

RODRIGO SOARES FORTUNATO

**Função tireoideana em ratos tratados com esteróide
anabolizante**

MONOGRAFIA DE MESTRADO SUBMETIDA AO INSTITUTO DE BIOFÍSICA
CARLOS CHAGAS FILHO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(FISIOLOGIA)



**Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
Universidade Federal do Rio de Janeiro
2005**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

FICHA CATALOGRÁFICA

FORTUNATO, RODRIGO SOARES

Efeitos do esteróide anabolizante decanoato de nandrolona sobre a função tireoideana.

Rio de Janeiro: UFRJ, IBCCF, 2005.

Orientadora: Denise Pires Carvalho.

Monografia de Mestrado para obtenção do Grau de mestre em Ciências Biológicas -
Fisiologia.

Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho.

1 – Esteróides androgênico-anabólicos

2 – Decanoato de nandrolona

3 - Tireóide

4 - Tireoperoxidase

5 – Iodotironina desiodase tipo I

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Fisiologia Endócrina do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro sob orientação da professora Denise Pires de Carvalho, com apoio financeiro concedido pelo CNPq, FAPERJ, PRONEX, CEPG/UFRJ.

Esse trabalho é dedicado às pessoas mais importantes da minha vida:
minha mãe, minha tia e meus avós.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por sempre abrir meus caminhos, me dar muita força para segui-lo e me proporcionar trabalhar com algo que gosto e sinto prazer.

À minha família por estar sempre do meu lado, curtindo os bons momentos, me dando força nos horas difíceis e me empurrando quando eu empacava por algum motivo. Se ao nascer eu pudesse escolher uma família, certamente seria essa pela união e caráter de todos. Obrigado por tudo.

À Regina Goldenberg por ter me dado a primeira oportunidade na área de pesquisa e a todos do Laboratório de Cardiologia Celular e Molecular que conviveram comigo durante o tempo que estive por lá.

À minha orientadora, Denise Pires Carvalho, a quem tenho profunda admiração por ser uma excelente orientadora e profissional, e também por ser uma pessoa maravilhosa. Certamente é o meu maior exemplo a ser seguido.

À professora Doris Rosenthal pelo exemplo de amor à vida acadêmica, e pelos puxões de orelha em suas aulas que me fizeram aprender muita coisa.

Às professoras Tamar Frankenfeld, por ter me dado a oportunidade de dar minhas primeiras aulas, e Vânia Costa.

Aos amigos de trabalho Alba, Dani, Flávia, Michele, Renatinha, Renata Grozovsky, Luciene, Andréa, Glória, Elaine, Débora, Thiago, Valmara, Elaine, Lívia, Márcia, Elaine, Nathércia e Camilla que fazem com que ir ao laboratório seja diversão garantida.

À Elen pelo companherismo e ajuda durante todo esse trabalho, afinal de contas somos uma dupla, né.

Aos funcionários do nosso laboratório, Waldo, Wagner e Norma, pela ajuda nos experimentos e amizade.

À todos os meus amigos que estão longe ou fazem parte da minha vida e que moram no meu coração.

LISTA DE ABREVIATURAS

AMPC – Adenosina monofosfato cíclico.
D1 – Iodotironina desiodase tipo I.
D2 – Iodotironina desiodase tipo II.
D3 – Iodotironina desiodase tipo III.
DECA – Decanoato de nandrolona.
DHT – Dihidrotestosterona.
DIT – Diiodo-tirosina.
DTT – Ditiotreitól.
EAA – Esteróide androgênico-anabólico.
EDTA – Tetracetato de etilenodiamina, do inglês “Ethylenediaminetetraacetic acid”.
FSH – Hormônio folículo estimulante, do inglês “Follicle stimulating hormone”.
GH – Hormônio do crescimento, do inglês “Growth hormone”.
HDL – Lipoproteína de alta densidade, do inglês “High density lipoprotein”.
HT – Hormônio tireóideo.
I¹²⁵ – iodo 125
KI – Iodeto de potássio.
LDL – Lipoproteína de baixa densidade, do inglês “Low density lipoprotein”.
LH – Hormônio luteinizante, do inglês “Luteinizing hormone”.
MIT – Monoiodo-tirosina.
NIS – co-transportador Na⁺/I.
PE – Fosfato de sódio/ EDTA.
PKA - proteína cinase A.
PTU - 6-n-propil-2-thiouracil.
p.c - Peso corporal
RIE – Radioimunoensaio.
RNAm – RNA mensageiro.
3,3'-T₂ – 3,3'-diiodotironina.
rT₃ – 3,3',5' triiodotironina reversa (T₃ reverso).
T₃ – 3,5,3'triiodotironina.
T₄ – 3,5,3',5' tetraiodotironina ou tiroxina.
TBG – proteína ligadora de hormônio tireóideo, do inglês “Thyroxine binding protein”.
TCA – Ácido tricloro acético.
TPO – Tireoperoxidase.
TRE – Elemento responsivo a hormônio tireóideo, do inglês “Thyroid responsive element”.
TRH – Hormônio estimulador de TSH, do inglês “Thyrotropin releasing hormone”.
TSH – Hormônio estimulador da tireóide, do inglês “Thyroid stimulating hormone”.
TTF-2 - fator de transcrição tireoideo específico 2, do inglês “Thyroid transcriptional factor-2”.
TTR – transtiretina.

Função tireoideana em ratos tratados com esteróide anabolizante

Rodrigo Soares Fortunato

Orientadora: Denise Pires de Carvalho

Resumo da monografia de Mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

A utilização de esteróides anabólicos por indivíduos que desejam aumentar sua performance física ou simplesmente para fins estéticos, tem atingido índices alarmantes nas últimas três décadas. A ação desses hormônios sobre a função tireoideana ainda é um assunto controverso e pouco abordado na literatura. Com isso, o objetivo do nosso estudo foi elucidar os efeitos de doses suprafisiológicas de decanoato de nandrolona (DECA), um dos esteróides anabólicos mais utilizados, sobre a função tireoideana. Para isso, utilizamos ratos Wistar machos que foram tratados durante 8 semanas com veículo ou DECA (10 mg/Kg p.c.), via intramuscular, uma vez por semana .

Os animais que receberam o tratamento apresentaram aumento significativo do peso dos rins + adrenal e coração, e diminuição do peso dos testículos. Demonstraram também diminuição, embora não significativa, no peso da gordura retroperitoneal.

Em relação à tireóide, a administração de DECA causou aumento significativo do peso absoluto e relativo da glândula, em relação aos animais tratados com veículo. As concentrações séricas de T_3 total, T_4 livre e TSH diminuíram com o tratamento, mas não houve alteração nos níveis séricos de T_4 total. Nenhuma modificação foi encontrada na atividade da tireoperoxidase, porém, no grupo tratado a atividade da enzima desidase tipo I (D1) hepática e renal estavam aumentadas, sem alteração na atividade enzimática hipofisária ou tireoideana. Com isso, nossos dados sugerem que o DECA possui provavelmente efeitos tanto diretamente sobre a função da glândula, quanto no metabolismo periférico dos hormônios tireóideos.

Palavras-chave: decanoato de nandrolona, tireóide, tireoperoxidase, iodotironina desidase.

Thyroid function in anabolic steroids treated rats

Rodrigo Soares Fortunato

Orientadora: Denise Pires de Carvalho

Abstract da monografia de Mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

The administration of anabolic-androgenic steroids (AAS) for the improvement of athletic performance and for a greater body composition, has notably increased during the past three decades. The effects of these steroids on thyroid function remain controversial and unclear. Therefore, the aim of this study was to elucidate the thyroid effects of supraphysiological doses of nandrolone decanoate (DECA), one of the most commonly AAS used. We treated male Wistar rats with vehicle or DECA (10 mg/ Kg b.w). intramuscular weekly, during 8 weeks.

Treated animals showed a significant increase in the weight of kidneys + adrenal and heart, and a decrease in testis weight. Besides, a non significant decrease in retroperitoneal adipose tissue weight was also observed.

The administration of DECA induced a significant increase in thyroid weight, when compared with the administration of vehicle. Total serum T₃, free T₄ and TSH were decreased in treated animals, while total serum T₄ levels was unchanged. No changes were seen on thyroperoxidase activity, but, type I deiodinase in liver and kidney where significantly wheter increased, D1 activities in the pituitary and the thyroid were not affected by DECA treatment. In conclusion, our data show possible direct actions of DECA on thyroid function and in the peripheric metabolism of thyroid hormones.

Key-words: nandrolone decanoate, thyroid, thyroperoxidase, iodothyronine deiodinase.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas	vi
Resumo	vii
Abstract	viii
Sumário	ix
INTRODUÇÃO	1
1 - ESTERÓIDES ANABOLIZANTES	1
1.1) Metabolismo e mecanismo de ação dos esteróides anabólicos	2
1.2) Efeitos dos esteróides anabolizantes	3
1.3) Aplicações clínicas dos esteróides anabólicos	4
1.4) Uso indiscriminado de doses suprafisiológicas	6
1.5) Efeitos colaterais da superdosagem	6
2. A TIREÓIDE	8
2.1) Regulação dos Hormônios Tireóideos	8
2.2) Biossíntese dos Hormônios Tireóideos	9
2.3) Transporte dos Hormônios Tireóideos	10
2.4) Iodotironinas desiodases e metabolização dos hormônios tireóideos	11
2.5) Efeitos dos Esteróides Anabolizantes sobre a Função Tireóidea	13
MATERIAIS E MÉTODOS	16
RESULTADOS	23
DISCUSSÃO	29
CONCLUSÕES PARCIAIS	33
PERSPECTIVAS FUTURAS	34
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

1. ESTERÓIDES ANABOLIZANTES

A maioria dos hormônios esteróides é produzida pelo córtex da glândula supra-renal e pelas gônadas (ovário e testículo). Os esteróides anabólico-androgênicos (EAA) referem-se aos hormônios esteróides da classe dos hormônios sexuais masculinos, promotores e mantenedores das características sexuais associadas à masculinidade e do status anabólico dos tecidos somáticos, dentre eles, podemos destacar a testosterona e seus derivados (Leshner, 2000; da Silva e cols., 2002).

Os esteróides anabólicos foram descritos primeiramente por um fisiologista francês em 1889, que descreveu aumento de força e energia mental após a injeção de extrato de testículos de cachorros e porcos (apud Boyce, 2003). O isolamento, síntese e caracterização da testosterona em 1935, levaram a estudos mais profundos sobre esse hormônio e um melhor entendimento sobre seus efeitos biológicos. Foram atribuídos à testosterona efeitos (designados como androgênicos e/ou anabólicos) em tecidos alvo componentes do sistema reprodutor ou não. Os efeitos androgênicos são responsáveis pelo crescimento do trato reprodutivo masculino e desenvolvimento das características sexuais secundárias, enquanto os efeitos anabólicos se referem ao estímulo da fixação do nitrogênio causando um balanço nitrogenado positivo, pois aumentam a síntese protéica. Vários compostos derivados da testosterona têm sido elaborados para o prolongamento da atividade biológica, diminuição do potencial androgênico, e aumento do anabólico. Desde que estudos propuseram a possibilidade da dissociação entre os efeitos anabólicos e androgênicos dos esteróides sexuais masculinos, mais de 600 moléculas com estrutura derivada da testosterona foram sintetizadas, particularmente entre os anos 50 e 60, na procura de um composto com ação anabólica pura. Embora a dissociação completa dos efeitos androgênicos e anabólicos não tenha sido conseguida, alguns esteróides anabólicos mostraram um significativo aumento da atividade anabólica, com redução da androgenicidade. Devido a isso, alguns autores referem os esteróides anabolizantes como os derivados sintéticos da testosterona que

possuem atividade anabólica superior à atividade androgênica (Shahidi, 2001; da Silva e cols., 2002; Celotti e cols., 1992).

A molécula de testosterona sozinha não é eficiente quando injetada ou tomada oralmente, pois é muito susceptível a metabolização (ou inativação) relativamente rápida pelo fígado. Conseqüentemente, a estrutura química da testosterona teve que ser modificada para contornar esse problema. Mais comumente, a molécula de testosterona é alquilada na posição 17α para formar esteróides anabólicos orais (retardando o catabolismo hepático da molécula), e esterificada na posição 17β para formar esteróides anabólicos injetáveis mais lipofílicos que a testosterona; o último é suspenso em óleo para ajudar a manutenção da concentração no corpo por várias semanas. Mais recentemente, adesivos transdérmicos e sprays nasais têm sido utilizados (Shahidi, 2001; Yersalis & Bahrke, 1995; Snyder, 2001).

1.1) METABOLISMO E MECANISMO DE AÇÃO DOS ESTERÓIDES ANABÓLICOS

A testosterona possui diversos efeitos em diferentes tecidos. Um dos mecanismos pelos quais os efeitos variados são mediados é o metabolismo da testosterona em dois outros esteróides ativos, a dihidrotestosterona (DHT) e o estradiol. Alguns efeitos parecem ser mediados pela própria testosterona, alguns pela DHT e outros pelo estradiol.

A enzima 5α -redutase cataliza irreversivelmente a conversão da testosterona em DHT. Tanto a testosterona quanto a DHT agem através do mesmo receptor, o receptor de androgênio, porém o DHT tem uma maior afinidade por ele e ativa a expressão gênica mais eficientemente (Snyder, 2001).

Quando está presente no tecido o complexo enzimático aromatase, localizado predominantemente no tecido adiposo e fígado, ocorre a conversão da testosterona em estradiol. Essa conversão resulta em aproximadamente 85% do estradiol circulante em homens. Outros compostos biologicamente inativos como a androsterona e eticolanona são formados pela metabolização hepática e pela metabolização da DHT (Snyder, 2001).

A testosterona entra na célula por um processo de difusão, pois é lipofílica, porém algumas evidências sugerem a existência de transportadores e / ou receptores de membrana

para esses hormônios. Após entrar, o hormônio será convertido a DHT ou agirá diretamente, ambos através do receptor de androgênio, o qual pertence a uma super família de receptores nucleares. Tanto a testosterona quanto a DHT ligam-se ao domínio de ligação ao hormônio do receptor, permitindo a ligação do complexo a certos genes responsivos, agindo como um fator transcricional, regulando a expressão desses genes (Shahidi, 2001; Snyder, 2001; Brann e cols., 1995).

Efeitos rápidos, considerados não genômicos também foram observados para os androgênios. Yamada (1979), usando ratos machos adultos, observou que a aplicação de testosterona a neurônios individuais na região do hipotálamo anterior e núcleo septal resultou num aumento da frequência de disparos após segundos da aplicação, enquanto Kubli-Garfias et al (1982) demonstraram a supressão da atividade cerebral em gatos pelos metabólitos da testosterona, androsterona e androstenediol após 1 minuto de injeção intravenosa (apud Brann e cols., 1995).

1.2) EFEITOS DOS ESTERÓIDES ANABOLIZANTES

Os androgênios são hormônios necessários durante toda a vida em machos, da diferenciação sexual heterogamética no útero, passando pelo desenvolvimento sexual secundário durante a puberdade, e para o estabelecimento e manutenção da função sexual adulta e fertilidade. Sua ação também pode ser observada em um grande número de tecidos alvo reprodutivos e não reprodutivos, incluindo o osso, tecido adiposo, músculo esquelético, coração, cérebro, próstata, rins e fígado (Wu e cols., 1997).

Nas fibras de músculo esquelético e cardíaco, a testosterona exerce efeitos tróficos, pois a castração promove atrofia muscular e a administração de testosterona promove hipertrofia das fibras individualmente, sem mudanças no número de fibras. Em um sistema de cultura de mioblastos, a testosterona estimulou a atividade mitótica dessas células e, quando administradas a ratas antes do sétimo dia de vida, produziu um aumento significativo no número de fibras do músculo estudado, sem mudanças na área seccional transversa; porém, após o sétimo dia de vida, apenas um aumento na área seccional transversa foi observado. A atuação dos androgênios no desenvolvimento muscular é aparentemente uma ação direta do hormônio nas fibras e, não é mediada pelos núcleos

espinhais de inervação desses músculos. A ação hipertrófica desses hormônios nas fibras musculares é uma consequência do aumento da síntese protéica, pois eles aumentam a retenção de nitrogênio (Shahidi, 2001; Celotti & Cesi, 1992; Joumaa & Léoty, 2000).

Outro importante efeito dos esteróides sexuais masculinos é o estímulo da eritropoese. Administração de andrógenos a vários mamíferos aumentou a contagem de reticulócitos, e a atividade eritropoiética da medula óssea. Vários estudos em humanos demonstraram níveis de hematócrito, hemoglobina e eritrócitos maior em homens do que em mulheres, e anemia em pacientes com hipogonadismo. Além de estimular a produção dessas células, os esteróides sexuais masculinos agem também aumentam 2,3-difosfoglicerato, presente nos eritrócitos e responsável na ligação do oxigênio a hemoglobina (Shahidi, 2001).

A proliferação osteoblástica, produção de matriz óssea protéica, e síntese de fatores de crescimento e citocinas, estão associadas aos androgênios; todos esses efeitos ocorrem através de receptores para esses hormônios nos osteoblastos. Hipogonadismo não tratado em homens adultos está associado com remodelação óssea reduzida, baixos níveis séricos de 1,25-dihidroxi vitamina D, e diminuição de formação óssea, demonstrando a importância desse hormônio para a manutenção da função óssea. A ação trófica combinada dos esteróides anabólicos na massa muscular e na massa e densidade óssea, é importante, pois uma grande massa muscular necessita do suporte de uma grande e forte massa óssea para produzir força máxima (Shahidi, 2001).

1.3) APLICAÇÕES CLÍNICAS DOS ESTERÓIDES ANABÓLICOS

a) HIPOGONADISMO MASCULINO

A maior indicação para o uso de esteróides sexuais masculinos é o hipogonadismo, onde por algum motivo, existe falta ou deficiência de testosterona. Nesses casos esses hormônios são administrados no intuito de mimetizar concentrações séricas o mais próximo possível das normais (Snyder, 2001).

b) SENESCÊNCIA MASCULINA

Com o envelhecimento, os níveis de testosterona diminuem, ocasionando uma série de efeitos como diminuição da densidade mineral óssea, diminuição da massa muscular e aumento da massa gorda. A reposição desses hormônios amenizaria esses efeitos, porém, não se sabe se esse tratamento aumentaria os riscos de câncer de próstata (Snyder, 2001).

c) CONTRACEPTIVO MASCULINO

A administração de esteróides sexuais masculinos diminui a produção endógena de testosterona, tanto o nível sérico quanto nos testículos, diminuindo assim a espermatogênese (Snyder, 2001), porém a função testicular já iniciada não é bloqueada em termos de espermatogênese, então esse uso não apresentou resultados satisfatórios.

d) ESTADOS CATABÓLICOS E DE FRAQUEZA MUSCULAR

Devido a seus efeitos anabólicos, os hormônios sexuais masculinos são utilizados nessas doenças para reestabelecer ou minimizar as perdas de massa muscular, porém, esse tratamento não é efetivo na maioria desses estados, com exceção de pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida, que respondem muito bem ao tratamento (Shahidi, 2001; Snyder, 2001).

e) EDEMA ANGIONEURÓTICO

O edema angioneurótico é uma condição transmitida geneticamente, associada com a diminuição ou ausência do inibidor C1-esterase, que resulta na ativação do sistema complemento e leva a angioedema cutâneo, cólicas gastrointestinais, e sintomas respiratórios. A administração crônica dos androgênios previne esses ataques, estimulando a síntese hepática da esterase.

f) SÍNDROME DE FALÊNCIA DA MEDULA ÓSSEA

Devido a seus efeitos na estimulação da eritropoese, os esteróides sexuais masculinos são utilizados para essa manifestação clínica (Shahidi, 2001; Snyder, 2001).

1.4) USO INDISCRIMINADO DE DOSES SUPRAFISIOLÓGICAS

A utilização sem fins medicinais dos esteróides anabolizantes foi inicialmente referida em levantadores de peso e outros atletas de força nos anos 50. O objetivo desses indivíduos com o uso desses hormônios era o ganho de força e massa muscular, aliado a perda de gordura corporal (American Academy of Pediatrics, 1997). O uso dessas substâncias não só aumentou notavelmente nessas cinco décadas, como atingiu outras populações. Alta incidência de uso de esteróides anabólicos tem sido encontradas não só em atletas de competição, mas também em atletas recreacionais e mulheres que o utilizam para fins estéticos (Yersalis e cols., 1993). Aproximadamente um a três milhões de homens e mulheres utilizam os esteróides anabólicos com fins de melhora de performance, apenas nos Estados Unidos, onde 67% dos atletas de elite utilizam essas drogas. O uso por atletas recreacionais varia de 1 a 5% da população e, entre adolescentes cursando o segundo grau vai de 0,5% a 3% em meninas e 1 a 12% em meninos, com idade média inicial de 15 anos (Boyce, 2003; Bahrke e cols., 2000).

As drogas são obtidas ilegalmente de várias maneiras, incluindo amigos (59%), academias (24%), e treinadores (14%), sendo geralmente utilizada uma combinação de esteróides anabólicos orais e injetáveis durante 6 a 12 semanas (Boyce, 2003; American Academy of Pediatrics, 1997). O uso simultâneo de múltiplos esteróides é chamado de “stacking”, e a utilização de doses crescentes durante o ciclo é referida como pirâmide. Um ciclo piramidal pode conter doses 10 a 40 vezes maiores do que as utilizadas para indicações médicas (American Academy of Pediatrics, 1997; Bronson e cols., 1997).

1.5) EFEITOS COLATERAIS DA SUPERDOSAGEM

A superdosagem de esteróides anabólicos está associada a uma série de efeitos colaterais que variam de acordo com a dose e o tempo de administração da droga, sendo alguns deles irreversíveis. Bronson e cols. (1997) demonstraram em um estudo utilizando doses supra-fisiológicas de esteróides anabolizantes em ratos machos, a relação entre o uso dessas drogas e a expectativa de vida, onde após um ano do fim do tratamento, 52% dos animais que receberam altas doses de esteróides haviam morrido contra 12% dos animais controle. As principais causas de morte no grupo tratado foram tumores renais, glomerulopatia, e peliosis hepatis.

A estrutura e função hepática também são severamente alteradas pelo uso indiscriminado de esteróides anabolizantes, devido a metabolização dessas drogas ocorrer no fígado através de um sistema de enzimas chamado mono-oxidases. Durante o uso, ocorre a elevação dos níveis das enzimas hepáticas (aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase e lactato desidrogenase), porém complicações mais severas são menos usuais, podendo ocorrer icterícia colestática, peliosis hepatis (múltiplos cistos hemorrágicos distribuídos no parênquima hepático), hiperplasia hepatocelular, e adenoma hepatocelular (Shahidi, 2001; Yersalis & Bahrke, 1995; Leshner 2000; American Academy of Pediatrics, 1997; Saborido e cols., 1993).

A administração exógena, leva à inibição do hormônio luteinizante e do hormônio folículo estimulante, levando à diminuição da produção endógena de testosterona, diminuição da espermatogênese, e atrofia testicular. A ginecomastia pode resultar da conversão periférica dos androgênios em estradiol e estrona (American Academy of Pediatrics, 1997).

Essas substâncias estão associadas também a doenças cardiovasculares, incluindo ataques cardíacos em atletas com idade inferior a 30 anos. Os esteróides contribuem para o desenvolvimento dessas doenças principalmente por alterar os níveis das lipoproteínas carreadoras de colesterol no sangue. Essas drogas, principalmente as orais, aumentam os níveis de LDL e diminuem os de HDL, através da supressão da atividade da oxisboa endotelial hepática, o que aumenta o risco de arteriosclerose, uma condição onde as gorduras são depositadas nas paredes das artérias, interrompendo o fluxo sanguíneo, podendo causar doenças cardíacas isquêmicas, acidente vascular cerebral, ou embolismo pulmonar (Saborido, 1993; Woodiwiss, 2000; Boyce, 2003). O estímulo da eritropoese pelos esteróides anabólicos, causa aumento no número de plaquetas, o que resulta em maior incidência de formação de trombos. Outros efeitos colaterais cardíacos são hipertrofia cardíaca, arritmias, dentre outros (Leshner, 2000).

A utilização de doses supra-fisiológicas de esteróides anabolizantes está associada com mudanças de humor, comportamento e percepção somática. O uso dessas drogas acarreta em mudanças eletroencefalográficas similares às encontradas em usuários de anfetaminas e antidepressivos. Esquizofrenia, aumento da irritabilidade, hostilidade,

depressão, hipomania, e episódios de psicose foram relatados por usuários (Yersalis e cols., 1993; Wood, 2004; Daly e cols., 2003; Tricker e cols., 1996).

Em mulheres, os esteróides anabólicos são responsáveis por uma série de efeitos colaterais, alguns irreversíveis após descontinuidade do uso, como menstruação anormal, engrossamento da voz, acne, e aumento de pêlos corporais e tamanho do clitóris, dentre outros (Shahidi, 2001; Yersalis & Bahrke, 1995).

2. A TIREÓIDE

A tireóide é a maior glândula humana, pesando em torno de 20 g no adulto normal, sendo constituída de dois lobos ligados por uma fina camada de tecido chamado istmo. Está localizada anterior e lateralmente à traquéia, logo abaixo da cartilagem cricóide. A estrutura morfofuncional dessa glândula é o folículo, que é uma estrutura ovóide formada por uma camada de células chamadas tireócitos, circundando grande quantidade de colóide. Além dos tireócitos, também estão presentes na tireóide as células C, produtoras de calcitonina, dispostas entre os folículos e dentro deles, porém sem alcançar a parte apical do mesmo (Griffin, 2000; Larsen e cols., 1992).

2.1) REGULAÇÃO DOS HORMÔNIOS TIREÓIDEOS

Os hormônios tireóideos (HT) desempenham um papel importante na diferenciação, crescimento e metabolismo. Esses hormônios são necessários para o funcionamento normal de todos os tecidos, com efeitos mais evidentes sobre o consumo de oxigênio e a taxa metabólica (Yen, 2001).

A síntese e secreção dos HTs é rigidamente regulada por um sistema de feedback negativo entre o hipotálamo, a hipófise e a glândula tireóide. O hormônio liberador de tireotrofina (TRH) é sintetizado no núcleo paraventricular do hipotálamo e transportado por axônios para a eminência média e depois para a hipófise anterior via plexo capilar portal. O TRH liga-se a seus receptores nos tireotrofos, na hipófise, uma subpopulação de células secretoras do hormônio estimulador da tireóide (TSH). A estimulação pelo TRH, leva a síntese e liberação de TSH pelo tireotrofo. Tanto o TRH, quanto o TSH são negativamente

regulados pelos HTs. Um importante mecanismo para essa regulação negativa do TSH é a conversão de T_4 à T_3 catalizada pela enzima desidase tipo 2. Adicionalmente, a somatostatina e a dopamina secretadas pelo hipotálamo podem regular negativamente a secreção de TSH (Yen, 2001).

O TSH é o regulador primário da síntese e secreção dos HTs. Ele também desempenha um papel importante no crescimento e desenvolvimento da glândula tireóide. A ligação do TSH ao seu receptor leva a um aumento nos níveis intracelulares de AMP_C e conseqüente estimulação de vias relacionadas à proteína cinase A. Vários genes \square isboa $\square\square$ o \square , como para o co-transportador Na^+/I^- (que possibilita a entrada do iodeto junto ao íon sódio), tireoglobulina, e o da tireoperoxidase(TPO) são estimulados pelo TSH e promovem a síntese dos HTs (Yen, 2001).

2.2) BIODSÍNTESE DOS HORMÔNIOS TIREOIDEOS

Os HTs, T_4 e T_3 , são sintetizados na tireóide. O iodeto proveniente da dieta, cai na circulação após ser absorvido no trato gastrointestinal e é transportado e concentrado na glândula através do co-transportador Na^+/I^- (NIS), que transporta 2 moléculas de sódio e uma de iodeto devido a geração de um gradiente extracelular de sódio no meio extracelular pela Na^+/K^+ ATPase. Após atravessar a célula e chegar ao colóide através de um transportador apical chamado pendrina, ocorre a oxidação do iodeto pela TPO, que é uma hemoglicoproteína que se encontra na membrana plasmática apical da célula folicular, com seu domínio catalítico voltado para o colóide. A oxidação do iodeto pela TPO ocorre na presença de peróxido de hidrogênio e posteriormente há a incorporação da molécula oxidada a resíduos de tirosila presentes na molécula de tireoglobulina, reação também catalizada pela peroxidase. Como existem dois sítios para incorporação do iodo, haverá a formação de moléculas de monoiodo-tirosinas (se apenas 1 sítio for ocupado) ou diiodo-tirosinas (se os dois sítios forem ocupados). Em seguida, a peroxidase \square isboa $\square\square$ o cataliza o acoplamento entre essas moléculas formando T_4 , se o acoplamento ocorrer entre duas moléculas de DIT ou T_3 , se ocorrer entre um MIT e um DIT. As moléculas de tireoglobulina contendo MIT, DIT, T_4 e T_3 serão endocitadas e sofrerão proteólise com liberação dessas moléculas. Enquanto o MIT e o DIT sofrerão desidase no próprio

tireócito, as moléculas de T_4 e T_3 cairão na circulação através da membrana basal da célula. Em humanos, cerca de 15 vezes mais T_4 é liberado em relação ao T_3 , porém este é o hormônio metabolicamente ativo (Griffin, 2000; Yen, 2001; Taurog, 2000; Vaisman e cols, 2004).

Um dos principais estimuladores da atividade da TPO é o TSH. Esse hormônio aumenta os níveis de RNAm para essa enzima em várias preparações de células tireoideanas através de um sistema dependente de 3',5'-adenosina monofosfato cíclico (AMPC)/ proteína cinase A (PKA). A insulina também possui um efeito estimulador sobre a expressão do gene da TPO, porém, menos evidente que o do TSH. O fator de transcrição Ets específico 2 (TTF-2) desempenha o papel principal na regulação da atividade do promotor da TPO, mas o fator de transcrição Pax-8 também parece ter alguma participação. Tanto o TTF-2, quanto o Pax-8, têm sua expressão regulada negativamente pela tireoglobulina folicular, que age opostamente ao TSH (Taurog, 2000; Vaisman e cols, 2004; Ohtaki e cols, 1996; Gerard e cols, 1989). Além disso, Corrêa da Costa e cols. (2001) demonstraram que em ratos machos a expressão de RNAm para TPO era maior que em fêmeas, e que com o envelhecimento dos ratos machos, a expressão desse gene diminuía, sugerindo que os esteróides sexuais masculinos estariam envolvidos na modulação desse gene.

2.3) TRANSPORTE DOS HORMÔNIOS TIREÓIDEOS

A depuração lenta, meia-vida prolongada, e alta concentração sérica dos HTs são devidas à forte ligação desses hormônios às proteínas ligadoras de hormônios tireóideos, globulina ligadora de tiroxina (TBG), transtirretina (TTR), e albumina. Essas proteínas, mantêm concentrações estáveis de T_4 e T_3 livres para o aproveitamento celular e conseqüente resposta biológica. Apenas 0,03% do T_4 total está na forma livre e 0,3% do T_3 encontra-se desligado dessas proteínas (Yen, 2001; Schussler, 2000).

2.4) IODOTIRONINAS DESIODASES E METABOLIZAÇÃO DOS HORMÔNIOS TIREÓIDEOS

As enzimas iodotironinas desiodases são selenoproteínas que catalizam a monodesiodação das iodotironinas, regulando a disponibilidade do T₃, o hormônio tireóideo metabolicamente ativo (Curcio-Morelli e cols., 2003).

a) IODOTIRONINA DESIODASE TIPO I

Cerca de 80% do T₃ circulante provém do T₄. A enzima desiodase tipo 1 (D1) através da 5'-desiodação no anel externo da molécula de T₄ provê a maior parte de T₃ para a circulação, e através de uma desiodação no anel interno da molécula de T₄, consegue, em situações de alta desse hormônio, "isboá-lo", formando a molécula de Rt₃. Essa enzima, que é inibida pelo 6-n-propil-2-thiouracil (PTU), é uma proteína integral de membrana e é expressa em vários tecidos como fígado, rins, tireóide e hipófise, tendo localização subcelular na membrana plasmática, porém seu sítio catalítico é citosólico. Sua disposição parece facilitar a interação da enzima com as moléculas na circulação de Rt₃ e T₄ e também possibilitar a entrada do T₃ formado para o plasma. A D1 cataliza a desiodação do anel externo e interno, sendo influenciada pelo Ph. Porém, a sulfatação da iodotironina acarreta num aumento na rapidez da desiodação e preferência pelo anel interno, indicando que a sulfatação é uma modificação crítica importante do T₃ e T₄, pois facilita a inativação desses compostos (Yen, 2001; Bianco e cols., 2002).

A síntese da D1 é regulada por uma série de substâncias, agentes e condições, sendo os hormônios tireóideos os mais importantes. Os hormônios tireóideos são responsáveis por aumentar tanto a atividade, quanto a expressão de RNAm para essa enzima. Os efeitos transcricionais positivos são mediados por uma região no DNA chamada elemento responsivo a hormônio tireóideo (TRE), onde existe um sítio para ligação dos HTs (Bianco e cols., 2002; Maia e cols., 1995). Dependendo do tecido, outros hormônios são capazes de aumentar a síntese e/ou atividade da D1 como os glicocorticóides, estrogênio, testosterona, e TSH (Bianco e cols., 2002). Fatores nutricionais também são importantes na modulação da atividade dessa enzima, o jejum induz uma diminuição na expressão de RNAm para D1,

e como a D1 possui selênio em sua composição, uma deficiência desse mineral leva à diminuição de sua atividade no fígado, músculo esquelético, e coração (Bianco e cols., 2002).

b) IODOTIRONINA DESIODASE TIPO II

A iodotironina desiodase tipo 2 (D2) é uma selenodesiodase de anel externo somente, que cataliza a conversão de T_4 a T_3 , Rt_3 a $3,3'$ - T_2 e de T_3 a $3,5$ - T_2 . Presente principalmente na hipófise, cérebro e tecido adiposo marrom de ratos, e na tireóide, coração, cérebro, músculo esquelético, placenta, rins e pâncreas humano, essa enzima tem como localização subcelular as frações de retículo endoplasmático, o que está relacionado com a geração de T_3 a partir de T_4 para o meio intracelular. Esse processo tem grande importância para o mecanismo de feedback negativo hipofisário (Yen, 2001; Bianco e cols., 2002).

O gene para D2 é regulado via AMPc. A exposição ao frio aumenta a atividade e o RNAm para D2 no tecido adiposo marrom, e bloqueadores α_1 ou β -adrenérgicos bloqueiam esse efeito. Nesse mesmo tecido, catecolaminas, norepinefrina, isoproterenol, insulina, e glucagon induzem aumento de atividade dessa enzima, e o GH inibe. O nível de hormônios tireóideos controla a atividade da D2 tanto a nível pré-transcricional, quanto pós-transcricional, onde T_3 e T_4 exercem efeitos supressores sobre a atividade da D2, T_3 induzindo supressão dos níveis de RNAm para essa enzima, e T_4 diminuindo sua atividade (Bianco e cols., 2002).

c) IODOTIRONINA DESIODASE TIPO III

A enzima desiodase tipo 3 é a terceira enzima envolvida na desiodação dos HTs. Age principalmente como uma inativadora do T_4 e T_3 , fazendo a desiodação apenas do anel interno da molécula. Assim, cataliza a conversão de T_4 a Rt_3 e T_3 a $3,3'$ - T_2 , os quais são biologicamente inativos. Presente predominantemente na pele, cérebro e placenta, também pode ser encontrada em músculo esquelético, fígado e intestino de ratos neonatos (Bianco e cols., 2002).

A atividade da D3 é estimulada pelo T₃, o que é observado em pacientes com hipertireoidismo, onde a atividade da D3 no sistema nervoso central apresenta-se aumentada, fato esse condizente com a natureza inativadora dessa enzima (Bianco e cols., 2002).

2.5) EFEITOS DOS ESTERÓIDES ANABOLIZANTES SOBRE A FUNÇÃO TIREÓIDEA

Um dos efeitos colaterais provenientes do uso abusivo de esteróides anabólicos relatados na literatura é a supressão da função tireóidea. As influências dos esteróides sexuais masculinos sobre a função tireóidea têm sido bem estudadas, mostrando que essas substâncias podem agir como moduladores nesse contexto. Um dos efeitos conhecidos da testosterona é seu efeito estimulatório da síntese e secreção de TSH em ratos, aumentando também a resposta secretória de TSH em resposta a um estímulo pelo TRH (Banu e cols., 2001). Desde que existem receptores para os esteróides sexuais na tireóide, é razoável esperar efeitos diretos desses hormônios no crescimento e função da glândula. Em um estudo com ratos machos e fêmeas, Banu e cols (2001) demonstraram que os esteróides sexuais masculino e feminino possuem um papel fundamental na regulação da resposta proliferativa ao TSH, pois em animais gonadectomizados essa resposta era suprimida. Em outro estudo, estes autores demonstraram que a testosterona é um potente fator mitogênico para tireócitos em cultura, junto ao TSH ou independentemente (Banu e cols., 2002). Borges e cols. (1998) demonstraram em ratos a necessidade da presença da testosterona para manutenção dos níveis de TSH, pois nos ratos castrados foi observada uma diminuição nos níveis desse hormônio e ao fazer a reposição do esteróide sexual masculino, os níveis elevavam-se novamente.

Além da interação com o TSH, os esteróides sexuais também modulam amplamente as enzimas desidases, principalmente a D1. Fato observado pela atividade dessa enzima ser 50% maior em machos do que em fêmeas. Miyashita e cols. (1995) demonstraram que essas diferenças são independentes do status tireóideo e que a testosterona desempenha o papel principal nessa diferença, pois após a castração dos ratos machos observou uma queda tanto nos níveis de RNAm para D1 quanto na atividade da enzima, enquanto nas

fêmeas castradas não houve diferença em relação ao controle, e após administração de β -estradiol também não houve mudança. No mesmo trabalho, observou-se em cultura de hepatócitos uma resposta dose dependente para a testosterona, enquanto o β -estradiol não alterou os níveis de RNAm para D1 (Bianco e cols., 2002; Miyashita e cols., 1995).

Diferentemente dos estudos com doses fisiológicas de esteróides sexuais masculinos, poucos estudos foram feitos sobre doses suprafisiológicas desses hormônios, e os existentes não demonstram uma coerência entre si sobre os resultados encontrados. Em 1993, Deyssig & Weissel demonstraram que num pequeno grupo de 5 halterofilistas que fazia uso de esteróides anabolizantes, as concentrações de T_4 e T_3 totais e TBG estavam diminuídas em relação ao grupo controle, porém a concentração de T_4 livre e os níveis de TSH encontravam-se normais, sugerindo uma função tireóidea normal, apenas com diminuição da proteína carreadora TBG. Porém, a injeção de TRH nesses indivíduos demonstrou uma aumentada reação do TSH ao TRH, junto à resposta diminuída no T_3 total, sugerindo uma discreta falência tireoideana, sem clínica detectável (Deyssig & Weissel, 1993; Alen e cols., 1987). As ações dos esteróides anabolizantes sobre as proteínas ligadoras dos HTs, também foram mostradas por Braverman e Ingbar (1967), onde a administração de noretandrolona diminuiu a capacidade de ligação ao T_4 pela TBG e aumentou essa capacidade para a TTR, porém nessa época não era feita a dosagem sérica dessas proteínas e não ficou provado se houve uma diminuição da TBG ou da capacidade de ligação.

Alen e cols (1987) conduziram um estudo onde sete atletas de elite foram monitorados por doze semanas em relação à sua função tireóidea, enquanto consumiam quatro tipos diferentes de esteróides anabólicos. Foi observada uma diminuição no T_4 e T_3 totais e TBG, porém a captação de T_3 em resina estava aumentada, e os níveis de T_4 livre estavam normais. Os níveis de TSH sérico foram maiores durante as primeiras oito semanas, mas depois voltaram ao basal. Esses resultados levaram à conclusão de que esses indivíduos possuíam função tireóidea normal, pois a diminuição da TBG levou a valores de captação de T_3 em resina elevados, para compensação, e posterior diminuição dos níveis de TSH.

Porém, Malarkey e col (1991) estudando atletas do sexo feminino usuárias de esteróides anabólicos demonstrou todos os parâmetros em acordo com Alen, menos os

níveis de T₄ livre e TSH que estavam no limite do normal. A média das concentrações séricas de TSH foi 2,5 Mu/ L, 3 vezes maiores que no grupo controle, porém o limite para diagnóstico de hipotireoidismo são valores acima de 5 Mu/ L. Com os resultados obtidos propõe-se que essas atletas apresentam hipotireoidismo subclínico.

Outra variável envolvida nos efeitos dos esteróides anabólicos sobre a TBG é o quanto androgênica é a molécula utilizada, pois com a ação das aromatases, haverá formação de estrogênio que possui um efeito contrário ao esteróides sexuais masculinos, aumentando os níveis séricos de TBG, assim, os dois efeitos se anulariam. Isso foi comprovado em um estudo onde foi feita a comparação entre os efeitos da administração de testosterona e oxandrolona na tireóide. A molécula de testosterona por ter uma androgênicidade maior, não demonstrou efeitos nas concentrações de TBG, T₄ total, TSH ou índice de T₄ livre. Porém, a molécula de oxandrolona por sofrer pouca aromatização apresentou valores diminuídos para T₄ e captação de T₃ em resina, levando a hipotireoidismo ameno (Lovejoy e cols., 1995).

Devido à pouca quantidade de dados na literatura sobre a relação entre superdosagem de esteróides anabolizantes e função tireóidea, e somente a existência de artigos utilizando como grupo experimental humanos, os quais utilizaram doses diferentes desses hormônios entre si, além de outras drogas, o objetivo desse estudo foi avaliar o impacto da administração de doses supra-fisiológicas do esteróide androgênico-anabolizante decanoato de nandrolona sobre o eixo hipófise-tireóide. Para isso, medimos as concentrações séricas dos hormônios T₃, T₄, e TSH em animais submetidos ao tratamento proposto, determinamos a ação deste esteróide na atividade da enzima tireoperoxidase, e analisamos os efeitos de doses supra-fisiológicas desse hormônio na atividade das enzimas desidases tipo I hepática, renal, hipofisária e tireoideana.

1. TRATAMENTO DOS ANIMAIS

Foram utilizados ratos da linhagem Wistar machos com 200 g de peso corporal, mantidos em gaiolas coletivas, num máximo de oito ratos por gaiola, sob condições de temperatura (23°C) e ciclo claro/escuro (12 h) controlados. Todos os animais tiveram água e ração oferecidos *ad libitum*. O grupo de animais tratados recebeu injeções intramusculares (glúteo médio) uma vez por semana de decanoato de nandrolona (DECA-Durabolin, Organon) na dose de 1 mg/ 100 g p.c. durante 8 semanas (60 vezes a dose terapêutica). Enquanto no grupo controle foi administrado veículo (óleo de amendoim com 10% de álcool benzílico) seguindo os mesmos parâmetros do grupo tratado.

2. CONTROLE DO PESO CORPORAL

Durante os dois meses de experimento pesamos os animais, semanalmente, utilizando uma balança digital com variação de duas casas decimais (precisão de centigramas) da marca *Precision*.

3. SACRIFÍCIO DOS ANIMAIS

Ao final do tratamento, os animais foram sacrificados através de decapitação para obtenção do sangue e dos tecidos desejados.

3.1 Coleta de sangue e excisão dos tecidos

O sangue foi coletado para, a partir de amostras do soro, realizarmos as dosagens das concentrações séricas de TSH, T₃ e T₄ através do método de radioimunoensaio (RIE) específico. O soro foi obtido através da centrifugação do sangue em tubos individuais a 3000 rpm por 15 min a 4°C (centrífuga refrigerada Spin VI Incibrás), com retirada do sobrenadante e posterior estoque no freezer -20°C em tubos eppendorf até o momento da dosagem.

Após a coleta do sangue, foi feita a excisão dos tecidos que seriam utilizados para dosagem posterior da atividade das enzimas tireoperoxidase e desidase tipo 1 (D1). Foram retirados o fígado, rins, hipófise, tireóide e coração. Após a retirada, os tecidos foram colocados em tubos com tampa de rosca e armazenados no nitrogênio líquido até o dia da dosagem, com exceção da tireóide, a qual foi pesada e estocada no freezer -20°C. Subseqüente a excisão dos tecidos, retiramos o tecido adiposo presente na cavidade retroperitoneal do animal, e fizemos a pesagem do mesmo.

4. DOSAGEM DA ATIVIDADE DA TIREOPEROXIDASE PELO MÉTODO DE OXIDAÇÃO DO IODETO.

Processamento da glândula tireóide

Para o isolamento da enzima tireoperoxidase (TPO) foi feito o processamento da glândula tireóide. Cada glândula foi homogeneizada em 500µL de tampão Tris-HCl-KI 50 mM, pH 7,2, no homogeneizador Ultra-turrax T25 (Ika-Labor Technik). Após essa etapa, o homogeneizado foi centrifugado por 35 minutos a 46.000 rpm, 4°C (ultracentrífuga L8-80M Beckman – rotor 70 ti). Ao final da centrifugação, o sobrenadante foi descartado e o precipitado foi ressuspensionado em 500µL digitonina 1% (w,v – Calbiochem), vortexado e homogeneizado com bastão de vidro até dissolver todo o tecido. Após 24 a 48 horas a 4°C, foi feita a segunda centrifugação a 46.000 rpm, 4°C por 35 minutos; ao final desta etapa, a

TPO pseudo-solubilizada encontrava-se no sobrenadante, o qual foi transferido para um tubo eppendorf e congelado no freezer -20°C até o dia do ensaio.

Dosagem da atividade enzimática

A atividade da enzima tireoperoxidase foi medida através da geração de tri-iodeto *in vitro*. Adicionamos a uma cubeta de 3 mL diferentes volumes de TPO (10 a 150µL), 11 mM de glicose, 24 mM de KI e o volume final foi ajustado para 2 mL com tampão fosfato de sódio 50mM, pH 7,4. Ao adicionarmos 10µL da enzima glicose oxidase (0,1%), a reação era iniciada, pois forma-se peróxido de hidrogênio a partir da glicose pela ação da glicose oxidase, o qual é necessário para o funcionamento da TPO, que gerará tri-iodeto utilizando o KI como fonte de iodo. A absorbância da amostra, que é proporcional a geração de tri-iodeto, foi medida utilizando-se um espectrofotômetro (Hitachi – U3000) no comprimento de onda de 353 nm. O cálculo da atividade enzimática foi feito a partir da variação da absorbância por minuto, em função do volume de amostra utilizado, através do cálculo da inclinação da reta de regressão demonstrada no gráfico 1. A atividade específica foi obtida dividindo-se a atividade de oxidação do iodeto ($\Delta \text{Abs}_{353 \text{ nm}} / \text{min}$) de 1 mL de TPO pela concentração de proteína (mg/mL) de cada amostra, dosada pelo método de Bradford (1976).

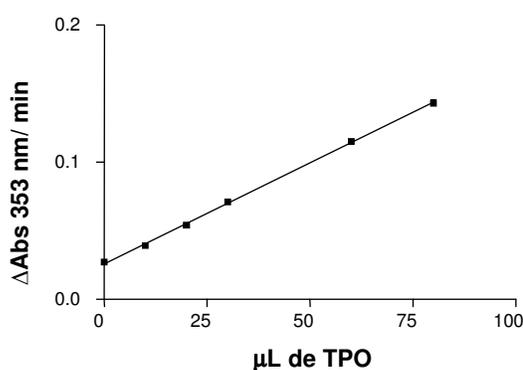


Gráfico 1. Medida da atividade da TPO pelo método de oxidação do iodeto. A atividade da TPO foi avaliada através da equação da reta de regressão linear feita a partir dos pontos obtidos como exemplificado acima: $y = a + bx$, onde b é o coeficiente de inclinação da reta e corresponde ao $\Delta \text{abs}_{353\text{nm}} / \text{min} / \mu\text{L}$ de TPO.

5. RADIOIMUNOENSAIO

TSH

As medidas de TSH foram realizadas por RIE específico, através de um kit fornecido pelo *National Institute of Diabetes, Digestive and Kidney Diseases* (NIDDK – Bethesda, EUA), expressos em termos da preparação de referência 2 (RP – 2). Este Kit é composto por TSH murino purificado para preparação dos padrões utilizados para a construção da curva-padrão (0,625 a 25 ng/ml), TSH murino purificado para ser iodado e anticorpo de coelho anti-TSH murino (1º anticorpo).

A iodação da molécula do TSH com ^{125}I foi feita em nosso laboratório, pelo método da cloramina T e a molécula marcada foi purificada em uma coluna (Biogel – P60 fino da Bio-rad, EUA). O RIE foi realizado pelo método do 2º anticorpo, com adição de 6% de polietilenoglicol (Ortiga, 1992). Os resultados foram expressos em ng/mL.

T₃ total, T₄ total e T₄ livre

As concentrações séricas de T₃ e T₄ foram determinadas através de Kit comercial para RIE de T₃ (DLS – 3100 Active[®], TX, EUA) e T₄ (DLS – 3200, Active[®], TX EUA) totais e T₄ livre (DLS – 40100 Active[®], TX, EUA), contendo anticorpos específicos aderidos à parede dos tubos de polipropileno e com T₃ e T₄ ligados ao radiotraçador (^{125}I) com atividade específica de 5 µCi (185 KBq). As curvas-padrão foram realizadas com T₃ e T₄ diluídos em soro de rato livre de iodotironinas (soro zero) nas concentrações de (25 a 1000 ng/dl) e (1 a 50 µg/dl), respectivamente. Todo o procedimento foi realizado seguindo-se as recomendações do fornecedor.

6. ATIVIDADE DAS DESIODASES TIPO I

Para se estudar a atividade da enzima D1 utilizamos as técnicas desenvolvidas por Henry e colaboradores (1992) que foram padronizadas no decorrer desta tese em nosso laboratório. Para tanto seguimos as etapas descritas abaixo:

Processamento dos tecidos

As amostras de fígado, e rim, foram pesadas e homogeneizadas em tampão sucrose-DTT (0,25 M de sucrose e 10 mM de DTT) (25 mg de tecido em 1mL). Para as amostras de hipófise, duas glândulas foram processadas nesse mesmo volume de tampão, e para amostras de tireóide, apenas uma glândula foi utilizada. Os tecidos foram homogeneizados no homogeneizador Ultra-turrax T25 (Ika-Labortechnik) até suficiente dissociação tecidual, e após essa etapa foram colocados em tubos eppendorf e congelados no freezer -80°C até o dia do ensaio. Alíquotas de 20µL dos homogenatos foram guardadas separadamente, no freezer -20°C para dosagem de proteínas.

Purificação do rT₃-I¹²⁵

Devido à ocorrência de desiodação das iodotironinas marcadas mesmo sem a presença da enzima, antes do experimento para dosagem da atividade da D1 foi necessário purificar o nosso traçador radioativo para termos a certeza de que todo iodo radioativo presente após a reação enzimática advinha da ação da enzima. Para isso, utilizamos uma coluna de Sephadex L20 (Amersham Biosciences) (4 mL de H₂O/ g de gel seco) através da qual filtramos uma alíquota de 70µL do 3,3',5'-Triiodotironina reversa marcada (Perkinelmer Life and Analytical Sciences) diluída em 12mL de H₂O destilada. Desprezando-se o eluato, pois o rT₃ radioativo que era o composto de interesse, fica retido na trama da coluna. Após essa etapa, a coluna foi lavada com 6mL de H₂O destilada, e após escorrer todo o líquido, foram adicionados 500µL de etanol 70% por nove vezes. O eluato de etanol 70% com a iodotironina foi colhido em nove tubos de vidro, de onde 5µL foram retirados para contagem da radioatividade no contador gama automático(Wizard 1470), com o intuito de determinar a quantidade de rT₃ radioativo presente em cada tubo. Os três tubos com mais de 5.000 cpm foram guardados na geladeira ao abrigo da luz para o ensaio.

Ensaio de atividade da D1

Para a dosagem da atividade da D1, foram adicionados a tubos eppendorf novos nessa ordem: tampão PE (100mM fosfato de sódio, 1mM EDTA, Ph 6,9) em volume calculado para um volume total de reação de 300µL, 30µL de ditionitroto (DTT)(USB) 10 mM(que é um cofator da enzima), 30µL de rT₃ frio 10µM, e por último foi adicionado o homogenato do tecido num volume que foi calculado para obtermos uma quantidade de proteína de 30µg para fígado, rim, e tireóide, e 150µg para hipófise. As dosagens da concentração de proteína dos homogenatos, pelo método de Bradford (1976), foram feitas após incubação da amostra por 30 minutos com NaOH 1:1. Após adição dessas substâncias, a reação foi iniciada com a colocação de 50µL do rT₃-I¹²⁵ em todos os tubos, e posterior incubação por uma hora a 37°C. Decorrido o tempo de incubação, os tubos foram colocados no gelo para parar a reação, e foi então adicionado 200µL de soro fetal bovino (Cultilab, BR) e 100µL de ácido tri-cloro acético(TCA) 50% para a precipitação das proteínas. Em seguida os tubos foram agitados vigorosamente no vortex por 2 minutos e então centrifugados a 10.000 rpm por 3 minutos. Após a centrifugação transferimos 360µL do sobrenadante de cada tubo para tubos de polipropileno e medimos a emissão de partículas γ no aparelho Wizard. A atividade da enzima foi expressa em pmoles de rT₃/ min/ mg de proteína.

7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os experimentos foram realizados pelo menos 4 vezes, sendo todos os dados expressos como média \pm erro padrão da média.

A análise estatística empregada na comparação dos resultados apresentados pelos grupos experimentais foi realizada com a utilização do programa de computador de estatística Graphpad Prism (versão 4, Graphpad Software, inc., San Diego, USA).

O peso corporal, percentual de gordura retroperitoneal, concentrações séricas de T₃ e T₄ total e livre, e a atividade da enzima D1 dos dois grupos experimentais foram

analisados através de teste t paramétrico, não pareado, sendo que os dados sobre a concentração sérica de TSH e da atividade da TPO foram analisados pelo teste não-paramétrico Mann-Whitney. As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

PESO CORPORAL E DOS TECIDOS

Os valores do peso corporal e gordura retroperitoneal dos animais encontram-se na tabela 1. Não foram encontradas diferenças significativas entre o grupo tratado e controle, em relação ao peso corporal final, porcentagem de ganho de peso, e peso da gordura retroperitoneal absoluto. Porém, ao dividirmos o valor absoluto da gordura retroperitoneal pelo peso corporal, encontramos uma tendência à diminuição desses valores no grupo tratado, quando comparado ao controle.

Tabela 1. Efeito da administração de decanoato de nandrolona (DECA) sobre o peso corporal e gordura retroperitoneal de ratos.

Grupos	Peso Corporal (g)		%	Gordura Retroperitoneal	
	Inicial	Final	ganho de peso	Absoluta (g)	Relativa (g/Kg p.c.)
Controle	234 ± 4,5	315 ± 7,1	35 ± 2,7	4,33±0,45	1,39 ± 0,11
	(n=19)	(n=19)	(n=19)	(n=17)	(n=17)
Tratado	229 ± 3,5	322 ± 4,6	40 ± 2,5	3,70±0,23	1,16 ± 0,07
	(n=18)	(n=18)	(n=18)	(n=15)	(n=15)

Os valores são médias ± EPM; n = número de ratos.

A tabela 2 mostra o peso dos tecidos dos animais controle e submetidos ao tratamento, normalizados pelo peso corporal dos mesmos (em mg/100g p.c.). Nos animais que receberam doses supra-fisiológicas de DECA houve diminuição do peso relativo dos testículos quando comparados aos animais controle, além disso, os animais tratados com esse esteróide anabólico apresentaram aumento do peso relativo do coração, e dos rins + supra-renais, quando comparados aos animais controle. O peso relativo do fígado e dos pulmões não modificou significativamente entre o grupo tratado e o grupo controle.

Tabela 2. Efeito da administração de DECA sobre o peso relativo dos tecidos corporais de ratos.

	Testículos	Fígado	Rins+Adrenal	Pulmões	Coração
Controle	0,98 ± 0,02 (n=12)	3,37 ± 0,07 (n=13)	0,66 ± 0,01 (n=12)	0,57 ± 0,03 (n=13)	0,65 ± 0,02 (n=13)
Tratado	0,88 ± 0,03* (n=13)	3,32 ± 0,09 (n=14)	0,76 ± 0,02* (n=14)	0,58 ± 0,02 (n=13)	0,75 ± 0,01* (n=13)

Os valores são médias ± EPM; n = número de ratos; peso relativo expresso como peso do tecido (mg)/ 100 g p.c. *p<0,05.

Os pesos absolutos e relativos das tireóides dos animais estudados estão dispostos na tabela 3. Os animais que receberam o tratamento com decanoato de nandrolona tiveram um aumento significativo nos pesos absolutos de suas glândulas tireóides quando comparados aos animais que receberam apenas veículo. Quando foi dividido o peso das glândulas pelo peso corporal dos respectivos animais para obtenção do peso tireóideo relativo, observamos também uma diferença significativa entre o grupo tratado e o grupo controle, estando aumentado no grupo que recebeu a droga.

Tabela 3. Efeito da administração de DECA sobre o peso da glândula tireóide.

	Absoluto (mg)	Relativo (mg/ Kg p.c.)
Controle (n = 17)	15,35 ± 0,47	4,98 ± 0,17
Tratado (n = 16)	17,88 ± 0,78 *	5,59 ± 0,19 *

Os valores são médias ± EPM; n = número de ratos; peso relativo expresso como peso da glândula/ Kg peso corporal. * p<0,05.

1. CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE T₃ e T₄ totais, T₄ LIVRE E TSH

Para determinar se a administração de doses suprafisiológicas de esteróides anabolizantes tinha influência sobre o eixo tireóide-hipófise, foram dosadas as concentrações séricas dos hormônios produzidos pela glândula tireóide, T₃ e T₄, e do hormônio tireoestimulante (TSH), produzido e secretado pela adeno-hipófise e responsável por estimular a função tireoideana.

O tratamento com decanoato de nandrolona causou uma diminuição significativa nos níveis séricos do hormônio 3,5,3'-triodotironina ($48,25 \text{ ng/ dL} \pm 2,78$, N=24) em relação as concentrações desse hormônio nos animais controle ($62,33 \text{ ng/ dL} \pm 3,44$, N=16) (figura 1).

As concentrações séricas de tiroxina, representadas na figura 2, não apresentaram diferenças significativas quando comparamos o grupo tratado ($2,74 \text{ } \mu\text{g/ dL} \pm 0,14$, N=29) com o grupo controle ($3,00 \text{ } \mu\text{g/ dL} \pm 0,15$, N=25). Já as concentrações séricas de T₄ livre (figura 3) foram significativamente diminuídas no grupo tratado ($8,90 \text{ pg/ mL} \pm 0,79$, N=22), quando comparado ao grupo controle ($12,22 \text{ pg/ mL} \pm 0,45$ N=20)

Em relação ao TSH, houve uma diminuição significativa no grupo de animais que foi submetido ao tratamento ($1,09 \text{ ng/ mL} \pm 0,16$, N=26) quando comparado ao grupo que não recebeu a DECA ($1,30 \text{ ng/ mL} \pm 0,14$, N=23), esses dados podem ser observados na figura 4.

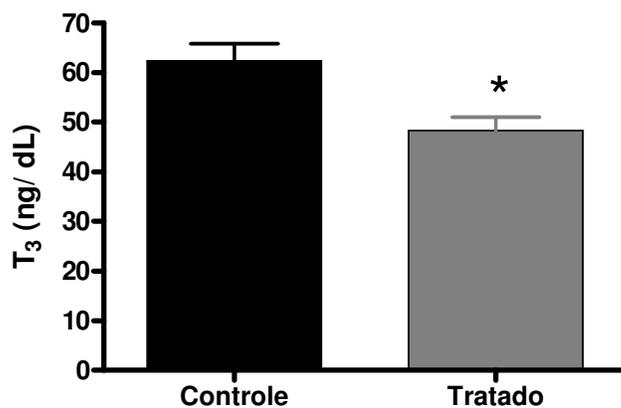


Figura 1. Efeitos da administração de decanoato de nandrolona sobre as concentrações séricas de T₃ total. Os valores são a média \pm EPM.

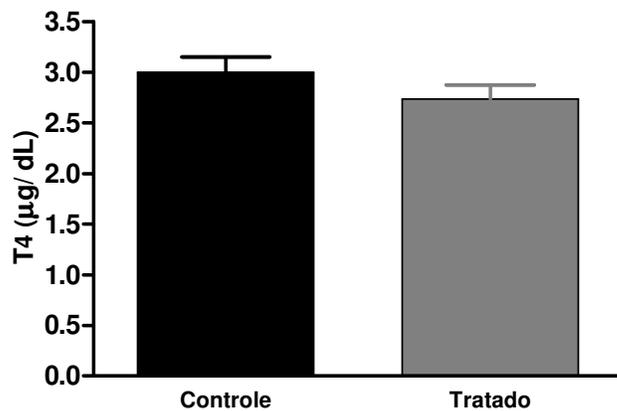


Figura 2. Efeitos da administração de decanoato de nandrolona sobre as concentrações séricas de T₄. Os valores são a média ± EPM.

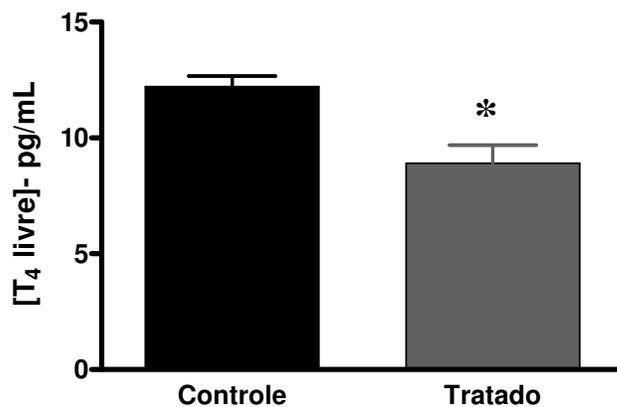


Figura 3. Efeitos da administração de decanoato de nandrolona sobre as concentrações séricas de T₄ livre. Os valores são a média ± EPM.

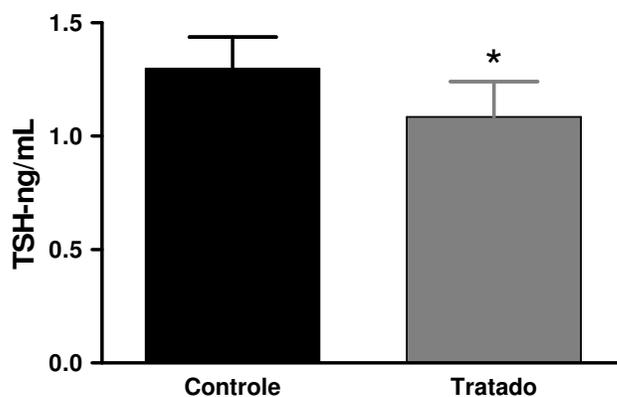


Figura 4. Efeitos da administração de DECA sobre as concentrações séricas de TSH. Os valores são a média ± EPM.

2. ATIVIDADE DA ENZIMA TIREOPEROXIDASE

Após analisarmos as concentrações séricas dos hormônios relacionados à tireóide, medimos a atividade da enzima tireoperoxidase, responsável pelas etapas de formação dos hormônios tireóideos. Os dados da atividade dessa enzima nos grupos estudados estão demonstrados na figura 5, onde se observa que o tratamento com o esteróide anabolizante decanoato de nandrolona em altas concentrações não modificou a atividade dessa enzima, pois não houve diferença significativa entre o grupo tratado (2,43 U/ mg ptn \pm 0,34, n=11) e o grupo controle (2,21 U/ mg ptn \pm 0,28, n=11).

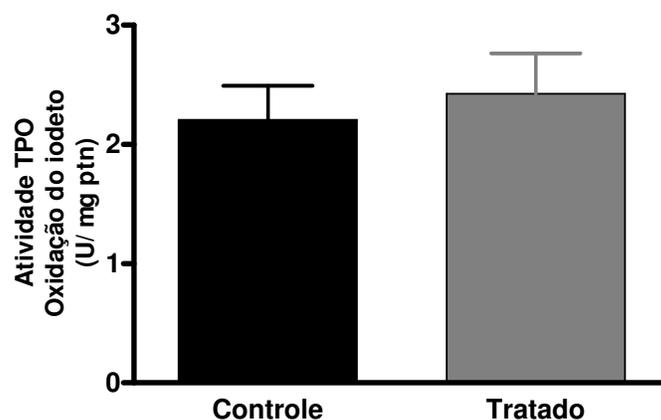


Figura 5. Efeito da administração de decanoato de nandrolona sobre a atividade da enzima tireoperoxidase. Os valores são a média \pm EPM.

3. ATIVIDADE DA ENZIMA DESIODASE TIPO I

Como grande parte do T_4 é desiodado, na tireóide e periféricamente, gerando T_3 para a circulação, a medida da atividade das iodotironinas desiodases é de grande valia no entendimento do metabolismo dos hormônios tireóideos.

O tratamento com decanoato de nandrolona em doses suprafisiológicas influenciou a atividade da enzima D1 hepática, como mostrado no gráfico 5^a. Ao compararmos a atividade dessa enzima do grupo controle (117,5 pmoles rT3/min.mg proteína \pm 5,32, n=18) com a do grupo tratado (145,8 pmoles rT3/min.mg proteína \pm 10,50, N=23), verificamos que o DECA aumenta significativamente a atividade enzimática no fígado. Do

mesmo modo, a atividade da enzima D1 renal, mostrada no gráfico 5B, apresentou-se maior no grupo tratado com DECA (126,7 pmoles rT3/ min.mg proteína \pm 7,64, n=13) quando comparado ao grupo que apenas recebeu o veículo (91,83 pmoles rT3/ min.mg proteína \pm 6,62, n=13). O gráfico 5C expressa a atividade da enzima D1 tireoideana, onde o esteróide anabólico decanoato de nandrolona pareceu não exercer efeitos modulatórios, já que ao compararmos os resultados do grupo controle (136,2 pmoles rT3/ min.mg proteína \pm 14,0, n=11) aos do grupo tratado (157,0 pmoles rT3/ min.mg proteína \pm 5,38, N=13), não obtivemos diferenças significativas entre os grupos. Na hipófise, a atividade da mesma enzima foi dosada, mostrando que, como na tireóide, não havia diferença significativa entre o grupo controle (5,27 pmoles rT3/ min.mg proteína \pm 2,21, n=6) e o grupo tratado (4,36 pmoles rT3/ min.mg proteína \pm 1,89 n=7), gráfico 5D.

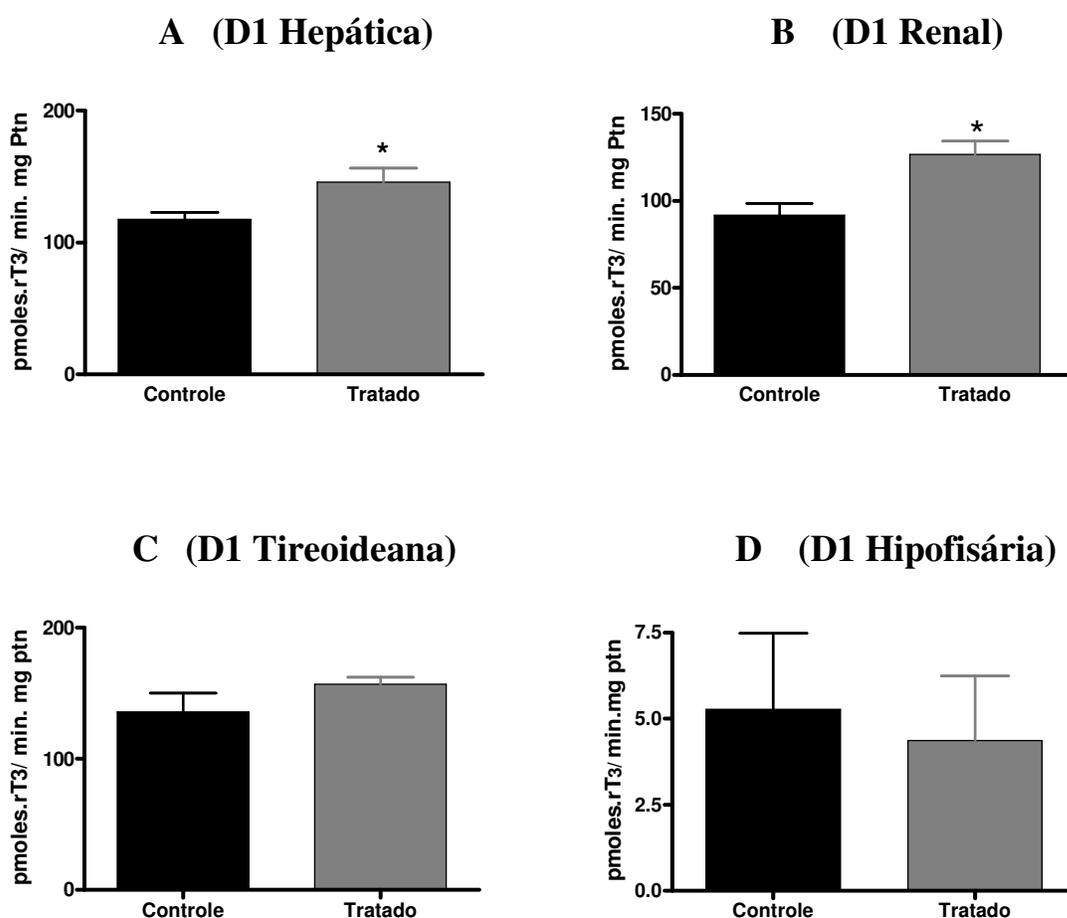


Figura 5. Efeito da administração de decanoato de nandrolona sobre a atividade da enzima D1 hepática, renal, tireoideana e hipofisária. Os valores são média \pm EPM. * $p < 0,05$.

A utilização indiscriminada de EAA tornou-se, em todo mundo, uma preocupação sócio-governamental, dentro e fora do cenário esportivo (da Silva e cols., 2002). Aproximadamente um a três milhões de homens e mulheres de várias faixas etárias e condição sócio-econômica diversas utilizam os esteróides anabólicos nos Estados Unidos, com o objetivo de melhorar a performance esportiva, ou simplesmente para fins estéticos (Boyce, 2003). Desprezando os efeitos colaterais causados pela superdosagem dessas substâncias, esses indivíduos estão sujeitos a desenvolver diversas doenças, dentre elas, alteração do perfil lipídico sérico, trombose, miocardiopatias, acidentes vasculares cerebrais, atrofia testicular, cânceres de vários tecidos, dentre outras (Wu, 1997; Boyce, 2003; Shahidi, 2001). Os efeitos de altas dosagens de EAA sobre a função tireóidea ainda é um assunto controverso e pouco abordado na literatura, pois a maioria dos estudos utiliza humanos como grupo experimental, os quais muitas vezes usam, além dos esteróides sexuais masculinos outras substâncias como o hormônio do crescimento (GH), insulina, β_2 -agonistas, anfetaminas, dentre outras, e também possuem um histórico diferente de utilização dos EAA entre si (Boyce, 2003). Assim, com esse trabalho procuramos elucidar essa vertente pouco estudada dos efeitos da superdosagem de EAA sobre a glândula tireóide, e nossos resultados demonstraram mudanças tanto na função da glândula, quanto na metabolização periférica dos HTs.

O peso corporal final e o ganho de peso dos animais tratados não apresentaram diferença estatisticamente significativa quando comparado ao grupo controle. Este achado está de acordo com o resultado encontrado por Woodiwiss e cols. (2000) e Saborido e cols. (1993) e discorda de Joumaa & Léoty (2001) e Takahashi e cols. (2004), que observaram uma diminuição do peso corporal com o tratamento com EAA. Essa discordância entre nossos resultados e os encontrados na literatura provavelmente provêm de diferenças nas idades dos animais e nos protocolos de tratamento utilizados.

Em relação ao peso absoluto e relativo da gordura retroperitoneal, encontramos uma tendência à diminuição no grupo em que foi administrado DECA, em relação ao grupo controle, reforçando achados prévios na literatura que descrevem ação lipolítica dos EAA.

Mauras e cols. (1998) demonstraram um aumento da massa de tecido adiposo em homens saudáveis, com deficiência de androgênios induzida por GnRH, , Bhasin e cols. (2001) num estudo com homens jovens mostraram que a resposta lipolítica à testosterona era dose-dependente.

O tratamento com DECA foi responsável pela mudança do peso relativo de diversos órgãos. A significativa diminuição do peso relativo dos testículos encontrado em nosso estudo sugere uma provável atrofia deste órgão, o que poderia ser conseqüência da inibição do eixo hipotálamo-hipófise-testicular pela DECA, com conseqüente inibição do hormônio liberador de gonadotrofina no hipotálamo e dos hormônios luteinizante (LH) e folículo estimulante (FSH) na hipófise. Como as gonadotrofinas são responsáveis por estimular a função testicular, a queda dos níveis desses hormônios explicaria o resultado encontrado (American Academy of Pediatrics, 1997; Shahidi, 2001; Daly e cols., 2003). O aumento do peso relativo dos rins + adrenal no grupo tratado está de acordo com os dados encontrados por Takahashi e cols. (2004), que demonstraram também hemorragia parcial do túbulo distal. Uma explicação para a hipertrofia desse órgão é uma ação direta do esteróide utilizado sobre o órgão (Shahidi, 2001). O aumento encontrado no peso relativo do coração é um dado amplamente encontrado na literatura, podendo ser devido à hipertrofia cardíaca decorrente do aumento de massa muscular gerada pelos EAA (Takahashi e cols., 2004; Woodiwiss e cols., 2000). Na tireóide, o aumento do peso absoluto e relativo nos animais que receberam DECA deve estar associado à estimulação de função por esse esteróides, pois Banu e cols. (2001) demonstraram num estudo em cultura de células que a testosterona age de maneira bifásica sobre a proliferação dos tireócitos, tendo ação proliferativa até certo ponto e após o ponto de saturação houve diminuição até chegar à proliferação basal com altas concentrações de testosterona.

Os animais que receberam o tratamento com doses suprafisiológicas de DECA apresentaram diminuição significativa das concentrações séricas de T₃ total, T₄ livre e TSH, sem alteração de T₄ total. Uma conhecida ação dos esteróides gonadais masculinos em humanos é a supressão da TBG, principal proteína ligadora dos HTs, fazendo com que ocorra diminuição dos níveis séricos de T₃ e T₄ totais, sem alteração das formas livres desses hormônios (Daly e cols., 2003; Deyssig e cols., 1993; Alen e cols., 1987). Como em nosso estudo as doses administradas de DECA foram muito maiores, as ações sobre a TBG

podem ter sido diferentes. Assim, as diminuições nos níveis séricos de T_3 total e T_4 livre no grupo de animais tratados sugerem uma diminuição da função tireóidea, possivelmente devido aos níveis diminuídos de TSH nesse grupo, pois esse hormônio é o principal estimulador da função tireóidea. Outro importante evento que pode ter contribuído para diminuição das concentrações de T_3 total no grupo tratado é a modificação do padrão de metabolização periférica do T_4 . Como o fígado é um importante órgão-alvo dos EAA, essas substâncias poderiam estar modulando positivamente a atividade de enzimas responsáveis pela sulfatação do T_4 , as sulfotransferases, o que faz com que haja diminuição da desidiação no anel externo da molécula de T_4 e aumento a do anel interno, desviando a formação de T_3 para Rt_3 (Maglich e cols., 2004). Em relação às concentrações séricas de TSH, nossos achados estão de acordo com Alen e cols. (1987) que evidenciaram, em atletas, uma diminuição dos níveis séricos desse hormônio após tratamento com EAA, porém os achados sobre a ação dos esteróides sexuais masculinos sobre as concentrações séricas de TSH são bastante controversos. Forbota e cols. (1987) e Corrêa da Costa e cols. (2001) demonstraram uma diferença relacionada ao sexo, onde os animais do sexo masculino possuíam concentrações séricas de TSH mais altas que as fêmeas, e num estudo de Banu e cols. (2001), a gonadectomia dos animais machos resultou numa supressão dos níveis de TSH e do receptor tireoideano para esse hormônio, que foram restaurados com a reposição de testosterona. Daly e cols. (2003) encontraram um aumento do TSH sérico em indivíduos tratados em curto prazo com EAA, enquanto Deyssig e cols. (1993) utilizando-se de levantadores de peso que tinham histórico de utilização de EAA, não encontraram nenhuma diferença significativa nos níveis de TSH desses indivíduos quando comparados ao grupo que nunca tinha utilizado esse tipo de droga, porém, após observou concentrações diminuídas de TSH e T_4 livre séricos nesses indivíduos após injeção de TRH. Como o T_3 regula a síntese e secreção do TSH na hipófise, e esse hormônio vem da desidiação do T_4 pela enzima desidase tipo II, é possível que a atividade da D2 esteja sendo regulada positivamente pelo DECA, aumentando a quantidade de T_3 intracelular hipofisário e inibindo a síntese e secreção de TSH, mesmo com T_4 sérico normal.

Neste estudo, a enzima tireoperoxidase não demonstrou ter sua atividade modulada pelo esteróide anabólico utilizado, porém Corrêa da Costa e cols. (2001) observaram uma maior expressão do gene da TPO em ratos machos jovens que em fêmeas, e também uma

diminuição da expressão desse gene com o envelhecimento, concluindo assim que os esteróides gonadais masculinos poderiam estar modulando a expressão desse gene. Além disso, Lima (2000) demonstrou num estudo com ratos, maior atividade da enzima TPO em machos quando comparados a fêmeas. Como em nosso estudo encontramos diminuição do TSH sérico nos animais tratados, e esse hormônio é o principal modulador da expressão e atividade dessa enzima, as altas doses administradas de DECA poderiam estar aumentando a atividade da TPO, porém, com menor estímulo do TSH houve um equilíbrio, deixando a atividade sem alterações significativas.

A enzima D1, responsável pela desiodação do T_4 (nos anéis externo e interno), parece ser fortemente modulada pelo DECA. O tratamento com essa droga resultou num aumento das atividades da D1 hepática e renal, sem alteração da enzima tireoideana e hipofisária. Os resultados encontrados estão de acordo com Miyashita e cols. (1995) e \square isboa e cols. (2001) que demonstraram aumento de RNAm e atividade da D1 hepática em ratos machos quando comparados a fêmeas e uma diminuição nesses níveis com a castração, os quais retornavam ao basal com reposição de testosterona, além de demonstrarem um efeito estimulatório dose dependente desse esteróide gonadal em cultura de células hepáticas. A atividade da D1 é modulada positivamente pelos hormônios tireóideos, como em nosso estudo houve uma diminuição das concentrações séricas de T_3 total com o tratamento, sem alteração do T_4 , provavelmente, o aumento da atividade dessa enzima hepática e renal foi devido a uma ação direta do esteróide anabolizante utilizado.

CONCLUSÕES PARCIAIS

Os resultados encontrados nesse estudo sugerem uma provável ação direta do DECA sobre o crescimento glandular tireóideo e a atividade das enzimas desidases hepática, renal, e tireoideana. As diminuições das concentrações séricas de T_3 total e T_4 livre no grupo tratado, provavelmente estão relacionadas com a diminuição da função tireoideana, que parece ocorrer devido à diminuição sérica do TSH (que é o principal estimulador da função glandular), e em relação ao T_3 à mudança da via de metabolização periférica do T_4 . A diminuição do TSH parece ter ocorrido devido a ação central direta do DECA, podendo ter sido ocasionada por um aumento da atividade da enzima D2, responsável pelo feedback negativo, ou mesmo por uma diminuição da sensibilidade do tireotrofo hipofisário ao TRH, que já foi demonstrado na literatura por Deyssig e cols (1993).

PERSPECTIVAS FUTURAS

1) Prosseguiremos nosso estudo com a inclusão de um grupo de ratos submetidos a exercício físico tratados com DECA e outros apenas submetidos a exercício, já que os usuários de esteróides anabolizantes são praticantes desse tipo de atividade, e para elucidar as influências desse tipo de estresse físico sobre a função tireóidea, já que os estudos sobre esse tema são bastante controversos.

2) Analisaremos a influência do tratamento com DECA sobre a tireóide em períodos de tempo menores do que 8 semanas, no intuito de verificar se os efeitos na função tireóidea também ocorrem a curto prazo.

3) Dosaremos as concentrações séricas de rT3 dos animais estudados para concluir se a diminuição no T3 sérico nos animais tratados foi devido a aumento na conversão de T4 a rT3.

4) Dosaremos os níveis séricos dos hormônios tireóideos e do TSH, após administração de TRH

5) Analisaremos a captação de iodeto pelo tireócito nos grupos de animais estudados, através do método de captação de iodo radioativo, com o objetivo de verificar se o tratamento com DECA estaria agindo no simpoter Na^+ / I^- , modificando o padrão de captação do iodeto.

6) Para melhor entender os efeitos desses esteróides sobre o feedback do eixo hipófise-tireóide, vamos medir a atividade hipofisária da enzima D2, já que esta é responsável pela conversão intracelular de T4 a T3, o qual se liga ao receptor para inibir a síntese de TSH. Mediremos também, a atividade dessa enzima no tecido adiposo marrom de ratos submetidos ao protocolo de tratamento, pois esse tecido é um importante sítio de produção de T₃ para a circulação, em roedores.

7) Avaliaremos pelo método de PCR, a expressão dos receptores para HTs ao tratamento proposto, no tecidos hipofisário, hepático, muscular esquelético e cardíaco e adiposo marrom.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alen M, Rahkila P, Reinila M, Vihko R: Androgenic-anabolic steroids effects on serum thyroid, pituitary and steroid hormones in athletes. *Am J Sports Med*, 15(4): 357-61, 1987.

American Academy of Pediatrics: Adolescents and anabolic steroids: a subject review. *Pediatrics*, 99(6): 904-908, 1997.

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

Banu SK, Govindarajulu P, Aruldas MM: Testosterone and estradiol differentially regulate TSH- induced thyrocyte proliferation in immature and adult rats. *Steroids*, 67: 573-579, 2002.

Banu S.K., Arosh J.A., Govindarajulu P., Aruldas M.M.. Testosterone and estradiol differentially regulate thyroid growth in wistar rats from immature to adult age. *Endocrine research*, 27(4): 447-463, 2001.

Baqui MMA, Gereben B, Harney JW, Larsen PR, Bianco AC: Distinct subcellular localization of transiently expressed types 1 and 2 iodothyronines deiodinases as determined by immunofluorescence confocal microscopy. *Endocrinology*, 141(11): 4309-4312, 2000.

Bhasin S, Woodhouse L, Casaburi R, Singh AB, Bhasin D, Berman N, Chen X, Yarasheski KE, Magliano L, Dzekov J, Bross R, Phillips J, Sinha-Hikim I, Shen R, Storer TW: Testosterone dose-response relationships in healthy young men. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 281: E1172-E1181, 2001.

Bianco A C, Salvatore D, Gereben B, Berry M J, Larsen P R: Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases. *Endocrine Reviews*, 23(1): 38-89, 2002.

Brann D W, Hendry L B, Mahesh VB: Emerging diversities in the mechanisms of action of steroid hormones. *J Steroid Biochem Molec Biol*, 52 (2): 113-133, 1995.

Braverman LE, Ingbar SH: Effects of Norethandrolone on the transport in serum and peripheral turnover of thyroxine. *J Clin Endocr*, 27: 389-96, 1967.

Taurog A. Thyroid Hormone Synthesis. In Braverman LE & Utiger RD (editores). *The Thyroid: A fundamental and clinical text*, 8^oed., Lippincott-Raven, Nova Iorque, cap. 4 pp. 85-91, 2000.

Bronson FH, Matherne CM: Exposure to anabolic-androgenic steroids shortens life span of male mice. *Medicine and science in sports & exercise*, 29(5):615-619, 1997.

Borges PP, Curty FH, Moura CCP, Moura EG: Effect of testosterone propionate treatment on thyrotropin secretion of young and old rats in vitro. *Life Sciences*, 62(22): 2035-2043, 1998.

Boyce EG: Use and Effectiveness of performance-enhancing substances. *Journal of pharmacy practice*, 16(1): 22-36, 2003.

Celotti F, Cesi P N: 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 Molec Biol*, 43 (5): 469-477, 1992.

Corrêa da Costa VM, Moreira DG, Rosenthal D: Thyroid function and aging: gender-related differences. *Journal of Endocrinology*, 171: 193-198, 2001.

Curcio-Morelli C, Gereben B, Zavacki AM, Kim BW, Huang S, Harney JW, Larsen PR, Bianco AC: In Vivo Dimerization of types 1, 2, and 3 Iodothyronine Selenodeiodinases. *Endocrinology*, 144(3): 937-946, 2003.

Da Silva P R P, Danielski R, Czepielewski MA: Esteróides anabolizantes no esporte. *Rev Bras Med Esporte*, 8 (6): 235-243, 2002.

Daly RC, Su TP, Schmidt PJ, Pagliaro M, Pickar D, Rubinow DR: Neuroendocrine and behavioral effects of high-dose anabolic steroid administration in male normal volunteers. *Psychoneuroendocrinology*, 28:317-331, 2003.

Deyssig R, Weissel M: Ingestion of androgenic-anabolic steroids induces mild thyroidal impairment in male body builders. *Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 76(4): 1069-1071, 1993.

Forbota L, Hofmann C, Oslapas R, Paloyan E: Sex hormone modulation of serum TSH levels. *Surgery*, 102(6): 1081-1087, 1987.

Gérard CM, Lefort A, Christophe D, Libert F, Van Sande J, Dumont JE, Vassart G: Control of thyroperoxidase and thyroglobulin transcription by cAMP: Evidence for distinct regulatory mechanisms. *Molecular Endocrinology*, 3: 2110-2118, 1989.

Joumaa WH, Léoty C: Differential effects of nandrolone decanoate in fast and slow skeletal muscles. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 33(3): 397-403, 2001.

Larsen PR, Davies TF & Hay ID. The thyroid gland. *In* Wilson JD & Foster DW(editores). *Williams Textbook of Endocrinology*, 8° edição, W.B. Saunders Company, Filadelfia, cap. 11, pp. 1079-1138, 1992.

Leshner A I: Anabolic steroids abuse. No site www.steroidabuse.org

Lima, LP: Influência da castração em ratos machos e fêmeas e efeito do estrogênio sobre a atividade tireoperoxidase. Monografia submetida ao Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade do Rio de Janeiro para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas – Modalidade Médica, 2000.

Lisbôa PC, Curty FH, Moreira RM, Oliveira KJ, Pazos-Moura CC: Sex steroids modulate rat anterior pituitary and liver iodothyronine deiodinase activities. *Hormone and Metabolic Research*, 33: 532-535, 2001.

Lovejoy JC, Bray GA, Greenson CS, Klemperer M, Morris J, Partington C, Tulley R: Oral anabolic steroid treatment, but not parenteral androgen treatment, decreases abdominal fat in obese, older men, *Int J Obes Relat Metab Disord*, 19(9): 614-24, 1995.

Maglich JM, Watson J, McMillen PJ, Goodwin B, Willson TM, Moore JT: The nuclear receptor CAR is regulator of thyroid hormone metabolism during caloric restriction. *J Biol Chem*, 279(7): 19832-19838, 2004.

Maia AL, Kieffer JD, Harney JW, Larsen PR: Effect of 3,5,3'-Triiodothyronine (T₃) administration on *dio 1* gene expression and T₃ metabolism in normal and type 1 deiodinase-deficient mice. *Endocrinology*, 136(11): 4842-4849, 1995.

Malarkey WB, Strauss RH, Leizman DJ, Liggett M, Demers LM. Endocrine effects in female weight lifters who self-administer testosterone and anabolic steroids. *Am J Obstet Gynecol*, 165(5): 1385-90, 1991.

Mauras N, Hayes V, Welch S, Rini A, Helgeson K, Dokler M, Veldhuis JD, Urban RJ: Testosterone deficiency in young men: marked alterations in whole body protein kinetics, strength, and adiposity. *J Clin Endocrinol Metab*, 81: 1886-1892, 1998.

McCarthy K: Ventricular thrombosis and systemic embolism in bodybuilders: etiology and management. *Ann Thorac Surg*, 70: 658-660, 2000.

Miyashita K, Murakami M, Iriuchijima T, Takeuchi T, Mori M: Regulation of rat liver type 1 iodothyronine deiodinase mRNA levels by testosterone. *Molecular and cellular Endocrinology*, 115: 161-167, 1995.

Ohtaki S, Nakagawa H, Nakamura M, Kotani T: Thyroid peroxidase: Experimental and clinical integration. *Endocrine journal*, 43(1): 1-14, 1996.

Griffin JE. The thyroid. In Ojeda SR, Griffin JE. *Textbook of Endocrine Physiology*, 4^o edição, Oxford University press, Nova York, cap. 13, pp: 303-327, 2000.

Saborido A, Molano F, Megías A: Effect of training and anabolic-androgenic steroids on drug metabolism in rat liver. *Medicine and Science in sports exercise*, 25(7): 815-822, 1993.

Schussler G C: The thyroxine-binding proteins. *Thyroid*, 10(2): 141-149, 2000.

Shahidi N. T., MD: A Review of chemistry, biological action, and clinical applications of anabolic-androgenic steroids. *Clinical Therapeutics*, 23 (9):1355-1390, 2001.

Snyder PJ. Androgens. Em *The Pharmacological Basis of Therapeutics* por Hadman JG, Limbird LE, Gilman AG, 10^o edição, McGraw-Hill companies, USA, capítulo 59, 1635-1648, 2001.

Takahashi M, Tatsugi Y, Kohno T: Endocrinological and pathological effects of anabolic-androgenic steroid in male rats. *Endocrine Journal*, 51(4): 425-434, 2004.

Tricker R, Casaburi R, Storer TW, Clevenger B, Berman N, Shirazi A, Bhasin S: The effects of supraphysiological doses of testosterone on angry behavior in healthy eugonadal men- a clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab*, 81(10): 3754-3758, 1996.

Vaisman M, Rosenthal D, Carvalho DP: Enzimas envolvidas na organificação tireoideana do iodo. *Arq Bras Endocrinol Metab*, 48(1): 9-15.

Wood RI: Reinforcing aspects of androgens. *Physiology & Behavior*, 83: 279-289, 2004.

Woodhouse LJ, Gupta N, Bhasin M, Singh AB, Ross R, Phillips J, Bhasin S: Dose-dependent effects of testosterone on regional adipose tissue distribution in healthy young men. *J Clin Endocrinol Metab*, 89(2): 718-726, 2004.

Woodiwiss AJ, Trifunovic B, Philippides M, Norton GR: Effects of an androgenic steroid on exercise-induced cardiac remodeling in rats. *J Appl Physiol*, 88: 409-415, 2000.

Wu FCW: Endocrine aspects of anabolic steroids. *Clinical Chemistry*, 43(7): 1289-1292, 1997.

Yen P M: Physiological and molecular basis of thyroid hormone action. *Physiological Reviews*, 81 (3): 1097-1126, 2001.

Yersalis CE, Kennedy NJ, Kopstein AN, Bahrke MS: Anabolic-androgenic steroid use in the United States. *JAMA*, 270: 1217-1221, 1993.

Yesalis C E, Bahrke M S: Anabolic-androgenic steroids. *Sports Med*, 19 (5): 326-340, 1995.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)