

MORFOLOGIA DO BAÇO APÓS ADMINISTRAÇÃO DE ESTERÓIDE ANABÓLICO-ANDROGÊNICO ASSOCIADO AO EXERCÍCIO

Vagner José da Silva¹ profcatu@yahoo.com.br

Jonato Prestes² jonatop@gmail.com

Luis Felipe Milano Teixeira¹ teixeira.luisfelipe@gmail.com

Guilherme Borges Pereira² guifisiologia@gmail.com

Richard Diego Leite² rixleite@gmail.com

Cláudia Kiyomi Minazaki³ minazaki@butantan.gov.br

Maurício Cavacchini da Silveira¹ mauricio@nutristore.com.br

Lea Sílvia Horii¹ lecahorii@yahoo.com

Sílvia Cristina Crepaldi Alves¹ sccalves@terra.com.br

Cláudia Regina Cavaglieri¹ ccavagli@unimep.br

Estela Bevilacqua³ estela.bevilacqua@pq.cnpq.br

Rozangela Verlengia¹ rverleng@unimep.br

doi:10.3900/fpj.8.1.32.p

Silva VJ, Prestes J, Teixeira LFM, Pereira GB, Leite RD, Minazaki CK, et al. Morfologia do baço após administração de esteróide anabólico-androgênico associado ao exercício. *Fit Perf J.* 2009 jan-fev;8(1):32-9.

RESUMO

Introdução: O baço representa um dos maiores órgãos linfóides em humanos e animais. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi analisar os efeitos de diferentes doses de decanoato nandrolona (DN), associado ao exercício físico de alta intensidade, sobre a morfologia do baço. **Materiais e Métodos:** Foram utilizados 20 animais machos da espécie *Wistar*, com dois meses, peso de 280 ± 12 g, divididos em quatro grupos experimentais: G0 - grupo controle com propilenoglicol ($0,2 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$); G1 - exercitado + $1,0 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ de DN; GII - exercitado + $5,0 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ de DN; GIII - exercitado + $20,0 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ de DN. O treinamento de 5 semanas consistiu de quatro séries de 10 saltos na água, com intervalos de 30s entre as séries. Na 1ª e 2ª semana a sobrecarga foi de 50%; na 3ª e 4ª de 60%; e na 5ª de 70% do peso corporal. **Resultados:** Foram observadas maiores concentrações de eritrócitos no grupo GII comparado com grupo G0 ($p=0,039$), e também no grupo GIII comparado com G0 ($p=0,004$) e G1 ($p=0,018$). Não houve modificação na estrutura histológica esplênica na comparação entre os grupos experimentais. **Discussão:** A administração de DN associada ao exercício não promove alterações qualitativas na estrutura histológica do baço e promove aumento da eritropoiese.

PALAVRAS-CHAVE

Baço, Atividade Física, Esteróides.

¹ Universidade Metodista de Piracicaba - UNIMEP - Faculdade de Ciências da Saúde - Mestrado em Educação Física - Piracicaba - Brasil

² Universidade Federal de São Carlos - UFSCar - Departamento de Ciências Fisiológicas - Laboratório de Fisiologia do Exercício - São Carlos - Brasil

³ Universidade de São Paulo - USP - Instituto de Ciências Biomédicas - Departamento de Histologia e Embriologia - São Paulo - Brasil

SPLEEN MORPHOLOGY AFTER ANDROGENIC-ANABOLIC STEROID ADMINISTRATION ASSOCIATED TO EXERCISE

ABSTRACT

Introduction: Spleen represents one of the larger lymphoid organs in humans and animals. Therefore, the objective of the present study was to analyze the effects of different doses of nandrolone decanoate (ND), associated to high intensity physical exercise on spleen morphology.

Materials and Methods: 20 Wistar male rats with two months and body mass of 280 ± 12 g, divided in four experimental groups: G0 - control group with propilenoglycol ($0.2 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$); G1 - exercised + $1.0 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ of ND; GII - exercised + $5.0 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ of ND; GIII - exercised + $20.0 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ of ND. The 5 weeks training consisted of four sets of 10 water jumps and rest interval of 30s between sets. In the 1st and 2nd weeks the load was 50%; in 3th and 4th, 60%; and in 5th, 70% of the body mass. **Results:** There were higher erythrocytes levels in GII group compared with G0 group ($p=0.039$) and also in GIII group compared to G0 ($p=0.004$) and G1 ($p=0.018$). There was no significant modification in splenic histological structure in the comparison between the experimental groups. **Discussion:** DN administration associated to exercise promotes no qualitative alterations in the spleen histological structure and induces erythropoiesis.

KEYWORDS

Spleen, Physical Activity, Steroids.

LA MORFOLOGÍA DEL BAZO DESPUÉS DE LA ADMINISTRACIÓN DE ESTEROIDE ANABÓLICO-ANDRÓGENO ASOCIADO AL EJERCICIO

RESUMEN

Introducción: El bazo es uno de los principales órganos linfoides en los seres humanos y animales. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue analizar los efectos de diferentes dosis de decanoato de nandrolona (DN), asociadas al ejercicio físico de alta intensidad sobre la morfología del bazo.

Materiales y Métodos: Se utilizaron 20 animales masculinos de la especie Wistar de dos meses y peso de 280 ± 12 , divididos en cuatro grupos experimentales: G0 - grupo de control con el propilenoglicol ($0,2 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$); G1 - con ejercicio + $1,0 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ de DN; GII - con ejercicio + $5,0 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ de DN; GIII - con ejercicio + $20,0 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ de DN. El entrenamiento de 5 semanas consistió en cuatro series de 10 saltos en el agua a intervalo de 30s entre las series. En las 1^ª y 2^ª semanas, la carga fue de 50%, en la 3^ª y 4^ª de 60%, y la 5^ª de 70% del peso corporal. **Resultados:** Existieron concentraciones más altas de glóbulos rojos en el grupo GII en comparación con el G0 ($p=0,039$) y también en el grupo GIII en comparación con el G0 ($p=0,004$) y G1 ($p=0,018$). No hubo cambios en la estructura histológica del bazo en la comparación entre los grupos experimentales.

Discusión: La administración de la DN asociada al ejercicio no ha promovido cambios cualitativos en la estructura histológica del bazo y promueve el aumento de la eritropoyesis.

PALABRAS CLAVE

Bazo, Actividad Física, Esteroides.

INTRODUÇÃO

A testosterona, juntamente com outros andrógenos, é responsável pelo desenvolvimento das características sexuais secundárias (efeito masculinizante ou androgênico), estimulação da síntese protéica muscular e hipertrofia¹. Devido aos diversos efeitos proporcionados pela testosterona, derivados sintéticos dos hormônios esteróides sexuais têm sido utilizados por décadas em pesquisas, por atletas e esportistas recreacionais, objetivando principalmente o aumento

da massa muscular, força, desempenho esportivo e aspectos estéticos². Alén³ demonstrou aumento na concentração da hemoglobina sérica, hematócrito e no número de células brancas, após seis meses de administração de elevadas doses de esteróides androgênicos anabólicos (EAA). Hartgens *et al.*⁴ demonstraram aumento do conteúdo de plaquetas após oito semanas de uso de EAA, enquanto todos os outros parâmetros hematológicos permaneceram inalterados.

Ademais, a comunidade médica tem se interessado cada vez mais pelo uso terapêutico dos EAA no tratamento de hipogonadismo, sarcopenia, anemia, câncer e pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida³. Em contrapartida, Ferrández *et al.*¹ demonstraram que a administração de doses suprafisiológicas (acima de 10mg.kg⁻¹.semana⁻¹) de EAA associada ao exercício de alta intensidade pode conduzir à redução da proliferação e mobilidade de linfócitos *in vitro*, evidenciando aspectos negativos relacionados ao uso inadequado de EAA. Outro aspecto importante a ser considerado são os efeitos das diferentes doses de EAA sobre parâmetros hematológicos e teciduais, como o baço.

Neste sentido, o baço representa um dos maiores órgãos linfóides em humanos e animais. Seu aspecto morfológico permite visualizar diferentes estruturas, como a polpa branca, que é caracterizada pela abundante presença de linfócitos, e a polpa vermelha, constituída pelo grande conteúdo de eritrócitos⁵.

Stewart *et al.*⁶ mostraram que, após 5min, 10min e 15min de exercício agudo em cicloergômetro a 60% do VO_{2máx'} o volume de sangue e tamanho do baço se reduzem. Cronicamente, após 30, 45 e 60 dias de exercício ocorre aumento na inervação simpática no baço em ratos jovens⁷.

Até o presente momento, permanecem insuficientes as investigações a respeito dos efeitos de diferentes doses dos EAA associadas ao exercício, sobre as alterações estruturais esplênicas. O objetivo deste estudo foi analisar os efeitos na morfologia do baço de diferentes doses de decanoato nandrolona (DN) associadas ao exercício físico de alta intensidade. O DN foi escolhido para este estudo por ser um dos esteróides androgênicos anabólicos mais utilizados e populares na aplicação clínica e entre atletas^{3,8}.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

Foram selecionados vinte animais machos da espécie Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), com dois meses e peso de 280±12g. Os animais foram separados em quatro gaiolas coletivas (cinco animais em cada) e receberam ração e água *ad libitum*. A temperatura da sala foi controlada em 23±2°C, ciclo claro-escuro de 12h/12h, com luz acesa a partir das 6h. Antes de iniciar o período experimental, os animais permaneceram por 48h em adaptação às condições do biotério de pesquisa. Todo o experimento foi conduzido de acordo com a política para pesquisas com animais experimentais do *American College of Sports*

Medicine e Colégio Brasileiro de Experimentação. O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Metodista de Piracicaba.

Grupos experimentais

Os animais foram randomizados e distribuídos em quatro grupos experimentais, na seguinte ordem: G0 - grupo controle com propilenoglicol (0,2mL.kg⁻¹); G1 - grupo exercitado com administração de 1,0mL.kg⁻¹ de DN; GII - grupo exercitado com administração de 5,0mL.kg⁻¹ de DN; GIII - grupo exercitado com administração de 20,0mL.kg⁻¹ de DN. Os animais foram submetidos a um programa de saltos na água em um tubo plástico de 20cm de diâmetro, contendo uma quantidade de água equivalente aproximadamente ao dobro do comprimento do rato e temperatura de 30±2°C. O protocolo de treinamento de alta intensidade foi realizado cinco dias da semana durante cinco semanas.

Administração do esteróide anabólico-androgênico

O esteróide anabólico-androgênico foi injetado via intramuscular nos músculos quadríceps da coxa de forma alternada, três vezes por semana após o treinamento. A administração do veículo (propilenoglicol) e decanoato nandrolona® (Organon, New Jersey, USA) iniciaram-se na primeira semana de treinamento, totalizando cinco semanas. O grupo G0 recebeu apenas injeções de propilenoglicol (0,2mL.kg⁻¹). Os animais tratados com decanoato de nandrolona receberam as doses diluídas em propilenoglicol, totalizando uma concentração final de 50mg.mL⁻¹.

Protocolo de treinamento

Os animais foram adaptados ao protocolo de exercício durante duas semanas, para reduzir o estresse. A adaptação foi composta por sessões de saltos na água com carga (50% do peso corporal), uma vez a cada dia, durante cinco dias. A carga adicional foi fixada no peito do animal por meio de coleite que permite a execução do exercício. O número de séries (2-4) e saltos (5-10) foi ajustado diariamente e aumentado gradualmente, com um período de 30s de recuperação entre as séries. Todas as sessões de adaptação foram realizadas pela manhã (8h às 12h).

Após o período de adaptação, os animais foram submetidos ao protocolo experimental de treinamento de alta intensidade, o qual consistia de saltos na água com a carga ajustada de acordo com o peso do animal, previamente descrito⁹. Todas as sessões de treinamento foram compostas por quatro séries de 10 saltos e

intervalo de recuperação de 30s entre as séries. Na primeira e segunda semana a sobrecarga foi de 50%; na terceira e quarta, 60%; e na quinta semana foi de 70% do peso corporal. Os animais foram pesados três vezes por semana.

Determinação do hematócrito

Após três dias do período experimental, os animais foram sacrificados e o sangue coletado em tubos capilares sem anticoagulante. Em seguida, os tubos capilares foram preenchidos com um volume de sangue igual a 70% e centrifugados a 5000rpm durante 5min. Após a centrifugação, o percentual de eritrócitos foi aferido através de uma tabela do cartão de leitura padrão (Fanem, Brasil).

Preparação do tecido

Imediatamente após o sacrifício, o baço foi removido. As amostras foram fixadas em paraformaldeído a 4% em PBS 0,1M, pH 7,4, por 24h. Em seguida, as amostras foram lavadas, desidratadas em concentrações crescentes (70%, 80%, 90% e 95%), banhadas durante 40min com xilol e fixadas em *paraplast* líquido a 45°C.

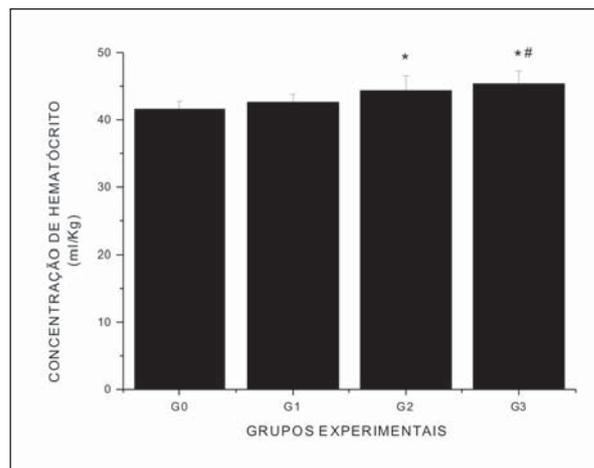
Avaliação histológica

O tecido foi cortado em secções de 6µm e submetido a diferentes procedimentos para identificação das estruturas esplênicas. Os procedimentos foram: coloração com hematoxilina e eosina (H&E) (Carlo Erba e Mallinckrod, Sigma®) para análise da estrutura geral dos componentes tissulares; coloração pelo tricrômico de Mallory (TM) (Carlo Erba, Sigma®) para evidenciar as hemácias; reação histoquímica com peroxidase (DAB-tabletes, Sigma®) para evidenciar a atividade peroxidásica; e reação histoquímica com fosfatase (Fast Red, Sigma®) para determinar a atividade da fosfatase ácida. Posteriormente, as amostras foram examinadas no microscópio e a análise realizada individualmente sem o conhecimento dos grupos e amostras. Todos os cortes do baço foram inteiramente examinados e a área mais representativa de cada grupo experimental foi fotografada.

Tratamento estatístico

Os dados quantitativos (concentrações do hematócrito) foram expressos pela média \pm desvio padrão. A análise estatística foi realizada inicialmente pelo teste de normalidade Shapiro-Wilk e pelo teste de homocedasticidade (critério de Bartlett). Todas as variáveis analisadas apresentaram distribuição normal e homocedasticidade, utilizando-se, desta forma, a Anova Two Way para medidas repetidas. Em todos os cálculos foi fixado um nível crítico de 5% ($p \leq 0,05$). O software utilizado em todos os testes estatísticos foi o Statistica® 6.1.

Figura 1. Mensuração das concentrações do hematócrito sanguíneo (ml/kg).



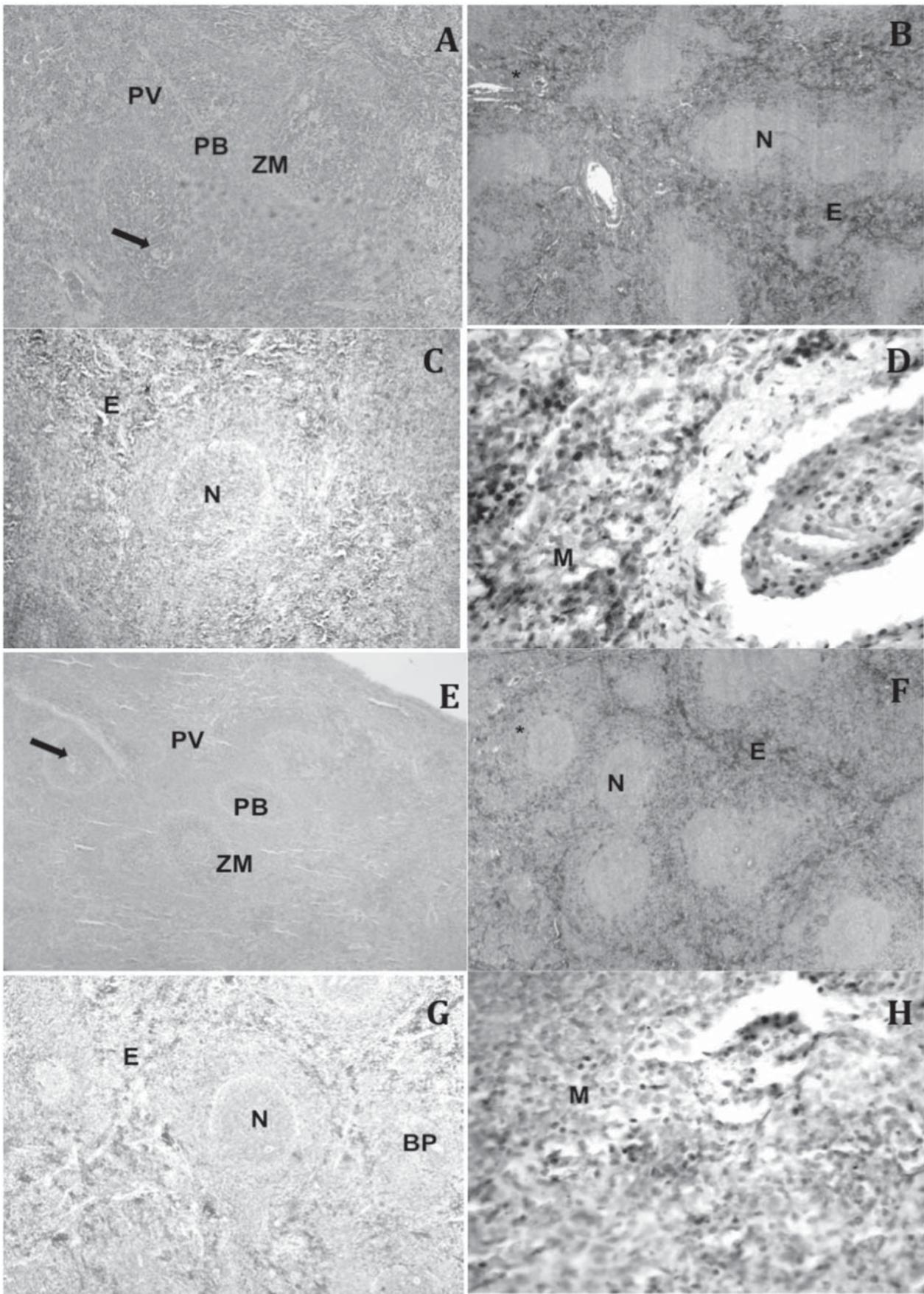
Valores = média \pm desvio padrão da média. Grupo G0 (veículo), G1 (1,0 mg/kg), GII (5,0 mg/kg) e GIII (20,0 mg/kg). *Diferença estatisticamente significativa em relação a G0; #Diferença estatisticamente significativa em relação a G1, ($\pi \leq 0,05$).

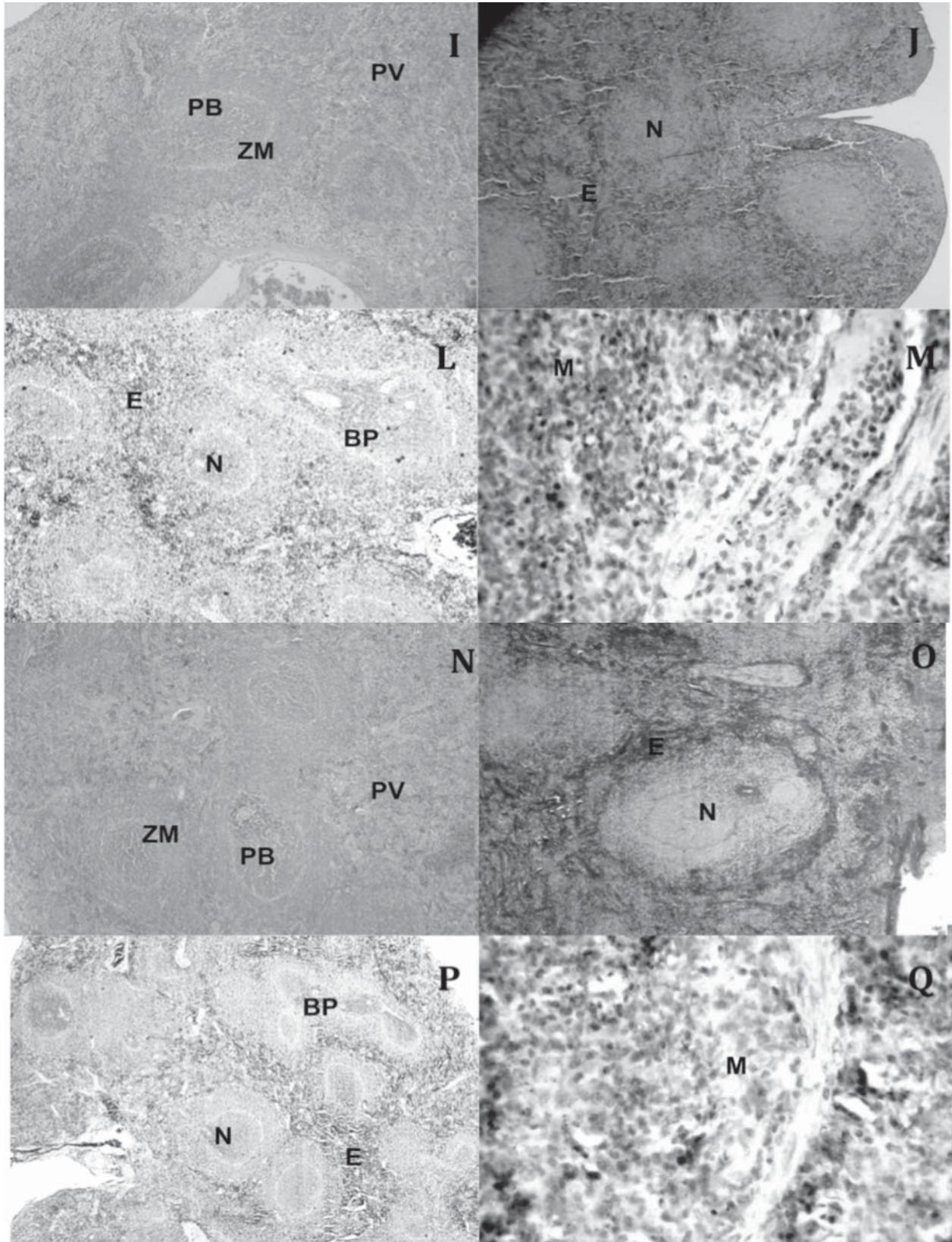
RESULTADOS

Os valores das concentrações de eritrócitos ($\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$) nos diferentes grupos estudados que receberam diferentes doses de DN foram apresentados no formato de média \pm desvio padrão. O grupo GII apresentou concentrações séricas de eritrócitos estatisticamente superiores, comparadas ao grupo G0 ($p=0,039$). Foram observadas concentrações superiores de eritrócitos no grupo GIII, comparadas a G0 ($p=0,004$) e G1 ($p=0,018$) (Figura 1). Em relação à massa corporal, não foram observadas variações significativas de nenhum dos grupos experimentais no decorrer das cinco semanas.

Todas as observações histológicas qualitativas descritas foram consistentemente encontradas em todas as amostras para cada grupo. Foi observada, em todos os grupos experimentais, a polpa branca formada por uma típica condensação de linfócitos, macrófagos e plasmócitos. A bainha periarterial, que persiste ao redor de arteríolas e alguns destes nódulos, apresentam uma região central pouco corada pela hematoxilina, podendo indicar um menor acúmulo celular, caracterizando os centros germinativos (Figura 2A). Também foi observada a polpa vermelha constituída por uma rede de seios venosos anastomosados e a presença de hemácias (Figura 2B). A presença de eritrócitos marcados em castanho (E) pelas reações químicas da peroxidase (positiva) e a presença de nódulos linfáticos (N) pode ser visualizada (Figura 2C). As amostras marcadas positivamente com a fosfatase ácida permitiram a identificação da presença de macrófagos (M) (Figura 2D).

Figura 2. Cortes transversais histológicos.





Grupo G0 (A, B, C e D), G1 (E, F, G e H), GII (I, J, L e M) e GIII (N, O, P e Q). Os cortes A, E, I e N representam a coloração com hematoxilina e eosina e ampliação de 80X. Os cortes B, F, J e O representam a coloração pelo tricrômico de Mallory e ampliação de 80X. Os cortes C, G, L e P representam a coloração pela peroxidase e ampliação de 400X. Os cortes F, D, H, M e Q foram corados com a fastase ácida e ampliados a 800X. Polpa branca (PB), polpa vermelha (PV), zona medular (ZM) e seta (è) indica arteríola, nódulos linfáticos (N), eritrócitos (E), bainhas periarteriais (BP) e macrófagos (M).

De forma geral e qualitativa, não houve modificação na estrutura histológica esplênica na comparação entre os grupos experimentais GI, GII e GIII em relação a G0 (controle). Em todos os grupos, os componentes tissulares esplênicos estavam presentes e a organização e a arquitetura do órgão preservadas nos preparados corados pela hematoxilina e eosina (Figuras 2E, I e N) e tricrômico de mallory (Figuras 2F, J e O). As reações positivas da fosfatase ácida (Figuras 2H, M e Q) e peroxidase (Figuras 2G, L e P) evidenciaram a presença de macrófagos e eritrócitos, respectivamente. Além disso, foram observadas bainhas periarteriais, nódulos linfóides com artérias centrais e a presença de centros germinativos, zona marginal delimitada e evidente polpa vermelha, com uma possível alteração na incidência de eritrócitos corados em castanho. Esta alteração pode indicar um aumento na presença dos eritrócitos dentro da zona medular, sugerindo que o DN associado ao exercício pode aumentar a eritropoiese e, conseqüentemente, maior marcação pela peroxidase (Figuras 2L e P).

Para confirmar que não houve diferenças histológicas nos cortes transversais do baço, foram analisadas as medidas morfométricas de área dos nódulos linfóides. As análises confirmaram a ausência de diferença na estrutura esplênica entre os grupos experimentais estudados (resultados não apresentados).

DISCUSSÃO

Até o presente momento, este foi o primeiro estudo a avaliar qualitativamente as estruturas morfológicas do baço de ratos submetidos ao treinamento de alta intensidade, associado à administração de diferentes doses de DN. O baço é um importante órgão responsável por diversas funções, como: formação de anticorpos; produção de linfócitos e monócitos; filtração; fagocitose e destruição de eritrócitos senescentes; estoque de íons ferro e células sanguíneas viáveis⁵. As adaptações morfológicas esplênicas, decorrentes do exercício físico associado ao DN, precisam de maiores esclarecimentos. É importante salientar a necessidade de estudos nessa área, visto que estimativas recentes indicam que mais de três milhões de pessoas administram EAA nos Estados Unidos¹⁰.

Os resultados das avaliações qualitativas deste estudo não mostraram diferenças na morfologia do baço entre os grupos exercitados que receberam diferentes doses de DN, quando comparados ao controle. No presente estudo, foram administradas diferentes dosagens de DN em três grupos. Segundo Hartgens & Kuipers¹¹, apenas a administração do grupo GIII foi supra-fisiológica (acima de 10 mg.kg⁻¹.semana⁻¹), o

que, provavelmente, pode ter contribuído para ausência de alterações estruturais. Ademais, freqüentemente os atletas administram vários EAA ao mesmo tempo, com diferentes dosagens¹¹, resultando em doses 10 a 100 vezes maiores do que as recomendadas para as terapias de reposição³.

O uso prolongado de EAA em doses supra-fisiológicas pode conduzir a diversos efeitos que variam de acordo com os diferentes tecidos, tipos de enzimas e concentração de receptores andrógenos¹¹. Estudos recentes demonstraram que os principais alvos que sofrem os efeitos dos EAA são os músculos, tecido conjuntivo e ósseo^{12,13,14}. Adicionalmente, quando combinado ao exercício, também podem ocorrer alterações significativas no sistema cardiovascular, imunológico, endócrino, reprodutivo, psicológico, fígado e tendões, mediados por diversos mecanismos ainda não totalmente compreendidos^{11,12,13}.

Outra justificativa coerente para nossos resultados pode ser o tempo insuficiente de administração do DN (cinco semanas), que não permitiu a adaptação e alteração na morfologia do tecido avaliado. Em homens jovens saudáveis, doses supra-fisiológicas de EAA induziram aumento na massa corporal, tamanho da musculatura e força muscular, associado ou não a exercícios, após 10 a 20 semanas¹⁴. Marqueti *et al.*^{15,16} avaliaram os efeitos da administração de esteróides associada ao exercício de alta intensidade, durante seis semanas, sobre a morfologia de tendões. Os autores demonstraram que a associação entre exercício e EAA altera a morfologia do tecido e pode prejudicar o remodelamento dos tendões, aumentando potencialmente o risco de lesão.

Em outro estudo, Fernández *et al.*¹ analisaram os efeitos de doses supra-fisiológicas de EAA associadas ao exercício, sobre a mobilidade e resposta proliferativa em cultura de linfócitos derivados do baço e timo de ratos. Após 12 semanas, os autores concluíram que o treinamento de alta intensidade reduz a mobilidade e a proliferação *in vitro* e, quando associado ao tratamento com EAA, pode prejudicar ainda mais a resposta imune.

EAA, incluindo o DN, são hormônios sintéticos derivados do hormônio masculino testosterona, desenvolvidos com propriedades de maximizar os efeitos anabólicos e minimizar os efeitos androgênicos¹¹. A testosterona regula muitos processos fisiológicos no organismo, incluindo metabolismo protéico muscular, funções sexuais e cognitivas, eritropoiese, perfil lipídico e metabolismo ósseo¹⁸. Em nosso estudo, a administração de diferentes doses de DN associada ao exercício de alta intensidade, promoveu o aumento esperado do hematócrito circulante e maior marcação

positiva da peroxidase na zona medular dos cortes histológicos do baço. Dentre os efeitos adversos cardiovasculares induzidos pelos EAA, podemos citar hipertensão, hipertrofia ventricular esquerda, período diastólico prejudicado, arritmia, trombose e eritrocitose¹⁸. Os mecanismos pelos quais os EAA estimulam a eritropoiese não são totalmente esclarecidos. Tem sido postulado que a testosterona e seus derivados sintéticos induzem a eritropoiese pela estimulação da produção de eritropoietina e ação direta sobre o osso marrom, aumentando o número de células eritropoietinas-responsivas ^{19,20}.

Estes achados sugerem que a administração de DN associada ao exercício não promove alterações qualitativas na estrutura histológica do baço e promove aumento da eritropoiese. Porém, novas investigações similares são necessárias, manipulando a combinação de diferentes tipos de EAA e dosagens supra-fisiológicas com períodos de duração acima de 10 semanas. Outro aspecto interessante a ser investigado é a responsividade (receptores/enzimas) do baço aos EAA.

REFERÊNCIAS

1. Fernández MD, Fuente MI, Ferníndez E, Manso R. Anabolic steroids and lymphocyte function in sedentary and exercise-trained rats. *Steroid Biochem Molec Biol.* 1996;59:225-32.
2. Evans NA. Current concepts in anabolic-androgenic steroids. *Am J Sports Med.* 2004;2:534-42.
3. Alén M. Androgenic steroid effects on liver and red cells. *Br J Sports Med.* 1985;19:15-20.
4. Hartgens F, Hamulyak K, Pernot C. Effects of high doses androgenic-anabolic steroids on haematologic parameters in bodybuilders. Abstract from the 8th FIMS European Sports Medicine Congress. 1995;23-7.
5. Stewart IB, McKenzie DC. The human spleen during physiological stress. *Sports Med.* 2002;32(6):361-9.
6. Stewart IB, Warburton DER, Hodges ANH, Lyster, DM, McKenzie DC. Cardiovascular and splenic responses to exercise in humans. *J Appl Physiol.* 2003;94:1619-26.
7. Vlk J, Volin M, Smetanova J. Effect of repeated exercise on postnatal development of the noradrenaline content of the albino rat heart, spleen and skeletal muscle. *Physiol Bohemoslov.* 1985;34(3):209-15.
8. Hartgens F, Van Marken Lichtenbelt WD, Ebbing S, Vollaard N, Rietjens G, Kuipers H. Body composition and anthropometry in bodybuilders: regional changes due to nandrolone decanoate administration. *Int J Sports Med.* 2001;22(3):235-41.
9. Cunha TS, Cunha NS, Moura MJCS, Marcondes FK. Esteróides anabólicos androgênicos e sua relação com a prática desportiva. *Rev Bras Ciênc Farm.* 2004;40(2):165-79.
10. Lukas SE. Current perspectives on anabolic-androgenic steroid abuse. *Trends Pharmacol Sci.* 1993;14(2):61-8.
11. Hartgens F, Kuipers H. Effects of androgenic-anabolic steroids in athletes. *Sports Med.* 2004;34(8):513-54.
12. Bhasin S, Woodhouse L, Casaburi R, Singh AB, Bhasin D, Berman N, *et al.* Testosterone dose-response relationships in healthy young men. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2001;281(6):1172-81.
13. Sinha-Hikim I, Artaza J, Woodhouse L, Gonzalez-Cadavid N, Singh AB, Lee MI, *et al.* Testosterone-induced increase in muscle size in healthy young men is associated with muscle fiber hypertrophy. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002;283(1):154-64.
14. Pärssinen M, Karila T, Kovanen V, Seppälä T. The effect of supraphysiological doses of anabolic androgenic steroids on collagen metabolism. *Int J Sports Med.* 2000;21(6):406-11.
15. Marqueti RC, Parizotto NA, Chriguer RS, Perez SEA, Selistre-de-Araujo HS. Androgenic-anabolic steroids associated with mechanical loading inhibit matrix metalloproteinase activity and affect the remodeling of the achilles tendon in rats. *Am J Sports Med.* 2006;34:1274-80.
16. Marqueti RC, Prestes J, Paschoal M, Ramos OH, Perez SE, Carvalho HF, *et al.* Matrix metalloproteinase 2 activity in tendon regions: effects of mechanical loading exercise associated to anabolic-androgenic steroids. *Eur J Appl Physiol.* 2008;104(6):1087-93.
17. Huber DM, Bendixen AC, Pathrose P, Srivastava S, Diengerkm, Shevde NK, *et al.* Androgens suppress osteoclast formation induced by RANKL and macrophage-colony stimulating factor. *Endocrinology.* 2001;142(9):3800-8.
18. Kutscher EC, Lund BC, Perry PJ. Anabolic steroids: a review for the clinician. *Sports Med Review.* 2002;32(5):285-96.
19. Blazeovich AJ, Giorgi A. Effect of testosterone administration and weight training on muscle architecture. *Med Sci Sports Exerc.* 2001;33:1688-93.
20. Boyadjiev NP, Georgieva KN, Massaldjieva RI, Gueorguiev SI. Reversible hypogonadism and azoospermia as a result of anabolic-androgenic steroid use in a bodybuilder with personality disorder. A case report. *J Sports Med Phys Fitness.* 2000;40(3):271-4.

Recebido: 23/09/2008 – Aceito: 12/12/2008