

Effects of using stanozolol on heart morphology in sedentary and athlete rats

Efeitos do uso de estanozolol sobre a morfologia do coração de ratos sedentários e atletas

Received: 00-00-2024 | Accepted: 00-00-2024 | Published: 00-00-2024

Elton Santos Guedes de Morais

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7538-4518>

Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil

E-mail: eltonsgmorais@gmail.com

Pollyana Nibbering Ferreira da Rocha

ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-5973-6690>

Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil

E-mail: pollyana.nibbering@ufrpe.br

Gyl Everson de Souza Maciel

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8998-5253>

Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil

E-mail: gyl_everson@hotmail.com

Marcelo Weinstein Teixeira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2056-5343>

Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil

E-mail: marcivet21@gmail.com

Leucio Duarte Vieira Filho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6041-1720>

Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

E-mail: leucio.vieirafo@ufpe.br

Mariza Brandão Palma

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6809-8396>

Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil

E-mail: mariza.palma@ufrpe.br

Anísio Francisco Soares

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1493-7964>

Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil

E-mail: anisiofsoares@gmail.com

ABSTRACT

The indiscriminate use of Anabolic Androgenic Steroids (AAS) causes harm to several systems such as reproductive, hepatic, skeletal muscle, endocrine, renal, cardiovascular and dermatological. Therefore, the present study aims to investigate the effects on the morphology of the heart of sedentary rats and athletic rats using stanozolol. For this purpose, 40 male Wistar rats, 90 days old, were used, subdivided into four vehicle control groups (CV), control treated with stanozolol (CT), exercise vehicle (EV) and the exercise group treated with stanozolol (ET). Stanozolol was applied at a dosage of 20 mg/kg/week for 8 weeks intramuscularly, the training protocol consisted of swimming, five times a week, for nine consecutive weeks. Histological slides were prepared from the animals' left ventricle and analyzes were carried out under light microscopy. There were no histological changes in the morphology of the heart in sedentary animals and athletes, both using stanozolol.

Keywords: Image drugs; Anabolic androgenic steroids; Cardiovascular system; Physical training.

RESUMO

O uso indiscriminado de Esteroides Androgênicos Anabolizantes (EAA) acarreta em prejuízo para diversos sistemas como reprodutivo, hepático, músculo esquelético, endócrino, renal, cardiovascular e dermatológico. Com isso o presente estudo tem por objetivo investigar os efeitos sobre a morfologia do coração de ratos sedentários e ratos atletas usuários de estanozolol. para isso foram utilizados 40 ratos machos da linhagem Wistar, com 90 dias de idade, subdivididos em quatro grupos controle veículo (CV), controle tratados com estanozolol (CT), exercício veículo (EV) e o grupo exercício tratado com estanozolol (ET). O estanozolol foi aplicado na dosagem de 20 mg/kg/semana durante 8 semanas por via intramuscular, o protocolo de treinamento consistiu na prática de natação, cinco vezes por semana, durante nove semanas consecutivas. Lâminas histológicas foram confeccionadas do ventrículo esquerdo dos animais e análises feitas sob microscopia de luz. Não houveram alterações histológicas na morfologia do coração em animais sedentários e atletas, ambos usuários de estanozolol.

Palavras-chave: Drogas de imagem; Esteroides androgênicos anabolizantes; Sistema cardiovascular; Treinamento físico.

INTRODUÇÃO

Os Esteroides Androgênicos Anabolizantes (EAA) são substâncias sintéticas formadas a partir da testosterona e seus derivados, possuindo propriedades anabólicas que causam crescimento muscular e perda de gordura, juntamente com propriedades androgênicas que causam o desenvolvimento das características sexuais secundárias masculinas (Kanayama; Pope Jr. 2017). Esses efeitos são decorrentes da capacidade de ligação dos EAA a receptores andrógenos, o que resulta na formação de um complexo receptor. Este, após se ligar ao ácido desoxirribonucleico (DNA), desencadeia a transcrição e a expressão de genes, resultando em aumento da síntese proteica e inibição da degradação das mesmas (Freitas *et al.*, 2021).

Desde a década de 1940, essas drogas têm sido usadas na reabilitação de queimaduras, traumas e cirurgias. Posteriormente, os EAA passaram a ser utilizados no tratamento de doenças associadas a quadros de hipogonadismo e deficiência do metabolismo proteico. Eles desempenham um papel importante no tratamento de um número crescente de doenças sendo utilizados também no tratamento do câncer de mama (Liu & Wu, 2019). Embora tenham aplicação na medicina, os EAA também são utilizados para fins estéticos, bem como para melhorar o desempenho dos atletas. O primeiro caso foi divulgado em 1954, em um campeonato de levantamento de peso em Viena. Em 1975, os EAA entraram na lista das substâncias proibidas pelo Comitê Olímpico Internacional (COI) e seu uso passou a ser considerado *doping*. No Brasil, os EAA passaram a ser considerados *doping* na década de 80 (Sobrinho *et al.*, 2019; Maciel *et al.*, 2020).

O número crescente dos usuários de EAA vem se tornando um problema de saúde pública em diversos países. Isso se deve, entre outros fatores, ao culto ao corpo, que é uma das características da sociedade atual, de forma que há uma crescente busca pela melhora visual da aparência corporal. Com isso também cresce o número de pessoas insatisfeitas com seus corpos e que recorrem a “drogas da imagem corporal”, incluindo os EAA (Sena & Queiroz, 2022).

O uso indiscriminado de EAA pode desencadear diversos efeitos para o usuário, pois muitos sistemas são afetados pelos seus efeitos adversos, como os reprodutivo, hepático, músculo-esquelético, endócrino, renal, cardiovascular e dermatológico (Nunes *et al.*, 2020). Efeitos neuropsiquiátricos e comportamentais em decorrência do abuso de EAA também são conhecidos e descritos na literatura. Dentre esses sistemas, o cardiovascular e o hepático merecem destaque pelo risco de morte associado (Cisneiro *et al.*, 2022).

Com o aumento de usuários de anabolizantes nos últimos anos, os efeitos no sistema cardiovascular vêm se tornando cada vez mais preocupantes. Dentre esses efeitos temos a fibrilação arterial, infartos do miocárdio, trombose ventricular e embolismo sistêmico, além de desenvolvimento de cardiomiopatias, fibrilação atrial e falência aguda do coração (Sobrinho *et al.*, 2019). Embora praticantes de atividade física de resistência de longa duração apresentem alterações morfológicas no coração em relação a indivíduos que praticam atividades de curta duração ou de indivíduos sedentários, isso se deve a uma adaptação da função cardíaca à atividade física intensa (Robergs & Robergs, 2002). Já a utilização dos esteroides leva a alterações fisiológicas e morfológicas do coração parecidas com quadros de insuficiência cardíaca e cardiomiopatias (Sobrinho *et al.*, 2019).

Um dos EAA mais comumente difundido é o estanozolol. Isso se deve a sua fácil aplicabilidade, pois, diferente de outros EAA, ele pode ser administrado também por via oral (Ferreira *et al.*, 2014). Além disso, este anabolizante se destaca entre os usuários por causar aumento de força sem ganho de peso excessivo, promover aumento na vascularização muscular, não se converter em estrógeno, não causar retenção de líquido em excesso, além de auxiliar na perda de gordura preservando a massa muscular (Lima *et al.*, 2020). Na literatura, as evidências de efeitos colaterais provocados pelo estanozolol à saúde são escassas. Entretanto é sabido que seu uso está associado a hepatotoxicidade, aumento da pressão arterial e alterações estruturais no coração (Mayrink *et al.*, 2010; Maciel *et al.*, 2018; Vieira *et al.*, 2019).

O uso crônico de EAA pode resultar em diferentes padrões de alterações patológicas, que dependem do tipo, dose, frequência e modo de uso. Com isso o presente estudo tem por objetivo investigar os efeitos morfológicos sobre o coração de ratos sedentários e ratos atletas usuários de estanozolol.

MATERIAL E MÉTODOS

Neste estudo foram utilizados 40 ratos machos da linhagem Wistar, com 90 dias de idade. Os animais foram provenientes do biotério de criação e experimentação do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal (UFRPE), sendo mantidos em gaiolas de policarbonato (41x34x16cm), forradas com maravalha de pinus e trocadas 3 vezes por semana, em ambiente sob controle de temperatura mantida em $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, expostos a fotoperíodo de 12 horas de luz (400 Lux) por 12 horas de escuridão, com livre acesso a água e alimentação. Os protocolos experimentais foram previamente submetidos à

apreciação do Comitê de Ética de Uso Animal (CEUA/UFRPE), tendo sido aprovado com a Licença 98/2019.

Os espécimes coletados pertencem a animais de quatro grupos distintos, previamente distribuídos e, cada grupo formado por 10 animais **Grupo CV** - ratos controles tratados com veículo; **Grupo CT** - ratos controles tratados com estanozolol; **Grupo EV** - ratos treinados com natação tratados com veículo e **Grupo ET** - ratos treinados com natação tratados com estanozolol. O tratamento consistiu na administração de estanozolol durante 8 semanas na dosagem de 20 mg/kg/semana por via intramuscular, aos grupos que não houve aplicação do estanozolol, foram tratados com solução salina (Clark *et al.*, 1998; Beutel, Bergamaschi & Campos, 2005).

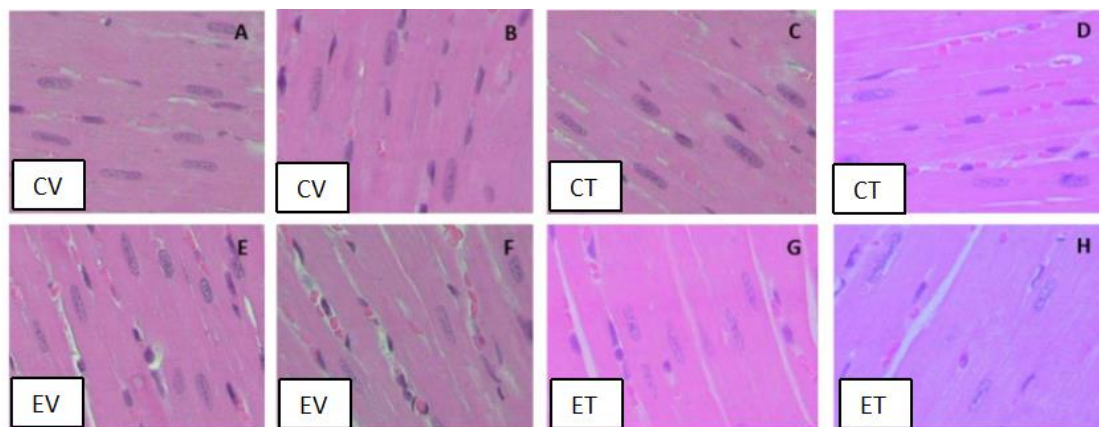
O protocolo de treinamento foi adaptado de Anaruma *et al.* (2009) e consistiu na prática de natação, cinco vezes por semana, durante nove semanas consecutivas. Na primeira semana os animais passaram por um período de adaptação com 20 minutos diários de natação sem sobrecarga. Após esse período, passaram a utilizar uma sobrecarga equivalente a 5% de seus respectivos pesos corporais que foi implementada através de uma fita elástica enlaçada ao tronco. O tempo de treinamento foi aumentado em cinco minutos por semana, de forma que na última semana o tempo de treinamento foi de 60 minutos.

Os animais foram eutanasiados com pentobarbital 30 sódico 3% na dose de 150mg/Kg e cloreto de potássio intracardíaco (100mg/Kg). Os corações foram obtidos dos animais recém eutanasiados, e posteriormente os órgãos foram utilizados para a confecção das lâminas histológicas do ventrículo esquerdo dos animais. O material coletado foi fixado em formol a 10% e, após desidratação em série alcoólica crescente e diafanização em xilol, foi feita a inclusão em parafina. Dos blocos de parafina foram obtidas secções de 5µm, que foram coradas em hematoxilina e eosina (HE) (Santos *et al.*, 2021). As análises histológicas foram feitas sob microscopia de luz (Olympus BX-50), com ocular micrométrica 32 Olympus 10x, acoplada em objetiva de 4x com o auxílio do programa para análise de imagens Motic Images Plus 2. ML.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na figura 1 podem ser observados cortes histológicos do ventrículo esquerdo de todos os grupos de animais estudados. Pode-se observar que a histologia cardíaca se apresentou normal, núcleos com espessura e tamanho adequados, além de terem sua arquitetura preservada. Esses resultados diferem da literatura encontrada onde em estudo realizado por Hassan & Kamal (2013), no qual os animais usuários de esteroides apresentaram hipertrofia dos cardiomiócitos, sendo uma das anormalidades mais comuns entre usuários de esteroides anabolizantes androgênicos (Montisci *et al.*, 2012). Entretanto, esses efeitos dependem do tempo de uso do esteroide, dose, modo de uso e do tipo de esteroide utilizado (Nunes *et al.*, 2020).

Figura 1 – Fotomicrografia do coração de ratos dos grupos controle veículo (A e B), controle tratados (C e D), exercício veículo (E e F) e o grupo tratado e exercício (G e H). Aumento de 40X.



Fonte: autores, 2024.

A interpretação de dados experimentais com a utilização de EAA em modelos animais como ratos apresenta dificuldades devido aos inúmeros fatores, como sexo, idade dos animais, duração do tratamento, dosagens, tipo, escopo e tempo do exercício utilizado. Apesar disso, é importante considerar os efeitos mais relatados para o uso indiscriminado de esteroides, que levam a graves consequências deletérias para o sistema cardiovascular como aterosclerose, hipertensão, remodelação cardíaca, arritmias e até morte súbita (Nunes *et al.*, 2020; Andrade *et al.*, 2022).

O estresse oxidativo, a apoptose e a alteração da síntese proteica são mecanismos comuns envolvidos nos danos relacionados aos EAA. Apesar da elevada morbidade e mortalidade, as consequências cardíacas e metabólicas do abuso de AAS ainda não são totalmente claras (Albano *et al.*, 2021). Entre essas consequências, a hipertrofia cardíaca

induzida por EAA é resultante do aumento na deposição paralela de sarcômeros, o que leva à hipertrofia concêntrica. Além disso, estudos já relacionaram os esteroides com o aumento do colágeno no miocárdio, o que pode afetar sua estrutura, contribuindo para o quadro de hipertrofia cardíaca. O colágeno excessivo é capaz de induzir mudanças eletrofisiológicas no miocárdio, com anormal propagação da onda de excitação, facilitando a taquicardia. Associado a outros fatores, essa resposta celular pode explicar as repetidas ocorrências de morte súbita em usuários de EAA (Beutel *et al.*, 2005; Carmo *et al.*, 2012; Nunes *et al.*, 2020; Andrade *et al.*, 2022).

Como citado anteriormente, o uso de esteroides anabolizantes vem apresentando aumento progressivo sem diretrizes seguras referentes aos regimes ou à ciclagem. O ciclo é o período durante o qual se tem o uso de uma ou várias combinações desses esteroides, normalmente variando de 8 a 20 semanas. Os atletas frequentemente recorrem ao "empilhamento", que envolve a administração simultânea de vários tipos diferentes de EAA em doses semanais variáveis e em quantidades substanciais. Tais regimes são adotados com base nas crenças e percepções do atleta, do treinador ou em informações obtidas em meios digitais gratuitos e de fácil acesso, muitas vezes carecendo de embasamento científico (Reyes-Vallejo, 2020).

O uso de EAA é uma ameaça à saúde pública. Embora o uso entre atletas de elite tenha sido o mais debatido, eles claramente não são usados apenas para melhorar o desempenho nos esportes e vem sendo cada vez mais utilizados por indivíduos jovens para melhora da aparência. No século XXI, o uso de EAA continuou a se difundir amplamente entre os homens em todo o mundo, especialmente nos países nórdicos, nos Estados Unidos, nos países da Comunidade Britânica e no Brasil, além de outros países ocidentais (Kanayama *et al.*, 2020). Tendo isso em perspectiva, a informação e a educação são ferramentas fundamentais para a prevenção do uso indevido de EAA. Embora o uso de EAA pareça aumentar o risco de morte prematura em várias categorias de pacientes, são urgentemente necessárias mais pesquisas sobre este problema e divulgação sobre os perigos da utilização abusiva dos mesmos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo não identificou alterações histológicas na morfologia do coração de ratos após a administração de estanozolol por 8 semanas consecutivas, com uma dose de 20 mg/kg/semana, tanto em animais sedentários quanto aqueles submetidos à prática de exercício físico. Para compreender melhor os efeitos do estanozolol sobre a morfologia cardíaca, são necessários mais estudos com diferentes dosagens e períodos de administração.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, do Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal (UFRPE), do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica do Instituto IPÊ (UFRPE) e do Laboratório de Fisiologia e Cirurgia Experimental - DMFA(UFRPE).

REFERÊNCIAS

ALBANO, Giuseppe Davide *et al.* Adverse Effects of Anabolic-Androgenic Steroids: A Literature Review. **Healthcare**, v. 9, n. 1, p. 97, 19 jan. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/healthcare9010097>.

ANARUMA, C.A. & BOARO, S.N. Análise do Efeito do Exercício de Natação Sobre o Osso Compacto E Esponjoso de Ratas com Osteoporose Através da Microscopia Eletrônica de Varredura, **Coleção Pesquisa em Educação Física**. Vol.8, nº 4, 2009.

ANDRADE, Tadeu Uggere de *et al.* Stanazolol induces ventricular dysfunction by decreasing phospholamban phosphorylation in heart tissue of LDLr^{-/-} mice. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 5, p. e12911527876, 31 mar. 2022. DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i5.27876>.

BEUTEL, Abram; BERGAMASCHI, Cássia Toledo; CAMPOS, Ruy Ribeiro. Effects of chronic anabolic steroid treatment on tonic and reflex cardiovascular control in male rats. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 93, n. 1, p. 43-48, jan. 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2004.11.003>.

CARMO, Everton Crivoi; FERNANDES, Tiago Menezes; OLIVEIRA, Edilamar Menezes. Esteróides anabolizantes: do atleta ao cardiopata. **Revista da Educação Física/UEM**, v. 23, n. 2, 28 jul. 2012. DOI: <https://doi.org/10.4025/reveducfis.v23i2.11662>.

CISNEIRO M. G. R. *et al.* O uso de anabolizantes e suas consequências: revisão de literatura. **Brazilian Journal of Health Review**, Curitiba, v.5, n.1, p. 2372-2385, jan./fev. 2022. DOI: <https://doi.org/10.34119/bjhrv5n1-212>.

CLARK, Ann S.; BLASBERG, Meg E.; BRANDLING-BENNETT, Erica M. Stanozolol, Oxymetholone, and Testosterone Cypionate Effects on the Rat Estrous Cycle. **Physiology & Behavior**, v. 63, n. 2, p. 287-295, jan. 1998. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0031-9384\(97\)00443-5](https://doi.org/10.1016/s0031-9384(97)00443-5).

FERREIRA N. A. F. *et al.* Estudo dos efeitos provocados pelo uso do anabolizante estanozolol. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research-BJSCR**, Vol.7, n.3, pp.17-23, Jun-Ago2014.

FREITAS, N. C. D.; DA SILVA, M. M. R.; BASSOLI, B. K.; DA SILVA, F. C. O uso de esteroides androgênicos anabolizantes por praticantes de musculação. **Sout American Journal of Basic Education, Technical and Technological** , [S. l.], v. 6, n. 2, p 335–345, 2021. Disponível em: <https://periodicos.ufac.br/index.php/SAJEBTT/article/view/2985>>. Acesso em: 20 mar. 2023.

HASSAN, Asmaa F.; KAMAL, Manal M. Effect of Exercise Training and Anabolic Androgenic Steroids on Hemodynamics , Glycogen Content , Angiogenesis and Apoptosis of Cardiac Muscle in Adult Male Rats. **International Journal of Health Sciences**, v. 7, n. 1, p. 47-60, jan. 2013. DOI: <https://doi.org/10.12816/0006020>.

KANAYAMA G., POPE H. G. History and epidemiology of anabolic androgens in athletes and non-athletes, **Molecular and Cellular Endocrinology**, Volume 464, 2018, Pages 4-13.

KANAYAMA, Gen; HUDSON, James I.; POPE, JR., Harrison G. Anabolic-Androgenic Steroid Use and Body Image in Men: A Growing Concern for Clinicians. **Psychotherapy and Psychosomatics**, v. 89, n. 2, p. 65-73, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1159/000505978>.

LIMA, F. C. S. *et al.* Ação do estanozolol sobre a histologia renal e hepática em ratos treinados com natação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 72, n. 4, p. 1295-1304, ago. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-4162-11368>.

LIU, Jian-Di; WU, Yan-Qing. Anabolic-androgenic steroids and cardiovascular risk. **Chinese Medical Journal**, v. 132, n. 18, p. 2229-2236, set. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1097/cm9.0000000000000407>.

MACIEL, Gyl Everson De Souza *et al.* Efeitos adversos do uso de esteroides anabolizantes androgênicos em homens praticantes de musculação na cidade do recife/pe. Anais do V CONAPESC. Campina Grande: Realize Editora, 2020. Disponível em: <https://editorarealize.com.br/artigo/visualizar/73083>>. Acesso em: 09 de fev. 2024.

MACIEL, Gyl Everson de Souza *et al.* Efeitos do estanozolol na pressão arterial sistólica de ratos sedentários. **Revista Brasileira de Fisiologia do exercício**, v. 16, n. 5, p. 268-271, 31 jan. 2018. DOI: <https://doi.org/10.33233/rbfe.v16i5.2088>

MONTISCI, Massimo *et al.* Anabolic androgenic steroids abuse and cardiac death in athletes: Morphological and toxicological findings in four fatal cases. **Forensic Science**

International, v. 217, n. 1-3, p. e13-e18, abr. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2011.10.032>.

NUNES, Ana Camila Campelo de Albuquerque *et al.* Efeitos indiscriminado do uso de esteroides anabólicos androgênico no sistema cardiovascular / the effects of indiscriminate use of androgenic anabolic steroids on the cardiovascular system. Oxymetholone, and Testosterone Cypionate effects on the rat estrous cycle. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 12, p. 101229-101240, 2020. DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv6n12-569>.

REYES-VALLEJO, L. Current use and abuse of anabolic steroids. **Actas Urológicas Españolas (English Edition)**, v. 44, n. 5, p. 309-313, 2020.

Robergs, R.A.; Robergs, S.O. (2002) Princípios fundamentais de fisiologia do exercício para aptidão, desempenho e saúde (1a ed). São Paulo: Editora Phorte.

SANTOS, Katharine Raquel Pereira dos, *et al.* Manual de técnica histológica de rotina e de colorações. **Universidade Federal de Pernambuco**, 2021.

SENA, H. L. P. de; QUEIROZ, F. J. G. O uso dos esteroides anabolizantes androgênicos: uma revisão da literatura. **Revista JRG de Estudos Acadêmicos**, Brasil, São Paulo, v. 5, n. 11, p. 76–87, 2022. DOI: 10.5281/zenodo.7114038.

SOBRINHO, C. A. .; ROSSI JUNIOR, W. C.; CORSINI, W.; SOARES, E. A.; VIEIRA, Tânia Martins *et al.* Effect of testosterone cypionate and stanozolol on the heart of young trained mice: A morphometric study. **Steroids**, v. 145, p. 19-22, maio 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2019.02.011>.