

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS - MG

DÉBORA MANTOAN ALVES

**ESTIMATIVA DA DENSIDADE DE NEURÔNIOS DA AMÍGDALA BASOLATERAL
E CENTRAL E AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL DE CAMUNDONGOS SOB O
USO DE ESTEROIDES ANABOLIZANTES**

ALFENAS/MG

2015

DÉBORA MANTOAN ALVES

**ESTIMATIVA DA DENSIDADE DE NEURÔNIOS DA AMÍGDALA BASOLATERAL
E CENTRAL E AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL DE CAMUNDONGOS SOB O
USO DE ESTEROIDES ANABOLIZANTES**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências pelo Programa de Pós-Graduação em Biociências Aplicadas à Saúde da Universidade Federal de Alfenas-MG.

Área de Concentração: Neurociências e Comportamento.

Orientador: Profa. Dra. Alessandra Esteves.

Co-orientador: Prof. Dr. Wagner Costa Rossi Junior

ALFENAS/MG

2015

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Biblioteca Central da Universidade Federal de Alfenas

Alves, Débora Mantoan

Estimativa da densidade de neurônios da amígdala basolateral e central e a avaliação comportamental de camundongos sob o uso de esteroides e anabolizantes / Débora Mantoan Alves. -- Alfenas/MG, 2015.

72 f.

Orientadora: Alessandra Esteves.

Dissertação (Mestrado em Biociências Aplicadas à Saúde) - Universidade Federal de Alfenas, 2015.

Bibliografia.

1. Anabolizantes. 2. Núcleo Central da Amígdala. 3. Complexo Nuclear Basolateral da Amígdala. 4. Comportamento. I. Esteves, Alessandra. II. Título.

CDD-616.8

DÉBORA MANTOAN ALVES

**ESTIMATIVA DA DENSIDADE DE NEURÔNIOS DA
AMÍGDALA BASOLATERAL E CENTRAL E AVALIAÇÃO
COMPORTAMENTAL DE CAMUNDONGOS SOB O USO DE
ESTEROIDES ANABOLIZANTES**

A Banca examinadora abaixo-assinada, aprova a
Dissertação apresentada como parte dos requisitos para
obtenção de título de mestre em Ciências pelo Programa
de Pós-Graduação em Biociências Aplicadas à Saúde da
Universidade Federal de Alfenas-MG.
Área de Concentração: Neurociências e Comportamento.

Aprovada em: 06/08/2015

Prof. Dra. Reggiani Vilela Gonçalves

Instituição: UFV

Assinatura:



Prof. Dr. Renato Rizzo Ventura

Instituição: Unifal-MG

Assinatura:



Prof. Dra. Alessandra Esteves

Instituição: Unifal-MG

Assinatura:



Dedico aos meus pais, Rosemeire e Wanderley, pelo apoio incondicional, carinho e paciência; ao meu irmão, Flávio, pelo afeto e pela força de sempre.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ouvir minhas orações e atendê-las sempre que possível e por me conceder paciência e força nas horas que eu mais precisei.

Aos meus pais, Rosemeire e Wanderley, pelo apoio incondicional, pelos conselhos, por nunca me deixarem cair nas horas mais difíceis, pelo carinho e paciência, e por confiarem em mim até o final. Ainda temos muitas batalhas pela frente juntos. Amo vocês.

Ao meu irmão, Flávio, pela compreensão de sempre, pelo carinho e apoio.

Ao Rafael, meu noivo que me incentivou desde o início. Obrigada pelo amor, pelos incentivos, pelo carinho e pela paciência de sempre.

À minha orientadora, Alessandra, primeiramente por acreditar em mim desde a graduação; pela atenção incondicional de todos esses mais de cinco anos juntas, pelos conselhos, pelo carinho e pela amizade. Sem você eu jamais conseguiria.

Ao meu co-orientador, Wagner, que foi o grande idealizador desse trabalho e contribuiu muito com seus conselhos e experiência.

Aos meus companheiros do Laboratório de Anatomia, Bruno, Dauanda, Juliana e Ariane e Melissa pelo companheirismo e pelo belo trabalho de equipe.

Aos funcionários do Laboratório, D. Cida, Bruno, Moacir e Pit, que me ajudaram muito nos experimentos e no processamento. E aos professores João Carvalho, Geraldo, Flávia e Evelise e Marcos que sempre estiveram à disposição para o que eu precisasse.

Aos 40 animais utilizados nesse trabalho, que sem eles não conseguiríamos encontrar dados tão valiosos para o futuro das Ciências e bem da humanidade.

Às minhas amigas e companheiras em Alfenas, a republica Havaianas e principalmente a Mônica Furtado e Mônica Silva pelo apoio de sempre, pela amizade verdadeira e por sempre estarem presentes nas alegrias e nas tristezas.

À Universidade Federal de Alfenas por dar todo o suporte necessário para a minha formação acadêmica.

E a todos que, apesar de não terem sido mencionados aqui, contribuíram de alguma forma para a realização desse trabalho.

RESUMO

Os esteroides anabólicos androgênicos (EAA) são sintéticos derivados da testosterona que possuem propriedades anabólicas e androgênicas que promovem o aumento de massa muscular e o peso corporal. Esses fármacos vêm sendo utilizados em academias e centros de treinamento físico sem qualquer critério ou controle, representando um alto risco à saúde dos usuários, inclusive de ordem neurológica, como sintomas agressivos. Portanto, este estudo investigou o efeito dos EAAs sobre a distribuição de neurônios em áreas específicas do cérebro: a amígdala basolateral e central, bem como o impacto dessas drogas no comportamento de camundongos. Foram utilizados 40 camundongos machos da linhagem Swiss, do Biotério da Universidade Federal de Alfenas (Unifal- MG), divididos em 4 grupos (n=10): G1: Controle, G2: tratado com o anabolizante Deca durabolin®, G3: tratado com o anabolizante Durateston® e G4: tratado em ciclo com os dois anabolizantes, concomitantemente. Os camundongos foram tratados por dois meses, recebendo as doses dos EAAs e praticando natação. Após realizado o teste comportamental com labirinto em cruz elevado os camundongos foram eutanasiados, os cérebros retirados e armazenados em paraformaldeído a 4% 0,1M. Para a análise da estimativa da densidade de corpos celulares de neurônios foi utilizada a metodologia de contagem aleatória simples. O resultado da quantificação neuronal mostra que houve redução significativa de corpos celulares de neurônios nas regiões analisadas nos grupos tratados com anabolizantes em comparação com o grupo controle. A análise comportamental no labirinto em cruz elevado mostrou que os camundongos tratados com esteroides anabolizantes apresentaram um perfil ansiolítico quando comparados ao grupo controle.

Palavras-chave: Esteroides anabolizantes. Amígdala central. Amígdala basolateral. Comportamento. Neurônios. Camundongos.

ABSTRACT

The anabolic androgenic steroids (AAS) are synthetic derivatives of testosterone, which possess anabolic and androgenic properties that promote increase in muscle mass and body weight. These drugs have been used in gyms and physical training centers without any criteria or control, representing a high health risk to users, including neurological, such as aggressive symptoms. Therefore, this study investigated the effects of AAS on neurons distribution act in specific brain areas: basolateral and central amygdala, as well as the impact of these drugs in mice behavior. 40 male mice of Swiss strain were used, from the Federal University of Alfenas (UNIFAL – MG) bioterium, divided into 4 groups (n=10): G1: Control, G2: treated with anabolic steroid Deca durabolin®, G3: treated with anabolic steroid Durateston® and G4: treated in cycle with both anabolic steroids, concomitantly. Mice were treated for two months, receiving the AAS doses and practicing swimming. After the behavioral test with elevated plus-maze was performed mice were euthanized, the brains were removed and stored in 4% paraformaldehyde 0,1M. For the analysis of the estimation of neuron cell bodies density, simple random counting method was used. The result of neuron quantification shows that there was significantly decrease of neuron cell bodies in the analyzed regions in groups treated with anabolic steroids, in comparison with the control group. Behavior analysis in elevated plus-maze showed that mice treated with anabolic steroids presented a anxiolytic profile when compared to the control group.

Keywords: Anabolic steroids. Central amygdala. Basolateral amygdala. Behavior. Neurons. Mice.

“Tudo o que um sonho precisa para ser realizado é alguém que acredite que ele possa ser realizado.”

(Roberto Shinyashiki)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Caixa plástica utilizada para a natação	32
Figura 2 –	Fotomicrografia de corte frontal de cérebro de camundongo, mostrando as áreas estudadas, amígdala basolateral (bla) em vermelho e amígdala central (AC) em azul	34
Figura 3 –	Esquema das regiões de corte frontal de cérebro de camundongo, mostrando as áreas estudadas, amígdala basolateral (BLA) e amígdala central (CeL, CeC e CeM)	35
Figura 4 –	Fotomicrografia de corte frontal de cérebro de camundongo corado com violeta cresil, mostrando as áreas estudadas, Amígdala Basolateral (BLA) em vermelho e Amígdala Central (AC) em amarelo, também estão representados os ventrículos laterais (LV). 25X	35
Figura 5 –	Fotomicrografia de um corte frontal de cérebro de camundongo, corado com violeta cresil, mostrando as áreas estudadas, amígdala basolateral (BLA) em vermelho e amígdala central (AC) em amarelo. 50X	36
Figura 6 –	Imagem representativa de área teste desenhado em transparência e fixado no monitor do computador para quantificação de pontos inseridos somente dentro do quadrante, excluindo pontos nas linhas contínuas (vermelho)	36
Figura 7 –	Aparato utilizado no teste Labirinto em Cruz Elevado para teste comportamental referente ao parâmetro de ansiedade	37
Figura 8 –	Gráfico que representa a quantificação global de corpos celulares de neurônios da amígdala basolateral de camundongos machos após tratamento com Durateston® ($p < 0,05$), Deca-durabolin® ($p < 0,01$) e Durateston® com Deca-durabolin® ($p < 0,001$)	40
Figura 9 –	Gráfico representando a quantificação de corpos celulares de neurônios da amígdala basolateral direita de camundongos machos submetidos ao tratamento de Durateston® ($p < 0,05$), Deca durabolin® ($p < 0,01$) e Dura-Deca ($p < 0,01$)	41
Figura 10 –	Gráfico representando a quantificação de corpos celulares de neurônios da amígdala basolateral esquerda de camundongos machos ($p < 0,05$)	41

Figura 11 –	Imagens que representam a quantificação de neurônios em Amígdala Basolateral. A: Grupo controle. B: Grupo Dura. C: Grupo Deca. D: Grupo Deca-Dura	41
Figura 12 –	Gráfico que representa a quantificação global de corpos celulares de neurônios da amígdala central de camundongos machos após tratamento com Durateston® (p<0,001), Deca-durabolin® (p<0,001) e Durateston® com Deca-durabolin® (p<0,001)	43
Figura 13 –	Gráfico que representa a quantificação de corpos celulares de neurônios da amígdala central direita de camundongos machos, na qual houve diferença significativa no grupo Deca durabolin® (P<0,05) e no grupo Durateston® e Deca durabolin® (p<0,01)	43
Figura 14 –	Gráfico que representa a quantificação de corpos celulares de neurônios da amígdala central esquerda de camundongos machos. Todos os grupos tratados apresentaram diferença significativa (p<0,001)	43
Figura 15 –	Taxa de entrada na área central do LCE	44
Figura 16 –	Taxa de entrada nos braços fechados do LCE	45
Figura 17 –	Taxa de entrada nos braços abertos do LCE	45
Figura 18 –	Tempo de permanência, em porcentagem, nos braços fechados do LCE	46
Figura 19 –	Tempo de permanência, em porcentagem, nos braços abertos do LCE...	46
Figura 20 –	Tempo de permanência, em porcentagem, na área central do LCE.....	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Grupo de animais de acordo com os esteroides e as doses utilizadas	32
Tabela 2 –	Médias e desvio padrão de corpos celulares de neurônios da amígdala basolateral (ABL) e de cada um dos antímeros cerebrais de camundongos machos	40
Tabela 3 –	Médias e desvio padrão de corpos celulares de neurônios da amígdala central de camundongos machos	42

LISTA DE ABREVIATURAS

AR–	Receptores Androgênicos
AC –	Amígdala Central
BLA–	Amígdala Basolateral
COI –	Comitê Olímpico Internacional
D –	Direito
DECA –	Grupo tratado com Deca durabolin®
DHEA –	Dehidroepiandrosterona
DIC –	Delineamento Inteiramente Casualizado
DURA –	Grupo tratado com Durateston®
DURA-DECA –	Grupo tratado com Durateston® e Deca durabolin®
E –	Esquerdo
EAA –	Esteroides Anabólicos Androgênico
GABA –	Ácido Gama-Amino-Butírico
GluR –	Receptor de glutamato
LCE –	Labirinto em Cruz Elevado
NMDA –	N-Metil-D-Aspartato
RNA _m –	RNA mensageiro
SNC –	Sistema Nervoso Central

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1	ESTEROIDES ANABOLIZANTES ANDRÓGENOS (EAA)	18
2.1.1	Definições, Usos e Histórico	18
2.1.2	Farmacologia dos EAAs.....	21
2.1.3	Efeitos Colaterais dos EAAs	23
2.2	AMÍGDALA	25
3	JUSTIFICATIVA	29
4	OBJETIVOS	30
4.1	OBJETIVOS GERAIS	30
4.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	30
5	MATERIAL E MÉTODOS	31
5.1	ANIMAIS	31
5.2	TRATAMENTO.....	31
5.3	COLETA E ANÁLISE MACROSCÓPICA	33
5.4	PROCESSAMENTO E COLORAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	33
5.5	ANÁLISE QUANTITATIVA DOS CORPOS CELULARES DE NEURÔNIOS. 33	
5.6	ANÁLISE DE ANSIEDADE.....	37
5.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA	38
6	RESULTADOS	39
6.1	ESTIMATIVA DA DENSIDADE DE CORPOS CELULARES	39
6.1.1	Amígdala Basolateral	39
6.1.2	Amígdala Central	42
6.2	ANÁLISE COMPORTAMENTAL	44
7	DISCUSSÃO	47
7.1	ESTIMATIVA DA DENSIDADE DE CORPOS CELULARES	47
7.2	ANÁLISE COMPORTAMENTAL	50
8	CONCLUSÃO	53
9	REFERÊNCIAS	54

1 INTRODUÇÃO

Os esteroides anabólicos androgênicos (EAAs) compreendem um grupo de compostos naturais e sintéticos formados a partir da testosterona ou de um de seus derivados. (LISE; GAMA E SILVA; FERIGOLO, 1999; BASARIA; WAHLSTROM; DOBS, 2001; HARTGENS; KUIPERS, 2004). A testosterona foi sintetizada em laboratório pela primeira vez em 1935 e, desde então, os andrógenos tornaram-se disponíveis para utilização com fins terapêuticos e experimentais (JOHNSON, 1990; FULLER, 1993; HANDA; PRICE, 2000).

A testosterona exerce efeitos designados como androgênicos e anabólicos em uma extensa variedade de órgãos alvo, incluindo os músculos, órgãos do sistema nervoso central, a hipófise anterior, os rins, o fígado e o coração (SINHA-HIKIM et al., 2002).

Os atletas utilizam uma dose supra fisiológica de EAA visando o aumento da massa muscular e da força, diminuição do tempo de recuperação após a sobrecarga de treinamento e redução do tempo de recuperação das lesões (HOUGH, 1990; MARAVELIAS et al., 2005).

A primeira utilização dos EAA com o objetivo de melhorar o desempenho de atletas em competição aconteceu em 1954, quando atletas russos obtiveram performances altamente satisfatórias em uma competição de levantamento de peso (ASSIS, 2002). Já, o uso indiscriminado dos EAA começou em meados dos anos 50 e seu abuso foi acentuado em 1970. Desde então, continua sendo comumente utilizado, apresentando efeitos potencialmente nocivos à saúde (CERRO; FERNANDEZ, 1998; YONAMINE; SILVA, 2005). Atualmente, o aumento da comercialização destes fármacos (20-30% ao ano) para fins não terapêuticos, tornou-se um problema de saúde pública (EVANS, 2004).

Alguns estudos clássicos sugerem um aumento no comportamento típico de depressão ou humor disfórico com o uso dos EAA (LEFAVI; REEVE; NEWLAND, 1990; PERRY; YATES; ANDERSEN, 1990; SU et al., 1993). O comportamento agressivo é o que mais se destaca pelo abuso de EAAs (MIDGLEY; HEATHER; DAVIES, 2001). Os circuitos neuronais corticolímbicos medeiam os comportamentos emocionais e estão implicados na fisiopatologia de transtornos psiquiátricos como agressividade, ansiedade, depressão, alcoolismo e esquizofrenia. (FRAZER; HENSLER, 1994).

Os esteroides anabolizantes promovem vários agravos no organismo em diferentes sistemas como o Sistema Nervoso Central, inclusive o sistema límbico, portanto, faz-se necessário aprofundar os estudos sobre suas ações.

Diante desses fatos este estudo visa contribuir para o entendimento da influência do uso de doses supra fisiológicas de EAAs sobre a amígdala basolateral e central, e sua possível correlação com alterações comportamentais.

2 REVISAO DE LITERATURA

A revisão de literatura faz uma abordagem sobre os esteroides anabolizantes androgênicos (EAAs) e das amígdalas, regiões do cérebro estudadas nesse trabalho.

2.1 ESTEROIDES ANABOLIZANTES ANDROGÊNICOS

A revisão referente a EAAs está subdividida nos seguintes itens: definições, usos e histórico; farmacologia dos EAA; efeitos adversos.

2.1.1 Definições, usos e histórico

A testosterona é um hormônio esteroide androgênico, no sexo masculino é sintetizada nos testículos pelas células intersticiais e no córtex da supra renal. Já no sexo feminino, além do córtex da supra renal também é produzida em pequena quantidade pelos ovários (SMITH et al., 1985). Esse hormônio exerce seus efeitos androgênicos e anabólicos em diversas regiões do corpo incluindo os órgãos reprodutivos como testículos e ovários. Além disso, também atua em tecidos não reprodutivos como músculo esquelético, tecido ósseo, rins, fígado e sistema nervoso central (SNC) (SNYDER, 1984; SHAHIDI, 2001; BASARIA; WAHLSTROM; DOBS, 2001; KICMAN, 2008).

Os esteroides anabolizantes androgênicos são hormônios esteroides naturais, sintéticos ou semissintéticos que mimetizam os efeitos da testosterona. São responsáveis pelas características sexuais masculinas e também promovem o anabolismo dos tecidos somáticos (HANDELSMAN, 2001; EVANS, 2004). Esses compostos podem ser utilizados por ingestão oral ou por aplicação intramuscular. Os usuários costumam fazer o uso em ciclos, em que doses maiores são aplicadas progressivamente, com um intervalo de tempo que pode variar de 4 a 18 semanas (ARAÚJO, 2003).

Os esteroides anabolizantes sintéticos possuem atividade anabólica (promoção do crescimento) superior à atividade androgênica (masculinização) (SU et al., 1993).

Os EAAs também possuem uso clínico, inicialmente, foram sintetizados para serem utilizados em indivíduos do sexo masculino com deficiência androgênica para o desenvolvimento e manutenção das características sexuais secundárias masculinas, em crianças com retardo de puberdade e adultos com insuficiência testicular (MATSUMOTO, 1996; SCHROEDER; VALLEJO; ZHENG, 2005).

Além de serem usados em tratamento de deficiências androgênicas, os EAAs também atuam em outras condições patológicas como a osteoporose, a anemia causada por falhas na medula óssea ou nos rins (DE ROSE; NÓBREGA, 1999; CONWAY et al., 2000), câncer de mama avançado (EBELING; KOIVISTO, 1994), algumas situações especiais de obesidade (CORRIGAN, 1996), sarcopenias relacionadas ao HIV, a cirrose alcoólica, a doença pulmonar obstrutiva crônica e queimaduras graves (BASARIA; DOBS, 1999; GRINSPOON et al., 2000), também vem sendo utilizado no tratamento de fadiga em pacientes com insuficiência renal crônica e distrofia muscular de Duchenne (JOHANSEN; MULLIGAN; SCHAMBELAN, 1999; FENICHEL et al., 2001). Os esteroides anabólicos em baixas doses, tem efeitos antiaterogênicos e antianginosos no tratamento de doenças cardiovasculares, (ENGLISH et al., 2000).

Os EAAs também são muito utilizados com objetivos não terapêuticos, principalmente por fisiculturistas e levantadores de peso que visam o aumento da massa muscular, melhor desempenho físico e uma maior preservação e restabelecimento da massa muscular esquelética. Esta prática leva ao uso abusivo e ilícito desses compostos. Nestas condições, os EAA são geralmente administrados em doses supra fisiológicas que são de 10 a 100 vezes maiores que as doses terapêuticas (CLARK; HARROLD; FAST, 1997; CUNHA et al., 2004; KARBALAY-DOUST et al., 2007).

Mesmo proibido, o uso dos EAA faz parte do meio desportivo, competitivo ou não, porque muitos acreditam que a ele também se aplica a lei Darwiniana onde somente os mais preparados fisicamente alcançam os níveis mais altos de desempenho (NORTON; OLDS, 2001).

Desde a antiguidade são conhecidos os efeitos de potencialização do desempenho esportivo e aumento de força dos fármacos androgênicos. Há relatos de que competidores olímpicos ingeriam testículos de touro para melhorar as suas marcas. Além disso, alterações de comportamento também foram descritas, no tratado *Historia Animalium*, quando Aristóteles observa que a castração de pássaros imaturos do sexo masculino impede o desenvolvimento do canto e o comportamento sexual característico dos machos (RUBINOW; SCHMIDT, 1996).

A testosterona foi isolada, caracterizada quimicamente e sintetizada em laboratório em 1935 (JOHNSON, 1990; FULLER, 1993). Durante a Segunda Guerra Mundial, foi utilizada pelas tropas alemãs para aumentar a agressividade dos soldados (GHAPHERY, 1995; WILSON, 1996). Nos anos 50, foi utilizada sob forma oral e injetável no tratamento de alguns tipos de anemia e em doenças com perda muscular, bem como em pacientes pós-cirúrgicos para diminuir a atrofia muscular secundária (GHAPHERY, 1995). No entanto, um dos primeiros relatos da utilização de EAA sintéticos com objetivos não terapêuticos ocorreu em 1954, na Áustria, em um campeonato de levantamento de peso em Viena onde foi utilizado como forma de ampliar o desempenho destes atletas (THEIN; THEIN; LANDRY, 1995; SCOTT; WAGNER; BARLOW, 1996; CREUTZBERG; SCHOLS, 1999; CUNHA et al., 2004). Seu uso foi então difundido para esta finalidade a partir de 1964, nas Olimpíadas de Tóquio (LUKAS, 1993; THEIN; THEIN; LANDRY, 1995; DE ROSE; NÓBREGA, 1999). Somente nos anos 70 houve um aumento progressivo do uso de EAA entre atletas competitivos e o início do uso entre atletas recreativos, inclusive entre as mulheres (FULLER, 1993; ANDERSEN et al., 1995). Desde então, estas substâncias vêm despertando a atenção de profissionais da área da saúde e pesquisadores devido à sua grande utilização por atletas profissionais e amadores, com o objetivo de aumentar a massa muscular, melhorar o desempenho físico e a estética corporal (CREUTZBERG; SCHOLS, 1999; CUNHA et al., 2004).

Os controles de dopagem para detecção de EAA foram feitos somente na Olimpíada de Montreal, em 1976 (YOSHIDA et al., 1994). Juntamente com os 2- β -agonistas, os EAA, pertencem à classe dos agentes anabólicos que, somados a estimulantes, narcóticos, diuréticos e hormônios peptídicos, glicoproteicos e análogos, compõem as substâncias proibidas no esporte, segundo o Comitê Olímpico Internacional (COI) (CATLIN; MURRAY, 1996; DE ROSE; NÓBREGA, 1999).

No Brasil, os EAAs são considerados “doping”, segundo os critérios da Portaria MEC número 531, de 10 de julho de 1985 (GIBSON, 1994; THEIN; THEIN; LANDRY, 1995), seguindo a legislação internacional. O Comitê Olímpico Internacional define como “doping” o uso de qualquer substância exógena ou endógena, em quantidades ou vias anormais, com a intenção de aumentar o desempenho do atleta em uma competição (GOLDWIRE; PRICE, 1995). Em 1990, o Congresso dos EUA aprovou a lei que tornam os EAAs fármacos de uso controlado, ou seja, que exigem receita especial, controlada pelo governo, para sua obtenção (BROWER, 1993). Entretanto, esses medicamentos são encontrados à margem desse controle (SCOTT; WAGNER; BARLOW, 1996).

2.1.2 Farmacologia dos EAA

Os EAAs são derivados do colesterol e fazem parte da família dos hormônios esteroides. Compõem-se de um esqueleto básico de quatro anéis de carbono (RUBINOW; SCHMIDT, 1996).

No organismo a testosterona é sintetizada a partir do colesterol por uma sequência de cadeias enzimáticas dentro das células de Leydig, localizadas no interstício do testículo maduro (KNOBIL; NEILL, 1988). Ocorre a conversão de colesterol em pregnolona, é o principal precursor dos hormônios esteroides, na mitocôndria das células de Leydig que são feitas pelo complexo enzimático de clivagem da cadeia de colesterol do citocromo P450, localizado na membrana mitocondrial (VERMEULEN, 1990). A principal via de sua síntese é a da dehidroepiandrosterona (DHEA), na qual a pregnenolona entra em uma cadeia de reações onde há formação respectivamente de 17-OH-pregnenolona; DHEA; androstenediona e testosterona (HANDELSMAN, 2001).

Na circulação, 97% da testosterona encontra-se ligada a proteínas albumina e SHBG e os 3% restante encontra-se no plasma em forma livre, que é a forma biologicamente ativa. A concentração sanguínea de testosterona não permanece constante no homem durante o dia, possui uma forma pulsátil. O valor mais elevado geralmente é em volta das seis da manhã enquanto o valor mais baixo é encontrado ao anoitecer (BADILLO; AYESTARÁN, 2001). No citoplasma da célula, interagem com um receptor específico, formando um complexo hormônio-receptor com alta afinidade pelo núcleo celular. Esse complexo atravessa a membrana nuclear e liga-se com avidéz a sítios específicos da cromatina nuclear, denominados elementos de resposta a hormônios esteroides. Ocorre, então, a ativação da RNA polimerase, iniciando o processo de transcrição gênica formando uma fita de RNA mensageiro, complementar àquela de DNA que serviu como molde. Através da participação do RNA transportador e do RNA ribossômico, a síntese proteica se desenvolve no citosol. As proteínas formadas podem ser estruturais, enzimas ou ainda poderão ser secretadas para serem utilizadas por outras células (WILSON; FOSTER, 1988).

Os anabolizantes são derivados sintéticos da testosterona e foram desenvolvidos com o objetivo de minimizar seus efeitos androgênicos e maximizar a síntese proteica e o crescimento muscular (HAUPT; ROVERE, 1984). São compostos por dois grupos: derivados esterificados e derivados alquilados. Os derivados esterificados (propionato de testosterona, enantato de testosterona e cipionato de testosterona) são produtos de administração intramuscular e

permanecem ativos por dias a semanas, enquanto os derivados alquilados grupo devem ser tomados, por via oral, diariamente (WILSON, 1988).

A testosterona administrada oralmente é rapidamente metabolizada no fígado. A meia-vida da testosterona livre é de 10-21 minutos. Uma de suas vias é conversão em androstenediona, inativando-a, no fígado e 90% de seus metabólitos são excretados na urina (RANG; DALE; RITTER, 1997).

Com alterações na estrutura molecular dos compostos foi possível reduzir ou excluir o metabolismo hepático originando três grupos de derivados: ésteres do grupo 17-β-hidroxil; alquilados na posição 17-α; com o anel esteroide alterado (THEIN; THEIN; LANDRY, 1995). A alquilação e a alteração do anel esteroide são usadas preferencialmente nas preparações via oral (etinilestradiol, fluoximeterona, metandrostenolona, oximetolona, metiltestosterona, stanozolol). A alquilação na posição 17-α retarda marcadamente a metabolização hepática, aumentando a efetividade oral (LUKAS, 1993). Estes derivados têm boa absorção gástrica e são altamente potentes, porém são excretados rapidamente devido a sua meia-vida curta e são mais tóxicos ao fígado do que os injetáveis. A esterificação é útil nas preparações parenterais (cipionato ou propionato de testosterona e nandrolona) (GHAPHERY, 1995; MELO, 1996-1997).

A esterificação do grupo 17-β-hidroxil com ácidos carboxílicos diminui a polaridade da molécula, tornando-a mais solúvel nos veículos lipídicos o que possibilita preparações injetáveis de liberação lenta na circulação e, ocasionam menor toxicidade hepática que os esteroides orais, além de terem menor potência. Porém, quanto maior a cadeia carbônica do éster, mais lipossolúvel se torna o esteroide e mais prolongada sua ação (LUKAS, 1996). Os ésteres 17-β-hidroxilados da testosterona que maior duração de ação, como o enantato e o cipionato de testosterona, são as preparações mais efetivas, seguras e práticas disponíveis para o tratamento da deficiência de testosterona (MATSUMOTO, 1996). No Brasil é possível encontrar preparações contendo cipionato, decanoato, undecanoato ou propionato de testosterona, nandrolona, metiltestosterona e oximetolona (MELO, 1996-1997).

Estudos nacionais sobre a incidência do uso de andrógenos anabólicos descrevem dados regionais. Silva e Moreau (2003) verificaram nas grandes academias de São Paulo que 19% dos praticantes de musculação, com idade média de 27 anos, faz uso de EAA. Na Bahia, em um bairro popular de Salvador, os EAAs mais utilizados entre os fisiculturistas foram Durateston® e Deca-Durabolin® (IRIART; ANDRADE, 2002). Araújo, Andreolo e Silva (2002) citam que na cidade de Goiânia, 21% dos frequentadores de academia usavam Deca Durabolin® e o consumo foi maior em indivíduos com idade entre 18 e 26 anos, destes, mais de 70% tinham

como finalidade ganhar massa muscular. Em outro estudo, realizado nas academias de Erechim e Passo Fundo, no estado do Rio Grande do Sul, 6,5% dos frequentadores afirmaram ter usado pelo menos uma vez EAAs, principalmente o Deca-durabolin® e Durateston® (FRIZON; MACEDO; YONAMINE, 2005).

Alguns dos métodos de administração utilizados para aumentar o efeito dos anabolizantes são: 1) “Empilhamento” (Stacking): quando há uso de duas ou mais substâncias concomitantemente e/ou combinação do uso oral e injetável; 2) “Pirâmide”: inicia-se em baixa dosagem aumentando até 10-100 vezes o valor inicial atingindo um pico, com retorno gradual às doses iniciais; 3) “Ciclos” (*cycling*): em que há uso por 6 a 12 semanas, interrupção por 3-4 semanas e repetição do ciclo com suspensão do uso algumas semanas antes da competição e 4) “Mista”, uma combinação destes esquemas (THEIN; THEIN; LANDRY, 1995; GHAPHERY, 1995; GOLDWIRE; PRICE, 1995; LUKAS, 1993).

No cérebro, a testosterona pode ser aromatizada em 17-beta-estradiol, portanto, ativam de forma direta o receptor androgênico (AR) e de forma indireta os receptores estrogênicos (RctE e RpE) (LEPHART, 1996). O decanoato de nandrolona, assim como a testosterona pode ser aromatizada em 17β-estradiol, e ter ação sobre os receptores androgênicos do sistema nervoso central na sua forma natural, e sobre os receptores estrogênicos (ER), na sua forma metabolizada (CLARK; HENDERSON, 2003). Existem diferentes níveis de expressão do AR ou ERs em regiões específicas do cérebro que estão sobretudo relacionadas com a neurogênese, função neuroendócrina, aprendizagem e memória, cognição, controle motor, reprodução e tomada de decisões (ZHANG et al., 2002; SHENG et al., 2004; FENG, et al., 2010).

2.1.3 Efeitos Colaterais dos EAAs

Os efeitos colaterais associados ao uso dos EAAs dependem de diferentes variáveis como a dose, o período de utilização, forma de aplicação, idade e metabolismo do organismo.

Nas mulheres, manifestam-se a masculinização, evidenciada pelo engrossamento de voz e crescimento de pelos no corpo, além de irregularidade menstrual, aumento do clitóris, atrofia mamária e esterilidade, sendo que alguns efeitos adversos podem ser irreversíveis, como a hipertrofia do clitóris e a alteração no tom de voz (FRIEDL, 1990; BROWER, 1993; WU, 1997). No homem, os principais efeitos são: atrofia do tecido testicular, causando infertilidade e impotência; dificuldade ou dor para urinar, hipertrofia prostática, tumores de próstata;

ginecomastia e o broto mamário devido à maior quantidade de hormônio androgênico convertido a estrogênio, pela ação da aromatase (WU, 1997).

Dentre as alterações comuns a ambos os sexos, incluem alteração da libido (aumento ou diminuição), calvície, erupções acnéicas, fechamento epifisário prematuro, ruptura de tendão, devido ao aumento exagerado de massa muscular sem equivalente desenvolvimento do tecido tendinoso; alterações no metabolismo lipídico, aumentando os níveis de LDL (lipoproteína de baixa densidade) e diminuindo os de HDL (lipoproteína de alta densidade), alterações das enzimas hepáticas, icterícia, tumores hepáticos e falência múltipla de órgãos (FRIEDL, 1990; KUIPERS et al., 1991; BROWER, 1993; JOHNSON, 1985; YESALIS; COURSON; WRIGHT, 1993; SAMAHA et al., 2008; PAIS-COSTA; LIMA; SOARES, 2012). Também foram observadas alterações hematológicas como mudanças do tempo de coagulação, aumento do hematócrito e policitemia, pois os EAA estimulam a eritropoiese mediante do aumento da síntese de eritropoetina, o que pode favorecer a formação de trombos e aumentar a ocorrência de acidente vascular encefálico isquêmico (AVEi). Eleva o risco para doença coronariana e aumento da pressão arterial (ocorrência de alterações eletrocardiográficas, cardiomiopatias, infarto agudo do miocárdio e embolia e hipertrofia cardíaca. Além disso, podem alterar a imunidade humoral, através da diminuição dos níveis das imunoglobulinas IgG, IgM e IgA (FRIEDL, 1990; BROWER, 1993; KUIPERS et al., 1991; WU, 1997; STOLT et al., 1999; DAWSON, 2001, DO CARMO et al., 2011).

Em estudos experimentais coelhos não treinados, o tratamento com decanoato de nandrolona apresentou diminuição da ação vasodilatadora da acetilcolina e da resposta contrátil da aorta (FERRER et al., 1994a; FERRER et al., 1994b). Carmo et al. (2011) relatam que a administração de EAA associada ao treinamento físico de natação induz a hipertrofia cardíaca patológica, caracterizada pelo aumento do colágeno intersticial e consequente diminuição da função diastólica.

Em relação às alterações comportamentais, os EAA pode provocar alterações de humor e de comportamento, ansiedade e depressão, episódios de psicose ou mania (ANNITTO; LAYMAN, 1980; FREINHAR; ALVAREZ, 1985; POPE JR; KATZ, 1987; BAHRKE et al., 1990; SCHULTE et al., 1993; DRIESSEN et al., 1996; GRUBER; POPE, 2000; BAHRKE et al., 2000). Também são relatados transtornos afetivos que podem levar a episódios agressivos, violentos e crimes como assassinato, cometidos por indivíduos que nunca tiveram esses comportamento antes do uso de EAAs (POPE JR; KATZ, 1988; CONACHER; WORKMAN, 1989; CHOI; PARROT; COWAN, 1990; POPE JR; KATZ, 1990; DALBY, 1992; SCHULTE et al., 1993, SCHWERIN et al., 1996; POPE JR; KOURI; HUDSON, 2000). Porém, para

Kanayama et al. (2008) não se pode atribuir esses quadros exclusivamente ao uso de EAAs, já que a prevalência, os padrões de uso e a gravidade desses efeitos permanecem pouco compreendidos.

Tanto a agressividade como o transtorno de personalidade agressiva têm sido explicados pela presença de altos níveis de testosterona e seus metabolitos no organismo (VON DER PAHLEN, 2005). No plano cognitivo os sintomas mais encontrados foram distração, esquecimento e confusão mental (SILVA; DANIELSKY; CZEPIELWSKI, 2002). O uso indevido de EAA pode levar a consequências psicológicas mais graves como o transtorno dismórfico corporal, esse é um transtorno mental que provoca a distorção da imagem corporal por parte do paciente (ASSUNÇÃO, 2002; TORRES; FERRÃO; MIGUEL, 2005).

A interrupção do uso de anabolizantes pode levar a uma síndrome de abstinência durante a qual surgem sintomas adrenérgicos como a depressão (LISE; GAMA E SILVA; FERIGOLO, 1999).

2.2 AMÍGDALA

A amígdala junto com outras regiões fazem parte do circuito de Papez na qual é um sistema conhecido por estar envolvido na regulação da emoção e a formação da memória de longo prazo (PAPEZ, 1937, VANN, 2013). Os circuitos neuronais que medeiam os comportamentos emocionais estão implicados na fisiopatologia de transtornos psiquiátricos como agressividade, ansiedade, depressão, alcoolismo, esquizofrenia, entre outros (FRAZER; HENSLER, 1994). A amígdala é uma importante região do cérebro fundamental para a expressão de estados ansiosos (ALHEID, 2003; DAVIS et al., 2010).

A amígdala, ou complexo amigdalóide compreende 13 núcleos, com amplas conexões internucleares e intranucleares. Os núcleos da amígdala são divididos basicamente em três grupos: o grupo profundo (basolateral), que abrange o núcleo lateral, núcleo basal e núcleo lateral secundário; o grupo superficial (cortical), que contém os núcleos corticais e o núcleo do trato olfatório lateral; e também o grupo centromedial, composto dos núcleos medial e central (PRICE; RUSSCHEN; AMARAL, 1987; MCDONALD, 1998).

Os núcleos basolaterais são as principais portas de entrada da amígdala, recebendo informações sensoriais e auditivas; já a via amigdalóica fugal ventral e a estria terminal estabelecem conexão com o hipotálamo, permitindo o desencadeamento do medo (BEAR;

CONNORS; PARADISO, 2002). Além do córtex e do tálamo auditivos, áreas ventrais do hipotálamo projetam-se para os núcleos basolateral e basomedial da amígdala, havendo, em casos de lesão dessas áreas, interferência na geração do condicionamento (LEDOUX, 2003).

As relações entre a amígdala e o hipotálamo estão intimamente ligadas às sensações de medo e raiva. A amígdala é responsável pela detecção, geração e manutenção das emoções relacionadas ao medo, bem como pelo reconhecimento de expressões faciais de medo e coordenação de respostas apropriadas à ameaça e ao perigo (PHAN et al., 2002; DE GELDER et al., 2004; HÖISTAD; BARBAS, 2008). Ela exerce ligação essencial entre as áreas do córtex cerebral, recebendo informações de todos os sistemas sensoriais. Estas, por sua vez, projetam-se de forma específica aos núcleos amigdaloides, permitindo a integração da informação proveniente das diversas áreas cerebrais, através de conexões excitatórias e inibitórias a partir de vias corticais e subcorticais (WILLIAMS et al., 2006).

Conexões recíprocas entre o hipotálamo anterior e outros núcleos límbicos hipotalâmicos, como o hipotálamo ventrolateral e medial, amígdala medial e central, septo lateral e núcleos da estria terminal, são parte de um circuito neural relacionado a fenótipos de agressão (DELVILLE; DE VRIES; FERRIS, 2000).

O sistema nervoso autônomo está diretamente envolvido nas denominadas “situações de luta e/ou fuga” e imobilização (STRAUMAN et al., 2004). Toda vez que a pessoa percebe o meio ambiente como “ameaçador”, a amígdala estará livre para desencadear estímulos excitatórios sobre a região lateral e dorsolateral da substância cinzenta periaquedutal, que então estimula as vias do trato piramidal, produzindo respostas de luta e/ou fuga. Além disso, há casos em que a pessoa responde a tais situações como se estivesse paralisada; essa resposta decorre da estimulação da região ventrolateral ao aqueduto cerebral, que também estimula as vias neurais do trato corticoespinal lateral. Em situações de luta-fuga ocorre elevação da frequência cardíaca e da pressão arterial; de outro modo, nas situações de imobilização ocorre intensa bradicardia e queda da pressão arterial (PORGES, 2003).

O complexo amigdalóide parece exercer um papel importante na aprendizagem quando diretamente relacionado com processos emocionais. A atividade neural do complexo amigdalóide é afetada pelo estímulo emocional (WHALEN et al., 1998; WILLICK; KOKKINIDES, 1995; PARKINSON; ROBBINS; EVERITT, 2000; O'DOHERTY et al., 2002; WHITE; MCDONALD, 2002; HOLAHAN, 2005; PATON et al., 2006).

A excitabilidade na amígdala é mediada por sinalização glutamatérgica que pode ser aumentada em variadas condições (MAREN, 1999; BENINI; AVOLI, 2006; ROSENKRANZ; VENHEIM; PADIVAL, 2010). Algumas evidências indicam que os EAAs podem alterar

aspectos morfológicos e neuroquímicos de sinapses glutamatérgicas no hipotálamo, hipocampo e córtex cerebral e, com isso, ter implicações comportamentais importantes (LE GREVÈS et al., 1997; ROSSBACH et al., 2007). Em hamster sírios tratados com EAAs houve aumento da expressão de glutamato, e de receptores GluR1 em áreas específicas da agressividade (FISHER; RICCI; MELLONI JUNIOR, 2007).

Modelos animais demonstraram que o uso crônico e o abuso de esteroides anabolizantes (stanozolol) afeta significativamente as monoaminas cerebrais que são responsáveis por modificações neuroquímicas (TUCCI et al., 2012), além da redução na expressão dos receptores de glicocorticoides no hipocampo e no plasma e aumento dos níveis basais matinais de cortisol plasmático, estas alterações metabólicas têm sido relacionadas a distúrbios do humor, como a depressão (TALIH; FATTAL; MALONE, 2007).

Outro neurotransmissor associado ao comportamento é a dopamina que é encontrada em algumas áreas do cérebro, incluindo aquelas associadas a comportamento agressivo como: hipotálamo, área septal, núcleo da estria terminal e diferentes núcleos amigdaloides (ADAMS; MOGHADDAM, 2000; WOMMACK; DELVILLE, 2002; PIRNIK; KISS, 2005). O RNA mensageiro (mRNA) para dopamina foi localizado em áreas associadas à agressão, tais como hipotálamo ventromedial e ventrolateral e amígdala central e medial (MANSOUR et al., 1990; WEINER et al., 1991; JARED et al., 2010). A exposição a EAAs leva a uma alteração na transmissão dopaminérgica (WILCZYNSKI; YANG; SIMMONS, 2003).

Além da transmissão glutamatérgica e dopaminérgica, a serotonina é um neurotransmissor implicado no controle de comportamentos agressivos em seres humanos (COCCARO; KAVOUSSI; HAUGER, 1997), e segundo estudo realizado por Grimes e Melloni (2002), animais tratados com EAAs apresentaram redução da atividade da serotonina, no hipotálamo anterior, hipotálamo ventrolateral e amígdala medial, quando comparados aos animais controle. Ela é um dos principais sítios pós-sinápticos que recebe projeções serotoninérgicas provenientes do núcleo dorsal da rafe (DEAKIN; GRAEFF, 1991; HOYER; MARTIN, 1997). Na avaliação serotoninérgica relacionada com EAAs, dependendo da região do cérebro analisada, pode ocorrer aumento ou diminuição da densidade de receptores para esse neurotransmissor (KINDLUNDH et al., 2003).

Mecanismos moleculares cerebrais estão relacionados aos efeitos comportamentais de altas doses de EAAs em roedores (MCINTYRE; PORTER; HENDERSON, 2002). Roedores recebendo injeções de EAAs em doses supra fisiológicas (CLARK; HENDERSON, 2003) mostraram aumento na agressão social (HARRISON et al., 2000), sendo os efeitos frequentemente dependentes da espécie e linhagem do animal, bem como do tipo de EAA

administrado (CLARK; HENDERSON, 2003). Altas concentrações de testosterona e seus metabólitos de EAAs podem levar a alterações funcionais, morfológicas e bioquímicas dos neurônios corticais, culminando na morte celular (DO CARMO et al., 2012).

Dessa forma, considerando que o sistema monoaminérgico regula o comportamento humano, a agressividade, o comportamento sexual, o medo e a ansiedade, pode-se sugerir uma possível correlação entre alterações das monoaminas geradas pelos esteroides anabolizantes e as alterações comportamentais e os distúrbios do humor (HENDERSON et al., 2006; TUCCI et al., 2012).

Na análise do efeito da testosterona e de três de seus derivados sintéticos em culturas de células corticais de ratos, verificou-se um aumento da morte neuronal excitotóxica induzida por NMDA (N-methyl-D-aspartate) (ORLANDO et al., 2007).

Segundo Ribeiro (2014) o uso de cipionato de testosterona e estanozolol em dose supra fisiológica promove redução de corpos de neurônios na amígdala basolateral e núcleo pósteroventral da amígdala medial em camundongos. E Damião et al. (2012), o tratamento de camundongos com esteroides anabolizantes, levou a uma diminuição significativa na quantidade de corpos celulares de neurônios no córtex cerebral de cerca de 30%, quando comparados aos animais do grupo controle, que foram tratados com solução fisiológica. No entanto, Silva et al. (2012) relataram não haver diminuição na densidade de corpos de neurônios no córtex cerebelar em camundongos submetidos a esteroides anabolizantes. Enquanto que Ribeiro et al. (2014) usando a mesma técnica de análise de Silva et al. (2012) relatou redução de células de Purkinje em camundongos machos tratados com Deposteron®.

3 JUSTIFICATIVA

O uso indevido dos EAAs representa um alto risco de danos à saúde, principalmente entre jovens e adultos jovens, que buscam um corpo forte e musculoso de forma rápida, visando apenas o benefício estético sem qualquer critério ou controle.

Vários estudos vêm mostrando efeitos deletérios associados ao uso indiscriminado dessas substâncias, principalmente relacionados com doenças cardiovasculares, hepáticas, endócrinas e neurológicas, além de alterações comportamentais como ansiedade, agressividade e depressão.

Diante desses fatos este estudo visa elucidar de forma quantitativa, possíveis danos ao Sistema Nervoso Central (SNC) especificamente na região da amígdala basolateral (BLA) e central (AC), que podem ser acarretados pelo uso abusivo desses fármacos, o que podem levar perda de corpos celulares neuronais e alterações comportamentais relacionados a ansiedade.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVOS GERAIS

Analisar o efeito isolado e combinado de EAAs, Deca durabolin® e Durateston®, sobre a distribuição neuronal na amígdala central e basolateral, bem como o impacto dessas drogas sobre o comportamento ansiolítico em camundongos.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Observar as alterações comportamentais relacionadas à ansiedade dos animais tratados com EAAs em comparação ao grupo controle tratados com solução salina e analisar o número, por área, de corpos celulares de neurônios na amígdala basolateral e central, buscando alterações quantitativas dos mesmos, devido ao tratamento com esteroides.

5 MATERIAL E MÉTODOS

O capítulo referente à Material e Métodos foi didaticamente dividido em sete itens.

5.1 ANIMAIS

Foram utilizados 40 camundongos machos da linhagem Swiss, com idade aproximada de 90 dias (jovens-adultos), com peso médio de 60 gramas, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Alfenas, UNIFAL- MG. Os animais foram alojados em caixas individuais, devido ao histórico de agressividade dos camundongos submetidos a esteroides anabolizantes. Foram tratados com ração comercial própria para roedores e água “ad libidum” e mantidos em ciclo de 12 horas claro-escuro.

O projeto foi analisado e aprovado pela Comissão de Ética no uso de animais da UNIFAL-MG, protocolo nº 479/2012 conforme Anexo A.

5.2 TRATAMENTO

O tratamento foi realizado no laboratório de Anatomia da UNIFAL-MG e consistiu na aplicação intraperitoneal (IP) de dois esteroides anabolizantes, isolados ou associados. Os anabolizantes utilizados foram decanoato de nandrolona (Deca Durabolin®) e a mescla de quatro anabolizantes: propionato de testosterona, fempropionato de testosterona, isocaproato de testosterona e decanoato de testosterona (Durateston®).

Os animais foram tratados durante dois meses. A dose de Deca Durabolin® foi de 16,7mg/kg e de Durateston® 83,3 mg/kg, aplicadas uma vez na semana, consideradas estas doses supra fisiológicas. Já a aplicação em associação consistiu nas mesmas doses uma vez por semana cada. Os animais foram submetidos a natação monitorada durante cinco minutos, três vezes por semana (segunda, quarta e sexta-feira) durante o período de tratamento. A natação foi realizada em um recipiente de plástico medindo 43x34x26cm (Figura 1), contendo em seu interior água na temperatura entre 25°C próximo a borda, de modo que os animais não conseguiram tocar o

fundo do recipiente e nem escalar suas paredes laterais, não conseguindo sustentar seu peso com as patas.



Figura 1 - Caixa plástica utilizada para a natação.

Fonte: Departamento de Anatomia (DAnat) da Unifal-MG.

Os animais foram divididos em quatro (4) grupos experimentais (n=10) totalizando 40 animais, conforme tabela 1.

Tabela 1 – Grupo de animais de acordo com os esteroides e as doses utilizadas.

Grupos	Número de Animais	Tratamento	Dosagem (IP)	Treinamento
Grupo 1	10 machos	Grupo Controle (Solução fisiológica)	0,02 ml	Natação
Grupo 2	10 machos	Deca Durabolin®	16,7mg/kg	Natação
Grupo 3	10 machos	Durateston®	83,3 mg/kg	Natação
Grupo 4	10 machos	Deca Durabolin® + Durateston	16,7mg/kg 83,3 mg/kg	Natação

Fonte: Do autor

5.3 COLETA E ANÁLISE MACROSCÓPICA

Após a eutanásia dos animais com inalação de Halotano® e a identificação de cada animal, iniciou-se, o seguinte procedimento: os crânios foram abertos e os encéfalos retirados inteiramente e então armazenados em recipientes de vidro contendo paraformaldeído 4% em tampão fosfato pH 7,4. Os encéfalos permaneceram imersos nesta solução fixadora por 48 horas.

5.4 PROCESSAMENTO E COLORAÇÃO DAS AMOSTRAS

Os encéfalos foram processados seguindo-se a sequência padronizada nos procedimentos histológicos convencionais: desidratação em álcool, diafanização em xilol e inclusão em parafina. Depois foram emblocados em parafina e cortados com espessura de 7µm em micrótomo Lupe® (Lupetec, São Paulo, SP, Brasil). De cada encéfalo foram retiradas amostras em cortes frontais e seriadas (BROWN; AGGLETON, 2001) para que as áreas pudessem ser analisadas. (PAXINOS; FRANKLIN, 2012; VAN STRIEN; CAPPAERT; WITTER, 2009).

As lâminas foram coradas com violeta cresil para facilitar a visualização dos Corpúsculos de Nissl dos corpos de neurônios e assim possibilitar marcar fortemente e individualmente cada célula para posterior contagem.

5.5 ANÁLISE QUANTITATIVA DOS CORPOS CELULARES DE NEURÔNIOS

Para a análise da quantidade de corpos celulares de neurônios foi utilizada a metodologia de contagem aleatória simples (WEST, 1993a; WEST, 1993b; MANDARIN-DE-LACERDA, 1994,2003; PAKKENBERG; GUNDERSEN, 1995)

Para a determinação das áreas estudadas utilizou-se o atlas de estereotaxia como representada na figura 2 e 3. As regiões estudadas encontravam-se em um plano na qual era possível visualizar o giro do cíngulo invaginando para o corpo caloso, os ventrículos laterais, o

terceiro ventrículo dorsal e ventral, além disso a amígdala basolateral tem um formato delimitado de gota e a amígdala central encontra-se medialmente a ela.

A quantificação se deu em um aumento de 400 vezes na qual quantificou-se 3 campos microscópicos de 3 cortes semi seriados, totalizando 9 campos histológicos por área estudada, de cada animal, ou seja, da amígdala basolateral e central. A análise foi feita com um Sistema de Analisador de Imagens Axiovision4 Module Interactive Measurement da empresa Carl Zeiss®, (Jena, Alemanha).

A análise foi feita com auxílio de uma área teste (counting frame) com medidas de 120,75 cm² fixada no monitor do computador. Na contagem marcou-se somente os corpos celulares que apresentavam nucléolo, inseridos dentro do quadrante, ou seja, dispostos dentro da área teste e na linha de inclusão (linha verde) e foram excluídas as células nas linhas contínuas em vermelho (Figura 2). Assim, aferimos o número de células por área contada, e não o número total dessas células nas regiões analisadas. A contagem foi realizada nos dois hemisférios cerebrais.

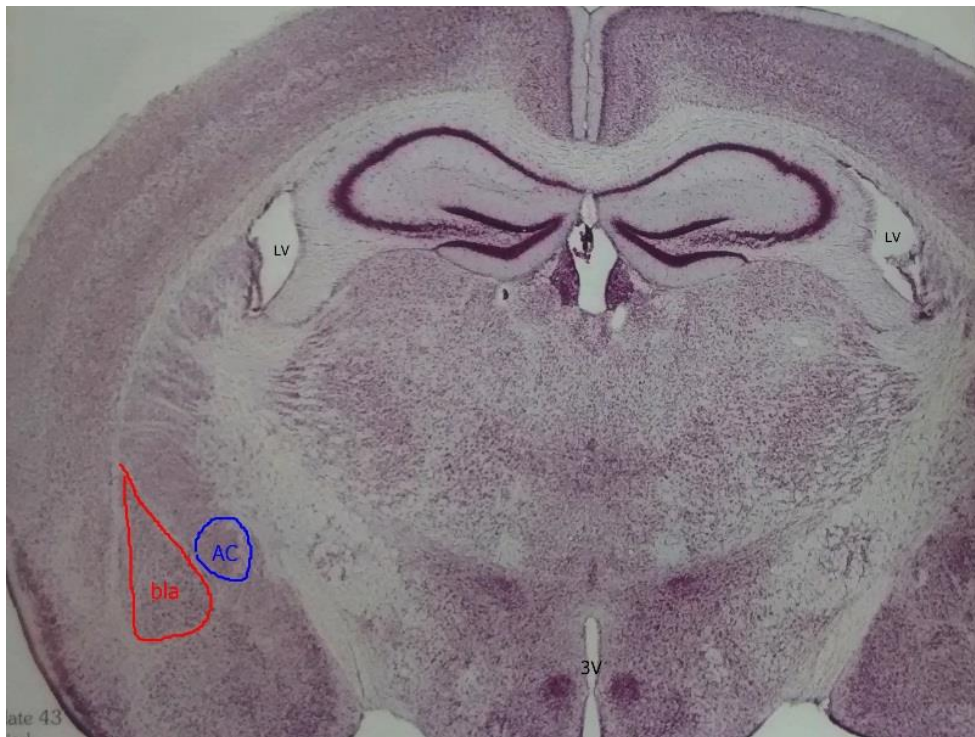


Figura 2 - Fotomicrografia de corte frontal de cérebro de camundongo, mostrando as áreas estudadas, amígdala basolateral (bla) em vermelho e amígdala central (AC) em azul. Também estão representados os ventrículos laterais (LV) e o terceiro ventrículo (3V).

Fonte: Paxinos e Franklin, (2012).

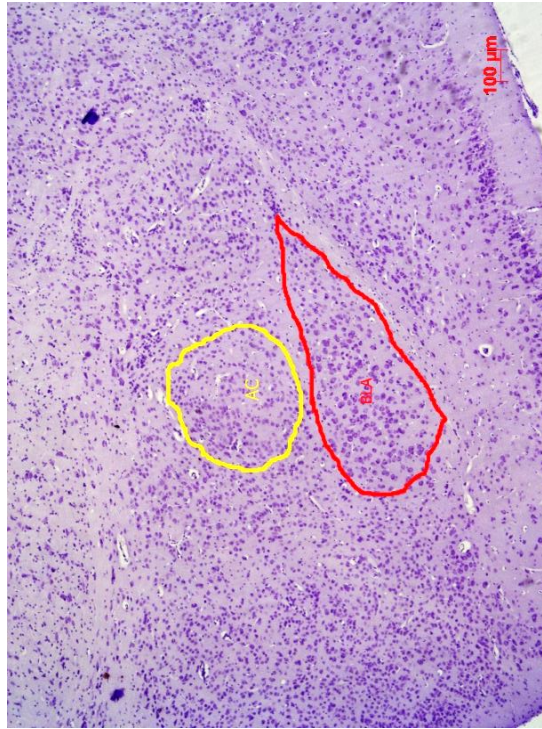


Figura 5 – Fotomicrografia de um corte frontal de cérebro de camundongo, corado com violeta cresil, mostrando as áreas estudadas, amígdala basolateral (BLA) em vermelho e amígdala central (AC) em amarelo. 50X.

Fonte: Do autor.

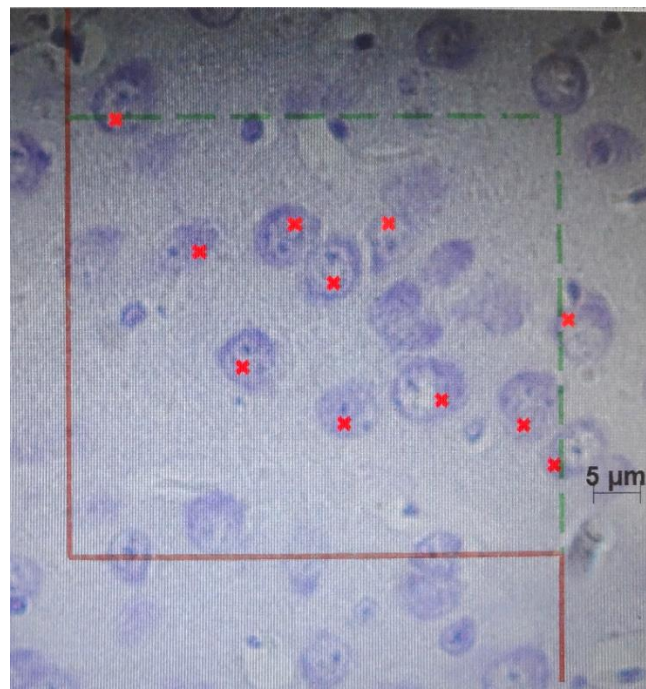


Figura 6 – Imagem representativa de área teste desenhado em transparência e fixado no monitor do computador para quantificação de pontos inseridos somente dentro do quadrante, excluindo pontos nas linhas contínuas (vermelho).

Fonte: Do autor.

5.6. ANÁLISE DE ANSIEDADE

O labirinto em cruz elevado é um modelo etólogo para estudo da ansiedade (PELLOW et al., 1985). É bem conhecido para detectar o efeito de drogas ansiolíticas ou ansiogênicas e foi usado como modelo de avaliação de ansiedade nesse estudo. O teste do labirinto em cruz elevado consiste em um aparato com dois braços abertos (50 x 10cm cada), dois braços fechados (50 x 10 x 40cm cada) e uma plataforma central (10 x 10cm) formando uma cruz suspensa à 50cm de altura (Figura 6). Cada animal foi colocado no centro do aparato de frente para um dos braços fechados e filmados por cinco minutos. As medidas comportamentais registradas foram: número de entradas nos braços abertos e nos fechados (com as 4 patas) e o tempo de permanência dos animais nestes braços.

Um aumento seletivo nos parâmetros correspondentes aos braços abertos (entradas e tempo) revela um comportamento ansiolítico (LISTER, 1987; FILE; MABBUTT; HITCHCOTT, 1990; CAROBREZ; BERTOGLIO, 2005). A porcentagem de tempo de exploração dos braços abertos é considerada um índice de medo e ansiedade. A porcentagem de entradas nos braços abertos está relacionada à atividade locomotora e à ansiedade (CRUZ; GRAEFF, 1994). Por outro lado, o número de entradas nos braços fechados corresponde a um índice de atividade locomotora (PELLOW et al., 1985; CRUZ; GRAEFF, 1994).



Figura 7A e 7B – Aparato utilizado no teste Labirinto em Cruz Elevado para teste comportamental referente ao parâmetro de ansiedade.

Fonte: Do autor.

5.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O estudo representa um delineamento inteiramente casualizado (DIC), portanto, a análise estatística foi realizada por meio de análise da variância (One-Way ANOVA) seguida do teste de comparação das médias de Tukey. Utilizou-se o software GraphPad Prism 6. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

6 RESULTADOS

Os resultados obtidos referem-se à quantificação de corpos celulares de neurônios na amígdala basolateral e na amígdala central nos quatro grupos estudados, além da análise da ansiedade através do teste do labirinto em cruz elevado.

6.1 ESTIMATIVA DA DENSIDADE DE CORPOS CELULARES DE NEURÔNIOS

De acordo com a quantificação de corpos celulares de neurônios realizadas nas amígdalas basolateral e central, podemos observar nos gráficos a seguir os resultados obtidos após administração dos esteroides anabolizantes Deca Durabolin® e Durateston® e o ciclo destes, em camundongos machos submetidos a treinamento físico através da natação.

6.1.1 Amígdala Basolateral

A tabela 2 e a figuras 8, 9 e 10 representam o resultado global (média da amígdala direita e esquerda) e dos antímeros cerebrais obtido da quantificação de corpos celulares de neurônios na amígdala basolateral, amígdala basolateral direita e esquerda, de camundongos machos. Na análise global, houve uma redução significativa de corpos de neurônios em todos os grupos tratados em relação ao controle. Assim como na análise do antímero direito da amígdala basolateral que também houve redução significativa de todos os grupos tratados em relação ao controle. Já na análise do antímero esquerdo da amígdala basolateral houve redução significativa somente do grupo tratado com a associação dos dois esteroides anabolizantes

Tabela 2 – Médias e desvio padrão de corpos celulares de neurônios da amígdala basolateral (ABL) e de cada um dos antímeros cerebrais de camundongos machos.

Grupo	ABL	%	ABLd	%	ABLe	%
Controle	10,95±2,62 ^a		11,79±2,43 ^a		10,11±2,72 ^a	
Durateston®	8,38±1,88 ^b	23%	8,38±2,42 ^b	29%	8,36±1,35 ^a	17%
Deca	8,20±1,91 ^b	25%	7,58±1,41 ^b	35%	8,82±2,24 ^a	12%
Durabolin®						
Dura-Deca	6,97±1,85 ^b	36%	7,15±1,74 ^b	39%	6,75±2,08 ^b	33%

Legenda: Amígdala Basolateral Direita (ABLd); Amígdala Basolateral Esquerda (ABLe) e % redução em porcentagem da densidade de corpos celulares de neurônios.

Nota: Letras iguais referem-se a dados sem diferença significativa, enquanto que letras diferentes se referem a dados com diferença significativa.

Fonte: Do Autor

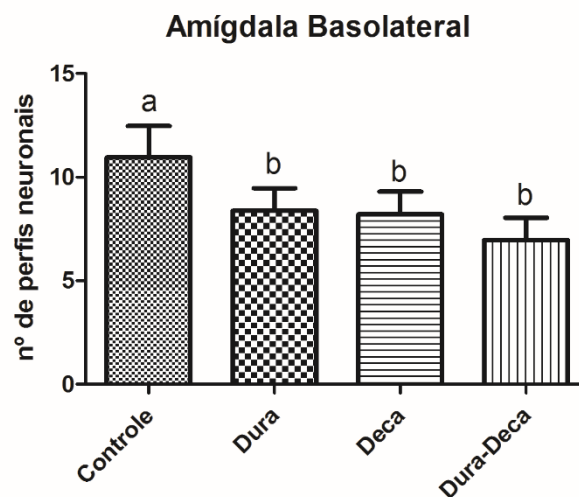


Figura 8 - Gráfico que representa a quantificação global de corpos celulares de neurônios da amígdala basolateral de camundongos machos após tratamento com Durateston® ($p < 0,05$), Deca-durabolin® ($p < 0,01$) e Durateston® com Deca Durabolin® ($p < 0,001$). Letras iguais referem-se a dados sem diferença significativa, enquanto que letras diferentes se referem a dados com diferença significativa.

Fonte: Do autor.

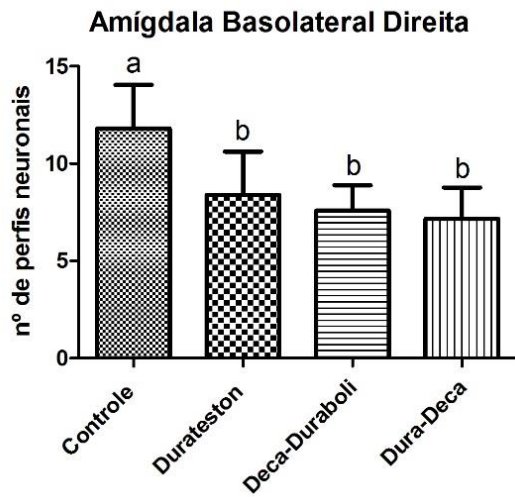


Figura 9 – Gráfico representando a quantificação de corpos celulares de neurônios da amígdala basolateral direita de camundongos machos submetidos ao tratamento de Durateston® ($p < 0,05$), Deca durabolin® ($p < 0,01$) e Dura-Deca ($p < 0,01$). Letras iguais referem-se a dados sem diferença significativa, enquanto que letras diferentes se referem a dados com diferença significativa.

Fonte: Do autor.

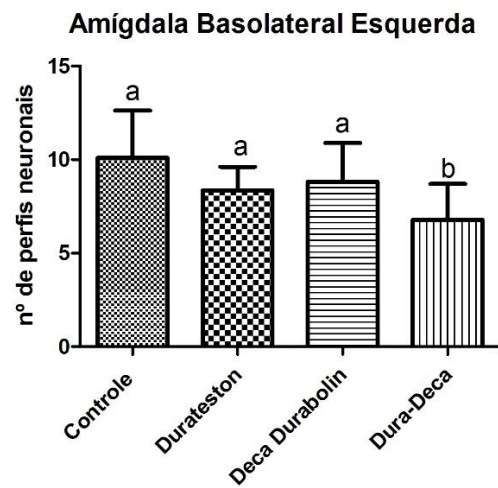


Figura 10 – Gráfico representando a quantificação de corpos celulares de neurônios da amígdala basolateral esquerda de camundongos machos ($p < 0,05$). Letras iguais referem-se a dados sem diferença significativa, enquanto que letras diferentes se referem a dados com diferença significativa.

Fonte: Do autor.

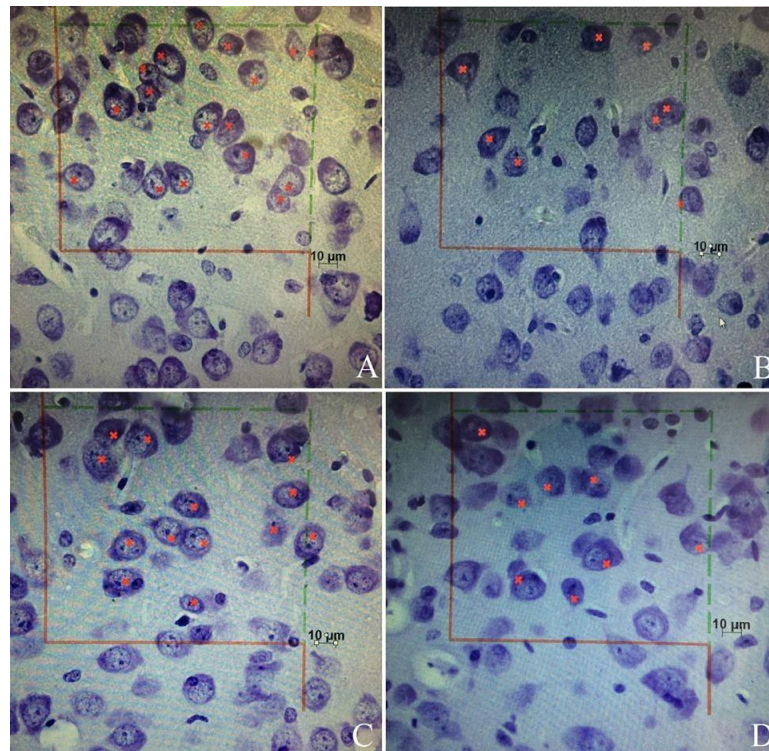


Figura 11 – Imagens que representam a quantificação de neurônios em Amígdala Basolateral. A: Grupo controle. B: Grupo Dura. C: Grupo Deca. D: Grupo Deca-Dura.

Fonte: Do autor.

6.1.2 Amígdala Central

A tabela 3 e a figuras 11, 12 e 13 representam o resultado global e dos antímeros cerebrais obtido da quantificação de corpos celulares de neurônios na amígdala central de camundongos machos. Indicando que houve uma redução significativa de corpos celulares de neurônios em todos os grupos tratados em relação ao grupo controle. Na análise global, houve uma redução significativa de corpos de neurônios em todos os grupos tratados em relação ao controle. Na análise do antímero direito da amígdala central houve redução significativa do grupo tratado Deca-durabolin® e com a associação dos dois esteroides anabolizantes. Na análise do antímero esquerdo da amígdala central houve redução significativa de todos os grupos tratados em relação ao grupo controle.

Tabela 3 – Médias e desvio padrão de corpos celulares de neurônios da amígdala central de camundongos machos.

Grupo	AC	%	ACd	%	Ace	%
Controle	24,78±2,36 ^a	100%	23,51±2,17 ^a	100%	26,04±1,92 ^a	100%
Durateston®	19,73±3,02 ^b	20%	21,00±3,23 ^a	10%	18,46±2,36 ^b	29%
Deca Durabolin®	18,92±1,77 ^b	23%	19,15±1,54 ^b	18%	18,68±2,07 ^b	28%
Dura-Deca	17,61±2,18 ^b	29%	18,02±2,13 ^b	23%	17,20±2,32 ^b	34%

Legenda: Amígdala Central Direita (ACd); Amígdala Central Esquerda (ACe) e % redução em porcentagem da densidade de corpos celulares de neurônios.

Nota: Letras iguais referem-se a dados sem diferença significativa, enquanto que letras diferentes se referem a dados com diferença significativa.

Fonte: Do autor.

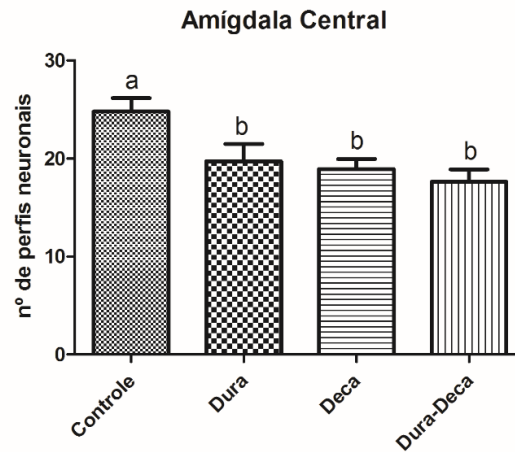


Figura 12 – Gráfico que representa a quantificação global de corpos celulares de neurônios da amígdala central de camundongos machos após tratamento com Durateston® ($p < 0,001$), Deca Durabolin® ($p < 0,001$) e Durateston® com Deca Durabolin® ($p < 0,001$). Letras iguais referem-se a dados sem diferença significativa, enquanto que letras diferentes se referem a dados com diferença significativa.

Fonte: Do autor.

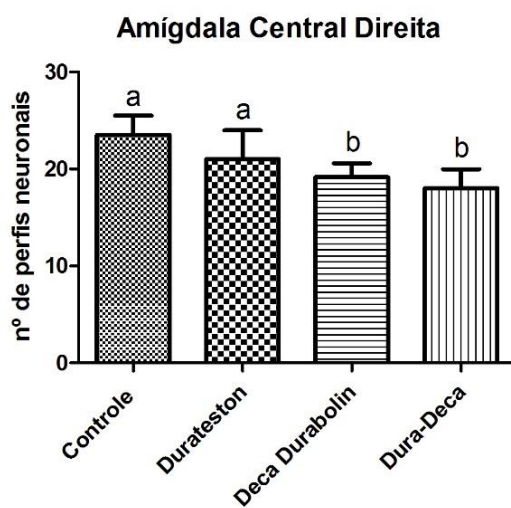


Figura 13 – Gráfico que representa a quantificação de corpos celulares de neurônios da amígdala central direita de camundongos machos, no qual houve diferença significativa no grupo Deca Durabolin® ($p < 0,05$) e no grupo Durateston® e Deca Durabolin® ($p < 0,01$)

Fonte: Do autor.

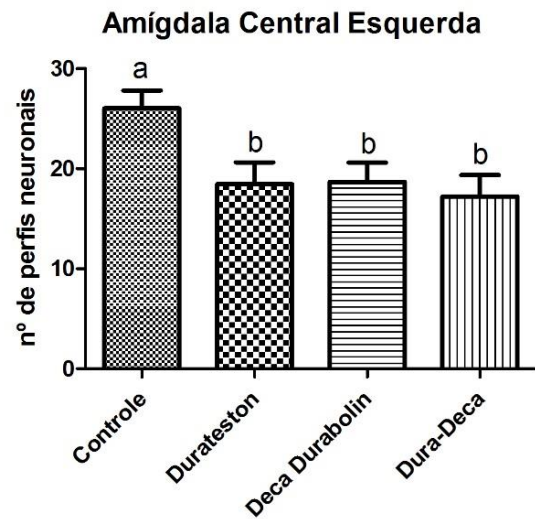


Figura 14 – Gráfico que representa a de corpos celulares de neurônios da amígdala central esquerda de camundongos machos. Todos os grupos tratados apresentaram diferença significativa em relação ao grupo controle ($p < 0,001$)

Fonte: Do autor.

6.2 Análise Comportamental

As taxas de entrada na área central, nos braços fechados e nos braços abertos e estão representadas nas figuras 14 e 15 respectivamente. Os dados mostram que não houve diferenças significativas na taxa de entrada nos braços fechados, abertos ou área central nos grupos tratados quando comparado o grupo controle.

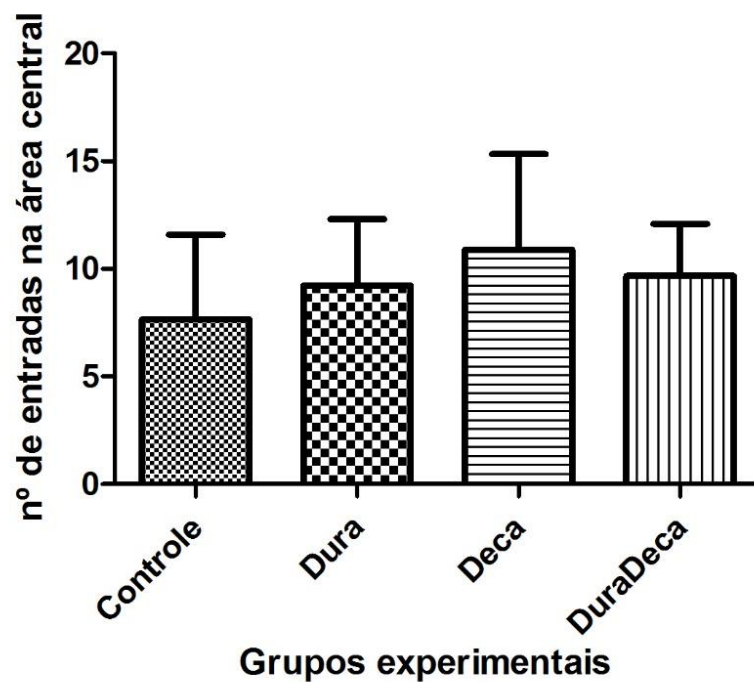


Figura 15 – Taxa de entrada na área central do aparato labirinto em cruz elevado.

Fonte: Do autor.

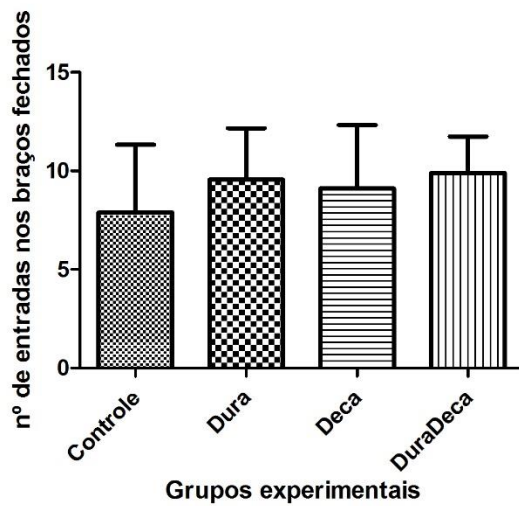


Figura 16 – Taxa de entrada nos braços fechados do aparato labirinto em cruz elevado.

Fonte: Do autor.

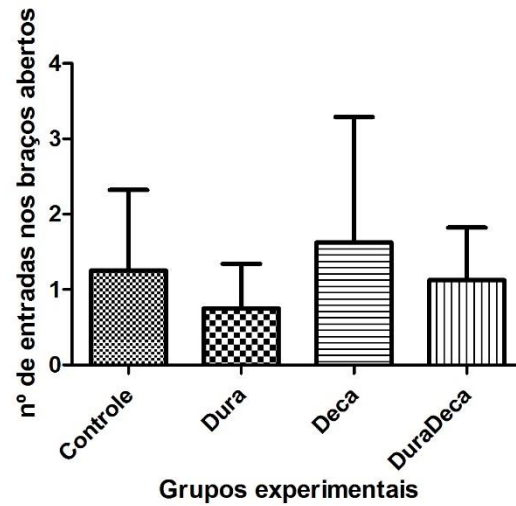


Figura 17 – Taxa de entrada nos braços abertos do aparato labirinto em cruz elevado.

Fonte: Do autor.

Os resultados referentes ao tempo de permanência nos braços fechados, braços abertos e área central estão representados nas figuras 17, 18 e 19 respectivamente. O tempo de permanência nos braços fechados foi menor para o grupo tratado com Deca Durabolin® que permaneceu por menos tempo nesse braço (figura 17). Não houve diferença significativa no tempo de permanência do braço aberto (figura 18) em relação ao grupo controle. Já na análise do tempo na área central houve um aumento da permanência dos grupos Deca Durabolin® e Deca-Dura (figura 19) em relação aos outros grupos. Estes resultados demonstram que os animais dos grupos Deca e do grupo Deca-Dura se mostraram menos ansiosos que os outros grupos tratados e o grupo controle por permanecerem mais tempo em uma área também considerada aversiva ao animal.

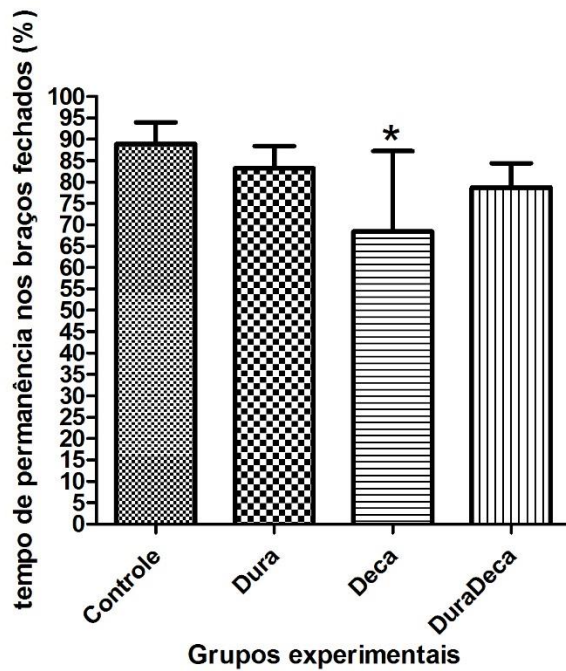


Figura 18 – Tempo de permanência, em porcentagem, nos braços fechados do aparato labirinto em cruz elevado. Sendo: * = Resultado significativo ($p < 0,05$).

Fonte: Do autor.

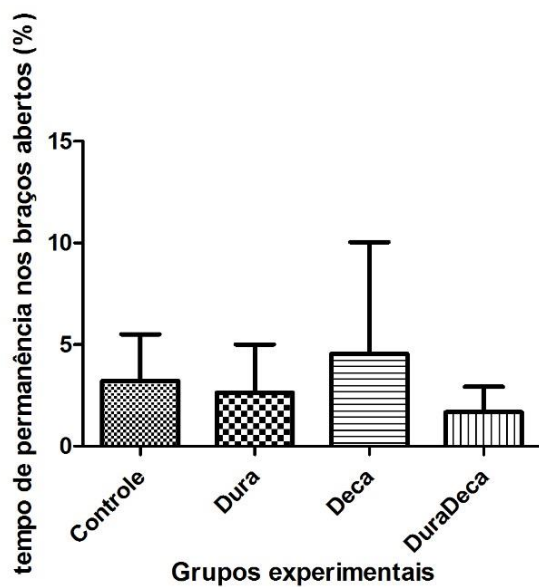


Figura 19 – Tempo de permanência, em porcentagem, nos braços abertos do aparato labirinto em cruz elevado.

Fonte: Do autor.

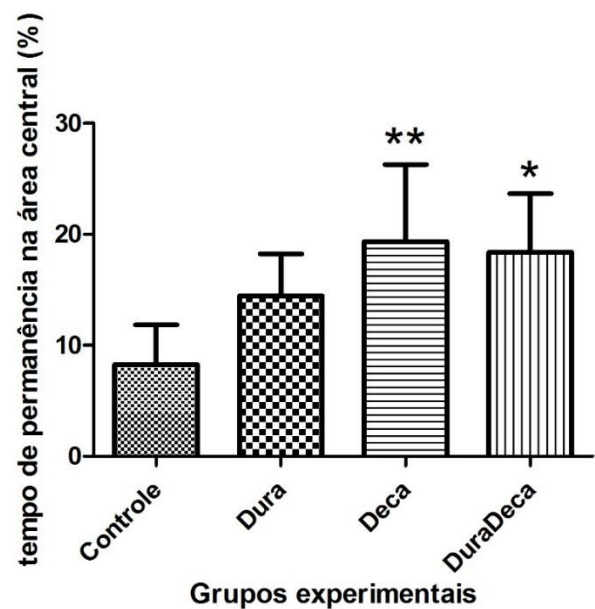


Figura 20 – Tempo de permanência, em porcentagem, na área central do aparato labirinto em cruz elevado. Sendo: * = Resultado significativo ($p < 0,05$) e **(<0,01).

Fonte: Do autor.

7 DISCUSSÃO

O capítulo referente a discussão foi dividido em estimativa da densidade de corpos celulares de neurônios e análise comportamental.

7.1 ESTIMATIVA DA DENSIDADE DE CORPOS CELULARES DE NEURÔNIOS

Ao comparar a redução de neurônios entre os antímeros cerebrais, pode-se observar que houve uma redução significativa do número de corpos celulares de neurônios da amígdala basolateral direita de camundongos machos tratados com Deca Durabolin® (35%) e Durateston® (29%) e a combinação destes dois anabolizantes (39%), conforme resultado mostrado na análise global de neurônios. Já, na amígdala basolateral esquerda houve redução significativa somente no grupo tratado com Deca Durabolin® e Durateston® associados (33%).

Isso se deve, provavelmente, a assimetria do cérebro. Embora os estudos em animais sejam escassos, a assimetria hemisférica também tem sido associada com as diferenças de sexo, stress, medo e padrões de comportamentos (SULLIVAN, 2004; ORMAN; STEWART, 2007) sendo que esses comportamentos citados estão em íntima relação com a amígdala.

Tem sido observado assimetria cerebral pré-frontal em mulheres com diagnóstico de transtorno disfórico pré-menstrual ou relacionados com as fases menstruais. (TRANDEL et al., 2005; HWANG et al., 2009; ACCORTT et al., 2011). Mesmo moléculas mediadoras/receptoras, tais como GABA e NMDA mostram distribuições assimétricas (GUARNERI et al., 1985; ITO et al., 2000; KAWAKAMI et al., 2003). Esta distribuição assimétrica de alguns receptores/mediadores poderia explicar essa redução significativa no hemisfério direito em relação ao hemisfério esquerdo também na amígdala central e basolateral por apresentarem moléculas como GABA e NMDA na sua estrutura.

De acordo com os dados encontrados na análise de corpos de neurônios nas amígdalas basolateral e central, pode-se dizer que a administração de esteroides anabolizantes Deca Durabolin® e Durateston®, em doses elevadas podem levar a uma redução drástica da densidade de corpos de neurônios, o que indica que o uso desses fármacos pode levar a degeneração neuronal e conseqüentemente, prejudicar funções a que essa área se destina. Esses resultados estão de acordo com os dados apresentados por Ribeiro (2014) na qual o uso de

cipionato de testosterona e estanozolol em dose supra fisiológica promoveu redução de corpos de neurônios na amígdala basolateral e núcleo pósterio ventral da amígdala medial em camundongos. E corroboram com Damião et al. (2012), onde o tratamento de camundongos esteroides anabolizantes levou a uma diminuição significativa na densidade de corpos celulares de neurônios no córtex cerebral destes animais, quando comparados aos animais do grupo controle. Além disso, Scaccianoce et al. (2013) cita o potencial neurodegenerativo dos EAAs que leva à susceptibilidade aumentada a estímulos apoptóticos neuronais. Ribeiro et al. (2014) relatou redução de células de Purkinje em camundongos machos tratados com Deposteron®; Silva et al. (2012) relaram não haver diminuição na densidade de corpos de neurônios no córtex cerebelar em camundongos submetidos a esteroides anabolizantes.

Altas concentrações de testosterona e metabólitos de EAAs podem levar a alterações funcionais, morfológicas e bioquímicas sobre os neurônios, culminando na morte celular (DO CARMO et al., 2012). Estes resultados suportam os resultados encontrados em nosso trabalho, pois sugere que a degeneração celular seja o provável motivo pelo qual houve redução de neurônios no tratamento de EAAs.

Orlando et al. (2007) descreveram o efeito da testosterona e de três de seus derivados: a nandrolona, o stanozolol, e a gestrinona, sobre a morte neuronal excitotóxica induzida por N-metil-D-aspartato (NMDA) em culturas primárias de células do córtex de ratos. Os dados encontrados sugerem que altas doses da testosterona aumentam a vulnerabilidade neuronal ocorrendo uma maior citotoxicidade que facilita a morte celular. Caraci et al. (2011) observaram resultados semelhantes de neurotoxicidade de EAAs em cultura de neurônios corticais. Dessa forma, este trabalho sugere que os EAAs contribuem para a morte neuronal exotóxica, mecanismo que ocorre através da ativação de receptores androgênicos e glutamatérgicos.

A redução dos níveis de serotonina na amígdala promove aumento de RNAm GluR1, aumentando a expressão da proteína, ou seja, aumenta a neurotransmissão glutamatérgica (TRAN et al., 2013). O uso abusivo de esteroides anabolizantes reduz os níveis de RNAm de receptores de serotonina em amígdala, córtex pré frontal, hipocampo e hipotálamo (AMBAR; CHIAVEGATTO, 2009). Os esteroides aumentam a taxa de liberação de glutamato e aspartato, aumentando a probabilidade de ligação de glutamato aos receptores NMDA ou AMPA (BRANN; MAHESH, 1995; VENTRIGLIA; DI MAIO, 2013). Dessa forma sugere-se que o uso de esteroides anabolizante leva a um aumento de transmissão glutamatérgicas, principalmente por receptores NMDA, além de reduzir a transmissão de serotonina.

Brann e Mahesh (1994) demonstraram haver interações sinérgicas entre o glutamato e os esteroides gonadais, interações estas que podem participar da coordenação de diversas funções hipotalâmicas e límbicas. Em hamster sírios tratados com EAAs houve aumento da expressão de glutamato, e também aumento de receptores GluR1 em áreas específicas da agressividade (FISHER; RICCI; MELLONI JUNIOR, 2007). A excitabilidade na amígdala é mediada por sinalização glutamatérgica que pode ser aumentada em variadas condições (MAREN, 1999; BENINI; AVOLI, 2006; ROSENKRANZ; VENHEIM; PADIVAL, 2010). Esses estudos também contribuem com o fato de que esteroides anabolizantes aumentam a transmissão glutamatérgica em amígdala.

Os estudos de Lucas e Newhouse (1957) mostraram que o L-Glu também funcionava como uma neurotoxina, destruindo a retina de camundongos. Descobriu-se mais tarde que uma alta concentração de L-Glu na fenda sináptica leva a uma super estimulação dos seus receptores, o que eleva a concentração de Ca^{2+} no terminal pós-sináptico acima do limiar necessário para ativar os mecanismos regulatórios, ativando os mecanismos intracelulares de excito toxicidade que podem resultar na morte neuronal (SATTLER; TYMIANSKI, 2000). Diano, Naftolin e Horvath (1997) contribui para esta teoria da interação glutamato/esteroides ao descobrir receptores glutaminérgicos (AMPAgluR) e receptores de esteroides em áreas límbicas e hipotalâmicas de ratos. O uso de decanoato de nandrolona a longo prazo está associado à diminuição da depuração glutamato extracelular, devido a menor captação astrocitária de glutamato causando hiperexcitabilidade de receptores NMDA, receptor relacionado com comportamentos agressivos (KALININE et al., 2014). A partir desses trabalhos, sugere-se que os esteroides anabolizantes estão relacionados com o aumento de interações glutamatérgica e que a alta concentração de glutamato está relacionada com neurotoxicidade.

A partir dos trabalhos citados que mostra a toxicidade neuronal por causa de uma liberação excessiva de L-Glu que atinge um potencial neurotóxico e levando à morte neuronal, sugere-se que essa diminuição na estimativa da densidade de corpos celulares de neurônios observadas no atual experimento pode ser resultado da administração crônica e supra fisiológica dos EAAs.

Esperava-se que no grupo tratado, os dois anabolizantes em ciclo, houvesse uma maior redução de neurônios em relação aos outros grupos, o que não foi observado a não ser na análise da amígdala basolateral esquerda. Isso pode ser explicado devido a uma possível saturação dos receptores, ou seja, quando a concentração do substrato aumenta, no caso a concentração de anabolizantes, a disponibilidade de sítios não se faz na mesma proporção (AIRES, 2013), podendo este ser um dos motivos dos resultados obtidos no presente estudo.

7.2 ANÁLISE COMPORTAMENTAL

A amígdala tem a função de processar estímulos emocionais devido a amplas conexões com áreas corticais, envolvidas com funções cognitivas de atenção, percepção e memória explícita (MCGAUGH, 2000; PHELPS; LEDOUX, 2005). Alteração destes circuitos podem levar a distúrbios de ansiedade que são comumente associados a amígdala, tais como: fobias sociais (BIRBAUMER et al., 1998), transtorno do pânico (COPLAN; LYDIARD, 1998; GORMAN et al., 2000), distúrbio obsessivo-compulsivo (PUJOL et al., 2004) e estresse pós-traumático (ACKERMAN et al., 1998; RAUCH, SHIN; PHELPS, 2006). Portanto, alterações na densidade de neurônios nesta região podem provocar tais transtornos comportamentais em usuários de tais fármacos, assim como observado neste experimento que demonstrou que doses supra fisiológicas de tais esteroides provocaram um efeito ansiolítico nos animais.

A taxa de entrada nos braços fechados que apresentou resultados estatisticamente igual entre os animais, é um parâmetro indicativo da atividade locomotora dos animais (BECERRA, 2004), mostrando que não houve alteração na mesma. Dados apoiado pelo experimento de Salvador, Moya-Albiol e Martinez-Sanchis (1999), que não observaram alterações na atividade locomotora de camundongos tratados com decanoato de nandrolona e propionato de testosterona e com uma mistura dos dois. Este estudo utilizou três metodologias diferentes para a análise da locomoção, onde alterações na capacidade locomotora dos animais não foram encontradas em nenhum dos experimentos.

Já os resultados referentes ao tempo de permanência nos braços fechados do aparato mostraram ser significativo para o grupo tratado com Deca Durabolin® que permaneceu por menos tempo nesse braço. Em relação ao tempo de permanência do braço aberto não houve diferença significativa entre os grupos tratados em relação ao grupo controle. Já na análise do tempo na área central houve um aumento da permanência dos grupos Deca Durabolin® e Deca-Dura. Esse aumento de tempo de permanência na área central do LCE para o grupo Deca e o grupo Deca-Dura sugere que o uso de tais fármacos em doses supra fisiológicas pode provocar um efeito ansiolítico pois essa é uma área considerada aversiva ao animal (AMBAR; CHIAVEGATTO, 2009). Estudos que apoiam esses resultados são o de Aikey et al. (2002) que observaram uma resposta ansiolítica em camundongos, representada pelo aumento do número

de exploração dos braços abertos, sem alteração da atividade locomotora, no teste do LCE, trinta minutos após aplicação de dose única de testosterona.

Bitran, Kellogg e Hilvers (1993) avaliaram os efeitos de uma dose elevada de propionato de testosterona (implantes) no desempenho de ratos no labirinto em cruz elevado com 6 ou 14 dias após o implante ser feito. Os níveis séricos de testosterona foram elevados de 7 a 10 vezes maior em ratos que receberam implantes em relação aos controles intactos. Os ratos com 6 dias de exposição a testosterona propionato apresentaram um aumento na exploração dos braços abertos do labirinto em cruz elevado em relação aos controles, um sinal de ansiedade reduzida. Dados que corroboram com nossos estudos pois os ratos sob o uso de EAAs permaneceram também em uma área aversiva ao animal, porém em nosso trabalho os animais não ficaram nos braços abertos e sim na área central da plataforma, esse fato pode ocorrer devido o tratamento ter sido em espécies, tempo e doses diferentes.

Bing et al. (1998) utilizaram de outra metodologia para verificar ansiedade, o teste de conflito de Vogel, na qual ratos Wistar receberam uma única injeção de testosterona 24 horas antes do teste. Neste teste, ratos privados de água foram treinados para lambem a partir de um bico em uma câmara operante. Após um período de privação de 24 horas, os ratos foram devolvidos para a câmara e permitido beber sem punição. Daí em diante cada lambida foi acompanhada por um choque elétrico e o número de choques recebidos foi gravado. Bing et al. (2008) observaram que os ratos tratados com testosterona aceitaram mais choques do que o grupo controle, em conformidade com uma ação ansiolítica da testosterona. Agren et al. (1999) e Aikey et al. (2002) também demonstram que a testosterona é responsável pela diminuição da ansiedade. A administração de andrógenos está relacionada com a diminuição da ansiedade e melhoria do desempenho cognitivo de camundongos machos (FRYE; EDINGER; SUMIDA, 2008). Administração repetida de altas doses de decanoato de nandrolona diminui a ansiedade (KOUVELAS et al., 2008). Esses relatos colaboram com nossos estudos pois os camundongos ficaram um maior tempo na área central, assim como os braços abertos é considerado um local aversivo ao animal.

Existem na literatura diferentes relatos em relação dos efeitos dos anabolizantes sobre a ansiedade em modelos animais. Os diferentes resultados podem estar relacionados com as diferentes espécies utilizadas nos experimentos, como camundongos ou ratos (ZULOAGA et al., 2008, 2011), é também plausível que os resultados inconsistentes podem ser explicados pela idade (MORRISON; RICCI; MELLONI Jr, 2015), além da concentração, da estrutura química e da via de administração do EAA utilizado e do período de tratamento.

Alguns trabalhos mostram que os EAAs não têm efeitos sobre a ansiedade dos animais experimentais, Zotti et al. (2014) mostraram que não houve alteração no tempo permanecido nos braços abertos, e que os EAAs possuem ação depressiva mas não ansiogênica. Rojas-Ortiz et al. (2006) demonstrou que a administração crônica de 17α -metiltestosterona não alterou comportamentos relacionados à ansiedade, já que não houve alteração em relação aos parâmetros dos braços abertos. Ramos-Pratts et al. (2013) afirmam que a ação aguda de EAA não teve ação sobre a ansiedade. Morrison, Ricci e Melloni Jr (2015) mostram que os grupos de animais jovens e adultos foram tratados com um coquetel de EAA, nesse experimento somente houve alteração de ansiedade após 3 semanas da retirada de EAA dos grupos, sendo que os adolescentes se mostraram mais ansiosos e os adultos menos ansiosos. Esses trabalhos mostram a relação entre braços abertos com os fechados, na qual não foram analisadas taxas de entrada e tempo de permanência na plataforma central do LCE. Esse pode ser um dos motivos na qual eles comprovaram que os EAAs não têm ação sobre a ansiedade por esse teste.

Como resultados diferentes de nosso experimento mostra-se que os EAA estão relacionados em aumentar o nível de ansiedade, como: Costine et al. (2010), na qual encontraram o efeito ansiogênico de três tipos de anabolizantes. Barreto-Estrada et al. (2004) que obtiveram como resultado do tratamento com anabolizantes um nível aumentado ansiedade nos ratos machos tratados, enquanto as fêmeas tratadas não apresentaram diferença no nível de ansiedade no LCE. Ambar e Chiavegatto (2009), cujos animais machos tratados com decanoato de nandrolona diariamente, durante 28 dias também apresentaram um aumento nos níveis de ansiedade, observado na diminuição da permanência desses animais nos braços abertos do aparato e na área central do mesmo, sendo ambas consideradas como áreas aversivas ao animal. Rocha et al. (2007), onde foi constatado que o decanoato de nandrolona, aplicado duas vezes na semana (segunda e quinta-feira) em ratos machos, induziu aumento no nível de ansiedade. Tais resultados obtidos por Rocha et al. (2007) derivam da diminuição do tempo de permanência e da taxa de entrada dos animais machos tratados com decanoato de nandrolona nos braços abertos do aparato (LCE). Isso pode ter ocorrido por vários fatores: espécie animal em questão, dose e tempo de tratamento.

8 CONCLUSÃO

De acordo com os experimentos realizados neste estudo e com a metodologia utilizada referentes ao estudo comportamental e ao estudo quantitativo de corpos de neurônios, nos

permite concluir que houve uma diminuição de corpos celulares de neurônios na Amígdala Central e Basolateral de camundongos tratados com doses supra fisiológicas dos esteroides anabolizantes Durateston®, Deca Durabolin® e a associação dos dois fármacos e que estes EAAs causaram um efeito ansiolítico nos animais tratados.

Isso nos permite sugerir que o uso de doses supra fisiológicas de EAAs pode levar a toxicidade e consequentemente degenerações celulares e alterações comportamentais.

REFERÊNCIAS

ACCORTT, E. E. et al. Prefrontal brain asymmetry and pre-menstrual dysphoric disorder symptomatology. **J Affect Disord**, v. 128, n. 1-2, p. 178-183, Jan. 2011.

ACKERMAN, M. J. et al. A novel mutation in KVLQT1 is the molecular basis of inherited long QT syndrome in a near-drowning patient's family. **Pediatr Res**, v. 44, n. 2, p. 148-153, Aug. 1998.

ADAMS, B. W.; MOGHADDAM, B. Tactile stimulation activates dopamine release in the lateral septum. **Brain Res**, v. 858, n. 1, p. 177-180, Mar. 2000.

AIKEY, J. L. et al. Testosterone rapidly reduces anxiety in male house mice (*Mus musculus*). **Horm Behav**, v. 42, n. 4, p. 448-460, Dec. 2002.

AIRES, M. M. **Fisiologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

AGREN, G. et al. Behavioural anxiolytic effects of low-dose anabolic androgenic steroid treatment in rats. **Physiol Behav**, v. 66, n. 3, p. 503-509, May 1999.

ALHEID, G. F. Extended amygdala and basal forebrain. **Ann N Y Acad Sci**, v. 985, p. 185-205, Apr. 2003.

AMBAR, G.; CHIAVEGATTO, S. Anabolic-androgenic steroid treatment induces behavioral disinhibition and downregulation of serotonin receptor messenger RNA in the prefrontal cortex and amygdala of male mice. **Genes Brain Behav**, v. 8, n. 2, p. 161-173, Mar. 2009.

ANDERSEN, R. E. et al. Weight loss, psychological, and nutritional patterns in competitive male body builders. **Int J Eat Disord**, v. 18, n. 1, p. 49-57, Jul 1995.

ANNITTO, W. J.; LAYMAN, W. A. Anabolic steroids and acute schizophrenic episode. **J Clin Psychiatry**, v. 41, n. 4, p. 143-144, Apr. 1980.

ARAÚJO, J. P. **O uso de esteróides androgênicos anabolizantes entre estudantes do Ensino Médio no Distrito Federal**. 2003. 83f. Dissertação (Mestrado em Educação Física)-Universidade Católica de Brasília, Distrito Federal, 2003.

ARAÚJO, L. R.; ANDREOLO, J.; SILVA, M. S. Utilização de suplemento alimentar e anabolizante por praticantes de musculação nas academias de Goiânia-GO. **Rev Bras Ciên e Mov**, v. 10, n. 3, p. 13-18, Jul 2002.

ASSIS, W. S. **Efeitos da natação associada ao uso de dois esteróides anabolizantes (estanozolol e decanoato de nandrolona) sobre as fibras musculares oxidativas e glicolíticas do músculo gastrocnêmio de ratos.** 2002. 181p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro, 2002.

ASSUNÇÃO, S. S. M. Muscle dysmorphia. **Rev Bras Psiquiatr**, v. 41, p. 143-144, Dec. 2002.

BADILLO, J. J. G.; AYESTARÁN, E. G. **Fundamentos do treinamento de força: aplicação ao alto rendimento desportivo.** 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2001.

BAHRKE, M. S. et al. Selected psychological characteristics of anabolic-androgenic steroid users. **N Engl J Med**, v. 323, n. 12, p.834-835, Sept. 1990.

BAHRKE, M. S. et al. Risk factors associated with anabolic-androgenic steroid use among adolescents. **Sports Med**, v. 29, n. 6, p. 397-405, June 2000.

BASARIA, S.; DOBS, A. S. Risks versus benefits of testosterone therapy in elderly men. **Drugs Aging**, v. 15, n. 2, p. 131-142, Aug. 1999.

BASARIA, S.; WAHLSTROM, J. T.; DOBS, A. S. Clinical review: Anabolic-androgenic steroid therapy in the treatment of chronic diseases. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 86, n. 11, p. 5108-5117, Nov. 2001.

BEAR, M. F.; CONNORS, B. W.; PARADISO, M. A. **Neurociências: desvendando o sistema nervoso.** 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2002.

BECERRA, A. M. G. **Efeitos farmacológicos de drogas ditas ansiolíticas e ansiogênicas administrados em ratos testados no labirinto em cruz elevado na presença e na ausência de luminosidade.** 2004. 23p. Dissertação (Mestrado em ciências, área de psicologia) – Faculdade de Filosofia, Ciência e Letras de Ribeirão Preto, USP, Ribeirão Preto, 2004.

BENINI, R.; AVOLI, M. Altered inhibition in lateral amygdala networks in a rat model of temporal lobe epilepsy. **J Neurophysiol**, v. 95, n. 4, p. 2143-2154, Apr. 2006.

BING, O. et al. High doses of testosterone increase anticonflict behaviour in rat. **Eur Neuropsychopharmacol**, v. 8, n. 4, p. 321-323, Dec. 1998.

BIRBAUMER, et al. fMRI reveals amygdala activation to human faces in social phobics. **Neuroreport**, v. 9, n. 6, p. 1223-1226, Apr. 1998.

BITRAN, D.; KELLOGG, C. K.; HILVERS, R. J. Treatment with an anabolic-androgenic steroid affects anxiety-related behavior and alters the sensitivity of cortical GABAA receptors in the rat. **Horm Behav**, v. 27, n. 4, p. 568-583, Dec. 1993.

BRANN, D. W.; MAHESH, V. B. Excitatory amino acids: function and significance in reproduction and neuroendocrine regulation. **Front Neuroendocrinol**, v. 15, n. 1, p. 3-49, Mar. 1994.

BRANN, D. W.; MAHESH, V. B. Glutamate: a major neuroendocrine excitatory signal mediating steroid effects on gonadotropin secretion. **J Steroid Biochem Mol Biol**, v. 53, n. 1-6, p. 325-329, June 1995.

BROWN, M. W.; AGGLETON, J. P. Recognition memory: what are the roles of perirhinal cortex and hippocampus. **Nat Rev Neurosci**, v. 2, n. 1, p. 51-61, Jan. 2001.

BROWER, K. J. Anabolic steroids. **Psychiatr Clin North Am**, v. 16, n. 1, p. 97-103, Mar. 1993.

CARACI, F. et al. Neurotoxic properties of the anabolic androgenic steroids nandrolone and methandrostenolone in primary neuronal cultures. **J Neurosci Res**, v. 89, n. 4, p. 592-600, Apr. 2011.

CAROBREZ, A. P., BERTOGLIO, L. J. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: the elevated plus-maze model 20 years on. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 29, n. 8, p. 1193-1205, Aug. 2005.

CATLIN, D. H.; MURRAY, T. H. Performance-enhancing drugs, fair competition, and Olympic sport. **JAMA**, v. 276, n. 3, p. 231-237, July 1996.

CERRO, C. L.; FERNANDEZ, P. L. Doping. In: LORENZO, P. et al. **Drogodependencias**. Madrid: Panamericana, 1998, p.385-395.

CHOI, P. Y. L.; PARROTT, A. C.; COWAN, D. High-dose anabolic steroids in strength athletes: effects upon hostility and aggression. **Hum Psychopharmacol**, v. 5, p. 349-356, 1990.

CLARK, A. S.; HARROLD, E. V.; FAST, A. S. Anabolic-androgenic steroid effects on the sexual behavior of intact male rats. **Horm Behav**, v. 31, n. 1, p. 35-46, Feb. 1997.

CLARK, A. S.; HENDERSON, L. P. Behavioral and physiological responses to anabolic-androgenic steroids. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 27, n. 5, p. 413-436, Aug. 2003.

COCCARO, E. F.; KAVOUSSI, R. J.; HAUGER, R. L. Serotonin function and antiaggressive response to fluoxetine: a pilot study. **Biol Psychiatry**, v. 42, n. 7, p. 546-552, Oct. 1997.

CONACHER, G. N.; WORKMAN, D. G. Violent crime possibly associated with anabolic steroid use. **Am J Psychiatry**, v. 146, n. 5, p. 679, May 1989.

CONWAY, A. J. et al. Use, misuse and abuse of androgens. The Endocrine Society of Australia consensus guidelines for androgen prescribing. **Med J Aust**, v. 172, n. 5, p. 220-224, Mar. 2000.

COSTINE, B. A. et al. Chronic anabolic androgenic steroid exposure alters corticotropin releasing factor expression and anxiety-like behaviors in the female mouse. **Psychoneuroendocrinology**, v. 35, n. 10, p. 1473-1485, Nov. 2010.

COPLAN, J. D.; LYDIARD, R. B. The neurobiology of anxiety disorders. Brain circuits in panic disorder. **Biol Psychiatry**, v. 44, p. 1264-1276, 1998.

CORRIGAN, B. Anabolic steroids and the mind. **Med J Aust**, v. 165, n. 4, p. 222-226, Aug. 1996.

CREUTZBERG, E. C.; SCHOLS, A. M. W. J. Anabolic steroids. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, v. 2, n. 3, p. 243-253, May 1999.

CRUZ, A. P. M.; GRAEFF, F. G. Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 49, n. 1, p. 171-176, Sept. 1994.

CUNHA, T. S. et al. Esteroides anabólicos androgênicos e sua relação com a prática desportiva. **Rev Bras Cienc Farmac**, v. 40, n. 2, p. 165-179, abr./june 2004.

DALBY, J. T. Brief anabolic steroid use and sustained behavioral reaction. **Am J Psychiatry**, v. 149, n. 2, p. 71-72, Feb. 1992.

DAMIÃO, B. et al. Quantificação de corpos de neurônios em camundongos submetidos ao uso de esteróides anabolizantes. **Rev Neurocienc.** v. 20, n. 1, p. 68-72, 2012.

DAVIS, M. et al. Phasic vs sustained fear in rats and humans: role of the extended amygdala in fear vs anxiety. **Neuropsychopharmacology**, v. 35, n. 1, p. 105-135, Jan. 2010.

DAWSON, R. T. Drugs in sport - the role of the physician. **J Endocrinol**, Bristol, v. 170, n. 1, p. 55-61, July 2001.

DEAKIN, J. F. W.; GRAEFF, F. G. 5-HT and mechanisms of defense. **J Psychopharmacol**, v. 5, n. 4, p. 305-315, Jan. 1991.

DE GELDER, B. et al. Fear fosters fight: a mechanism for fear contagion when perceiving emotion expressed by a whole body. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 101, n. 47, p. 16701-16706, Nov. 2004.

DE ROSE, E. H.; NÓBREGA, A. C. L. Drogas lícitas e ilícitas. In: GHORAYEB, N.; BARROS NETO, T. L. **O exercício**. São Paulo: Atheneu, p. 395-405, 1999.

DELVILLE, Y.; DE VRIES, G. J.; FERRIS, C. F. Neural connections of the anterior hypothalamus and agonistic behavior in golden hamsters. **Brain Behav Evol.** v. 55, n. 2, p. 53-76, Feb. 2000.

DIANO, S.; NAFTOLIN, F.; HORVATH, T. L. Gonadal steroids target AMPA glutamate receptor-containing neurons in the rat hypothalamus, septum, and amygdala: a morphological and biochemical study. **Endocrinology**, v. 138, n. 2, p. 778-789, Feb. 1997.

DO CARMO, C. A. et al. Nandrolone androgenic hormone presents genotoxic effects in different cells of mice. **J Appl Toxicol**, v. 32, n. 10, p. 810-814, Oct. 2012.

DO CARMO, E. C. et al. A associação de esteroide anabolizante ao treinamento físico aeróbico leva a alterações morfológicas cardíacas e perda de função ventricular em ratos. **Rev Bras Med Esporte**, v. 17, n. 2, p. 137-141, 2011.

DRIESSEN, M. et al. Child sexual abuse associated with anabolic androgenic steroid use. **Am J Psychiatry**, v. 153, n. 10, p. 1369, Oct. 1996.

EBELING, P.; KOIVISTO, V. A. Physiological importance of dehydroepiandrosterone. **Lancet**, v. 343, n. 8911, p.1479-1481, June 1994.

ENGLISH, K. M. et al. Low-dose transdermal testosterone therapy improves angina threshold in men with chronic stable angina: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. **Circulation**, v. 102, n. 16, p. 1906-1911, Oct. 2000.

EVANS, N. A. Current Concepts in Anabolic-Androgenic Steroids. **Am J Sports Med**, v. 32, n. 2, p. 534-542, 2004.

FENG, Y. et al. Spatiotemporal expression of androgen receptors in the female rat brain during the oestrous cycle and the impact of exogenous androgen administration: a comparison with gonadally intact males. **Mol Cell Endocrinol**, v. 321, n. 2, p. 161-174, June 2010.

FENICHEL, G. M. et al. A randomized efficacy and safety trial of oxandrolone in the treatment of Duchenne dystrophy. **Neurology**, v. 56, n. 8, p. 1075-1079, Apr. 2001.

FERRER, M. et al. Chronic treatment with the anabolic steroid, nandrolone, inhibits vasodilator responses in rabbit aorta. **Eur J Pharmacol**, v. 252, n. 2, p. 233-241, Feb. 1994a.

FERRER, M. et al. Treatment with the anabolic steroid, nandrolone, reduces vasoconstrictor responses in rabbit arteries. **Eur J Pharmacol**, v. 258, n. 1-2, p. 103-110, June 1994b.

FILE, P. S.; MABBUTT, P. S.; HITCHCOTT, P. K. Characterization of phenomenon of "one-trial tolerance" to the anxiolytic effect of chlordiazepoxide in the elevated plus-maze. **Psychopharmacology (Berl)**, v. 102, n. 1, p. 98-101, 1990.

FISHER, S. G.; RICCI, L. A.; MELLONI-JUNIOR, R. H. Repeated anabolic/androgenic steroid exposure during adolescence alters phosphate-activated glutaminase and glutamate receptor 1 (GLUR1) subunit immunoreactivity in Hamster brain: correlation with offensive aggression. **Behav Brain Res**, v. 180, n. 1, p. 77-85, June 2007.

FRAZER, A.; HENSLER, J. Serotonin. In: SIEGEL, G. J. et al. **Basic neurochemistry: molecular and medical**. 5. ed. Eds Aspects, Raven Press, New York, p. 283-308, 1994.

FREINHAR, J. P.; ALVAREZ, W. Androgen-induced hypomania. **J Clin Psychiatry**, v. 46, n. 8, p. 354-355, Aug. 1985.

FRIEDL, K. E. Reappraisal of the health risks associated with the use of high doses of oral and injectable androgenic steroids. **NIDA Res Monogr**, v. 102, p. 142-177, 1990.

FRIZON, F.; MACEDO, S. M. D.; YONAMINE, M. Uso de esteroides andrógenos anabólicos por praticantes de atividade física das principais academias de Erechim e Passo Fundo / RS. **Rev Ciênc Farm Básica Apl**, vol. 26, n. 3, p. 227-232, 2005.

FRYE, C. A.; EDINGER, K.; SUMIDA, K. Androgen administration to aged male mice increases anti-anxiety behavior and enhances cognitive performance. **Neuropsychopharmacology**, v. 33, n. 5, p. 1049-1061, Apr. 2008.

FULLER, M. G. Anabolic-androgenic steroids: use and abuse. **Compr Ther**, v. 19, n. 2, p. 69-72, 1993.

GIBSON, A. S. T. C. Anabolic steroids - a contemporary perspective. **S Afr Med J**, v. 84, n. 8 Pt 1, p. 468-469, Aug. 1994.

GHAPHERY, N. A. Performance-enhancing drugs. **Orthop Clin North Am**, v. 26, n. 3, p. 433-442, July 1995.

GOLDWIRE, M. A.; PRICE, K. O. Sports Pharmacy: Counseling Athletes About Banned Drugs. **Am Pharm**, v. 35, n. 5, p. 24-30, May 1995.

GORMAN, J. M. et al. Neuroanatomical Hypothesis of Panic Disorder, Revised. **Am J Psychiatry**, v. 157, n. 4, p. 493-505, Apr. 2000.

GRIMES, J. M.; MELLONI, J. R. R. H. Serotonin modulates offensive attack in adolescent anabolic steroid-treated hamsters. **Pharmacol Biochem and Behav**, v. 73, n. 3, p. 713-721, Oct. 2002.

GRINSPOON, S. et al. Effects of hypogonadism and testosterone administration on depression indices in HIV-affected men. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 85, n. 1, p. 60-65, Jan. 2000.

GRUBER, A. J.; POPE, J. R. H. G. Psychiatric and medical effects of anabolic-androgenic steroid use in women. **Psychother Psychosom**, v. 69, n. 1, p. 19-26, 2000.

GUARNERI, P. et al. Lateral differences in the GABAergic system of the rat striatum. **Ital J Neurol Sci**, v. 6, n. 2, p. 173-176, June 1985.

HANDA, J. R.; PRICE, R. H. Androgen Action. In: FINK, G., editor. **Encyclopedia of stress**. New York: Academic Press, v. 1, p. 183-188, 2000.

HANDELSMAN, D. J. Androgen action and pharmacologic uses. In: DE GROOT, L. J, JAMESON, J. L., editors. **Endocrinology**. Philadelphia: Saunders, p. 232-242, 2001.

HARRISON, R. J. et al. Chronic anabolic-androgenic steroid treatment during adolescence increases anterior hypothalamic vasopressin and aggression in intact hamsters. **Psychoneuroendocrinology**, v. 25, n. 4, p. 317-338, May 2000.

HARTGENS, F.; KUIPERS, H. Effects of androgenic-anabolic steroids in athletes. **Sports Med**, v. 34, n. 8, p. 513-554, 2004.

HAUPT, H. A.; ROVERE, G. D. Anabolic steroids: a review of the literature. **Am J Sports Med**, v. 12, n. 6, p. 469-484, Nov./dec.1984.

HENDERSON, L. P. et al. Anabolic androgenic steroids and forebrain GABAergic transmission. **Neuroscience**, v. 138, n. 3, p. 793-799, 2006.

HÖISTAD, M.; BARBAS, H. Sequence of information processing for emotions through pathways linking temporal and insular cortices with the amygdala. **Neuroimage**, v. 40, n. 3, p. 1016-1033, Apr. 2008.

HOLAHAN, M. R. Complementary roles for the amygdale and hippocampus during different phases of appetitive information processing. **Neurobiol Learn Mem**, v. 84, n. 2, p. 124-131, Sept. 2005.

HOUGH, D. O. Anabolic steroids and ergogenic aids. **Am Fam Physician**, v. 41, n. 4, p. 1157-1164, Apr. 1990.

HOYER, D.; MARTIN, G. 5-HT receptor classification and nomenclature towards a harmonization with the human genome. **Neuropharmacology**, v. 36, n. 4-5, p. 419-428, Apr./may 1997.

HWANG, R. J. et al. Female menstrual phases modulate human prefrontal asymmetry: a magnetoencephalographic study. **Horm Behav**, v. 55, n. 1, p. 203-209, Jan. 2009.

IRIART, J. A. B.; ANDRADE, T. M. Body-building, steroid use, and risk perception among young body-builders from a low-income neighborhood in the city of Salvador, Bahia State, Brazil. **Cad Saude Publica**, v. 18, n. 5, p. 1379-1387, Sept./oct. 2002.

ITO, I. et al. Input-specific targeting of NMDA receptor subtypes at mouse hippocampal CA3 pyramidal neuron synapses. **Neuropharmacology**, v. 39, n. 6, p. 943-951, Apr. 2000.

JARED, J. et al. Dopamine activity in the lateral anterior hypothalamus modulates AAS-induced aggression through D2 but not D5 receptors. **Behav Neurosci**, v. 124, n. 5, p. 645-655, Oct. 2010.

JOHANSEN, K. L.; MULLIGAN, K.; SCHAMBELAN, M. Anabolic effects of nandrolone decanoate in patients receiving dialysis: a randomized controlled trial. **JAMA**, v. 281, n. 14, p. 1275-1281, Apr. 1999.

JOHNSON, N. P. Was Superman a junky? The fallacy of anabolic steroids. **J S C Med Assoc**, v. 86, n. 1, p. 46-48, Jan. 1990.

JOHNSON, W. O. Steroids: a problem of huge dimensions. **Sports Illustrated**, New York, v. 5, n. 13, p. 38-54, May 1985.

KALININE, E. et al. Nandrolone-induced aggressive behavior is associated with alterations in extracellular glutamate homeostasis in mice. **Horm Behav**, v. 66, n. 2, p. 383-392, July 2014.

KANAYAMA, J.; HUDSON, J. I.; POPE, H. G. Jr. Long-term psychiatric and medical consequences of anabolic-androgenic steroid abuse: a looming public health concern. **Drug Alcohol Depend**, v. 98, n. 1-2, p. 1-12, Nov. 2008.

KARBALAY-DOUST, S. et al. The reversibility of sperm quality after discontinuing nandrolone decanoate in adult male rats. **Asian J Androl**, v. 9, n. 2, p. 235-239, Mar. 2007.

KAWAKAMI, R. et al. Asymmetrical allocation of NMDA receptor epsilon2 subunits in hippocampal circuitry. **Science**, v. 300, n. 5621, p. 990-994, May 2003.

KICMAN, A. T. Pharmacology of anabolic steroids. **Br J Pharmacol**, v. 154, n. 3, p. 502-521, June 2008.

KINDLUNDH, A. M. et al. The anabolic-androgenic steroid nandrolone induces alterations in the density of serotonergic 5HT1B and 5HT2 receptors in the male rat brain. **Neuroscience**, v. 119, n. 1, p. 113-120, 2003.

KNOBIL, E.; NEILL, J. **The physiology of reproduction**. New York: Raven Press, p. 975-998, 1988.

KOUVELAS, D. et al. Nandrolone abuse decreases anxiety and impairs memory in rats via central androgenic receptors. **Int J Neuropsychopharmacol**, v. 11, n. 7, p. 925-934, Nov. 2008.

KUIPERS, H. et al. Influence of anabolic steroids on body composition, blood pressure, lipid profile and liver functions in body builders. **Int J Sports Med**, v. 12, n. 4, p. 413- 418, Aug. 1991.

LEDOUX, J. The emotional brain, fear and the amygdala. **Cell Mol Neurobiol**, v. 23, n. 4-5, p. 727-738, Oct. 2003.

LEFAVI, R. G.; REEVE, T. G.; NEWLAND, M. C. Relationship between anabolic steroid use and selected psychological parameters in male bodybuilders. **J Sport Behav**, v. 13, n. 3, p. 157-166, Sept. 1990.

LE GREVÈS, P. et al. Effects of an anabolic-androgenic steroid on the regulation of the NMDA receptor NR1, NR2A and NR2B subunit mRNAs in brain regions of the male rat. **Neurosci Lett**, v. 226, n. 1, p. 61-64, Apr. 1997.

LEPHART, E. D. A review of brain aromatase cytochrome P450. **Brain Res Brain Res Rev**, v. 22, n. 1, p. 1-26, 1996.

LISE, M. L. Z.; GAMA E SILVA, T. S. D. A.; FERIGOLO, M. O abuso de esteróides anabólico-androgênicos em atletismo. **Rev Assoc Med Bras**, v. 45, n. 4, p. 364-370, Sept./dec. 1999.

LISTER, R. G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology (Berl)**, v. 92, n. 2, p. 180-185, 1987.

LUCAS, D. R; NEWHOUSE, J. P. The toxic effect of sodium L-glutamate on the inner layers of the retina. **AMA Arch Ophthalmol**, v. 58, n. 2, p. 193-201, Aug. 1957.

LUKAS, S. E. CNS effects and abuse liability of anabolic-androgenic steroids. **Annu Rev Pharmacol Toxicol**, v. 36, p. 333-357, 1996.

LUKAS, S. E. Current perspectives on anabolic-androgenic steroid abuse. **Trends Pharmacol Sci**, v. 14, n. 2, p. 61-68, Feb. 1993.

MANDARIN-DE-LACERDA, C. A. **Manual de quantificação morfológica**: morfometria, alometria e estereologia. 2. ed. Rio de Janeiro: CEBIO, 1994.

MANDARIN-DE-LACERDA, C. A. Stereological Tools in Biomedical Research. **An Acad Bras Cienc**, v. 75, n. 4, p. 469-486, Dec. 2003.

MANSOUR, A. et al. Localization of dopamine D2 receptor mRNA and D1 and D2 receptor binding in the rat brain and pituitary: an in situ hybridization-receptor autoradiographic analysis. **J Neurosci**, v. 10, p. 2587-2600, Aug. 1990.

MARAVELIAS, C. et al. Adverse effects of anabolic steroids in athletes. A constant threat. **Toxicol Lett**, v. 158, n. 3, p. 167-175, Sept. 2005.

MAREN, S. Long-term potentiation in the amygdala: a mechanism for emotional learning and memory. **Trends Neurosci**, v. 22, n. 12, p. 561-567, Dec. 1999.

MATSUMOTO, A. M. **Endocrinology diseases unique to men**. In: BENETT, J. C.; PLUM, F. eds. Cecil Textbook of Medicine, 20. ed. Philadelphia: WB. Saunders Co., p. 1325-1341, 1996.

MCDONALD, A. J. Cortical pathways to the mammalian amygdala. **Prog Neurobiol**, v. 55, n. 3, p. 257-332, June 1998.

MCINTYRE, K. L.; PORTER, D. M.; HENDERSON, L. P. Anabolic androgenic steroids induce age-, sex-, and dose-dependent changes in GABA(A) receptor subunit mRNAs in the mouse forebrain. **Neuropharmacology**, v. 43, n. 4, p. 634-645, Sept. 2002.

MCGAUGH, J. Memory – a century of consolidation. **Science**, v. 287, n. 5451, p. 248-251, Jan. 2000.

MELO, J. M. S. **Dicionário de Especialidades Farmacêuticas**. 25. ed. São Paulo – Rio de Janeiro, Editora de Publicações Científicas LTDA, 1996-1997.

MIDGLEY, S. J.; HEATHER, N.; DAVIES, J. B. Levels of aggression among a group of anabolic-androgenic steroid users. **Med Sci Law**, v. 41, n. 4, p. 309-314, Oct. 2001.

MORRISON, T. R.; RICCI, L. A.; MELLONI Jr, R. H. Anabolic/androgenic steroid administration during adolescence and adulthood differentially modulates aggression and anxiety. **Horm Behav**, v. 69, p. 132-138, 2015.

NORTON, K.; OLDS, T. Morphological evolution of athletes over the 20th century: causes and consequences. **Sports Med**, v. 31, n. 11, p. 763-783, 2001.

O'DOHERTY, J. P. et al. Neural responses during anticipation of a primary taste reward. **Neuron**, v. 33, n. 5, p. 815-826, Feb. 2002.

ORLANDO, R. et al. Nanomolar concentrations of anabolic-androgenic steroids amplify excitotoxic neuronal death in mixed mouse cortical cultures. **Brain Res**, v. 1165, p. 21-29, Aug. 2007.

ORMAN, R.; STEWART, M. Hemispheric differences in protein kinase C beta II levels in the rat amygdala: baseline asymmetry and lateralized changes associated with cue and context in a classical fear conditioning paradigm. **Neuroscience**, v. 144, n. 3, p. 797-807, Feb. 2007.

PAIS-COSTA, S. R.; LIMA, O. A. T.; SOARES, A. F. Adenoma hepático gigante associado com uso abusivo de esteroide androgênico anabolizante: relato de caso. **Arq Bras Cir Dig**, v. 25, n. 3, July/sept. 2012.

PAKKENBERG, B.; GUNDERSEN, H. J. G. Solutions to old problems in the quantitation of the central nervous system. **J Neurol Sci**, v. 129, p. 65-67, May 1995.

PAPEZ, J. W. A proposed mechanism of emotion. **Arch Neurol Psychiatry**, v. 38, n. 4, p. 725-743, 1937.

PARKINSON, J. A.; ROBBINS, T. W.; EVERITT, B. J. Dissociable roles of the central and basolateral amygdale in appetitive emotional learning. **Eur J Neurosci**, v. 12, n. 1, p. 405-413, Jan. 2000.

PATON, J. J. et al. The primate amygdale represents the positive and negative value of visual stimuli during learning. **Nature**, v. 439, n. 7078, p. 865-870, Feb. 2006.

PAXINOS, G.; FRANKLIN, K. B. J. **The mouse brain in stereotaxic coordinates**. 4. ed. Academic Press, Amsterdam, Elsevier, 2012.

PELLOW, S. et al. Validation of open: closed arm entries in a elevated plus-maze as a measure of anxiety in a rat. **J Neurosci Methods**, v. 14, n. 3, p. 149-167, Aug. 1985.

PERRY, P. J.; YATES, W. R.; ANDERSEN, K. H. Psychiatric symptoms associated with anabolic steroids: a controlled, retrospective study. **Ann Clin Psychiatry**, v. 2, n. 1, p. 11-17, Dec. 1990.

PHAN, K. L. et al. Functional neuroanatomy of emotion: a meta-analysis of emotion activation studies in PET and fMRI. **Neuroimage**, v. 16, n. 2, p. 331-348, June 2002.

PHELPS, E. A.; LEDOUX, J. E. Contributions of the amygdala to emotion processing: from animal models to human behavior. **Neuron**, v. 48, n. 2, p. 175-187, Oct. 2005.

PIRNIK, Z.; KISS, A. Fos expression variances in mouse hypothalamus upon physical and osmotic stimuli: co-staining with vasopressin, oxytocin, and tyrosine hydroxylase. **Brain Res Bull**, v. 65, n. 5, p. 423-431, May 2005.

POPE JR, H. G.; KATZ, D. L. Affective and psychotic symptoms associated with anabolic steroid use. **Am J Psychiatry**, v. 145, n. 4, p. 487-490, Apr. 1988.

POPE JR, H. G.; KATZ, D. L. Bodybuilders' psychosis. **Lancet**, v. 1, n. 8537, p. 863, Apr. 1987.

POPE JR, H. G.; KATZ, D. L. Homicide and near-homicide by anabolic steroid users. **J Clin Psychiatry**, v. 51, n. 1, p. 28-31, Jan. 1990.

POPE JR, H. G.; KOURI, E. M.; HUDSON, J. L. Effects of supraphysiologic doses of testosterone on mood and aggression in normal men: a randomized controlled trial. **Arch Gen Psychiatry**, v. 57, n. 2, p. 133-140, Feb. 2000.

PORGES, S. W. Social engagement and attachment: a phylogenetic perspective. **Ann N Y Acad Sci**, v. 1008, p. 31-47, dec. 2003.

PRICE, J. L.; RUSSCHEN, F. T.; AMARAL, D. G. **The limbic region. II: The amygdaloid complex**. New York: Elsevier Science, 1987.

- PUJOL, J. et al. Mapping structural brain alterations in obsessive-compulsive disorder. **Arch Gen Psychiatry**, v. 61, n. 7, p. 720-730, July 2004.
- RAMOS-PRATTS, K. et al. Sex-specific effect of the anabolic steroid, 17 α -methyltestosterone, on inhibitory avoidance learning in periadolescent rats. **Behav Processes**, v. 99, p. 73-80, Oct. 2013.
- RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. **Farmacologia**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.
- RAUCH, S. L.; SHIN, L. M.; PHELPS, E. A. Neurocircuitry models of post-traumatic stress disorder and extinction: Human neuroimaging research- past, present and future. **Biol Psychiatry**, v. 60, n. 4, p. 376-382, Aug. 2006.
- RIBEIRO, C. M. et al. Análise quantitativa de células de Purkinje em camundongos sob o uso dos esteroides anabolizantes. **Rev Neurocienc**, v. 22, n. 3, p. 432-437, 2014.
- RIBEIRO, M. S. **Análise estereológica de neurônios do corpo amigdalóide e avaliação comportamental de camundongos sob o uso de esteroides anabolizantes**. 2014. 77p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências, Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 2014.
- ROCHA, V. M. et al. Influence of anabolic steroid on anxiety levels in sedentary male rats. **Stress**, v. 10, n. 4, p. 326-331, Nov. 2007.
- ROJAS-ORTIZ, Y. A. et al. Modulation of elevated plus maze behavior after chronic exposure to the anabolic steroid 17 α -methyltestosterone in adult mice. **Horm Behav**, v. 49, n. 1, p. 123-128, Jan. 2006.
- ROSENKRANZ, J. A.; VENHEIM, E. R.; PADIVAL, M. Chronic stress causes amygdala hyperexcitability in rodents. **Biol Psychiatry**, v. 67, n. 12, p. 1128-1136, June 2010.
- ROSSBACH, U. L. et al. Nandrolone-induced hippocampal phosphorylation of NMDA receptor subunits and ERKs. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 357, n. 4, p. 1028-1033, June 2007.
- RUBINOW, D. R.; SCHMIDT, P. J. Androgens, brain, and behavior. **Am J Psychiatry**, v. 153, n. 8, p. 974-984, Aug. 1996.

SALVADOR, A.; MOYA-ALBIOL, L.; MARTINEZ-SANCHIS, S. Lack of effects of anabolic-androgenic steroids on locomotor activity in intact male mice. **Percept Mot Skills**, v. 88, n. 1, p. 319-328, Feb. 1999.

SAMAHA, A. A. et al. Multi-organ damage induced by anabolic steroid supplements: a case report and literature review. **J Med Case Rep**, v. 2, p. 340, Oct. 2008.

SATTLER, R.; TYMIANSKI, M. Molecular mechanisms of calcium-dependent excitotoxicity. **J Mol Med (Berl)**, v. 78, n. 1, p. 3-13, 2000.

SCACCIANOCE, S. et al. Potential neurodegenerative effect of anabolic androgenic steroid abuse. **J Biol Regul Homeost Agents**, v. 27, p. 107-114, Apr./june 2013.

SCHROEDER, E. T.; VALLEJO, A. F.; ZHENG, L. et al. Six-week improvements in muscle mass and strength during androgen therapy in older men. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**, v. 60, n. 12, p. 1586-1592, Dec. 2005.

SCHULTE, A. et al. Induction of squamous cell carcinomas in the mouse lung after long-term inhalation of polycyclic aromatic hydrocarbon-rich exhausts. **Exp Toxicol Pathol**, v. 45, n. 7, p. 415-421, Feb. 1993.

SCHWERIN, M. J. et al. Social physique anxiety, body esteem, and social anxiety in bodybuilders and self-reported anabolic steroid users. **Addict Behav**, v. 21, n. 1, p. 1-8, Jan./feb. 1996.

SCOTT, D. M.; WAGNER, C. J.; BARLOW, T. W. Anabolic steroid use among adolescents in Nebraska schools. **Am J Health Syst Pharm**, v. 53, n. 17, p. 2068-2072, Sept. 1996.

SHAHIDI, N. T. A Review of the Chemistry, Biological Action, and Clinical Applications of Anabolic-Androgenic Steroids. **Clin Ther**, v. 23, n. 9, p. 1355-1390, Sept. 2001.

SHENG, Z. et al. Expression of estrogen receptors (alpha, beta) and androgen receptor in serotonin neurons of the rat and mouse dorsal raphe nuclei; sex and species differences. **Neurosci Res**, v. 49, n. 2, p. 185-196, June 2004.

SILVA, D. K. et al. Quantidade de células de Purkinje no cerebelo de camundongos sob o uso de esteroides anabolizantes. **Rev Neurocienc**, v. 20, n. 2, p. 200-203, 2012.

SILVA, L. S. M. F.; MOREAU, R. L. M. Uso de esteróides anabólicos androgênicos por praticantes de musculação de grandes academias da cidade de São Paulo. **Rev Bras Ciênc Farm**, v. 39, n. 3, p. 327-32, Jul./set. 2003.

SILVA, P. R. P.; DANIELSKY, R.; CZEPIELWSKI, M. A. Anabolic steroids in sports. **Rev Bras Med Esporte**, v. 8, n. 6, p. 235-243, Nov./dec. 2002.

SMITH, E. L. et al. **Bioquímica: mamíferos**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1985.

SINHA-HIKIM, I. et al. Testosterone-induced increased in muscle size is associated with muscle fiber hypertrophy. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 283, n. 1, p. E154-E164, July 2002.

SNYDER, P. J. Clinical use of androgens. **Annu Rev Med**, v. 35, p. 207-217, 1984.

STOLT, A. et al. QT interval and QT dispersion in endurance athletes and in power athletes using large doses of anabolic steroids. **Am J Cardiol**, v. 84, n. 3, p. 364-366, Aug. 1999.

STRAUMAN, T. J. et al. Self-regulatory cognition and immune reactivity: idiographic success and failure feedback effects on the natural killer cell. **Brain Behav Immun**, v. 18, n. 6, p. 544-554, Nov. 2004.

SU, T. P. et al. Neuropsychiatric effects of anabolic steroids in male normal volunteers. **JAMA**, v. 269, n. 21, p. 2760-2764, June 1993.

SULLIVAN, R. M. Hemispheric asymmetry in stress processing in rat prefrontal cortex and the role of mesocortical dopamine. **Stress**, v. 7, n. 2, p. 131-143, June 2004.

TALIH, F.; FATTAL, O.; MALONE, D. JR. Anabolic steroid abuse: psychiatric and physical costs. **Cleve Clin J Med**, v. 74, n. 5, p. 341-344, May 2007.

THEIN, L. A.; THEIN, J. M.; LANDRY, G. L. Ergogenic aids. **Phys Ther**, v. 75, n. 5, p. 426-438, May 1995.

TORRES, A. R.; FERRÃO, Y. A.; MIGUEL, E. C. Body dysmorphic disorder: an alternative expression of obsessive-compulsive disorder. **Rev Bras Psiquiatr**, v. 27, n. 2, p. 95-96, June 2005.

- TRAN, L. et al. Depletion of serotonin in the basolateral amygdala elevates glutamate receptors and facilitates fear-potentiated startle. **Transl Psychiatry**, v. 3, p. e298, Sept. 2013.
- TRANEL, D. et al. Does gender play a role in functional asymmetry of ventromedial prefrontal cortex? **Brain**, v. 128, Pt. 12, p. 2872-2881, Dec. 2005.
- TUCCI, P. et al. Neurochemical consequence of steroid abuse: stanozolol-induced monoaminergic changes. **Steroids**, v. 77, n. 3, p. 269-275, Feb. 2012.
- VAN STRIEN, N. M.; CAPPAERT, N. L.; WITTER, M. P. The anatomy of memory: an interactive overview of the parahippocampal-hippocampal network. **Nat Rev Neurosci**, v. 10, n. 4, p. 272-282, Apr. 2009.
- VANN, S. D. Dismantling the Papez circuit for memory in rats. **Elife**, v. 2, p. e00736, June 2013.
- VENTRIGLIA, F.; DI MAIO, V. Effects of AMPARs trafficking and glutamate-receptors binding probability on stochastic variability of EPSC. **Biosystems**, v. 112, n. 3, p. 298-304, June 2013.
- VERMEULEN, A. Androgens and male senescence. In: NEISCHLAG, E.; BEHRE, H. M. editors. **Testosterone: action, deficiency, substitution**. Berlin: Springer-Verlag, p. 261-76, 1990.
- VON DER PAHLEN, B. The role of alcohol and steroid hormones in human aggression. **Vitam Horm**, v. 70, p. 415-437, 2005.
- WEINER, D. M. et al. D1 and D2 dopamine receptor mRNA in rat brain. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 88, n. 5, p. 1859-1863, Mar. 1991.
- WEST, M. J. New stereological method of counting neurons. **Neurobiol Aging**, v. 14, n. 4, p. 275-285, July/aug. 1993a.
- WEST, M. J. Regionally specific loss of neurons in the aging human hippocampus. **Neurobiol Aging**, v. 14, n. 4, p. 287-293, July/aug. 1993b.
- WHALEN, P. J. et al. Masked presentations of emotional facial expressions modulate amygdale activity without explicit knowledge. **J Neurosci**, v. 18, n. 1, p. 411-418, Jan. 1998.

WHITE, N. M.; MCDONALD, R. J. Multiple parallel memory systems in the brain of the rat. **Neurobiol Learn Mem**, v. 77, n. 2, p. 125-184, Mar. 2002.

WILSON, J. D. Androgen abuse by athletes. **Endocr Rev**, v. 9, n. 2, p. 181-199, May 1988.

WILSON, J. D. Androgens. In: GILMAN, A. G. et al. **Goodman & Gilman's The pharmacological basis of therapeutics**. 9. ed. Singapore: McGraw-Hill Book Co., p. 1441-1457, 1996.

WILSON, J. D.; FOSTER, D. W. Ação hormonal de esteróides. In: CLARK, J. H. et al. **Tratado de Endocrinologia**. 7. ed. São Paulo: Manole, v. 1, cap. 3, p. 42-95, 1988.

WILCZYNSKI, W.; YANG, E. J.; SIMMONS, D. Sex differences and hormone influences on tyrosine hydroxylase immunoreactive cells in the leopard frog. **J Neurobiol**, v. 56, n. 1, p. 54-65, July 2003.

WILLIAMS, L. M. et al. Mode of functional connectivity in amygdala pathways dissociates level of awareness for signals of fear. **J Neurosci**, v. 26, n. 36, p. 9264-9271, Sept. 2006.

WILLICK, M. L.; KOKKINIDES, L. Cocaine enhance the expression of fear potentiated startle: evaluation of state-dependent extinction and the shock-sensitization of acoustic startle. **Behav Neurosci**, v. 109, n. 5, p. 929-938, Oct. 1995.

WOMMACK, J. C.; DELVILLE, Y. Chronic social stress during puberty enhances tyrosine hydroxylase immunoreactivity within the limbic system in golden hamsters. **Brain Res**, v. 933, n. 2, p. 139-143, Apr. 2002.

WU, F. C. Endocrine aspects of anabolic steroids. **Clin Chem**, v. 43, n. 7, p. 1289-1292, July 1997.

YESALIS, C. E.; COURSON, S. P.; WRIGHT, J. E. History of anabolic steroid in sport and exercise. In: YESALIS, C. E. editor. **Anabolic steroids in sport and exercise**. Champaign: Human Kinetics, p. 51-71, 1993.

YONAMINE, M.; SILVA, O. A. Dopagem no esporte. In: TIRAPEGUI, J. **Nutrição, metabolismo e suplementação na atividade física**. São Paulo: Atheneu, p. 189-197, 2005.

YOSHIDA, E. M. et al. At what price, glory? Severe cholestasis and acute renal failure in an athlete abusing stanozolol. **CMAJ**, v. 151, n. 6, p. 791-793, Sept. 1994.

ZOTTI, M. et al. Chronic nandrolone administration induces dysfunction of the reward pathway in rats. **Steroids**, v. 79, p. 7-13, Jan. 2014.

ZHANG, J. Q. et al. Distribution and differences of estrogen receptor beta immunoreactivity in the brain of adult male and female rats. **Brain Res**, v. 935, n. 1-2, p. 73-80, May 2002.

ZULOAGA, D. G. et al. Mice with the testicular feminization mutation demonstrate a role for androgen receptors in the regulation of anxiety-related behaviors and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. **Horm Behav**, v. 54, n. 5, p. 758-766, Nov. 2008.

ZULOAGA, D. G. et al. Male rats with the testicular feminization mutation of the androgen receptor display elevated anxiety-related behavior and corticosterone response to mild stress. **Horm Behav**, v. 60, n. 4, p. 380-388, Sept. 2011.