

## AVALIAÇÃO DO EFEITO DO ESTERÓIDE ANABÓLICO DECANOATO DE NANDROLONA NA MORFOLOGIA DO OVÁRIO DE RATAS ADULTAS

ZANAROTTI, Larissa Balbino. - Graduada em Farmácia pelo Centro Universitário Barão de Mauá, Farmacêutica Responsável na empresa Droganipo Comércio de Medicamentos e Perfumaria - Ribeirão Preto, SP, Brasil

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

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

### RESUMO

Altas doses de esteróides anabólicos androgênicos são utilizadas, sem indicação terapêutica, por indivíduos que visam aumentar a força muscular e/ou melhorar a aparência física. Entretanto, os efeitos benéficos dessas substâncias no desenvolvimento atlético são questionáveis. Além disso, sabe-se que esses esteróides podem ter muitos efeitos colaterais. Este estudo teve por objetivo analisar a morfologia dos ovários de ratas, diante da administração do esteróide anabólico decanoato de nandrolona. Para isto, foram utilizadas 8 ratas Wistar adultas, divididas equitativamente em dois grupos: controle e experimental. Os animais do grupo experimental receberam por seis semanas consecutivas injeção intramuscular de 6 mg/kg de decanoato de nandrolona (Deca-Durabolin®). Os animais do grupo controle receberam injeção intramuscular de solução salina (0,9%). Seis horas antes da eutanásia os animais receberam injeção intramuscular de colchicina (0,10mg/100g do peso) para a visualização das mitoses. Após a eutanásia foram retiradas as gônadas para a análise histológica em microscopia de luz. Os dados obtidos demonstraram que houve um aumento significativo da massa corpórea nos animais do grupo experimental. Para estudo morfométrico, os cortes histológicos foram observados e analisados por meio de programa IS CAPTURE IMAGING APPLICATION, CÂMERATUCSEN USB 2.0 H SERIES, que mostraram aumento na espessura da camada da granulosa, no número de células do cumulus oophorus, bem como o aumento no número de células em metáfase. Além disso, núcleos picnóticos foram observados no interior do antro folicular. Os resultados obtidos neste estudo sugeriram que o tratamento androgênico possa alterar o desenvolvimento e a estrutura de folículos ovarianos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Esteróide anabólico androgênico; Decanoato de Nandrolona; Morfologia dos ovários.

### EVALUATION OF THE EFFECT OF THE ANABOLIC STEROID NANDROLONE DECANOATE IN THE MORPHOLOGY OF THE OVARIES OF ADULT WISTAR RATS

#### ABSTRACT

High doses of anabolic androgenic steroids are used, without therapeutic indication, by individuals who seek to increase muscle strength or to improve physical appearance. However, the beneficial effects of these substances in athletic development is questionable. Moreover, it is known that this practice is accompanied by many side effects. This study aimed to analyze the morphology of the ovaries of rats, associated with the administration of the anabolic steroid nandrolone decanoate. 8 Adult Wistar rats were used, divided into two groups: experimental and control. The rats in the experimental group received, during six consecutive weeks, an intramuscular injection of nandrolone decanoate (Deca - Durabolin®, 6mg/kg). The animals in the control group received an intramuscular injection of saline solution (0,9%). Six hours before euthanasia, both groups received an intramuscular injection of colchicine

*Avaliação do efeito do esteróide anabólico de...*

(0.10 mg/100 g weight) for visualization of mitosis. After the euthanasia, the gonads were removed for histological analysis with light microscopy. These data showed a significant increase of body mass in the animals of the experimental group. For morphometric study, the histological cuts were observed and analyzed using the program IS CAPTURE IMAGING APPLICATION, CÂMERATUCSEN USB 2.0 H SERIES, that showed increase of the layer of granulosa cells, of the number of cells of the cumulus oophorus as well as in the number of cells in metaphase. Moreover, pyknotic nuclei were observed inside the follicular antrum. The results of this study suggested that androgen treatment may change the structure and the development of ovarian follicles.

**KEYWORDS:** Androgen anabolic steroid; Nandrolone decanoate; Ovary morphology.

#### INTRODUÇÃO

Os Esteróides Anabólicos Androgênicos (EAA) sintéticos são compostos derivados da testosterona, desenvolvidos como o objetivo de diminuir a função andrógena e aumentar a função anabólica, que diminui a degradação de proteínas. Dessa maneira, a síntese proteica no tecido muscular aumenta e ocorre um ganho de massa, força e resistência (FORTUNATO et al., 2007).

Os EAA são utilizados em grandes quantidades por atletas das mais diversas modalidades desportivas, com o intuito de melhorar a massa muscular e o desempenho (D'ASCENZO et al., 2007). O uso prolongado (MARQUETI et al., 2006) de tal substância muitas vezes leva a conseqüências negativas à saúde, como alteração no sistema reprodutor, na função endócrina hepática e também sobre as características músculo-esquelético (D'ASCENZO et al., 2007).

Sobre o sistema reprodutor, destacam-se nos homens a redução da produção de espermatozoides, atrofia dos testículos, impotência, dificuldade ou dor para urinar, ginecomastia, priapismo, hipertrofia

prostática e carcinoma prostático (VENÂNCIO et al., 2010). Em mulheres observam-se a virilização, manifestando-se com diminuição da gordura corporal e tamanho dos seios, voz mais grave, irregularidades menstruais, aumento do clitóris, alteração na libido, supressão do ciclo estral e atrofia ovariana (BENTO-SILVA et al., 2010).

O decanoato de nandrolona ou Deca-Durabolin®, cuja substância ativa é a nandrolona, é classificado como não-aromatizável, devido a sua baixa taxa de conversão a estrogênio, reduzindo os efeitos feminilizantes indesejáveis recorrentes do uso prolongado ou em doses supra fisiológicas desse esteróide (MOTTRAM; GEORGE, 2000; KUHN, 2002; CUNHA et al., 2004). O decanoato de nandrolona foi introduzido como uma preparação anabólica injetável e após a sua administração é gradualmente liberado do depósito muscular e subseqüentemente hidrolisado em nandrolona e atua cerca de três semanas, após administração intramuscular (KOROLKOVAS, 2008).

O decanoato de nandrolona, um derivado da testosterona, está entre os EAA mais consumidos, de acordo com o *National Institute on Drug Abuse* (NIDA), devido ao seu moderado potencial androgênico associado às boas propriedades anabólicas. A nandrolona sofre a ação da enzima 5  $\alpha$ -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). Alguns estudos apontam que o decanoato de nandrolona pode modular a regulação do ciclo celular e, assim, alterar a massa muscular, mas os processos intramusculares ainda não estão bem esclarecidos (MCCLUNG et al., 2005; DIEL et al., 2008).

A Associação Brasileira de Academias estima que existam sete mil academias atualmente no Brasil, nas quais 2,8 milhões de pessoas realizam seus programas de exercícios (DOMINGUES & MARINS, 2007). Iriart e Andrade (2002) afirmam

que os principais consumidores de esteróides anabolizantes são jovens e adultos com idades entre 18 e 34 anos, geralmente do sexo masculino. Mas o número de mulheres que utilizam esses compostos buscando fins estéticos tem crescido consideravelmente (FORTUNATO et al., 2007).

Este estudo teve por objetivo analisar a morfologia dos ovários diante da administração do esteróide anabólico decanoato de nandrolona.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Experimento

Para realização da presente pesquisa foram utilizadas oito ratas Wistar adultas, com cerca de 150g a 250g de peso (ANDRADE et al., 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 receberam 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. Seis horas antes da eutanásia em câmara de gás carbônico, foram

inoculados 0,10mg/100g do peso de colchicina (Colchis de 0,5mg Apsen Farmacêutica S/A, São Paulo, São Paulo, Brasil), para a visualização das mitoses. Imediatamente após a eutanásia, as ratas foram posicionadas em uma mesa cirúrgica para a retirada das gônadas.

### Processamento histológico

Imediatamente após sua remoção, as gônadas foram fixadas em formaldeído 10%. 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 e por meio da microscopia de luz foram analisados os ovários das ratas dos grupos controle e experimental.

### Análises Histológica e Histomorfométrica

A análise morfológica dos ovários teve como intuito comparar nos grupos controle e experimental a espessura da camada da granulosa, o número de mitoses na mesma camada e além da presença de núcleos picnóticos, sendo analisados por meio de programa ISCAPTURE IMAGING APPLICATION, CÂMERA TUCSEN USB 2.0 H SERIES e MICROSCÓPIO NIKON ECLIPSE E200. Foram quantificados 28 cortes com a espessura de 4µm.

As fotomicrografias dos ovários foram obtidas com auxílio de câmera digital (Sony Cyber-shot, Digital Still Camera DSC-W 320, China).

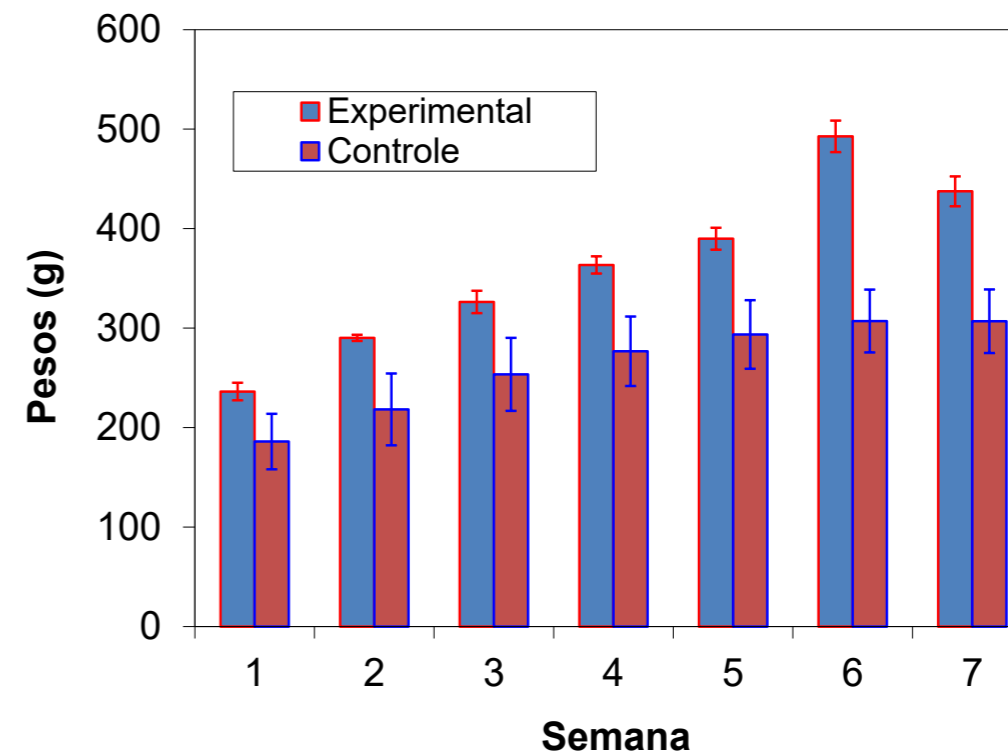
### Análise estatística

Após a constatação de que os dados obtidos não apresentavam distribuição homogênea, foi utilizado o teste não paramétrico de Mann-Whitney para comparação do peso dos animais e com o valor de  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

Representação do peso dos animais, grupos controle e experimental (média ± desvio padrão). Teste Estatístico de Mann-Whitney ( $p < 0,05$ ) **Figura 1.**

**Figura 1-** Representação do peso dos animais, grupos controle e experimental. (média ± desvio padrão).



Fonte: Dados da pesquisa.

A análise histológica dos ovários consistiu na comparação dos folículos ovarianos dos grupos controle e experimental. As lâminas confeccionadas foram fotografadas sob microscopia de luz em diferentes aumentos, com o auxílio de uma câmera digital. As fotomicrografias (figura 2) a seguir mostram as diferenças entre os grupos controle e experimental:

**Figura 2:** Fotomicrografias de ovários de animais dos grupos controle (A e C) e experimental (B e D). Em menor aumento, em A e B observa-se os ovários de ratas de ambos os grupos. Em (D) parece haver aumento da camada da granulosa (seta) grupo experimental. Aumento final 100X.

As fêmeas do grupo controle apresentam ovários contendo folículos em diversos estágios de maturação (A). Com o uso do anabolizante ocorre um aumento da camada da granulosa, como pode ser observado na figura 3 abaixo:

**Figura 3:** Comparação do aumento das células

da camada da granulosa do grupo controle e experimental. Teste Estatístico de Mann-Whitney ( $p = 0,03$ ).

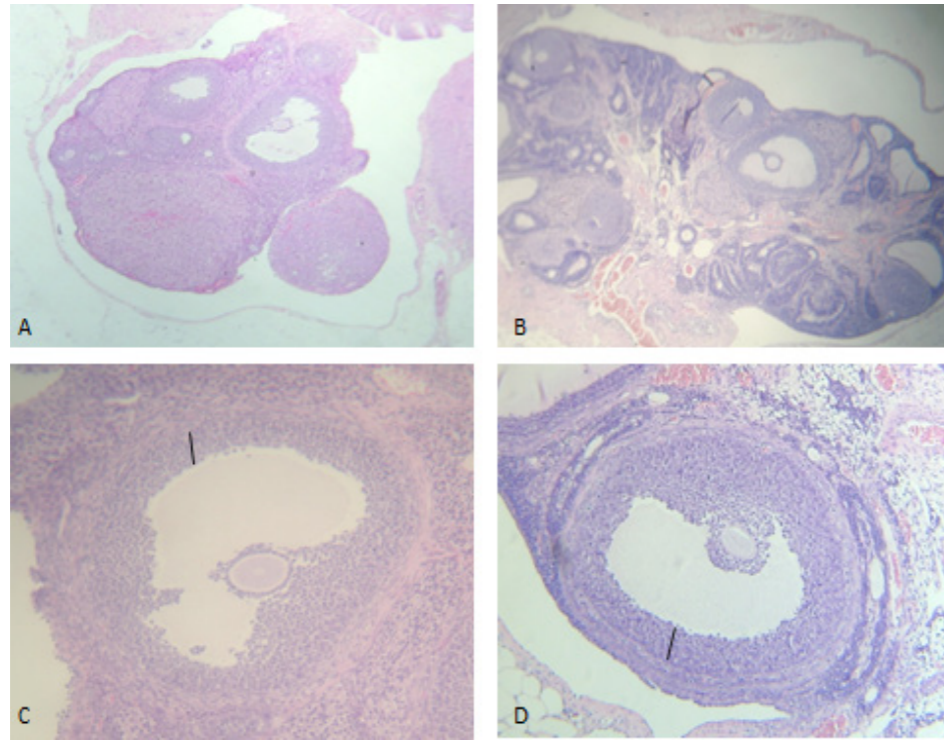
**Figura 4:** Fotomicrografias de ovários de animais dos grupos controle (A e C) e experimental (B e D). Em (B) Células Cumulus Oophorus (seta), em (D) núcleos picnóticos (seta) grupo experimental. Aumento final 400X.

As fêmeas tratadas com o anabolizante apresentaram em aumento das células do cumulus oophorus, bem como aumento de células em metáfase (B), como mostra a figura 4 a presença de núcleos picnóticos de células foliculares para o interior do antro folicular (D).

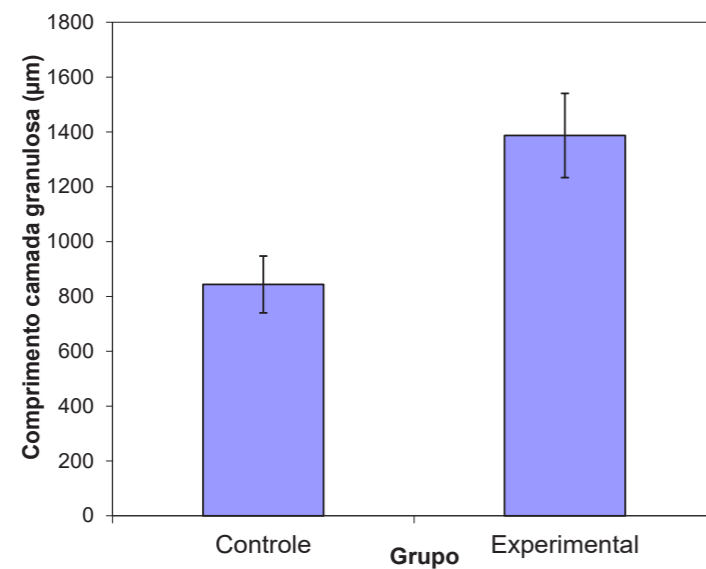
**Figura 5:** Fotomicrografias comparando o número de mitoses da granulosa entre os grupos controle e experimental. Teste Estatístico de Mann-Whitney ( $p = 0,003$ ).

## DISCUSSÃO

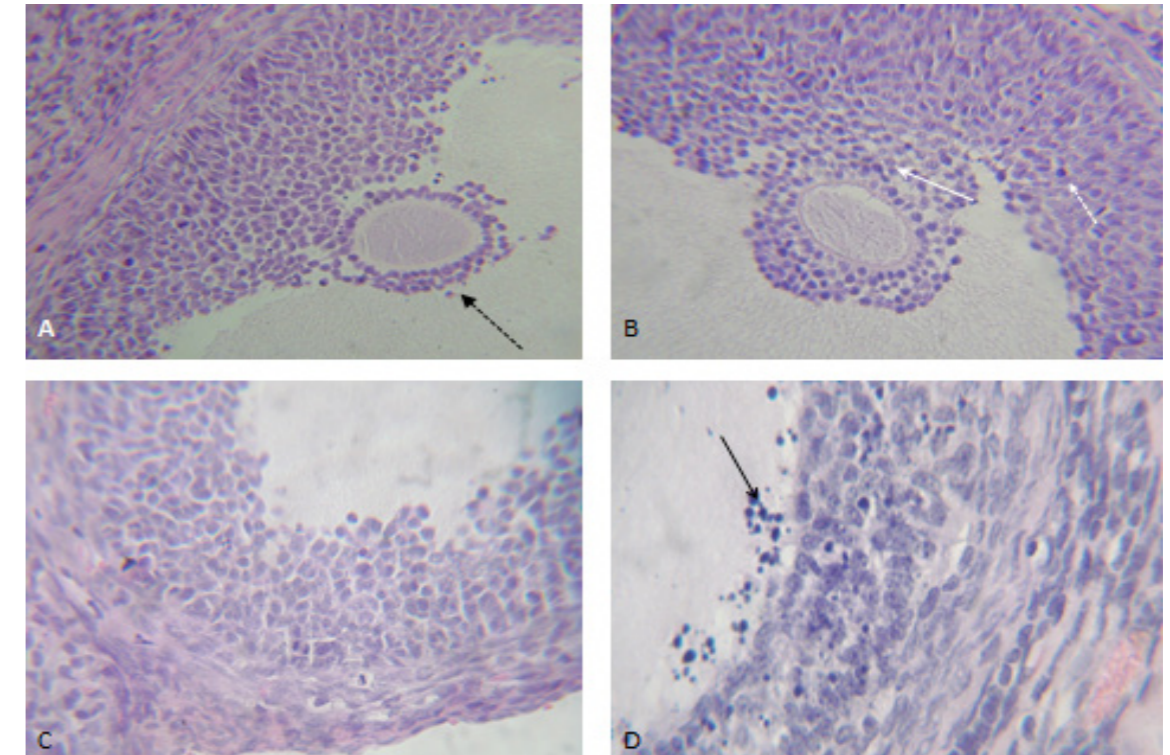
**Figura 2** - Fotomicrografias de ovários de animais dos grupos controle (A e C) e experimental (B e D). Em menor aumento (A e B), folículos são observados. Aumento aproximado: 10X. Em maior aumento, observa-se detalhe da camada da granulosa (linha) que apresenta-se aparentemente aumentada no grupo experimental (D) em comparação ao grupo controle (linha) (C). Aumento aproximado: 100X. Coloração: Hematoxilina e Eosina.



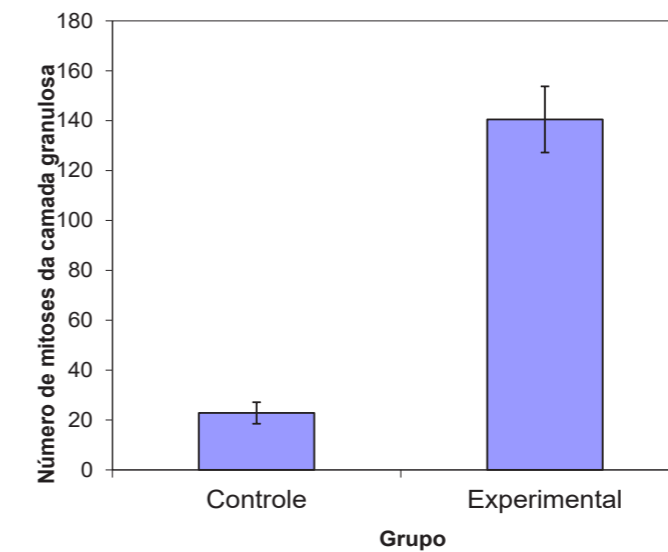
**Figura 3** - Comparação do aumento das células da camada da granulosa dos grupos controle e experimental (média ± desvio padrão). Teste Estatístico de Mann-Whitney ( $p= 0,03$ ).



**Figura 4** - Fotomicrografias de porções de folículos ovarianos de animais dos grupos controle (A e C) e experimental (B e D). Observa-se menor espessura da corona radiata no grupo controle (seta tracejada preta) (A). Aumento aproximado: 10X. Em (B) células cumulus oophorus (seta) e células em metáfase (seta tracejada branca). Em (D) núcleos picnóticos (seta) grupo experimental, não sendo observado no grupo controle (C). Aumento final 400X. Coloração: Hematoxilina e Eosina.



**Figura 5** - Comparação do número de mitoses da granulosa entre os grupos controle e experimental. Teste Estatístico de Mann-Whitney ( $p= 0,003$ ).



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 de órgãos reprodutores femininos, mas os autores (GIANNINI *et al.*, 1991; BOND *et al.*, 1995; CORRIGAN, 1996), relatam a ação fisiológica e comportamental do uso abusivo de esteróides anabólicos androgênicos.

Os componentes dos esteróides anabólicos androgênicos alteram a função do eixo hipotálamo-hipófise-gônada (GAO & SHORT, 1993; BRONSON, 1996; BLASBERG *et al.*, 1997).

O feedback negativo pode ser suprimido pelos altos níveis de andrógeno circulante e reduzir a liberação de gonadotrofinas, fazendo com que os ovários reduzam ou não sintetizem estrógeno. Através do exame histológico dos ovários das ratas tratadas com Deca-Durabolin as alterações observadas no desenvolvimento da camada da granulosa, a invasão de núcleos picnóticos de células foliculares para o interior do antro folicular, bem como as várias células em metáfase na parede folicular, acredita-se que o uso desta droga poderia resultar numa esterilidade.

#### CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo sugerem que o tratamento androgênico possa alterar o desenvolvimento e a estrutura dos folículos ovarianos.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o Centro Universitário

Barão de Mauá pelo auxílio financeiro.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

BENTO-SILVA MT, et al. Effects of administering testosterone undecanoate in rats subjected to physical exercise: effects on the estrous cycle, motor behavior and morphology of the liver and kidney. **Braz. J. Pharm. Sci.** 2010;46:79-89.

BLASBERG, M.E., LANGAN, C.J., CLARK, A.S. The effects of alpha methyl testosterone, methandrostenolone and nandrolone decanoate on the rat estrous cycle. **Physiol. Behav.**, v.61, p.265-272, 1997.

BOND, A. J., CHOI, P. Y. L., POPE, H. G. Assessment of attentional and mood in users and non-users of anabolic-androgenic steroid **Drug alcohol**, v. 37, p 241-245, 1995.

BRONSON, F.H. Effects of prolonged exposure to anabolic steroids on the behavior of male and female mice. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v.53, p. 329-334, 1996.

CORRIGAN, B. Anabolic steroids and the mind. **Med. J. Aust.**, v. 165, p. 222-226, 1996.

CUNHA, T. S.; CUNHA, N. S.; MOURA, M. J. C. S.; MARCONDES, F. K. Esteróides anabólicos androgênicos e sua relação com a prática desportiva **Rev. Bras. Ciênc. Farmac.** v.40, n.2, p. 165-179, 2004.

D'ASCENZO S, MILLIMAGGI D, DI

MASSIMO C, SACCANI-JOTTI G, BOTRE F, CARTA G et al. Detrimental effects of anabolic steroids on human endothelial Cells. **Toxicol Lett.** v.169, n.2, p. 129-136, 2007.

DIEL P, FRIEDEIL A, GEYER H, KAMBER M, LAUDENBACH-LESCHOWSKY U, SCHANZER W et al. **The prohormone 19-norandrostenedione displays selective androgen receptor modulator (SARM) like properties after subcutaneous administration.** **Toxicol Lett.** v.177, n.3, p. 198-204, 2008.

DOMINGUES, S.F; MARINS, J.C.B. Utilização de recursos ergogênicos e suplementos alimentares por praticantes de musculação em Belo Horizonte – MG. **Fit Perf J**, v.6, p.218-26, 2007.

FORTUNATO, R.S; ROSENTHAL, D; CARVALHO, D.P. Abuso de esteróides anabolizantes e seu impacto sobre a função tireoideia. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v.51, p.1417-24, 2007.

GAO, Y.; SHORT, R.V. Use of an oestrogen, androgen or gestagen as a potential chemosterilant for control of rat and mouse populations. **Journal of Reproduction and Fertility.** v.97, p. 39–49, 1993.

GIANNINI, A.J., MILLER, N., KOCJAN, D. K. Treating steroid abuse. **Clin. Ped.** v. 30, p. 538-542, 1991.

IRIART, J.A.B; ANDRADE, T.M. Musculação, uso de esteróides anabolizantes e percepção de risco entre jovens fisiculturistas de um bairro popular de Salvador, Bahia, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, v.18, p.1379-87, 2002.

KOROLKOVAS, A; BURCKHALTER, JOSEPH, H; **Química Farmacêutica.** Rio de

Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. KUHN, C. M. Anabolic steroids. **Recent Prog Horm Res.** v.57, p. 411-34, 2002.

LEWANOWITSCH, T., IRVINE, R.J. Effects of testosterone propionate and nandrolone on body composition and lipoprotein concentrations in the rat. **Addiction Biology**, v.6, p. 55-61, 2001.

LISE, M. L. Z. et al. O abuso de esteróides anabólico-androgênicos em atletismo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 45, n. 4, p. 364-370, 1999.

MARQUETI RC, PARIZOTTO NA, CHRINGUER RS, PEREZ SEA, SELISTRE-DE-ARAUJO HS. Androgenic-anabolic steroids associated with mechanical loading inhibit matrix metalloproteinase activity and affect the remodeling of the achilles tendon in rats. **Am. J. Sports. Med.** v.34, n.8, p. 1274-1280, 2006.

MCCLUNG JM, MEHL KA, THOMPSON RW, LOWE LL, CARSON JA. Nandrolone decanoate modulates cell cycle regulation in functionally overloaded rat soleus muscle. **Am. J. Physiol. Regul Integr. Comp. Physiol.** v.288, n.6, p. 1543-1552, 2005.

MOTTRAM, D. R.; GEORGE, A. J. Anabolic steroids. Baillieres Best Pract. **Res. Clin. Endocrinol. Metab.**, v.14, n.1, p. 55-69, 2000.

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

SILVA PRP, DANIELSKI R, CZEPIELEWSKI MA. Esteróides anabolizantes no esporte. **Rev. Bras. Med. Esporte** .v.8, n.6, p. 235-243, 2002.

VENÂNCIO DP, NOBREGA ACL, TUFIK S, MELO MT. Avaliação descritiva sobre o uso de esteróides anabolizantes e seu efeito sobre

ZANAROTTI *et al.*

as variáveis bioquímicas e neuroendócrinas em indivíduos *que* praticam exercício resistid. **Rev. Bras. Med. Esporte.** v.16, n.3, p. 191-195, 2010.

Recebido em: 28/11/2016

Aprovação final em: 07/03/2017

---

---

# Artigo de Revisão

---

---