

Efeitos dos esteroides anabólicos androgênicos sobre o útero e parâmetros reprodutivos de ratas adultas

Effects of androgenic anabolic steroids on the uterus and reproductive parameters of adult female rats

Artigo original

Palavras-chave

Esteroides
Útero/efeito de drogas
Útero/anatomia & histologia
Reprodução/efeitos de drogas
Reprodução/fisiologia
Gestação
Ratos

Keywords

Steroids
Uterus/drug effects
Uterus/anatomy & histology
Reproduction/drug effects
Reproduction/physiology
Gestation
Rats

Resumo

OBJETIVO: avaliar os efeitos da administração de dois esteroides sintéticos sobre a morfologia do útero e parâmetros reprodutivos de ratas adultas. **MÉTODOS:** quarenta ratas foram aleatoriamente distribuídas nos grupos experimentais: controle (C; solução fisiológica); tratados com decanoato de nandrolona (DN; 7,5 mg/kg de peso corpóreo); composto de ésteres de testosterona (T; 7,5 mg/kg de peso corpóreo); e, simultaneamente, com DN e T (7,5 mg/kg de peso corpóreo de cada esteroide), em uma única dose/semana, intraperitoneal, durante oito semanas. Cinco fêmeas de cada grupo foram sacrificadas e os cornos uterinos foram coletados, pesados e preparados para avaliação histológica e morfométrica. As ratas restantes foram acasaladas com machos normais para avaliação dos parâmetros reprodutivos, constituindo os grupos tratados durante o período pré-gestacional. Outro grupo de 20 ratas recebeu os tratamentos durante o período gestacional (7^o-14^o dias). Foi aplicada a análise de variância não paramétrica de Kruskal-Wallis, complementada com o teste de Dunn ou de Student-Newman-Kleus para análise dos dados (5% de significância). **RESULTADOS:** houve aumento significativo no peso corpóreo das fêmeas androgenizadas (DN: 305±50; T: 280±35; DN+T: 275±30 versus C: 255±22 g) (p<0,05). O peso uterino não foi afetado pelos tratamentos esteroidais (DN: 0,6±0,2; T: 0,4±0,04; DN+T: 0,7±0,1 versus C: 0,4±0,09 g). Todas as fêmeas androgenizadas apresentaram aciclicidade estral e endométrio caracterizado pelo revestimento luminal papilífero, estroma edematoso com áreas hemorrágicas e atividade secretora. Houve alterações nos parâmetros morfométricos de espessura do epitélio luminal, miométrio e perimétrio, em função do grupo androgenizado. Nenhuma rata exibiu prenhez quando tratada com os esteroides no período pré-gestacional, e o tratamento durante a organogênese afetou negativamente os parâmetros reprodutivos. **CONCLUSÕES:** os agentes esteroidais alteram a estrutura uterina e comprometem a fertilidade e os produtos da gestação em ratas.

Abstract

PURPOSE: to evaluate the effects of the administration of two synthetic steroids in the uterus morphology and in the reproductive parameters of adult female rats. **METHODS:** divided into four experimental groups: control (C; physiological solution); treated with nandrolone decanoate (DN; 7.5 mg/kg of body weight); with a testosterone esters compound (T; 7.5 mg/kg); and simultaneously with DN and T (7.5 mg/kg of each steroid), in a single intraperitoneal weekly dose, for eight weeks. Five females of each group were sacrificed and the uterine horns were collected, weighted and prepared for histological and morphometrical evaluation. The remaining rats were mated with normal male rats for reproductive parameters evaluation, composing the groups treated during the pre-gestational period. Another group of 20 female rats were treated during the gestational period (7th-14th days). For data analysis, the Kruskal-Wallis non-parametric variance analysis was used, followed by the test of Dunn or of Student-Newman-Keus (5% significance level). **RESULTS:** there was a significant body weight increase in the androgenized females (ND: 305±50; T: 280±35; ND+T: 275±30 versus C: 255±22 g; p<0.05). Uterine weight was not affected by the steroidal treatment (ND:

Correspondência:

Isabel Cristina Cheric Camargo
Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" – UNESP – Assis (SP), Brasil.
Avenida Dom Antonio, 2.100 – Parque Universitário
CEP 19816-900 – Assis (SP), Brasil
Fone/fax: (18) 3302-5848/3302-5849
E-mail: camargo@assis.unesp.br

Recebido

19/5/09

Aceito com modificações

10/8/09

Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" – UNESP – Assis (SP), Brasil.

¹ Professora-assistente do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" – UNESP – Assis (SP), Brasil.

² Acadêmica do Curso de Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" – UNESP – Assis (SP), Brasil.

³ Professor-assistente do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" – UNESP – Assis (SP), Brasil.

⁴ Professora-assistente do Departamento de Biologia Geral da Universidade Estadual de Londrina – UEL – Londrina (PR), Brasil. Auxílio Financeiro: FAPESP (Proc. 07/54240-1)

0,6±0,2; T: 0,4±0,04; ND+T: 0,7±0,1 versus C: 0,4±0,09 g). All the androgenized females presented estral acyclicity and endometrium characterized by papilliferous luminal lining, oedematous stroma with hemorrhagic areas and secretory activity. There were changes in the morphometrical thickness parameters of the luminal epithelium, myometrium and perimetrium in the androgenized groups. None of the female rats got pregnant when treated with steroids in the pre-gestational period and the treatment during organogenesis affected negatively the reproductive parameters. **CONCLUSIONS:** steroidal agents alter the uterine structure and impair fertility and gestational outcome in female rats.

Introdução

Os esteroides anabólicos androgênicos (EAA) são derivados sintéticos do hormônio natural testosterona^{1,2} que apresentam efeitos sobre uma variedade de tecidos corpóreos^{3,4}. A prescrição e comercialização dessas substâncias são controladas em vários países, incluindo Austrália, Argentina, Brasil, Canadá, Reino Unido e Estados Unidos⁴.

As aplicações clínicas dos EAA foram relatadas por vários autores^{1,4-6}, com indicações para o tratamento de doenças crônicas associadas ao estado catabólico do paciente, tais como: condições de AIDS; doença pulmonar obstrutiva crônica; deficiência hepática ou renal; câncer; casos de queimadura; e recuperação pós-operatória. No entanto, 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 pacientes⁵.

O uso indiscriminado e abusivo de EAA entre adultos e adolescentes sem fins terapêuticos tem se tornado um problema de saúde pública, despertando a atenção da comunidade científica. Entre os agentes esteroidais injetáveis, o decanoato de nandrolona e o composto de ésteres de testosterona são os mais utilizados⁷. Geralmente, essas drogas são administradas em doses suprafsiológicas⁸ para aumentar a massa muscular e a força⁹ em curto período de tempo. As doses utilizadas podem ser cinco a 29 vezes superiores às doses de reposição fisiológica de testosterona⁷, ou podem alcançar até 100 vezes a dose terapêutica¹⁰. Assim, os usuários de decanoato de nandrolona ou de ésteres de testosterona administram, respectivamente, doses abusivas de 423,3 mg/semana e 516,0 mg/semana durante um período médio de 9,7 semanas⁷. Terapeuticamente, a recomendação é de 50 mg de decanoato de nandrolona e 250 mg de ésteres de testosterona a cada três semanas, conforme indicação do fabricante. Além do emprego de doses suprafsiológicas, os usuários de esteroides sintéticos administram várias drogas diferentes, simultaneamente, para aumentar a potência de cada agente anabólico¹. Um regime esteroideal típico geralmente envolve uma média de 3,1 agentes, utilizados em ciclos que variam de cinco a dez semanas⁷.

A administração de EAA tem resultado em efeitos adversos em vários sistemas fisiológicos^{1,11-13}. Mulheres que, cronicamente, recebem doses suprafsiológicas de

andrógenos, podem apresentar efeitos virilizantes, sendo alguns irreversíveis⁴. Os EAA promovem irregularidade menstrual, hipertrofia clitoriana, engrossamento da voz, hirsutismo, alteração na libido e atrofia das mamas^{1,3,4}.

Em mulheres transexuais submetidas à terapia com andrógenos por um período de um ano ou mais, antes de serem submetidas à cirurgia, foi observada severa atrofia do epitélio cervical, vários graus de atrofia endometrial, infiltração de eosinófilos no miométrio, presença de cistos foliculares nos ovários e corpos lúteos ocasionais, indicando que a ovulação ainda poderia ocorrer¹⁴. Em camundongas¹⁵ e ratas¹⁶, o tratamento androgênico com 17 α -metiltestosterona ou decanoato de nandrolona, respectivamente, causou alterações nas espessuras das camadas teciduais do útero.

O presente estudo mimetizou em modelo animal as condições geralmente empregadas pelos usuários de EAA através da administração de dois esteroides popularmente utilizados: decanoato de nandrolona e composto de ésteres de testosterona, em dose suprafsiológica de 7,5 mg/kg de peso corpóreo¹⁷, equivalente a uma dose de decanoato de nandrolona 20 vezes superior à dose recomendada para o tratamento de anemia¹⁶.

Considerando-se que são escassos os estudos morfológicos a respeito dos efeitos dos EAA na reprodução feminina, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do uso isolado ou simultâneo de decanoato de nandrolona e composto de ésteres de testosterona sobre o útero e parâmetros reprodutivos de ratas tratadas nos períodos pré-gestacional e gestacional.

Métodos

É um estudo prospectivo, experimental e randomizado. Foram utilizadas 60 ratas sexualmente maduras da linhagem Wistar, com peso médio de 250 g no início do experimento, as quais foram alojadas em ambiente padrão com temperatura média de 22°C e luminosidade de 12 horas de ciclo claro/escuro. Água e dieta sólida foram fornecidas *ad libitum*. O manejo dos animais obedeceu às normas adotadas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FCL/UNESP – Assis (Processo nº 417/2006).

Foram utilizados os esteroides sintéticos decanoato de nandrolona (DN) e o composto de ésteres de testosterona

(T; propionato, fenilpropionato, isocaproato e decanoato). São preparados injetáveis, contendo 50 mg de ND/mL e 250 mg de T/mL.

Quarenta ratas foram aleatoriamente distribuídas nos grupos experimentais: controle (C; solução fisiológica 0,9%); tratados com DN (7,5 mg/kg de peso corpóreo); T (7,5 mg/kg de peso corpóreo); e simultaneamente com DN e T (7,5 mg/kg de peso corpóreo de cada esteroide), em uma única dose/semana, intraperitoneal, durante oito semanas consecutivas.

O ciclo estral das fêmeas foi monitorado diariamente durante o período experimental. As ratas com ciclo estral regular foram destinadas ao sacrifício na fase de estro, e aquelas que apresentaram ciclo irregular foram destinadas ao sacrifício na fase em que persistiram.

Ao final do tratamento, cinco fêmeas de cada grupo foram sacrificadas, e o útero e ovários foram coletados e pesados. Secções seriadas de cada corno uterino, de 5 μ m de espessura, incluídas em Paraplast (Oxford Labware, USA), foram coradas com hematoxilina-eosina para avaliação histológica e morfométrica em microscópio de luz acoplado ao sistema digitalizador de imagens Pro-Image Plus® Media Cybernetics. Para a análise morfométrica, foi mensurada uma secção uterina e desprezadas outras três subsequentes ao longo de todo o órgão, perfazendo-se uma média de quatro repetições/fêmea/grupo. Foram mensuradas as espessuras do epitélio luminal, estroma endometrial, miométrio e perimétrio nas porções proximal, média e distal em relação ao ovário. Para a mensuração das espessuras do epitélio luminal e perimétrio foi utilizada a objetiva de 10x, e para as espessuras de estroma e miométrio, a objetiva de 4x. Os resultados foram expressos em μ m.

As ratas restantes (n=5/grupo) foram acasaladas com machos normais para avaliação dos parâmetros reprodutivos, constituindo os grupos tratados durante o período pré-gestacional. Outro grupo de 20 ratas foi constituído e recebeu os tratamentos experimentais durante o período gestacional (7^o-14^o dias). A prenhez foi confirmada com base na presença de espermatozoides no esfregaço vaginal, e este foi considerado o primeiro dia de gestação. No 19^o dia gestacional, as ratas foram anestesiadas com ketamina e xilazina, intramuscular, e a laparotomia foi realizada, retirando-se cuidadosamente os cornos uterinos para avaliação fetal. Em cada grupo experimental foram obtidos os registros do número e peso dos fetos de cada ninhada, número de sítios de implantação, número de corpos lúteos gravídicos, número de sítios de reabsorção, taxas de perdas pré-implantação e pós-implantação¹⁸ e índices de fertilidade e de gestação. Cada feto foi examinado a fresco com o auxílio de estereomicroscópio para determinação do sexo pela distância anogenital¹⁸ e avaliação da morfologia externa.

Foi aplicada a análise de variância não paramétrica de Kruskal-Wallis, complementada com o teste de Dunn ou de Student-Newman-Kleus para análise dos dados biométricos de pesos, morfometria uterina e parâmetros reprodutivos. Os resultados foram apresentados com os valores da mediana \pm desvio interquartilico e discutidos no nível de 5% de significância.

Resultados

Os pesos corpóreo, uterino e ovariano das ratas dos quatro grupos experimentais estão expressos na Tabela 1. Os resultados demonstraram aumento significativo ($p < 0,05$) no peso corpóreo das ratas androgenizadas em comparação ao Grupo Controle (DN: 305 \pm 50; T: 280 \pm 35; DN+T: 275 \pm 30 *versus* 255 \pm 22 g). O peso uterino não foi afetado pelos tratamentos androgênicos. No entanto, houve redução significativa ($p < 0,05$) no peso ovariano das ratas tratadas com T e DN+T (0,1 \pm 0,02 g e 0,1 \pm 0,02 g, respectivamente), em comparação ao Grupo Controle (0,2 \pm 0,05 g).

O ciclo estral se manteve regular nas cinco fêmeas do Grupo Controle durante o período experimental, enquanto que, em todas as fêmeas androgenizadas, houve aciclicidade estral, com persistência da fase de diestro.

A análise da estrutura histológica uterina demonstrou que o endométrio foi afetado pelos tratamentos esteroidais em todas as ratas. No entanto, o miométrio e o perimétrio dessas fêmeas apresentaram padrão morfológico semelhante ao observado nas fêmeas não androgenizadas.

No Grupo Controle, o epitélio luminal do tipo colunar simples caracterizou-se pelo aspecto retilíneo (Figura 1A), havendo raras figuras mitóticas. O estroma fibrocelular apresentou leucócitos dispersos, principalmente na região subjacente ao epitélio e glândulas com lúmen reduzido. A cavidade uterina se apresentou desprovida de secreção. Em cada grupo androgenizado, a estrutura endometrial apresentou similaridade nas cinco ratas. Nos grupos tratados com DN ou T, o epitélio luminal apresentou aspecto papilífero (Figuras 1B e 1C, respectivamente), com revestimento do tipo colunar simples baixo ou cúbico, havendo secreção no interior da cavidade uterina. O estroma endometrial, de aspecto edematoso, apresentou

Tabela 1 - Efeito do tratamento androgênico sobre os parâmetros de pesos corpóreo, uterino e ovariano das fêmeas dos quatro grupos experimentais

Parâmetros	Grupos experimentais (n=5/grupo)			
	Controle	DN	T	DN+T
Peso corpóreo (g)	255 \pm 22	305 \pm 50*	280 \pm 35*	275 \pm 30*
Peso do útero (g)	0,4 \pm 0,1	0,6 \pm 0,2	0,4 \pm 0,04	0,7 \pm 0,1
Peso dos ovários (g)	0,2 \pm 0,05	0,1 \pm 0,05	0,1 \pm 0,02*	0,1 \pm 0,02*

* $p < 0,05$ em relação ao Grupo Controle. Os valores estão expressos em mediana \pm desvio interquartilico. Kruskal-Wallis. DN: grupo tratado com decanoato de nandrolona; T: grupo tratado com ésteres de testosterona; DN+T: grupo tratado simultaneamente com os dois esteroides.

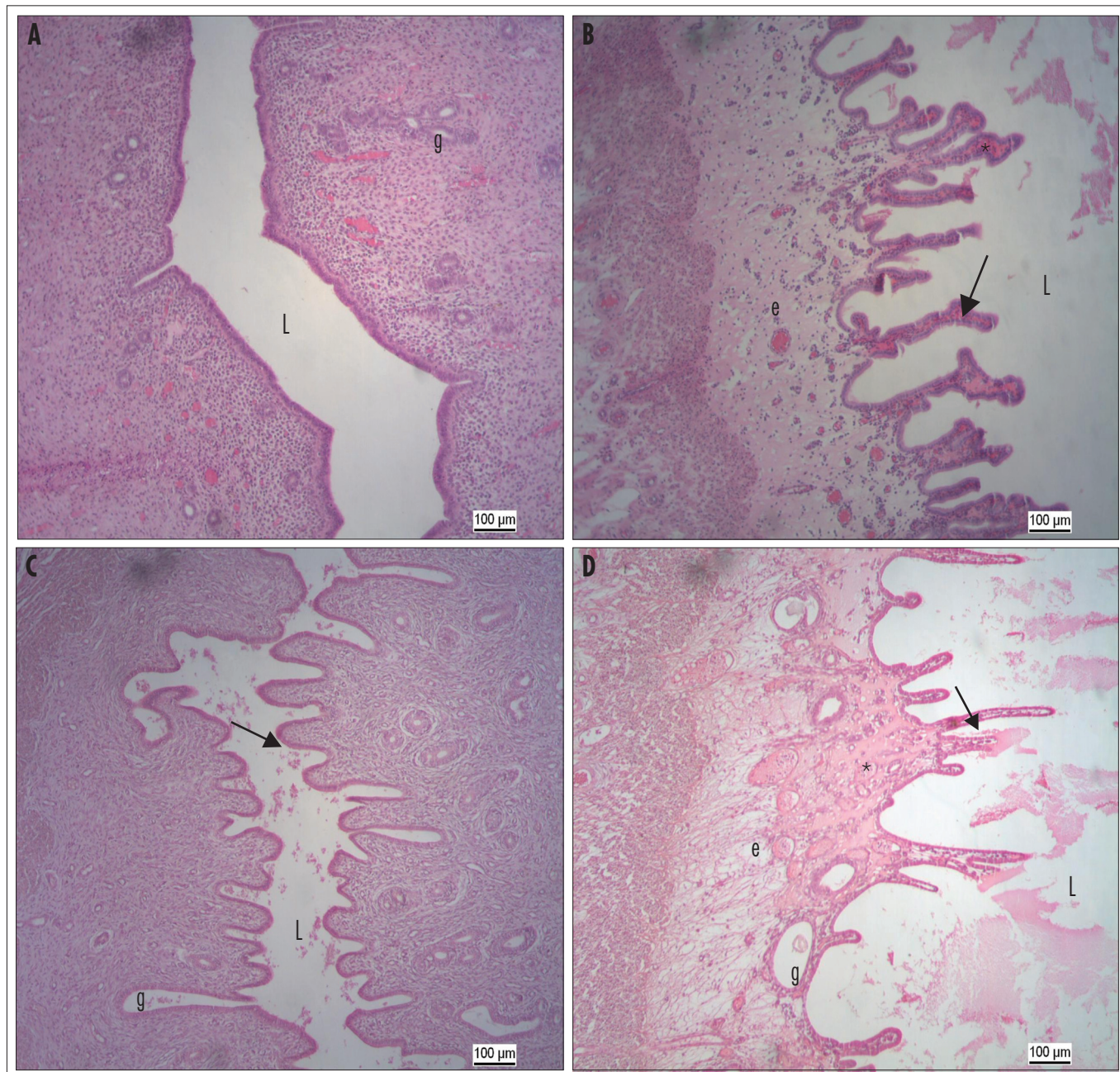


Figura 1 - Endométrio de ratas dos grupos controle (A) e tratados com decanoato de nandrolona (B), composto de ésteres de testosterona (C) e simultaneamente com os dois esteróides sintéticos (D). Nos grupos androgenizados, observar o aspecto papilífero do epitélio luminal (setas), estroma edematoso (e) e secreção no lúmen uterino (L). Áreas hemorrágicas (*) são evidenciadas no interior das papilas ou no estroma subjacente. As glândulas (g) exibem secreção luminal nos grupos tratados com os esteróides. No grupo controle (A), o epitélio de revestimento luminal apresenta aspecto retilíneo e há ausência de secreção na luz (L). As glândulas tubulosas (g) não exibem atividade secretora. HE.

leucócitos dispersos no tecido e áreas hemorrágicas foram observadas no interior das papilas (Figura 1B). As ratas tratadas simultaneamente com os agentes esteroidais (Figura 1D) apresentaram endométrio caracterizado por epitélio luminal papilífero, com revestimento do tipo cúbico simples. O tecido conjuntivo revelou aspecto edematoso, com áreas hemorrágicas. Leucócitos foram observados predominantemente no interior das papilas. No lúmen glandular e na cavidade uterina foi observada a presença de secreção.

Os resultados referentes à espessura, em μm , do epitélio luminal, estroma, miométrio e perimétrio, nas porções proximal, medial e distal do útero em grupo experimental, são apresentados na Tabela 2. Nos grupos tratados com T e DN+T, a espessura do epitélio uterino foi significativamente reduzida ($p < 0,05$) nas porções proximal (T: $14,1 \pm 5,7$; DN+T: $11,8 \pm 2,4$ versus C: $20,3 \pm 7,4$ μm), medial (T: $13,7 \pm 5,9$; DN+T: $12,3 \pm 3,2$ versus C: $23,0 \pm 9,7$ μm) e distal (T: $16,7 \pm 3,2$; DN+T: $12,6 \pm 1,9$ versus C: $23,3 \pm 8,9$ μm). O útero das ratas tratadas com

Tabela 2 - Espessura em μm do epitélio luminal, estroma, miométrio e perimétrio do útero de ratas dos diferentes grupos experimentais

Parâmetros	Grupos experimentais (n=5/grupo)			
	Controle	DN	T	DN+T
Espessura do epitélio				
Proximal	20,3 \pm 7,4	19,8 \pm 11,3	14,1 \pm 5,7*	11,8 \pm 2,4*
Medial	23,0 \pm 9,7	19,8 \pm 10,4	13,7 \pm 5,9*	12,3 \pm 3,2*
Distal	23,3 \pm 8,9	20,0 \pm 8,7	16,7 \pm 3,2*	12,6 \pm 1,9*
Espessura do estroma				
Proximal	657,2 \pm 193,0	650,9 \pm 248,7	690,2 \pm 353,1	704,1 \pm 230,9
Medial	799,2 \pm 231,4	576,6 \pm 284,3	713,9 \pm 257,1	813,1 \pm 334,6
Distal	859,7 \pm 401,2	601,2 \pm 271,6	697,9 \pm 181,8	902,4 \pm 426,9
Espessura do miométrio				
Proximal	107,9 \pm 50,2	151,1 \pm 78,4	138,3 \pm 33,8	227,6 \pm 109,0*
Medial	123,6 \pm 46,4	178,1 \pm 166,5*	133,8 \pm 24,6	266,4 \pm 80,7*
Distal	115,7 \pm 39,1	154,3 \pm 49,8*	130,5 \pm 33,3	226,2 \pm 75,8*
Espessura do perimétrio				
Proximal	21,1 \pm 10,1	19,9 \pm 5,1	22,1 \pm 9,7	24,4 \pm 15,2
Medial	19,8 \pm 6,9	19,4 \pm 4,5	20,8 \pm 9,8	25,9 \pm 14,4*
Distal	18,9 \pm 7,2	18,3 \pm 6,3	18,4 \pm 6,7	28,2 \pm 12,4*

* $p < 0,05$ em relação ao Grupo Controle. Os resultados estão expressos em mediana \pm desvio interquartil. Kruskal-Wallis. DN: grupo tratado com decanoato de nandrolona; T: grupo tratado com ésteres de testosterona; DN+T: grupo tratado simultaneamente com os dois esteroides.

DN apresentou espessura do epitélio luminal semelhante ao Grupo Controle nas três porções anatômicas analisadas. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) quando se comparou a espessura endometrial dos grupos androgenizados e do Grupo Controle nas porções proximal, medial e distal. Apenas o grupo tratado simultaneamente com os dois esteroides sintéticos apresentou miométrio mais espesso ($p < 0,05$) do que o Grupo Controle nas porções proximal (227,6 \pm 109,0 *versus* 107,9 \pm 50,2 μm), medial (266,4 \pm 80,7 *versus* 123,6 \pm 46,4 μm) e distal (226,2 \pm 75,8 *versus* 115,7 \pm 39,1 μm). O grupo que recebeu o tratamento com DN apresentou a espessura miometrial significativamente maior ($p > 0,05$) que o Grupo Controle nas porções medial (178,1 \pm 166,5 *versus* 123,6 \pm 46,4 μm) e distal (154,3 \pm 49,8 *versus* 115,7 \pm 39,1 μm). O tratamento com T não promoveu efeito significativo ($p > 0,05$) na espessura do miométrio, nas três porções do útero, em comparação ao Grupo Controle. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) na espessura do perimétrio na porção proximal do útero das ratas androgenizadas em comparação ao Grupo Controle. No entanto, apenas o grupo tratado com DN+T apresentou espessura do perimétrio significativamente maior ($p < 0,05$) que o Grupo Controle nas porções medial (25,9 \pm 4,4 *versus* 19,8 \pm 6,9 μm) e distal do útero (28,2 \pm 2,4 *versus* 18,9 \pm 7,2 μm).

A avaliação do desempenho reprodutivo revelou que nenhuma rata androgenizada exibiu prenhez quando tratada durante o período pré-gestacional.

O tratamento com DN+T, realizado no período gestacional da organogênese, afetou significativamente ($p < 0,05$) o número de fetos na ninhada em comparação ao Grupo Controle (0 \pm 0 *versus* 13 \pm 5). O tratamento isolado

com DN ou T não afetou de forma significativa ($p > 0,05$) o tamanho da ninhada (DN: 8 \pm 9; T: 7 \pm 9). No entanto, o peso fetal foi significativamente reduzido ($p < 0,05$) no grupo que recebeu DN (1,3 \pm 0,1 g) em comparação ao Grupo Controle (1,6 \pm 0,1 g). O tratamento esteroidal com DN+T influenciou significativamente ($p < 0,05$) a perda pós-implantação (100 \pm 0 *versus* C: 0 \pm 0%). Nas ratas tratadas com DN ou T, o número de fetos machos (DN: 3 \pm 2,5; T: 2 \pm 2) e fêmeas na ninhada (DN: 6 \pm 0,5; T: 7 \pm 0,5) foi significativamente semelhante ($p > 0,05$) em relação ao observado no Grupo Controle (machos: 7 \pm 4; fêmeas: 6 \pm 1).

Discussão

A motivação ao uso de esteroides anabólicos é, na maioria das vezes, de natureza estética. A literatura médica há bastante tempo vem associando esses esteroides a uma série de malefícios que acometem seus usuários. Há diferenças nos efeitos adversos associados ao uso de EAA sob supervisão clínica e uso abusivo (consumo de várias drogas em altas doses)¹. É difícil prever com exatidão os efeitos colaterais promovidos pelo uso clínico de EAA sobre os aspectos reprodutivos, pois os usuários geralmente administram outras drogas associadas¹. Assim, os riscos do uso de EAA sobre a saúde dependem do sexo, duração de administração e suscetibilidade dos próprios indivíduos à exposição androgênica⁴. Daí a importância da administração de andrógenos ocorrer somente quando houver indicação clínica e com acompanhamento médico adequado.

O potencial benéfico dos esteroides anabólicos como agentes terapêuticos para a sarcopenia e tratamento da

caquexia associada com AIDS, deficiência renal, queimaduras severas e doença pulmonar obstrutiva crônica ainda é uma questão bastante controversa na comunidade científica e médica. Estudos em humanos e animais mostram que os EAA apresentam atividade miotrófica, que resulta no aumento do peso corpóreo. Em mulheres idosas, com mais de 65 anos, a terapia androgênica com oxandrolona estimulou o anabolismo proteico muscular¹⁹. Em ratas tratadas apenas com decanoato de nandrolona foi observado aumento no peso corporal^{16,20}, similarmente ao resultado obtido no presente estudo, nas fêmeas tratadas com decanoato de nandrolona, ésteres de testosterona e concomitantemente com as duas drogas.

Considerando que, em doses terapêuticas, a testosterona não tem a capacidade de aumentar a massa muscular nem o desempenho atlético, os usuários saudáveis têm se autoadministrado doses de dez a 100 vezes superiores que as terapêuticas, causando, conseqüentemente, o hiperandrogenismo²¹.

Em fóruns de discussão sobre anabolizantes na Internet, observa-se que a média semanal de aplicação de DN é de 200 mg/semana, em ciclos que variam de dois a quatro meses. No entanto, essa substância geralmente é usada em conjunto com um preparado de quatro ésteres de testosterona, cujo consumo fica em torno de 500 mg/semana. Essa situação justificou o protocolo aqui utilizado.

Mulheres, e não apenas as fisiculturistas, têm utilizado os EAA para alcançar corpos fortes e definidos. Esse uso tem resultado em uma série de efeitos colaterais indesejáveis, sobretudo na reprodução, havendo a supressão da esteroidogênese gonadal⁴, irregularidade menstrual¹ e atrofia uterina¹¹. O presente resultado mostrou ausência de alteração no peso uterino das ratas androgenizadas. Porém, o peso gonadal das fêmeas que receberam T e DN+T foi reduzido, provavelmente devido à ação dos andrógenos no estímulo à atresia folicular²² e seus efeitos sobre a luteólise, resultando na redução ou ausência de corpos lúteos^{20,22}.

Na tentativa de restabelecimento da libido e no tratamento da osteoporose pós-menopausa são utilizados, respectivamente, ésteres mistos injetáveis de testosterona e decanoato de nandrolona²³. A combinação desses esteroides em nosso estudo, com animais saudáveis, levou à supressão do ciclo com persistência da fase de diestro. Tal resposta estaria relacionada ao efeito direto dos esteroides sintéticos no eixo neuroendócrino feminino, com redução nos níveis de LH e FSH circulante e conseqüente redução nos níveis estrogênicos.

Estudos em animais mostram que os esteroides anabólicos, ao serem metabolizados pelo organismo, são capazes de gerar moléculas de progestina²⁴. Os efeitos progestacionais no útero levam à proliferação de células estromais, hipertrofia miometrial e tortuosidade das

glândulas endometriais^{16,25}. Tal resposta decorrente do efeito progestacional dos esteroides também foi observada nesta investigação.

Os hormônios esteroides parecem regular os receptores relacionados às respostas imunes presentes no trato reprodutor feminino²⁶. As células relacionadas a essa resposta imune apresentam uma variação cíclica de acordo com o ciclo menstrual²⁷. A infiltração de células do sistema imune no útero varia com o ciclo sexual e é regulada pelos níveis plasmáticos dos hormônios esteroides estrógeno e progesterona²⁸. A presença leucocitária estromal, o edema no endométrio e a intensa secreção luminal verificados nas ratas androgenizadas deste estudo seriam dependentes do alto nível de hormônios esteroides circulantes, especialmente da progesterona.

A avaliação morfométrica uterina mostrou que os grupos tratados com T e DN+T apresentaram redução na espessura do epitélio uterino. Este achado pode ser explicado pelo argumento de que a administração de testosterona exógena reduz a expressão de receptores androgênicos e, como conseqüência, inibe a proliferação celular²⁹. A hipertrofia do miométrio foi observada em todas as porções analisadas (proximal, medial e distal) apenas com o tratamento simultâneo com as duas drogas. Esta camada também se apresentou mais espessa na região medial e distal das fêmeas tratadas com DN¹⁶, enquanto o tratamento apenas com T não afetou a espessura miometrial. A hipertrofia verificada neste estudo parece ser decorrente da administração do DN, e está relacionada à expressão de receptores de esteróides nas três camadas uterinas³⁰. Esses receptores diferem não só de acordo com a fase do ciclo, mas também em relação ao tipo celular e camada em que se expressam. Altos níveis de progesterona são responsáveis pela hipertrofia uterina observada durante uma gestação.

Nossos resultados mostraram que a ação dos esteroides sobre o desenvolvimento embrionário variou de acordo com o período de administração materno e com o protocolo utilizado. O tratamento materno pré-gestacional suprimiu a capacidade reprodutiva das fêmeas. Um aspecto a ser considerado, neste caso, é o comportamento sexual dos animais androgenizados. É possível que as fêmeas não tenham copulado porque não apresentaram comportamento que motivassem a monta pelos machos intactos¹⁶. No entanto, mesmo que tenham ocorrido ovulação e copulação, as alterações na morfologia uterina aqui descritas podem ser suficientes para justificar a supressão da capacidade reprodutiva das fêmeas tratadas devido a uma falha na implantação.

Pelos resultados apresentados, a taxa de perdas pós-implantação foi maior no grupo tratado simultaneamente com DN+T. Essa redução reflete a ocorrência de sítios de reabsorção, o que justifica a redução no tamanho da ninhada. É relatado na literatura, assim como neste

trabalho, que o tratamento com EAA durante o período gestacional aumenta o número de reabsorções e reduz o número de fetos vivos, que apresentam peso menor²⁸. Os resultados nos permitem sugerir que o tratamento simultâneo de DN+T no período de organogênese causa perdas embrionárias, mas, quando utilizados isolados, o DN ou o T não afetam o tamanho da ninhada.

Apesar de relatos sobre a androgenização de fetos femininos expostos *in utero* ao tratamento com esteroides sintéticos^{4,28}, no presente estudo não observamos diferenças significativas no número de fetos machos e fêmeas. Esse resultado pode ter ocorrido em virtude da metodologia aqui empregada, determinando-se o sexo fetal pela distância anogenital¹⁸, sem análise da morfologia do trato reprodutor fetal.

Como conclusão, no modelo experimental utilizado no presente trabalho, o uso de esteroides anabólicos

androgênicos de forma isolada ou simultânea causa alterações na estrutura morfológica uterina e afeta a capacidade reprodutiva. Esse efeito negativo pode ser potencializado pelo tratamento simultâneo com as drogas, da forma com que é realizado frequentemente pelos usuários. Assim, o uso de esteroides sintéticos por mulheres em idade reprodutiva deve ser evitado em virtude das alterações que tais drogas podem promover no ciclo sexual e na estrutura uterina, comprometendo a capacidade reprodutiva. Os resultados obtidos na espécie animal devem ser vistos com cautela para se fazer um prognóstico para a espécie humana, mas não devem ser desprezados.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo auxílio financeiro.

Referências

- Hoffman JR, Ratamess NA. Medical issues associated with anabolic steroid use: are they exaggerated? *J Sports Sci Med*. 2006;5(2):182-93.
- Fragkaki AG, Angelis YS, Koupparis M, Tsantili-Kakoulidou A, Kokotos G, Georgakopoulos C. Structural characteristics of anabolic androgenic steroids contributing to binding to the androgen receptor and to their anabolic and androgenic activities. *Applied modifications in the steroidal structure*. *Steroids*. 2009;74(2):172-97.
- Bahrke MS, Yesalis CE. Abuse of anabolic androgenic steroids and related substances in sport and exercise. *Curr Opin Pharmacol*. 2004;4(6):614-20.
- Kicman AT. Pharmacology of anabolic steroids. *Br J Pharmacol*. 2008;154(3):502-21.
- Basaria S, Wahlstrom JT, Dobs AS. Clinical review 138: Anabolic-androgenic steroid therapy in the treatment of chronic diseases. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(11):5108-17.
- Shahidi NT. A review of the chemistry, biological action, and clinical applications of anabolic-androgenic steroids. *Clin Ther*. 2001;23(9):1355-90.
- Perry PJ, Lund BC, Deninger MJ, Kutscher EC, Schneider J. Anabolic steroid use in weightlifters and bodybuilders: an internet survey of drug utilization. *Clin J Sport Med*. 2005;15(5):326-30.
- Fermo RS, Rego JNI, Franquini JVM, Andrade TU. 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>
- 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*. 2008;154(3):522-8.
- Clark AS, Fast AS. Comparison of the effects of 17 alpha-methyltestosterone, methandrostenolone, and nandrolone decanoate on the sexual behavior of castrated male rats. *Behav Neurosci*. 1996;110(6):1478-86.
- Maravelias C, Dona A, Stefanidou M, Spiliopoulou C. Adverse effects of anabolic steroids in athletes. A constant threat. *Toxicol Lett*. 2005;158(3):167-75.
- Casavant MJ, Blake K, Griffith J, Yates A, Copley LM. Consequences of use of anabolic androgenic steroids. *Pediatr Clin North Am*. 2007;54(4):677-90.
- Hoseini L, Roozbeh J, Sagheb M, Karbalay-Doust S, Noorafshan A. Nandrolone decanoate increases the volume but not the length of the proximal and distal convoluted tubules of the mouse kidney. *Micron*. 2009;40(2):226-30.
- Miller N, Bédard YC, Cooter NB, Shaul DL. Histological changes in the genital tract in transsexual women following androgen therapy. *Histopathology*. 1986;10(7):661-9.
- Papaconstantinou AD, Umbreit TH, Goering PL, Brown KM. Effects of 17 alpha-methyltestosterone on uterine morphology and heat shock protein expression are mediated through estrogen and androgen receptors. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2002;82(4-5):305-14.
- Mobini Far HR, Agren G, Lindqvist AS, Marmendal M, Fahlke C, Thiblin I. Administration of the anabolic androgenic steroid nandrolone decanoate to female rats causes alterations in the morphology of their uterus and a reduction in reproductive capacity. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2007;131(2):189-97.
- Blasberg ME, Robinson S, Henderson LP, Clark AS. Inhibition of estrogen-induced sexual receptivity by androgens: role of the androgen receptor. *Horm Behav*. 1998;34(3):283-93.
- Damasceno DC, Paumgarten FJR, Volpato GT, Consonni M, Rudge MVC, Kempinas WG. Anomalias congênitas: estudos experimentais. *Belo Horizonte: Coopmed*; 2008.
- Sheffield-Moore M, Paddon-Jones D, Casperson SL, Gilkison C, Volpi E, Wolf SE, et al. Androgen therapy induces muscle protein anabolism in older women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(10):3844-9.
- Gerez JR, Frei F, Camargo IC. Histological assessment of ovaries and uterus of rats subjected to nandrolone decanoate treatment. *Contraception*. 2005;72(1):77-80.

21. Smurawa TM, Congeni JA. Testosterone precursors: use and abuse in pediatric athletes. *Pediatr Clin North Am.* 2007;54(4):787-96.
22. Cherici Camargo IC, Barreiros De Souza R, Fátima Paccola Mesquita S, Chuffa LG, Frei F. Ovarian histology and follicular score in female rats treated with nandrolone decanoate and submitted to physical effort. *Acta Biol Hung.* 2009;60(3):253-61.
23. Leão MCSM, Duarte MPC, Farias MLF. Insuficiência androgênica na mulher e potenciais riscos da reposição terapêutica. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2005;49(2):205-16.
24. Schindler AD, Campagnoli C, Druckmann R, Huber J, Pasqualini JR, Schweppe KW, et al. Classification and pharmacology of progestins. *Maturitas.* 2003;46 Suppl 1:S7-S16.
25. Beri R, Kumar N, Savage T, Benalcazar L, Sundaram K. Estrogenic and progestational activity of 7alpha-methyl-19-nortestosterone, a synthetic androgen. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1998;67(3):275-83.
26. Lea RG, Sandra O. Immunoendocrine aspects of endometrial function and implantation. *Reproduction.* 2007;134(3):389-404.
27. Jones RL, Hannan NJ, Kaitu'u TJ, Zhang J, Salamonsen LA. Identification of chemokines important for leukocyte recruitment to the human endometrium at the times of embryo implantation and menstruation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(12):6155-67.
28. Hotchkiss AK, Furr J, Makynen EA, Ankley GT, Gray LE Jr. In utero exposure to the environmental androgen trenbolone masculinizes female Sprague-Dawley rats. *Toxicol Lett.* 2007;174(1-3):31-41.
29. Zhou J, Ng S, Adesanya-Famuiya O, Anderson K, Bondy CA. Testosterone inhibits estrogen-induced mammary epithelial proliferation and suppresses estrogen receptor expression. *FASEB J.* 2000;14(12):1725-30.
30. Mertens HJ, Heineman MJ, Theunissen PH, de Jong FH, Evers JL. Androgen, estrogen and progesterone receptor expression in the human uterus during the menstrual cycle. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2001;98(1):58-65.