

ALEKSANDRA TIEMI MORIKAWA

**Influência dos esteróides anabólicos androgênicos em
aspectos do metabolismo de quilomícrons**

**Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências**

**Área de concentração: Cardiologia
Orientadora: Profa. Dra. Carmen Guilherme
Christiano de Matos Vinagre**

SÃO PAULO

2007

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Morikawa, Aleksandra Tiemi

Influência dos esteróides anabólicos androgênicos em aspectos do metabolismo de quilomícrons / Aleksandra Tiemi Morikawa. -- São Paulo, 2007.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Departamento de Cardio-Pneumologia.

Área de concentração: Cardiologia.

Orientadora: Carmen Guilherme Christiano de Matos Vinagre.

Descritores: 1.Esteróides 2.Quilomícrons/metabolismo 3.Remanescentes de quilomícrons/metabolismo 4.Colesterol HDL 5.Emulsões gordurosas intravenosas

USP/FM/SBD-165/07

*“O valor das coisas não está no tempo que elas duram,
mas na intensidade com que acontecem. Por isso,
existem momentos inesquecíveis, coisas inexplicáveis
e pessoas incomparáveis.”*

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, **Takahide Morikawa** e **Seiko Morikawa**, pelos sacrifícios pessoais a que se submeteram para garantir o meu crescimento pessoal e profissional.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Carmen Guilherme Christiano de Matos Vinagre, professora, orientadora, amiga e 'mãe', pelo incentivo, críticas e consideração com que sempre me orientou em vários aspectos do meu crescimento, tanto profissional quanto pessoal. Pela confiança, companhia, carinho, amizade e compreensão.

Agradeço ao Prof. Dr. Raul Maranhão, Titular da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo e diretor do Laboratório de Metabolismo de Lípidos – InCor, pelo apoio à pesquisa.

Á Dra. Maria Janieire de Nazaré Nunes Alves da Unidade de Reabilitação Cardiovascular e Fisiologia do Exercício do InCor – HCFMUSP, pela contribuição, competência e apoio constante.

Á Sra. Creusa Maria Dal Bó pela colaboração estatística.

Á Ana Paula Marte da Unidade de Dislipidemia, pela disponibilidade, sugestões e contribuição na preparação dessa tese.

Ao meu grande amigo Renato Barboza, pela amizade incondicional de tantos anos, pela colaboração e constante estímulo á minha formação científica.

Á amiga Camila Góes Puk, minha amiga e ‘afilhadinha’. Companheira desde o início dessa jornada, com laços de amizade que nem o tempo, nem a distância vão cortar.

Á Elisabeth Salvatori Ficker, pela amizade, pela inúmeras experiências vividas juntas, pelo companheirismo e pela colaboração.

Á amiga Vanessa Monteiro da Silva, pela cumplicidade, pelo auxílio na execução dos experimentos, pela descontração e pela serenidade sempre presente em suas palavrasde conforto.

Á Maria Elisabeth Fernandes Oliveira, pelo auxílio na execução dos experimentos e por ‘vizualizar’um futuro promissor pra mim.

Á amiga Marina Bertato, pelos inúmeros cappuccinos regados a muitos conselhos, incentivo e otimismo.

Ás amigas Débora Fernandes Deus e Sheila V. V. Loyolla pelo companheirismo, otimismo e apoio constantes. Pelas sessões de massagem e pelas terapias de grupo em nosso ' Instituto`.

Ao Jeferson Luis da Silva pela colaboração na convocação e avaliação dos participantes.

Ás meninas: Talita Matos, Amanda Padovezze, Fernanda Maniero, Tatiane Oliveira, Carol, Ana Cristina Lo Prete, Tatiana Solano, Juliana Vinagre, Fernanda Pozzi, Ivana Ferreira, Bárbara Figueira e ao menino Antônio Carlos Arruda pelo apoio e momentos de descontração.

Ao William Pressada, por ajudar minha preparação com aulas de inglês e didática.

Á Rose, Conceição e Augusta por acompanhar todo o meu crescimento profissional.

Á Profa. Dra. Elvira Maria Guerra Shinohara, supervisora do PAE e agora amiga, pela oportunidade didática na minha formação acadêmica.

Ao Marcelo Gomes pelo carinho, paciência, apoio e compreensão.

A Tia Maria e Juliana Missima pela alegria, atenção e amizade a mim dedicado.

Ao meu irmão Adriano, minha cunhada Maria Luisa e minha sobrinha Camila pela companhia, alegria e confiança.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	12
LISTA DE TABELAS	13
LISTA DE FIGURAS.....	15
RESUMO.....	16
SUMMARY	18
1. INTRODUÇÃO	20
1.1. Histórico	21
1.2. Síntese e funções da testosterona	23
1.3. Estrutura Química dos EAA.....	25
1.4. Farmacocinética dos EAA	27
1.5. Farmacodinâmica	29
1.6. Uso terapêutico dos EAA	30
1.7. Uso de EAA como agente de dopagem	31
1.8. Efeitos adversos dos EAA	36
1.9. Metabolismo de lípides.....	38
1.9.1. Lipase lipoprotéica.....	40
1.9.2. Lipase hepática	43
1.9.3. Metabolismo de quilomícrons e aterosclerose	44
1.9.4. Uso de EAA e metabolismo de lípides	46
2. OBJETIVOS.....	51
3. CASUÍSTICA	53

4. MATERIAL E MÉTODOS	59
4.1. Determinações bioquímicas	60
4.2. Emulsão de quilomícrons artificiais	61
4.2.1. Preparo de emulsão de quilomícrons artificiais	61
4.3. Estudos cinéticos	62
4.3.1. Ausência de risco	63
4.3.2. Análise de dados cinéticos	64
4.3.3. Análise da cinética plasmática dos quilomícrons artificiais.....	65
4.3.4. Descrição do modelo.....	66
4.3.5. Análise da cinética do éster de colesterol radioativo	67
4.3.6. Análise da cinética dos triglicérides radioativos	68
4.4. Determinação dos níveis de triglicérides na HDL.....	69
4.5. Determinação do diâmetro da partícula de HDL.....	69
4.6. Determinação da Área Sob a Curva (ASC) ácidos graxos	70
4.7. Atividade da lipase lipoprotéica e lipase hepática	70
4.8. Detecção de EAA na urina	72
4.8.1. Análise de amostras urinárias por CG/MS	72
4.9. Análise Estatística	75
5. RESULTADOS.....	76
5.1. Perfil de lípidos, apolipoproteínas e glicemia.	77
5.2. Decaimento plasmático do triglicérides e éster de colesterol radioativos da emulsão de quilomícrons artificiais.....	79
5.3. Atividade das enzimas lipase lipoprotéica e lipase hepática	81
5.4. Ácidos graxos no plasma	82

5.5. Diâmetro da partícula da HDL e concentração de triglicérides presentes na HDL	82
5.6. EAA na urina	83
5.7. Correlações	84
6. DISCUSSÃO	87
7. CONCLUSÃO	94
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	96

LISTA DE ABREVIATURAS

ADP	Adenosina Difosfato
ATP	Adenosina Trifosfato
APO	Apolipoproteína
CEBRID	Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas
CETP	Proteína Transportadora de Colesterol Esterificado
CG-MS	Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massa
CK	Creatina Quinase
COI	Comitê Olímpico Internacional
DHEA	Deidroepiandrosterona
DHT	Diidrotestosterona
EAA	Esteróide Anabólico Androgênico
FDA	Food and Drugs Administration
FSH	Hormônio Folículo estimulante
GH	Hormônio do Crescimento
GnRH	Gonadotrofina Hipotalâmica
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
IDL	Lipoproteína de Densidade Intermediária
LDH	Lactato Desidrogenase
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
LH	Hormônio Luteinizantes
LH	Lipase Hepática
LLP	Lipase Lipoprotéica
LRP	Proteína Relacionada ao Receptor LDL
PDL	Produtos de Digestão Lipídica
SH	Sulfato de Heparan
SHBG	Globulinas Ligantes de Hormônios Sexuais
TG	Triglicérides
TFR	Taxa Fracional de Remoção
VLDL	Lipoproteína de Densidade Muito Baixa

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Esteróides anabólicos androgênicos mais utilizados.

TABELA 2. Características clínicas do grupo Sedentário.

TABELA 3. Características clínicas do grupo Musculação.

TABELA 4. Características clínicas do grupo Musculação+EAA.

TABELA 5. Limites de detecção dos esteróides anabólicos androgênicos avaliados.

TABELA 6. Características físicas e níveis plasmáticos de lípides, lipoproteínas, glicose e apolipoproteínas dos grupos Sedentário, Musculação e Musculação+EAA.

TABELA 7. Taxa fracional de remoção dos triglicérides (TFR TG-³H) e éster de colesterol (TFR EC-¹⁴C) da emulsão de quilomícrons artificiais.

TABELA 8. Atividade da lipase lipoprotéica e lipase hepática entre os grupos Sedentário, Musculação e Musculação+EAA.

TABELA 9. Área sob a curva de hidrólise de triglicérides radioativos a partir dos quilomícrons artificiais (ASC-TG) e geração de ácidos graxos (ASC-AG) e níveis de ácidos graxos livres nos grupos Sedentário, Musculação e Musculação+EAA.

TABELA 10. Diâmetro da partícula da HDL e da concentração plasmática de triglicérides presentes na HDL entre os grupos Sedentário, a Musculação e Musculação+EAA.

TABELA 11. Correlação entre as Taxas Fracionais de Remoção de Triglicérides (TFR TG-³H) e o perfil lipídico nos grupos controle e EAA. Dados expressos como coeficientes de correlação (r) de Pearson.

TABELA 12. Correlação entre as Taxas Fracionais de Remoção de Colesterol Éster (TFR EC-¹⁴C) e o perfil lipídico nos grupos controle e EAA. Dados expressos como coeficientes de correlação (r) de Pearson.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Estrutura química da testosterona.....	5
FIGURA 2. Modificações na estrutura da testosterona.....	9
FIGURA 3. Modelo compartimental adotado para análise da cinética de quilomícrons.....	49
FIGURA 4. Curva de remoção plasmática do TG- ³ H nos grupos controle e EAA.....	63
FIGURA 5. Curva de remoção plasmática do EC- ¹⁴ C nos grupos controle e EAA.....	64

RESUMO

Os esteróides anabólicos androgênicos (EAA) aumentam a massa muscular e o desempenho físico. O uso abusivo de EAA leva a uma grande diminuição da concentração de HDL-C, podendo ocorrer um aumento nas concentrações de LDL-C e triglicérides. Os efeitos dos EAA na cinética plasmática das lipoproteínas que transportam os lípidos da dieta, na circulação sanguínea, os quilomícrons e seus produtos de lipólise, os quilomícrons remanescentes, não foram avaliados e podem estar relacionados com o processo aterosclerótico. No presente estudo, foram estudados 12 indivíduos que realizam exercício de força localizada e admitem fazer uso de EAA (grupo Musculação+EAA), 16 indivíduos que também realizam exercício de força localizada, porém não fazem uso de EAA (grupo Musculação) e 18 indivíduos sedentários e normolipidêmicos (grupo Sedentário). A emulsão de quilomícrons artificiais, marcada com triglicérides radioativos (TG-³H) e éster de colesterol radioativo (EC-¹⁴C), foi injetada endovenosamente e amostras de sangue foram colhidas durante intervalos de tempo pré-estabelecidos. As curvas de decaimento plasmático dos lípidos radioativos da emulsão foram traçadas e as taxas fracionais de remoção (TFR) foram calculadas por meio de análise compartimental. A TFR-EC do grupo Musculação+EAA apresentou-se diminuída comparando-se aos grupos Sedentário e Musculação ($0,0073 \pm 0,0079 \text{ min}^{-1}$, $0,0155 \pm 0,0100 \text{ min}^{-1}$, $0,0149 \pm 0,0160 \text{ min}^{-1}$, respectivamente; $p < 0,05$), enquanto que as TFR-TG foram similares. As concentrações plasmáticas de LDL-C foram maiores no grupo Musculação+EAA comparando-se com os grupos Sedentário e Musculação (143 ± 54 , 101 ± 31 ,

111±52 mg/dL, respectivamente; $p=0,047$). As concentrações plasmáticas de HDL-C e de apolipoproteína A1 foram menores no grupo Musculação+EAA quando comparados aos grupos Sedentário e Musculação (HDL-C= 22±13; 41±7; 38±13 mg/dL, respectivamente; $p<0,001$ e apo A1= 88±50; 156±35; 140±24 mg/dL, respectivamente; $p<0,001$). As curvas de geração de ácidos graxos livres originados pela hidrólise de triglicérides radioativos dos quilomícrons artificiais na circulação sanguínea foram similares entre os grupos estudados. A atividade da lipase hepática foi maior no grupo Musculação+EAA, comparando-se aos grupos Sedentário e Musculação (7243±1822; 3898±1232; 2058±749, respectivamente; $p<0,001$), enquanto que a atividade da lipase lipoprotéica não diferiu. O diâmetro da HDL e concentração de triglicérides presentes na HDL também foram similares nos três grupos estudados.

Descritores: Esteróides, Quilomícrons, Remanescentes de quilomícrons, Colesterol de HDL, Emulsões gordurosas intravenosas.

SUMMARY

Anabolic androgenic steroids (AAS) increase muscle mass and physical performance. Abusive use of AAS has led to a significant reduction of HDL-C concentration in the plasma, which in turn can cause lead to an increase in LDL-C and triglyceride concentrations. The effects of steroids on lipoprotein plasmatic kinetics which transport diet lipids in the blood, the chylomicrons and its lypolisis products, chylomicron reminiscents have not yet been studied and can be contributing factors to the ateroclesrosis process. In this study 12 local weight lifters and admitted steroid users (AAS group), 16 local weight lifters but non-steroids use (non-user group) and 18 sedentary and normolipidemic individuals (control group) were studied. The artificial chylomicron emulsion, marked with radioactive triglyceride ($^3\text{H-TG}$) and radioactive oleate cholesterol ($^{14}\text{C-OC}$) were injected interveneously and blood samples collected during pre-established time intervals. The plasmatic decay curve of the radioactive lipids of the emulsion was traced and fractional clearance rate was calculated (FCR) through compartmental analysis. The FCR-OC of the AAS group when compared to the control and non-user groups was reduced ($0,0073 \pm 0,0079 \text{ min}^{-1}$, $0,0155 \pm 0,0100 \text{ min}^{-1}$, $0,0149 \pm 0,0160 \text{ min}^{-1}$, respectively; $p < 0,05$), while FCR-TG were similar. The LDL-C plasmatic concentration were higher in the AAS group when compared to control and non-user groups (143 ± 54 , 101 ± 31 , $111 \pm 52 \text{ mg/dL}$, respectively; $p = 0,047$). The HDL-C plasmatic concentration and the apolipoprotein A1 were lower in the AAS group when compared control and non-user groups (HDL-C: 22 ± 13 ; 41 ± 7 ; $38 \pm 13 \text{ mg/dL}$, respectively; $p < 0,001$ e apo A1: 88 ± 50 ; 156 ± 35 ; $140 \pm 24 \text{ mg/dL}$,

respectively; $p < 0,001$). No difference was observed of the area under the fatty acid generated curve. Hepatic lipase activity was greater in the AAS group when compared to control and the non-user groups (7243 ± 1822 ; 3898 ± 1232 ; 2058 ± 749 , respectively; $p < 0,001$). However, no difference was observed for lipoproteic lipase activity. The analysis of HDL size and triglyceride concentration in HDL were similar for all three groups.

Descriptors: Steroids, Chylomicrons, Chylomicrons remnants/metabolism, Cholesterol HDL, Fat emulsions intravenous.

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1. Histórico

Há algumas décadas, os esteróides anabólicos androgênicos (EAA) têm sido utilizados nos esportes em geral (FOSTER & HOUSNER, 2004).

O primeiro registro histórico do uso dessas substâncias para o melhor desempenho em campeonatos mundiais é datado de 1954, quando foram utilizados por atletas russos, durante o Campeonato Mundial de Levantamento de Peso, em Viena, Áustria (THEIN *et al.*, 1995).

Em 1956, o laboratório Ciba sintetizou a metandrostenolona, comercializada com o nome de Dianabol, esteróide oral que foi amplamente utilizado entre levantadores de peso. Os relatos da eficácia dessa droga difundiram-se e em 1964, nas Olimpíadas de Tóquio, os EAA foram amplamente utilizados em diversas modalidades esportivas (DE ROSE & NÓBREGA, 1999).

Apesar da sua grande utilização, desde 1975 os EAA foram incluídos na lista das drogas consideradas como “doping” pelo Comitê Olímpico Internacional (COI) (KENNEDY, 1992).

Segundo o COI, “doping” é definido como o uso de qualquer substância endógena ou exógena em quantidades abusivas ou vias anormais, com a intenção de aumentar o desempenho do atleta, em competições (GOLDWIRE & PRICE, 1995). Os EAA juntamente com os 2-beta-agonistas, estimulantes, narcóticos, diuréticos, hormônios peptídicos, glicoprotéicos e análogos, compõem as substâncias de uso proibido no esporte (CATLIN & MURRAY, 1996; DE ROSE & NÓBREGA, 1999).

Em todo o mundo, existe uma preocupação sócio-governamental envolvendo o abuso de EAA, dentro e fora do cenário esportivo. Vários estudos realizaram levantamentos epidemiológicos visando verificar dados concretos acerca desse tema. Estimou-se, por exemplo, que nos EUA, em 1993, mais de um milhão de pessoas teriam sido usuários de EAA (YESALIS *et al.*,1993; PORCERELLI & SANDLER, 1995). Em 2001, Kanayama *et al.* demonstraram que, atualmente, podem existir mais de 1,5 milhões de usuários de EAA, frequentadores de academias nos EUA.

No Brasil, Conceição *et al.* (1999) demonstraram que 24,3% dos indivíduos praticantes de hipertrofia muscular em academias de Porto Alegre usavam EAA; em 34% dos casos, as drogas eram utilizadas por vontade própria, 34% por indicação de outros usuários de EAA, 19% por indicação de amigos, 9% por indicação de professores e apenas 4% sob prescrição médica. Os EAA mais utilizados foram: nandrolona (37%), estanozolol (21%) e a testosterona cristalizada (18%). Demonstrou-se também, que 80% dos indivíduos utilizavam mais de um EAA e 35% experimentaram dependência física e psicológica. As principais motivações ao consumo dessas substâncias foram a aquisição de força (42%), estética (27,3%) e a melhora do desempenho físico (18,2%).

Um estudo domiciliar realizado em 1999 pelo Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas (CEBRID), avaliou o uso de álcool, tabaco e outras drogas psicotrópicas pela população da cidade de São Paulo e outras cidades desse estado, com mais de 200 mil habitantes. Neste estudo, observou-se que o uso de EAA na população estudada foi de 0,5%, sendo que a grande maioria era de homens e as idades estavam entre 15 e 26 anos.

Entretanto, deve-se levar em consideração quem um levantamento realizado na população em geral, não reflete a freqüência de uso em academias (GALDURÓZ *et al.*, 1999).

No Brasil, o uso de EAA, substâncias estimulantes e narcóticos é considerado dopagem no esporte, segundo os critérios da Portaria 531, de 10 de julho de 1985 (Ministério da Educação). A comercialização de tais substâncias é regulamentada pela Portaria 344, de 12 de maio de 1988. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), editou a lei 9.965, de 27 de abril de 2000 que visa restringir a venda de esteróides e peptídeos anabólicos no território nacional.

Os EAA são utilizados por atletas e não atletas, de todas as idades, homens e mulheres (STRAUSS *et al.*, 1985; DIGMENT, 1987). Os adolescentes, visando não somente melhorar o desempenho atlético, mas também melhorar a aparência física e a capacidade sexual, parecem ser o público preferencial de EAA (BUCKLEY *et al.*, 1988).

Os EAA são substâncias naturais, sintéticas ou semi-sintéticas, derivadas da testosterona, capazes de estimular o amadurecimento e a atividade do sistema reprodutor masculino, através de sua ação androgênica, assim como proporcionar a síntese de novos tecidos, devido a sua ação anabólica (LISE *et al.*, 1999; YESALIS *et al.*, 2000).

1.2. Síntese e funções da testosterona

A testosterona teve sua estrutura molecular elucidada em 1935, por Ruzicka e Wettstein. A partir de então, diversos estudos comprovaram sua ação

anabólica e demonstraram uma rápida metabolização hepática dessas substâncias, o que determina uma meia-vida muito curta (SCHANZER, 1996).

A testosterona é o hormônio esteróide androgênico mais importante produzido pelas células de Leydig, presente nos testículos. No sexo feminino, é produzido em pequenas quantidades pelos ovários. Todavia, pode ser sintetizado pelo córtex da supra-renal em ambos os sexos (SMITH *et al.*, 1985).

A testosterona é sintetizada 95% pelos testículos e 5% pelas supra-renais, a partir do colesterol, o qual é biotransformado à deidroepiandrosterona (DHEA) e androstenediona e posteriormente convertido à testosterona, no tecido hepático. (HANDLESMAN, 2001).

Os hormônios androgênicos são responsáveis pelo desenvolvimento e manutenção do aparelho reprodutor masculino. No indivíduo adulto, a secreção de testosterona é controlada pelo sistema nervoso central, através da hipófise anterior, que modula a atividade de glândulas endócrinas presentes no sistema reprodutor, por meio do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal. O hipotálamo, através do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), modula a liberação do hormônio folículo estimulante (FSH) e do hormônio luteinizante (LH). A síntese e o nível plasmático de testosterona é controlado por ação dos hormônios gonadotrópicos da hipófise, o FSH e o LH. O FSH, que atua nas células de Sertoli, é responsável pela gametogênese e o LH, que atua nas células intersticiais de Leydig, pela secreção de testosterona (HARDMAN *et al.*, 1996; RANG *et al.*, 1997).

A testosterona e os produtos de sua biotransformação, a diidrotestosterona (DHT) e o estradiol são responsáveis por alterações anatômicas em indivíduos do sexo masculino, em diferentes etapas do desenvolvimento: no período fetal, a

testosterona é responsável pela diferenciação e desenvolvimento da vesícula seminal, epidídimo e vasos deferentes; a DHT pelo desenvolvimento da próstata, pênis e escroto e o estradiol pelo desenvolvimento de estruturas do sistema nervoso central. Já na puberdade, os androgênios são responsáveis pelo crescimento do pênis, tecido escrotal, pêlos corporais e secreção de sebo. No indivíduo adulto, atuam na manutenção das características sexuais secundárias, espermatogênese, hematopoiese e dos tecidos musculares e ósseos, como também nos mecanismos psicofisiológicos do comportamento sexual (HARDMAN *et al.*, 1996).

Devido ao fato da testosterona apresentar uma meia-vida plasmática curta, diversas modificações na sua estrutura química foram realizadas, com o objetivo de se encontrar derivados sintéticos com maior tempo de residência no plasma e com maior atividade biológica, capazes de produzir uma atividade anabólica superior à atividade androgênica (BHASIN *et al.*, 1996).

1.3. Estrutura Química dos EAA

Os EAA são derivados sintéticos da testosterona e sua estrutura básica é composta de 4 anéis hidratados, o ciclopentano-perhidro-fenantreno (RUBINOW & SCHMIDT, 1996) (FIGURA 1).

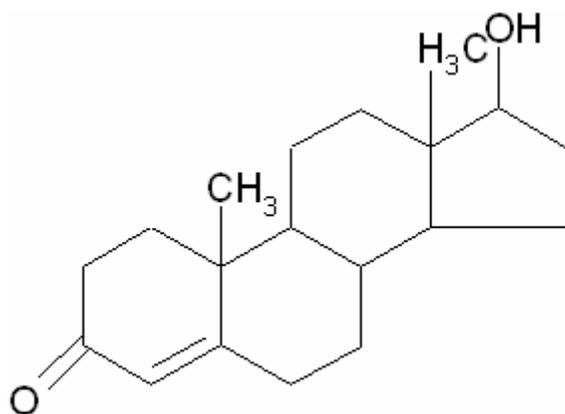


FIGURA 1. Estrutura química da testosterona (RUBINOW & SCHMIDT, 1996).

Três tipos de modificações na molécula de testosterona podem ser encontradas a fim de aumentar sua efetividade (WILSON, 1988)(FIGURA 2):

Tipo A: esterificação do grupo 17- β hidroxil;

Tipo B: alquilação na posição 17- α ;

Tipo C: modificação na estrutura do anel esteroidal.

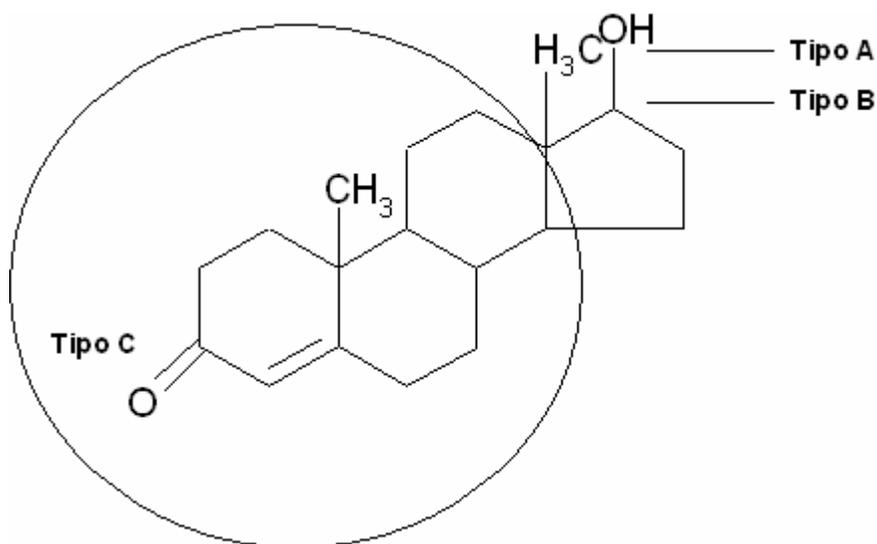


FIGURA 2. Modificações na estrutura da testosterona (WILSON, 1988).

As preparações orais geralmente apresentam alquilação na posição 17- α e/ou modificações na estrutura do anel esteroidal. Alquilações nesta posição, com grupos metila ou etila, dificultam a biotransformação hepática, principalmente em decorrência do efeito de primeira passagem, proporcionando aumento na duração de seus efeitos. Modificações estruturais têm como objetivo aprimorar as características anabólicas dos derivados da testosterona, além de aumentar a afinidade pelos receptores androgênicos (LUKAS, 1993).

A esterificação do grupo 17- β hidroxil com ácidos carboxílicos diminui a polaridade da molécula, tornando-a mais solúvel nos veículos lipídicos para as preparações injetáveis de liberação lenta do esteróide na circulação. Essas preparações apresentam menor toxicidade hepática que os orais. Quanto maior a cadeia carbônica do éster, mais lipossolúvel se torna o esteróide e mais prolongada sua ação (LUKAS, 1996).

1.4. Farmacocinética dos EAA

A testosterona administrada por via oral é rapidamente absorvida, entretanto, é extensivamente biotransformada no fígado, antes de alcançar a circulação sistêmica (KENNEDY, 2000; SERRANO *et al.*, 2007).

A administração parenteral de EAA esterificado, em solução oleosa, por sua vez, adquirem maiores propriedades lipofílicas, aumentando dessa forma, sua capacidade de ficar retido em tecido adiposo. Esta modificação não tem efeito na taxa anabólica, apenas causa um aumento da atividade pela maior permanência do EAA no organismo, sendo que a velocidade de sua liberação depende do

comprimento da cadeia de carbonos do ácido carboxílico utilizado na esterificação do 17 β -hidroxila. A esterificação dos EAA sintéticos também tem sido um procedimento muito adotado com o objetivo de aumentar a sua meia vida biológica (HAUPT & ROVERE, 1984).

A testosterona encontra-se ligada principalmente às globulinas, permanecendo livre na corrente sanguínea durante apenas 15 a 30 minutos. Cerca de 44% da testosterona circulante encontra-se ligada a globulinas ligantes de hormônios sexuais (SHBG) e 54% à albumina. Neste tempo, liga-se aos tecidos ou sofre biotransformação a compostos inativos que serão subsequentemente excretados. Em um homem adulto, o nível plasmático de testosterona é de cerca de 300 a 1000 ng/dL e a taxa de produção diária está entre 2,5 e 11 mg (HARDMAN *et al.*, 1996; MOTTRAM & GEORGE, 2000; KARILA, 2003).

A testosterona é rapidamente metabolizada no fígado e 90% de seus metabólitos são excretados na urina (SMITH *et al.*, 1985; RANG *et al.*, 1997; CORRIGAN, 1999; KENNEDY, 2000, SERRANO *et al.*, 2007).

O metabolismo da testosterona ocorre nos tecidos periféricos, nos quais é convertida em DHT pela enzima 5-alfa-redutase. A DHT atua, intracelularmente, como androgênio ativo. Este parece ser o androgênio ativo em muitos tecidos-alvo, sendo considerado tão potente quanto à testosterona (SMITH *et al.*, 1985). A DHT é o principal metabólito ativo da testosterona e possui afinidade maior pelo receptor androgênico. Com isso, forma-se rapidamente o complexo hormônio-receptor e dissocia-se mais lentamente do receptor do que a testosterona (KENNEDY, 2000).

A conversão de testosterona em estradiol, pela citocromo P450, ocorre em tecidos como o adiposo, hepático, células de Leydig e hipotalâmico. O estradiol atua controlando as funções gonadais. Também, no fígado, a testosterona sofre redução levando a produção de substâncias inativas (17-cetoesteróides), como a androsterona e eticolanolona (KARILA, 2003).

A excreção desses medicamentos ocorre principalmente pela via renal e pelas fezes. Os metabólitos encontrados são os glucoronídeos, os sulfatos conjugados e os 17-cetoesteróides (FOTHERBY & JAMES, 1972).

1.5. Farmacodinâmica

Assim como a testosterona, os EAA são moléculas lipofílicas e atravessam facilmente a membrana plasmática, ligando-se com alta especificidade e baixa afinidade a receptores citoplasmáticos para esteróides. O complexo droga-receptor se desloca do citosol ao núcleo e se liga ao DNA nuclear. Esta interação promove a transcrição de RNA mensageiro (LITWACK *et al.*, 1997; ROSKOSKI, 1997). Os RNA mensageiros determinam a síntese de proteínas, as quais caracterizam a ação anabólica de tais substâncias. Após esses processos, aparecem efeitos como (THEIN *et al.*, 1995):

- Aumento da força de contratibilidade da célula muscular pelo armazenamento de fosfato de creatina: essa substância ajuda na conversão de ADP (adenosina difosfato) em ATP (adenosina trifosfato), principal fonte de energia do músculo.
- Promoção do balanço nitrogenado positivo: o nitrogênio é conhecido como um componente de crescimento da proteína. Manter o equilíbrio

nitrogenado positivo é fator fundamental para o crescimento e a força muscular.

- Aumento da retenção de glicogênio no músculo: o glicogênio é a fonte secundária de energia do músculo, portanto, qualquer aumento na retenção de glicogênio resulta em aumento do volume muscular.
- Aumento da captação de aminoácidos: os aminoácidos são importantes na construção da massa muscular; hormônios como a testosterona, a insulina e o hormônio do crescimento (GH) favorecem a síntese protéica, no entanto, os esteróides não dependem tanto da insulina, aumentando o acúmulo de gordura corporal.
- Bloqueio do cortisol: o cortisol é um hormônio catabólico liberado por fatores de estresse tanto emocional como físico. Esse hormônio pode suprimir a produção de testosterona, uma vez que são hormônios antagonistas. O cortisol ainda suprime os mecanismos de defesa do organismo.

1.6. Uso terapêutico dos EAA

O Food and Drugs Administration (FDA) aprova a utilização de EAA em alguns casos, sob rigorosa supervisão médica.

Os EAA têm sido administrados no tratamento das deficiências androgênicas: hipogonadismo (BHASIN *et al.*, 1997; DE ROSE & NÓBREGA, 1999), puberdade e crescimento retardados (SCHROOR, *et al.*, 1995), micropênis neonatal, deficiência androgênica parcial em homens idosos, deficiência

androgênica secundária a doenças crônicas e na contracepção hormonal masculina (CONWAY *et al.*, 2000).

A terapia androgênica pode, também, ser utilizada no tratamento da osteoporose, da anemia causada por falhas na medula óssea ou nos rins (DE ROSE & NÓBREGA, 1999; CONWAY *et al.*, 2000), do câncer de mama avançado (EBERLING *et al.*, 1994) e até mesmo em situações especiais de obesidade (CORRIGAN, 1999).

Os EAA têm sido utilizados no tratamento da sarcopenia relacionada a AIDS, da fadiga em pacientes com doença renal crônica submetidos à diálise (JOHANSEN *et al.*, 1999), da sarcopenia em pacientes com queimaduras graves (DOBS, 1999) e em pacientes hipogonadais (RABKIN *et al.*, 2000) e eugonadais (GRINSPOON *et al.*, 2000).

Alguns estudos têm ainda demonstrado os efeitos dos EAA no tratamento da baixa estatura devida à Síndrome de Turner (ROSENFELD *et al.*, 1992) e em indivíduos com puberdade e crescimento retardados (COWART, 1989).

Recentemente, foi demonstrado que a utilização dos EAA acelerou o crescimento linear e apresentou alguns efeitos benéficos no retardo da fraqueza em pacientes com distrofia muscular Duchenne (FENICHEL *et al.*, 2001).

1.7. Uso de EAA como agente de dopagem

O uso ilícito dos EAA ocorre pelo fato dessas substâncias aumentarem a massa muscular, a força física e a agressividade em competições, além de diminuir o tempo de recuperação entre exercícios intensos (THEIN *et al.*, 1995; GOLDBERG, 1996).

Os EAA também têm sido utilizados de forma abusiva, por não atletas, com fins estéticos, pelo desejo de ganhar massa muscular e melhorar a aparência (APPLEBY *et al.*, 1994; SCOTT *et al.*, 1996; LUKAS *et al.*, 1996; MATSUMOTO, 1996), sendo muitas vezes associados ao uso de álcool, cocaína e outras drogas ilícitas para potencializar os efeitos (SCOTT, 1996; LUKAS, 1996).

Métodos alternativos de administração da testosterona, incluem implantação de cápsulas hipodérmicas, supositórios retais ou gotas nasais e aplicações tópicas de cremes ou emplastos (GRUNDING & BACHAMN, 1995). As formas de administração mais utilizadas são: oral (em forma de comprimidos) e injetável (via intramuscular) (TABELA 1).

As doses dos EAA utilizadas pelos atletas são freqüentemente cem vezes maiores que a dose terapêutica. Entre as técnicas de uso indevido (LUKAS 1993; THEIN, 1995; GHAPHERY, 1995; GOLDWIRE, 1995), salientam-se:

- *Empilhamento (Stacking)*: quando há uso de duas ou mais substâncias concomitantemente, com combinação de uso oral e injetável;
- *Pirâmide*: quando o EAA é iniciado em baixa dosagem aumentando de 10 a 100 vezes o valor inicial atingindo um pico, com retorno gradual às doses iniciais;
- *Ciclos (cycling)*: quando há uso por 6 a 12 semanas, interrupção por 3 a 4 semanas e repetição do ciclo;
- *Mista*: quando ocorre uma combinação de todos estes esquemas apresentados.

Os EAA são freqüentemente utilizados por atletas concomitantemente com outras substâncias para mascarar os efeitos colaterais ou potencializar os efeitos anabólicos. Por outro lado, também existem várias combinações de EAA com vitaminas, estrógenos e outros medicamentos a fim de tentar diminuir os efeitos adversos (GUEZENNEC, 1995).

A maior parte dos indivíduos que fazem uso de EAA, adquire essas substâncias provenientes dos Estados Unidos, Alemanha, Espanha, França, Argentina, Uruguai ou Paraguai sem qualquer fiscalização, podendo dessa forma, utilizar substâncias falsificadas e acondicionadas de forma irregular, assim como produtos de uso veterinário, principalmente para eqüinos, sem conhecimento prévio (Ministério da Justiça, 1998).

TABELA 1. Esteróides anabólicos androgênicos mais utilizados:

Nome genérico	Nome Comercial	Via de administração
Cipionato de Testosterona	Deposteron®	Intra-muscular
Testosterona	Androgel®	Cutânea
Ésteres de Testosterona	Durateston®	Intra-muscular
Undecanoato de Testosterona	Androxon®	Intra-muscular
Propionato de Testosterona	Tesurene®	Oral
Decanoato de Nadrolona	Deca-Durabolin®	Intra-muscular
Mesterolona	Provorin®	Oral
Danazol	Ladogal®	Oral
Oximetolona	Hemogenin®	Oral
Metiultestosterona	Testonus, Gabecon-M®	Oral
Fluoximesterona	Halotestin™	Oral
Estanozolol	Winstrol™	Oral
Estanozolol	Winstrol V®	Intra-muscular
Enantato de Metenolona	Primobolan™	Intra-muscular
Oxandrolona	Anavar™	Oral
Undecilenato de Boldenona	Equipoise®	Intra-muscular

Fonte: GALLAWAY S. The steroid bible. 3 ed. Sacramento, Belle International, 1997.

Os estudos clínicos, no que se refere ao aumento da força e da massa muscular, são inconclusivos, muitas vezes por apresentarem problemas metodológicos, como o efeito placebo (KENNEDY, 1997). Hervey *et al.*, em 1976, demonstraram que atletas que receberam 100 mg de metandienoma / dia, durante seis semanas, apresentaram aumento de peso na massa magra corporal e

aumento do tamanho muscular (HERVEY *et al.*, 1976). A força e o desempenho melhoraram a cada período de treinamento, mas não foi diferente do grupo placebo. BHASIN *et al.* (1996), em seu estudo utilizando 600 mg de testosterona/semana, durante 10 semanas, verificaram o aumento da força e hipertrofia muscular em homens saudáveis. Seus resultados demonstraram que a testosterona, principalmente quando combinada com treinamento de força, aumentava a massa magra, a massa muscular e a força desses indivíduos. Corrigan *et al.* (1999), em seu estudo sobre o uso de DHEA em atletas australianos, verificou que estes utilizavam DHEA como agente anabólico para elevar os níveis de testosterona e androstenediol (LEDER *et al.*, 2000). Entretanto, sua eficácia como agente anabólico e produtor de energia permanece sem comprovação (KENNEDY, 2000). Todavia, King *et al.*, em 1999, demonstraram que a suplementação de androstenediona não elevou as concentrações plasmáticas de testosterona nem promoveu adaptações do músculo esquelético no treinamento de resistência.

De acordo com o “American College of Sports Medicine” (1987), o aumento da força muscular obtido por meio da combinação de exercícios de alta intensidade, com dieta apropriada, pode ser maximizado utilizando os EAA, em alguns indivíduos. Entretanto, não aumentam a potência aeróbica nem a capacidade de realizar exercícios musculares.

1.8. Efeitos adversos dos EAA

Os efeitos colaterais podem ser relacionados com os EAA, tanto a curto quanto a longo prazo. Dependendo da resposta individual, da dosagem e do tipo de droga, eles podem ser de maior ou menor gravidade.

O uso abusivo de EAA pode ser realizado por via oral ou intra-muscular. Outro fator de risco observado entre os usuários, é o consumo de produtos anabolizantes veterinários ou mesmo falsificados (HAUPT & ROVERED, 1984).

Diversos estudos têm demonstrado que os EAA causam dependência em seus usuários, provocando assim, a síndrome de abstinência ligada às síndromes comportamentais, dentro e fora dos esportes (COPELAND *et al.*, 2000; SU *et al.*, 1993; YESALIS *et al.*, 1993; BROWER *et al.*, 1990; COWART, 1987).

Efeitos adversos sobre o sistema reprodutivo masculino são resultantes do hipogonadismo induzido, uma vez que os EAA agem no sistema de “*feedback*” negativo mediado pela hipófise e hipotálamo. Como consequência, há uma redução da liberação de gonadotrofinas (LH e FSH), que por sua vez, diminui a produção de testosterona endógena, associada a uma atrofia testicular e deficiência na espermatogênese (oligoospermia e azoospermia). Estes efeitos são geralmente reversíveis com o uso descontínuo. Outros efeitos incluem calvície precoce, alterações da libido, acne e desenvolvimento de ginecomastia, pela transformação do esteróide em estradiol (aromatização), efeito que pode ser permanente (TORRES-CALLEJA *et al.*, 2000).

A estrutura celular e função hepática são também alteradas pela administração de EAA e estão associadas ao uso de esteróides orais. Os testes de função hepática alterados geralmente retornam ao nível normal, após cessada

a exposição aos EAA. Com o uso prolongado podem ocorrer hepatite colestática, peliose hepática, hiperplasia e adenomas hepatocelulares (PERTUSI *et al.*, 2001). O nível da enzima creatina quinase (CK), indicadora de dano muscular, também aumenta expressivamente em usuários de EAA.

Avaliações laboratoriais têm demonstrado alterações importantes relacionados á fatores de risco cardiovasculares (O'SULIVANN *et al.*, 2000), como predisposição ao mecanismo de hipercoagulabilidade, ao aumento da agregação plaquetária e à diminuição da fibrinólise (FALKENBERG *et al.*, 1997). Além disso, observa-se hipertrofia da parede ventricular esquerda, aumento da espessura do septo interventricular e do índice de massa do ventrículo esquerdo, porém com preservação das funções sistólicas e diastólicas normais (Di BELO *et al.*, 1999), trombose ventricular e embolismo sistêmico (MCCARTHY *et al.*, 2000), cardiomiopatia dilatada, infarto agudo do miocárdio por oclusão da artéria descendente anterior e morte súbita por hipertrofia ventricular esquerda (FERRERA *et al.*, 1997).

Outra importante alteração metabólica causada pelo uso de EAA é a dislipidemia. Dentre os fatores de risco para doenças ateroscleróticas, o metabolismo de lípidos desempenha um papel central. O uso de EAA leva a um aumento significativo nas concentrações de colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDL-C), grande diminuição das concentrações do colesterol da lipoproteína de alta densidade (HDL-C), além de elevar os níveis de triglicérides (TG) (HERLEY *et al.*, 1984; COHEN *et al.*, 1988).

1.9. Metabolismo de lípidos

O transporte de lípidos na circulação sanguínea divide-se em dois sistemas principais, a via endógena que tem início com a síntese da lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL) no fígado e a via exógena que se inicia com a síntese dos quilomícrons formados pelos lípidos absorvidos no intestino.

A via exógena corresponde ao transporte de lípidos disponíveis para absorção no trato intestinal, os quais são derivados principalmente da dieta. Devido a sua natureza geralmente hidrofóbica, os lípidos requerem processos complexos para sua digestão e absorção. No duodeno, os produtos da digestão lipídica (PDL), ou seja os ácidos graxos, monoglicerídeos, lisofosfolípidos e colesterol interagem com os sais biliares secretados pela vesícula biliar, após estimulação da mesma pelo hormônio pancreático, colecistoquinina. Os sais biliares são essenciais para a digestão e absorção dos lípidos. Conforme as gorduras vão sendo hidrolizadas pelo processo de digestão, os PDL vão dissolvendo-se no interior das micelas formadas pelos sais biliares (LEVY, 1992). Nas células absorptivas da mucosa intestinal, devido ao baixo pH, os PDL destacam-se das micelas de sais biliares e difundem-se através da membrana da borda em escova, por absorção passiva. No retículo endoplasmático liso, devido a ação enzimática, os PDL são re-esterificados, formando novamente triglicérides, colesterol esterificado e fosfolípidos. Após a incorporação das apolipoproteínas (após) B-48, A-I, A-II e A-IV, os lípidos formados migram do retículo endoplasmático liso até o retículo endoplasmático rugoso, onde dão origem às partículas denominadas pré-quilomícrons. Os pré-quilomícrons são transportados até o aparelho de Golgi, onde são então transportadas até um sítio próximo à

membrana lateral de onde são secretadas para o espaço intersticial das vilosidades, através de um processo denominado exocitose ou pinocitose reversa (LEVY, 1992).

Os quilomícrons são secretados na linfa mesentérica, formando uma população heterogênea, com diâmetro variando de 75 a 1200 nm. O número, tamanho e composição dos quilomícrons dependem do aporte e da natureza dos lípidos absorvidos.

Os quilomícrons são constituídos por 80 a 95% de triglicérides, 2 a 4% de colesterol esterificado, 3 a 6% de fosfolípidos, 1 a 3% de colesterol livre e 1 a 2% de proteínas (REDGRAVE, 1983).

Após a secreção nos capilares linfáticos intestinais, os quilomícrons interagem com outras lipoproteínas presentes na linfa, principalmente a HDL, de quem recebe apo C e apo E e doa apo A-I e apo A-IV, além de perder fosfolípidos. Os quilomícrons possuem predominantemente as apos A-I, C-I, C-II e C-III e quantidades menores de apos E, A-IV e B-48.

Através do ducto torácico, os quilomícrons atingem a circulação sistêmica, onde passam por um processo de intensa catabolização. Continuam ocorrendo colisões entre os quilomícrons e outras lipoproteínas, principalmente a HDL com consequentes trocas de elementos de superfície (PATSCHE, 1998).

Ligada a glicosaminoglicanos da membrana basal das células endoteliais, encontra-se uma enzima sintetizada nas células parenquimatosas de vários tecidos, a lipase lipoprotéica (LLP) (CHENG *et al.*, 1981). Os quilomícrons possuem em sua superfície uma apolipoproteína, a apo CII que é um cofator de ativação da LLP. Uma vez ativada, essa enzima inicia o processo de hidrólise dos

triglicérides dos quilomícrons (BLANCHETTE-MACKIE, 1973). As partículas resultantes do processo de lipólise apresentam um diâmetro menor (40 a 60 nm) e são denominadas remanescentes de quilomícrons (WINDLER *et al.*, 1988). Os produtos resultantes do processo lipolítico dos triglicérides dos quilomícrons, ácidos graxos livres, glicerol e monoglicerídeos são utilizados pelas células periféricas em seus ciclos metabólicos.

Durante o catabolismo dos quilomícrons, ocorrem trocas de componentes lipídicos com outras lipoproteínas, principalmente triglicérides dos quilomícrons para as HDLs e de colesterol esterificado das HDLs para os quilomícrons, através da proteína transportadora de colesterol esterificado (CETP).

O processo de catabolização dos quilomícrons na corrente sanguínea é muito rápido, conferindo-lhes uma meia-vida plasmática curta, de 4 a 10 minutos (COHEN, 1989). Durante o processo de lipólise, as partículas perdem grande parte de seu conteúdo de triglicérides, porém o de colesterol esterificado mantém-se praticamente inalterado. Ocorre também perda de fosfolípidos, o que torna a superfície relativamente mais rica em colesterol livre. As trocas de apo resultam em perda de apo A-I e aquisição de apo E e apo C.

1.9.1. Lipase lipoprotéica

A lipase lipoprotéica (LLP) é a principal enzima responsável pela hidrólise de moléculas de triglicérides presentes em lipoproteínas circulantes (PERRET *et al.*, 2002).

A LLP é sintetizada e secretada por células parenquimatosas de vários tecidos extra-hepáticos, principalmente músculo e tecido adiposo e é também

expressa e secretada por macrófagos, mas sua função é exercida na superfície luminal do endotélio vascular, hidrolisando triglicérides em ácidos graxos livres que são captados pelo tecido muscular e adiposo, e fora do compartimento plasmático, onde a LLP converte quilomícrons em remanescentes, começando uma cascata que converte a VLDL-c em LDL-c (GOLBERG *et al.*, 1996).

A LLP é sintetizada de forma inativa e glicosilada no Complexo de Golgi, onde torna-se cataliticamente ativa. Depois de secretada para o lúmen vascular, a enzima se liga à membrana basal das células endoteliais, através de interações iônicas com um proteoglicano, o Sulfato de Heparan (SH) (ECKEL *et al.*, 1989). A afinidade da LLP ao SH pode ser determinada por fatores estruturais das cadeias de glicosaminoglicanos presentes no mesmo.

O receptor de LLP é uma substância semelhante a heparina. A heparina causa a liberação da LLP na circulação sanguínea, através de alterações na ligação eletrostática entre a enzima e seu receptor. A massa de LLP circulante varia de 8 a 25 ng/mL, aumentando para 0,1 - 2,0 µg/mL no plasma pós-heparina (BEISEGIEL *et al.*, 1991). A heparina parece também estabilizar a enzima, provavelmente prevenindo a denaturação de sua superfície.

No transporte de lipoproteínas, a LLP durante a lipólise, se dissocia das células endoteliais e continua a realizar a hidrólise dos triglicérides dos quilomícrons, provenientes da dieta, na circulação sanguínea (GOLDBERG, 1996).

Os quilomícrons por apresentarem um diâmetro maior, ocupam uma área maior em capilares sanguíneos tendo uma maior chance de entrar em contato

com a enzima aderida na parede arterial, e uma interação mais provável com mais de uma molécula de LLP.

Deficiência na atividade da LLP no músculo e tecido adiposo diminui a hidrólise de triglicérides dos quilomícrons e pode levar a um aumento no retorno de triglicérides pós-prandiais para o fígado, o que pode estimular a produção hepática de lipoproteínas ricas em triglicérides (KARPE *et al.*, 1993).

A atividade da LLP pode também regular os níveis plasmáticos da HDL, durante o processo de lipólise das lipoproteínas ricas em triglicérides. Através da medição da LLP, lípidos e apolipoproteínas da superfície dessas lipoproteínas são transferidos para a HDL (ECKEL *et al.*, 1989). No catabolismo dos quilomícrons, o colesterol esterificado da HDL é transferido para as lipoproteínas ricas em triglicérides que em troca doam triglicérides à HDL. A quantidade de colesterol de HDL que é trocado por triglicérides é modulada pelos níveis de lipoproteínas ricas em triglicérides na circulação sanguínea. A LLP, diminui a concentração plasmática de triglicérides, reduz também a transferência de colesterol esterificado da HDL para as lipoproteínas ricas em triglicérides, mediada pela proteína de transferência de ésteres de colesterol (CETP) (PATSCHE *et al.*, 1998). Regula ainda alterações da composição lipídica da HDL, e o catabolismo da apo A1. Quando a LLP encontra-se inibida, a HDL se torna pobre em colesterol esterificado e rica em triglicérides, os quais podem ser rapidamente removidos através da ação da LH, resultando em partículas pobres em lípidos com uma taxa de remoção plasmática aumentada e baixos níveis plasmáticos de HDL. O catabolismo de Apo A1, presente na HDL também encontra-se aumentado, com a inibição da LLP.

Além de sua ação enzimática, a LLP pode facilitar a remoção plasmática dos remanescentes de quilomícrons, aumentando a ligação dessas lipoproteínas com os receptores relacionados com receptores de LDL (LRP), receptores envolvidos na captação das mesmas, sendo que a ligação pode estar reduzida em células com deficiência de SH (BEISEGIEL *et al.*, 1991).

Outra ação não enzimática da LLP está relacionada com a formação de macroagregados moleculares, aumentando a ligação de lipoproteínas à matriz extracelular endotelial através de proteoglicanos, o que pode contribuir com o processo aterogênico (COOPER *et al.*, 1997).

1.9.2. Lipase hepática

A lipase hepática (LH) é uma enzima lipolítica sintetizada no retículo endoplasmático, principalmente nos hepatócitos e encontra-se localizada na superfície de capilares sinusais do fígado (CISAR *et al.*,1987; PERRET *et al.*,2002), A LH madura é então rapidamente secretada. Pode ser considerada como uma lipase de compartimento vascular, sendo encontrada também nas glândulas adrenais e ovários, sendo o tempo médio de permanência da LH no hepatócito em torno de 60 minutos (PERRET *et al.*,2002).

Estudos sugerem que a LH também está envolvida no metabolismo de remanescentes de quilomícrons. A LH, ligada aos remanescentes, tem papel no sequestro e remoção via LRP, um receptor de LDL (De FARIA *et al.*, 1996). O bloqueio da enzima resulta em aumento da remoção das partículas por endocitose via receptor de LDL. Essa enzima apresenta pouca ação na hidrólise de triglicérides dos quilomícrons, sendo que apresenta principalmente uma atividade

de fosfolipase (BORENSZTAJN *et al.*, 1988). A LH facilita a remoção dos remanescentes, provavelmente através de sua ação na hidrólise dos fosfolípidos dessas lipoproteínas. Não se conhece ao certo o mecanismo pelo qual a remoção progressiva de fosfolípidos da superfície dos remanescentes resulta em uma maior afinidade da partícula ao receptor. Sugere-se que quando o remanescente encontra-se com um grande conteúdo de fosfolípidos em sua superfície, o domínio de ligação ao receptor da apo E não encontra-se exposto. Com a diminuição dos fosfolípidos, através da ação da LH, aumenta-se o acesso da apo ao seu receptor, aumentando a afinidade de ligação.

As células hepáticas possuem outras moléculas que agem juntamente com a LH para facilitar a ligação do remanescente ao receptor no fígado e sua captação, como os glicosaminoglicanos (JI *et al.*, 1995) e sítios de ligação à LH na apo B (CHOI *et al.*, 1996).

O papel da lipase hepática no metabolismo de lipoproteínas é bem menos definido em relação à LLP. Sua importância se faz sobre níveis plasmáticos de LDL, onde sua atividade de hidrolisar TG do centro das partículas de LDL. Podendo também modificar a interação de LDL com receptores de LDL. A diminuição de LH, aumenta a concentração plasmática de TG, IDL e HDL (PERRET *et al.*, 2002).

1.9.3. Metabolismo de quilomícrons e aterosclerose

A aterosclerose é uma patologia complexa que envolve a participação de diversos tipos celulares, principalmente as células musculares lisas da túnica média arterial, as células endoteliais, os monócitos/macrófagos e plaquetas, assim

como a interação de dois processos principais, o acúmulo de ésteres de colesterol na íntima e na proliferação celular (ROSS, 1986; WISSLER, 1987).

O fato dos quilomícrons serem as lipoproteínas responsáveis pelo transporte do colesterol da dieta na circulação sanguínea e da primeira etapa de sua degradação ocorrer em contato com o endotélio vascular, levou ZilverSmith a avaliar a possibilidade dos quilomícrons serem por si próprios, aterogênicos (ZILVERSMITH, 1979).

Vários trabalhos têm demonstrado o papel aterogênico dos quilomícrons e seus remanescentes (MARANHÃO *et al.*, 1996; MEYER *et al.*, 1996; WEINTRAUB *et al.*, 1996). Os resultados desses estudos mostram que essas lipoproteínas estão relacionadas com o desenvolvimento (PATSCHE *et al.*, 1992) e com a progressão de doença arterial coronariana (KARPE *et al.*, 1994). Tanto o processo de lipólise de quilomícrons, como a captação hepática dos remanescentes podem estar envolvidos com a aterogênese.

O acúmulo de quilomícrons na circulação sanguínea pode ser causado por uma deficiência na atividade da LLP ou por deficiência da apo CII, presente na superfície dos quilomícrons, que é um cofator de ativação dessa enzima. Concentrações aumentadas de quilomícrons levam a uma maior transferência de triglicérides dos quilomícrons para as HDL2 e conseqüentemente ocorre uma maior transferência de colesterol esterificado das HDL2 para os quilomícrons (BARTER *et al.*, 1987). Como conseqüência, as HDL2 se tornam ricas em triglicérides, com maior dificuldade em se converterem em HDL3, através da ação da LH que hidroliza seus triglicérides. Desta maneira, na hiperquilomicronemia, a HDL não se encontra disponível para a remoção tecidual do colesterol,

prejudicando o transporte reverso do colesterol, anulando assim o seu papel anti-aterogênico.

O acúmulo de remanescentes de quilomícrons na circulação sistêmica pode ser causado principalmente por deficiência de receptores específicos na superfície das células hepáticas ou por deficiência funcional da apo E, presente na superfície dessas lipoproteínas. O maior tempo de permanência dos remanescentes na circulação sanguínea pode levar à deposição de colesterol na parede arterial, o que pode colaborar com o processo aterogênico. Conforme demonstrado em estudos de experimentação animal, os remanescentes podem penetrar no tecido arterial, ocorrendo um aumento da captação e retenção de remanescentes em locais de lesão arterial, principalmente na matriz extra-celular (MAMO & WHEELER, 1994; PROCTOR & MAMO, 1996) .

1.9.4. Uso de EAA e metabolismo de lípidos

O uso crônico de EAA está relacionado com doença arterial coronária e isso pode ser conseqüente às alterações no perfil lipídico, entre outros fatores (HERLEY *et al.*, 1984; COHEN *et al.*, 1988).

Os efeitos dos EAA sobre o metabolismo do colesterol plasmático não foram ainda detalhados (O´SHEA *et al.*, 1970; FREED *et al.*, 1975; WEBB *et al.*, 1984; KUIPERS *et al.*, 1991). Alguns estudos sugerem que os EAA são capazes de induzir um aumento nos níveis plasmáticos de colesterol total (HURLEY *et al.*, 1984; COHEN *et al.*, 1986; COHEN *et al.*, 1988), entretanto outros estudos observaram diminuições nesses níveis (BALDO-ENZI *et al.*, 1990; ZMUDA *et al.*, 1993).

A administração de esteróides pode levar ao aumento da concentração plasmática de LDL-C (HURLEY *et al.*, 1984; WEBB *et al.*, 1984; LENDERS *et al.*, 1988; KLEINER *et al.*, 1989; THOMPSON *et al.*, 1989). Dependendo do tipo e vias de administração, os EAA parecem exercer diferentes efeitos sobre os níveis plasmáticos de LDL-C. Os compostos orais induzem aumento nos níveis de LDL-C (THOMPSON *et al.*, 1989), já os composto intramusculares não alteram os níveis de LDL-C (ZMUDA *et al.*, 1993; KOURI *et al.*, 1996).

Há uma grande evidência que os EAA induzem marcantes reduções nos níveis plasmáticos de HDL-C (ZULIANI *et al.*, 1989; GLAZER,1991; FRIEDL *et al.*, 2000; KUTSCHER *et al.*, 2002; HARTGENS *et al.*, 2004). A redução do HDL-C é principalmente mediada pela lipase hepática, uma enzima que regula os níveis desses lípidos plasmáticos (APPLEBAUN-BOWDEN *et al.*, 1987). Muitos estudos demonstraram um grande aumento da atividade da lipase hepática com concomitante diminuição do HDL-C, durante o tratamento com EAA (TAGGART *et al.*, 1982; KANTOR *et al.*, 1985). A HDL2 parece ser mais afetada que a HDL3 (HURLEY *et al.*, 1984; KLEINER *et al.*, 1989; THOMPSON *et al.*, 1989; HARTGENS *et al.*, 2004). As substâncias orais exercem mais efeitos sobre a HDL-C que as injetáveis (APPLEBAUN-BOWDEN *et al.*, 1987; FRIEDL, 2000; HARTGENS *et al.*, 2004).

Os níveis de triglicérides plasmáticos não apresentaram alterações após a administração de EAA, como pode ser observado em diversos estudos prospectivos em atletas (ALÉN *et al.*, 1985; KLEINER *et al.*, 1989; THOMPSON *et al.*, 1989; KUIPERS *et al.*, 1991; KOURI *et al.*, 1996; HARTGENS *et al.*, 2004).

Poucos estudos investigaram os efeitos dos EAA sobre as apo e estes demonstraram que os EAA diminuem os níveis de apo A1 (THOMPSON *et al.*, 1989; ZULIANI *et al.*, 1989; HARTGENS *et al.*, 2004), enquanto aumentam os níveis de apo B (THOMPSON *et al.*, 1989; ZULIANI *et al.*, 1989; HARTGENS *et al.*, 2004). Entretanto, a magnitude das mudanças depende da droga e dose administrada.

Os efeitos dos EAA no metabolismo de lípides têm sido avaliados através da determinação plasmática dos lípides e lipoproteínas, no jejum. Entretanto, o metabolismo de quilomícrons, ainda não foi avaliado em usuários crônicos de EAA, provavelmente devido a diversos fatores que dificultam o estudo do seu metabolismo no homem. A remoção plasmática de quilomícrons é um processo complexo, afetado por vários fatores, que ocorre em um espaço de tempo muito pequeno.

Outro fator que dificulta a avaliação da cinética de quilomícrons é a natureza da partícula produzida, cujo tamanho e composição variam de acordo com a quantidade de material inicial, com a presença de albumina e com a disponibilidade de outras lipoproteínas para troca de componentes (HUSSAIN *et al.*, 1996).

Alguns estudos (MARANHÃO *et al.*, 1996, MEYER *et al.*, 1996, WEINTRAUB *et al.*, 1996) já demonstraram o papel aterogênico dos quilomícrons. Portanto, a avaliação dos efeitos dos EAA em vários aspectos no metabolismo de quilomícrons pode evidenciar um mecanismo pelo qual essas substâncias participam na gênese da aterosclerose visto serem os quilomícrons e seus remanentes lipoproteínas aterogênicas.

Na década de 80, foram descritas emulsões lipídicas artificiais com composição lipídica e densidade semelhantes ao quilomícron natural. Essas emulsões são destituídas de proteínas, porém quando injetadas na circulação sanguínea, adquirem as diversas apoproteínas, através de colisões com outras lipoproteínas, com consequentes trocas de componentes de superfície (MARANHÃO *et al.*, 1984). Estudos realizados em ratos mostraram que quando injetada endovenosamente, as emulsões apresentam comportamento metabólico similar ao quilomícron natural (HIRATA *et al.*, 1987). Essa metodologia apresenta a vantagem de ultrapassar as etapas de absorção e formação de quilomícrons no intestino. Além disso, o teste é de fácil aplicação e possibilita acompanhar o metabolismo de quilomícrons, através da utilização de isótopos radioativos.

A cinética das emulsões artificiais pode fornecer informações sobre diversos aspectos dinâmicos do metabolismo dos quilomícrons, como velocidade de remoção plasmática, função de receptores celulares, processo de lipólise, transferência de componentes lipídicos de superfície para outras lipoproteínas, ações enzimáticas diversas, destacando-se atividade da LLP, da LCAT e da CETP.

O modelo de emulsões artificiais, como estratégia para avaliação do metabolismo das lipoproteínas pós-prandiais, tem sido utilizado em diversas condições patológicas como doença arterial coronariana (MARANHÃO *et al.*, 1996), lúpus eritematoso sistêmico (BORBA *et al.*, 2000), aneurisma de aorta (HOSNI *et al.*, 2007) e hipertensão arterial maligna (BERNARDES-SILVA *et al.*, 1995).

Portanto, os quilomícrons artificiais constituem uma importante ferramenta para a avaliação de vários processos do metabolismo intravascular de quilomícrons.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos dos EAA sobre:

1. a cinética plasmática de quilomícrons artificiais.
2. alguns aspectos qualitativos da HDL.

CASUÍSTICA

3. CASUÍSTICA

Todos os participantes do estudo foram devidamente esclarecidos sobre todos os procedimentos realizados. Assinaram o Termo de Consentimento de acordo com as normas que regem estudos experimentais com seres humanos, disponibilizadas pelas comissões de ensino, pesquisa e ética médica da Instituição para a realização do mesmo. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq da Diretoria Clínica dos Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 08.10.03, aprovou o Protocolo de Pesquisa n° 706/03, intitulado: “Influência dos esteróides anabólicos androgênicos no metabolismo de quilomícrons” apresentado pela Comissão Científica e de Ética do Instituto do Coração.

Foram avaliados 12 indivíduos que realizavam exercício resistido de força localizada (70-90% da contração voluntária máxima) com uma frequência regular de no mínimo três vezes por semana e que admitiam fazer uso de EAA (Grupo Musculação + EAA).

Esses indivíduos foram comparados com dois grupos:

Grupo Sedentário: 18 indivíduos que não praticavam nenhum tipo de atividade física, não diabéticos e normolipidêmicos. Os participantes deste grupo foram recrutados pelo Laboratório de Metabolismo de Lípidos do Incor – HCFMUSP.

Grupo Musculação: 16 indivíduos que realizavam exercício resistido de força localizada (70-90% da contração voluntária máxima) com uma frequência

regular de no mínimo três vezes por semana e que admitiam não fazer uso de EAA.

Os indivíduos dos grupos Sedentário e Musculação eram normolipidêmicos, não-diabéticos e não faziam uso de drogas que interferiam no metabolismo de lípidos.

Os participantes dos grupos Musculação+EAA e Musculação foram recrutados pela Unidade de Reabilitação Cardiovascular e Fisiologia do Exercício do Incor – HCFMUSP.

Durante o estudo, todos os participantes foram monitorados para detecção dos EAA na urina, na sua forma inalterada ou um ou mais de seus metabólitos, através de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-MS), conforme os procedimentos realizados no Laboratório de Análises Toxicológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

O número de participantes foi baseado em vários estudos de metabolismo de lipoproteínas plasmáticas, utilizando-se nanoemulsões lipídicas artificiais, já desenvolvidos no Laboratório de Metabolismo de Lípidos (MARANHÃO et al., 1996; SPÓSITO et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2002).

TABELA 2. Características clínicas do grupo Sedentário.

Nome	Sexo	Idade	IMC	HAS	Tabagismo	Etilismo	Diabetes	Exercício Físico	EAA Utilizadas
GS	M	24	21	N	N	N	N	N	N
JSF	M	26	23	N	N	N	N	N	N
MR	M	21	24	N	N	N	N	N	N
CRAC	M	27	28	N	N	N	N	N	N
CRB	M	29	25	N	N	N	N	N	N
MP	M	25	23	N	N	N	N	N	N
GDP	M	26	24	N	N	N	N	N	N
SJF	M	29	26	N	N	N	N	N	N
CCS	M	36	23	N	N	N	N	N	N
FSS	M	19	25	N	N	N	N	N	N
DGM	M	31	29	N	N	N	N	N	N
HB	M	19	26	N	N	N	N	N	N
AF	M	26	23	N	N	N	N	N	N
EFSS	M	20	29	N	N	N	N	N	N
RV	M	19	34	N	N	N	N	N	N
JLS	M	31	23	N	N	N	N	N	N
ACLJ	M	23	24	N	N	N	N	N	N
RAMC	M	29	27	N	N	N	N	N	N
Média		26	25						
DP		±5	±3						

M= masculino; IMC= Índice de Massa Corpórea (kg/m^2); HAS= Hipertensão Arterial Sistêmica; Exercício Físico= Exercício resistido de força localizada (70-90% da contração voluntária máxima) com uma frequência regular de no mínimo três vezes por semana; EAA= Esteróides Anabólicos Androgênicos; N=Não; S= Sim; DP=Desvio Padrão.

TABELA 3. Características clínicas do grupo Musculação.

Nome	Sexo	Idade	IMC	HAS	Tabagismo	Etilismo	Diabetes	Exercício	
								Físico	EAA Utilizadas
CEFS	M	24	24	N	N	N	N	S	N
SMS	M	28	24	N	N	N	N	S	N
ROS	M	28	27	N	N	N	N	S	N
AFO	M	28	23	N	N	N	N	S	N
RMSP	M	21	25	N	N	N	N	S	N
MAS	M	24	22	N	N	N	N	S	N
MHR	M	34	26	N	N	N	N	S	N
FVC	M	28	28	N	N	N	N	S	N
EP	M	29	27	N	N	N	N	S	N
DEJ	M	17	26	N	N	N	N	S	N
LCB	M	22	26	N	N	N	N	S	N
RGL	M	22	24	N	N	N	N	S	N
RAN	M	28	26	N	N	N	N	S	N
CRP	M	26	23	N	N	N	N	S	N
DCG	M	24	23	N	N	N	N	S	N
MRR	M	23	27	N	N	N	N	S	N
Média		26	25						
DP		±5	±2						

M= masculino; IMC= Índice de Massa Corpórea (kg/m^2); HAS= Hipertensão Arterial Sistêmica; Exercício Físico= Exercício resistido de força localizada (70-90% da contração voluntária máxima) com uma frequência regular de no mínimo três vezes por semana; EAA= Esteróides Anabólicos Androgênicos; N=Não; S= Sim; DP= Desvio Padrão.

TABELA 4. Características clínicas do grupo Musculação+EAA.

Nome	Sexo	Idade	IMC	HAS	Tabagismo	Etilismo	Diabetes	Exercício Físico	EAA Utilizadas
TCC	M	27	24	N	N	N	N	S	Winstrol
CADF	M	27	25	N	N	N	N	S	Winstrol
FF	M	26	26	N	N	N	N	S	Winstrol
PFC	M	30	30	N	N	N	N	S	Winstrol+ADE
JGM	M	25	27	N	N	N	N	S	Winstrol+Decadurabolin +Durateston+ Deposteron
MCA	M	22	28	N	N	N	N	S	Winstrol+Decadurabolin
MJS	M	29	26	N	N	N	N	S	Winstrol+Equipoise
FTS	M	24	32	N	N	N	N	S	Winstrol,Durateston+ Decadurabolin
EAR	M	27	31	N	N	N	N	S	Winstro+Deposteron+ Anavar
LAG	M	41	27	N	N	N	N	S	Winstrol+Durateston+ Deposteron
JLS	M	31	31	N	N	N	N	S	Winstrol+Decadurabolin
WCSJ	M	25	28	N	N	N	N	S	Winstrol+ADE+ Durateston+Equipoise
Média		29	28						
DP		±5	±3						

M= masculino; IMC= Índice de Massa Corpórea (kg/m^2); HAS= Hipertensão Arterial Sistêmica; Exercício Físico= Exercício resistido de força localizada (70-90% da contração voluntária máxima) com uma frequência regular de no mínimo três vezes por semana; EAA= Esteróides Anabólicos Androgênicos; N=Não; S= Sim; DP= Desvio Padrão.

MATERIAL E MÉTODOS

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Determinações bioquímicas

A concentração plasmática da glicemia e as concentrações plasmáticas de triglicérides e o colesterol total foi determinado por método colorimétrico enzimático (Labtest Diagnóstica S.A., Minas Gerais, Brasil).

O colesterol de HDL foi determinado pelo mesmo método utilizado para o colesterol total, após precipitação química das lipoproteínas que contêm apolipoproteína B, utilizando-se reagente precipitante constituído por cloreto de magnésio e ácido fosfotúngstico.

O valor do colesterol de LDL e do colesterol de VLDL foram calculados pela fórmula de Friedewald (FRIEDEWALD *et al.*, 1972) para valores de triglicérides até 400 mg/dL:

Colesterol de LDL= [colesterol total - (HDL-c + VLDL-c)]

Colesterol de VLDL= triglicérides/5

Para a determinação dos ácidos graxos livres plasmáticos foi utilizado o método colorimétrico enzimático NEFAC ACS-ACOD Method (Wako Chemicals GmbH, Neuss, Germany).

As determinações das concentrações plasmáticas de apolipoproteína A1 e apolipoproteína B foram realizadas através de método imunoturbidimétrico para a determinação quantitativa *in vitro*, utilizando analisadores automáticos Roche (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim).

4.2. Emulsão de quilomícrons artificiais

4.2.1. Preparo de emulsão de quilomícrons artificiais

As emulsões foram preparadas conforme descrito anteriormente (MARANHÃO *et al.*, 1990). Os lípides não radioativos (Sigma Chemical Company, St. Louis, EUA) foram dissolvidos em clorofórmio:metanol, 2:1 e pipetados em frascos de cintilação (2% colestreol, 6% oleato de colesterol, 23% lecitina e 69% trioleína) juntamente com lípides radioativos [$1\text{-}^{14}\text{C}$] oleato de colesterol (éster de colesterol) e/ou glicerol tri[9,10(n) - ^3H] oleato (triglicérides) (Amersham International, Surrey, Reino Unido). As misturas passaram por um processo de secagem em fluxo de nitrogênio e foram mantidas durante 12 horas em dessecador a vácuo para completa evaporação dos solventes orgânicos residuais. Acrescentou-se às misturas secas 6,0 mL de solução NaCl, densidade 1,101 g/mL, pH 7,0. As emulsões foram preparadas por meio de irradiação ultra-sônica das misturas lipídicas em meio aquoso salino, utilizando-se um disruptor de células (Branson Ultrasonics Corp, modelo B450, Danbury, EUA), equipado com ponteira ponta plana de titânio de 1 cm de diâmetro, com uma potência de 70-80 watts, durante 30 minutos, sob fluxo de nitrogênio em uma temperatura de 50°C a 55°C. As emulsões obtidas foram submetidas a duas etapas de ultracentrifugação em gradiente descontínuo de densidade, utilizando-se rotor TH 641 e ultracentrífuga Sorwall (modelo OTD Comb, Wilmington, EUA) para purificação, ou seja, obtenção de partículas homogêneas, com a densidade e diâmetro desejados. Na primeira etapa, acrescentou-se ao volume das emulsões obtidas por irradiação ultra-sônica, soluções salinas com densidade 1,065g/mL, 1,020g/mL e 1,006g/mL, respectivamente. As emulsões foram ultracentrifugadas a 12.000

rotações por minuto, a 22°C durante 15 minutos. Ao término da ultracentrifugação foram desprezados 0,5 mL do sobrenadante e o restante do volume foi submetido a segunda etapa de purificação, através de ultracentrifugação a 36.000 rotações por minuto, a 22°C, durante 25 minutos. As emulsões foram imediatamente esterilizadas, através de passagem em filtros com porosidade de 0,22 µm de diâmetro (Millipore, São Paulo, Brasil) e armazenadas em frascos estéreis.

4.3. Estudos cinéticos

Os pacientes foram submetidos à cateterização endovenosa para coleta de amostra de sangue destinada à determinação de concentrações plasmáticas de colesterol total, LDL-c, HDL-c, VLDL-c, ácidos graxos livres plasmáticos, Apo A1 e Apo B.

Após a coleta acima mencionada, foram injetados, utilizando-se a mesma veia, cerca de 100 µL de emulsão de quilomícrons artificiais, contendo 148 kBq (4µCi) de triglicérides-³H (TG-³H) e 74 kBq (2µCi) de éster de colesterol -¹⁴C (EC-¹⁴C). Através de outra punção venosa, foram colhidas amostras de sangue (6,0 mL) em tubos de ensaio contendo 250 UI de heparina sódica (Roche-Brasil), em intervalos de tempo pré-estabelecidos (2, 4, 6, 10, 15, 20, 30, 45 e 60 minutos), mantendo-se a cateterização venosa com soro fisiológico 0,9%.

Alíquotas de 1,0 mL do plasma colhido neste intervalo de tempo, foram pipetadas em frascos de cintilação apropriados, contendo 5,0 mL de solução cintiladora Ultima Gold™ XR (Packard - Groningen, Holanda), para a determinação da radioatividade presente nas amostras, utilizando-se um contador

Beta (Packard, modelo 1660 TR, EUA). As contagens obtidas foram utilizadas para o cálculo das curvas de decaimento plasmático e dos parâmetros cinéticos dos componentes lipídicos radioativos da emulsão.

4.3.1. Ausência de risco

A dose radiológica injetada foi avaliada de acordo com as normas da "International Commission on Radiological Protection" (ICRP) (SOWBY, 1984). O parâmetro "Annual Limit for Intake" (ALI) de radionuclídeo é definido como a quantidade de radioisótopo que induz a uma dose equivalente de 50 mSv. Para componentes orgânicos marcados com ^{14}C ou ^3H , os valores de ALI são 9×10^7 e 3×10^9 Bq, respectivamente. No presente estudo, a dose injetada de ^{14}C foi de $22,2 \times 10^4$ Bq, o que equivale a: $(22,2 \times 10^4 \text{ Bq} / 9 \times 10^7 \text{ Bq}) \times 50\text{mSv} = 0,1233\text{mSv}$. Para o ^3H , a dose injetada foi de $44,4 \times 10^4$ Bq, portanto a dose equivalente: $(44,4 \times 10^4 \text{ Bq} / 3 \times 10^9 \text{ Bq}) \times 50 \text{ mSv} = 0,0075 \text{ mSv}$.

A dose equivalente incorporada no corpo inteiro em consequência da exposição aos lípidos radioativos foi estimada em 0,04 mSv, conforme avaliado pelo método MIRD - Medical Internal Radiological Dosimetry (SMITH, 1977). Os dados descritos para ratos pesando 0,4 kg foram ajustados para seres humanos, estimando-se um peso médio de 70 kg, utilizando-se um fator de correção com a equação seguinte:

$$KH_{\text{Homen}} = k_{\text{Rato}} \times (70\text{kg} / 0,4\text{kg})^{1-x}$$

O valor exponencial X representa uma escala de variações interespecies da farmacocinética, levando em consideração o tempo biológico de cada espécie, que varia de 0,65 a 0,95. Considerando o valor de $X=0,86$, estima para os seres

humanos um nível plasmático total de 204 mg/dL e uma excreção diária de colesterol de 1250 mg/dia (BOXENBAUM, 1983).

Esse valor está dentro da média descrita em avaliações laboratoriais desses parâmetros em seres humanos (MARANHÃO, 1983).

O método acima descrito permite estimar que os participantes deste estudo receberão por dose injetada de EC-¹⁴C, 0,26 mGy no intestino grosso inferior, 0,5 mGy no intestino grosso superior, 0,18 mGy na pele, 0,13 mGy na superfície dos ossos e 0,13 mGy no fígado. A dose recebida pelos pulmões, coração, ovários ou testículo é desprezível. Em conformidade com as normas de proteção radiológica (Comissão Nacional de Energia Nuclear, 1988), este valor é muito inferior ao máximo permitido. A dose de radiação induzida pela injeção dos radioisótopos é menor que a obtida com a maioria dos procedimentos radiológicos, sendo cerca de 10 vezes menor que a dose induzida por uma radiografia de crânio (ALTMAN, 1974).

4.3.2. Análise de dados cinéticos

As contagens de radioatividade obtidas nas amostras de plasma dos pacientes durante os 60 minutos foram utilizadas para a determinação das curvas de decaimento plasmático e cálculo dos parâmetros cinéticos dos componentes lipídicos radioativos da emulsão, através de análise compartimental, com a utilização do programa computacional desenvolvido para análise de cinética de emulsões, AnaComp versão 4.1 (MESQUITA, 1994).

4.3.3. Análise da cinética plasmática dos quilomícrons artificiais

Devido ao comportamento plasmático da emulsão de quilomícrons artificiais utilizada nesse estudo, um modelo com 4 compartimentos foi empregado para avaliar ambos traçadores EC-¹⁴C e TG-³H (REDGRAVE & ZECH, 1987).

O modelo compartimental foi desenhado seguindo-se regras que combinam um bom ajuste dos pontos experimentais à curva e o conhecimento atual sobre os fatores fisiológicos e físico-químicos que regem o comportamento dos quilomícrons no plasma.

O modelo está de acordo com o ajuste da curva experimental que mostra o seguinte perfil: ambas as curvas de retenção de radioatividade (EC-¹⁴C e TG-³H) apresentam uma queda rápida, seguida de um platô ou uma discreta elevação, o que sugere que haja reciclagem dos compostos radioativos incorporados nas VLDL durante a sua síntese hepática (compartimento 4). Esse comportamento também foi observado por Redgrave e Zech (1987), por Redgrave *et al.* (1983) e posteriormente por Maranhão *et al.* (1996). Esse achado é similar ao comportamento plasmático dos quilomícrons, os quais mostram um padrão bifásico: remoção rápida inicial da dose injetada, e posteriormente, depuração mais lenta das partículas restantes (BERR e KERN, 1984).

4.3.4. Descrição do modelo

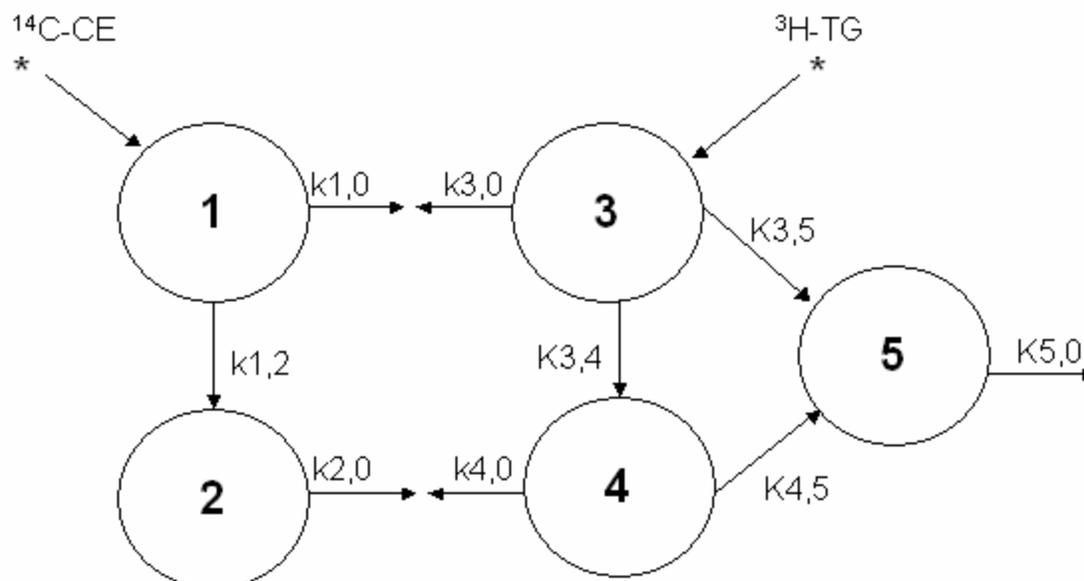


Figura 3. Modelo compartimental adotado para análise da cinética de quilomícrons artificiais (MESQUITA, 1994).

No modelo utilizado (Figura 3), a cinética da emulsão foi avaliada através das avaliações isoladas das remoções plasmáticas de seus componentes lipídicos radioativos, pelo fato dos mesmos apresentarem cinéticas diferentes. Assim como no metabolismo dos quilomícrons naturais, os triglicérides da emulsão são hidrolizados durante o metabolismo, enquanto que o éster de colesterol permanece no interior da partícula até a captação da mesma pelo fígado.

4.3.5. Análise da cinética do éster de colesterol radioativo

A curva de remoção plasmática do éster de colesterol radioativo reflete a cinética do éster de colesterol e apresenta um perfil biexponencial com um rápido decaimento inicial seguido de outro mais lento. Esse perfil levou à adoção de um modelo com dois compartimentos que representam o éster de colesterol dos quilomícrons artificiais no espaço intravascular, tal como foi injetado (compartimento 1) ou na partícula remanescente, resultante do processo de lipólise (compartimento 2).

- o compartimento 1 representa quando a emulsão marcada com EC-¹⁴C é introduzida no espaço intravascular;
- o $k_{1,0}$ representa a fração da emulsão que é retirada do compartimento plasmático através de via não específica;
- o $k_{1,2}$ representa a fração da emulsão que sofre a ação da lipase lipoprotéica, perdendo triglicérides e se transformando em uma partícula menor, o remanescente de quilomícrons, o qual é representado pelo compartimento 2;
- o compartimento 2 representa o remanescente de quilomícrons, resultante da ação lipolítica;
- o $k_{2,0}$ representa a fração de remanescente de quilomícrons que é removida do compartimento plasmático, através de captação principalmente hepática.

4.3.6. Análise cinética dos triglicérides radioativos

A curva de remoção plasmática dos triglicérides radioativos representa a cinética das moléculas de triglicérides. Embora essa curva apresente as mesmas características da curva de remoção de EC-14C, o seu decaimento é mais rápido devido á ação da lipase lipoprotéica. A cinética do TG-³H é representada por três compartimentos: os triglicérides na partícula, tal como foi injetado na circulação sanguínea (compartimento 3), as partículas remanescentes (compartimento 4) e os ácidos graxos livres, derivados da hidrólise dos triglicérides (compartimento 5).

- o compartimento 3 representa quando a emulsão marcada TG-³H é injetada na circulação sanguínea;
- o $k_{3,0}$ representa a fração da emulsão que é retirada do compartimento plasmático através de via não específica;
- o $k_{3,4}$ representa a fração da emulsão que sofre a ação da lipase lipoprotéica, perde triglicérides e se transforma no remanescente de quilomícron;
- o compartimento 4 representa o remanescente de quilomícron;
- o $k_{3,5}$ representa a fração de ácidos graxos livres formada a partir da hidrólise dos triglicérides, pela ação da lípase lipoprotéica sobre os quilomícrons;
- o $k_{4,5}$ representa a fração de ácidos graxos livres formada a partir da hidrólise dos triglicérides, pela ação da lípase lipoprotéica sobre os quilomícrons);
- o $k_{4,0}$ representa a fração de remanescente captada principalmente pelo fígado;

- o $k_{5,0}$ representa o desaparecimento dos ácidos graxos livres do compartimento extravascular.

Para representar a remoção das partículas foram utilizadas taxas fracionais de remoção (TFR), dos lípides marcados, calculados pela média ponderada das respectivas taxas fracionais de transferência (k).

A análise compartimental proposta por Redgrave e Zech (1987) para estudo de cinéticas de emulsões foi modificado por Mesquita (1994) e nossa análise compartimental foi realizada pelo programa AnaComp versão 4.1 (MESQUITA, 1994).

4.4. Determinação dos níveis de triglicérides na HDL

A fração de HDL foi obtida através de precipitação química das lipoproteínas que contêm apolipoproteína B, utilizando-se reagente precipitante constituído por cloreto de magnésio e ácido fosfotúngstico. Após a precipitação, foi coletado o sobrenadante e neste, determinado a concentração de triglicérides através de método enzimático colorimétrico (Labtest Diagnóstica S.A., Minas Gerais, Brasil).

4.5. Determinação do diâmetro da partícula de HDL

O diâmetro das partículas de HDL foi determinado por espalhamento de luz em ângulo de 90° , utilizando o equipamento *Laser Light Scattering* (ZetaPALMS, Brookhaven Instr. Corp.).

Após separação por precipitação química das partículas lipoprotéicas e seus remanescentes que contêm apo B por adição da solução de polietilenoglicol

8000 (200g/L). O sobrenadante contendo HDL foi diluído em solução de cloreto de sódio (NaCl) 0,15M contendo EDTA 0,01% (pH 7,5) e a solução resultante foi filtrada através de passagem em filtro com porosidade 0,22 μ m. O diâmetro (nm) das partículas da HDL em solução foram determinados por coleta das leituras sendo os resultados expressos pela média obtida dessas leituras (LIMA & MARANHÃO, 2004).

4.6. Determinação da Área Sob a Curva (ASC) ácidos graxos

Para a determinação dos ácidos graxos provenientes da ação lipolítica nos triglicérides marcados dos quilomícrons artificiais. Foram retiradas alíquotas de 1,5 mL de plasma de cada amostra de sangue colhida após a injeção dos quilomícrons artificiais. As alíquotas foram submetidas à extração de lípides pelo método de Folch (FOLCH et al, 1957) e cromatografia de camada delgada para separação das frações lipídicas. Após a separação, foi determinada a radioatividade presente na fração correspondente aos ácidos graxos livres e traçada a curva dos mesmos.

4.7. Atividade da lipase lipoprotéica e lipase hepática

Para a avaliação da atividade lipolítica, foram utilizadas como substrato, uma emulsão lipídica artificial obtida conforme descrito anteriormente, marcada apenas com TG-³H.

Os pacientes receberam uma injeção endovenosa de heparina sódica (100 U/kg) e após 10 minutos foram colhidas amostras de sangue (20 mL) em tubos contendo heparina (50 μ L) (GIANINNI *et al.*, 1970, SULTAN *et al.*, 1990). As

amostras foram imediatamente colocadas em banho de gelo e centrifugadas em centrífuga refrigerada Sorvall (modelo RT7, Wilmington, EUA), a 2.700 rpm, 4°C, durante 10 minutos.

Para a determinação da atividade lipolítica total, alíquotas de 500 µL de plasma dos participantes foram incubadas com 25 µL da emulsão artificial, em banho-maria a 37°C, sob agitação, em sete tubos de ensaio, correspondentes aos tempos de incubação (5, 15, 30, 45, 60, 120 e 180 minutos). Após cada tempo, as amostras foram retiradas do banho-maria, colocadas imediatamente em banho de gelo e submetidas à extração de lipídeos pelo método de Folch (FOLCH *et al.*, 1957) com clorofórmio:metanol:água destilada (5mL: 2,5 mL: 2,5mL). Após 12 horas a 4°C, os infranadantes das amostras foram aspirados, secos sob fluxo de nitrogênio, ressuspensos com 200 µL de clorofórmio:metanol (2:1) e aplicados em placas de cromatografia em camada delgada que continham sílica gel 60 H como fase estacionária. Para a determinação da atividade da lipase hepática, foi realizado outro ensaio com alíquotas de 500 µL de plasma, 0,029 g de NaCl e 25 µL de emulsão, da mesma maneira descrita acima, para a atividade lipolítica total.

Após a aplicação, as placas foram colocadas em sistema solvente, constituído de n-hexano/éter etílico/ácido acético glacial (70 mL: 30 mL: 1 mL), para separação das frações lipídicas. Foi determinada a radioatividade presente na fração correspondente aos triglicérides, em solução cintiladora descrita anteriormente, utilizando-se um contador Beta (Packard modelo 2100 TR, EUA). Através das contagens obtidas, foram calculadas as percentagens de triglicérides ainda restantes na emulsão em cada tempo de incubação estudado. Foram

traçadas as curvas de hidrólise dos triglicérides radioativos da emulsão e calculadas as áreas sob as curvas (ASC). A atividade da LLP foi calculada através da subtração da atividade lipolítica total menos a atividade da LH.

4.8. Detecção de EAA na urina

A detecção dos EAA em amostras de urina foi realizada através do aparelho de cromatografia gasosa associada à espectrometria de massa *Hewlett Packard*, modelo 5972 e 6890, respectivamente acoplados ao computador HP, modelo *Vectra XM* com *Chemstation* para processamento de cromatogramas e espectros. Procedeu-se à análise qualitativa em sistema cromatográfico constituído de coluna Hewlett Packard ultra 1 metilsilicone (17m x 200 µm x 0.11 µm) de acordo com os procedimentos utilizados no Laboratório de Análises Toxicológicas – LAT – FCFUSP.

4.8.1. Análise de amostras urinárias por CG/MS

4.8.1.1. Solução padrão utilizada na Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massa (CG/MS):

Foram utilizados padrões de Testosterona, Epitestosterona, Boldenona, Andros-1-en-17beta-o1-ona, 1-metil-5alfa-androstan-3alfa-o1-17-ona, fornecidos pelo Prof. Dr. Franz T. Delbeke do Laboratório de Farmacologia, Farmácia e Toxicologia da Universidade da Bélgica, credenciado pelo Comitê Olímpico Internacional (COI).

Os demais padrões foram adquiridos da Radian Analytical Products (Texas, EUA). Os tampões e soluções de derivação foram adquiridos das seguintes empresas, Aldrich Chemical Company (St. Louis, EUA), Sigma (St. Louis, EUA) , Fluka (Suíça), Merck (Darmstadt, Alemanha) e Synth (Alemanha).

4.8.1.2. Análise das amostras de urina:

Alíquotas de 4 mL de amostra (urina) foram acrescidas de 2 mL de tampão fosfato (pH = 6.8) e de 50 μ L da enzima Beta-Glucuronidase – *E.Coli*-25000U e colocadas em estufa à 55°C por 1 hora. Após esse período as amostras foram retiradas da estufa e deixadas sob a bancada até atingirem a temperatura ambiente. Em seguida, foi adicionado 100 μ L de metiltestosterona 2 μ g/mL (padrão interno) e algumas miligramas de tampão coca (NaHCO₃/K₂CO₃, 2:1) até a amostra atingir pH entre 10 e 10,5. Foram adicionados, então 10 mL de éter recém destilado e as amostras foram agitadas por 15 minutos em agitador mecânico e depois centrifugadas a 2.000 rpm por 5 minutos. Após a centrifugação, a fase orgânica foi transferida para um béquer contendo sulfato de sódio e logo após para um tubo cônico com capacidade de 10 mL. A amostra foi submetida a evaporação sob fluxo de nitrogênio a 45°C até secura total. Em seguida, a amostra foi ressuspensa com 500 μ L de éter etílico e transferida para um tubo de derivação. Foi novamente submetida ao fluxo de nitrogênio até a secagem e submetido a derivação com 40 μ L do agente derivante (MSTFA/NH₄I/Etanolol) à 80°C por 2 horas. Dessa solução final, 2 μ L foram injetados no CG/MS com o injetor à 270°C no modo splitless, tendo como gás carreador o hélio que

apresentará pressão de 9.2 psi, fluxo de 0,6 mL/min, velocidade de 39 cm/s e detector no modo de detecção SIM.

Os limites de detecção (LD) foram determinados pelo método empírico de diluições sucessivas com urina contendo os EAA e considerando tal valor como a menor concentração determinável com precisão aceitável.

TABELA 5. Limites de detecção dos esteróides anabólicos androgênicos avaliados.

EAA	LD (ng/dL)
Epitestosterona	1,0
Testosterona	1,0
Oximesterona	0,5
Noreticolanolona	2,0
Norandrosterona	1,5
3 hidro-estanozolol	15,0
16 beta hidroxi-estanozolol	15,0
17 alfa-etil	5,0
17 alfa-metil 5 beta	10,0
9 alfa F 18	5,0
17 alfa-metil 5 alfa	5,0
9 alfa F 17	10,0
Metenolona	5,0
Oxandrolona	2,0

4.9. Análise Estatística

Inicialmente todas as variáveis foram analisadas descritivamente. Para as variáveis quantitativas esta análise foi feita através da observação dos valores mínimos e máximos, e do cálculo de médias e desvios-padrão e medianas.

Para a análise da hipótese de igualdade de entre os três grupos utilizou-se a Análise de Variância a um fator com comparações múltiplas realizadas através de Bonferroni (ROSNER, 1986). Quando a suposição de normalidade dos dados foi rejeitada, utilizou-se a transformação logarítmica. Caso ainda a normalidade dos dados foi rejeitada aplicou-se o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, com comparações múltiplas realizadas através de Dunn (ROSNER, 1986).

O nível de significância utilizado para os testes foi de 5%.

O teste de Mann-Whitney foi aplicado para comparar as Taxas Fracionais de Remoção (TFR) entre os grupos Sedentário, Musculação e Musculação+EAA.

O coeficiente de correlação (r) entre as TFR e o perfil lipídico, ácidos graxos livres e apolipoproteínas foi calculado utilizando o teste de correlação de Spearman.

Todos os testes foram feitos utilizando-se o software GraphPad Prism version 3.00 for Windows, GraphPad Software, San Diego California USA.

RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1. Perfil de lípidos, apolipoproteínas e glicemia.

As concentrações plasmáticas de colesterol total, assim como os níveis plasmáticos de VLDL-C, triglicérides e glicose foram similares nos grupos Sedentário, Musculação e Musculação+EAA (TABELA 6).

Em relação às concentrações plasmáticas de LDL-C, o grupo Musculação+EAA apresentou níveis plasmáticos de LDL-C maiores que o grupo Sedentário, porém não foram diferentes quando comparados com o grupo Musculação. As concentrações plasmáticas de LDL-C nos grupos Sedentário e Musculação foram similares (TABELA 6).

Os níveis plasmáticos de HDL-C foram menores no grupo Musculação+EAA comparando-se com os grupos Sedentário e Musculação. Os grupos Sedentário e Musculação não diferiram entre si (TABELA 6).

As concentrações plasmáticas de APO A1 foram menores no grupo Musculação+EAA comparando-se com os grupos Sedentário e Musculação. Os grupos Sedentário e Musculação não foram diferentes. As concentrações plasmáticas de APO B foram similares nos três grupos estudados (TABELA 6).

TABELA 6. Características físicas e níveis plasmáticos de lípidos, lipoproteínas, glicose e apolipoproteínas dos grupos Sedentário, Musculação e Musculação+EAA.

Parâmetros	Sedentário (n = 18)	Musculação (n = 16)	Musculação+EAA (n = 12)	p
Idade (anos)	26±5	26±4	29±5	0,165
IMC (kg/m²)	25±3	25±2	28±3*	0,004
Colesterol Total (mg/dL)	160±36	168±52	184±53	0,393
VLDL-C (mg/dL)	20±10	21±7	19±12	0,791
LDL-C (mg/dL)	101±31	110±52	143±54 [†]	0,047
HDL-C (mg/dL)	41±7	38±13	22±13*	< 0,001
Triglicérides (mg/dL)	96±51	104±37	93±71	0,604
Glicose (mg/dL)	85±11	92±21	83±16	0,372
Apo A1 (mg/dL)	156±35	140±24	88±50*	< 0,001
Apo B (mg/dL)	86±20	86±18	111±47	0,161

Média±Desvio Padrão.

* Grupo Musculação+EAA versus grupos Sedentário e Musculação.

[†] Grupo Musculação+EAA versus grupo Sedentário.

5.2. Decaimento plasmático do triglicérides e éster de colesterol radioativos da emulsão de quilomicrons artificiais.

Não foram observadas diferenças nas taxas fracionais de remoção dos triglicérides radioativos (TFR TG-³H) da emulsão de quilomicrons artificiais entre os grupos Sedentário, Musculação e Musculação+EAA (TABELA 7) (FIGURA 4).

As taxas fracionais de remoção do éster de colesterol radioativo (TFR EC-¹⁴C) da emulsão de quilomicrons artificiais foram menores no grupo Musculação+EAA comparando-se aos grupos Sedentário e Musculação (TABELA 7) (FIGURA 5).

TABELA 7. Taxa fracional de remoção dos triglicérides (TFR TG-³H) e éster de colesterol (TFR EC-¹⁴C) da emulsão de quilomicrons artificiais.

TFR (min ⁻¹)	Sedentário (n=12)	Musculação (n=7)	Musculação+EAA (n=12)
TFR TG- ³ H	0,0335±0,0231	0,0302± 0,0234	0,0254± 0,0152
TFR EC- ¹⁴ C	0,0155± 0,0100	0,0164± 0,0159	0,0073± 0,0080 ^{*¥}

Média±Desvio Padrão.

^{*}p < 0,03 Grupo Musculação+EAA versus Grupo Musculação.

[¥]p < 0,03 Grupo Musculação+EAA versus Grupo Sedentário.

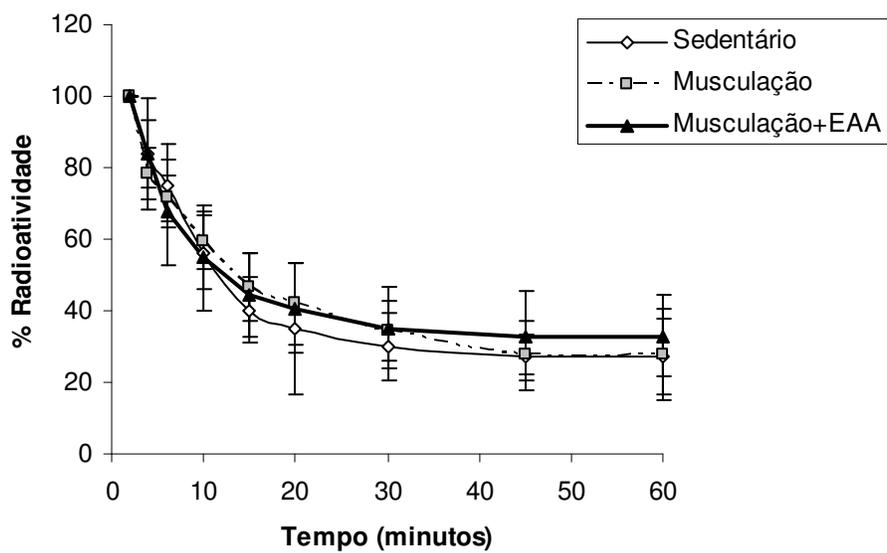


FIGURA 4. Curvas de remoção plasmática do TG-³H dos grupos Sedentário, Musculação e Musculação+EAA.

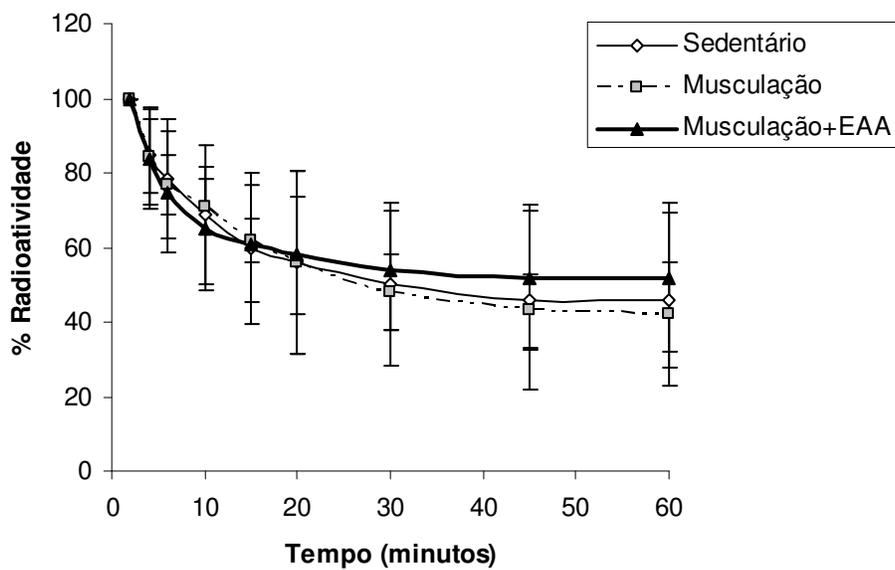


FIGURA 5. Curvas de remoção plasmática do EC-¹⁴C dos grupos Sedentário, Musculação e Musculação+EAA.

5.3. Atividade das enzimas lipase lipoprotéica e lipase hepática.

A avaliação da atividade da lipase lipoprotéica (LLP), determinada pela área sob a curva de hidrólise de triglicérides (ASC/TG) e geração de ácidos graxos (ASC/AG), foram similares nos grupos Sedentário, Musculação e Musculação+EAA (TABELA 8).

A avaliação da atividade da lipase hepática (LH), determinada pela área sob a curva de hidrólise de triglicérides (ASC/TG) foi similar nos três grupos estudados (TABELA 8).

Entretanto, atividade da lipase hepática (LH), determinada pela área sob a curva de geração de ácidos graxos (ASC/AG), foi maior no grupo Musculação+EAA quando comparados aos grupos Sedentário e Musculação. Os grupos Sedentário e Musculação não diferiram entre si (TABELA 8).

TABELA 8. Atividade da lipase lipoprotéica e lipase hepática entre os grupos Sedentário, Musculação e Musculação+EAA.

Parâmetros	Sedentário (n = 12)	Musculação (n = 7)	Musculação+EAA (n = 12)	<i>p</i>
LLP ASC/TG	5893±1102	8006±5723	5649±4033	0,720
LLP ASC/AG	10706±2782	9495±5723	9951±4888	0,997
LH ASC/TG	11999±2111	11442±4329	9709±2699	0,252
LH ASC/AG	3898±1232	2058±749	7243±1822*	< 0,001

Média ± Desvio Padrão; One-Way ANOVA.

* Grupo Musculação+EAA versus grupos Sedentário e Musculação.

5.4. Ácidos graxos no plasma

A determinação dos ácidos graxos foi avaliada através da área sob a curva de hidrólise de triglicérides (ASC-TG) e área sob a curva de geração de ácidos graxos (ASC-AG). Não foram observadas diferenças entre os grupos Sedentário, a Musculação e Musculação+EAA em relação á ASC-TG e ASC-AG (TABELA 9).

Os níveis plasmáticos de ácidos graxos livres também foram similares nos três grupos estudados (TABELA 9).

TABELA 9. Área sob a curva de hidrólise de triglicérides radioativos a partir dos quilomícrons artificiais (ASC-TG) e geração de ácidos graxos (ASC-AG) e níveis de ácidos graxos livres nos grupos Sedentário, Musculação e Musculação+EAA.

Parâmetros	Sedentário (n = 12)	Musculação (n = 7)	Musculação+EAA (n = 12)	<i>p</i>
ASC-TG	2992±1086	3089±469	2513±907	0,379
ASC-AG	2741±980	2283±375	2366±670	0,807
Ácidos Graxos (mg/dL)	0,39±0,21	0,40±0,24	0,53±0,25	0,158

Média ± Desvio Padrão; One-Way ANOVA.

5.5. Diâmetro partícula da HDL e concentração plasmática de triglicérides presentes na HDL.

Não foram observadas diferenças em relação ao diâmetro da HDL e concentração plasmática de triglicérides presentes na HDL nos grupos Sedentário, Musculação e Musculação+EAA (TABELA 10).

TABELA 10. Diâmetro da partícula da HDL e da concentração plasmática de triglicérides presentes na HDL entre os grupos Sedentário, a Musculação e Musculação+EAA.

Parâmetros	Sedentário (n = 18)	Musculação (n = 16)	Musculação+EAA (n = 12)	p
Diâmetro da HDL (nm)	8,6±0,9	8,7±0,5	8,9±1,0	0,335
TG/HDL (mg/dL)	5±3	5±3	5±4	0,967

Média ± Desvio Padrão; One-Way ANOVA.

5.6. EAA na urina

A detecção dos EAA ou seus produtos de biotransformação, determinados pela técnica de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria (CG-MS), foi positiva em todos os participantes do grupo Musculação+EAA, com limite de detecção (LD) igual ou superior aos limites padronizados para os diversos tipos de EAA.

Não foi detectada a presença de EAA ou seus produtos de biotransformação, em nenhum participante do grupo Musculação. Nestes indivíduos os limites de detecção (LD) dos EAA foram superiores aos limites padronizados para os diversos tipos de EAA.

5.7. Correlações entre os lípidos, apolipoproteínas e taxa fracional de remoção dos quilomícrons artificiais.

Há uma correlação positiva e significativa entre a TFR TG-³H e os níveis plasmáticos de colesterol total e LDL-C no grupo Sedentário. Entretanto, uma correlação negativa significativa foi observada com as concentrações plasmáticas de APO B. A TFR TG-³H correlacionou-se positivamente com os níveis plasmáticos de ácidos graxos livres no grupo Musculação+EAA (TABELA 11).

Há correlação negativa e significativa entre a TFR CE-¹⁴C e os níveis plasmáticos de colesterol total, VLDL-C e triglicérides no grupo Sedentário e uma correlação positiva foi observada entre a TFR CE-¹⁴C e a concentração plasmática de HDL-C no grupo Musculação+EAA (TABELA 12).

TABELA 11. Correlação entre as Taxas Fracionais de Remoção de Triglicérides (TFR TG-³H) e o perfil lipídico, ácidos graxos livres e apolipoproteínas nos grupos Sedentário, a Musculação e Musculação+EAA. Dados expressos como coeficientes de correlação (r) de Spearman.

PARÂMETROS (mg/dL)	SEDENTÁRIO TFR TG- ³ H		MUSCULAÇÃO TFR TG- ³ H		MUSCULAÇÃO+EAA TFR TG- ³ H	
	r	p	r	p	r	p
Colesterol Total	0,621	0,024	0,371	0,469	-0,056	0,863
HDL-C	0,407	0,168	-0,334	0,518	0,367	0,239
LDL-C	0,597	0,031	0,464	0,354	-0,139	0,665
VLDL-C	-0,097	0,754	0,257	0,623	-0,0246	0,939
Triglicérides	-0,217	0,476	0,257	0,623	-0,196	0,541
Glicose	0,060	0,208	0,143	0,787	-0,090	0,803
Ácidos Graxos Livres	0,771	0,072	0,600	0,285	0,790	0,002
Apolipoproteína A1	0,771	0,072	0,000	1,000	-0,030	0,934
Apolipoproteína B	-0,829	0,0412	0,400	0,600	0,165	0,646

Teste de correlação de Spearman. HDL-c = colesterol da lipoproteína de alta densidade; LDL-c = colesterol da lipoproteína de baixa densidade; VLDL-c = colesterol da lipoproteína de muito baixa densidade; Apo A1 = Apolipoproteína A1; Apo B = Apolipoproteína B.

TABELA 12. Correlação entre as Taxas Fracionais de Remoção de Colesterol Éster (TFR CE-¹⁴C) e o perfil lipídico nos grupos Sedentário, a Musculação e Musculação+EAA. Dados expressos como coeficientes de correlação (r) de Spearman.

PARÂMETROS (mg/dL)	SEDENTÁRIO TFR CE- ¹⁴ C		MUSCULAÇÃO TFR CE- ¹⁴ C		MUSCULAÇÃO+EAA TFR CE- ¹⁴ C	
	r	p	r	p	r	p
Colesterol Total	-0,566	0,044	0,551	0,257	-0,218	0,497
HDL-C	0,296	0,129	-0,216	0,682	0,610	0,035
LDL-C	-0,443	0,129	0,662	0,152	-0,378	0,227
VLDL-C	-0,568	0,043	-0,029	0,957	0,000	1,000
Triglicérides	-0,608	0,028	-0,029	0,957	-0,138	0,669
Glicose	0,314	0,544	0,058	0,913	0,092	0,800
Ácidos Graxos Livres	0,0286	0,957	0,564	0,322	0,413	0,182
Apolipoproteína A1	0,714	0,111	0,000	1,000	0,375	0,285
Apolipoproteína B	-0,257	0,623	0,400	0,600	-0,223	0,535

Teste de correlação de Spearman. HDL-c = colesterol da lipoproteína de alta densidade; LDL-c = colesterol da lipoproteína de baixa densidade; VLDL-c = colesterol da lipoproteína de muito baixa densidade; Apo A1 = Apolipoproteína A1; Apo B = Apolipoproteína B.

DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

Com o objetivo de avaliar os efeitos do EAA no perfil lipídico e no metabolismo de quilomícrons sem a influência do exercício resistido de força, todas as avaliações do presente estudo foram realizadas no grupo Musculação+EAA e também em um grupo constituído por indivíduos que realizavam o mesmo tipo de exercício, porém não faziam uso de EAA (grupo Musculação), além de um grupo Sedentário, constituído por indivíduos sedentários.

Neste estudo, não foram observadas diferenças no perfil lipídico e de apolipoproteínas entre os grupos Sedentário e Musculação. Tampouco houve diferenças entre os dois grupos na remoção plasmática dos quilomícrons artificiais, na atividade da LLP e da LH, na concentração plasmática de ácidos graxos livres e na geração de ácidos graxos livres a partir dos triglicérides dos quilomícrons artificiais, na concentração de triglicérides na fração HDL e no tamanho de partículas desta lipoproteína. O exercício, dependendo da sua intensidade, leva a aumento do HDL-C (KODAMA *et al.*, 2007), mas não tende a diminuir os níveis de LDL-C (HALVERSTADT *et al.*, 2007). Quanto à trigliceridemia de jejum, o exercício tende a diminuí-la em indivíduos hipertrigliceridêmicos, enquanto que em indivíduos com trigliceridemia normal os efeitos são menores. É importante notar, todavia, que essas observações foram feitas após períodos de exercício aeróbico. É possível que a modalidade de treinamento do grupo Musculação, pouco estudada na literatura, divirja substancialmente nos efeitos no metabolismo de lípidos quando comparada ao

exercício aeróbico. Os nossos dados, que indicam uma virtual ausência de efeitos desta modalidade de treinamento, parecem sugerir isto.

Contrastando com a falta de efeito da modalidade de exercício empregada pelo grupo Musculação, no grupo Musculação+EAA várias alterações foram registradas nos parâmetros de metabolismo lipídico medidos neste estudo. Isto indica que o uso de EAA pode ser causa de distúrbios na regulação deste metabolismo que podem ter implicações na aterogênese.

De fato, tem sido reportado na literatura que o uso crônico de EAA pode causar alterações na concentração plasmática de lipoproteínas, sendo que a principal delas corresponde à diminuição acentuada de HDL-C (ZULIANI *et al.*, 1989; GLAZER *et al.*, 1991; FRIEDL *et al.*, 2000; KUTSCHER *et al.*, 2002; HARTGENS *et al.*, 2004). Assim como nos estudos citados acima, as concentrações de HDL-C diminuíram pelo uso de EAA. Isto pode estar em parte relacionado com o aumento da atividade da LH, encontrado em nosso estudo. Essa enzima pode ser regulada por hormônios gonadais. A maior atividade da LH pode levar a um aumento do catabolismo da HDL e a uma diminuição de fosfolípidos na sua superfície, o que pode facilitar a remoção do colesterol dessa lipoproteína (APPLEBAUN-BOWDEN *et al.*, 1987; ZMUDA *et al.*, 1993; GRUNDY *et al.*, 1999).

Em indivíduos que fazem uso de EAA ocorre uma maior incidência de doença arterial coronária (HERLEY *et al.*, 1984; APPLEBAUN-BOWDEN *et al.*, 1987; COHEN *et al.*, 1988). Apesar da LH apresentar importantes funções no transporte reverso do colesterol, como aumentar o efluxo de colesterol por meio da maior formação de pré- β HDL e aumentar a captação hepática de éster de

colesterol da HDL (BARRANS *et al.*, 1994; CLAY *et al.*, 1992), essas ações podem ser insuficientes para superar os efeitos aterogênicos relacionados à diminuição de HDL-C devido ao aumento da atividade da LH com o uso de EAA.

Os níveis plasmáticos de LDL-C foram maiores no grupo Musculação+EAA, comparando-se com os grupos Sedentário e Musculação. Já os níveis plasmáticos de colesterol total, VLDL-C e triglicérides não diferiram entre os grupos estudados.

Os níveis plasmáticos de ácidos graxos livres foram similares. As concentrações plasmáticas de Apo A1 apresentaram-se diminuídas no grupo EAA, comparando-se aos demais grupos. Essa diminuição, também encontrada em outros estudos (ALBERS *et al.*, 1984; BAUSSERMAN *et al.*, 1997) pode ser devido a um aumento do catabolismo da Apo A1 e também a uma diminuição da síntese dessa proteína (HAFNER *et al.*, 1983). Já os níveis plasmáticos de Apo B encontraram-se similares nos três grupos estudados, o que tem sido também observado em outros estudos (ALBERS *et al.*, 1984).

Em nosso estudo, o uso do EAA não alterou o diâmetro da HDL, um achado que contraria a observação de Grundy *et al.* (1999) que encontraram diminuição do tamanho dessa lipoproteína em indivíduos que fazem uso de estanozolol. Esta divergência pode ser atribuída também a diferentes abordagens metodológicas, mas é de se ressaltar que as diferenças entre EAA e controles relatadas por Grundy foram muito pequenas.

O fato de, em nosso estudo, o EAA não ter alterado o conteúdo de triglicérides presentes nas partículas de HDL está de acordo com outros estudos da literatura (FRIEDL *et al.*, 2000; KUTSCHER *et al.*, 2002; HARTGENS *et al.*, 2004). É de se supor que aumentos da trigliceridemia levem a aumentos do

conteúdo de triglicérides na HDL, por transferência deste lípide da VLDL para a HDL, mas este fato não ocorreu, não tendo também havido diferenças nos níveis de triglicérides. Essas observações podem ser estendidas para os resultados de atividade da LLP e determinação da área sobre a curva de ácidos graxos livres a partir dos triglicérides dos quilomícrons artificiais, que foram similares entre os três grupos. Quanto á LLP, também em outros trabalhos prévios documentou-se que não é alterada pelo uso de EAA (HAFFNER *et al.*, 1983; BAUSSERMAN *et al.*, 1997).

A medida da área sobre a curva de geração de ácidos graxos livres a partir dos triglicérides dos quilomícrons artificiais é inteiramente nova. Aqui se observa o processo de lipólise dos quilomícrons artificiais visto pelo ângulo dos ácidos graxos gerados pelo processo e que não são imediatamente captados pelas células, ficando dissolvidos no compartimento plasmático, provavelmente ligados ao seu transportador preferencial, a albumina. O achado de que área sobre a curva de ácidos graxos não é alterado pelo uso de EAA confirma os resultados da cinética dos triglicérides do quilomícron artificial, que, igualmente, não se alteram.

O perfil lipídico avaliado no jejum não reflete possíveis alterações na lipemia pós-prandial. A avaliação do metabolismo de lipoproteínas é geralmente realizada através da determinação de seu conteúdo lipídico e/ou protéico. Devido a dificuldades metodológicas, o metabolismo de quilomícrons e seus remanescentes, lipoproteínas responsáveis pelo transporte de lípidos provenientes da dieta, não é habitualmente avaliado. Entretanto, vários estudos clínicos têm demonstrado que essas lipoproteínas possuem um papel importante no processo

aterogênico (MARANHÃO *et al.*, 1996; MEYER *et al.*, 1996; WEINTRAUB *et al.*, 1996).

Utilizando-se a metodologia de nanoemulsões lipídicas com comportamento metabólico semelhante ao dos quilomícrons naturais, é possível avaliar aspectos do metabolismo dessas lipoproteínas. Por meio da avaliação da cinética plasmática dos triglicérides dos quilomícrons artificiais podemos obter informações sobre o processo de lipólise de quilomícrons. Já a cinética do éster de colesterol da nanoemulsão reflete a captação dos remanescentes de quilomícrons.

No presente estudo, a taxa fracional de remoção dos triglicérides não diferiu entre os três grupos, indicando que o processo lipolítico não estava alterado com o uso de EAA e com o exercício de força localizada. Isso foi confirmado pela avaliação da atividade da LLP, que foi semelhante nos três grupos, conforme já demonstrado em vários outros estudos (ZMUDA, 1993; BAUSSERMAN, 1997; HARTGENS, 2004).

Após o processo de lipólise, os remanescentes de quilomícrons artificiais, são removidos da circulação sanguínea pelos receptores celulares que retiram os quilomícrons naturais. A diminuição da atividade desses receptores pode reduzir a captação hepática da nanoemulsão. A taxa fracional de remoção de éster de colesterol dos quilomícrons artificiais, que indica a remoção plasmática dessas partículas, estava diminuída nos usuários de Musculação+EAA comparando-se com os indivíduos Sedentários e Musculação.

Os EAA, além de estarem envolvidos com diminuição do HDL-C, podem aumentar o tempo de permanência dos remanescentes de quilomícrons, na circulação sanguínea, processo sabidamente aterogênico. Nossos resultados

mostram, portanto, um novo mecanismo pelo qual os EAA podem aumentar a incidência de doença arterial.

CONCLUSÃO

7. CONCLUSÃO

A avaliação dos efeitos dos EAA sobre o perfil lipídico mostrou que os níveis plasmáticos do colesterol de HDL, assim como as concentrações plasmáticas de apo A1 foram menores no grupo Musculação+EAA comparando-se ao grupo Sedentário e Musculação.

O grupo Musculação+EAA apresentou concentrações plasmáticas de LDL-C maiores que o grupo Sedentário, porém esses níveis não foram diferentes comparando-se com o grupo Musculação.

A hidrólise dos triglicérides dos quilomícrons, avaliada pela cinética plasmática dos triglicérides radioativos da emulsão (TFR TG-³H) não diferiu entre os grupos Sedentário, Musculação e Musculação+EAA.

A cinética plasmática do colesterol éster radioativo da emulsão de quilomícrons artificiais avaliada através da taxa fracional de remoção do EC-¹⁴C foi mais lenta no grupo Musculação+EAA comparando-se com os grupos Sedentário e Musculação, indicando uma remoção mais lenta dos remanescentes de quilomícrons.

As curvas de geração de ácidos graxos no estudo cinético foram similares nos três grupos estudados. A atividade da lipase hepática foi maior no grupo Musculação+EAA comprando-se aos grupos Sedentário e Musculação, enquanto que não foi encontrada diferença na atividade da lipase lipoprotéica nos três grupos.

O diâmetro da HDL e o conteúdo de triglicérides nessa lipoproteína foram similares entre os três grupos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERS JJ, TAGGART HM, APPLEBAUM-BOWDEN et al. Reduction of lecithin-cholesterol acyltransferase, apolipoprotein D and the Lp(a) lipoprotein with the anabolic steroid satnozolo. **Biochemica et Biophysica**. 1984; 795: 293-296.
- ALÉN M, RAHKIA P, MARNIEMI J. Serum lipid in power athletes self-administering testosterone and anabolic steroids. **Int J Sports Med**. 1985; 6: 139-44.
- ALTMAN PL, DITTMER DS. Biology Data Book. In: ALTMAN PL, DITTMER DS, eds. **Fed Amer Soc Exp Biol.**, Vol. III, Bethesda, Maryland, USA, 1974.
- American College of Sports Medicine position stand on the use of anabolic androgenic steroids in sports. **Med Sci Sports Exerc**. 1987;19(5):534-9.
- APPLEBAUN-BOWDEN D, HAFFNER SM, HAZZARD WR. The dyslipoproteinemia os anabolic steroid therapy: increase in hepatic triglyceride lipase precedes the decrease in high density lipoprotein2 choleterol. **Metabolism**. 1987; 26: 949-52.
- APPLEBY M, FISCHER M, MARTIN M. Miocardial infarction, hypercalemia and ventricular tachycardia in young male body-builder. **Int J Card**. 1994;44:171-4.
- BALDO-ENZI G, GIADA F, ZULIANI G, *et al*. Lipid and apoprotein modifications in body builders during and after self-admnistration of anabolic steroids. **Metabolism**. 1990; 39: 203-8.
- BARRANS A, COLLET X, BARBARAS R, *et al*. Hepatic lipase induces the formation of pre-beta 1 high density lipoprotein (HDL) from triacylglycerol-rich HDL2: a study comparing liver perfusion to in vitro incubation with lipases. **J Biol Chem**. 1994; 11572-11577.

- BARTER PJ, HOPKINS GJ, HA YC. The role of lipid transfer proteins in plasma lipoprotein metabolism. **Am Heart J.** 1987; 113: 538.
- BAUSSERMAN LL, SARITELLI AL, HERBERT PN. Effects of short-term stanozolol administration on serum lipoproteins in hepatic lipase deficiency. **Metabolism.** 1997; 9: 992-996.
- BEISIEGEL U, WEBER W, OLIVECRONA GB. Lipoprotein lipase enhances the binding of chylomicron to low density lipoprotein receptor-related protein. **Proc Natl Acad Sci.,** Washington, 1991; 88: 8342-6.
- BERNARDES-SILVA, H., TOFFOLETTO, O., BORTOLOTTI, L.A., LATRILHA, M.C.M., KRIEGER, E.M., PILEGGI, F., MARANHÃO, R.C. - Malignant hypertension is accompanied by marked alterations in chylomicron metabolism. **Hypertension,** Dallas, v. 26, p. 1207-10, 1995.
- BERR F & KERN F Jr. Plasma clearance of chylomicrons labeled with retinyl palmitate in healthy human subjects. **J Lipid Res.** 1984; 25(8): 805-12.
- BHASIN S, STORER TW, BERMAN N, *et al.* Testosterone replacement increases fat-free mass and muscle size in hypogonadal men. **J Clin Endocrinol Metab.** 1997; 82: 407-13.
- BHASIN S, STORER TW, BERMAN N, *et al.* The effects of supraphysiologic doses of testosterone on muscle size and strength in normal men. **N Engl J Med.** 1996; 335: 1-7.
- BLANCHETTE-MACKIE EJ, SCOW RO. Effects of lipoprotein lipase on the structure of chylomicrons. **J Cel Biol.** 1973: 689-708

BORBA EF, BONFA E, VINAGRE CG et al. Chylomicrons metabolism is markedly altered in systemic lupus erythematosus. **Arthritis Rheum.** 2000; 43(5); 1033-40.

BORENSZTAJN J, GETZ GS, KOTLAR TJ. Uptake of chylomicron remnants by the liver: further evidence for the modulating role of phospholipids. **J Lipid Res.** 1988;29:1087-96.

BOXENBAUM H, RONFELD R. Interspecies pharmacokinetic scaling and the Dedrick plots. **Am J Physiol.** 1983; 245:R768-775.

BROWER KJ, ELIOPULOS GA, BLOW FC, *et al.* Evidence for physical and psychological dependence on anabolic androgenic steroids in eight weight lifters. **Am J Psychiatry.** 1990; 147: 510-2.

BUCKLEY WE, YESALIS CE, FRIEDL K.E. Estimated prevalence of anabolic steroid use among male high school seniors. **J Am Med Assoc.** 1988;260:3441-5.

CATLIN DH & MURRAY TH. Performance-enhancing drugs, fair competition, and Olympic sport. **JAMA.** 1996; 276: 231-7.

CHENG CF, COSTA GM, BENSADOUM A, ROSENBERG RD. Binding of lipoprotein lipase to endothelial cells in culture. **J Biol Chem.** 1981;256:12893-8.

CHOI S. An hepatic lipase-apo B interaction accelerates lipoprotein uptake. **Circulation.** 1996; 94:I-399.

CISAR LA, BENSADOUN A. Characterization of the intracellular processing and secretion of hepatic lipase in FU5AH rat hepatoma cells. **Biochim Biophys Acta.** 1987; 927(3):305-314.

- CLAY MA, NEWNHAM HH, FORTE TM, et al. Cholesteryl ester transfer protein and hepatic lipase activity promote shedding of apo A-1 from HDL and subsequent formation of discoidal HDL. *Biochim Biophys Acta*. 1992; 1124: 52-58.
- COHEN JC, FABER WM, BENAIDE A, et al. Altered serum lipoprotein profile in male and female power lifters ingesting anabolic steroids. **Phys Sportsmed**. 1986; 14: 131-6.
- COHEN JC, NOAKES TD, BENAIDE A. Hypercholesterolemia in male power lifters using anabolic androgenic steroids. **Phys Sportsmed**. 1988; 16: 49-56.
- COHEN JC. Chylomicron triglyceride clearance: comparison of three assessment methods. **Am J Clin Nutr**. 1989; 49: 306-13.
- COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR (CNEN) – Diretrizes básicas de radioproteção. São Paulo, 1988. [Norma 3.01]
- CONCEIÇÃO CA, WANDER FS, MASSALI LP, VIANNA LAF, et al. Uso de anabolizantes entre praticantes de musculação em academias. **Rev Pesq Med**. 1999; 33:103-16.
- CONWAY AJ, HANDLES MAN DJ, LORDING DW, et al. Use, misuse and abuse of androgens. The Endocrine Society of Australia consensus guidelines for androgen prescribing. **Med. J. Aust**. 2000; 172: 220-4.
- COOPER AD. Hepatic uptake of chylomicron remnants. **J Lipid Res**. 1997;38:2173-92.
- COPELAND J, PETERS R, DILLON P. Anabolic-androgen use disorders among a sample of Australian competitive and recreational users. **Drug Alcohol Depend**. 2000; 60:91-6.

CORRIGAN B. Dehydroepiandrosterone and sport. **Med J Aust.** 1999; 171: 206-8.

COWART VS. Ethical, as well as physiological, questions continue to arise over athletes steroid abuse. **JAMA.** 1989; 261: 3362-7.

COWART VS. Steroids in sports: after four decades, time to return these genes to bottle? **JAMA.** 1987; 257: 421-7.

De FARIA E, FONG LG, KOMAROMY M, *et al.* Relative roles of the LDL receptor, the LDL receptor-like protein, and hepatic lipase in chylomicron remnant removal by the liver. **J Lipid Res.** 1996;37:197-209.

DE ROSE EH & NÓBREGA ACL. Drogas ilícitas. In: Ghorayeb, N., Barros, T.O. Exercício. São Paulo: Atheneu, 1999: 395-405.

DI BELO V, GIORGI D, BIANCHI M, *et al.* Effects of videodensitometric study. **Med Sci Sports Exerc.** 1999;31: 514-21.

DIGMENT PG. The adolescent athlete and ergogenic aids. **J Adolesc Health Care.** 1987;8:68-73.

DOBS AS. Is there a role for androgenic anabolic steroids in medical practice? **JAMA.** 1999; 281: 1326-27.

EBERLING P, KOIVISTO VA. Physiological importance of dehydroepiandrosterone. **Lancet.** 1994; 343: 1479-81.

ECKEL RH. Lipoprotein lipase. A multifunctional enzyme relevant to common metabolic diseases. **N.Eng Med.** 1989; 320(16): 1060-8. Erratum in: **N Eng J Med.** 1989; 322(7):477.

FALKENBERG M, KARLSSON J, ÖRTENWALL P. Peripheral arterial thrombosis in two young men using anabolic steroid. **Eur J Vasc Endovasc Surg.** 1997; 13: 223-6.

FENICHEL GM, GRIGGS RC, KISSEL J, KRAMER TI, *et al.* A randomized efficacy and safety trial of oxandrolone in the treatment of Duchenne dystrophy. **Neurology.** 2001; 156: 1075-9.

FERRERA PC, PUTNAM DL, VERDILE V.P. Anabolic steroid use as the possible precipitant of dilated cardiomyopathy. **Cardiology.** 1997; 88: 218-20.

FOLCH J, LEES M, STANLEY GHS. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **J Biol Chem.** 1957;266:497-509.

FOSTER ZJ, HOUSNER JA. Anabolic androgenic steroids and testosterone precursor: ergogenic aids and sports. **Curr Sports Med Rep.** 2004;3(4):234-41.

FOTHERBY K & JAMES F. Metabolism of synthetic steroids. **Adv Steroid Biochem Pharmacol.** 1972; 3: 67-165.

FREED DLJ, BANKS AJ. A double crossover trial of methandienone (Dianabol, CIBA) in moderate dosage on highly trained experienced athletes. **Br J Sports Med.** 1975; 9; 78-82.

FRIEDL KE. Effects of anabolic steroids on physical health. In: YESALIS CE, editor. *Anabolic steroids in sports and exercise.* 2nd ed. Champaign (IL): Human Kinetics, 2000: 175-224.

FRIEDWALD, W. T., LEVY, R. I., FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without the use of the preparative ultracentrifuge. **Clin Chem.** 1972; 18; 499-502.

GALLAWAY S. *The steroid bible.* 3 ed. Sacramento, Belle International, 1997

GALDURÓZ JC, *et al.* Levantamento domiciliar nacional sobre o uso de drogas psicotrópicas. Parte A: estudo envolvendo as 24 maiores cidades do estado de São Paulo. CEBRID: UNIFESP. São Paulo, 1999, 143p.

GIANINNI SD, DIAMENT J, SILVA PP. Estudo das relações da lipase lipoprotéica com parâmetros metabólico-lipídicos. **Rev Hosp Clin Fac Med.** 1970;25:23-32.

GLAZER G. Atherogenic effects of anabolic steroids on serum lipid levels; a literature review. **Arch Intern Med.** 1991; 151: 1925-33.

GOLDBERG IJ. Lipoprotein lipase and lipolysis: central roles in lipoprotein metabolism and atherogenesis. **J Lipid Res.** 1996; 37 (4): 693-707.

GOLDBERG L, ELLIOT D, CLARE GN *et al.* Effects os a multidimensional anabolic steroid prevention intervention. **JAMA.** 1996; 276(19): 1555-62.

GOLDWIRE MA & PRICE KO. Sports Pharmacy: counseling athletes about banned drugs. **Am Pharm.** 1995; 35: 24-30.

GRAPHERY NA Performance-enhancing drugs. **Orthoped Clin N Amer.** 1995; 26:433-442.

GRINSPOON SM, CORCORAN C, PARLMAN K, *et al.* Effects os testosterone and progressive resstance training is eugonodal men with AIDS wasting: a randomized, controlled trial. **Ann. Nter. Med.** 2000; 133: 348-55.

GRUNDING P & BACHAMN M. World anabolic Review. Houston. MB Muscle Books. 1996.

GRUNDY SM, GLORIA LV, OTVOS JD, RAINWATER DL. Hepatic lipase activity influences high density lipoprotein subclass distribution in normolipidemic men: genteic and pharmacological evidence. **Journal Lipid Research.** 1999; 40:229-234.

GUEZENNEC CY, LAFARGE JP, BRICOUT VA *et al.* Effect of competition stress on tests used to assess testosterone administration in athletes. **Inter J Sports Med.** 1995;16:368-72.

- HAFNER SM, KUSHWAHA RS, FOSTER DM et al. Studies on the metabolic mechanism of reduced high density lipoproteins during anabolic steroid therapy. **Metabolism**. 1983; 32: 413-420.
- HALVERSTADT A, PHARES DA, WILUND KR et al. Endurance exercise training raises high-density lipoprotein cholesterol and lowers small low-density lipoprotein and very low-density lipoprotein independent of body fat phenotypes in older men and women. **Metabolism**. 2007; 56(4):444-50.
- HANDLESMAN DJ. Androgen action and pharmacologic uses. In: De Grot, L.J., Jameson, J.L., editors. **Endocrinology**. 2001; 232-42.
- HARDMAN JG, GILMANN, AG., Linbird, L.E., editors. Goodman and Gilman's, The pharmacological basis of therapeutics. New York: McGraw-Hill, 1996.
- HARTGENS F, RIEETJENS G, KEIZER H, *et al*. Effects on androgeni anabolic steroids on apolipoprotein and lipoprotein(a). **Br J Sports Med**. 2004; 38(3): 253-9.
- HAUPT HA & ROVERED GD. Anabolic steroids: a review of the literature. **Am J Sports Med**. 1984; 12: 469-484.
- HERLEY BF. High density lipoprotein cholesterol in body builders v powerlifters- negative effects of androgen use. **JAMA**, 1984;252:507-13.
- HERVEY GR, HUTCHINSON I, NIBBS AV, *et al*. "Anabolic" effects of methandienone in men underg athletic training. **Lancet**. 1976:699-72.
- HIRATA, M.H., OLIVEIRA, H.C.F., QUINTÃO, E.C.R., REDGRAVE, T.G., MARANHÃO, R.C. - The effects of Triton WR-1339, protamine sulfate and heparin on the plasma removal of emulsion models of chylomicron and remnants in rats. **Biochim. Biophys. Acta**, Amsterdam, v. 917, p. 314-46, 1987.

- HOSNI JJ, VINAGRE CG, MADY C *et al.* Lipolysis of emulsion models of triglyceride-rich lipoproteins is altered in male patients with abdominal aorta aneurysm. **Braz J Med Biol Res.** 2007; 40(3); 305-7.
- HURLEY BF, SEALS DR, HAGERG JM, *et al.* High-density-lipoprotein cholesterol in bodybuilders v powerlifters: negative effects of androgen use. **JAMA.** 1984; 252: 507-13.
- HUSSAIN, M.M., KANCHA, R.K., ZHOU, Z., LUCHOOMUN, J., ZU, H., BAKILLAH, A. - Chylomicron assembly and catabolism: role of apolipoproteins and receptors. **Biochim. Biophys. Acta.**, Amsterdam, v. 1300, p. 151-70, 1996.
- JI ZS, SANAN DA, MAHLEY RW. Intravenous heparinase inhibits remnant lipoprotein clearance from the plasma and uptake by the liver: in vivo role of heparin sulfate proteoglycans. **J Lipid Res.** 1995;36:583-92.
- JOHANSEN KL, MULLIGAN K, SCHAMBELAN M. Anabolic effects of nandrolone decanoate in patients receiving dialysis: a randomized controlled trial. **JAMA.** 1999; 281: 1275-81.
- KANAYAMA G, GRUBER AJ, POPE JR, *et al.* Over the counter drug use in gymnasiums: an undercognized substance abuse problem? **Psychother Psychosom.** 2001; 70: 137-140.
- KANTOR MA, BIANCHINI A, BERNIER D, *et al.* Androgens reduce HDL2-cholesterol and increase hepatic triglyceride lipase activity. **Med Sci Sports Med.** 1985; 17: 462-465.
- KARILA TA, KARJALAINEN JE, MANTYSAARI MJ, VIITASALO MT, SEPPALA TA. **Int J Sports Med.** 2003;24(5):337-43.

- KARPE F, STEINER G, UFFELMAN K, *et al.* Postprandial lipoproteins and progression of coronary atherosclerosis. **Atherosclerosis**. 1994;106:83-97.
- KARPE F, STEINER G, OLIVECRONA T, *et al.* Metabolism of triglyceride-rich lipoproteins during alimentary lipemia. **J Clin Invest**. 1993; 91:748-58.
- KENNEDY MC. Anabolic steroid abuse and toxicology. **Aust N Z J Med**. 1992; 22: 374-81.
- KENNEDY MC, O'SLLIVAN AJ. Do anabolic androgenic steroids enhance sporting performance? **Med J Aust**. 1997; 166:60.
- KENNEDY MC. Newer drugs used to enhance sporting performance. **Med J Aust**. 2000; 173: 314-17.
- KLEINER SM, CALABRESE LH, FIELDER KM, *et al.* Dietary influences on cardiovascular disease risk in anabolic steroid-using an nousing bodybuilders [published erratum appears in J Am Coll Nutr. 1989; 8 (4): 357]. **J Am Coll Nutr**. 1989; 8: 109-19.
- KODAMA S, TANAKA S, SAITO K *et al.* Effect of aerobic exercise training serum levels of high density lipoprotein cholesterol: A Meta-analisis. **Arch Inter Med**. 2007; 167(10):999-1008.
- KOURI EM, POPE JH, OLIVA PS. Changes in lipoprotein-lipid levels in normal men following administration of increasing doses of testosterone cypionate. **Clin J Sport**. 1996; 6: 152-7.
- KUIPERS H, WIJNEN JAG, HARTGENS F, *et al.* Influence of anabolic steroids on body composition, blood pressure, lipid profile and liver function in bodybuilders. **Int J Sports Med**. 1991. 12; 413-8.

KUTSCHER EC, LUND BC, PERRY PJ. Anabolic steroids: a review for the clinician.

Sports Med. 2002; 32: 285-96.

LEDER BZ, LONGCOPE C, CATLIN DH, *et al.* Oral androstenedione administration and serum testosterone concentrations in young men. **JAMA.** 2000;28:779-82.

LENDERS JW, DEMACKER PN, Vos JA, *et al.* Deleterious effects of anabolic steroids on serum lipoproteins, blood pressure, liver function in amateur body builders. **Int J Sports Med.** 1988; 9: 19-23.

LEVY, E. Selected aspects of intraluminal and intracellular phases of intestinal fat absorption. **Can J Physiol Pharmacol.** 1992;70:413-9.

LIMA ES & MARANHÃO RC. Rapid, simple laser-light scattering method for HDL particle sizing in whole plasma. **Clin Chem.** 2004; 50(6): 1086-8.

LISE MLZ, GAMA E SILVA TS, FERIGOLO *et al.* Abuse of anabolic androgenic steroids in sports. **Rev Assoc Med Bras.** 1999;45(4):364-70.

LITWAC G, SCHIMIDT TJ. Biochemistry of hormones II: steroids hormones. In: Devlin, T.M., editor. **Textbook of biochemistry with clinical correlations.** 1997: 893-918.

LUKAS SE. Current perspectives on anabolic androgenic steroids abuse. **TIPS.** 1993;14:61-8.

LUKAS SE. CNS Effects and abuse liability of anabolic androgenic steroids. **Ann Rev Pharmacol Toxicol.** 1996; 36: 2068-72.

MAMO JCL, WHEELER JR. Chylomicrons or their remnants penetrate rabbit thoracic aorta as efficiently as do smaller macromolecules, including low-density lipoprotein, high-density lipoprotein, and albumin. **Coron Art Dis.** 1994;5:695-705.

MCCARTHY K, TANG ATM, DALRYMPLE-HAY MJR, *et al.* Ventricular thrombosis and systemic embolism in bodybuilders: etiology and management. **Ann Thorac Surg.** 2000; 70: 658-60.

MARANHÃO RC, QUINTÃO ECR. Long term steroid metabolism balance studies in subjects on cholesterol-rich diets: comparison between normal and hypercholesterolemic individuals. **J Lipid Res.** 1983;24:167-73.

MARANHÃO RC, LINCOLN EC, BRUNEGRABER H, *et al.* The clearance of lipid recombinant lipoprotein models resembling chylomicrons and their remnants. **Circulation.** 1984; 70: 299-315.

MARANHÃO RC, FERES MC, MARTINS MT, *et al.* Plasma kinetics of a chylomicron-like emulsion in patients with coronary artery disease. **Atherosclerosis.** 1996; 126: 15-25.

MATSUMOTO AM. Endocrinology diseases unique to men. In BENNET JC & PLUM F eds. Cecil Textbook of Medicine, 20th ed. Philadelphia, WB. Saunders Co., 1996;12-41.

MESQUITA CH. Cinética do quilomícron marcado com ³H-TG e ¹⁴C-CE. Análise compartimental auxiliar. São Paulo: Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), 1994. [Publicações IPEN]

MEYER E, WESTERVELD T, RUYTER-MEIJSTEK FC, *et al.* Abnormal postprandial apolipoprotein B-48 and triglyceride responses in normolipidemic women with greater than 70% stenotic coronary artery disease: a case-control study. **Atherosclerosis.** 1996;124: 221-235.

MOTTRAM DR & GEORGE AJ. Anabolic steroids. **Baillieres Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.** 2000;14(1):55-69.

Ministério da Justiça. Conselho federal de Entes. Processo n° 08000.003408/95-25. Confederação Brasileira de Culturismo e Musculação. Ofício n° 201, CONFEN – 1998.

O´SHEA JP, WINKLER W. Biochemical and physical effects of an anabolic steroid in competitive swimmers and weightlifters. **Nutr Rep Int.** 1970; 2: 351-62.

O´SULLIVAN AJ, KENNEDY MC, CASEY JH, *et al.* Anabolic androgenic steroids: medical assessment of present, past and potential users. **Med J Aust.** 2000; 173: 323-327.

PATSCH J. Influence of lipolysis on chylomicron clearance and HDL cholesterol levels. **Eur Heart J.** 1998;19 (suppl H): H2-H6.

PATSCH JR, MIESENBOCK G, HOPFERWIESER T, *et al.* Relation of triglyceride metabolism and coronary artery disease. **Arterioscler and Thrombosis.** 1992; 12: 1336-45.

PERRET B, MABILE L, MARTINEZ L, TERCE F *et al.* Hepatic Lipase: structure/function relationship, synthesis, and regulation. **J Lipid Res.** 2002; 43(8):1163-9.

PERTUSI R. Evaluation of aminotransferase elevation in a bodybuilders using anabolic steroids: hepatitis or rhabdomyolysis? **J Am Osteopath Assoc.** 2001; 101(7): 391-4.

POLLOCK ML & JACKSON AS. Research progress in validation of clinica methods of assessing body composition. **Med Sci Sports Exerc.** 1984;16(6):606-15.

- PORCERELLI JH & SANDLER BA. Narcisism and emphaty in steroid users. **Am J Psychiatry.** 1995; 152: 1672-4.
- PROCTOR SD, MAMO JCL. Arterial fatty lesions have increased uptake of chylomicron remnants but not low-density lipoproteins. **Coron Arter Dis.** 1996; 7: 239-45.
- RABKIN JG, WAGNER GJ, RABKIN R. A double-blind, placebo-controlled trial of testosterone therapy for HIV-positive men with hypogonadal symptoms. **Arch Gen Psychiatry.** 2000; 57: 141-7.
- RANG HP, DALE MM, RITTER J.M. **Farmacologia.** 3a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.
- REDGRAVE TG. Formation and metabolism of chylomicrons. **Int Rev Physiol.** 1983; 28:103-30.
- REDGRAVE TG & ZECH LA. A kinetic model of chylomicron core lipid metabolism in rats: the effect of a single meal. **J Lipid Res.** 1987; 28(5):473-82.
- ROSENFELD RG, FRANE J, ATTIE KM. Six-years results of a randomized prospective trial of human griwth hormone and oxandrolone in Turner syndrome. **J Pediatr.** 1992; 121: 49-55.
- ROSKOSKI R. **Bioquímica.** Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 1997.
- ROSS R. The pathogenesis of atherosclerosis – An update. **N Engl J Med.** 1986; 314(8): 448-500.
- ROSNER, B. - **Fundamentals of Biostatistics** - Boston, PWS Publishers, Second edition, 1986, 584pp.

- RUBINOW DR & SCHMIDT P. Androgens, Brain and Behavior. **Am J Psychiatry.** 1996; 153: 974-84.
- SCHANZER W. Metabolism of anabolic androgenic steroids. **Clin Chem.** 1996;42(7): 1001-20.
- SCHROOR EJ, van WIESSENBRUCH MM, KNIBBE P *et al.* The effect of prolonged administration of an anabolic steroid (oxandrolone) on growth in boys with constitutionally delayed growth and puberty. **Eur J Pediatr.** 1995;154(12):953-7.
- SCOTT DM, WAGNER CJ, BARLOW TW. Anabolic steroid use among adolescents in Nebraska schools. **Am J Health-Syst Pharm.** 1996; 3: 2068-72.
- SERRANO M, GRASA Mdel M, FERNANDEZ-LOPEZ JÁ, ALEMANY M. In rats, oral oleoyl-DHEA is rapidly hydrolysed and converted to DHEA-sulphate. **BMC Pharmacol.** 2007;9;4.
- SMITH EL, HILL RL, LEHMAN IR, *et al.* **Bioquímica: mamíferos.** 7^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1985.
- SMITH EM. Dose estimate techniques. In: Nuclear medicine physics, instrumentation and agents. Saint Louis - Mosby, 1977.
- SOWBY FS. Radiation Protection. ICRP publication 30. Part I. LIMITS FOR INTAKES OF RADIONUCLIDES BY WORKERS. In: SOWBY, FS. ed. Pergamon, Oxford, England, 1984.
- STRAUSS RH, LIGGET MT, LANESE RR. Anabolic steroid use and abuse and perceived effects in to weight – trained women athletes. **JAMA.** 1985;253:2871-73.
- SU T, PAGLIANO M, SCHMIDT PJ, *et al.* Neuropsychiatric effects os anabolic steroid in male normal volunteers. **JAMA.** 1993; 269: 2760-4.

- SULTAN F, CARDON-SANCLEMENTE LE, LAGRANGE D, *et al.* Lipoprotein lipase and hepatic lipase activities in a hypercholesterolaemic strain of rat. **Biochem J.** 1990;266: 349-53.
- TAGGART HM, APPLEBAUN-BOWDEN D, HAFFNER S, *et al.* Reduction in high density lipoprotein by anabolic steroids (stanozolol) therapy for postmenopausal osteoporosis. **Metabolism.** 1982; 31: 1147-152.
- THEIN LA, THEIN JM, LANDRY GL. Ergogenic aids. **Phys Ther.** 1995; 75: 426-38.
- THOMPSON PD, CULLINAME EM, SADY SP, *et al.* Contrasting effects of testosterone and stanozolol on serum lipoprotein levels. **JAMA.** 1989; 261: 1165-8.
- TORRES-CALLEJA J, CELIS R, ONZALES-UNZADA M, *et al.* Effect of anabolic steroids on sperm quality and serum hormone levels in adult male bodybuilders. **Life Sciences.** 2000; 74: 1055-1056.
- WEBB OL, LASKARZEWSKI PM, GLUECK CJ. Severe depression of high-density lipoprotein cholesterol levels in weight liftres and body builders by self-administered exogenous testosterone and anabolic androgenic setroids. **Metabolism.** 1984; 33: 971-5.
- WEINTRAUB MS, GROSSKOPF I, RASSIN T, *et al.* A. Clearance of chylomicron remnants in normolipidaemic patients with coronary artery disease: case control study over three years. **Br Med J.** 1996; 312: 935-9.
- WINDLER EET, GREEVE J, DAERR WH, *et al.* Binding of rat chylomicrons and their remnants to the hepatic low-density-lipoprotein receptor and its role in remnant removal. **Biochem J.** 1988; 252: 553-61.
- WILSON JD. Androgem abuse by athletes. **Endocrinol Rev.** 1988; 9: 181-99.

- WILSON JD. Androgens. In: Gilman AG, Rall TW, Nies AS & Taylor P. Goodman & Gilman's. The pharmacological Basis of Therapeutics, 9th ed. Singapore, McGraw-Hill Book Co., 1996: 1441-57.
- WISSELER RW. Princípios da patologia da aterosclerose; in: BRAUNWALD, E. ed. **Trat. de Med. Card.**, 2^a ed. – São Paulo, p.1154-1175, 1987.
- YESALIS CE, KENNEDY NJ, KOPSTEIN NA, *et al.* Anaboli-androgenic steroid use in the United States. **JAMA.** 1993; 270: 1217-21.
- YESALIS CE & BAHRKE MS. Doping among adolescents athletes. **Baillieres Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.** 2000;14(1):25-35.
- ZILVERSMIT DB. Atherogenesis: a postprandial phenomenon. **Circulation.** 1979; 60 (3).
- ZMUDA JM, FAHRENBACH MC, YOUNKIN BT, *et al.* The effect os testosterone aromatization on high-ensity lipoprotein cholesterol level and postheparin lipolytic activity. **Metabolism.** 1993; 42: 446-50
- ZULIANI U, BERNARDINI B, CATAPANO A, *et al.* Effects of anabolic steroids, testosterone, HGH on blood lipids and echocardiographic parameters in body builders. **Int J Sports Med.** 1989; 10: 62-6.

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](#)