

ORIGINAL INVESTIGATION (ARTIGO ORIGINAL)

CARDIOPROTEÇÃO INDUZIDA PELO EXERCÍCIO É PREJUDICADA PELO TRATAMENTO COM O ANABOLIZANTE DECANOATO DE NANDROLONA

CARDIOPROTECTION INDUCED BY EXERCISE IS IMPAIRED BY NANDROLONE DECANOATE

Elen A. Chaves^{1,2}, Pedro P. Pereira-Junior¹, Rodrigo S. Fortunato¹, Denise P. Carvalho¹, José H. M. Nascimento¹ & Marcus F. Oliveira²

¹ Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ - Rio de Janeiro.

² Instituto de Bioquímica Médica, UFRJ - Rio de Janeiro.

e-mail: chavesea@yahoo.com.br

Submitted for publication: march 2007

Accepted for publication: july 2007

Resumo

CHAVES, E. A.; PEREIRA-JUNIOR, P. P.; FORTUNATO, R. S.; CARVALHO, D. P.; NASCIMENTO, J. H. M.; OLIVEIRA, M. F. Cardioproteção induzida pelo exercício é prejudicada pelo tratamento com o anabolizante decanoato de nandrolona. *Brazilian Journal of Biomotricity*. v. 1, n. 3, p. 46-55, 2007. Os efeitos benéficos do exercício na redução das doenças cardiovasculares já estão bem descritos na literatura. Dentre as várias adaptações, encontramos a maior tolerância do tecido cardíaco a eventos isquêmicos (infartos). Associado ao exercício encontramos o abuso de anabolizantes, visando ganho de força, de massa muscular e perda de gordura. Sabe-se que as superdosagens de anabolizantes levam a danos no sistema cardiovascular, contrapondo-se aos efeitos benéficos descritos no exercício. Nesse trabalho, mostramos que a maior tolerância a eventos isquêmicos induzida pelo exercício foi prejudicada pelo tratamento com decanoato de nandrolona.

Palavras chave: cardioproteção, esteróides, exercício.

Abstract

CHAVES, E. A.; PEREIRA-JUNIOR, P. P.; FORTUNATO, R. S.; CARVALHO, D. P.; NASCIMENTO, J. H. M.; OLIVEIRA, M. F. Cardioprotection induced by exercise is impaired by Nandrolone Decanoate. v. 1, n. 3, p. 46-55, 2007. The beneficial effects of exercise in reducing the incidence of cardiovascular diseases are well known and the abuse of anabolic androgenic steroids (AAS) has been associated to cardiovascular disorders. Previous studies showed that heart protection to ischemic events would be mediated by increasing the antioxidant enzyme activities. Here, we investigated the impact of exercise and high doses of the AAS nandrolone decanoate (DECA), 10 mgkg(-1) body weight during 8 weeks, in cardiac tolerance to ischemic events as well as on the activity of antioxidant enzymes in rats. After a global ischemic event, hearts of control trained (CT) group recovered about 70% of left ventricular developed pressure, whereas DECA trained (DT), control sedentary (CS) and DECA sedentary (DS) animals recovered only about 20%. Similarly, heart infarct size was significantly lower in the CT group compared to animals of the three other groups. The activities of the antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx) and glutathione reductase (GR) were significantly higher in CT animals than in the other three groups, whereas catalase activity was not affected in any group. Together, these results indicate that chronic treatment with DECA cause an impairment of exercise induction of antioxidant enzyme activities, leading to a reduced cardioprotection upon ischemic events.

Key Words: cardioprotection, steroids, exercise.

Introdução

A cardioproteção a eventos isquêmicos, ilustrada por uma menor área de infarto e maior recuperação da função contrátil pós-isquemia, é uma importante adaptação relacionada ao exercício (BOWLES et al., 1992; POWERS et al., 1998; YAMASHITA et al., 1999; YAMASHITA et al., 2001; DEMIREL et al., 2002; HAMILTON et al., 2003; QUINDRY et al., 2005). Dentre os mecanismos envolvidos com tal proteção destacamos o aumento da expressão de enzimas antioxidantes (POWERS et al., 1993; POWERS et al., 1998; YAMASHITA et al., 1999; DEMIREL et al., 2002; QUINDRY et al., 2005), responsáveis pela detoxificação das espécies reativas de oxigênio (ROS - também conhecidos como radicais livres), cujos níveis exacerbados estão associados a várias doenças e as injúrias geradas no processo de isquemia/reperfusão (I/R) (SUN et al., 1996; CADENAS & DAVIES, 2000).

Os anabolizantes são moléculas sintéticas derivadas da testosterona, sintetizadas visando o tratamento de patologias tais como: estados catabólicos, osteoporose, queimaduras, dentre outros (SULLIVAN et al., 1998). Posteriormente, começaram a ser empregados indevidamente, em doses exacerbadas, visando melhora na performance e ganho de massa muscular em diferentes faixas etárias. Apesar dos efeitos positivos, vários estudos têm associado a superdosagem dessas substâncias a doenças cardiovasculares (AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS, 1997; SULLIVAN et al., 1998). Um

estudo recente demonstrou que a cardioproteção induzida pela natação em ratos foi abolida pelo tratamento com anabolizante, porém os mecanismos responsáveis por tal achado permaneceram obscuros (DU TOIT, 2005). Tendo isto em vista, buscamos avaliar os efeitos de altas doses de decanoato de nandrolona (DECA) e do exercício crônico em esteira ergométrica na cardioproteção induzida pelo exercício, elucidando o papel das enzimas antioxidantes.

Materiais e Métodos

Ratos Wistar machos pesando aproximadamente 220g foram divididos em quatro grupos: sedentário controle (CS), sedentário DECA (DS), treinado controle (CT) e treinado DECA (DT). O treinamento em esteira ergométrica teve foi composto por "tiros" de alta velocidade, cinco vezes por semana, durante dez semanas. O tratamento foi realizado através de injeções intramusculares com DECA ou veículo na dose de 10mg/Kg/semana nas últimas oito semanas do período experimental (CHAVES et al, 2006).

No final das dez semanas do período experimental, os animais foram anestesiados com éter e sacrificados através de deslocamento de coluna cervical. Os corações foram retirados e a artéria aorta canulada numa montagem de coração isolado. Um balão de látex foi inserido no ventrículo esquerdo, visando monitoramento da pressão desenvolvida pelo ventrículo esquerdo (%PVDE). Posteriormente, após o controle com duração de 30-60 minutos, os corações foram submetidos à 30 minutos de isquemia, e 60 minutos de reperfusão. No final da reperfusão os corações foram fatiados e corados com cloreto de trifenilterazolio (TTC) para avaliação da área de infarto (detalhes em CHAVES et al, 2006).

No final das dez semanas do protocolo experimental, alguns corações foram retirados e congelados em nitrogênio líquido, visando posterior análise espectrofotométrica das atividades enzimáticas. A atividade da SOD foi avaliada segundo o método de Crapo et al. (1977). A atividade da catalase foi determinada segundo Aebi (1984). A atividade da glutathiona peroxidase foi mensurada conforme o método descrito por Flohé & Günzler (1984). A atividade da glutathiona redutase foi calculada conforme o método descrito por Calberg & Mannervik (1985).

Resultados e Discussão

A figura 1 ilustra a porcentagem da pressão desenvolvida pelo ventrículo esquerdo (%PDVE) em coração isolado (técnica de Langendorff) durante os períodos de controle, isquemia global e reperfusão. A %PDVE comporta-se de forma semelhante nos 4 grupos experimentais durante a isquemia, porém na reperfusão observamos que somente o grupo CT foi capaz de recuperar significativamente a atividade contrátil do VE, mostrando que o tratamento com DECA impediu a adaptação induzida pelo exercício.

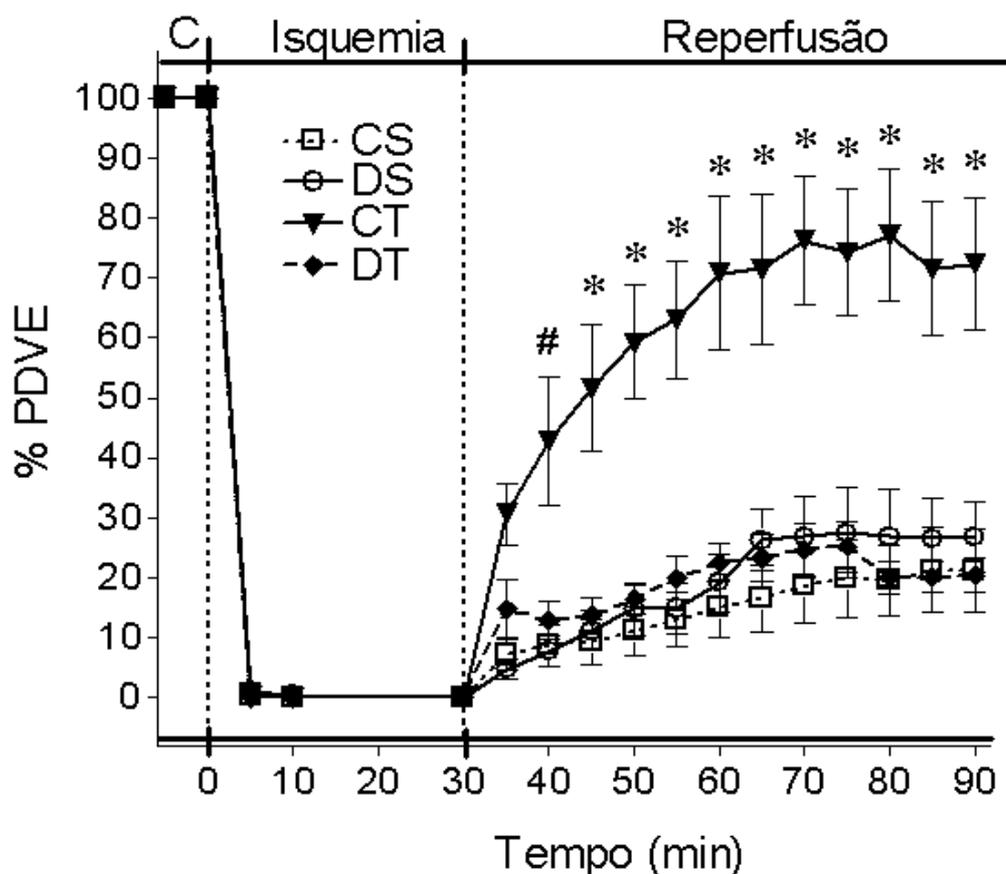


Figura 1 - Efeitos do exercício e do tratamento com DECA na função contrátil do ventrículo esquerdo durante o protocolo de isquemia/reperfusão (I/R). C = período controle. Curso temporal das mudanças na pressão desenvolvida pelo ventrículo esquerdo foram expressas como porcentagem dos valores iniciais (pre-ischemia) (% LVDP) durante os 30 minutos de isquemia global com subsequentes 60 min de reperfusão. % LVDP (média \pm SE) nos 60 min reperfusão: CS = 21.4 \pm 5% (n = 7); DS = 26.1 \pm 7% (n = 7); CT = 77.9 \pm 13% (n = 9); DT = 19 \pm 3% (n = 8). # P < 0.01 em 40 min vs. CS, DS e DT. *P < 0.001 de 45 até 90 min vs. CS, DS e DT.

Buscando averiguar se o tratamento com anabolizante afetou a área de tecido injuriada da mesma maneira que a função contrátil foi feita à quantificação da área de infarto na figura 2. Observou-se que os animais CT apresentaram menor área de infarto que os CS, indo de acordo com dados prévios da literatura. Em contrapartida, o tratamento com DECA aboliu a proteção induzida pelo exercício, ilustrada pela maior área de infarto encontrada nos grupos DT, CS e DS, quando comparadas ao grupo CT.

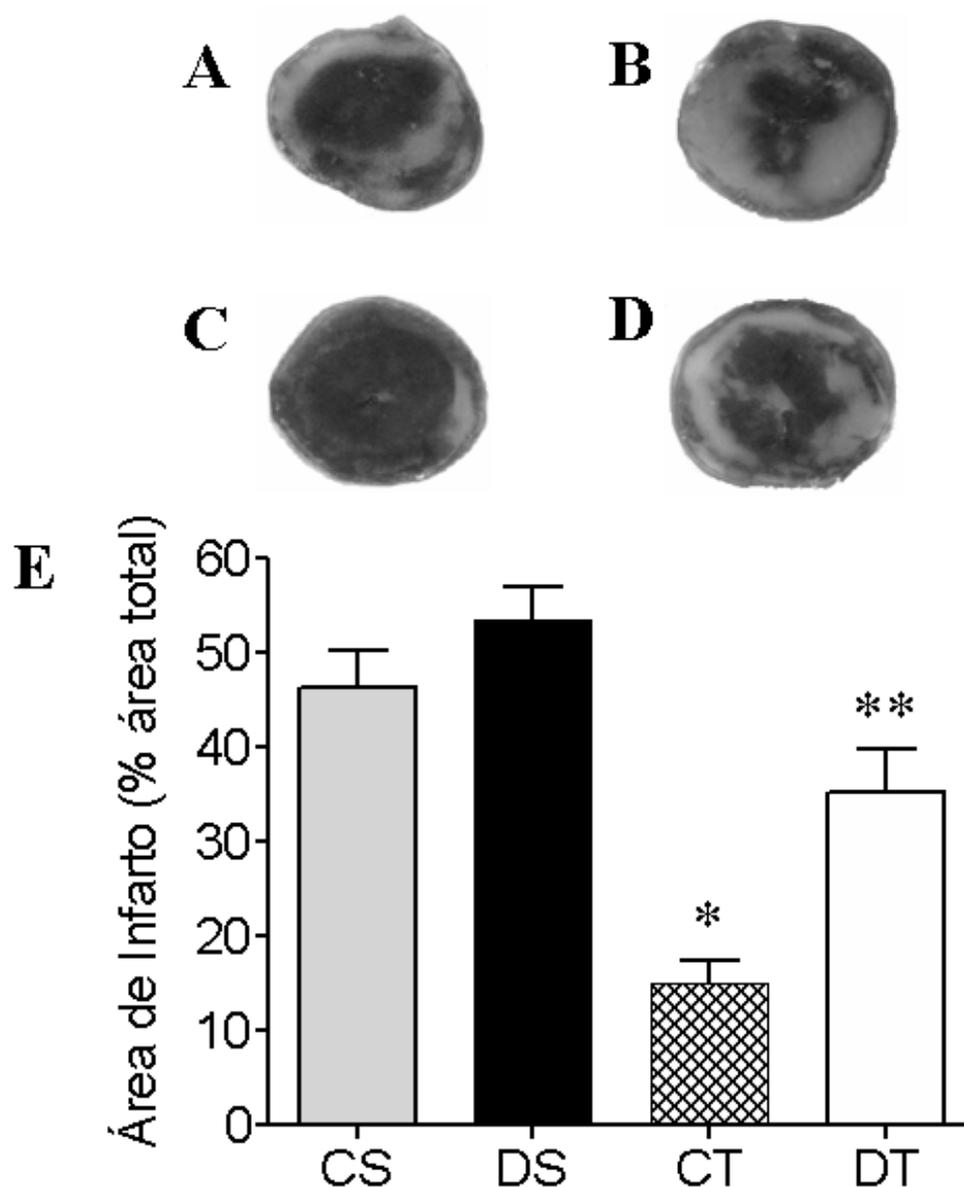


Figura 2 - Efeito do exercício e do tratamento com DECA na área de infarto dos corações isolados após o protocolo de I/R. (A) – CS; (B) – DS; (C) – CT; (D) – DT; (E) – Quantificação do tamanho da área de infarto. Áreas cinza escuro representam o tecido cardíaco preservado, enquanto as áreas cinza claro as áreas lesadas dos corações. O tamanho do infarto foi expresso como porcentagem da área de risco e os valores expressos em média \pm SE. CS: $46.3 \pm 4\%$ (n = 10), DS: $53.5 \pm 3.2\%$ (n = 12), CT: $15 \pm 2.4\%$ (n = 12), DT: $35.1 \pm 4.6\%$ (n = 11). * P < 0.001 vs. CS, DS e DT. ** P < 0.01 vs. DS.

Corroborando com os achados descritos nas figuras 1 e 2, foi observada maior atividade das enzimas antioxidantes nos animais CT, fato que poderia explicar a menor lesão tecidual encontrada neste grupo. Os ratos CT apresentaram aumento na atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD - responsável pela dismutação do superóxido em peróxido de hidrogênio), glutatona peroxidase (GPx - converte o peróxido de hidrogênio em água as custas da oxidação da glutatona) e glutatona redutase (GR - responsável pela

reciclagem da glutatona oxidada à glutatona reduzida permitindo que a GPx tenha substrato para funcionar normalmente) quando comparados ao grupo DT, mostrando que o tratamento com DECA prejudicou ou inibiu tais adaptações promovidas pelo exercício nesse grupo.

Sabe-se que o exercício é capaz de promover um estresse oxidativo moderado, capaz de induzir aumentos na expressão de enzimas antioxidantes, visando preparar o tecido para melhor suportar esse tipo de estresse (SEN & ATALAY, 1994; JI, 2002). Além disso, já foi demonstrado que animais com depleção dessas defesas apresentam menor desempenho físico, apontando um papel importante para as defesas antioxidantes na regulação da performance (JI, 2002). Nos episódios de I/R há uma grande produção de ROS, tendo sido mostrado o envolvimento destas com as subseqüentes lesões teciduais (FERRARI et al., 1985; GARLICK et al., 1987). Em outro estudo foi comprovado que o tratamento com agentes antioxidantes seriam capazes de amenizar as lesões pós I/R, através da detoxificação das ROS (FRENCH et al., 2006).

Apesar de todos os estudos mostrando os efeitos protetores do exercício, os mecanismos associados a esse fenômeno permanecem controversos, sugerindo que o animal utilizado, o tipo e a intensidade do exercício influiriam no nível de proteção e nos mecanismos cardioprotetores ativados (BOWLES et al., 1992; POWERS et al., 1993; POWERS et al., 1998; YAMASHITA et al., 1999; YAMASHITA et al., 2001; DEMIREL et al., 2002; HAMILTON et al., 2003; QUINDRY et al., 2005). No caso dos anabolizantes encontramos um agravante, tendo em vista que nada se sabe sobre a interação dessas drogas com os mecanismos cardioprotetores ativados pelo exercício. Nossos dados mostraram pela primeira vez que o DECA foi capaz de inibir o aumento da atividade da SOD, GPx e GR induzido pelo exercício, porém, não podemos inferir nada a respeito de como essa inibição está ocorrendo. Podemos apenas especular que esse bloqueio da adaptação estaria gerando uma condição de estresse oxidativo, que explicaria de forma elegante as lesões freqüentemente encontradas nos corações de indivíduos que fazem uso de altas doses de anabolizantes. Não descartamos que outros mecanismos cardioprotetores, tais como: aumento da expressão de proteínas de choque térmico ou ativação de proteína quinase C (YAMASHITA et al., 2001; HAMILTON et al., 2003), estejam sendo afetados pelo DECA, alertando para a necessidade de mais estudos na área.

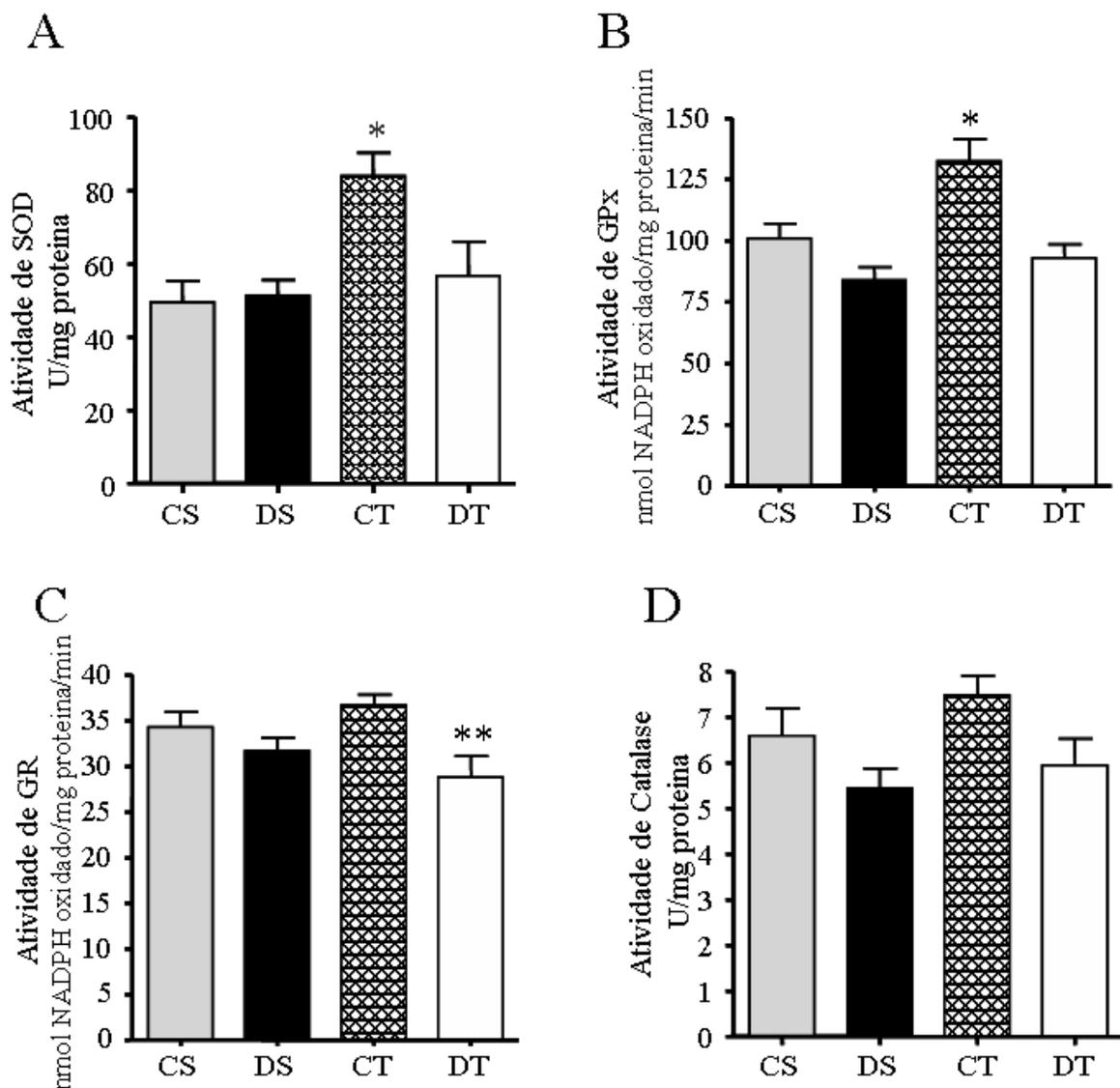


Figura 3 - Efeito do exercício e do tratamento com DECA na atividade das enzimas antioxidantes. (A) Atividade da superóxido dismutase (SOD) expressa em média ± S.E.; sedentário controle (CS): 49.4 ± 5.9 ($n = 10$); sedentário DECA (DS): 51.2 ± 4.3 ($n = 14$); treinado controle (CT): 84 ± 6.3 ($n = 7$); treinado DECA (DT): 56.7 ± 9.4 ($n = 8$). * $P < 0.05$ vs CS, DS and DT. (B) – Atividade da glutatona peroxidase (GPx) expressa em média ± S.E.. CS: 100.9 ± 6 ($n = 10$); DS: 83.9 ± 5.1 ($n = 14$); CT: 132.3 ± 9 ($n = 7$); DT: 92.8 ± 5.6 ($n = 8$). * $P < 0.05$ vs CS, DS and DT. (C) – Atividade da glutatona redutase (GR) expressa em média ± SE. CS: 34.3 ± 1.6 ($n = 10$); DS: 31.7 ± 1.5 ($n = 14$); CT: 36.7 ± 1.2 ($n = 7$); DT: 28.8 ± 2.3 ($n = 8$). ** $P < 0.05$ vs CT. (D) – Atividade de catalase expressa em média ± SE. CS: 6.6 ± 0.6 ($n = 10$); DS: 5.4 ± 0.4 ($n = 14$); CT: $7.5 \pm .4$ ($n = 7$); DT: 5.9 ± 0.6 ($n = 8$).

Conclusões

A cardioproteção observada no grupo CT vai de acordo com dados prévios da literatura. Esta proteção parece estar envolvida com o aumento da atividade das enzimas antioxidantes, observada somente no grupo CT. O tratamento

com DECA impediu o efeito benéfico gerado pelo exercício, ilustrado pela semelhança na área de infarto e na função contrátil pós-isquemia entre os grupos DT, DS e CS. Essa perda da cardioproteção nos animais DT parece estar relacionada à atividade da SOD, GPx e GR, que se encontram mais baixas neste grupo quando comparadas aos animais CT.

Referências

AEBI, H. Catalase in Vitro. *Methods in Enzymology* v. 105, p. 121-126, 1984.

AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS, Committee on Sports Medicine and Fitness. Adolescents and Anabolic Steroids: A subject review. *Pediatrics*, v. 99, p. 904-908, 1997.

BAUMAN, A. E. Updating the evidence that physical activity is good for health: an epidemiological review 2000-2003. *J. Sci. Med. Sport*, v. 7, p. 6-19, 2004.

BOWLES, D. K.; FARRAR, R. P.; STARNES, J. W. Exercise training improves cardiac function after ischemia in the isolated working rat heart. *Am. J. Physiol. - Heart Circ. Physiol.*, v. 263, p. H804-H809, 1992.

CADENAS, E.; DAVIES, K. J. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radic Biol Med*, v. 29, p. 222-230, 2000.

CALBERG I., MANNERVIK, B. Glutathione Reductase. *Methods in Enzymology*. 113: 484-490, 1985

CHAVES, E. A.; PEREIRA-JUNIOR, P. P.; FORTUNATO, R. S.; MASUDA, M. O.; CARVALHO, A. C. C.; CARVALHO, D. P.; OLIVEIRA, M. F.; NASCIMENTO, J. H. M. Nandrolone Decanoate impairs exercise induced cardioprotection: Role of antioxidants enzymes. *J. Steroid Bioch. Mol. Biol.*, v. 99, p. 223-230, 2006.

CRAPO, J. D.; MCCORD, J. M.; FRIDOVICH I. Preparation and assay of superoxide dismutases. *Methods in Enzymology*. 3: 382-393, 1977.

DEMIREL, H. A.; POWERS, S. K.; ZERGEROGLU, M. A.; SHANELY, R. A.; HAMILTON, K.; COOMBES, J.; NAITO, H. Short-term exercise improves myocardial tolerance to in vivo ischemia-reperfusion in the rat. *J. Appl. Physiol.*, v. 91, v. 2205-2212, 2001.

DU TOIT, E. F.; ROSSOUW, E.; VAN ROOYEN, J.; LOCHNER, A. Proposed mechanisms for the anabolic steroid-induced increase in myocardial susceptibility to ischemia/reperfusion injury. *Cardiovasc. J. S. Afr.*, v. 16, p. 21-28, 2005.

FERRARI, R.; CECONI, C.; CURELLO, S.; GUARNIERI, C.; CALDARERA, C.

M.; ALBERTINI, A.; VISIOLI, O. Oxygen-mediated myocardial damage during ischaemia and reperfusion: role of the cellular defenses against oxygen toxicity. *J Mol Cell Cardiol*, v. 17, p. 937-945, 1985.

FLOHÉ, L; GÜNZLER, W. A. Assays of Glutathione Peroxidase. *Methods Enzymol.* v. 105, p. 114-121, 1984.

FRENCH, J. P.; QUINDRY, J. C.; FALK, D. J.; STAIB, J. L.; LEE, Y.; WANG, K. K.; POWERS, S. K. Ischemia-reperfusion induced calpain activation and SERCA2a degradation are attenuated by exercise training and calpain inhibition. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, v. 290, p. H128-136, 2006.

GARLICK, P. B.; DAVIES, M. J.; HEARSE, D. J.; SLATER, T. F. Direct detection of free radicals in the reperfused rat heart using electron spin resonance spectroscopy. *Circ Res*, v. 61, p. 757-760, 1987.

HAMILTON, K. L.; STAIB, J. L.; PHILLIPS, T.; HESS, A.; LENNON, S. L.; POWERS, S. K. Exercise, antioxidants, and HSP72: Protection against myocardial ischemia/reperfusion. *Free Rad. Biol. Med*, v. 34, p. 800-809, 2003.
JI, L. L. Exercise-induced modulation of antioxidant defense. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, v. 959, p. 82-92, 2002.

POWERS, S. K.; CRISWELL, D.; LAWLER, D.; MARTIN, D.; LIEU, F. K.; JI, L. L.; HERBET, R. A. Rigorous exercise training increases superoxide dismutase activity in ventricular myocardium. *Am. J. Physiol*, v. 265, p. H2094-H2098, 1993.

POWERS, S. K.; DEMIREL, H. A.; VINCENT, H. K.; COOMBES, J. S.; NAITO, H.; HAMILTON, K. L.; SHANELY, R. A.; JESSUP, J. Exercise training improves myocardial tolerance to in vivo ischemia-reperfusion in the rat. *Am. J. Physiol. Regul. Integ. Comp. Physiol*, v. 275, p. R1468-R1477, 1998.

QUINDRY, J.; FRENCH, J.; HAMILTON, K.; LEE, Y.; MEHTA, J. L.; POWERS, S. Exercise training provides cardioprotection against ischemia-reperfusion induced apoptosis in young and old animals. *Exp. Gerontol*, v. 40, p. 416-425, 2005.

SEN, C. K.; ATALAY, M.; HANNINEN, O. Exercise-induced oxidative stress: glutathione supplementation and deficiency. *J Appl Physiol*, v. 77, p. 2177-2187, 1994.

SULLIVAN, M. L.; MARTINEZ, C. M.; GENNIS, P.; GALLAGHER, E. J. The cardiac toxicity of anabolic steroids. *Prog. Cardiovasc. Dis.*, v. 41, p. 1-15, 1998.

SUN, J. Z.; TANG, X. L.; PARK, S. W.; QIU, Y.; TURRENS, J. F.; BOLLI, R. Evidence for an essential role of reactive oxygen species in the genesis of late preconditioning against myocardial stunning in conscious pigs. *J Clin Invest.*, v.

97, p. 562-576, 1996.

YAMASHITA, N.; BAXTER, G. F.; YELLON, D. M. Exercise directly enhances myocardial tolerance to ischemia-reperfusion injury in the rat through a protein kinase C mediated mechanism. *Heart*, v. 85, p. 331-336, 2001.

YAMASHITA, N.; HOSHIDA, S.; OTSU, K., ASAHI, A.; KUZUYA, T.; HORI, M. Exercise provides direct biphasic cardioprotection via manganese superoxide dismutase activation. *J. Exp. Med.*, v. 189, p. 1699-1706, 1999.