

PRISTA, L.N.; CORREIA ALVES, A.;
MORGADO, R.M.R. **Técnica farmacêutica e
farmácia galênica**. 3.ed.. Lisboa, 1990.

SILVA, E.C.; SOARES, I.C. Tecnologia das
emulsões. **Cosmetics and Toiletries**, v. 8, n.5, p.
37-46, 1996.

AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DO PARÊNQUIMA PULMONAR DE RATAS SUBMETIDAS AO USO DO DECANOATO DE NANDROLONA

ZANAROTTI, Larissa Balbino. Graduada em Farmácia pelo Centro Universitário Barão de Mauá
Ribeirão Preto, SP, Brasil.

JORGE, Maria Helena Simões. Mestre do Centro Universitário Barão de Mauá, Ribeirão Preto, SP,
Brasil.

CRISCI, Ana Rosa. Mestre do Laboratório de Morfologia do Centro Universitário Barão de Mauá, Ri-
beirão Preto, SP, Brasil.

RESUMO

Altas doses de esteróides anabólicos androgênicos são utilizadas, sem indicação terapêutica, por indivíduos que visam aumentar a força muscular ou melhorar a aparência física. Este estudo teve por objetivo analisar a morfologia do parênquima pulmonar, diante da administração do esteróide anabólico decanoato de nandrolona. Para isso, foram utilizadas 8 ratas Wistar adultas, divididas equitativamente em dois grupos: controle e experimental. Os animais do grupo experimental receberam por seis semanas consecutivas uma injeção intramuscular de 6 mg/kg de decanoato de nandrolona (Deca-Durabolin®) eo grupo controle receberam uma injeção intramuscular de solução salina (0,9%). Após a eutanásia foram retirados os pulmões para a análise histológica de rotina sob microscopia de luz. Os resultados morfológicos do grupo experimental indicaram na região peribronquiolar um espessamento dos septos alveolares, um intenso infiltrado inflamatório misto constituído de monócitos e polimorfonucleares, quando comparado com o grupo controle. Observou-se também capilares repletos de hemácias, indicando uma hiperemia ativa, há também uma hiperplasia de nódulo linfóide associada aos bronquíolos assim como um edema intersticial, comparado ao grupo controle. Nossos achados morfológicos se coadunam com investigações semelhantes que indicam o uso indiscriminado e abusivo do decanoato de nandrolona (Deca-durabolin®) como fator de risco no desenvolvimento da hipertrofia cardíaca e renal, e para sobrecarga da artéria pulmonar, podendo produzir a hipertensão arterial pulmonar (HAP) em ratos. Podemos concluir, portanto, que a hiperemia aguda pode ser um indício de alterações hemodinâmicas resultando em congestão vascular, edema intersticial com infiltrado inflamatório agudo, demonstrando um quadro de pneumonia intersticial.

Palavras-chave: Esteróide Anabólico Androgênico; Decanoato de Nandrolona; Morfologia do Parênquima Pulmonar.

MORPHOLOGICAL EVALUATION OF THE PULMONARY PARENCHYMA OF FEMALE RATS SUBMITTED TO THE USE OF NANDROLONE DECANOATE

ABSTRACT

High doses of androgenic anabolic steroids are used, without therapeutic indication by individuals that aim to increase their muscular strength or improve their physical appearance. The objective of this study was to analyze the morphology of the pulmonary parenchyma after the administration of the anabolic steroid nandrolone decanoate. For this study 8 female Wistar rats were used and equitably divided into two groups: a control group and an experimental group. The animals of the experimental group received, for six consecutive weeks, an intramuscular injection of 6mg/kg of nandrolone decanoate (Deca-Durabolin®)

and the control group received an intramuscular injection of saline solution (0,9%). After euthanasia, the lungs were removed for a routine histological analysis under light microscopy. The morphological results of the experimental group indicated at the peribronchial region a widening of the alveolar septa, an intense mixed inflammatory infiltrate constituted of monocytes and polimorphonuclear cells when compared to the control group. Capillaries full of erythrocytes were also observed, indicating an active hyperemia, also a hyperplasia of lymphoid nodules associated to the bronchioles as well as an interstitial edema when compared to the control group. Our morphological findings line with similar investigations that indicate the indiscriminate and abusive use of nandrolone decanoate (deca-Durabolin®) as a risk factor in the development of renal and cardiac hypertrophy and overload of the pulmonary artery, being able to produce pulmonary arterial hypertension in rats. We can conclude, therefore, that acute hyperemia can be an indicator of hemodynamic alterations resulting in vascular congestion, interstitial edema with acute inflammatory infiltrate, showing signs of interstitial pneumonia.

Keywords: Androgenic anabolic steroid; Nandrolone decanoate; Morphology of pulmonar parenchyma.

INTRODUÇÃO

Esteróides Anabólicos Androgênicos (EAA) são derivados sintéticos da testosterona e foram desenvolvidos com o objetivo de minimizar seus efeitos masculinizantes (androgênicos), maximizando assim os efeitos sobre a síntese protéica e o crescimento muscular (anabólico) (WU, 1997).

São compostos por dois grupos: os derivados esterificados e os derivados alcalinizados. Os primeiros (fenilpropionato de nandrolona, decanoato de nandrolona, enantato de testosterona e cipionato de testosterona) são produtos para

administração intramuscular e permanecem ativos por dias / semanas, enquanto os componentes do segundo grupo (oximetolona, metandrostenolona e estanozolol) devem ser utilizados diariamente, por via oral (SNYDER, 2001).

Desenvolvido pelo laboratório Organon e introduzido no mercado em 1962, o decanoato de nandrolona ou Deca-Durabolin®, cuja substância ativa é a nandrolona, é um dos EAA mais utilizados no mundo (CUNHA et al, 2006), devido ao seu moderado potencial androgênico associado às boas propriedades anabólicas. A nandrolona sofre a ação da enzima 5 α -redutase e produz um metabólito que tem baixa afinidade pelo receptor, fazendo a própria nandrolona interagir com os receptores para esteróides, produzindo respostas anabólicas relativamente maiores (SILVA; DANIELSKI; CZEPIELEWSKI, 2002).

Há relatos também de uso de esteróides anabólicos em baixas doses por via transdérmica no tratamento de doenças cardiovasculares, tendo efeitos antiaterogênicos e como agentes antianginosos (ENGLISH et al, 2000). No entanto, também se associam os efeitos colaterais pelo uso prolongado como o câncer de próstata, as hipertrofias cardíacas, doença coronariana e esterilidade, entre outros (WU, 1997; EVANS, 2004).

Pesquisas adicionais são necessárias para melhor elucidar o uso de andrógenos no tratamento de múltiplas doenças e seu impacto na qualidade de vida e sobrevivência dos pacientes (BASARIA, WAHLSTRO, DOBS, 2001). O uso indiscriminado e abusivo dos EAA vem se tornando cada vez mais preocupante, despertando a atenção da comunidade científica, essas drogas estão sendo utilizadas fora do meio esportivo, por indivíduos que praticam atividade física como forma de lazer, principalmente os jovens e adolescentes, que têm como objetivo apenas melhorar a aparência física (HARTGENS & KUIPERS, 2004; URHAUSEN et al, 2004).

Geralmente, essas drogas são administradas em

doses supra fisiológicas (FERMO et al, 2008) para aumentar a massa muscular e a força (KADI, 2008) em curto período de tempo. As doses utilizadas podem ser cinco a 29 vezes superiores às doses de reposição fisiológica de testosterona (PERRY et al, 2005), ou podem alcançar até 100 vezes a dose terapêutica (CLARK, FAST, 1996), o que pode levar a sérios efeitos colaterais, entre eles, a hipertrofia cardíaca (MERCHERT & WELDER, 1995).

A hipertrofia no ventrículo esquerdo (VE), após administração de anabolizantes, está bem estabelecida e descrita na literatura atual (ANDRADE et al, 2008; BEUTEL, BERGAMACHI, CAMPOS, 2005); contudo, são raros os relatos na literatura sobre a hipertrofia ventricular direita (HVD) e suas repercussões cardiopulmonares, as quais poderiam estar relacionadas com o desenvolvimento de um quadro de hipertensão arterial pulmonar (HAP).

Uma condição patológica, segundo os critérios de classificação e diagnóstico da HAP (JORNAL BRASILEIRO DE PNEUMOLOGIA, 2005), é primariamente definida pelo aumento da pressão arterial pulmonar média, devido à obstrução de pequenas artérias associadas a lesões plexiformes, hipertrofia da camada média ventricular direita, fibrose da íntima, lesões trombóticas, o uso de drogas entre outros (JORNAL BRASILEIRO DE PNEUMOLOGIA, 2005; FARBER, LOSCALZO, 2004).

Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar experimentalmente os efeitos do tratamento das doses supra fisiológicas de decanoato de nandrolona, na morfologia do parênquima pulmonar.

MATERIAL E MÉTODOS

Experimento

Para realização da presente pesquisa foram utilizadas oito ratas Wistar adultas, com cerca de 150g a 250g de peso (ANDRADE, A., PINTO, SC., OLIVEIRA, RS., 2002), provenientes e mantidas no Biotério do Centro Universitário Barão de Mauá, em temperatura ambiente entre 22° e 24° C, com livre acesso a água e alimento. Este experimento

foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa e Experimentação Animal (CEPAN) do Centro Universitário Barão de Mauá, sob o número 145/2010.

As ratas foram separadas aleatoriamente em dois grupos, contendo 4 animais cada, conforme protocolo experimental:

- Grupo controle
- Grupo experimental

As ratas foram identificadas por números e pesadas no início, ao longo e ao final do experimento.

As ratas do grupo controle receberam administração de solução salina 0,9% e o grupo experimental recebeu administração de Deca-Durabolin® (decanoato de nandrolona de 50mg/ml Organon, São Paulo, São Paulo, Brasil), as doses foram da ordem 6mg/kg de massa corporal da rata (dose supra fisiológica). As administrações foram realizadas por via intramuscular, com alternância semanal, nas patas traseiras dos lados (direito e esquerdo). O tratamento foi realizado uma vez/semana, durante seis semanas, com supervisão do veterinário responsável pelo Biotério do Centro Universitário Barão de Mauá. As ratas foram eutanasiadas de acordo com as normas do Comitê de Ética Animal em câmara de gás carbônico. Após a eutanásia, foi realizada a laparotomia para a retirada do pulmão direito, sendo retirada do mesmo uma porção do lóbulo inferior.

Processos Histológicos

Imediatamente após a retirada do lóbulo inferior do pulmão direito foram fixados em formaldeído 10% por 24 horas. Posteriormente, foram realizados os procedimentos histológicos de rotina (desidratação em álcool, diafanização em xilol, infiltração e inclusão em parafina). A coloração utilizada foi hematoxilina-eosina, que apresenta um protocolo padrão tendo a duração de 2h10min (desparafinização em estufa e xilol (I e II), hidratação em álcool etílico (100, 80 e 70%), lavagem em água, coloração hemotoxilina, lavagem

em água corrente, coloração eosina, lavagem em água corrente, desidratação em álcool etílico (70, 80 e 100% (I e II)), fixação do corante e conservação do material em xilol (I e II)) e através da microscopia de luz foram analisados os pulmões das ratas dos grupos controle e experimental.

Análises Histológicas

A análise morfológica dos pulmões teve como intuito comparar o parênquima pulmonar nos grupos controle e experimental. Através da microscopia de luz foram realizadas as análises qualitativas dos pulmões somente por um avaliador, que não utilizou o método da análise cega.

As fotomicrografias dos pulmões foram obtidas com auxílio de câmera digital (Sony Cyber-shot, Digital Still Camera DSC-W 320, China), utilizando para a análise qualitativa um total de 32 fotomicrografias (16 para o grupo controle e 16 para o grupo experimental).

Análises Estatísticas

A amostra inicial N = 4 tratava-se originalmente de um estudo piloto para fornecer estimativa para o cálculo amostral. Devido aos resultados obtidos através do teste estatístico não paramétrico Mann-

Whitney, decidimos manter o tamanho amostral de N = 4.

O teste U de Mann-Whitney foi utilizado, pois, no experimento ocorreu a comparação entre dois grupos, o controle e o experimental, não havendo o pós-teste.

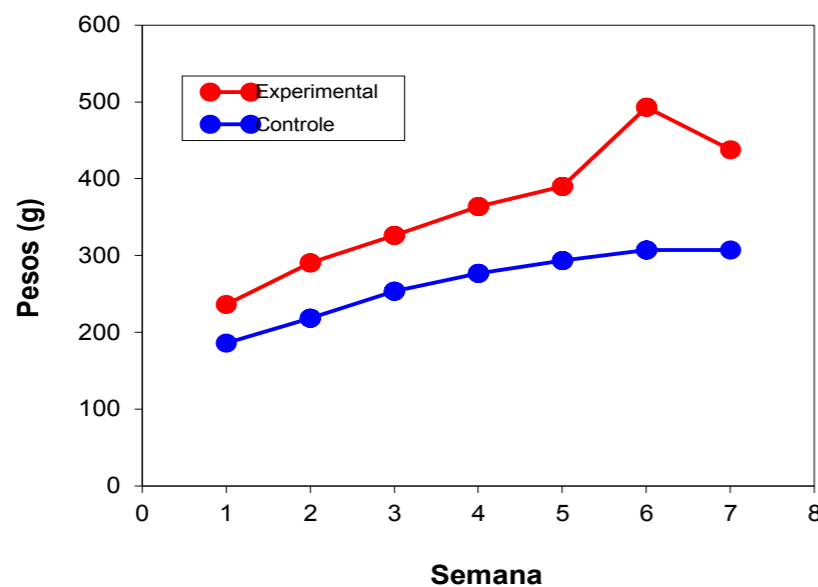
Através do teste não paramétrico de Mann-Whitney para comparar os pesos dos animais obteve-se um valor de $p < 0,05$.

RESULTADO

No presente estudo examinou-se os efeitos do tratamento com Deca-Durabolin em ratos Wistar, que acarretou um aumento do peso corporal como mostra a figura 1 ($p < 0,05$), esses resultados se coadunam com outras pesquisas que também obtiveram com o uso de Deca-Durabolin um aumento de peso corporal.

Os resultados histopatológicos do grupo experimental indicaram na região peribronquiolar um espessamento dos septos alveolares (figura 2B), um intenso infiltrado inflamatório misto constituído de monócitos e polimorfonucleares, quando comparado com o grupo controle. Observou-se também capilares repletos de hemácias (*), indicando uma hiperemia ativa, há também uma

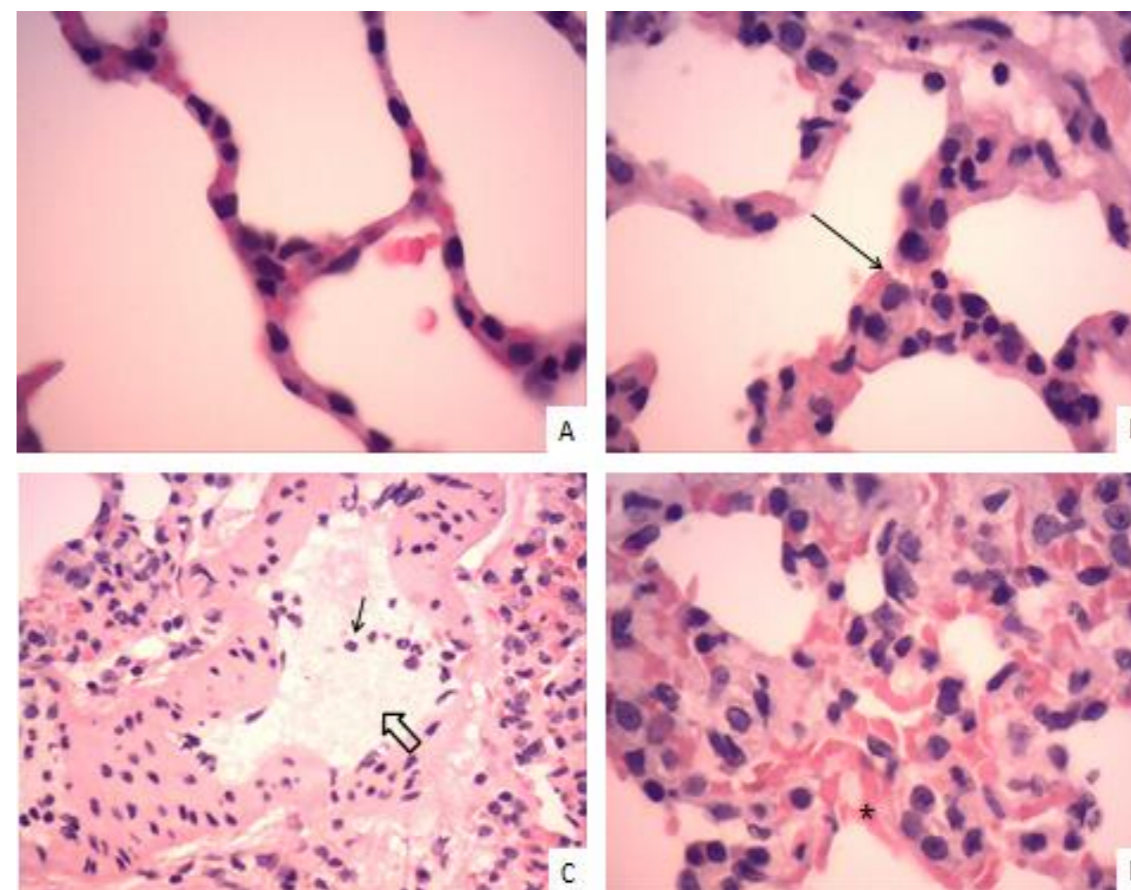
Figura 1 - Representação do peso dos animais, grupos controle e experimental (média \pm desvio padrão)



hiperplasia de nódulo linfóide associada aos bronquíolos assim como um edema intersticial (figura 2C), comparado ao grupo controle (figura 2A). Nossos achados morfológicos se coadunam

com investigações semelhantes que indicam o uso indiscriminado e abusivo do decanoato de nandrolona (Deca-durabolin®) como fator de risco no desenvolvimento da hipertrofia cardíaca e renal,

Figura 2 - Fotomicrografias dos aspectos histopatológicos dos pulmões (H.E.). Em A: grupo controle (40X). Em B, C e D: grupos tratados com Decanoato de Nandrolona (40X). Presença de septos interalveolares espessados (seta longa). Edema intersticial (seta vasada), presença de polimorfonucleares (seta curta), congestão de capilares alveolares (*).



e para sobrecarga da artéria pulmonar, podendo produzir HAP em ratos.

DISCUSSÃO

Esteróides anabólicos androgênicos, como o Deca-Durabolin® aumenta a síntese de proteínas musculares e o desenvolvimento muscular, resultando em ganho de peso. Esses agentes são utilizados para aumentar a força e o desempenho

atlético, aumentando a massa magra e o tamanho dos músculos (LISE et al., 1999; SANTOS, 2007).

Os resultados obtidos neste estudo são concordantes com os descritos por LEWANOWITSCH & IRVINE (2001) que também verificaram que as ratas tratadas com o Decanoato de Nandrolona, apresentam maior peso corpóreo que as ratas controle.

São poucos os estudos publicados sobre os efeitos dos esteróides anabólicos androgênicos sobre a

morfologia dos pulmões, mas os autores GRACELI et al, 2010, relatam a ação fisiológica do uso abusivo de decanoato de nandrolona que provocou uma significativa bradicardia com correlação significativa de HVD, sugerindo uma elevação de risco de HAP. Neste processo ocorre uma elevação da força necessária para o efluxo de sangue para os pulmões. Com a menor concentração de oxigênio no sangue (hipoxemia) resulta na alteração do septo intralaveolar, migração de polimorfos nucleares. A lesão na parede do capilar acarreta um extravasamento de líquidos e proteínas causando o edema pulmonar.

Pelos exames histológicos dos pulmões das ratas tratadas com o decanoato de nandrolona, pode-se observar as alterações citadas, que sugere que este anabolizante altera os mecanismos fisiológicos pulmonares.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Podemos concluir que o uso de Deca-Durabolin durante seis semanas induziu a hiperemia aguda no parênquima pulmonar que pode ser um indicio de alterações hemodinâmicas resultando em congestão vascular, edema intersticial com infiltrado inflamatório agudo, demonstrando um possível quadro de pneumonia intersticial.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o Centro Universitário Barão de Mauá pelo auxílio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, A., PINTO, SC., OLIVEIRA, RS., orgs. **Animais de Laboratório: criação e experimentação** [online]. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2002. 388 p. ISBN: 85-7541-015-6. Available from SciELO Books .

ANDRADE, T. U.; SANTOS, M. C. S.;

BUSATO, V. C. W.; MEDEIROS, A. R. S.; ABREU, G. R.; MOYSES, M. R.; BISSOLI, N. S. Higher physiological doses of nandrolone decanoate do not influence the Bezold-Jarish reflex control of bradycardia. **Arch Med Res**, v.39, n.1, p.27-32, 2008.

BASARIA, S.; WAHLSTROM, J. T.; DOBS, A. S. Clinical review 138: Anabolic-androgenic steroid therapy in the treatment of chronic diseases. **J. Clin Endocrinol Metab**, v.86, n.1, p. 5108-17, 2001.

BEUTEL, A.; BERGAMASCHI, C. T.; CAMPOS, R. R. Effects of chronic anabolic steroid treatment on tonic and reflex cardiovascular control in male rats. **J Steroid Biochem Mol Biol**, v.93, p. 43-48, 2005.

CLARK, A. S.; FAST, A. S. Comparison of the effects of 17 alpha-methyltestosterone, methandrostenolone, and nandrolone decanoate on the sexual behavior of castrated male rats. **Behav. Neurosci.**, v. 110, n.6, p. 1478-86, 1996.

CLASSIFICAÇÃO E AVALIAÇÃO DIAGNÓSTICA DA HIPERTENSÃO PULMONAR. **J. Bras. Pneumol.**, v.31sup. 2 p. S1-S8, 2005.

CUNHA, T. S.; TANNO, A.P.; MARCONDES, F. K.; PEREZ, S. E. A.; SELISTRE-ARAÚJO, H. S. A administração de nandrolona não promove hipertrofia do músculo sóleo em ratos. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v.50, n.3, p. 532-40, 2006. Disponível em: <<http://lameb.ccb.ufsc.br/files/2014/10/Protocolo-Prad%C3%A3o-para-o-Sistema-de-Colora%C3%A7%C3%A3o-de-Amostras-Colora%C3%A7%C3%A3o-H.E-Hematoxilina-e-Eosina.pdf>> Acesso em: 28 Agosto de 2016.

ENGLISH, K. M.; STEEDS, R. P.; JONES, T. H.; DIVER, M. J.; CHANNER, K. S. Low-dose transdermal testosterone therapy improves angina threshold in men with chronic stable angina: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. **Circulation**, v.102, p. 1906-11, 2000.

EVANS, N. A. Current concepts in anabolic-androgenic steroids. **Am J Sports Med** v.32, p. 534-42, 2004.

FARBER, H. W.; LOSCALZO, J. Mechanisms of disease. Pulmonary arterial hypertension. **N. Engl J Med**, v.351, p. 1655-65, 2004.

FERMO, R. S.; REGO, J. N. I.; FRANQUINI, J. V. M.; ANDRADE, T. U. Efeito da suplementação alimentar sobre ação anabólica do decanoato de nandrolona em ratos. **Rev. Eletron. Farm** [Internet]. 2008. [citado 2009 abr 5];5(1):111-21. Disponível em: <http://revistas.ufg.br/index.php/REF/article/view/4621/3943>.

GRACELI, B.J. et al. Uso Crônico de Decanoato de Nandrolona Como Fator de Risco Para Hipertensão Arterial Pulmonar em Ratos Wistar. **Rev Bras Med Esporte**, v. 16, ,n., jan.fev.2010.

HARTGENS, F.; KUIPERS, H. Effects of androgenic-anabolic steroids in athletes. **Sports Medicine**, Auckland, v.38, p.513-54, 2004.

KADI, F. Cellular and molecular mechanisms responsible for the action of testosterone on human skeletal muscle. A basis for illegal performance enhancement. **Br. J. Pharmacol**, v.154, n.3, p. 522-8, 2008.

LEWANOWITSCH, T. & IRVINE, R. J. Effects of testosterone propionate and nandrolone decanoate on body composition and lipoprotein concentrations in the rat. **Addiction Biology**, v.6, p. 55-61, 2001. LISE, M.L.; DAGAMA E SILVA, T.S.; FERIGOLO,

M.; BARROS, H.M. Abuse of anabolic-androgenic steroids in sports. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, São Paulo, v. 45, n.4, p.364-370, 1999 MELCHERT, R.B.; WEKDER, A.A.; Cardiovascular effects of androgenic-anabolic steroids. **Medicine Science of Sports Exercise**, Madison, v.27, p.1252-62, 1995.

PERRY, P.J.; LUND, B.C.; DENINGER, M.J.; KUTSCHER, E.C.; SCHNEIDER, J. Anabolic steroid use in weightlifters and bodybuilders: an internet survey of drug utilization. **Clin J. Sport Med.**, v.15, n.5, p. 326-30, 2005.

SANTOS, A. M. O mundo anabólico, 2.ed. Baruer: Manole, 2007.

SILVA P.R.P., DANIELSKI, R.; CZEPIELEWSKI M. A. Esteróides anabolizantes no esporte. **Rev Bras Med Esporte**, v.8, n.6, p. 235-43, 2002.

SNYDER, P. J. Androgens. In: HARDMAN LIMBIRD JGLE, GOODMAN & GILMAN A, (Editors). **The Pharmacological Basis of Therapeutics**, 10. ed. New York: McGraw Hill, 200. p. 1635-48

URHAUSEN, A.; ALBERS, T.; KINDERMANN, W. Are the cardiac effects of anabolic steroid abuse in strength athletes reversible. **Heart**, London., v. 90, n.5, p.496-501, 2004.

WU, F. C. W. Endocrine aspects of anabolic . **Steroids Clin. Chemistry.**, v.43, n.7, p.1289-92, 1997.