

Análise das Células do Sistema Imune Inato e Adaptativo Em Modelos Experimentais de Ratos Wistars Tratados com Decanoato de Nandrolona

Analysis of the cells of the innate immune system and adaptive in experimental models of rats Wistars Treated With Nandrolone decanoate

1-Bruno Mitsuo Kanda, 1-Lucas Antônio Bueno, 1-Matheus Franceschini Lutz, 2-Renata Dellalibera-Joviliano

1- Farmacêutico, bruno_kanda@hotmail.com, lucas_bueno2003@hotmail.com, matheuslutz@msn.com

2- Faculdades Integradas Fafibe, HCFMRP-USP, redellajov@fafibe.br

Abstract. Because (1) exacerbated the consumption of substances and steroids by young athletes, aiming at the rapid increase in muscle mass and physical performance, (2) few specific studies evaluating the immune system involving the effects of anabolic steroids has been made, so this work argues upon the analysis of the immune system cells (neutrophils and lymphocytes) in experimental models of treatment with nandrolone decanoate (Deca-Durabolin - DD) subjected to physical activity. A total of 24 animals (rat Wistars, male, weighing around 250 grams) were selected for this study and divided into 4 groups: sedentary non-treated with anabolizing; sedentary and treated with DD, trained and untreated and treated with DD with DD and trained. The animals were subjected to treatment with the DD, by intramuscular injections administered once a week, following a dose of 5 mg / kg body weight. The groups of animals treated, received treatment with DD repeated in three doses being applied once a week. From the data analyzed, we found a decrease in lymphocyte numbers in groups of animals treated with DD. Upon completion of this study, we show that there was an impairment of adaptive immune response in animals treated with anabolizing, suggesting the involvement of immunomodulation.

Keywords. lymphocytes, the immune system, nandrolone decanoate

Resumo. Devido (1) ao consumo exacerbado de substâncias esteróides por jovens e atletas, visando o aumento rápido de massa muscular e desempenho físico, (2) poucos estudos precisos avaliando o sistema imunológico associando aos efeitos de anabolizantes têm sido realizados; assim, este trabalho argumenta-se na análise das células do sistema imune (neutrófilos e linfócitos) em modelos experimentais tratados com decanoato de nandrolona (Deca-Durabolin - DD) submetidos a atividade física. Um total de 24 animais (ratos Wistars, machos, pesando em torno de 250 gramas) foram selecionados para este estudo e divididos em 4 grupos: sedentários não-tratados com anabolizante; sedentários e tratados com DD, treinados e não tratados com DD e tratados com DD e treinados. Os animais foram submetidos à terapia com o DD, por meio de injeções intramuscular administradas uma vez na semana, seguindo a dose de 5 mg/Kg de peso corporal. Os grupos de animais tratados receberam o tratamento com

DD repetidos em três doses, sendo aplicado uma única vez na semana. A partir dos dados analisados, verificamos uma diminuição dos números linfocitários nos grupos de animais tratados com DD. Após a realização deste estudo, mostramos que houve um comprometimento da resposta imune adaptativa nos animais tratados com anabolizante, sugerindo a participação de imunomodulação

Palavras-chave. linfócito, sistema imune, decanoato de nandrolona

1. Introdução

O sistema imune é de grande eficácia no combate a microrganismos invasores, pois suas células circulam por todo o organismo (sangue, linfa e tecidos), o que por sua vez, apresenta ação sistêmica. Na tentativa de eliminar componentes exógenos, existe a participação de diversas células e moléculas especializadas, além do envolvimento de substâncias como citocinas, mediadores celulares e proteínas. Se algum patógeno ultrapassar as barreiras superficiais e penetrar no organismo, irá deparar-se com uma grande variedade de outros fatores que defendem os tecidos internos. Alguns destes fatores consistem em proteínas solúveis ou outras macromoléculas que circulam no sangue e líquido extracelular, tornando-os inóspitos para os invasores estranhos. Outros consistem em células especializadas dotadas da capacidade de reconhecer, seqüestrar e eliminar vários tipos de microrganismos ou substâncias prejudiciais. Tradicionalmente, estes fatores de defesa foram classificados em dois sistemas funcionais distintos, baseando-se no tipo de resistência (imunidade) que conferem contra determinados patógenos. A imunidade inata (ou natural) refere-se a qualquer resistência inata presente quando um patógeno se apresenta pela primeira vez; não requer nenhuma exposição anterior e não se modifica significativamente através de exposições repetidas ao patógeno durante a vida do indivíduo. A imunidade adquirida refere-se à resistência que está ausente ou fraca por ocasião da primeira exposição ao patógeno, mas que aumenta acentuadamente com exposições subseqüentes ao mesmo patógeno específico. Ambos os sistemas são constituídos de numerosos fatores solúveis e diversos tipos celulares que executam funções específicas na defesa do hospedeiro. As células do sistema imune são interdependentes, pois se comunicam através de citocinas ou interleucinas que regulam a resposta imune (ABBAS, LICHTMAN, PILLAI, 2008).

A incidência de uso dos anabolizantes tem sido aumentado consideravelmente nos últimos anos, no entanto, a obtenção de estatísticas fidedignas sobre o abuso de drogas por adolescentes é difícil, especialmente pelo temor destes de serem afastados do esporte. A freqüência de uso destes agentes é variável entre 3% a 37% por populações de estudantes em diferentes faixas etárias e atletas. Os atletas semiprofissionais, de nível universitário, fazem uso mais intenso de EAA, podendo haver, entre eles, diferenças da intensidade do consumo de drogas relacionado ao tipo de esporte praticado, havendo índices mais elevados em praticantes atividades esportivas do qual exige grande resistência física. (YONAMINE, 2007; YONAMINE; GARCIA; MOREAU, 2004; CAMPOS; YONAMINE; MOREAU, 2003; SILVA; GREVE; YONAMINE; LEYTON, 2003; SILVA; YONAMINE, 2003)

Devido (1) ao consumo exacerbado de substâncias esteróides por jovens e atletas, visando o aumento rápido de massa muscular e desempenho físico, (2) poucos estudos precisos avaliando o sistema imunológico associando aos efeitos de anabolizantes têm sido realizado. Assim, este trabalho argumenta-se na análise das

células do sistema imune (neutrófilos e linfócitos) em modelos experimentais tratados com decanoato de nandrolona (Deca-Durabolin) submetidos a atividade física.

2. Metodologia

Materiais: Um total de 24 animais (ratos Wistars, machos, pesando em torno de 250 gramas) foram selecionados para este estudo e divididos em 4 grupos: SN-sedentários não-tratados com anabolizante (n=6); ST, sedentários e tratados com deca-durabolin (n=6), TN treinados e não tratados com anabolizante (n=6) e TT tratados com deca-durabolin e treinados (n=6); os animais foram provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de São Carlos Os animais foram tratados com ração balanceada padrão (Purina) e água “ad libitum” e mantidos em gaiolas coletivas à temperatura ambiente controlada de 25°C e fotoperíodo de 12 horas de claro e 12 horas de escuro.

Tratamento com E.A.A.:

Os animais foram submetidos à terapia com o E.A.A. - decanoato de nandrolona (Deca-Durabolin), por meio de injeções intramuscular administradas uma vez na semana, seguindo a dose de 5 mg/Kg de peso corporal. Os grupos de animais tratados, receberam o tratamento com E.A.A repetidos em três doses sendo aplicado uma única vez na semana. Assim, os animais receberam a terapia no dia inicial do experimento, e aguardaram um intervalo de 12 horas até o início dos treinos. Após uma semana da data do início da primeira aplicação, os animais receberam uma segunda dose de E.A.A.; novamente aguardaram 12 horas para início da atividade física. A terceira dose foi administrada após uma semana a partir da aplicação da segunda dose; onde foram terminados os treinos.

Grupos Experimentais:

Os animais foram distribuídos nos seguintes grupos experimentais: sedentários, subdivididos em não-tratados (SN – n=6) e tratados com deca-durabolin (ST – n=6) e treinados sub-divididos em não tratados (TN – n=6) e tratados (TT – n=6). Os animais dos grupos treinados realizaram um programa de atividade física do qual consistiu de natação (primeira semana) por 10 minutos durante cinco dias na semana. Nas duas semanas subseqüentes, realizou-se um ciclo de saltos num reservatório redondo contendo 97cm de diâmetro e 0,110cm de profundidade, com temperatura oscilando entre 24 e 28°C.

Protocolo experimental: grupos de animais

Após o período de 12 horas da aplicação do E.A.A., inicialmente, os ratos foram submetidos a um programa de treinamento de resistência e, posteriormente, de força com duração de 2 semanas, sendo a frequência do treino distribuídos em 5 dias/semanais (Anexo 1, ilustra os animais treinando). O protocolo de treino compreendeu:

Primeira semana: Primeiro treinamento, (realizado no dia posterior à administração, segunda-feira, do decanoato de nandrolona) consistiu de natação com um período de 10

minutos; Segundo dia também consistiu de natação, porém com um período de 15 minutos; Os demais dias: natação perfazendo um período de 20 minutos.

Segunda semana: Na segunda semana, foi novamente administrado o decanoato de nandrolona e realizou-se um programa de treinamento voltado para “força”, no qual foi adotado um ciclo de treinos de 5 dias/semana (como frequência); Primeiro treinamento (realizado na terça-feira), 3 séries de 10 saltos cada, com intervalo de 1 minuto para descanso dos animais. Nesse dia foi utilizado um sobre-peso (10-15% do peso do animal) devidamente preso ao animal, sem que seus movimentos fossem prejudicados, afim de caracterizar um exercício de força para os animais;

Terceira semana: Na terceira semana, novamente foi administrado o decanoato de nandrolona e realizou-se um programa de treinamento voltado para “força”, no qual adotou-se um ciclo de treinos de 5 dias/semana (como frequência), Primeiro treinamento (realizado na terça-feira), 3 séries de 10 saltos cada, com intervalo de 1 minuto para descanso dos animais. Nesse dia foi utilizado um sobre-peso (15-20% do peso do animal) devidamente preso ao animal, sem que seus movimentos fossem prejudicados, afim de caracterizar um exercício de força para os animais.

Amostras biológicas

As amostras de sangue foram obtidas através de punção intracardíaca, utilizando o anticoagulante EDTA objetivando a preservação das células leucocitárias e elementos figurados sanguíneos. Após a coleta, foram confeccionados esfregaços sanguíneos onde, posteriormente corados com May- Grünwald- Giensa, realizaram-se as análises. As amostras de sangue dos 24 animais analisados pertencem aos diferentes grupos previamente caracterizados. As determinações foram realizadas por meios automatizados, com contador de células eletrônico - Coulter T890.

Todos os resultados apresentados em resultados e discussão formam utilizados testes não paramétricos ANOVA (Kruskal-Allis Test) sendo considerado significativo $p < 0,05$.

6- RESULTADOS E DISCUSSÕES

Apesar de termos realizados a contagem total e diferencial de todos os leucócitos, destacamos as células principais da resposta imune inata (neutrófilo) e adaptativa (linfócito). Informamos que os números de eosinófilos, monócitos e basófilos não apresentaram diferenças significantes, nem tão ponto relevância para serem destacados neste trabalho.

Os quadros 1-4 caracterizam os diferentes grupos de animais inseridos neste estudo. Como podemos observar, todos compreendem animais machos com pesos médios de 216 gramas no início dos experimentos. No final dos experimentos, observamos um acréscimo médio dos pesos no grupo SN (54,5% , 213,16-329,5 gramas), ST (58% , 225-357 gramas), TN (51,3% , 219,33-331,83 gramas), TT (65,5% , 209,10-346 gramas). Deste modo, podemos verificar que houve um aumento mais expressivo no ganho de peso no grupo TT quando comparado aos demais grupos, sugerindo que o anabolizante apresenta a propriedade de indução de hipertrofia muscular associado a um treinamento físico. Resultados similares foram relatados por

GADZHIEVA et al. (2002), que verifica aumento do ganho de peso em modelos experimentais tratados com decanoato de nandrolona.

Quadro 1: Animais sedentários e não tratados com anabolizante

Grupos	Nº do	Peso (gr)			Peso antes da Coleta (gr)
	Animal	1º Semana	2º Semana	3º Semana	
SN	1	235	290	293	335
	2	222	285	289	350
	3	190	248	251	300
	4	167	225	228	275
	5	240	310	313	367
	6	225	275	283	330
Média:		213,16	272,16	276,16	329,5

Quadro 2: Animais sedentários e tratados com anabolizante

Grupos	Nº do	Peso (gr)			Dose do Anabolizante (µL)			Peso antes da Coleta (gr)
		1º Semana	2º Semana	3º Semana	1º Semana	2º Semana	3º Semana	
ST	1	170	228	226	170	228	226	380
	2	235	300	295	235	300	295	355
	3	230	298	295	230	298	295	364
	4	215	271	266	215	271	266	326
	5	255	315	300	255	315	300	370
	6	245	306	300	245	306	300	347
Média:		225	286,33	280,33				357

Quadro 3: Animais Treinados e não tratados com anabolizante

Grupos	Nº do	Peso (gr)			Pesos para o Saltos (gr)			Peso antes da Coleta (gr)
		1º Semana	2º Semana	3º Semana	1º Semana	2º Semana	3º Semana	
TN	1	248	313	345		63	63	390
	2	190	244	250		49	49	289
	3	220	248	295		50	50	335
	4	221	276	297		55	55	342
	5	222	233	286		47	47	325
	6	215	247	280		49	49	310
Média:		219,33	260,16	292,16				331,83

Quadro 4: Animais tratados com anabolizante e submetidos aos treinos

Grupos	N° do Animal	Peso (gr)			Dose do Anabolizante (µL)			Pesos para o Saltos (gr)			Peso antes da Coleta (gr)
		1° Semana	2° Semana	3° Semana	1° Semana	2° Semana	3° Semana	1° Semana	2° Semana	3° Semana	
TT	1	245	313	307	245	313	307		63	63	374
	2	188	244	242	188	244	242		49	49	295
	3	225	248	285	225	248	285		50	50	364
	4	225	276	275	225	276	275		55	55	326
	5	192	233	230	192	233	230		47	47	370
	6	180	247	243	180	247	243		49	49	347
Média:		209,16	260,16	263,66							346

Os quadros 5-8 mostram os resultados referentes aos números leucocitários totais observados nos diferentes grupos estudados, bem como os valores relativos e absolutos dos neutrófilos e linfocitócitos, células pertencentes a resposta imune inata a adaptativa, respectivamente. Não verificamos alterações significantes quando comparamos os números leucocitários em todos os grupos ($p > 0,05$)

Quadro 5: Animais sedentários e não tratados com anabolizante: leucócitos totais e quantificação de neutrófilos e linfócitos

Grupo	N° do Animal	Leucócitos Totais (cél/mm ³)	Neutrófilos (relativos) %	Neutrófilos (absolutos) (cél/mm ³)	Linfócitos (relativos) %	Linfócitos (absolutos) (cél/mm ³)
2	8700	56	4872	29	2523	
3	9200	53	4876	31	2852	
4	7500	55	4125	29	2175	
5	7650	50	3825	28	2142	
6	8700	53	4611	32	2784	
mínimo		7500	50	3825	27	2142
Media:		8700	53	4741,5	29	2557,5
máximo		9600	56	4992	32	2852

Quadro 6: Animais sedentários e tratados com anabolizante: leucócitos totais e quantificação de neutrófilos e linfócitos

Grupo	Nº do Animal	Leucócitos Totais (cél/mm ³)	Neutrófilos (relativos) %	Neutrófilos (absolutos) (cél/mm ³)	Linfócitos (relativos) %	Linfócitos (absolutos) (cél/mm ³)
ST	1	6700	52	3484	19	1273
	2	7650	50	3825	18	1377
	3	6600	55	3630	22	1452
	4	6900	50	3450	20	1380
	5	6600	54	3564	19	1254
	6	5580	53	2957	20	1116
mínimo		5580	50	2957	18	1116
Media:		6650	52	3524	19	1325
máximo		7650	55	3825	22	1452

Quadro 7: Animais Treinados e não tratados com anabolizante: leucócitos totais e quantificação de neutrófilos e linfócitos

Grupo	Nº do Animal	Leucócitos Totais (cél/mm ³)	Neutrófilos (relativos) %	Neutrófilos (absolutos) (cél/mm ³)	Linfócitos (relativos) %	Linfócitos (absolutos) (cél/mm ³)
TN	1	9300	52	4836	33	3069
	2	6500	55	3575	30	1950
	3	7200	56	4032	35	2520
	4	7800	60	4680	36	2808
	5	7520	58	4361	37	2782
	6	8600	54	4644	35	3010
mínimo		6500	52	3575	30	1950
Média:		7660	55	4502	35	2795
máximo		9300	60	4836	37	3069

Quadro 8: Animais tratados com anabolizante e submetidos aos treinos: leucócitos totais e quantificação de neutrófilos e linfócitos

Grupo	Nº do Animal	Leucócitos Totais (cél/mm ³)	Neutrófilos (relativos) %	Neutrófilos (absolutos) (cél/mm ³)	Linfócitos (relativos) %	Linfócitos (absolutos) (cél/mm ³)
TT	1	7400	63	4662	16	1184
	2	5900	62	3658	20	1180
	3	6800	55	3740	19	1292
	4	7200	63	4536	21	1512
	5	8100	54	4374	18	1458
	6	6900	52	3588	23	1587
mínimo		5900	52	3588	16	1180
Média:		7050	58	4057	19	1375

máximo		8100	63	4662	23	1587
--------	--	------	----	------	----	------

Os resultados apresentados mostram, em alguns casos individuais de linfopenia relativa nos animais que receberam anabolizante tanto no grupo ST e TT; particularmente é mais evidenciado tal alteração no grupo TT (Quadros 6 e 8). Quando analisamos os grupos isolados celulares comparando entre os diferentes grupos de animais (SS, ST, TN e TT), verificamos que há diferença estatística significativa nos números linfocitários relativos existente entre os animais ST (19%) e TN (35%) onde $p < 0,01$; TN (35%) e TT (19%) sendo $p < 0,01$. Verificamos uma diminuição importante do número de linfócitos do grupo de ratos tratados com anabolizante quando comparamos aos demais grupos (Quadros 5-8).

Os linfócitos são células encontrados no tecido sanguíneo contribuindo com 20-35% dos leucócitos totais. Esta percentagem varia de acordo com o estado imunológico do organismo. Além disso, este tipo celular tem papel importante no controle à microrganismos, além de serem consideradas as células especializadas da resposta imune. Frente ao decréscimo linfocitário observado nos grupos de animais tratados com anabolizante, podemos sugerir que este componente esteróide pode atuar na imunomodulação. Assim, sugere-se que o sistema imune pode ser alterado quando apresentado a utilização de anabolizante por tempo prolongado, principalmente no que diz respeito a imunidade adquirida. Achado semelhante foi relatado por YAMAGISHI et al. (1984) que sugerem uma tendência na diminuição da população de linfócitos e monócitos, bem como a redução de IgG circulante frente a estimulação com deca-durabolin em culturas de células. Ainda, HUGHES et al. (1995) mostram uma diminuição significativa dos níveis de INF e a estimulação de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 beta e TNF-alfa) mediante a estimulação com EAA; esses dados podem corroborar com mecanismos que associados ao comprometimento dos estímulos linfocitários observados neste estudo. Uma sugestão interessante para verificarmos se o próprio deca-durabolin age no mecanismo de estimulação e produção linfocitária seria a quantificação de IL-3, citocina esta importante na síntese de stem cell linfóide e, conseqüentemente de linfócitos T e B (KANO et al., 2008; SELLERI et al, 2008).

As adaptações ao treinamento de força são influenciadas pelas alterações das concentrações hormonais decorrentes dos diversos estímulos aplicados ao treinamento com pesos. Portanto, para o entendimento das questões anabólicas e catabólicas decorrentes atividade com força é fundamental a compreensão de alguns hormônios, entre eles o cortisol. Assim, esse hormônio é sintetizado no córtex da supra-renal em quantidades aproximadas de 10-20mg/diários. Após a síntese, é liberado na corrente sanguínea onde pode ser encontrado ligado a proteínas, entre elas albumina (60%); a forma ativa encontra-se livre no plasma (BADILLO; AYESTARÁN, 2001). O cortisol tem sido visto como hormônios catabólitos no músculo esquelético. Os maiores efeitos estão associados à conversão de aminoácidos em carboidratos, aumento das enzimas proteolíticas, inibição da síntese de proteínas, aumento da degradação de proteína, gliconeogênese, lipólise (liberando ácidos graxos livres para ser captados pelas células e utilizados na produção de energia) (SIMÃO, 2003 apud COULTINHO; BRINCO; DINIZ, 2007; ROBERGS; ROBERTS, 2002 apud COULTINHO; BRINCO; DINIZ, 2007). Assim, considerando que a fadiga aguda do exercício de força pode produzir aumentos nos hormônios anabólicos e estimular concomitantemente níveis de cortisol (FOX; BOWERS, 1991), realizamos um pool de plasmático e quantificamos os níveis de cortisol através de ensaio de eletroquimioluminescência. Pudemos verificar que os animais pertencentes ao grupo ST apresentaram níveis de cortisol similares

àqueles que treinados, não apresentando assim, fadiga muscular (SN -4,3ug/dL; ST-4,6ug/dL; TN-4,55ug/dL e TT-5,02ug/dL)

CONCLUSÃO

Após a realização deste estudo, sugerimos que houve um comprometimento da resposta imune adaptativa nos animais tratados com anabolizante, sugerindo a participação de imunomodulação.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; POBER, J.S. **Imunologia Celular e Molecular**. 4.ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2003.
- ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; PILLAI, S.P. **Imunologia Celular e Molecular**. 6.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.
- AKIRA, S.; UEMATSU, S.; TAKEUCHI, O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 124:783-801, 2006.
- BALDILLO. J. J. G.; Ayestarám. E. G.; **Fundamentos do Treinamento de Força: Aplicação ao Alto Rendimento Desportivo – 2 ed.,- Porto Alegre : Artmed Editora, 2001.**
- BARROS TS, SANTOS MB, SHINOZAKI EB, SANTOS JF, MARCHINI L. Effects of use of anabolic steroids on the masticatory system: a pilot study. **J Oral Sci**. 2008 Mar;50(1):19-24.
- BASARIA, S. Androgen Deprivation Therapy, Review Insulin Resistance, and Cardiovascular Mortality: An Inconvenient Truth. **Journal of Andrology**, Vol. 29, No. 5, 2008.
- COSTILL, D. L. & WILMORE, J. H. **Fisiologia do esporte e do exercício**, 2º edição, Editora Manole, 2002;
- COUTINHO, H.; BRINCO R. A.; DINIZ, S.H.; Respostas Hormonais da testosterona e cortisol depois de determinados protocolo de hipertrofia muscular ,**Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício**, São Paulo, v.1, n.3, p.72-77, Mai./Jun. 2007. ISSN 1981-9900.
- CUTOLO M, SULLI A, CAPELLINO S, VILLAGGIO B, MONTAGNA P, SERIOLO B, STRAUB RH. Sex hormones influence on the immune system: basic and clinical aspects in autoimmunity. **Lupus**. 13: 635 –638, 2004.
- FERRÁNDEZ MD, DE LA FUENTE M, FERNÁNDEZ E, MANSO R. Anabolic steroids and lymphocyte function in sedentary and exercise-trained rats. **J Steroid Biochem Mol Biol**. 1996 Oct;59(2):225-32.
- FOX, E. L.; BOWERS, R. W. **Bases Fisiológicas da educação física e dos desportos** – Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1991.
- KANO G, MORIMOTO A, TAKANASHI M, HIBI S, SUGIMOTO T, INABA T, YAGI T, IMASHUKU S. Ikaros dominant negative isoform (Ik6) induces IL-3-independent survival of murine pro-B lymphocytes by activating JAK-STAT and up-regulating Bcl-x1 levels. **Leuk Lymphoma**. 2008 May;49(5):965-73.

KAWAI, T; AKIRA, S. Innate immune recognition of viral infections. **Nature Immunology** 7:131-137, 2006.

KOCHAKIAN, C.D. Anabolic-androgenic steroids: a historical perspective and definition. In: YESALIS, C.E. Anabolic steroids in sport and exercise. Champaign, IL, **Human Kinetics**, 1993. p.1-33

KOUVELAS D, POURZITAKI C, PAPAISIS G, DAGKLIS T, DIMOU K, KRAUS MM.

Nandrolone abuse decreases anxiety and impairs memory in rats via central androgenic receptors. **Int J Neuropsychopharmacol.** 2008 Nov;11(7):925-34.

PALATINI P, GIADA F, GARAVELLI G, SINISI F, MARIO L, MICHIELETTO M, BALDO-ENZI G. Cardiovascular effects of anabolic steroids in weight-trained subjects, **J Clin Pharmacol.**, 1996 Dec;36(12):1132-40

PARSLOW, T. G. *et al.* **Imunologia Médica.** 10.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

PHILLIPS-FARFÁN BV, ROMANO-TORRES M, FERNÁNDEZ-GUASTI A.; Anabolic androgens restore mating after sexual satiety in male rats. **Pharmacol Biochem Behav.** , 2008 May;89(3)

SILVA, O.A., YONAMINE, M. Dopagem no esporte. In: **Fundamentos de Toxicologia.** 2ed. São Paulo: Atheneu editora, p.333-344, 2003.

YAMAGISHI H, KOBAYASHI M, KONOSU H, KURIOKA H, NAITO K, SONOYAMA T, NISHIMOTO T, HASHIMOTO I; Effect of anabolic steroid on immune response; *Gan To Kagaku Ryoho.* 1984 Mar;11(3):420-6

YEATER R, REED C, ULLRICH I, MORISE A, BORSCH M. Resistance trained athletes using or not using anabolic steroids compared to runners: effects on cardiorespiratory variables, body composition, and plasma lipids, **Br J Sports Med.**, 1996 Mar;30(1):11-4.

YONAMINE, MAURICIO. **Dopagem no Esporte.** *Disponível em :* <http://www.fcf.usp.br/lat/historico.php> . Acesso em 12/01/2007

YONAMINE, M.; GARCIA, P.R., MOREAU, R.L.M. Non-intentional doping in sports. **Sports Med.**, v.34, n.11,p.697-704, 2004.