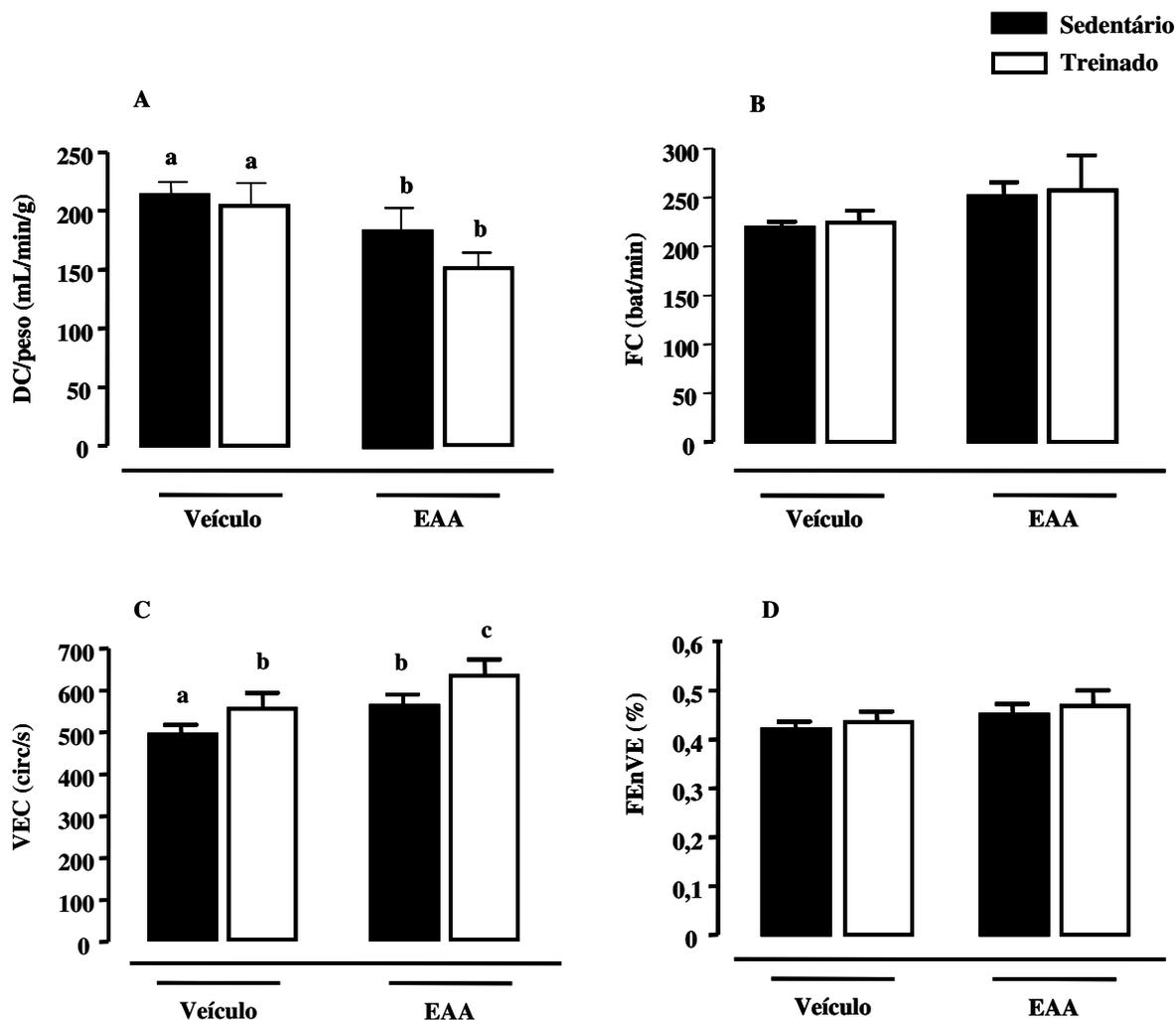
A espessura relativa da parede (ERP) do ventrículo esquerdo e o septo interventricular ao final da diástole (SIVDia) aumentaram significativamente em resposta ao treinamento físico resistido em animais tratados com veículo e EAA (Figura 12C e 12D, respectivamente;  $p < 0,05$ ). Os animais tratados com EAA também apresentaram aumento na ERP e no SIVDia em comparação com os animais tratados com veículo (Figura 12C e 12D, respectivamente;  $p < 0,05$ ).



**Figura 12** - Peso do ventrículo esquerdo (VE)/peso corporal (A), massa do ventrículo esquerdo (MVE)/peso corporal (B), Espessura relativa da parede (ERP) do ventrículo esquerdo (C) e Septo interventricular ao final da diástole (SIVDia) (D) em ratos sedentários e treinados, tratados com veículo ou com EAA. Letras diferentes indicam grupos estatisticamente diferentes (ANOVA bifatorial + Teste de Tukey;  $p < 0,05$ ).

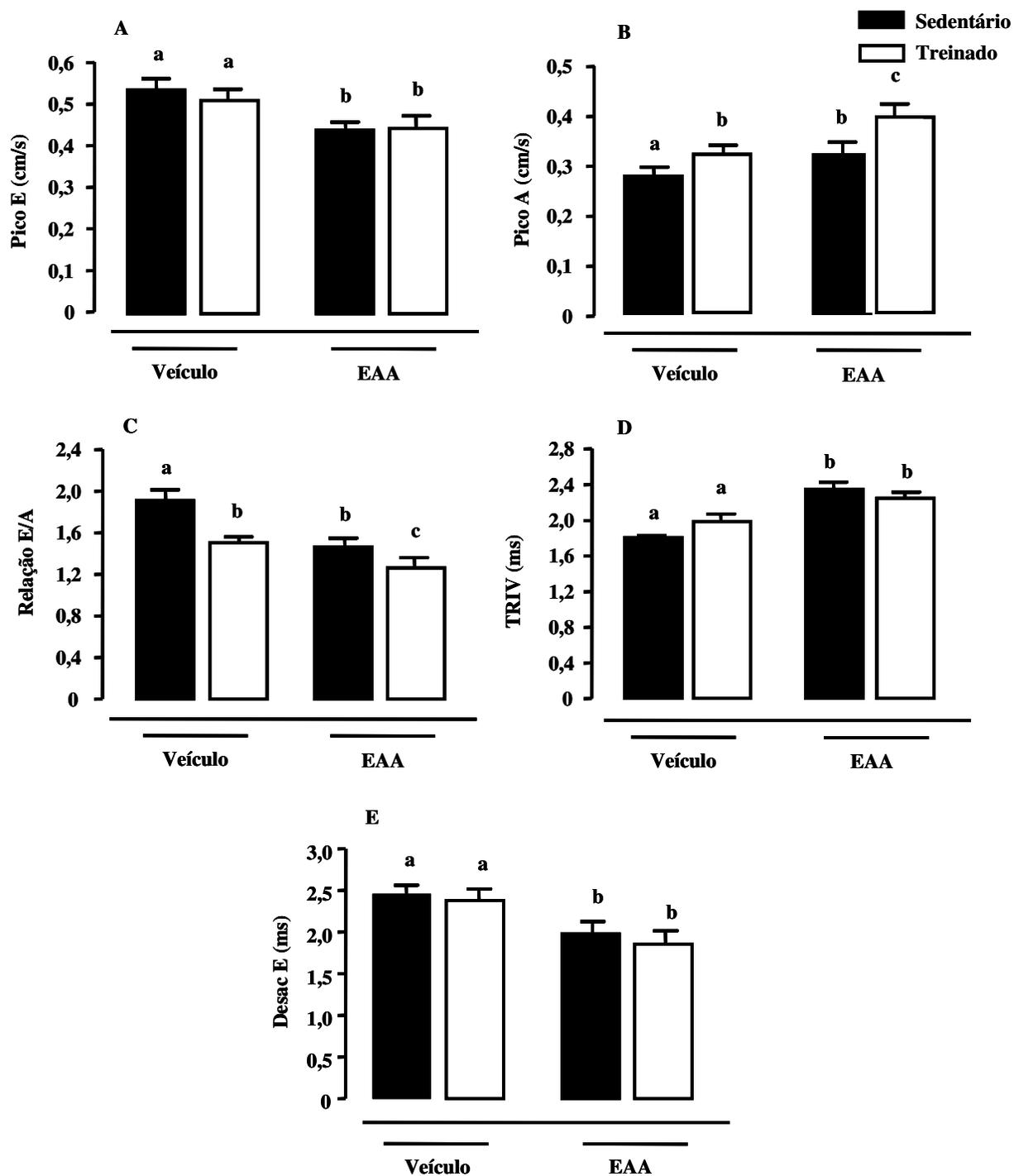
Com relação à função sistólica, o tratamento com EAA promoveu redução na relação débito cardíaco (DC) / peso corporal, em ratos sedentários e treinados, quando comparados aos respectivos grupos tratados com veículo (Figura 13A;  $p < 0,05$ ). Não houve diferença estatística significativa na frequência cardíaca entre os grupos analisados (Figura 13B;  $p > 0,05$ ). A velocidade de encurtamento circunferencial (VEC) do músculo cardíaco foi significativamente maior nos grupos de animais treinados, comparado com os

respectivos sedentários e também nos grupos de animais tratados com EAA comparado com os animais tratados com veículo (Figura 13C;  $p < 0,05$ ). A fração de encurtamento do ventrículo esquerdo (FenVE) não foi estatisticamente diferente entre os grupos experimentais (Figura 13D;  $p > 0,05$ ).



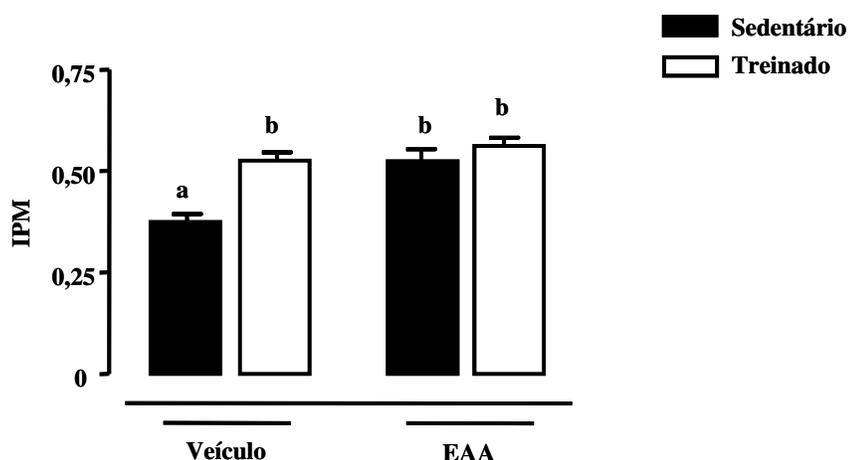
**Figura 13** - Débito cardíaco (DC)/peso corporal (A), Frequência cardíaca (B), Velocidade de encurtamento circunferencial (VEC) (C) e fração de encurtamento do ventrículo esquerdo (FEnVE) (D) de ratos sedentários e treinados, tratados com veículo ou com EAA. Letras diferentes indicam grupos estatisticamente diferentes (ANOVA bifatorial + Teste de Tukey;  $p < 0,05$ ).

A velocidade máxima de enchimento ventricular rápido (Pico E) e a velocidade máxima do Pico A (contração atrial) foram calculadas para avaliação da função diastólica. O tratamento com EAA reduziu a velocidade máxima do Pico E, tanto em animais sedentários como treinados, quando comparados com os respectivos grupos tratados com veículo (Figura 14A;  $p < 0,05$ ). A velocidade máxima do Pico A foi significativamente maior nos animais treinados, quando comparados com os animais sedentários e também nos animais tratados com EAA comparados com os animais tratados com veículo (Figura 14B;  $p < 0,05$ ). A relação entre as velocidades máximas dos picos E e A (relação E/A) foi significativamente menor nos animais submetidos ao treinamento físico resistido em relação aos animais sedentários (Figura 14C;  $p < 0,05$ ). O tratamento com EAA também reduziu a relação E/A tanto em animais sedentários como treinados, quando comparados com os respectivos animais tratados com veículo (Figura 14C;  $p < 0,05$ ). O tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV) foi significativamente maior em animais tratados com EAA quando comparados com os respectivos animais tratados com veículo (Figura 14D;  $p < 0,05$ ), sem diferenças entre os grupos treinados e sedentários. O tempo de desaceleração do pico E (Desac E) foi significativamente menor nos animais tratados com EAA quando comparados com os respectivos animais tratados com veículo (Figura 14E;  $p < 0,05$ ).



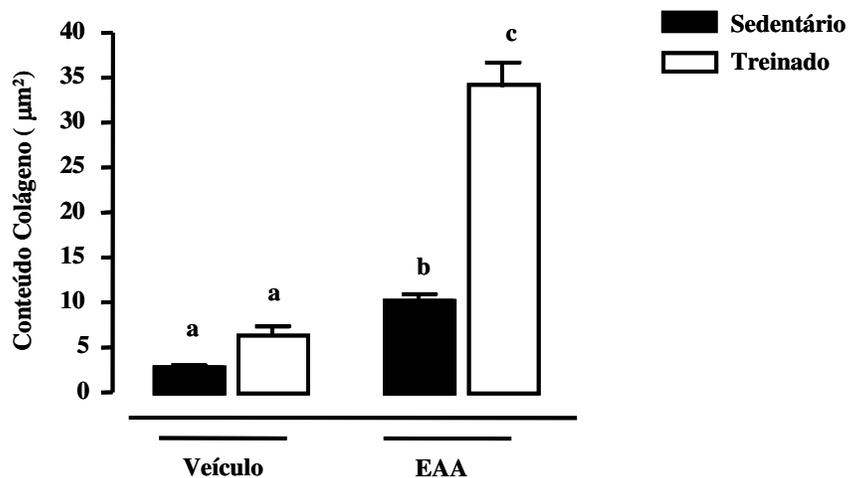
**Figura 14** - Velocidade máxima do Pico E (Pico E) (A), Velocidade máxima do Pico A (Pico A) (B), Relação entre as velocidades máximas dos picos E e A (relação E/A) (C), tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV) (D) e tempo de desaceleração do pico E (Desac E) (E) de ratos sedentários e treinados, tratados com veículo ou com EAA. Letras diferentes indicam grupos estatisticamente diferentes (ANOVA bifatorial + Teste de Tukey;  $p < 0,05$ ).

O treinamento físico resistido e o EAA, tanto em animais sedentários como treinados promoveu aumento significativo no Índice de Performance do Miocárdio (IPM) (Figura 15;  $p < 0,05$ ).

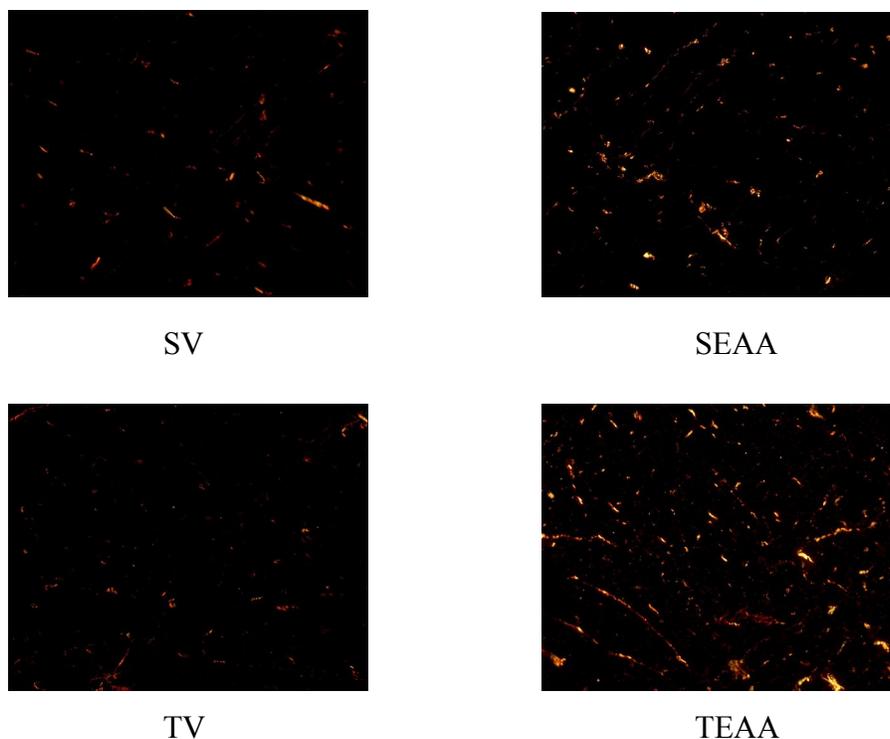


**Figura 15** – Índice de Performance do Miocárdio (IPM) de ratos sedentários e treinados, tratados com veículo ou com EAA. Letras diferentes indicam grupos estatisticamente diferentes (ANOVA bifatorial + Teste de Tukey;  $p < 0,05$ ).

O tratamento com EAA promoveu aumento na concentração tecidual de colágeno no ventrículo esquerdo de animais sedentários e treinados, em relação aos respectivos grupos tratados com veículo (Figura 16 e 17,  $p < 0,05$ ). A associação entre o treinamento físico resistido e o decanoato de nandrolona intensificou este efeito, o que é evidenciado pela maior concentração de colágeno no grupo treinado tratado com EAA, quando comparado com os demais grupos (Figura 16 e 17,  $p < 0,05$ ).



**Figura 16** - Concentração tecidual de colágeno, em ventrículo esquerdo de ratos sedentários e treinados, tratados com veículo ou com EAA. Letras diferentes indicam grupos estatisticamente diferentes (ANOVA bifatorial + Teste de Tukey;  $p < 0,05$ ).



**Figura 17** - Fotomicrografias evidenciando a concentração tecidual de colágeno, em ventrículo esquerdo de animais sedentários tratados com veículo (SV), sedentários tratados com EAA (SEAA), treinados tratados com veículo (TV) e treinados tratados com EAA (TEAA). O tratamento com picrossirius evidencia a presença de colágeno nas áreas claras (aumento de 200 x).

## 5 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste estudo mostram que o tratamento com EAA associado ou não ao exercício físico resistido promoveu efeitos deletérios na função cardíaca, os quais foram evidenciados por supersensibilidade às catecolaminas no marcapasso cardíaco, hipertrofia cardíaca concêntrica associada à fibrose e prejuízo na função sistólica e diastólica.

Durante o exercício, a quantidade de sangue bombeado pelo coração deve ser alterada devido à demanda elevada de oxigênio dos músculos esqueléticos. Como o nodo sino-atrial controla a frequência cardíaca através da interação das catecolaminas com receptores adrenérgicos presentes no marcapasso cardíaco, durante o exercício ocorrem alterações nos sistemas nervoso simpático e parassimpático para alterar essa frequência (Powers & Howley, 2000). A bradicardia de repouso, decorrente da prática de exercício ocorre por um aumento no tônus cardíaco vagal e também pela redução no tônus cardíaco simpático e uma redução inerente na descarga de frequência do nodo sino-atrial. A descarga simpática vasomotora é diminuída no repouso em indivíduos treinados, conferindo os efeitos benéficos do exercício físico regular (O'Sullivan & Bell, 2000).

Assim, o exercício físico aeróbio realizado de forma regular é responsável por modificações no sistema cardiovascular tanto em repouso como durante o exercício, e um dos principais parâmetros cardiovasculares que sofrem adaptações ao treinamento físico é a frequência cardíaca, a qual apresenta-se diminuída nessa condição (Negrão *et al.*, 1992; O'Sullivan & Bell, 2000). Essa adaptação é observada tanto em animais como no homem, principalmente quando o treinamento físico é realizado em intensidade baixa ou moderada. Entretanto, quando o exercício físico é realizado de forma intensa, as adaptações cardiovasculares desencadeadas não estão totalmente esclarecidas (Barauna *et al.*, 2005; Pluim *et al.*, 1999).

No nosso experimento, nós avaliamos a frequência de batimentos espontâneos dos átrios direitos de animais sedentários e treinados *in vitro* e a frequência cardíaca de repouso dos animais *in vivo*, através do ecodopplercardiograma. Nossos dados mostram que ambas as frequências de batimentos avaliadas em animais sedentários e treinados, tratados

ou não com EAA não sofreu alterações significativas. Isso provavelmente ocorreu pelo tipo de protocolo de exercício físico utilizado, o qual é considerado intenso e portanto, não promoveu bradicardia como normalmente ocorre com exercício físico aeróbio e de intensidade moderada (Negrão *et al.*, 1992; O'Sullivan & Bell, 2000).

Nesse estudo nós também avaliamos a sensibilidade do átrio direito às catecolaminas. Os dados mostram supersensibilidade à noradrenalina em átrios direitos de animais treinados tratados com veículo, quando comparado ao respectivo grupo sedentário. Porém, o fato destas diferenças não serem evidenciadas nas CCE obtidas no mesmo tecido, após bloqueio dos sistemas de metabolização das catecolaminas, indica que o treinamento físico resistido parece ter inibido os processos de recaptção neuronal e captação extraneuronal das catecolaminas (Kenakin, 1993; Tanno *et al.*, 2002). E, portanto, este efeito pode explicar o aumento da sensibilidade adrenérgica do tecido atrial à noradrenalina em animais treinados.

A noradrenalina é o principal substrato do sistema de recaptção neuronal, no qual as catecolaminas são recaptadas pelas terminações nervosas (Slotkin & Bareis, 1980) e inativadas pela enzima MAO (Trendelenburg, 1991). No sistema de captação extraneuronal, as catecolaminas são captadas por células não nervosas do tecido e são metabolizadas por ação da enzima COMT, sendo a adrenalina o principal substrato deste sistema (Trendelenburg, 1978; Bonisch, 1980; Mannisto & Kaakkola, 1999). Então, embora a noradrenalina seja principalmente metabolizada pelo sistema de recaptção neuronal, em situações de estresse, como o treinamento físico intenso, seus níveis plasmáticos apresentam-se elevados e o sistema de captação extraneuronal passa a ser importante na finalização de seus efeitos nos tecidos alvos (Vanderlei *et al.*, 1996).

Quando observamos os resultados das CCE à adrenalina, essa hipótese apresentada para os resultados da noradrenalina parece controversa. Os resultados das CCE à adrenalina mostram que o protocolo de treinamento físico resistido induziu supersensibilidade em átrios direitos isolados de animais tratados com o EAA. Ao se realizar a 2ª CCE no mesmo tecido, bloqueando os sistemas de metabolização das catecolaminas, não observamos um desvio significativo na CCE de átrios de animais treinados tratados com EAA, o que nos indica que a supersensibilidade apresentada parece

ter ocorrido por uma alteração nos sistemas de metabolização das catecolaminas, diferente do que foi observado nos dados para noradrenalina, onde não houve nenhuma alteração no grupo de animais treinados tratados com EAA.

Em átrios direitos isolados de animais treinados tratados com veículo também observamos supersensibilidade à adrenalina. O bloqueio dos sistemas de metabolização das catecolaminas não foi suficiente para abolir o desvio, diferente do que foi observado nos dados das CCE à noradrenalina, o que nos indica que essa supersensibilidade apresentada à adrenalina parece envolver, além de uma alteração nos processos de recaptção neuronal e captação extraneuronal das catecolaminas, outros mecanismos. Modificações na estrutura do receptor (Callia & De Moraes, 1984; Spadari & De Moraes, 1988), na densidade dos AR (Mano *et al.*, 1979; Flügge, 2000), ou indução de heterogeneidade da população de AR- $\beta$  que medeiam as respostas cronotrópicas às catecolaminas (Callia & De Moraes, 1984; Bassani & De Moraes, 1988) podem estar envolvidos nos efeitos observados, tendo em vista que o bloqueio dos mecanismos de metabolização não cancelou a supersensibilidade à adrenalina induzida pelo treinamento físico.

Assim, as alterações de sensibilidade adrenérgica que ocorreram para noradrenalina e adrenalina aqui mostradas parecem ser conflitantes. Porém, estas catecolaminas apresentam diferenças na afinidade pelos AR- $\beta$ . A afinidade da adrenalina é maior para os AR- $\beta_2$  do que para o subtipo  $\beta_1$ . Por outro lado, a noradrenalina apresenta afinidade semelhante para ambos os subtipos de AR- $\beta$ .

No átrio direito de ratos, existe uma presença predominante de AR- $\beta_1$ , com 83% de AR- $\beta_1$  e 17% de AR- $\beta_2$  (Barnett *et al.*, 1978; Minneman *et al.*, 1979; Minneman & Molinoff, 1980; Molinoff *et al.*, 1981) e, de acordo com os estudos funcionais, no átrio direito de ratos, o efeito cronotrópico das catecolaminas, em condições basais, é mediado por AR- $\beta_1$  (Bryan *et al.*, 1981; O'Donnell & Wanstall, 1985; Juberg *et al.*, 1985). Porém em situações de estresse, o subtipo  $\beta_2$  passa também a participar do controle da função cronotrópica (Bassani & De Moraes, 1988; Nourani *et al.*, 1992; Spadari-Bratfisch *et al.*, 1999). Alterações nestes AR poderiam estar relacionadas às diferenças observadas nesse estudo para noradrenalina e adrenalina.

Para avaliarmos funcionalmente a densidade de AR- $\beta_1$ , realizamos CCE ao xamoterol e observamos uma menor resposta máxima a esse agonista parcial no tecido isolado de ratos tratados com EAA. Isso nos indica que a nandrolona parece reduzir o número de AR- $\beta_1$  no marcapasso cardíaco. Além disso, ao avaliarmos o grupo de animais sedentários tratados com veículo, o coeficiente angular do plot de Schild não foi estatisticamente diferente de 1, indicando homogeneidade na população de AR- $\beta_1$ , que medeia principalmente a resposta cronotrópica às catecolaminas, no átrio direito isolado. Nos demais grupos experimentais, os coeficientes angulares foram significativamente diferentes da unidade, indicando que o agonista utilizado não interagiu somente com AR do subtipo  $\beta_1$ .

O exercício físico e o tratamento com o esteróide anabólico nandrolona, isoladamente, induziram alteração na homogeneidade da população de AR- $\beta$ . E após a combinação destes dois fatores, no grupo de ratos treinados tratados com EAA, também observamos que a noradrenalina não interagiu somente com AR- $\beta_1$ , indicando a presença de outro sítio de interação para este agonista adrenérgico. Com base nestes dados da literatura e os resultados aqui apresentados, poderíamos sugerir que o treinamento físico resistido parece induzir a participação de AR- $\beta_2$  no controle da frequência cardíaca.

Em resposta ao treinamento físico por natação com sobrecarga de peso, por 6 semanas, foi observada diminuição no número total de AR- $\beta$  cardíacos, sem alteração na proporção entre AR -  $\beta_1$ : $\beta_2$ . Os autores propuseram que a *down-regulation* observada seria resultante de diminuição na síntese de AR- $\beta$  (Werle *et al.*, 1990). Barbier *et al.* (2004), também evidenciaram alterações na população de AR- $\beta$ , no ventrículo esquerdo de ratas submetidas a treinamento físico em esteira, por 8 semanas, com diminuição da densidade de AR- $\beta_1$ , aumento de AR- $\beta_3$ , sem alteração nos AR- $\beta_2$ . E também foi observada uma correlação entre o tempo de treinamento e a redução de AR- $\beta$ , no átrio direito de miniporcós Yucatan (Hammond *et al.*, 1987).

Com relação ao efeito do esteróide anabólico, poucos são os estudos sobre seus efeitos na modulação dos AR. A resposta inotrópica mediada pelos AR- $\beta$  foi reduzida pela administração de doses suprafisiológicas de esteróide anabólico a ratos sedentários (Norton

*et al.*, 2000). E, no tecido renal, também foi demonstrado que o tratamento com decanoato de nandrolona (15 mg/Kg), durante 14 dias, reduziu em 50% o número de AR- $\alpha_{1B}$ , sem alteração dos AR- $\alpha_{1A}$ , - $\alpha_{2A}$  e - $\alpha_{2B}$  (Uhlen *et al.*, 2003), em ratos.

O treinamento físico resistido induziu maior sensibilidade da resposta cronotrópica às catecolaminas, efeito este parece ser mediado pela inibição dos processos de metabolização das mesmas, e ser independente da associação do treinamento físico com o esteróide anabólico nandrolona. Também evidenciamos que o protocolo de treinamento resistido induziu alteração na população de AR que medeiam o controle do cronotropismo cardíaco, efeito este também observado em resposta ao tratamento com decanoato de nandrolona, associado ou não ao exercício físico. A ocorrência de supersensibilidade à adrenalina, mas não à noradrenalina, no grupo treinado tratado com EAA, os resultados de  $pA_2$  e os dados com o agonista parcial, reforçam a hipótese de que, neste grupo, os AR- $\beta_2$  também participem do controle do cronotropismo cardíaco.

Qual seria então o papel fisiológico das alterações acima relatadas?

A atividade do sistema nervoso simpático aumentada durante o exercício físico tem sido associada ao desenvolvimento da hipertrofia cardíaca (Readdy, 1997). Um estudo *in vivo* mostrou que a estimulação de AR- $\beta$  promove o desenvolvimento de hipertrofia do miocárdio independente de efeitos hemodinâmicos (Zierhut & Zimmer, 1989). Associado a esses resultados, Ji *et al.* (1987) relataram que o bloqueio dos AR- $\beta$  previne a hipertrofia induzida pelo exercício. Além disso, está bem determinado que a estimulação crônica do AR- $\beta$  exerce um efeito tóxico para o coração e poderia contribuir para a patogênica da falência cardíaca (Lefkowitz *et al.*, 2000). Em humanos e vários modelos animais de falência cardíaca, níveis elevados circulantes de catecolaminas promove redução na densidade e atividade funcional de AR- $\beta_1$  cardíacos (Post *et al.*, 1999; Chakraborti *et al.*, 2000). Acredita-se que essa desensibilização protege o coração dos efeitos deletérios da estimulação excessiva desses AR- $\beta_1$ . Como consequência dessa desensibilização, o coração torna-se dependente da ativação de AR- $\beta_2$  para manter a função cardíaca (Altschuld & Billman, 2000; Snyder *et al.*, 2006), entretanto com o desenvolvimento de efeitos adversos. A ativação de AR- $\beta_2$  promove aumento na entrada de cálcio nas células, sem alteração no

mecanismo de recaptção de cálcio para o retículo sarcoplásmico (Altschuld *et al.*, 1992). O resultado dessa elevação nos níveis intracelulares de cálcio pode promover oscilação no potencial de membrana, reduzindo a estabilidade elétrica do tecido cardíaco e aumentando o desenvolvimento de arritmias (Billman, 1991).

Considerando ainda que os AR- $\beta_2$  são menos sensíveis à dessensibilização, quando comparados ao subtipo  $\beta_1$ , a alteração dos subtipos de AR poderia ser uma resposta adaptativa ao protocolo de treinamento físico e ao uso de doses suprafisiológicas de EAA utilizado. Assim, nossos dados parecem indicar que os altos níveis de catecolaminas induziram *down-regulation* dos AR- $\beta_1$ , e que este efeito parece ter sido compensado por aumento da resposta mediada pelo subtipo  $\beta_2$ . Desta forma, a resposta cronotrópica à estimulação simpática não diminuiu. Neste contexto, os resultados das análises morfométricas e funcionais realizadas através do ecodopplercardiograma confirmam a hipertrofia cardíaca e as alterações na função sistólica e diastólica promovidos pelo decanoato de nandrolona e o treinamento físico resistido.

A hipertrofia do ventrículo esquerdo, que significa um aumento na massa cardíaca, ocorre em resposta ao treinamento físico, mas também pode resultar de doenças cardiovasculares, em especial a hipertensão (Fenning *et al.*, 2003). Quando promovida pela prática de exercícios físicos é considerada fisiológica e benéfica ao coração, uma vez que melhora o metabolismo celular, a estrutura do ventrículo esquerdo, o fluxo sanguíneo das artérias coronárias e conseqüentemente a função cardíaca (Douglas, 1997). Nas doenças cardiovasculares crônicas, a hipertrofia é considerada patológica, pois está associada a alterações celulares e perda da função cardíaca (Fenning *et al.*, 2003).

O treinamento físico intensivo e prolongado promove uma série de adaptações cardiovasculares funcionais e anatômicas que permitem ao atleta uma melhora no desempenho físico. Entre estas adaptações podem ser citadas as alterações no volume de ejeção, frequência cardíaca, débito cardíaco, fluxo sanguíneo, pressão arterial, volume sanguíneo e alterações no tamanho do coração, mais conhecida como hipertrofia cardíaca (Wilmore & Costill, 2001; Ghorayeb *et al.*, 2005). O ventrículo esquerdo, a câmara cardíaca que trabalha mais intensamente, geralmente encontra-se hipertrofiado em atletas (Wilmore & Costill, 2001). A hipertrofia ventricular esquerda desenvolve-se como um

processo compensatório do ventrículo com o objetivo de manter o estresse ventricular relativamente constante e o volume sistólico adequado (Ghorayeb *et al.*, 2005). Em resposta à hipertrofia ocorre um aumento do volume sistólico e do débito cardíaco, que pode atingir, no caso de atletas bem treinados, um valor de até 35 litros por minuto, acompanhados de uma bradicardia de repouso, com uma frequência cardíaca de aproximadamente 45 a 55 bpm, sem prejuízos na perfusão tecidual (Wilmore & Costill, 2001).

No presente estudo, de acordo com a análise morfológica do ventrículo esquerdo, observa-se que os animais treinados e tratados com EAA apresentaram hipertrofia cardíaca. Entretanto, de acordo Ganau *et al.* (1992), para compreensão do padrão de hipertrofia que se desenvolve, é necessária a análise conjunta do índice massa do ventrículo esquerdo/peso corporal e também da espessura relativa da parede do ventrículo esquerdo. Neste sentido, observa-se que animais tratados com EAA sedentários e treinados e animais treinados tratados com veículo desenvolveram hipertrofia com aumento da espessura relativa da parede, o que aponta para o desenvolvimento de hipertrofia concêntrica, significativamente maior no grupo de animais treinados e tratados com EAA. Esses resultados são similares aos observados por Suman *et al.* (2000) e D'Andrea *et al.* (2006) que mostraram que atletas que realizam exercício resistido apresentam hipertrofia cardíaca concêntrica, uma adaptação fisiológica para ajudar o miocárdio a suprir a demanda de oxigênio para os tecidos.

Entretanto, está bem descrito na literatura que o aumento desproporcional da massa do ventrículo esquerdo é um fator predisponente para doenças do miocárdio (Collins *et al.*, 2001; Devereux *et al.*, 1986), e nesses casos, a técnica de avaliação através do ecodopplercardiograma contribui para identificar essas alterações do miocárdio. Para entendermos a influência da hipertrofia cardíaca na função cardíaca, a função sistólica e diastólica foi avaliada através desse procedimento não invasivo.

A fração de encurtamento do ventrículo esquerdo, a velocidade de encurtamento circunferencial e o débito cardíaco são parâmetros utilizados para avaliar função sistólica. O protocolo de treinamento físico resistido não promoveu alterações no débito cardíaco, enquanto induziu aumento na velocidade de encurtamento circunferencial do ventrículo

esquerdo, sugerindo que o miocárdio desenvolveu mecanismos para melhorar essa função, no entanto, sem promover aumento no débito cardíaco. O tratamento com EAA induziu, em animais sedentários ou treinados, aumento na velocidade de encurtamento circunferencial do ventrículo esquerdo e diminuição do débito cardíaco. Considerando estes resultados, sugerimos que o EAA, associado ou não ao treinamento físico resistido, está modificando o padrão de contração do miocárdio e apesar dessa alteração, o débito cardíaco não aumentou, sugerindo o desenvolvimento de hipertrofia não fisiológica.

O grau de hipertrofia do miocárdio é maior em homens que mulheres, quando utilizado o mesmo protocolo de treinamento. Isso se deve ao fato de encontrarmos receptores androgênicos no tecido cardíaco (Marsh *et al.*, 1998; Sheridan *et al.*, 1981), e no nosso estudo, o uso de EAA poderia ter mediado esse efeito, como foi observado que nos animais treinados e tratados com EAA o grau de hipertrofia cardíaca foi maior. Os EAA além de induzirem aumento na captação de aminoácido pela fibra muscular e síntese protéica, também modula o fluxo de cálcio para o tecido cardíaco (Koenig *et al.*, 1989), através do aumento nos níveis de AMPc no miocárdio, o que poderia estar envolvido com aumento nas concentrações de cálcio citosólicas no coração (Du Toit *et al.*, 2005). Entretanto, a atividade da enzima  $\text{Ca}^{+2}\text{ATPase}$  é diminuída em casos de hipertrofia cardíaca patológica (Scheuer *et al.*, 1982), o que poderia explicar as alterações na função sistólica observadas nesse estudo.

Resultados similares foram obtidos por Karhunen *et al.* (1988) que observaram que o tratamento prolongado com altas doses de EAA induziu hipertrofia cardíaca dose-dependente e diminuição da contração do miocárdio. Entretanto, Hartgens *et al.* (2003), analisando usuários de EAA durante 16 semanas, não observaram alterações ecocardiográficas em atletas que realizavam exercício resistido. Palatini *et al.* (1996) também observaram função sistólica e diastólica normal em um grupo de levantadores de peso, usuários de EAA.

Os resultados conflitantes na literatura estão relacionados às limitações nos protocolos de tratamento com EAA quando realizados com humanos e nos diferentes modelos de treinamento físico. O exercício físico é um estímulo bem identificado para o desenvolvimento de hipertrofia de ventrículo esquerdo (Pluim *et al.*, 1999; Haykowsky *et*

*al.*, 2002). Entretanto esse padrão de hipertrofia depende do tipo, duração e intensidade do exercício. No coração, as adaptações morfológicas que ocorrem em resposta ao treinamento resistido e aeróbio são diferentes.

Atletas que realizam treinamento predominantemente aeróbio desenvolvem principalmente aumento no tamanho da câmara ventricular, com um aumento proporcional na espessura da parede, caracterizado como hipertrofia cardíaca excêntrica, a qual está associada com melhora na performance cardíaca durante o exercício físico. Por outro lado, atletas que realizam exercício resistido, que envolve principalmente um caráter anaeróbio, ocorre aumento na espessura da parede ventricular, sem alterações significativa no aumento da câmara ventricular (Suman *et al.*, 2000; D'Andrea *et al.*, 2006), um padrão conhecido como hipertrofia cardíaca concêntrica. Em ambos os casos, a hipertrofia é conhecida como “coração de atleta”. Essa adaptação fisiológica contribui para o miocárdio aumentar o aporte de oxigênio para os tecidos (Thomas *et al.*, 2000), sendo que no nosso estudo essa adaptação na função sistólica não se desenvolveu. No presente, avaliamos também a função diastólica.

A velocidade máxima dos picos E e A são usadas como índices de avaliação da função diastólica. A hipertrofia ventricular esquerda fisiológica é caracterizada não apenas pela melhora na função sistólica, como também na função diastólica, demonstrada pelo aumento na velocidade da onda E e na relação E/A. Entretanto, De Picoli *et al.* (1991) mostraram que o abuso de EAA está associado com hipertrofia de ventrículo esquerdo patológica com alteração no relaxamento do miocárdio. Os dados do presente trabalho mostram que o tratamento com EAA prejudicou a função diastólica ventricular, reduzindo a contribuição do enchimento ventricular passivo e aumentando a participação do enchimento ativo, através da contração atrial, resultando em uma diminuição na relação E/A e no tempo de desaceleração do pico E associado com aumento no tempo de relaxamento isovolumétrico, evidenciando a disfunção diastólica. Nossos resultados estão de acordo com os dados obtidos por Pearson *et al.* (1986), que observaram redução no enchimento diastólico do ventrículo esquerdo em um grupo de levantadores de peso usuários de EAA. Urhausen *et al.* (1989) também relataram que usuários regulares de EAA, que realizavam

treinamento de alta intensidade apresentaram aumento no tempo de relaxamento isovolumétrico.

A interpretação conjunta destes dados mostra que a o EAA ocasionou mudança no padrão de enchimento do ventrículo esquerdo, favorecendo a fase de contração atrial para promover o enchimento da câmara cardíaca. Estas são alterações comumente encontradas em pacientes hipertensos e diabéticos, e acredita-se que o EAA poderia estar promovendo anormalidades similares, relacionadas ao seguinte fator. Devido à exposição do átrio esquerdo a uma possível pós-carga, causada por alteração na complacência do ventrículo esquerdo (alteração comprovada pela alteração no tempo de desaceleração do pico E), houve um aumento nas dimensões do átrio esquerdo, contribuindo para o aumento da participação atrial no enchimento ventricular esquerdo, como demonstrado por Hiramatsu *et al.* (1992) no diabetes mellitus. Além disto, o fato de termos observado diminuição no tempo de desaceleração do pico E e aumento no tempo de relaxamento isovolumétrico leva-nos a crer que o ventrículo esquerdo de animais tratados com EAA apresenta maior rigidez comparado aos animais controle.

De acordo com D'Andrea *et al.* (2002), a dinâmica de enchimento passivo do ventrículo esquerdo é influenciada pelas propriedades de deformação e relaxamento do miocárdio, incluindo a espessura da parede e sua composição, principalmente deposição de colágeno. A disfunção diastólica observada nesse estudo pode estar relacionada ao aumento no conteúdo de colágeno no tecido cardíaco. Isto é, o tecido cardíaco desenvolveu hipertrofia, a qual não foi acompanhada de eficiência no trabalho de contração, já que não parece estar essencialmente relacionada a aumento de massa muscular, mas sim a um aumento de tecido conjuntivo (fibrose). Essa é uma adaptação deletéria, pois prejudica a performance, desde que reduz o aporte sanguíneo para órgãos e músculos, e este efeito parece ser potencializado pela associação do protocolo de treinamento físico com o EAA decanoato nandrolona.

Woodiwiss *et al.*, (2000) mostraram que o EAA aumentou a resistência do miocárdio em ratos treinados e sedentários, através de modificações nas propriedades das fibras do coração. Entretanto, o remodelamento em ratos treinados pode ser atribuído à destruição miofibrilar, um efeito que ocorre em combinação pela influência do EAA e do

exercício (Appell *et al.*, 1983) e pode produzir o mesmo efeito da toxicidade que ocorre com as catecolaminas (Teerlink *et al.*, 1994). Este tipo de hipertrofia ocorre em resposta a alguns protocolos de treinamento e pode ser associada a arritmias cardíacas (Hart, 2003). Nossos dados mostraram aumento na deposição de colágeno no ventrículo esquerdo dos animais tratados com EAA, sendo mais intensa em animais treinados e tratados com EAA. Takala *et al.* (1991) também observaram que ratos tratados com EAA e submetidos à treinamento físico apresentaram elevação na atividade da enzima prolyl 4-hydroxylase, com conseqüentemente aumento nas concentrações de colágeno.

No miocárdio, o colágeno funciona como suporte para os miócitos cardíacos e para a microcirculação coronária, além de junto com outros componentes do interstício mediar as funções entre os miócitos e os sistemas circulatório e linfático, atuar como importante determinante da função diastólica ventricular e do tamanho do ventrículo, e coordenar a transmissão das forças geradas pelos miócitos para a câmara do ventrículo (Robinson *et al.*, 1986). Os principais tipos encontrados no músculo cardíaco são I, III, IV e V (Takala *et al.*, 1991) com predomínio do tipo I (Benedicto & Bombonato, 2003).

Na hipertrofia patológica decorrente da associação do treinamento com o uso de EAA, observa-se uma contribuição desproporcional dos fibroblastos cardíacos e na produção excessiva de colágeno fibrilar intersticial, resultando na formação de fibrose com aspecto similar ao tecido cicatricial (Wakatsuki *et al.*, 2004). O acúmulo das fibras de colágeno, principalmente tipo I e III aumenta a rigidez, resultando em déficit no relaxamento cardíaco, dificuldade no enchimento diastólico e conseqüentemente aparecimento de insuficiência ventricular diastólica, além de prejuízos no débito cardíaco (Mill & Vassalo, 2001; Owen *et al.*, 2004). Diante do importante papel exercido pelo colágeno no músculo cardíaco, as alterações nas concentrações de colágeno observadas nesse estudo parecem ter alterado as propriedades mecânicas do miocárdio e a função ventricular.

A realização de exercício físico pode causar aumento na deposição de colágeno no coração, a qual apresenta correlação positiva com o grau de hipertrofia (Takala *et al.*, 1991). Esse aumento na deposição de colágeno poderia também estar relacionado com alterações na transmissão do impulso elétrico no coração, como foi observado por Stolt *et*

*al.* (1999). Estes autores relataram que usuários de altas doses de esteróides anabólicos, que praticavam exercícios físicos resistidos por levantamento de peso, apresentaram hipertrofia ventricular esquerda associada a aumento do intervalo QT. O aumento deste intervalo predispõe à ocorrência de arritmias e morte súbita, e caracteriza a chamada síndrome do intervalo QT prolongado.

Nossos resultados são semelhantes aos obtidos por Takala *et al.* (1991), que observaram que cães treinados e tratados com EAA apresentaram aumento de tecido conjuntivo e fibras de colágeno no ventrículo direito. Resultados similares foram observados em autópsias, no coração de levantadores de peso usuários de EAA, que evidenciaram deposição de tecido conjuntivo em diversas regiões do miocárdio, sendo que as mesmas estavam associadas à necrose e infiltração de células inflamatórias (Luke *et al.*, 1990). Duncan *et al.* (2000), também observaram a infiltração de colágeno na parede ventricular de animais sedentários tratados com clenbuterol, um agonista do receptor  $\beta_2$  adrenérgico que possui efeitos anabólicos e lipolíticos, também utilizado por atletas para melhorar o desempenho físico. Parssinen *et al.* (2000) relataram que altas doses de EAA aumentaram a síntese de colágeno, possivelmente através do efeito dos esteróides em reverter a ação dos glicocorticóides, através da ligação no mesmo receptor.

Considerando o conjunto dos resultados obtidos nesse estudo, concluímos que o treinamento físico resistido empregado, por ser um protocolo de alta intensidade, estimula a secreção de altos níveis de catecolaminas, podendo desencadear o desenvolvimento de hipertrofia cardíaca e quando associado ao EAA, não resulta em maior eficiência da função cardíaca, pois demonstramos aumento de colágeno tecidual e prejuízo tanto na função sistólica como diastólica. Como resposta compensatória a não ocorrência de aumento da força de contração do músculo cardíaco, o marcapasso desenvolveu supersensibilidade às catecolaminas, frente ao estímulo simpático.

Se considerarmos que os usuários de tais substâncias raramente consomem um único tipo de EAA (Kuhn, 2002), como foi utilizado nesse protocolo experimental, os riscos a serem considerados podem ainda ser maiores. Na maioria dos casos, os atletas costumam utilizar uma grande variedade de fármacos, no processo denominado *stacking*,

ou as mudanças nas doses durante os ciclos de administração dos EAA, programa denominado “pirâmide” (Silva *et al.*, 2002).

Embora o desenvolvimento de novos estudos sistematizados a respeito do tema ainda devam ser realizados, os efeitos negativos decorrentes da má utilização destas substâncias são bastantes claros e podem ser evidenciados pela maior taxa de mortalidade (4,6 vezes maior) entre usuários de EAA do que entre não-usuários (Parssinen *et al.*, 2000). Levando-se em consideração os efeitos deletérios observados nos parâmetros cardíacos avaliados, provenientes do uso de doses supra fisiológicas de EAA, bem como os riscos à saúde resultantes desta prática, reforçamos a necessidade de divulgação deste tipo de informação com o intuito de inibir o uso indiscriminado de tais substâncias e reforçar a necessidade de se questionar a existência dos efeitos benéficos resultantes do uso dos EAA sobre a performance, significativamente maiores do que aqueles já obtidos através do treinamento físico.

## **6 CONCLUSÕES**

6.1 O tratamento, por 6 semanas, com altas doses do esteróide anabólico decanoato de nandrolona promoveu hipertrofia concêntrica e disfunção cardíaca, em ratos. Esses efeitos foram potencializados pela associação do EAA ao treinamento físico resistido de alta intensidade.

6.2 A ocorrência de *down-regulation* de adrenoceptores  $\beta_1$ , acompanhada de aumento da participação do subtipo  $\beta_2$  no controle do cronotropismo cardíaco, parece representar uma resposta compensatória aos efeitos negativos do EAA sobre o músculo cardíaco, tanto em animais sedentários como treinados.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS\***

Ahlquist RP. A study of the adrenotropic receptors. *Am J Physiol.* 1948; 153: 586-600.

Altschuld RA, Billman, GE.  $\beta_2$ -adrenoceptors and ventricular fibrillation. *Pharmacol Ther.* 2000; 88: 1-4.

Altschuld RA, Starling RC, Hamlin RL, Billman GE, Hensley J, Castilho L *et al.* Response of failing canine and human heart cells to  $\beta_2$ -adrenergic stimulation. *Circulation.* 1995; 92: 1612-8.

Anversa P, Melissari M, Beghi C, Olivetti G. Structural compensatory mechanisms in rat heart in early spontaneous hypertension. *Am J Physiol.* 1984; 246: 739-46.

Appell HJ, Heller-Umpfenbach B, Feraudi M, Weiker H. Ultrastructural and morphometric investigations on the effect of training and administration of anabolic steroids on the myocardium of guinea pigs. *Int J Sports Med.* 1983; 4: 268-74.

Arnett DK. Genetic contributions to left ventricular hypertrophy. *Curr Hypertens Rep.* 2000; 2(1): 50-5.

Arunlakshana O, Schild HO. Some quantitative uses of drug antagonists. *Brit J Pharmacol.* 1959; 14: 48-58.

Bahrke MS, Yesalis CE, Kopstein AN, Stephens JA. Risk factors associated with anabolic-androgenic steroid use among adolescents. *Sports Med.* 2000; 29(6): 397-405.

Ball SH, Domoto DT, Polack DC, Marciulonis P, Martin KJ. Androgens potentiate the effects of erythropoietin in the treatment of anemia of end-stage renal disease. *Am J Kidney Dis.* 1991; 17(1): 29-33.

---

\*De acordo com a norma da UNICAMP/FOP, baseada na norma do International Committee of Medical Journal Editors – Grupo de Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

- Barauna VG, Junior ML, Costa Rosa LF, Casarini DE, Krieger JE, Oliveira EM. Cardiovascular adaptations in rats submitted to a resistance-training model. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2005; 32(4): 249-54.
- Barbier J, Rannou-Bekono F, Marchais J, Berthon PM, Delamarche P, Carré F. Effect of training on  $\beta_1$   $\beta_2$   $\beta_3$  Adrenergic and  $M_2$  Muscarinic Receptors in rat heart. *Med Sci Sports Exerc*. 2004; 36(6): 949-54.
- Barnett DB, Rugg EL, Nahorski SR. Direct evidence of two types of  $\beta$ -adrenoceptor binding site in lung tissue. *Nature*. 1978; 273: 166-8.
- Barros Neto TI. Hipertrofia ventricular secundária ao exercício físico. *Rev Soc Cardiol Est São Paulo*. 1994; 4: 376-81.
- Bassani RA, De Moraes S. Effects of repeated footshock stress on the chronotropic responsiveness of the isolated pacemaker of the rat: role of  $\beta_2$ -adrenoceptors. *J Pharmacol Exp Ther*. 1988; 246(1): 316-21.
- Benedicto HG, Bombonato PP. Quantification of connective tissue in dogs cardiac muscle. *Braz J Vet Res Anim Sci*. 2003; 40(2): 108-16.
- Berns JS, Rudnick MR, Cohen RM. A controlled trial of recombinant human erythropoietin and nandrolone decanoate in the treatment of anemia in patients on chronic hemodialysis. *Clin Nephrol*. 1992; 37(5): 264-7.
- Besse JC, Furchgott RF. Dissociation constants and relative efficacies of agonists acting on alpha adrenergic receptors in rabbit aorta. *J Pharmacol Exp Ther*. 1976; 197(1): 66-78.
- Billman GE. The antiarrhythmic and antifibrillatory effects of calcium antagonists. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1991; 18: S107-17.
- Bohm M, Eschenhagen T, Gierschik P, Larisch K, Lensche H, Mende U *et al*. Radioimmunochemical quantification of  $G_i$  alpha in right atria and left ventricles from patients with ischaemic and dilated cardiomyopathy and predominant left ventricular failure. *J Mol Cell Cardiol*. 1994; 26: 133-49.

Boluyt MO, Long X, Eschenghagen T, Mende U, Schmitz W, Crow MT *et al.* Isoproterenol infusion alterations in expression of hypertrophy-associated gens in rat heart. *Am J Physiol.* 1995; 269: H638-47.

Bönisch H. Extraneuronal transport of catecholamines. *Pharmacology.* 1980; 21(2): 93-108.

Borges LF, Taboga SR, Gutierrez PS. Simultaneous observation of collagen and elastin in normal and pathological tissues: analysis of Sirius-red-stained sections by fluorescence microscopy. *Cell Tissue Res.* 2005; 320: 551-2.

Bryan LJ, Cole JJ, O'Donnell SR, Wanstall JC. A study designed to explore the hypothesis that beta-1 adrenoceptors are "innervated" receptors and beta-2 adrenoceptors are "hormonal" receptors. *J Pharmacol Exp Ther.* 1981; 216(2): 395-400.

Bylund DB, Eikenberg DC, Hieble JP, Langer SZ, Lefkowitz RJ, Minneman KP *et al.* International Union of Pharmacology Nomenclature of Adrenoceptors *Pharmacol Rev.* 1994; 46(2): 121-36.

Callia ML, De Moraes S. Heterogeneity of beta adrenoceptors in right atria isolated from cold-exposed rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 1984; 230(2): 450-4.

Carreño JE, Apablaza F, Ocaranza PM, Jalil JE. Hipertrofia cardiaca: eventos moleculares y celulares. *Rev Esp Cardiol.* 2006, 59(5): 473-86.

Celotti F, Cesi CP. Anabolic steroids: a review of their effects on the muscles, of their possible mechanisms of action and of their use in athletics. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1992; 43(5): 469-77.

Chakraborti S, Chakraborti T, Shaw G.  $\beta$ -Adrenergic mechanisms in cardiac diseases: a perspective. *Cell Signal.* 2000; 12: 499-513.

Collis T, Devereux RB, Roman MJ, Simone G, Yeh JL, Howard BV *et al.* Relations of stroke volume and cardiac output to body composition: the Strong Heart Study. *Circulation.* 2001; 103: 820-5.

Constantine VS, Mowry RW. Selective staining of human dermal collagen II. The use of picrosirius red F3BA with polarization microscopy. *J Invest Dermatol.* 1968; 50(5): 419-23.

Creutzberg EC, Schols AMWJ. Anabolic steroids. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 1999; 2: 243-53.

Cunha TS, Cunha NS, Moura MJCS, Marcondes FK. Esteróides anabólicos e a prática desportiva. *Braz J Pharmac Sci.* 2004; 40(1): 165-79.

Cunha TS, Moura MJCS, Bernardes CF, Tanno AP, Marcondes FK. Vascular sensitivity to phenylefrine in rats submitted to anaerobic training and nandrolone treatment. *Hypertension.* 2005a; 46(2): 1-6.

Cunha TS, Tanno AP, Marcondes FK, Perez SEA; Selistre-Araújo HS. A administração de nandrolona não promove hipertrofia do músculo sóleo em ratos. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2006; 50(3): 532-40.

Cunha TS, Tanno AP, Moura MJCS, Marcondes FK. Influence of high-intensity exercise training and anabolic androgenic steroid treatment on rat tissue glycogen content. *Life Sci.* 2005b; 77: 1030-43.

Currier JS. How to manage metabolic complications of HIV therapy: what to do while we wait for answers. *AIDS Read.* 2000; 10(3): 162-9.

D'Andrea A, D'Andrea L, Caso P, Scherillo M, Zeppilli P, Calabro R. The usefulness of Doppler myocardial imaging in the study of the athlete's heart and in the differential diagnosis between physiological and pathological ventricular hypertrophy. *Echocardiography.* 2006; 23: 149-57.

D'Andrea A, Limongelli G, Caso P, Sarubbi B, Della Pietra A, Brancaccio P *et al.* Association between left ventricular structure and cardiac performance during effort in two morphological forms of athlete's heart. *Int J Cardiol.* 2002; 86: 177-84.

De Picoli B, Giada F, Benettin A, Sartori F, Piccolo E. Anabolic steroid use in body builders: an echocardiographic study of left ventricle morphology and function. *Int J Sports Med.* 1991; 12: 408-12.

Debessa CRG, Maifrino LBM, Souza RR. Age related changes of the collagen network of the human heart. *Mechan Age and Develop.* 2001; 122: 1049-58.

- Devereux RB, Alonso DR, Lutas EM, Gottlieb GJ, Campo E, Sachs I *et al.*  
Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: comparison to necropsy findings. *Am J Cardiol.* 1986; 57: 450-8.
- Dorn GW, Robbins J, Sugden PH. Phenotyping hypertrophy: eschew obfuscation. *Circ Res.* 2003; 92(11): 1171-5.
- Douglas P, O'Tolle M, Katz S, Ginsburg G, Hiller D, Laird R. Left ventricular hypertrophy in athletes. *Am J Cardiol.* 1997; 89: 1384-8.
- Du Toit EF, Rossouw E, Van Rooyen J, Lochner A. Proposed mechanisms for the anabolic steroid-induced increase in myocardial susceptibility to ischaemia/reperfusion injury. *Cardiovasc J South Africa.* 2005; 16(1): 21-8.
- Duncan ND, Williams DA, Lynch GS. Deleterious effects of chronic clenbuterol treatment on endurance and sprint exercise performance in rats. *Clin Sci.* 2000; 98: 339-47.
- Eghbali M. Collagen gene expression and molecular basis of fibrosis in the myocardium. *Heart Failure.* 1990; 6: 125-8.
- Eschenhagen T, Mende U, Nose M, Schmitz W, Scholz H, Haverich A, Hirt S, Doring V, Kalmar P, Hoppner W. Increased messenger RNA level of the inhibitory G protein alpha subunit Gi alpha-2 in human end-stage heart failure. *Circ Res.* 1992; 70: 688-96.
- Evangelista FS, Brum PC, Krieger FE. Duration-controlled swimming exercise training induces cardiac hypertrophy in mice. *Braz J Med Biol Res.* 2003; 36(12): 1751-9.
- Fenning A, Harrison G, Dwyer D, Meyer RR, Brown L. Cardiac adaptation to endurance exercise in rats. *Mol Cell Biochem.* 2003; 251: 51-9.
- Ferrer M, Encabo A, Marin J, Balfagon G. Chronic treatment with the anabolic steroid, nandrolone, inhibits vasodilator responses in rabbit aorta. *Eur J Pharmacol.* 1994a; 252(2): 233-41.
- Ferrer M, Encabo A, Marin J, Balfagon G. Treatment with the anabolic steroid, nandrolone, reduces vasoconstrictor responses in rabbit arteries. *Eur J Pharmacol.* 1994b; 258(1-2): 103-10.

Fineschi V, Baroldi G, Monciotti F, Paglicci LR, Turillazzi E. Anabolic steroid abuse and cardiac sudden death: a pathologic study. *Arch Pathol Lab Med.* 2001; 125(2): 253-5.

Flügge G. Regulation of Monoamine Receptors in the Brain: Dynamic Changes during Stress. *Int Rev Citol.* 2000; 195: 145-213.

Franchini KG. Hipertrofia cardíaca: mecanismos moleculares. *Rev Bras Hipertens.* 2001; 9(1): 125-42.

Ganau A, Devereux RB, Roman MJ, de Simone G, Pickering TG, Saba OS *et al.* Patterns of left ventricular hypertrophy and geometric remodeling in essential hypertension. *J Am Coll Cardiol.* 1992; 19(7): 1550-8.

Ghorayeb N, Batlouni M, Pinto IMF, Dioguardi GS. Left ventricular hypertrophy of athletes. Adaptive physiological response of the heart. *Arq Bras Cardiol.* 2005; 85(3): 191-7.

Ghorayeb N, Batlouni M. Hipertrofia ventricular: mecanismos envolvidos na indução e possibilidades de regressão. *Rev Soc Cardiol Est São Paulo.* 1998; 8: 298-301.

Gordon CM, Glowacki J, Leboff MS. DHEA and the skeleton (through the ages). *Endocrine.* 1999; 11(1): 1-11.

Gruber AJ, Pope Jr HG. Psychiatric and medical effects of anabolic-androgenic steroid use in women. *Psychother Psychosom.* 2000; 69(1): 19-26.

Gu XH, Kompa AR, Summers RJ. Regulation of  $\beta$ -adrenoceptors in a rat model of heart failure: Effects of perindopril. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1998; 32: 66-74.

Hammond HK, White FC, Brunton LL, Longhurst JC. Association of decreased myocardial  $\beta$ -receptors and chronotropic response to isoproterenol and exercise in pigs following chronic dynamic exercise. *Circ Res.* 1987; 60: 720-6.

Harri M, Kuusela P. Is swimming exercise or cold exposure for rats? *Acta Physiol Scand.* 1986; 126(2): 189-97.

Hart G. Exercise-induced cardiac hypertrophy: a substrate for sudden death in athletes? *Exper Physiol.* 2003; 85(5): 639-44.

- Hartgens F, Cheriex EC, Kuipers H. Prospective echocardiographic assessment of androgenic-anabolic steroids effects on cardiac structure and function in strength athletes. *Int J Sports Med.* 2003; 24: 344-51.
- Haykowsky MJ, Dressendorfer R, Taylor D, Mandic S, Humen D. Resistance training and cardiac hypertrophy: unravelling the training effect. *Sports Med.* 2002; 32: 837-49.
- Hiramatsu K, Ohara N, Shigematsu S, Aizawa T, Ishihara F, Niwa A *et al.* Left ventricular filling abnormalities in non-insulin-dependent diabetes mellitus and improvement by a short-term glycemic control. *Am J Cardiol.* 1992; 70(13); 1185-9.
- Isawa T, Komabayashi T, Suda K, Kunisada Y, Shinoda S, Tsuboi M. An acute exercise-induced translocation of  $\beta$ -adrenergic receptors in rat myocardium. *J Biochem.* 1989; 105: 110-3.
- Ji LL, Stratman FW, Lardy HA. Effects of beta 1- and beta 1 + beta 2-antagonists on training-induced myocardial hypertrophy and enzyme adaptation. *Biochem Pharmacol.* 1987; 36(20): 3411-7.
- Jo SH, Leblais V, Wang PH, Crow MT, Xiao RP. Phosphatidylinositol 3-kinase functionally compartmentalizes the concurrent Gs signaling during beta 2-adrenergic stimulation. *Circ Res.* 2002; 91: 46–53.
- Johnson WO. Steroids: a problem of huge dimensions. *Sports Illustrated.* 1985; 5(13): 38-54.
- Juberg EN, Minneman KP, Abel PW. Beta 1- and beta 2-adrenoceptor binding and functional response in right and left atria of rat heart. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1985; 330(3): 193-202.
- Junqueira LCU, Bignolas G, Bretani RR. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. *Histochem J.* 1979; 11(4): 447-55.
- Karhunen MK, Ramo MP, Kettunen R. Anabolic steroids alter the haemodynamic effects of endurance training and deconditioning in rats. *Acta Physiol Scand.* 1988; 133: 297-306.

- Kenakian TP. Pharmacologic analysis of drug-receptor interaction. 2<sup>nd</sup> Ed. Raven Press, USA, 1993.
- Koenig SM, Nitchell RW, Kelly E, White SR, Leff AR, Popovich RJ. Beta-adrenergic relaxation of dog trachealis: contractile agonist-specific interaction. 1989; 67(1): 181-5.
- Kuhn CM. Anabolic steroids. Recent Prog Horm Res. 2002; 57: 411-34.
- Kuipers H, Wijnen JA, Hartgens F, Willems SM. Influence of anabolic steroids on body composition, blood pressure, lipid profile and liver functions in body builders. Int J Sports Med. 1991; 12: 413-8.
- Kupfer LE, Bilezidian JP, Robinson RB. Regulation of alpha and beta adrenergic receptors by triiodothyronine in cultured rat myocardial cells. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 1986; 334: 275-81.
- Kutscher EC, Lund BC, Perry PJ. Anabolic steroids: a review for the clinician. Sports Med. 2002; 32(5): 285-96.
- Lefkowitz RJ, Cotecchia S, Samama P, Costa T. Constitutive activity of receptors coupled to guanine nucleotide regulatory proteins. Trends Pharmacol Sci. 1993; 14(8): 303-7.
- Levy D, Garrison RJ, Savage DD, Kannel WB, Castelli WP. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. N Engl J Med. 1990; 322(22): 1561-6.
- Lefkowitz RJ, Rockman HA, Koch WJ. Catecholamines, cardiac  $\beta$ -adrenergic receptors, and heart failure. Circulation. 2000; 101: 1634-7.
- Limbird LE, Vaughan DE. Augmenting beta receptors in the heart: short-term gains offset by long-term pains? Proc Natl Acad Sci. 1999; 96(13): 7125-7.
- Linardi M. Estudo da sensibilidade aos efeitos cronotrópico e inotrópico das catecolaminas em átrios isolados de ratos submetidos a treinamento físico [dissertação]. Campinas: UNICAMP / Instituto de Biologia.
- Lise MLZ, Gama e Silva TS, Ferigolo M, Barros HMT. O abuso de esteróides anabólico-androgênicos em atletismo. Rev Ass Med Bras. 1999; 45(4): 364-70.

Lohse MJ. Molecular mechanisms of membrane receptor desensitization. *Biochim Biophys Acta*. 1993; 1179(2): 171-88.

Luke JL, Farb A, Virmani R, Sample RHB. Sudden cardiac death during exercise in a weight lifter using anabolic androgenic steroids: pathological and toxicological findings. *J Forensic Sci*. 1990; 35: 1441-7.

Mackay D. How should values of pA<sub>2</sub> and affinity constants for pharmacological competitive antagonists be estimated? *J Pharm Pharmacol*. 1978; 30(5): 312-3.

Mannisto PT, Kaakkola S. Catechol-O-methyltransferase (COMT): Biochemistry, Molecular Biology, Pharmacology, and Clinical Efficacy of the New Selective COMT Inhibitors. *Pharmacol Rev*. 1999; 51(4): 593-628.

Mano K, Akbarzadeh A, Townlwy RG. Effect of hidrocortisone on beta-adrenergic receptors in lung membranes. *Life Sci*. 1979; 25(22): 1925-30.

Marcondes FK, Vanderlei LCM, Lanza LLB, Spadari-Bratfisch RC. Stress-induced subsensitivity to catecholamines depends on the estrous cycle. *Can J Physiol Pharmacol*. 1996; 74: 663-9.

Marcondes FK. Influência do ciclo estral sobre as respostas hormonais de ratas submetidas a estresse. [tese]. Campinas: UNICAMP / Instituto de Biologia, 1998.

Marsh JD, Lehmann MH, Ritchie RH, Gwathmey JK, Green GE, Schiebinger RJ. Androgen receptors mediate hypertrophy in cardiac myocytes. *Circulation*. 1998; 98: 256-61.

Mende U, Eschenhage T, Geertz B, Schimitz W, Scholz H, Schulte AM *et al*. Isoprenalineinduced increase in the 40/41 kDa pertussis toxin substrates and functional consequences on contractile response in rat heart. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. 2002; 345: 44-50.

Mill JG, Vassalo DV. Hipertrofia cardíaca. *Rev Bras Hiperten*. 2001; 8: 63-75.

Miller LC, Becker TJ, Tainter ML. The quantitative evaluation of spasmolytic drugs "in vivo". *J Pharmacol Exp Ther*. 1948; 92: 260-268.

- Minneman KP, Hegstrand LRK, Molinoff PB. Simultaneous determination of  $\beta_1$ - and  $\beta_2$ -adrenoceptores in tissues containing both subtypes. *Mol Pharmacol.* 1979; 16: 34-46.
- Minneman KP, Molinoff PB. Classification and quantification of  $\beta$ -adrenergic receptor. *Biochem Pharmacol.* 1980; 29: 1317-23.
- Molinoff PB, Wolf BB, Weiland GA. Quantitative analyses of drug-receptor interactions. Determination of the properties of receptor subtypes. *Life Sci.* 1981; 29: 427-43.
- Montes GS. Structural biology of the fibres of the collagenous and elastic systems. *Cell Biol Int.* 1996; 20: 15-27.
- Morales C, Hita A, Gelpi RJ. Fisiología integrada de la hipertrofia cardíaca. *Rev Arg Cardiol.* 1999; 67(3): 377-88.
- Morganroth J, Maron BJ, Henry WL, Epstein SE. Comparative left ventricular dimensions in trained athletes. *Ann Intern Med.* 1975; 82(4): 521-4.
- Morisco C, Zebrowski DC, Vatner DE, Vatner SF, Sadoshima J.  $\beta$ -adrenergic cardiac hypertrophy is mediated primarily by the  $\beta_1$ -subtype in the rat heart. *J Mol Cel Cardiol.* 2001; 33: 561-73.
- Moura MJCS, Marcondes FK. Influence of estradiol and progesterone on the sensitivity of rat thoracic aorta to noradrenaline. *Life Sci.* 2001; 68(8): 881-8.
- Natali AJ. Efeitos do exercício crônico sobre os miócitos cardíacos: uma revisão das adaptações mecânicas. *Rev Bras Cienc Mov.* 2004; 12(1): 91-6.
- Negrão CE, Moreira ED, Santos MCLM, Krieger EM. Vagal function impairment after exercise training. *J App Physiol.* 1999; 265: 365-70.
- Norton GR, Trifunovic B, Woodiwiss AJ. Attenuated beta-adrenoceptor-mediated cardiac contractile responses following androgenic steroid administration to sedentary rats. *Eur J Appl Physiol.* 2000; 81: 310-6.

Nottin S, Nguyen LD, Terbah M, Obert P. Cardiovascular effects of androgenic anabolic steroids in male bodybuilders determined by tissue Doppler imaging. *Am J Cardiol.* 2006; 97: 912-5.

Nourani FRR, Spadari RC, De Moraes S. Footshock stress-induced supersensitivity to isoprenaline in the isolated pacemaker of the rat: effects of the compounds RU-38486 and RU-28362. *Gen Pharmac.* 1992; 23(4): 787-91.

O'Donnell SR, Wanstall JC. Responses to the beta 2-selective agonist procaterol of vascular and atrial preparations with different functional beta-adrenoceptor populations. *Br J Pharmacol.* 1985; 84(1): 227-35.

O'Sullivan SE, Bell C. The effects of exercise and training on human cardiovascular reflex control. *J Auton Nerv Syst.* 2000; 81: 16-24.

Olivetti G, Melissari M, Capasso JM, Anversa P. Cardiomyopathy of the aging human heart. Myocyte loss and reactive cellular hypertrophy. *Circ Res.* 1991; 68(6): 1560-8.

Opie LH, Commerford PJ, Gersh BJ, Pfeffer MA. Controversias in ventricular remodelling. *The Lancet.* 2006; 376: 356-67.

Owen A, Theakston SC, O'Donovan G, Bird SR. Right and left ventricular diastolic function of male endurance athletes. *Int J Cardiol.* 2004; 95: 213-35.

Palatini P, Giada F, Garavelli G, Sinisi F, Mario L, Michieletto M *et al.* Cardiovascular effects of anabolic steroids in weight-trained subjects. *J Clin Pharmacol.* 1996; 36: 1132-40.

Parssinen M, Karila T, Lovanen V, Sepala T. The effect of supraphysiological doses of anabolic androgenic steroids on collagen metabolism. *Int J Sports Med.* 2000a; 21: 406-11.

Parssinen M, Kujala U, Vartiainen E, Sarna S, Seppala T. Increased premature mortality of competitive powerlifters suspected to have used anabolic agents. *Int J Sports Med.* 2000b; 21: 225-7.

Parssinen M, Seppala T. Steroid use and long-term health risks in former athletes. *Sports Med.* 2002; 32(2): 83-94.

- Pearson AC, Schiff M, Mrosek D, Labovitz AJ, Williams GA. Left ventricular diastolic function in weight lifters. *Am J Cardiol.* 1986; 58: 1254-9.
- Pelouch V, Dixon IMC, Golfman L, Beamish RE, Dhalla NS. Role of extracellular matrix proteins in heart function. *Mol Cell Biochem.* 1994; 129: 101-20.
- Pluim BM, Zwinderman AH, Van der Laarse A, Van der Wall EE. The athlete's heart. A meta-analysis of cardiac structure and function. *Circulation.* 1999; 101: 336-44.
- Pope HG Jr, Katz DL. Affective and psychotic symptoms associated with anabolic steroid use. *Am J Psychiatry,* 1988; 145(4): 487-90.
- Post SR, Hammond HK, Insel PA. Beta-adrenergic receptors and receptor signaling in heart failure. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1999; 39: 343-60.
- Powers SK, Howley ET. Prescrição de exercícios para a saúde e para o condicionamento físico. In: Powers SK, Howley ET. *Fisiologia do Exercício – Teoria e Aplicação ao Condicionamento e ao Desempenho.* 3 ed. São Paulo: Manole; 2000. p. 285-98.
- Rabkin JG, Wagner GJ, Rabkin R. A double-blind, placebo-controlled trial of testosterone therapy for HIV-positive men with hypogonadal symptoms. *Arch Gen Psychiatry.* 2000; 57(2): 141-7.
- Ramo P. Anabolic steroids alters the haemodynamic responses of the canine left ventricle. *Acta Physiol Scand.* 1987; 130: 209-17.
- Robert V, Besse S, Sabri A, Silvestre JS, Assayag P, Nguyen VT *et al.* Differential regulation of matrix metalloproteinases associated with aging and hypertension in the rat heart. *Lab Invest.* 1997; 76(5): 729-38.
- Robinson TF, Factor SM, Sonnenblick EH. The heart as a suction pump. *Sci Anim.* 1986; 254: 84-91.
- Rocha VM. Efeito do esteróide anabólico nandrolona sobre o nível de ansiedade em ratos. [dissertação]. Piracicaba: UNICAMP / FOP, 2006.

- Rodrigues MLV, Marcondes FK, Spadari-Bratfisch RC. Relationship between sensitivity to adrenaline, plasma corticosterone level and estrous cycle in rats. *Can J Physiol Pharmacol.* 1995; 73: 602-7.
- Safi Jr J. Hipertrofia miocárdica e biologia molecular. *HiperAtivo.* 1998; 3: 154-60.
- Salt PJ. Inhibition of noradrenaline uptake<sub>2</sub> in the isolated rat heart by steroids, clonidine and methoxylated phenylethylamines. *Eur J Pharmacol.* 1972; 20: 329-40.
- Samesina N, Amodeo C. Hipertrofia ventricular esquerda. *Rev Bras Hipertens.* 2001; 8(3): 316-20.
- Santos IN, Spadari-Bratfisch RC. Stress and cardiac beta adrenoceptors. *Stress.* 2006; 9(2): 69-84.
- Scheuer J, Malhotra A, Hirsch C, Capasso J, Schaible TF. Physiologic cardiac hypertrophy corrects contractile protein abnormalities associated with pathologic hypertrophy in rats. *J Clin Invest.* 1982; 70(6): 1300-5.
- Schild HO. pA<sub>2</sub> and competitive drug antagonism. *Brit J Pharmacol.* 1947; 2: 185-206.
- Sheridan PJ, Buchanan JM, Anselmo V. Autoradiographic and biochemical studies of hormone receptor localization. *J Histochem Cytochem* 1981; 1A Suppl: 195-200.
- Silva PRP, Danielski R, Czepielewski MA. Esteróides anabolizantes no esporte. *Rev Bras Med Esporte.* 2002; 8(6): 235-43.
- Slotkin TA, Bareis DI. Uptake of catecholamines by storage vesicles. *Pharmacology.* 1980; 21: 109-22.
- Snyder EM, Turner ST, Johnson BD. Beta2-adrenergic receptor genotype and pulmonary function in patients with heart failure. *Chest.* 2006; 130(5): 1527-34.
- Souza RR. Aging of myocardial collagen. *Biogerontology.* 2002; 3: 325-35.
- Spadari RC, Bassani RA, De Moraes S. Supersensitivity to isoprenaline and epinephrine in right atria isolated from rats submitted to a single swimming session. *Gen Pharmac.* 1988; 19(1): 129-35.

- Spadari RC, De Moraes S. Repeated swimming stress and responsiveness of isolated rat pacemaker to chronotropic effect of noradrenaline and isoprenaline: role of adrenal corticosteroids. *Gen Pharmacol.* 1988; 19(4): 553-7.
- Spadari-Bratfisch RC, Nunes IS, Vanderlei LCM, Marcondes FK. Evidence for  $\beta_2$ -adrenoceptors in right atria from female rats submitted to footshock stress. *Can J Physiol Pharmacol.* 1999; 77(6): 432-40.
- Stiles GL, Caron MG, Lefkowitz RJ.  $\beta$ -adrenergic receptors: biochemical mechanisms and physiological regulation. *Physiol Rev.* 1984; 64(2): 661-743.
- Stolt A, Karila T, Viitasalo M, Mantysaari M, Kujala UM, Karjalainen J. QT interval and QT dispersion in endurance athletes and in power athletes using large doses of anabolic steroids, *Am J Cardiol.* 1999; 84: 364-6.
- Suman OE, Hasten D, Turner MJ, Rinder MR, Spina RJ, Ehsani AA. Enhanced inotropic response to dobutamine in strength-trained subjects with left ventricular hypertrophy. *J App Physiol.* 2000; 88: 534-9.
- Takala TE, Rämö P, Kiviluoma K, Vihko V, Kainulainen H, Kettunen R. Effects of training and anabolic steroids on collagen synthesis in dog heart. *Eur Appl Physiol.* 1991; 62: 1-6.
- Tanno AP, Bianchi FJ, Moura MJCS, Marcondes FK. Atrial supersensitivity to noradrenaline in stressed female rats. *Life Sci.* 2002; 71(25): 2973-81.
- Tanno AP, Marcondes FK. Estresse, ciclo reprodutivo e sensibilidade cardíaca às catecolaminas. *Rev Bras Cienc Farmac.* 2002; 38(3): 273-89.
- Teerlink JR, Pfeffer JM, Pfeffer MA. Progressive ventricular remodeling in response to diffuse isoproterenol induced myocardial necrosis in rats. *Circ Res.* 1994; 75: 105-13.
- Thiblin I, Runeson B, Rajs J. Anabolic androgenic steroids and suicide. *Ann Clin Psychiatry.* 1999; 11(4): 223-31.
- Thomas DP, Zimmerman SD, Hansen TR, Martin DT, McCormick RJ. Collagen gene expression in rat left ventricle: interactive effect of age and exercise training. *J Appl Physiol.* 2000; 89: 1462-8.

Trendelenburg U. Extraneuronal uptake and metabolism of catecholamines as a site of loss. *Life Sci.* 1978; 22: 1217-22.

Trendelenburg U. Functional aspects of the neuronal uptake of noradrenaline. *TIPS.* 1991; 12: 334-7.

Uhlen S, Lindblom J, Kindlundh A, Mugisha P, Nyberg F. Nandrolone treatment decreases the level of rat kidney alpha(1B)-adrenoceptors. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2003; 368(2): 91-8.

Urhausen A, Albers T, Kindermann W. Are the cardiac effects of anabolic steroids abuse in strength athletes reversible? *Heart.* 2004; 90: 496-501.

Urhausen A, Holpes R, Kindermann W. One and two dimensional echocardiography in bodybuilders using anabolic steroids. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1989; 58: 633-40.

Van Rossum J.M. Cumulative dose-response curves. II. Technique for the making f dose-response curves in isolated organs and the evaluation of the drug parameters. *Arch Int Pharmacodyn Ther.* 1963; 143: 229-30.

Vanderlei LCM, Marcondes FK, Lanza LLB, Spadari-Bratfisch RC. Influence of the estrous cycle on the sensitivity to catecholamines in right atria from rats submitted to footshock stress. *Can J Physiol Pharmacol.* 1996; 74: 670-8.

Wakatsuki T, Schlessinger J, Elson EL. The biochemical response of the heart to hypertension and exercise. *Biochem Sci.* 2004; 29(11): 609-17.

Weber KT, Brilla C. Pathological hypertrophy and cardiac interstium. Fibrosis and renin-angiotensina aldosterone system. *Circulation.* 1991; 83: 1849-65.

Werle EO, Strobel G, Weicker H. Decrease in cardiac beta 1 and beta 2-adrenoceptors by training and endurance exercise. *Life Sci.* 1990; 46: 9-17.

Wertzár F. The stages and consequences of aging of collagen. *Gerontologia.* 1969; 15(2): 233-9.

Wilmore JH, Costill DL. *Fisiologia do esporte e do exercício.* 2.ed. São Paulo: Manole, 2001.

- Wilson JD. Androgen abuse by athletes. *Endocr Rev.* 1988; 9(2): 181-99.
- Wold LE, Relling DP, Colligan PB, Scott GI, Hintz KK, Ren BH *et al.* Characterization of contractile function in diabetic hypertensive cardiomyopathy in adult rat ventricular myocytes. *J Mol Cell Cardiol.* 2001; 33(9): 1719-26.
- 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: 409-15.
- Wu FC. Endocrine aspects of anabolic steroids. *Clin Chem.* 1997; 43(7): 1289-92.
- Xiang Y, Devic E, Kobilka B. The PDZ binding motif of the beta 1 adrenergic receptor modulates receptor trafficking and signaling in cardiac myocytes. *J Biochem Chem.* 2002; 277(37): 33783-90.
- Yesalis CE, Courson SP, Wright JE. History of anabolic steroid in sport and exercise. In: Yesalis CE, editors. *Anabolic Steroids in Sport and Exercise.* Champaign IL: Human Kinetics; 1993. p.51-71.
- Zanesco A, Spadari-Bratfisch RC, Barker LA. Sino-aortic denervation causes right atrial beta adrenoceptor down-regulation. *J Pharmacol Exp Ther.* 1997; 280(2): 677-85.
- Zaugg M, Xu W, Lucchinetti E, Shafiq SA, Jamali NZ, Siddiqui MA. Beta-adrenergic receptor subtypes differentially affect apoptosis in adult rat ventricular myocytes. *Circulation.* 2000; 102(3): 344-50.
- Zhu WZ, Zheng M, Koch WJ, Lefkowitz RJ, Kobilka BK, Xiao RP. Dual modulation of cell survival and cell death by beta 2-adrenergic signaling in adult mouse cardiac myocytes. *Proc Natl Acad Sci.* 2001; 98: 1607-12.
- Zierhut W, Zimmer HG. Significance of myocardial alpha- and beta-adrenoceptors in catecholamine-induced cardiac hypertrophy. *Circ Res.* 1989; 65(5): 1417-25.
- Zou Y, Komuro I, Yamazaki T, Kudog S, Uozumi H, Kadowaki T *et al.* Both Gs and Gi proteins are critically involved in isoproterenol-induced cardiomyocyte hypertrophy. *J Biol Chem.* 1999; 274: 9760-70.