

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

Efeitos do treinamento físico resistido e da utilização de decanoato de nandrolona sobre a morfofisiologia cardíaca, propriedades moleculares, mecânicas e balanço redox em cardiomiócitos isolados de ratos Wistar

Alexa Alves de Moraes
Doctor Scientiae

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

ALEXA ALVES DE MORAES

Efeitos do treinamento físico resistido e da utilização de decanoato de nandrolona sobre a morfofisiologia cardíaca, propriedades moleculares, mecânicas e balanço redox em cardiomiócitos isolados de ratos Wistar

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Educação Física, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientador: Miguel A. Carneiro Junior

Coorientador: Pedro Miguel Gomes Forte

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

M827e
2025
Moraes, Alexa Alves de, 1995-
Efeitos do treinamento físico resistido e da utilização de
decanoato de nandrolona sobre a morfofisiologia cardíaca,
propriedades moleculares, mecânicas e balanço redox em
cardiomiócitos isolados de ratos Wistar / Alexa Alves de
Moraes. – Viçosa, MG, 2025.

1 tese eletrônica (130 f.): il. (algumas color.).

Inclui anexo.

Orientador: Miguel Araújo Carneiro Júnior.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Educação Física, 2025.

Referências bibliográficas: f. 113-129.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2025.551>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Exercícios físicos - Aspectos fisiológicos. 2. Esteróides
anabólicos. 3. Batimento cardíaco - Efeito dos esteróides.
4. Estresse oxidativo. 5. Ratos como animais de laboratório.
I. Carneiro Júnior, Miguel Araújo, 1983-. II. Universidade
Federal de Viçosa. Departamento de Educação Física. Programa
de Pós-Graduação em Educação Física. III. Título.

CDD 22. ed. 613.71

ALEXA ALVES DE MORAES

Efeitos do treinamento físico resistido e da utilização de decanoato de nandrolona sobre a morfofisiologia cardíaca, propriedades moleculares, mecânicas e balanço redox em cardiomiócitos isolados de ratos Wistar

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Educação Física, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 15 de agosto de 2025.

Assentimento:

Alexa Alves de Moraes
Autora

Miguel Araujo Carneiro Junior
Orientador

Essa tese foi assinada digitalmente pela autora em 26/08/2025 às 13:26:01 e pelo orientador em 26/08/2025 às 15:12:44. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **516F.3A9B.MKKB** e clique no botão 'Validar documento'.

Ao meu pai e à minha mãe.
Não sei quantas noites de sono foram amorosamente dispendidas por eles, para que
meus sonhos fossem alicerçados. Hoje, meu sonho é poder honrá-los em cada
minuto de minha vida.

Aos meus irmãos,
Pelo privilégio de jamais andar sozinha.

AGRADECIMENTOS

Esta tese é resultado de um itinerário pessoal. Trata-se, portanto, da confluência de jornadas plurais, que jamais poderão ser restritas à dimensão intelectual pura e simplesmente. Ao longo dos últimos treze anos, a Ciência ganhou uma proporção de missão ética em minha vida. Esta missão, todavia, nunca foi solitária, tampouco esteve despida do sentido de compromisso societal que lhe é tão próprio. Consciente das muitas mãos – e corações - que pavimentaram este itinerário, redijo este manifesto genuíno de gratidão.

Agradeço à suprema bondade divina que, cuidadosamente, orquestrou todos os passos, pessoas e compassos, culminando neste sonho realizado. Aos meus antepassados e guias espirituais, pela concessão de serenidade, proteção e resiliência em meio aos caminhos que escolhi trilhar.

Dentre as muitas páginas aqui redigidas, este parágrafo foi o mais difícil. Não pela ausência de palavras, mas pela dimensão do amor que, não cabendo em linhas, transborda em lágrimas. Como agradecer a quem me deu os maiores tesouros de uma existência? – O amor, os valores e a vida em si mesma. Pai e Mãe, sempre foi com vocês e por vocês. Este sonho nunca foi só meu. Obrigada por me permitirem voar, mas com a valiosa certeza de que sempre tive para onde voltar. Ser vossa filha é, acima de tudo, uma dádiva divina. Amo vocês.

Agradeço aos meus irmãos, Aline e Antonni, por serem abrigos do amor e de uma vida inteira partilhada. O nosso amor nos fortalece e traz a certeza de que jamais caminharei sozinha nesta existência.

Agradeço a Hélio por ser minha força. Por acolher minhas vulnerabilidades com ternura ao longo deste processo. Por ser o cuidado e a paz que habitam meu coração. O amor é a força propulsora mais bela de uma existência — e nós conseguimos.

Agradeço à minha família. De forma muito especial, aos meus tios Fátima (in memoriam) e Lucho (in memoriam). Sei que eles estão a vibrar por essa conquista. Aos meus primos Karine e Pipe, pelo amor e pelo suporte que culminou no êxito de minha inscrição no Doutorado Sanduíche.

Agradeço ao meu orientador, Dr. Miguel Araujo, pelas portas abertas, ensinamentos e oportunidades ao longo dos últimos quatro anos. Estendo

minha gratidão a todo o corpo docente e técnico-administrativo que compõe o Programa de Pós-Graduação em Educação Física da Universidade Federal de Viçosa, especialmente à Raissa Santana, secretária da pós-graduação.

Externo minha gratidão aos meus co-orientadores, Dr. Antônio Natali, Dra. Edilamar Menezes e Dr. Pedro Forte, não apenas pelo acompanhamento científico deste trabalho, mas pelos exemplos de humildade e sabedoria que carregarei em meu coração.

Ao Dr. Pedro Forte, agradeço também pela gentil e zelosa acolhida no Instituto Politécnico de Bragança, em Portugal, durante o período de Doutorado Sanduíche, bem como aos membros do Research Center for Active Living and Wellbeing (LiveWell).

Agradeço ao Pedro Zavagli pela amizade e companheirismo ao longo do doutorado. Dividir este experimento e esta experiência contigo foi um grande presente. Agradeço o acolhimento em meio às indissolubilidades inerentes a este processo e, sobretudo, as alegrias partilhadas. Isto não seria possível sem você.

Agradeço a todos os demais membros que compõem o Laboratório de Biologia do Exercício (BioEx) da UFV. Sem o árduo trabalho de todos vocês e sem as preciosas trocas de conhecimento, a realização desta pesquisa jamais seria viável. Destaco, com muita gratidão, a atuação dos nossos alunos de iniciação científica ao longo do experimento – Arthur Quintão, Beatriz Lana, Sebastião Felipe e Sara Caco -, de nossos colegas de pós-graduação, Luciano Bernardes e Leôncio Soares, bem como de nossa técnica de laboratório, Meilene Fidelis.

Agradeço à Dra. Emily Reis por todo o suporte veterinário, de conceptualização do projeto e realização dos ecocardiogramas em nosso experimento. Estendo meus agradecimentos à Carolina Camargos, pelo apoio e integração à nossa equipe durante a condução dos experimentos.

Agradeço ao Dr. Leandro Licursi e ao Laboratório de Imunoquímica e Glicobiologia da UFV, pelo apoio à condução dos ensaios imunoenzimáticos de nosso estudo, bem como pelas partilhas de conhecimento.

Agradeço à toda a equipe e pacientes envolvidos nos projetos Vem Ser e ProCardio, ambos desenvolvidos pela UFV. A integração em ambos os

projetos expandiu meus horizontes translacionais às ciências cardiometabólicas, além de ter proporcionado amizades muito preciosas.

Agradeço aos amigos e colegas que compõem a Divisão de Saúde da UFV, pela amizade e suporte ao longo dos últimos anos. De forma especial, agradeço às minhas queridas Marisa Dibbern, Edimara Buonicontro e suas respectivas famílias, por tanto carinho, conselhos e apoio.

Aos meus pacientes e alunos, agradeço pelo afeto e pelas palavras de incentivo. Por diversas vezes, vocês foram minha cura.

Agradeço aos amigos queridos que vida, em seu generoso transcórre, me presenteou. Muito obrigada por serem refúgio, lucidez e sabedoria. Devo a leveza deste processo a vocês.

Agradeço aos amigos que compartilharam comigo o Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior em Portugal. Por tantas vezes, vocês foram os únicos a compreenderem o sentimento que não conseguimos materializar em palavras. O além-mar foi belo, porque foi com vocês.

Agradeço à Lorena Bandeira por esta jornada em busca de sentido. Por enxergar minhas potencialidades quando acreditei que minhas forças haviam se esvaído. Pelo olhar tão atento, profissional e amoroso à minha humanidade. Esta conquista também é nossa.

Agradeço às instituições de fomento à pesquisa brasileira que financiaram o desenvolvimento desta pesquisa. Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes agências de pesquisa brasileiras: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Finalizo os agradecimentos deste trabalho com um genuíno reconhecimento àqueles que construíram o início desta caminhada: os bons professores com quem tive a honra de desvendar os mistérios deste mundo. Uma tese de doutorado jamais seria possível sem as mãozinhas trêmulas que outrora teceram o bê-a-bá nos cadernos de caligrafia. Sem as pacientes demonstrações das operações matemáticas. Sem o questionamento da realidade por meio dos nossos sentidos orgânicos. Sem a compreensão da história de nossa sociedade, para que, a partir dela, possamos extrair suas fragilidades e propor ações em seu benefício.

A Epistemologia jamais se consolidaria sem a figura tão reverenciável do professor. Dessa forma, queridos professores, devo esta conquista a cada um de vocês. Esta tese existe porque vocês a precederam. Com muita gratidão, elenco a figura de duas mulheres que foram – e são – fundamentais nesta jornada acadêmica: as professoras doutoras Aline de Maman e Daniella Araújo. Respectivamente, minhas orientadoras de graduação e mestrado. Obrigada, sobretudo, por terem acreditado.

“Se avexe não
Toda caminhada começa no primeiro passo
A natureza não tem pressa,
Segue seu compasso
Inexoravelmente chega lá”
(Accioly Neto)

RESUMO

MORAES, Alexa Alves de, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2025. **Efeitos do treinamento físico resistido e da utilização de decanoato de nandrolona sobre a morfofisiologia cardíaca, propriedades moleculares, mecânicas e balanço redox em cardiomiócitos isolados de ratos Wistar.** Orientador: Miguel Araujo Carneiro Junior. Coorientador: Pedro Miguel Gomes Forte.

Introdução: O decanoato de nandrolona (DN) é comumente utilizado por praticantes de musculação, mas seus efeitos combinados ao treinamento resistido (TR) sobre o coração não são plenamente compreendidos. **Objetivo:** Investigar os efeitos do TR e DN sobre morfofisiologia cardíaca, propriedades moleculares, mecânicas e balanço redox em cardiomiócitos isolados de ratos Wistar. **Método:** 32 ratos Wistar (12 semanas; 333 ± 14 g) foram igualmente divididos em: controle (C), controle treinado (C-T), DN (N) e DN treinado (N-T). Os grupos N e N-T receberam 20 mg/kg/semana de DN, enquanto C e C-T receberam solução salina (0,4 ml/kg/semana), durante oito semanas. O TR foi realizado 3x/semana, com 4-9 escaladas em escada carre-gando progressivamente 50-100% do peso máximo carregado, com incrementos de 30 g até a falha. A morfofisiologia cardíaca foi avaliada por ecocardiografia; contrati-lidade de cardiomiócitos dos ventrículos esquerdo (VE) e direito (VD) foi avaliada por sistema de detecção de bordas em frequências de 1, 3, 5 e 7 Hz; avaliaram-se ex-pressões de canais receptores de rianodina 2 (RyR2), cálcio-ATPase do retículo sarcoplasmático (SERCA2a), canais trocadores de sódio-cálcio (NCX) e fosfolam-bam total (FLBt) por ensaio imunoenzimático, e níveis de superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), óxido nítrico (NO), carbonilação de proteínas (PC), malonal-deído (MDA) e capacidade antioxidante (FRAP) nos ventrículos. **Resultados:** N-T apresentou aumento dos diâmetros ventriculares e espessura septal, redução das frações de ejeção e encurtamento (VE) e da função sistólica (VD), comparado ao N ($p = 0,04$). O N-T apresentou também aumento do volume e largura de cardiomióci-tos do VE, comparado ao C-T ($p = 0,04$). No VE, o DN isolado não afetou a contrati-lidade celular, enquanto o TR otimizou os parâmetros. O N-T apresentou aumento na amplitude e velocidade de contração a 5 Hz ($p = 0,04$), e na velocidade de rela-xamento a 1, 3 e 5 Hz ($p < 0,01$), além de redução nos tempos para pico de contração e 50% do relaxamento a 1 Hz com-parado ao N ($p = 0,04$). No VD, fatores DN e TR melhoraram parâmetros contráteis. O N-T aumentou a amplitude e velocidade de contração a 1 e 5 Hz, reduziu o tempo para pico de contração a 1 e 3 Hz e o tempo para relaxamento a 1 Hz em relação a N, além de maior velocidade de relaxamento em comparação a N e C-T ($p <$

0,02). Nas análises moleculares, fator TR reduziu RyR2 em ambos os ventrículos, e DN reduziu todas as proteínas analisadas, exceto o NCX no VD. N-T apresentou menos níveis de RyR2 ($p < 0,001$) e FLBt no VE ($p = 0,04$) comparado a C-T. Fator TR elevou níveis de PC em ambos os ventrículos, e DN aumentou MDA (VE e VD), PC (VE), reduziu NO (VE) e CAT (VD). O N-T teve maiores níveis de MDA no VE comparado ao C-T ($p = 0,03$). Conclusão: TR+DN gerou dilatação biventricular e piora da função cardíaca, melhorou parâmetros de contratilidade celular, reduziu expressões de RyR2 (VE e VD) e de FLBt (VE) e aumentou estresse oxidativo (VE e VD).

Palavras-chave: esteroides androgênicos anabolizantes; exercício resistido; miocárdio; estresse oxidativo

ABSTRACT

MORAES, Alexa Alves de, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2025.
Effects of resistance training and nandrolone decanoate on cardiac morphophysiology, molecular and mechanical properties, and redox balance in isolated cardiomyocytes of Wistar rats. Adviser: Miguel Araujo Carneiro Junior.
Co-adviser: Pedro Miguel Gomes Forte.

Introduction: Nandrolone decanoate (ND) is commonly used by individuals engaged in resistance training (RT), but its combined effects on the heart are not fully understood. Aim: To investigate the effects of RT and ND on cardiac morphophysiology, molecular and mechanical properties, and redox balance in isolated cardiomyocytes of Wistar rats. Methods: Thirty-two Wistar rats (12 weeks old; 333 ± 14 g) were equally divided into four groups: control (C), trained control (C-T), ND (N), and trained ND (N-T). Groups N and N-T received 20 mg/kg/week of ND, while C and C-T received saline solution (0.4 ml/kg/week), over eight weeks. RT was performed 3 times/week, consisting of 4–9 ladder climbs carrying progressively 50–100% of the maximal load, with 30 g increments until failure. Cardiac morphophysiology was assessed by echocardiography; cardiomyocyte contractility from left (LV) and right (RV) ventricles was evaluated using a borders-detection system at 1, 3, 5, and 7 Hz; protein expression levels of ryanodine receptor type 2 (RyR2), sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase (SERCA2a), sodium-calcium exchanger (NCX), and total phospholamban (PLBt) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA); and levels of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), nitric oxide (NO), protein carbonyls (PC), malondialdehyde (MDA), and antioxidant capacity (FRAP) were analyzed in both ventricles. Results: The N-T group showed increased ventricular diameters and septal thickness, reduced ejection and fractional shortening, and impaired RV systolic function compared to N ($p = 0.04$). N-T also exhibited increased volume and width of LV cardiomyocytes compared to C-T ($p = 0.04$). In the LV, isolated ND did not affect cellular contractility, whereas RT improved the parameters. N-T showed increased contraction amplitude and velocity at 5 Hz ($p = 0.04$), and enhanced relaxation velocity at 1, 3, and 5 Hz ($p < 0.01$), along with shorter time to peak contraction and 50% relaxation at 1 Hz compared to N ($p = 0.04$). In the RV, both ND and RT improved contractile parameters. N-T increased contraction amplitude and velocity at 1 and 5 Hz, reduced time to peak contraction at 1 and 3 Hz, and shortened relaxation time at 1 Hz compared to N, with greater relaxation velocity than both N and C-T ($p < 0.02$). Molecular analyses showed that RT reduced RyR2 expression in both ventricles, and ND decreased all protein

levels analyzed except NCX in the RV. N-T showed lower RyR2 ($p < 0.001$) and PLBt ($p = 0.04$) expression in the LV compared to C-T. RT increased PC levels in both ventricles, and ND elevated MDA (LV and RV), PC (LV), and reduced NO (LV) and CAT (RV). N-T exhibited higher MDA levels in the LV compared to C-T ($p = 0.03$). Conclusion: The combination of RT and ND induced biventricular dilation and cardiac dysfunction, improved cellular contractile parameters, reduced RyR2 (LV and RV) and PLBt (LV) expression, and increased oxidative stress in both ventricles.

Keywords: anabolic androgenic steroids ; resistance exercise; myocardium; oxidative stress

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática do mecanismo de acoplamento excitação- contração no músculo cardíaco.....	24
Figura 2. Fórmula estrutural das moléculas de testosterona e de Decanoato de Nandrolona.....	32
Figura 3. Representação esquemática dos aspectos farmacodinâmicos dos EAAs.....	33
Figura 4. Protocolo experimental esquematizado.....	53
Figura 5. Escada vertical e aparato de sobrecarga externa para realização do treinamento físico resistido.....	55
Figura 6. Esquema demonstrativo do teste de peso máximo carregado pelos animais em protocolo de treinamento físico resistido com escalada em escada vertical	56
Figura 7. Representação esquemática do protocolo de treinamento resistido.....	57
Figura 8. Esquema ilustrativo de parâmetros ecocardiográficos analisados.....	58
Figura 9. Representação das dimensões de cardiomiócito ventricular.....	61
Figura 10. Representação esquemática da contração de um cardiomiócito estimulado na frequência de 1 Hz.....	63
Figura 11. Efeitos do treinamento físico resistido e do decanoato de nandrolona sobre o desempenho físico ao início (0 semanas) e final do experimento (8 semanas)	69
Figura 12. Efeitos do treinamento físico resistido e do decanoato de nandrolona sobre o comprimento, largura, volume e razão comprimento/largura celular de cardiomiócitos isolados dos ventrículos esquerdo e direito.....	76
Figura 13. Efeitos do treinamento físico resistido e do decanoato de nandrolona sobre parâmetros de contratilidade de cardiomiócitos do ventrículo esquerdo do coração de ratos Wistar, estimulados eletricamente nas frequências de 1, 3, 5 e 7 Hz.....	79
Figura 14. Efeitos do treinamento físico resistido e do decanoato de nandrolona sobre parâmetros de contratilidade de cardiomiócitos do ventrículo direito do coração de	

ratos Wistar, estimulados eletricamente nas frequências de 1, 3, 5 e 7 Hz.....	82
Figura 15. Efeitos do treinamento físico resistido e do decanoato de nandrolona sobre a expressão de proteínas reguladoras do ciclo do cálcio no ventrículo esquerdo do coração de ratos Wistar.....	84
Figura 16. Efeitos do treinamento físico resistido e do decanoato de nandrolona sobre a expressão de proteínas reguladoras do ciclo do cálcio no ventrículo direito do coração de ratos Wistar.....	86
Figura 17. Efeitos do treinamento físico resistido e do decanoato de nandrolona sobre a expressão de marcadores de balanço redox no ventrículo esquerdo do coração de ratos Wistar.....	87
Figura 18. Efeitos do treinamento físico resistido e do decanoato de nandrolona sobre a expressão de marcadores de balanço redox no ventrículo direito do coração de ratos Wistar.....	90
Figura 19. Testes de correlação entre proteínas reguladoras do Ca^{2+} e marcadores de balanço redox no coração de ratos Wistar submetidos ou não ao treinamento físico resistido e/ou decanoato de nandrolona.....	92
Figura 20. Efeitos da associação entre treinamento físico resistido e decanoato de nandrolona sobre o coração.....	93

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Peso corporal dos animais, peso do coração e suas respectivas cavidades.....	72
Tabela 2. Avaliação ecocardiográfica.....	74

LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

Akt – Proteína quinase B

ANOVA – Análise de variância

ATP – Adenosina trifosfato

C – Grupo controle

Ca²⁺ – Íon de cálcio

CAT – Catalase

C-T – Grupo controle treinado

CaM – Calmodulina

CaMKII – Proteína quinase II dependente de Ca²⁺/calmodulina

CaMKII δ – Isoforma delta da proteína quinase II dependente de Ca²⁺/calmodulina

CH₃ – Grupamento metil

DN – Decanoato de nandrolona

DNA – Ácido desoxirribonucleico

dP/dt máx – 1ª derivada da pressão ventricular esquerda pelo tempo na sístole

DVDd – Diâmetro interno do ventrículo direito na diástole

DVEd – Diâmetro interno do ventrículo esquerdo na diástole

DVEs – Diâmetro interno do ventrículo esquerdo na sístole

EAA – Esteroide anabólico androgênico

EGTA – Ácido tetracético etilenoglicol

ERK1/2 – Quinases reguladas por sinais extracelulares ½

EROs – Espécies reativas de oxigênio

ESId – Espessura do septo interventricular na diástole

ESIs – Espessura do septo interventricular na sístole

FLB – Fosfolambam

FLB_t – Fosfolambam total

FLB_{ser16} – Fosfolambam fosforilada no resíduo da serina 16

FLB_{thr17} – Fosfolambam fosforilada no resíduo da treonina 17

FRAP – Poder antioxidante redutor férrico

GPx – Glutathione peroxidase
H₂O₂ - Peróxido de hidrogênio
IP3 – Inositol 1,4,5-trifosfato
MDA - Malondialdeído
mRNA – RNA mensageiro
mTOR – Alvo da rapamicina
N – Grupo decanoato de nandrolona não-treinado
NADPH – Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato Hidrogênio
NCX – Canal trocador de sódio e cálcio
NO – Óxido nítrico
N-T – Grupo decanoato de nandrolona treinado
O₂•⁻ - Ânion superóxido
OH• - Radical hidroxila
ONOO⁻ - Peroxinitrito
PC – Proteína carbonilada
PI3K – Fosfoinositídeo 3-quinase
PKA – Proteína quinase A
pI – Pícolitos
PMC – Peso máximo carregado
RT-PCR – Reação em cadeia da polimerase em tempo real
RyR2 – Canal receptor de rianodina do tipo 2
SERCA – Cálcio-ATPase do retículo sarcoplasmático
SERCA2a – Isoforma cardíaca da cálcio-ATPase do retículo sarcoplasmático
SOD – Superóxido dismutase
TAPSE – *Tricuspid Annular Plane Systolic Excursion*
TE – Tamanho do efeito
TR – Treinamento físico resistido
VD – Ventrículo direito
VE – Ventrículo esquerdo

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	21
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	24
2.1. Acoplamento excitação-contração do coração.....	24
2.2. Treinamento físico resistido e coração.....	27
2.3. Decanoato de nandrolona.....	31
2.3.1. Decanoato de nandrolona e coração.....	33
2.4. Balanço redox.....	37
2.4.1. Balanço redox e acoplamento excitação-contração do coração.....	39
2.4.2. Balanço redox, decanoato de nandrolona e coração.....	41
2.4.3. Balanço redox e treinamento físico resistido.....	43
3. JUSTIFICATIVA.....	47
4. OBJETIVO GERAL.....	49
4.1. Objetivos específicos.....	49
5. HIPÓTESE.....	50
6. MÉTODOS.....	51
6.1. Animais de experimentação e tratamentos.....	51
6.1.1. Cálculo amostral.....	51
6.2. Protocolo experimental.....	52
6.2.1. Grupos experimentais.....	52
6.2.2. Administração de DN.....	53
6.2.3 Protocolo de treinamento físico resistido.....	54
6.3. Ecocardiograma.....	57
6.4. Eutanásia e coleta de amostras.....	59
6.5. Índice de hipertrofia ventricular.....	59
6.6. Isolamento de cardiomiócitos.....	60
6.7. Mensuração do comprimento, largura e volume celulares.....	61
6.8. Contratilidade celular.....	62
6.9. Composição das soluções.....	64
6.9.1. Soluções de isolamento.....	64
6.9.2 Solução de perfusão-tampão HEPES.....	65
6.10. Análise da expressão de proteínas cardíacas.....	65

6.11. Expressão de marcadores do balanço redox.....	65
6.11.1. Atividade da superóxido dismutase.....	65
6.11.2. Oxidação de proteínas.....	66
6.11.3. Produção de óxido nítrico.....	66
6.11.4. Determinação de malondialdeído.....	66
6.11.5. Atividade da catalase.....	67
6.11.6. Capacidade antioxidante total.....	67
6.12. Análise estatística.....	67
7. RESULTADOS.....	69
7.1. Teste de desempenho físico.....	69
7.2. Características gerais e dados morfológicos cardíacos.....	70
7.3. Ecocardiograma.....	73
7.4. Comprimento, largura e volume de cardiomiócitos.....	75
7.5. Contratilidade de cardiomiócitos.....	77
7.5.1. Ventrículo esquerdo.....	77
7.5.2. Ventrículo direito.....	80
7.6. Expressão proteica.....	83
7.6.1. Ventrículo esquerdo.....	83
7.6.2. Ventrículo direito.....	85
7.7. Balanço redox.....	87
7.7.1. Ventrículo esquerdo.....	87
7.7.2. Ventrículo direito.....	89
7.8. Associação entre proteínas reguladoras do ciclo de Ca^{2+} e marcadores do balanço redox.....	91
7.9. Síntese gráfica dos principais achados.....	92
8. DISCUSSÃO.....	94
8.1. Peso dos animais e desempenho físico.....	95
8.2. Alterações morfofuncionais cardíacas.....	97
8.3. Contratilidade de cardiomiócitos isolados e expressão de proteínas reguladoras do ciclo de Ca^{2+}	101
8.4. Balanço redox.....	107
8.5. Limitações e perspectivas futuras.....	110
8.6. Implicações práticas.....	110

9. CONCLUSÃO.....	112
REFERÊNCIAS.....	113
ANEXO A – PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA/UFV.....	130

1. INTRODUÇÃO

Os esteroides anabólicos androgênicos (EAAs) são compostos formados a partir da testosterona e seus derivados, tendo por efeito metabólico a manutenção de um balanço nitrogenado positivo, aumento da taxa de anabolismo e diminuição do catabolismo proteico (Radak et al., 2013).

Essas substâncias surgiram do isolamento da testosterona, em 1935, quando grupos de cientistas alemães e holandeses, de forma independente, isolaram testosterona a partir de testículos humanos. No mesmo ano, pesquisadores suíços realizaram a síntese química da testosterona a partir do colesterol, tornando possível a produção em larga escala (Kochakian; Yesalis, 1993). A priori, o uso clínico da testosterona visava ao tratamento do hipogonadismo, bem como à melhora do desempenho físico de soldados. Nas décadas de 1950 e 1960, o uso de tais drogas sintéticas ultrapassou os limites terapêuticos e passou a ser observado entre atletas olímpicos e praticantes de halterofilismo, motivando o Comitê Olímpico Internacional a proibir oficialmente seu uso em 1975 (Hoberman; Yesalis, 1995).

Apesar de tal proibição, a difusão do uso não-terapêutico dos EAAs se expandiu globalmente, tornando-se uma prática comum entre atletas e praticantes de atividade física, com o objetivo de aumentar força e massa muscular, resultando em melhores desempenhos esportivo e estético (Kanayama; Pope Júnior, 2018). Embora essa tendência tenha ganhado proporções globais, ainda são escassos os dados atualizados sobre sua prevalência. Em uma meta-análise publicada em 2014, Sagoe et al. estimaram que 3,3% da população mundial já tenha feito uso abusivo de EAAs, compreendendo 6,4% da população masculina e 1,6% da feminina. No entanto, tais números podem representar uma subestimação da realidade, tendo em vista fatores como a natureza ilícita e estigmatizada do consumo, o viés de subnotificação em estudos baseados em autorrelato e a proibição, em diversos países, da prescrição médica dessas substâncias para fins não clínicos, o que favorece a clandestinidade do uso (Windfeld-Mathiasen et al., 2025). Dentre os EAAs disponíveis no mercado, o decanoato de nandrolona (DN) se destaca enquanto um dos EAAs mais amplamente administrados na população em questão, possivelmente em decorrência de seu alto poder anabólico comparado aos efeitos androgênicos, além de seu baixo custo e relativo fácil acesso, quando comparado a outros EAAs (Barone et al., 2017).

A utilização indiscriminada dos EAAs, todavia, suscita efeitos adversos em diversos sistemas orgânicos (Barone et al., 2017). No sistema cardiovascular, particularmente, ocorrem alterações morfofisiológicas que prejudicam a mecânica e funcionalidade cardíaca, a exemplo de hipertrofia patológica concêntrica – especialmente do ventrículo esquerdo (VE) e septo interventricular –, redução de complacência ventricular, fibrose intersticial miocárdica e prejuízos na função diastólica – a exemplo do atraso no relaxamento ventricular e elevação da pressão diastólica final –, os quais podem culminar no desenvolvimento de quadros de infarto agudo do miocárdio, hipertensão arterial, insuficiência cardíaca, arritmia e morte súbita (Windfeld-Mathiasen et al., 2025; Tofighi et al., 2017; Binayi et al., 2016; Bissoli et al., 2009; Barauna et al., 2007). Ademais, dados recentes de um estudo de coorte dinamarquês com 11 anos de acompanhamento demonstrou que usuários de EAAs apresentam risco três vezes maior de infarto agudo do miocárdio, quase nove vezes maior de cardiomiopatia e três vezes maior de insuficiência cardíaca, quando comparados à população geral pareada por idade e sexo (Windfeld-Mathiasen et al., 2025).

Atualmente, a utilização de EAAs tem se popularizado, sobretudo, entre praticantes de musculação. Todavia, ao contrário dos efeitos deletérios cardiovasculares geradas pelos EAAs, o treinamento físico resistido (TR) está associado ao desenvolvimento de hipertrofia cardíaca fisiológica concêntrica, a qual é induzida pela sobrecarga pressórica – ou seja, pelo aumento da pós-carga e elevação do pico de tensão sistólica. Esse processo leva ao aumento na largura dos miócitos pela adição de novos sarcômeros em paralelo, gerando aumento da espessura do VE, mas mantendo-se o tamanho da cavidade da câmara (Barauna et al., 2007; Colan, 1997).

Cabe ressaltar que, em ambos os processos adaptativos no coração – fisiológico ou patológico –, ocorrem alterações no mecanismo de acoplamento excitação-contração dos cardiomiócitos, o qual é responsável por regular o ciclo de contração e relaxamento miocárdico (Bers, 2001; Opie, 1998). Diversos estudos recentes vêm sendo conduzidos no intuito de verificar a influência de modalidades de treinamento físico, bem como de patologias cardíacas, sobre este mecanismo celular (Leite et al., 2024; Soares et al., 2023; Soares et al., 2022; Suarez et al., 2022). Todavia, há uma escassez de estudos no que tange aos efeitos da administração de

EAA sobre o comportamento de cardiomiócitos isolados, sendo necessárias maiores informações a respeito (Nascimento et al., 2016).

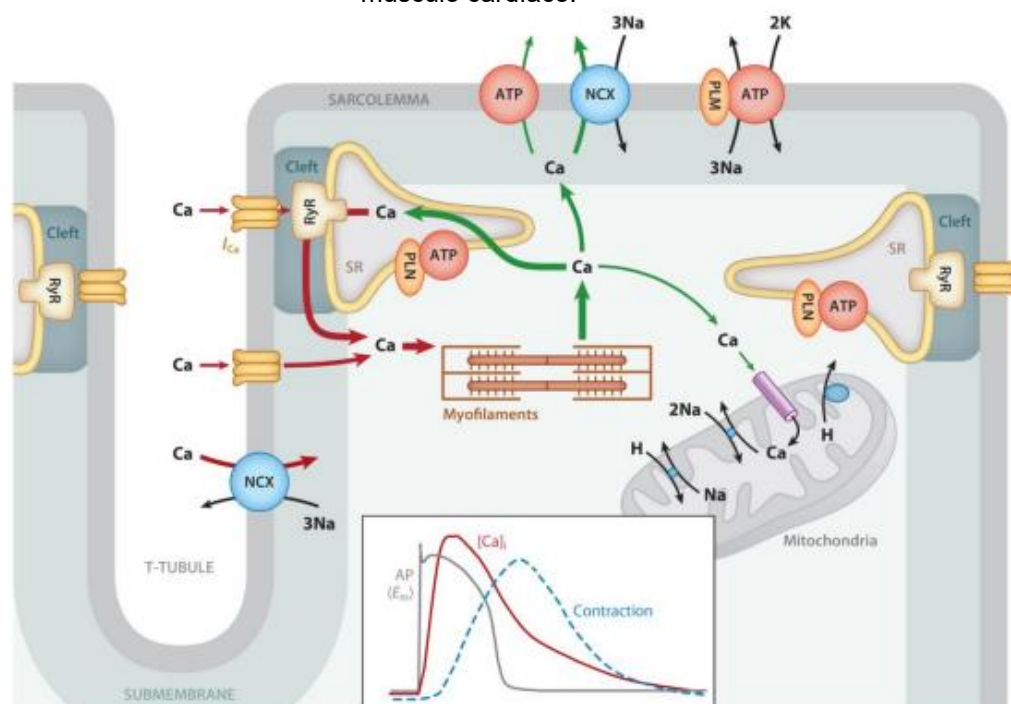
Além das alterações estruturais e funcionais no tecido cardíaco, o balanço redox representa um importante mecanismo envolvido na fisiopatologia associada ao uso de EAAs. A produção exacerbada de espécies reativas de oxigênio (EROs), aliada à redução na capacidade antioxidante endógena, pode comprometer a integridade celular e modular negativamente funções contráteis e de sinalização intracelular nos cardiomiócitos, por meio de mecanismos como a oxidação da actina e da miosina, bem como a inibição da fosforilação de proteínas reguladoras da contratilidade, como a fosfolambam (Halliwell; Gutteridge, 2015). Embora existam indícios de que o uso de EAAs está associado ao aumento da produção de EROs (Magalhães et al., 2020; Nikolic et al., 2016), enquanto o TR promova adaptações antioxidantes no miocárdio (Ahmadiasl et al., 2012; Dantas et al., 2021), estudos que investiguem a interação entre essas duas variáveis — especialmente envolvendo a administração de decanoato de nandrolona — ainda são escassos. Tal lacuna evidencia a necessidade de investigações que explorem os efeitos combinados do TR e da nandrolona sobre o balanço redox no tecido cardíaco (Dantas et al., 2021).

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Acoplamento excitação-contração do coração

O acoplamento excitação-contração do miocárdio, representado na figura 1, compreende desde a excitação elétrica celular até a contração cardíaca, sendo este processo diretamente relacionado à homeostase do íon Ca^{2+} (Fabiato, 1983).

Figura 1. Representação esquemática do mecanismo de acoplamento excitação-contração no músculo cardíaco.



Legenda: As setas vermelhas indicam o influxo de Ca^{2+} para o interior do sarcoplasma, através das quais podemos perceber (de cima para baixo) os canais de Ca^{2+} voltagem-dependentes – sendo um deles pareado a um canal de receptores de rianodina (RyR) –, além de um canal trocador de sódio e cálcio (NCX). A liberação de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático para o sarcoplasma resulta na ativação dos miofilamentos contráteis. A redução da concentração intracelular de Ca^{2+} e posterior relaxamento celular está representada pelas setas verdes. Esta ocorre por meio da recaptação de Ca^{2+} para o retículo sarcoplasmático via cálcio-ATPase (SERCA2a), que é modulada por fosfolambam e extrusão via NCX. AP, potencial de ação; ATP, ATPase; EM, potencial de membrana; PLN, fosfolambam. Fonte: BERS, 2014.

Este ciclo se inicia com a geração de um potencial de ação no nodo sinoatrial, o qual é propagado por meio das junções comunicantes celulares. Quando este impulso elétrico chega à célula, ocorre a despolarização do sarcolema, gerando um influxo de Ca^{2+} para o interior dos cardiomiócitos. Essa corrente iônica acontece por meio de duas vias: canais de Ca^{2+} voltagem-dependentes dos tipos T e L, presentes

na membrana celular; e, em menor proporção, pelos canais trocadores de sódio e de cálcio (NCX) (Bers, 2001; Bers, 2008). A entrada de cálcio no interior da célula é crucial não apenas para o desencadeamento do ciclo de acoplamento excitação-contracção, mas também para a manutenção de um platô eletroquímico, no qual há um equilíbrio entre a entrada de Ca^{2+} e a saída contínua de íons de potássio pela membrana celular. Nesta fase de platô, a estabilidade no potencial de membrana impede que um novo potencial de ação seja iniciado enquanto a célula está no período refratário, prevenindo contrações prematuras e permitindo o relaxamento celular adequado (Bers, 2001).

No interior do cardiomiócito, entre o sarcolema e a membrana do retículo sarcoplasmático, há o subespaço (Cheng; Lederer, 2008), no qual se encontra um grupo de canais denominados canais receptores de rianodina do tipo 2 (RyR2) (Bers, 2001). Essas estruturas são fundamentais uma vez que, quando ocorre o influxo de Ca^{2+} para o interior celular, as mesmas são estimuladas a liberar mais íons Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático para o citoplasma, sendo este processo denominado liberação de Ca^{2+} induzida por Ca^{2+} (Fabiato, 1977; Fabiato; Fabiato, 1983). Dessa forma, com o aumento da concentração de cálcio intracelular, crescem as probabilidades do Ca^{2+} ligar-se à troponina C, ativando, portanto, os miofilamentos contráteis que resultarão na sístole (Fabiato, 1983).

Salienta-se que os RyR2 são estabilizados pelas proteínas de ligação FK506, calmodulina (CaM), proteína quinase A (PKA), proteína quinase II dependente de calmodulina (CaMKII), e fosfatases 1 e 2. Essa estabilização previne a abertura espontânea desses canais durante o repouso, o que pode predispor à ocorrência de episódios arrítmicos devido à liberação espontânea de Ca^{2+} , conhecida como *sparks* de Ca^{2+} (Cheng; Lederer; Cannell, 1993).

Quando o Ca^{2+} se liga à troponina C presente nos filamentos finos do sarcômeros, ocorre uma alteração conformacional na mesma, expondo os sítios ativos da actina e, portanto, permitindo a formação de pontes cruzadas de actina-miosina, as quais culminam na contração celular (Fabiato, 1983).

Para que ocorra a fase de relaxamento da musculatura cardíaca, é necessário que haja redução da concentração intracelular de Ca^{2+} , permitindo que este íon se desassocie dos miofilamentos. Sendo assim, a varredura do Ca^{2+} do sarcoplasma é mediada por quatro processos, os quais envolvem: a isoforma cardíaca da Ca^{2+} ATPase do retículo sarcoplasmático (SERCA2a); os NCX; a Ca^{2+} ATPase do

sarcolema; e a captação mitocondrial de Ca^{2+} , sendo os dois primeiros mecanismos os mais atuantes neste processo (Fabiato, 1983; Bers, 2001).

A SERCA2a, responsável pela varredura de, aproximadamente, 92% do Ca^{2+} para o interior do retículo sarcoplasmático (Bers, 2002), tem sua atividade regulada, principalmente, por um inibidor endógeno denominado fosfolambam (FLB). Este, ao se associar à SERCA2a, diminui o transporte de Ca^{2+} para o interior do retículo sarcoplasmático, bem como sua atividade de ATPase. Todavia, quando a FLB é fosforilada, seja no resíduo de serina 16 ($\text{FLB}_{\text{Ser16}}$) através da ação da PKA, ou no resíduo de treonina 17 ($\text{FLB}_{\text{Thr17}}$) pela CaMKII, ocorre a dissociação entre a FLB e a SERCA2a (MacLennan; Kranias, 2003; Bassani; Mattiazzi; Bers, 1995; Kirchberger; Tada; Katz, 1974). Essa separação desativa a inibição da FLB sobre a SERCA2a, promovendo, portanto, aumento da receptação de Ca^{2+} para o retículo sarcoplasmático, bem como otimização da velocidade de relaxamento celular (Mattiazzi; Mundina-Weilenmann; Guoxiang et al., 2005; Wegener; Simmerman; Lindemann et al., 1989).

O NCX, por sua vez, atua no efluxo de Ca^{2+} durante a fase de relaxamento celular (Ottolia; Torres; Bridge et al., 2013), contribuindo para que a concentração intracelular de Ca^{2+} retorne ao nível basal. Por conseguinte, ocorre a dissociação do Ca^{2+} ligado à troponina C e, portanto, o relaxamento miocárdico. Essa remoção eficiente do Ca^{2+} do citoplasma previne a sobrecarga de cálcio intracelular, sendo um mecanismo fundamental para evitar a fadiga do músculo cardíaco (Bers, 2008).

Neste sentido, ação da bomba cardíaca é resultante da contração coordenada dos cardiomiócitos que, por sua vez, é intrinsecamente dependente da homeostase do transiente de Ca^{2+} intracelular. Em situações nas quais ocorre alteração do volume de ejeção em função de aumento de sobrecarga de trabalho, a força e a amplitude de contração de cada cardiomiócito também poderá ser alterada, gerando impactos na cinética dos íons Ca^{2+} e, portanto, na capacidade contrátil celular (Bers, 2002; Kemi & Wisloff, 2010).

Pesquisas indicam que, em quadros patológicos, tal como a hipertensão arterial sistêmica, o treinamento resistido parece melhorar a atividade do retículo sarcoplasmático e aumentar o influxo de Ca^{2+} do sarcolema (Fernandes et al., 2015). Ademais, outros estudos (Melo; Barauna; Júnior et al., 2015; Melo; Barauna; Neves et al., 2015) envolvendo, respectivamente, ratos normotensos e infartados, relataram que o treinamento resistido provocou aumento da expressão da SERCA2a.

A administração de decanoato de nandrolona, por sua vez, associada a exercícios extenuantes, pode promover desequilíbrios na homeostase do Ca^{2+} , por provocar uma expressão exacerbada de CaMKII, especialmente a isoforma CaMKII δ , conforme evidenciado no estudo de Shirpoor et al. (2019), que utilizou protocolos de nado resistido. A CaMKII δ , quando em expressões suprafisiológicas, pode também estar relacionada ao mecanismo central de desenvolvimento de hipertrofia miocárdica, arritmias, apoptose de miócitos e desequilíbrios relacionados ao ciclo do cálcio no interior da célula. Estes, particularmente, estão relacionados ao fato de que o aumento exacerbado da CaMKII δ gera hiperfosforilação dos canais RyR2, aumentando a sensibilidade dos mesmos aos íons de cálcio e, por conseguinte, aumentando a liberação deste íon do retículo sarcoplasmático para o sarcolema. Além disso, observou-se também que o aumento da CaMKII δ em corações de ratos gerou redução da expressão de cálcio-ATPase do retículo sarcoplasmático (SERCA) e da razão SERCA/FLB, reduzindo a recaptação do Ca^{2+} para o interior do retículo sarcoplasmático (Zhang et al., 2003).

Em um estudo envolvendo a utilização de DN associado ao treinamento resistido em ratas, observou-se que o DN isoladamente foi capaz de promover hipertrofia cardíaca, aumento do depósito de colágeno e da contratilidade miocárdica, estando tal incremento possivelmente associado ao aumento da expressão de SERCA2A, FLB e FLB_{thr17}, observado na amostra. Quando combinado ao TR, houve potencialização da função cardíaca. Todavia, o exercício não foi capaz de reduzir o depósito de colágeno associado à utilização do DN (Nascimento et al., 2016). Apesar deste estudo apresentar informações importantes acerca da associação do DN com o TR, outras investigações são necessárias para verificar o efeito destes fatores sobre o comportamento de cardiomiócitos isolados, bem como sobre os mecanismos moleculares que subsidiam as possíveis alterações (Hund; Mohler, 2015).

2.2. Treinamento físico resistido e coração

O TR, também conhecido como treinamento de força, treinamento contra resistência ou musculação, caracteriza-se pela ativação voluntária de músculos esqueléticos contra uma resistência externa, que pode ser o próprio peso corporal, pesos livres, elásticos, molas e máquinas (Winett; Carpinelli, 2001). Os praticantes desta modalidade, em geral, buscam benefícios relacionados à saúde, estética e

aptidão física, como o aumento de força muscular e da massa magra, redução da gordura corporal, além de melhoria do desempenho em atividades esportivas e da vida diária (Fleck; Kraemer, 2017).

Sabe-se que o TR é capaz de elicitar adaptações morfofisiológicas a diversos sistemas do organismo. No que concerne particularmente ao sistema cardiovascular, essa modalidade de treinamento gera um aumento da pressão arterial durante o exercício. Essa sobrecarga pressórica sistêmica – ou seja, um aumento da pós-carga - deve ser suplantada pelo coração e, como consequência, o miocárdio tende a responder com o aumento da espessura de suas paredes, sobretudo do ventrículo esquerdo, para incrementar a capacidade contrátil, mas sem que haja redução de suas cavidades internas. Esta adaptação, enfim, caracteriza-se como hipertrofia cardíaca concêntrica fisiológica (Kenney; Wilmore; Costill, 2013; Muhl et al., 2008).

Esta hipótese do remodelamento cardíaco subsequente ao treinamento, denominada “Hipótese de Morganroth”, tem sido recentemente revista por pesquisadores clínicos. Estudos pregressos (Green et al., 2024; Silva et al., 2018) identificaram que o TR, de fato, provoca aumento da massa ventricular esquerda. Todavia, quando ajustada à massa magra corporal, evidenciou-se que tal hipertrofia não parece ser significativa quando comparada à hipertrofia excêntrica de atletas de treinamento físico aeróbico, uma vez que, no TR, o coração tende a acompanhar de forma proporcional o padrão hipertrófico muscular global do corpo.

É notório, entretanto, que as adaptações morfofisiológicas secundárias ao TR podem suscitar alterações em parâmetros funcionais cardíacos. Para exemplificar esta assertiva, um estudo verificou os efeitos hemodinâmicos de um protocolo de treinamento resistido em animais, composto por saltos e conduzido cinco vezes por semana ao longo de quatro semanas. Dentre os achados, foi observado que a intervenção reduziu a estimativa da constante de tempo do relaxamento isovolumétrico - ou constante de Tau -, que é considerado o melhor parâmetro para análise da função diastólica ventricular. Altos níveis de Tau são associados com isquemia miocárdica e, portanto, a redução desta constante é preferível. Esse mesmo estudo também identificou que o treinamento foi capaz de aumentar a contratilidade cardíaca, indicada pelo aumento da 1ª derivada da pressão ventricular esquerda (parâmetro hemodinâmico que expressa a velocidade de variação da pressão no ventrículo esquerdo ao longo do tempo) pelo tempo na sístole ($dP/dt \text{ máx}$), sendo esta relação um importante indicador de inotropismo (Nascimento et al., 2016).

No que concerne aos efeitos do TR no nível celular, a sobrecarga pressórica é um poderoso estímulo para a síntese proteica no miocárdio. Assim, o remodelamento ventricular decorre do aumento da largura dos cardiomiócitos, graças à adição em paralelo de novos sarcômeros (Baraúna et al., 2007).

Ademais, esta modalidade de treinamento é capaz de exercer efeito sobre propriedades mecânicas das células cardíacas, a exemplo da contração e relaxamento celulares mais rápidos em ratos saudáveis. Possivelmente, essas adaptações estão atreladas ao aumento da expressão da proteína SERCA2a (Melo et al., 2015; Melo et al., 2020).

Ainda no tocante à regulação do ciclo de cálcio, o estudo conduzido por Nascimento e colaboradores (2016) verificou que o protocolo de TR adotado foi capaz de reduzir a expressão de FLB total e aumentar a expressão de FLB_{thr17} em animais do grupo controle, sendo estes achados associados ao aumento da recaptação de Ca^{2+} para o retículo sarcoplasmático, assim como aumento da velocidade de relaxamento celular (Guoxiang et al., 2005).

As adaptações cardíacas resultantes do TR vêm sendo investigadas também enquanto alternativa terapêutica não-farmacológica em afecções cardiovasculares. A exemplo disto, estudos conduzidos em nosso laboratório verificaram que, em ratos com hipertensão arterial pulmonar induzida por monocrotalina, o TR foi capaz de preservar a função cardíaca, retardar o remodelamento adverso do ventrículo direito (VD) e mitigar prejuízos na contratilidade de cardiomiócitos isolados de ambos os ventrículos (Soares et al., 2023; Soares et al., 2022).

Apesar dos evidentes avanços dos estudos envolvendo efeitos do TR em células cardíacas e em seus mecanismos moleculares, tanto em contextos fisiológicos quanto patológicos, a associação desta modalidade de treinamento com o uso de anabolizantes em doses suprafisiológicas ainda permanece uma lacuna na literatura científica. Neste sentido, para compreender melhor as respostas morfológicas, funcionais, celulares e moleculares de tais intervenções, a experimentação animal tem sido utilizada (Barauna; Rosa; Irigoyen et al., 2007; Hornberger; Farrar, 2004; Strickland; Smith, 2016).

Os modelos de TR podem ser enquadrados em duas grandes categorias: (1) *in situ* e (2) de corpo todo.

A primeira consiste na aplicação de resistência diretamente ao músculo de interesse, tendo o membro contralateral como controle. Neste caso, aplicam-se

modelos como, por exemplo, a sobrecarga compensatória, em que há remoção de músculos sinergistas para sobrecarregar a resposta contrátil do músculo remanescente. A desvantagem dos métodos *in situ* residem na utilização de anestesia, realização de procedimentos cirúrgicos e limitada validade (Strickland; Smith, 2016).

Os modelos de corpo todo, por sua vez, preconizam que o animal realize os exercícios propostos de forma voluntária, podendo utilizar comida como recompensa ao esforço ou estímulo elétrico – neste caso, não no músculo-alvo a ser utilizado - para iniciar o movimento (Nicastro et al., 2012). Por se tratarem de modelos em que há a contração muscular voluntária por parte do animal, tais técnicas podem facilitar a compreensão das adaptações orgânicas ao treinamento resistido em humanos (Strickland; Smith, 2016).

Dentre os modelos majoritariamente utilizados para estudos envolvendo TR e sistema cardiovascular, destacam-se o agachamento e a subida em escadas. O modelo de agachamento foi proposto por Tamaki, Uchiyama e Nakano (1992), e consiste em um aparato em forma de colete que é acoplado ao animal, preso a um braço de madeira carregado com pesos variáveis. Para induzir o movimento, aplica-se um choque elétrico na cauda, resultando em elevação dinâmica do braço de madeira (Strickland; Smith, 2016). Embora este modelo seja muito utilizado e tenha sua eficácia sobre o sistema cardiovascular comprovada em diversos estudos, a utilização do estímulo elétrico torna o exercício forçado (Baraúna et al., 2007; Melo et al., 2011; Melo et al., 2015a).

Esse mesmo impasse também foi inicialmente constatado no modelo de treinamento de subida em escadas, posto que se utilizava o estímulo elétrico na cauda para incentivar o animal. Esta prática, todavia, foi revista, pois verificou-se que a realização de um período de adaptação ao aparato, previamente ao início do protocolo de exercício propriamente, é suficiente para que o animal suba as escadas sem que haja a necessidade do estímulo por choque. Assim, a subida voluntária pode ser considerada uma vantagem em relação ao modelo de agachamento (Moura, 2020). O modelo em questão foi concebido por Hornberger e Farrar (2004), com o objetivo de gerar adaptações hipertróficas e aumento de força muscular, principalmente em músculos com predomínio de fibras musculares do tipo II.

Atualmente, este protocolo de TR tem sido adaptado para diversas condições clínicas, apresentando variações na intensidade, período de descanso, além do

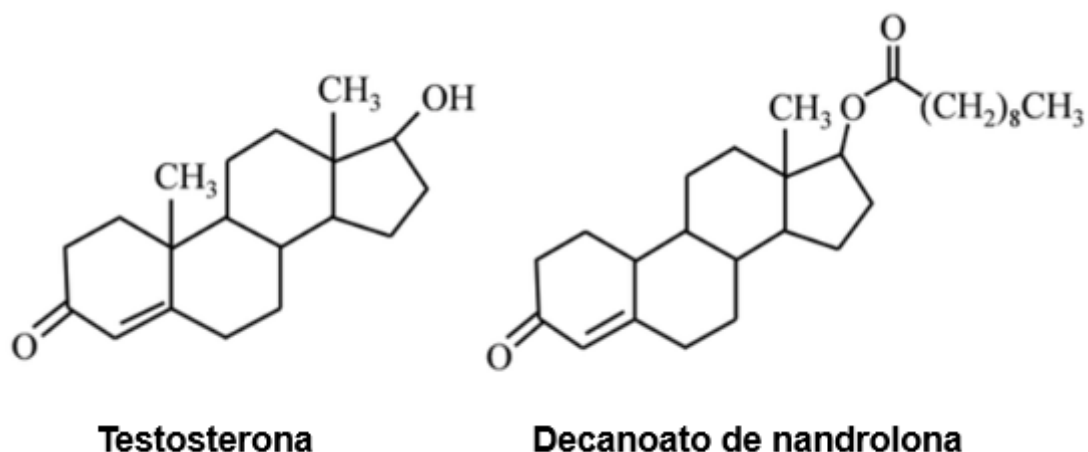
período total de treinamento. Em um modelo de hipertensão arterial pulmonar, utilizou-se a subida em escada com uma sobrecarga de 55-65% do peso máximo carregado, sendo 15 subidas intercaladas por intervalos de 1 minuto de descanso, com frequência de treinamento de 5 vezes por semana (Soares et al., 2022; Soares et al., 2023), sendo a escolha destes parâmetros justificada por recomendações de treinamento físico para pacientes com doenças cardiovasculares (Williams et al., 2007). Em outro estudo envolvendo um modelo animal de hiperalgesia crônica (Chiapeta, 2024), o protocolo de TR em escadas englobou 2 a 3 subidas com intervalo de 2 minutos, intensidade de 75% de 1RM, com frequência de 3 vezes por semana, em acordo com estudos prévios sobre TR em amostras de sujeitos com fibromialgia (Chiapeta et al., 2024).

Apesar das variações anteriormente descritas, o protocolo original de TR criado por Hornberger e Farrar (2004) e este mesmo protocolo adicionado ao período de adaptação dos animais, tal como descrito por Moura (2020), é um modelo experimental de exercício resistido progressivo em ratos, que aplica de forma prática o princípio da sobrecarga. O número de séries, o período de descanso, bem como a frequência do treinamento assemelham-se bastante aos de um típico treinamento resistido humano, estando de acordo com as diretrizes do Colégio Americano de Medicina do Esporte de 2002 sobre modelos de progressão no exercício resistido em adultos saudáveis (Kraemer et al., 2002) e com sua atualização mais recente, de 2025 (Ozemek et al., 2025).

2.3. Decanoato de nandrolona

O DN foi introduzido no mercado em 1962, com o objetivo inicial de ser utilizado para fins terapêuticos – por exemplo, para tratamento de osteoporose, anemia aplástica e caquexia -, sendo uma fórmula injetável para administração intramuscular, cuja meia-vida é de aproximadamente 15 dias (INFARMED, 2013). A ação desta droga, todavia, pode se prolongar por até três semanas em humanos (Kutscher et al., 2002). A estrutura molecular desta substância, ilustrada na figura 2, é similar à da testosterona, diferindo-se apenas pela substituição de um grupo metila no carbono 19. Essa diferenciação, por sua vez, forma um novo centro assimétrico, capaz de conferir ao DN um maior poder anabólico (Herrera et al. 2008).

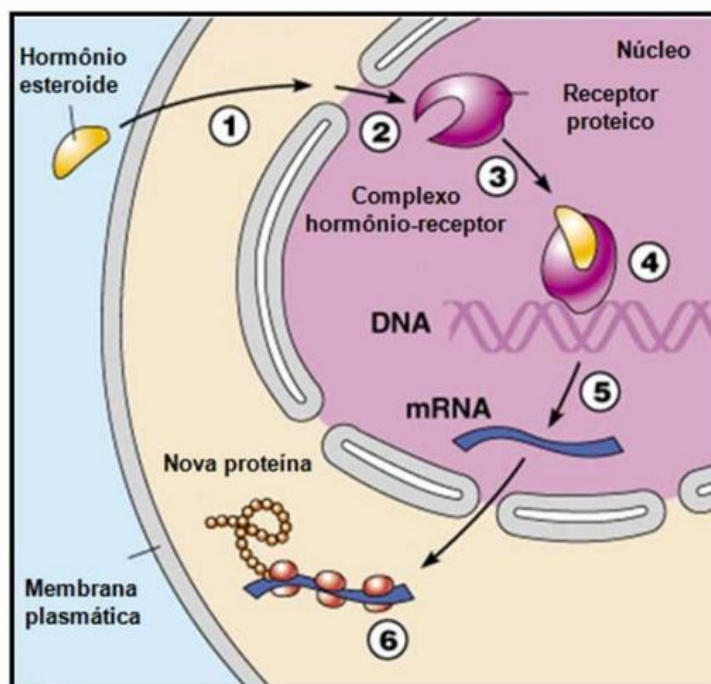
Figura 2. Fórmula estrutural das moléculas de testosterona e de Decanoato de Nandrolona.



Fonte: Adaptado de Neves et al., 2015.

Em geral, o DN é administrado pela via injetável intramuscular, sendo lentamente absorvido do músculo para a corrente sanguínea, gerando efeitos sistêmicos. A estrutura molecular de ambas as substâncias – testosterona e DN – apresenta característica apolar, tornando-as aptas a atravessar barreiras entre capilares e os respectivos tecidos-alvo. Sob a ótica celular, este atributo lipofílico confere a capacidade de permear a membrana plasmática e atingir o citosol sem a necessidade de interação com proteínas de membrana. Assim, quando atravessa a membrana plasmática, o hormônio se acopla ao seu receptor nuclear (Figura 3). No coração, particularmente, há receptores androgênicos localizados em cardiomioblastos, cardiomiócitos adultos, células endotéliais e em fibroblastos (Marsh et al., 1998). Estes, por sua vez, desfazem a ligação com a proteína chaperona que os mantinham quiescentes, facilitando a dimerização do receptor à substância andrógena. O receptor é, então, conduzido ao material genético da célula através de miofilamentos do citoesqueleto, tornando-se apto então a promover sua atividade de transcrição através da ativação de genes atrelados a elementos responsivos aos andrógenos. Este processo, por sua vez, promove aumento da expressão de RNA mensageiro e, então, resulta em tradução na proteína-alvo pelos ribossomos (Shaffer et al., 2004).

Figura 3. Representação esquemática dos aspectos farmacodinâmicos dos EAAs.



Legenda: Estas substâncias são capazes de permear a membrana plasmática (1) com facilidade por serem apolares. No citoplasma, ligam-se aos seus receptores de andrógenos (2), resultando no desacoplamento das proteínas de choque térmico que mantinham tais receptores quiescentes. Assim, forma-se um homodímero que é transportado até o núcleo celular (3). O receptor de andrógenos interage com o DNA (4), induzindo à formação de RNAs mensageiros (5) que posteriormente serão transcritos em novas proteínas (6). Fonte: Addison Wesley Longman, Inc, 1999.

Além deste mecanismo de ação anteriormente descrito, há também o mecanismo de ação indireta da testosterona e do DN. Este não depende da interação hormônio – receptor androgênico, mas sim, da interação com outros fatores tróficos, bem como pela interação das substâncias andrógenas com receptores de glicocorticoide, que atuam inibindo a degradação de proteínas (Venâncio et al., 2010).

Quando comparado a outros EAAs, o DN apresenta fortes efeitos anabólicos, mas fracos efeitos androgênicos. A baixa androgenicidade desta droga pode estar relacionada à sua inativação pela 5 α -redutase – enzima que converte a testosterona em di-hidrotestosterona, hormônio andrógeno considerado mais potente que a própria testosterona. Sendo assim, ao invés de ser transformado em di-hidrotestosterona, o DN ao ser metabolizado é convertido em 5 α -diidronandrolona, 19-norandrosterona e 19-noreticolanolona. Acredita-se, portanto, que esse mecanismo bioquímico resulte em menor incidência e magnitude de efeitos colaterais usualmente perceptíveis nos EAAs (Patanè et al., 2020).

O DN, assim como outros EAAs, é clinicamente utilizado para o tratamento de hipogonadismo em homens. Além disso, seu uso *off-label* tem sido reportado para

preservar a perda de massa muscular em pessoas que convivem com a síndrome da imunodeficiência adquirida associada à síndrome de emaciação – em que ocorre considerável perda de massa muscular no paciente acometido (Basaria et al., 2001).

A utilização do DN para fins estéticos e de performance, por sua vez, é normalmente periodizada em ciclos que podem durar de 6 a 12 semanas, com doses sendo aumentadas em forma de pirâmide a cada ciclo, na tentativa de maximizar o número de receptores androgênicos (Patanè et al., 2020).

Devido aos graves riscos para a saúde que o DN pode acarretar, a utilização que extrapola os fins clínicos é proibida por lei em diversos países. Além dos efeitos mais visados, como aumento da massa e força muscular - o que tornou esta droga popular -, a exposição crônica ao DN pode acarretar danos a diversos sistemas, a exemplo da infertilidade, toxicidade hepática, dislipidemias, acne vulgar, ginecomastia e alopecia (Bond et al., 2022; Patanè et al., 2020).

2.3.1 Decanoato de nandrolona e coração

No que concerne especificamente ao coração, diversas alterações secundárias ao uso abusivo de DN também foram documentadas. Dentre as mais comuns, destacam-se a hipertensão, insuficiência cardíaca congestiva, cardiomiopatias, arritmias e até morte súbita (Fineschi et al., 2007).

Além disso, também são comumente evidenciadas alterações a nível tecidual do coração, como a hipertrofia cardíaca patológica, o aumento da deposição de colágeno na matriz extracelular e um desequilíbrio nas miocinas cardíacas, de modo a prevalecer um perfil pró-inflamatório (Franconi et al., 2013).

A hipertrofia cardíaca está associada com o aumento da eficiência de contração da musculatura, como resultado do aumento do número de proteínas contráteis. No caso particular da administração de EAAs, esse fenômeno ocorre de forma patológica, uma vez que há um aumento concêntrico do músculo cardíaco com redução de suas cavidades, associado ao aumento do depósito de colágeno tecidual, inchaço e alongamento mitocondrial, indicando estágios iniciais da insuficiência cardíaca (Kraemer et al., 2002).

Esses achados, todavia, não são consensuais nos estudos, uma vez que dependem do tempo de exposição à droga, associação a outros tratamentos como, por exemplo, o exercício físico, dosagem aplicada, dentre outros. Para ilustrar esta

assertiva, em um estudo conduzido por Seara e colaboradores (2019), ratos tratados semanalmente com 10 mg/kg de DN por 8 semanas não apresentaram hipertrofia cardíaca. Contudo, foram documentados distúrbios eletrofisiológicos e alterações no mecanismo de acoplamento excitação-contração secundários ao tratamento, a exemplo de: diminuição da densidade de corrente transitória de efluxo de potássio, aumento da corrente de Ca^{2+} do tipo L, redução da liberação de Ca^{2+} pelo retículo sarcoplasmático e aumento da sensibilidade dos miofilamentos contráteis ao Ca^{2+} pelos miócitos cardíacos. De acordo com os autores, esse conjunto de alterações induzidas pelo DN, portanto, podem ser associados a um desequilíbrio autonômico caracterizado por aumento da atividade simpática e/ou redução do tônus parassimpático, o que favorece o surgimento de alterações mecânicas e rítmicas, como redução da velocidade de relaxamento ventricular e aumento do risco de arritmias cardíacas, respectivamente.

Outros fatores foram analisados por Nascimento e colaboradores (2016), os quais aplicaram maior concentração semanal de DN (20 mg/kg), porém em um período de apenas quatro semanas, em ratas. Este esquema de administração resultou em alterações hemodinâmicas, tais como aumento da pressão sistólica no VE, da contratilidade e relaxamento cardíacos. Esses resultados vieram acompanhados de incrementos na expressão da SERCA2a e da FLB fosforilada, o que torna otimizado o processo de recaptção do Ca^{2+} pelo retículo sarcoplasmático. O estudo, entretanto, não apresentou qualquer diferença na expressão de NCX, nem mesmo nos animais que receberam o DN de forma associada a um protocolo de treinamento resistido.

Dentre as explicações possíveis para esses achados, reforça-se a hipótese de que o DN pode suscitar alterações autonômicas no sistema cardiovascular, especialmente o aumento da atividade simpática e redução parassimpática. Esta hipótese decorre do fato de que o estímulo beta-adrenérgico é capaz de incrementar a capacidade contrátil e de relaxamento cardíacos através das alterações na movimentação iônica do cálcio advindo do retículo sarcoplasmático. Além disso, o aumento da fosforilação da FLB é notável no processo de estimulação beta-adrenérgica pelas catecolaminas, sendo, portanto, um importante fator de aumento da velocidade de contração miocárdica (Miyakoda et al., 1987; Nascimento et al., 2016).

Outro fator a ser considerado é que a administração dos EAAs para fins de estética e performance, em geral, é acompanhada pela prática de exercícios físicos, sobretudo o TR. Apesar deste promover adaptações fisiológicas ao coração, a utilização das drogas em questão pode promover uma atenuação de tais efeitos benéficos, ou até mesmo promover adaptações patológicas (Melchert; Welder, 1995).

Sabe-se que animais submetidos ao treinamento resistido (TR) desenvolvem hipertrofia ventricular esquerda concêntrica, e essa adaptação pode ocorrer em diferentes intensidades de treinamento, independentemente da administração concomitante ou não de EAAs (Tanno et al., 2011). Até mesmo em outras modalidades de exercício, como o de resistência aeróbia, a exemplo de corrida ou natação, está presente a hipertrofia cardíaca concêntrica promovida pelo DN (Abdollahi et al., 2016; Bavarati et al., 2015; Binayi et al., 2016).

No que concerne à regulação autonômica do coração, sabe-se que o exercício físico é considerado uma importante ferramenta para incrementar a modulação parassimpática - o que é considerada uma adaptação benéfica e capaz de reduzir a morbimortalidade cardíaca (Zaniquelli et al., 2014). Contudo, quando associado ao uso abusivo de DN, o efeito cardioprotetor não apenas foi suprimido, como também foi identificada a presença de disautonomias cardíacas já bem estabelecidas, a exemplo da redução da modulação parassimpática cardíaca (Marocolo et al., 2019).

Apesar do mecanismo pelo qual os EAAs estão associados a alterações do sistema nervoso autonômico não estar ainda bem elucidado, acredita-se que existem receptores androgênicos em diversas áreas cerebrais envolvidas na regulação autonômica. Dessa forma, o EAA circulante poderá se ligar a tais receptores e provocar alterações importantes neste quesito, sobretudo no controle parassimpático do coração (Guyenet, 2006).

Em relação ao efeito combinado do DN e o TR sobre os mecanismos envolvidos no acoplamento excitação-contração cardíaco, um dos estudos anteriormente mencionados, conduzido por Nascimento et al. (2016), utilizaram um protocolo de exercício composto por saltos com anilhas de chumbo acopladas ao tórax das ratas. O protocolo de exercício aumentou a contratilidade miocárdica, mensurada por meio de cateterização ventricular esquerda, assim como a expressão de NCX e de FLB fosforilada, enquanto os animais que receberam o DN – isoladamente ou associado ao exercício físico – não apresentaram alterações na expressão de NCX, ao passo que também obtiveram aumentos na FLB fosforilada. Além disso, estes

animais tratados com DN – associadamente ou não ao treinamento físico - também apresentaram aumento da contratilidade miocárdica, mas este aumento foi menos expressivo do que o grupo que foi submetido somente ao protocolo de treinamento físico.

Esse estudo foi um dos pioneiros a verificar o comportamento do mecanismo de acoplamento excitação-contração cardíaco em animais submetidos à administração de DN e ao treinamento resistido. Embora ele forneça dados importantes, ainda há lacunas na literatura científica referentes ao comportamento de cardiomiócitos isolados diante dos tratamentos em questão. Ademais, a revisão de literatura também evidenciou que há uma carência substancial de estudos que abordem os possíveis efeitos do TR associado ao DN sobre, especificamente, o VD. Dadas as diferenças funcionais entre as câmaras, a sobrecarga pressórica sistêmica é elevada no TR, requisitando que o VE suplante pressões ainda maiores para manter o funcionamento do sistema cardiovascular. Esse estímulo, portanto, faz com que sejam esperadas respostas mais pronunciadas neste ventrículo (Dantas et al., 2021; Nascimento et al., 2016), de modo que o VE passou a ser o foco em grande parte dos estudos envolvendo EAAs e TR. Todavia, faz-se importante investigar as possíveis alterações especificamente sobre o VD, a fim de melhor elucidar o impacto destas intervenções sobre o coração.

2.4. Balanço redox

A produção de radicais livres de oxigênio, nitrogênio e ferro decorre de distintos mecanismos bioquímicos que são essenciais para a homeostase, mas que, em condições de desequilíbrio, podem suscitar efeitos deletérios para o organismo (Moncada; Higgs, 1993; Draper; Hadley, 1990; Halliwell; Gutteridge, 1985).

Os radicais livres de oxigênio são resultantes de reações de redução incompleta do oxigênio durante a cadeia respiratória mitocondrial, de modo que o ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$) é gerado pela ação da NADPH oxidase, por enzimas mitocondriais ou por outros sistemas redox. Esse radical pode, por sua vez, gerar outros intermediários altamente reativos, como o radical hidroxila ($OH^{\bullet}$) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Halliwell; Gutteridge, 2015).

Os radicais livres de nitrogênio são sintetizados principalmente pela enzima óxido nítrico sintase, desempenhando papéis importantes na regulação da pressão

arterial e na resposta imunológica. Dentre esta classe de radicais livres, destaca-se o óxido nítrico (NO) que, quando combinado ao superóxido, pode formar o peroxinitrito (ONOO⁻), um radical extremamente reativo e capaz de induzir danos às biomoléculas (Moncada; Higgs, 1993).

Por fim, os radicais livres de ferro são gerados pela redução de íons férricos, estando associados principalmente à peroxidação lipídica. Esses radicais podem promover a formação de radicais hidroxila através da reação de Fenton, exacerbando os danos celulares (Halliwell; Gutteridge, 1985).

O termo “estresse oxidativo” advém das circunstâncias nas quais há uma produção aumentada de radicais livres, que resulta em dano tecidual, produção de compostos tóxicos ou propriamente danosos aos tecidos. Um dos principais mecanismos de dano é a peroxidação lipídica, em que ocorre a oxidação da camada lipídica celular, podendo também ocorrer alterações estruturais nas proteínas e DNA celular (Halliwell; Gutteridge, 1985; Sies, 1993; Halliwell; Gutteridge, 2015).

Esses danos moleculares ocorrem porque as espécies reativas anteriormente descritas são capazes de gerar abstração de hidrogênio ou adição de insaturações nas membranas-alvo (Barreiros et al., 2006), estando associado a estados inflamatórios presentes em diversas doenças, como distúrbios cardiovasculares, resistência à insulina, neoplasias, dentre outras (Powers; Talbert; Adhiketty, 2011).

Para evitar ou minimizar a ocorrência de estresse oxidativo, existem mecanismos de defesa antioxidante. Estes têm a função de controlar os níveis intracelulares de tais espécies reativas, reduzindo a ocorrência de danos às células, através de substâncias capazes de inibir a oxidação por neutralizarem a ação dos radicais livres (Shami; Moreira, 2004; Bianchi; Antunes, 1999).

O sistema de defesa antioxidante pode ser subdividido em enzimático e não-enzimático. Este último é constituído por substâncias antioxidantes que podem ter origem endógena ou dietética, a exemplo de vitaminas, minerais e compostos fenólicos. Já o sistema enzimático inclui três principais enzimas: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx), que atuam de forma coordenada na detoxificação das EROs (Yu, 1996; Cavalcanti et al., 2004).

A SOD catalisa a dismutação do $O_2^{\bullet-}$, uma das primeiras espécies reativas formadas no metabolismo celular, transformando-o em H_2O_2 e O_2 (Fridovich, 1981). Em seguida, o H_2O_2 produzido é degradado por duas vias principais: pela CAT, que converte duas moléculas de H_2O_2 em água e oxigênio, atuando principalmente em

peroxissomos e em concentrações mais elevadas do peróxido (Cheeseman; Slater, 1993); e pela GPx, que reduz H_2O_2 e também lipoperóxidos orgânicos, (Brigelius-Flohé, 2006). A ação da GPx é especialmente relevante em condições fisiológicas, onde níveis mais baixos de H_2O_2 precisam ser controlados com alta especificidade e em diferentes compartimentos celulares.

A expressão destas enzimas é, portanto, um dos mecanismos de avaliação do balanço redox. Para além delas, existem outros biomarcadores que indicam o grau de dano oxidativo às biomoléculas. Dentre os principais, destacam-se: o malonaldeído (MDA), que é um subproduto da peroxidação lipídica, sendo amplamente utilizado como um marcador de danos a membranas celulares (Esterbauer et al., 1991); e a proteína carbonilada (PC), que reflete modificações oxidativas em proteínas estruturais e funcionais (Dalle-Donne et al., 2003). Além disso, pode-se mensurar também a capacidade antioxidante total do organismo através do método FRAP (*Ferric reducing ability of plasma*), que mede a capacidade redutora total do plasma frente a íons férricos, refletindo de forma indireta o status antioxidante do organismo (Benzie; Strain, 1996).

2.4.1. Balanço redox e acoplamento excitação-contração do coração

Disfunções no balanço redox do coração pode suscitar efeitos adaptativos positivos ou deletérios, a exemplo da modulação do acoplamento excitação-contração, hipertrofia cardíaca e até mesmo morte celular programada (Santos et al., 2011).

Em se tratando, especificamente, do ciclo de acoplamento excitação-contração e da contratilidade celular cardíaca, as EROs podem alterar a estrutura e a função de proteínas envolvidas no trânsito do Ca^{2+} , através de modificações oxidativas pós-traducionais (Kholler et al., 2014; Perjés et al., 2012; Santos et al., 2011; Zima; Blatter 2006). Essas modificações incluem, por exemplo, a carbonilação e nitratação resíduos de cisteína, metionina e tirosina, podendo culminar em alterações da conformação tridimensional das proteínas, levando à inativação funcional das mesmas (Santos et al., 2011; Zima; Blatter 2006). Todavia, os estudos ainda não dispõem de um consenso acerca do efeito de tais espécies reativas sobre as proteínas moduladoras do ciclo, uma vez que já foi relatado que as mesmas podem inibir, estimular ou não ter efeito sobre a atividade dos RyR2, da SERCA2a e dos canais de cálcio do tipo L,

por exemplo (Kholer et al., 2014; Perjés et al., 2012; Santos et al., 2011; Zima; Blatter 2006).

Na membrana celular do cardiomiócito, o aumento da produção de $O_2^{\bullet-}$ pela NADPH oxidase ativa a via da endotelina-1, a qual induz a ativação dos canais de cálcio do tipo L. Por conseguinte, há um aumento do influxo de Ca^{2+} para o interior da célula (Zeng et al., 2008). Em condições de estresse oxidativo prolongado, observaram-se também modificações oxidativas pós-traducionais irreversíveis nos canais de cálcio do tipo L, especialmente a carbonilação de resíduos de lisina, arginina, prolina e treonina. Como consequência, ocorre uma alteração estrutural no canal, gerando uma abertura prolongada ou disfunção de fechamento, resultando em aumento prejudicial na corrente de Ca^{2+} mediada por esses canais, o que favorece o aparecimento de disfunções contráteis e arritmias (Muralidharan et al., 2017).

Ainda no tocante à membrana plasmática celular, o estresse oxidativo pode reduzir significativamente a atividade do NCX por meio da oxidação de resíduos específicos da proteína, o que compromete sua estrutura e diminui sua afinidade pelo Ca^{2+} . Com isso, a remoção de Ca^{2+} do citosol para o meio extracelular após a contração torna-se ineficiente, promovendo acúmulo intracelular do íon. Esse desequilíbrio no manuseio do cálcio contribui para disfunções na contratilidade miocárdica, favorecendo o desenvolvimento de arritmias e, em casos mais graves, levando à morte celular (Hilge, 2012; Lehotský et al., 1999). (Hilge, 2012; Lehotský et al., 1999).

Do ponto de vista intracelular, há evidências de que o aumento da atividade endógena da NADPH oxidase no retículo sarcoplasmático inibe a ação do RyR2, gerando uma diminuição da liberação do Ca^{2+} para o sarcoplasma (Akki et al., 2009). Além disso, a exposição prolongada a níveis elevados de EROs pode levar à inibição irreversível do RyR2 (Yan et al. 2008). Outros estudos, entretanto, abordam que em condições patológicas, como na cardiomiopatia diabética do tipo 2 (Popescu et al., 2019; Sommese et al., 2016) e nas doenças isquêmicas do coração (Muralidharan et al., 2017), o estresse oxidativo leva à oxidação parcial e hiperfosforilação do RyR2, aumentando sua probabilidade de abertura espontânea, e diminuição da atividade da SERCA2a pela oxidação de seus resíduos, gerando um acúmulo de Ca^{2+} no citosol (Gómez-Viquez et al., 2023). Esta relação entre as cardiopatias e o balanço redox sobre a contratilidade celular ainda não está bem elucidada, uma vez que as disfunções promovem outras modificações pós-traducionais em proteínas envolvidas

no acoplamento excitação-contração, como a hiperfosforilação, que podem mascarar o efeito do estresse oxidativo propriamente (Niggli et al., 2013).

O papel das modificações oxidativas sobre a SERCA2a também é dependente da exposição da proteína aos radicais livres. Em pequenas quantidades, as EROs podem aumentar a atividade desta ATPase, ao passo que grandes quantidades podem inativá-la de forma irreversível (Santos et al., 2011). Em quadros de síndrome metabólica, observou-se que a oxidação da SERCA2a reduziu sua atividade e, somada à diminuição da fosforilação da FLB, houve relaxamento celular prolongado e transientes de Ca^{2+} sistólicos (Carvajal et al., 2014; Balderas-Villalobos et al., 2013).

Ainda nessa perspectiva, evidências indicam que o estresse oxidativo pode reduzir os níveis de fosforilação da FLB, em razão da oxidação de resíduos sensíveis nas quinases reguladoras, como a PKA e a CaMKII, além da modificação oxidativa da própria FLB. A menor fosforilação da FLB intensifica sua ação inibitória sobre a SERCA2a, prejudicando a recaptura de Ca^{2+} pelo retículo sarcoplasmático e contribuindo para disfunções tanto diastólicas quanto sistólicas. Esses mecanismos, todavia, ainda não se encontram completamente elucidados (Balderas-Villalobos et al., 2013). Assim, a alteração do estado redox celular compromete o balanço entre fosforilação e desfosforilação da FLB, favorecendo sua ação inibitória sobre a SERCA2a. Como consequência, há prejuízo na remoção e no armazenamento de Ca^{2+} , o que compromete tanto o relaxamento quanto a força de contração cardíaca, especialmente em estágios iniciais de doenças cardiometabólicas (Carvajal et al., 2014).

2.4.2. Balanço redox, decanoato de nandrolona e coração

O DN pode induzir a disfunção redox através de mecanismos genômicos e não-genômicos. Quando o DN se liga a um receptor androgênico, o complexo é translocado para o núcleo celular, podendo induzir ao aumento da expressão do RNA mensageiro (mRNA) da NADPH oxidase e de sua subunidade NOX2 (Frankenfeld et al., 2014; Ko et al., 2014; Chignalia et al., 2012). Além disso, o DN atua na fosforilação da p47phox, uma das subunidades da NADPH oxidase, resultando na ativação da enzima e, conseqüentemente, aumentando a produção de radicais livres (Costa et al., 2015; Ko et al., 2014; Chignalia et al., 2012).

No que concerne especificamente ao miocárdio, este tecido apresenta um elevado consumo de oxigênio, de modo que a homeostase redox é um fator crucial para manter sua função bioenergética e integridade estrutural. Neste sentido, este órgão é particularmente vulnerável ao aumento da produção de EROs comumente induzidas pelo DN (Frankenfeld et al., 2014; Chaves et al., 2013).

Estudos apontam que uma única dose suprafisiológica de compostos derivados da testosterona são capazes de reduzir a expressão de enzimas antioxidantes, como SOD, CAT e GPx, bem como aumentar a produção de radicais livres de oxigênio nos tecidos cardíaco e vascular (Skogastierna et al., 2014; Jacob et al., 2008). Uma possível explicação para a redução das enzimas em questão é pela citotoxicidade dos metabólitos derivados do DN, mas o mecanismo que subsidia estas alterações ainda não está bem descrito (Magalhães et al., 2020; Nikolic et al., 2016).

Os efeitos do DN sobre o balanço redox no coração são dependentes não apenas da dosagem da droga, mas também da presença de terapias ou disfunções clínicas adjuvantes. No estudo de Chaves e colaboradores (2013), a dose de 10 mg/kg/semana de DN ao longo de oito semanas promoveu significativa redução da atividade da SOD e da glutathione redutase (GR) no tecido cardíaco em ratos submetidos a um protocolo de isquemia/reperfusão. Esses efeitos se mostraram ainda mais acentuados em animais que receberam treinamento físico aeróbico em esteira pelo mesmo período, indicando que doses suprafisiológicas de DN podem neutralizar os efeitos benéficos do exercício sobre a atividade antioxidante miocárdica.

Em contrapartida, outro estudo (Frankenfeld et al., 2014) demonstrou que a mesma dose de DN também aplicada ao longo de 8 semanas não gerou alterações na atividade da SOD no coração, a despeito do aumento na produção de H_2O_2 . Esse achado sugere que, a depender do contexto, o aumento do estresse oxidativo pode preceder ou até mesmo não desencadear alterações imediatas nas enzimas antioxidantes cardíacas. Todavia, os mecanismos compensatórios subjacentes a esta hipótese permanecem carentes de elucidação.

Ao comparar diferentes dosagens de DN (4 mg/kg *versus* 10 mg/kg) ao longo de seis meses, Vasilaki e colaboradores (2016) observaram que as doses mais altas aumentaram os níveis de peroxidação lipídica no coração, bem como reduziram a atividade da CAT no coração de coelhos. Nos animais que receberam as dosagens mais baixas de forma crônica, por sua vez, os biomarcadores de estresse oxidativo não sofreram modificações em sua expressão.

Por fim, o estudo conduzido por Nikolick et al. (2015) avaliou o efeito de 20 mg/Kg de DN ao longo de 4 semanas no coração de ratos, associando ao treinamento de natação. Os resultados demonstraram que o DN, isoladamente, exerce um efeito pró-oxidativo, culminando em aumento dos níveis de peroxidação lipídica, redução dos níveis de GSH e queda da atividade da SOD. Contudo, um importante achado diz respeito ao fato de que, em ambos os grupos treinado e não-treinado, não houve diferença significativa entre os níveis de H_2O_2 e $O_2^{\bullet-}$, sendo um indício de que o desequilíbrio redox pode estar mais relacionado à insuficiência das defesas antioxidantes do que propriamente ao aumento na produção de espécies reativas.

Os estudos supracitados trazem importantes *insights* sobre os mecanismos de ação envolvidos na interação entre DN e balanço redox. Contudo, observa-se grande heterogeneidade em relação à dose aplicada e ao número de semanas de tratamento. Além disso, não foram identificados trabalhos que comparem diretamente as respostas do VE *versus* o VD em relação às alterações redox mediadas pelo uso de DN. Essa lacuna limita a compreensão integral dos efeitos regionais do anabolizante no coração, especialmente considerando que cada ventrículo apresenta características estruturais e funcionais distintas, que podem influenciar sua vulnerabilidade ao estresse oxidativo (Campos et al., 2025). Dessa forma, a presente tese visa a contribuir para o preenchimento desta lacuna, avaliando de forma comparativa o balanço redox no ventrículo esquerdo e direito após administração de DN.

2.4.3. Balanço redox e treinamento físico resistido

A realização de exercício físico acarreta um aumento da demanda energética nos tecidos e órgãos que estão sendo estimulados, ocorrendo maior consumo de oxigênio e, portanto, favorecendo a formação de radicais livres de oxigênio (De Moraes; Sampaio, 2010; Souza; Fernandes; Cyrino, 2006). Dentre os mecanismos que subsidiam o aumento de tais espécies reativas no TR, destacam-se: o fenômeno de isquemia e reperfusão, a resposta inflamatória e o estímulo ao metabolismo mitocondrial (Vollaard; Shearman; Cooper, 2005).

Durante a realização de sessões de TR, os tecidos musculares podem passar por breves condições de hipóxia devido à compressão dos vasos sanguíneos durante a contração, reduzindo a disponibilidade de oxigênio (Kraemer, 2002). No período de

relaxamento, esses tecidos são reperfundidos, recebendo grande quantidade de oxigênio. A este fenômeno, dá-se o nome de isquemia e reperfusão (Finaud; Lac; Filaire, 2006). Neste ciclo, a demanda energética tecidual aumenta rapidamente, fazendo com que o organismo recorra a vias anaeróbicas de rápida degradação das moléculas de adenosina trifosfato (ATP), resultando em metabólitos como a hipoxantina. Em condições de hipóxia tecidual, como ocorre nas contrações intensas, esse acúmulo não é imediatamente metabolizado. Na reperfusão, a enzima xantina oxidase utiliza o oxigênio molecular como aceptor de elétrons, de modo a converter a hipoxantina em xantina e, como produto secundário, transforma o O_2 em O_2^- , gerando um pico de produção de EROs (Sjodin; Westing; Apple, 1990).

Contrações musculares intensas, tais quais as realizadas no TR, promovem microlesões nas fibras musculares. Essas lesões desencadeiam uma resposta inflamatória local com liberação de citocinas pró-inflamatórias e recrutamento de neutrófilos e macrófagos para o tecido muscular danificado (Tidball, 2005). Durante o processo de fagocitose e remoção dos resíduos celulares, essas células ativam a enzima NADPH oxidase que, conforme anteriormente descrito, atua na geração de EROs, como o O_2^- (Peake et al., 2017).

Outro mecanismo de aumento da formação de radicais livres durante o TR é a elevação significativa da atividade mitocondrial, especialmente durante as pausas entre séries e após o exercício, visando à reposição dos estoques de ATP. Esse aumento no fluxo de elétrons pela cadeia transportadora mitocondrial eleva a probabilidade de vazamento eletrônico, resultando, pois, na formação de O_2^- a partir da redução parcial do oxigênio molecular presente nas reações (Powers; Jackson, 2008).

Apesar de potencialmente lesivas, o aumento da produção de EROs durante o TR exerce importante papel na sinalização celular que culmina na síntese proteica, remodelamento muscular após o exercício, além do aumento da atividade do sistema de defesa antioxidante (Radak et al., 2013). Este tem importante papel para manter a homeostase redox nos tecidos submetidos a agentes causadores de estresses, a exemplo dos músculos recrutados durante o estresse intermitente do exercício físico (Jackson, 1999). Sendo assim, acredita-se que o TR regular e de intensidade moderada possa gerar um efeito protetor contra o estresse oxidativo, graças ao aumento da atividade do sistema antioxidante (De Moraes; Sampaio, 2010).

Estudos em modelos animais demonstram que o TR pode atenuar o estresse oxidativo cardíaco em diferentes condições fisiopatológicas. Ahmadiasl et al. (2012) investigaram os efeitos de um protocolo de agachamento em ratos Wistar saudáveis, que consistia em 4 séries de 12 repetições com 70% da carga máxima suportada, sendo 6 sessões semanais de treinamento ao longo de 1 ou 3 meses. Observou-se que, em ambos os grupos, houve aumento da eficiência contrátil do coração, sem alterações significativas nos marcadores de estresse oxidativo MDA, SOD, GPx e CAT. Os achados indicaram que o TR moderado, mesmo a longo prazo, parece ser seguro e não induzir ao dano oxidativo ao tecido cardíaco, sugerindo, portanto, a manutenção entre o equilíbrio entre a produção de EROs e a capacidade antioxidante endógena (Miguel-dos-Santos et al., 2021; Gomes et al., 2020; Ahmadiasl et al., 2012).

No estudo conduzido por Da Palma et al. (2016), ratas hipertensas e ovariectomizadas foram submetidas a um protocolo de subida em escada vertical com intensidade progressiva de 30 a 60% do peso máximo carregado, sendo cada sessão composta por 15 subidas com um minuto de intervalo entre as séries, 5 dias por semana, ao longo de 8 semanas. Os resultados demonstraram melhora do controle autonômico cardiovascular, que apresentou forte correlação com o aumento das enzimas SOD, CAT e GPx, indicando um reforço da capacidade antioxidante intrínseca do tecido cardíaco.

Gomes et al. (2020), por sua vez, avaliaram o efeito do treinamento físico em ratos com infarto miocárdico. Neste contexto, compararam os efeitos de um protocolo de treinamento aeróbio de intensidade moderada em esteira *versus* TR com subida em escada vertical, com intensidade progressiva de 50 a 100% do peso máximo carregado, sendo ambos os protocolos realizados em frequência de 3x/semana, ao longo de 12 semanas. Verificou-se que o TR foi eficaz em melhorar a força muscular sem exacerbar o estresse oxidativo no miocárdio, embora o efeito antioxidante tenha sido mais evidente no grupo submetido ao exercício aeróbio.

A presente revisão da literatura constatou uma carência de estudos que verifiquem o efeito combinado entre o TR e a administração de DN no tecido cardíaco de ratos, com especial enfoque nas alterações da homeostase redox. Nesse contexto, identificou-se apenas o estudo de Dantas et al. (2021), em que foram verificados os efeitos da aplicação de 10 mg/kg de DN ao longo de 6 semanas em ratos, associadamente a um protocolo de TR de alta intensidade. Este consistiu em saltos submersos

em tanques de água, sendo 4 séries de 10 repetições com sobrecargas de 50 a 70% do peso corporal do animal, ao longo de 6 semanas. No tocante ao balanço redox, os autores demonstraram que o uso do DN atenuou os efeitos benéficos do TR sobre a expressão de enzimas antioxidantes no ventrículo esquerdo, como a SOD, a peroxirredoxina-5 e a glutational S-transferase. Além disso, o tratamento com nandrolona suprimiu a expressão de canais iônicos e proteínas associadas à defesa antioxidante, indicando prejuízos à homeostase redox cardíaca. Esses achados sugerem, portanto, que a administração de altas doses de DN, quando associada ao TR, compromete as adaptações cardioprotetoras típicas do exercício, favorecendo um ambiente propício ao desenvolvimento de lesões oxidativas no tecido miocárdico.

Sendo assim, observa-se que os efeitos do TR sobre o balanço redox no coração são dependentes da intensidade, duração e condição fisiológica basal do organismo, bem como da presença ou não de agentes exógenos – tais como os EAAs. Contudo, a melhor elucidação dos efeitos combinados entre TR e EAAs – sobretudo o DN, que se constitui um dos objetos de estudo da presente tese - sobre o balanço redox no coração carece de mais estudos abordando diferentes doses aplicadas, tempo de tratamento e protocolos de treinamento distintos.

3. JUSTIFICATIVA

A utilização indiscriminada de EAAs tem sido uma prática cada vez mais difundida entre atletas e praticantes de atividade física, especialmente entre os adeptos ao TR. Nesse contexto, embora estudos pregressos já tenham observado os efeitos da utilização dessas substâncias sobre o coração, enfatizando, principalmente, a presença de hipertrofia concêntrica patológica, os trabalhos que avaliam os efeitos da combinação de tais substâncias – sobretudo o DN – com o TR ainda não foram suficientes para esclarecer os mecanismos celulares e moleculares que subsidiam as alterações cardíacas subjacentes a essas intervenções combinadas. Além disso, a investigação dos efeitos dessa associação sobre a homeostase redox pode trazer importantes informações para a compreensão dos mecanismos moleculares que conectam o desequilíbrio redox às alterações estruturais e funcionais no tecido cardíaco.

A literatura demonstra que o uso abusivo de EAAs está fortemente associado a efeitos deletérios sobre o sistema cardiovascular, incluindo hipertensão arterial, disfunção endotelial, arritmias, remodelamento cardíaco patológico e aumento do risco de eventos cardiovasculares graves, como infarto do miocárdio e morte súbita. Tais consequências reforçam a relevância de se investigar, de forma controlada, os mecanismos pelos quais essas substâncias comprometem a função cardíaca, uma vez que o impacto clínico para o indivíduo pode ser severo e potencialmente irreversível.

Em seres humanos, esta investigação é particularmente difícil, uma vez que os estudos não conseguem controlar fatores como, por exemplo, tempo de uso, tipo de drogas, doses e protocolos de treinamento utilizados. Ademais, a população de usuários que utiliza EAAs de forma indiscriminada realiza seu próprio ciclo anabólico utilizando uma vasta quantidade de drogas com coquetéis e doses bastante heterogêneas. Nessa perspectiva, os trabalhos anteriores com esta temática tiveram por amostra sujeitos que já utilizavam essas substâncias há algum tempo e de forma associada a outros anabolizantes. Salienta-se, ainda, que a dificuldade de padronização de intervenções para os sujeitos dificulta a interpretação dos dados e posterior confiabilidade dos resultados. Outra questão relevante aos estudos envolvendo utilização de EAAs em humanos são os entraves éticos e legais

associados, o que certamente dificulta a elucidação aprofundada dos mecanismos inerentes ao uso das drogas e do treinamento resistido.

Sendo assim, a pesquisa envolvendo modelos animais para a investigação dos efeitos do treinamento resistido e da utilização de DN no tecido cardíaco emerge enquanto uma possibilidade que permite solucionar algumas lacunas de difícil solução em estudos envolvendo seres humanos. Além disso, torna-se possível o controle de fatores metodológicos, farmacológicos e ambientais, a exemplo da droga utilizada, tempo de ciclo anabólico e propriedades do treinamento resistido.

Por fim, uma limitação relevante no estado da arte sobre a temática é que a maioria dos estudos concentra suas análises no VE, sem considerar possíveis diferenças regionais entre os ventrículos. Nesse contexto, há uma carência de investigações que comparem diretamente os efeitos da combinação entre TR e DN sobre o VE e o VD no tocante às análises envolvendo cardiomiócitos isolados e homeostase redox. Essa lacuna compromete uma compreensão mais abrangente dos impactos regionais dessas intervenções no coração, sobretudo ao se considerar que VE e VD possuem características anatômicas, funcionais e metabólicas distintas, que podem influenciar de maneira diferenciada sua vulnerabilidade às adaptações induzidas pelos tratamentos propostos. Diante disso, o presente trabalho propõe-se a aprofundar o conhecimento científico sobre a temática.

4. OBJETIVO GERAL

Analisar os efeitos do TR associado à administração crônica de DN sobre a morfofisiologia cardíaca, propriedades moleculares, mecânicas e balanço redox em cardiomiócitos isolados de ratos Wistar.

4.1. Objetivos específicos

Avaliar os efeitos do TR associado ao DN sobre as seguintes variáveis de ratos Wistar:

- Desempenho físico;
- Peso corporal;
- Parâmetros morfofuncionais e ecocardiográficos cardíacos;
- Parâmetros morfológicos de cardiomiócitos isolados do VE e VD;
- Parâmetros de contratilidade celular de cardiomiócitos isolados do VE e VD;
- Expressão das proteínas cardíacas reguladoras do ciclo do cálcio e moduladoras do ciclo contração-relaxamento no VE e VD: RyR2, FLB_t, NCX e SERCA2a;
- Expressão de marcadores do balanço redox no VE e VD: SOD, CAT, NO, MDA, PC, FRAP;
- Verificar o grau de associação entre as proteínas cardíacas reguladoras do ciclo de cálcio e os marcadores do balanço redox, no VE e VD.

5. HIPÓTESE

A partir do presente projeto de pesquisa, acredita-se que a associação entre DN e TR poderá resultar em alterações da morfofisiologia cardíaca, propriedades moleculares, mecânicas e balanço redox em cardiomiócitos isolados de ratos Wistar, quando comparados aos grupos não-treinados e/ou sem administração do DN.

6. MÉTODOS

6.1 Animais de experimentação e tratamentos

Todos os procedimentos da presente pesquisa foram realizados de acordo com a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou de Pesquisa Científica – DBCA (Brasil, 2022), elaborada pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. Ademais, a presente pesquisa obteve aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Viçosa, sob o número de parecer 44/2022 (Anexo A).

Foram utilizados nesta pesquisa ratos machos da linhagem Wistar, com 12 semanas de idade, que corresponde a uma fase em que os animais são considerados adultos jovens, tendo atingido a maturidade sexual e fisiológica (Caceres et al., 2015). A amostra foi advinda do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Viçosa – Minas Gerais, Brasil. Os animais ficaram dispostos em caixas coletivas, sendo 4 por caixa, e receberam água e ração *ad libitum*. Ficaram alojados em uma sala com temperatura média de 22°C e com um ciclo claro/escuro invertido, cada qual com duração de 12 horas, iniciando-se o período escuro às 06:00. Os animais foram pesados no primeiro dia de cada semana do período experimental, utilizando-se uma balança eletrônica digital (Marte – Brasil, modelo AS5500C).

6.1.1. Cálculo amostral

Para o cálculo do tamanho da amostra utilizou-se a equação (Armitage; Berry, 1987):

$$N = 2 [(Z_{2\alpha} + Z_{2\beta})\sigma/\delta]$$

Onde:

2α : nível de significância;

2β : 1 – poder do teste;

$Z_{2\alpha}$: quartil $\alpha/2$ da distribuição normal;

$Z_{2\beta}$: quartil $\beta/2$ da distribuição normal;

σ : desvio padrão;

δ : diferença a ser detectada.

$$N = 2 [(0,025+0,9)] 0,22/0,05 = 8,14$$

Nesse estudo, a variável principal para o cálculo do número de animais foi a amplitude de contração de cardiomiócitos isolados. A escolha dessa variável foi retirada de um estudo prévio (Carneiro-Júnior et al., 2013). O nível de significância adotado foi de 5% e o poder do teste de 90%. Desta forma, encontrou-se um número aproximado de 8 ratos para cada grupo experimental.

Salienta-se que, como o presente projeto utilizou células isoladas e tecidos armazenados e congelados, foi necessário duplicar o número de animais em cada grupo, posto que o processamento para coleta de células isoladas pode alterar as propriedades moleculares teciduais, impossibilitando as análises de expressão proteica.

6.2. Protocolo Experimental

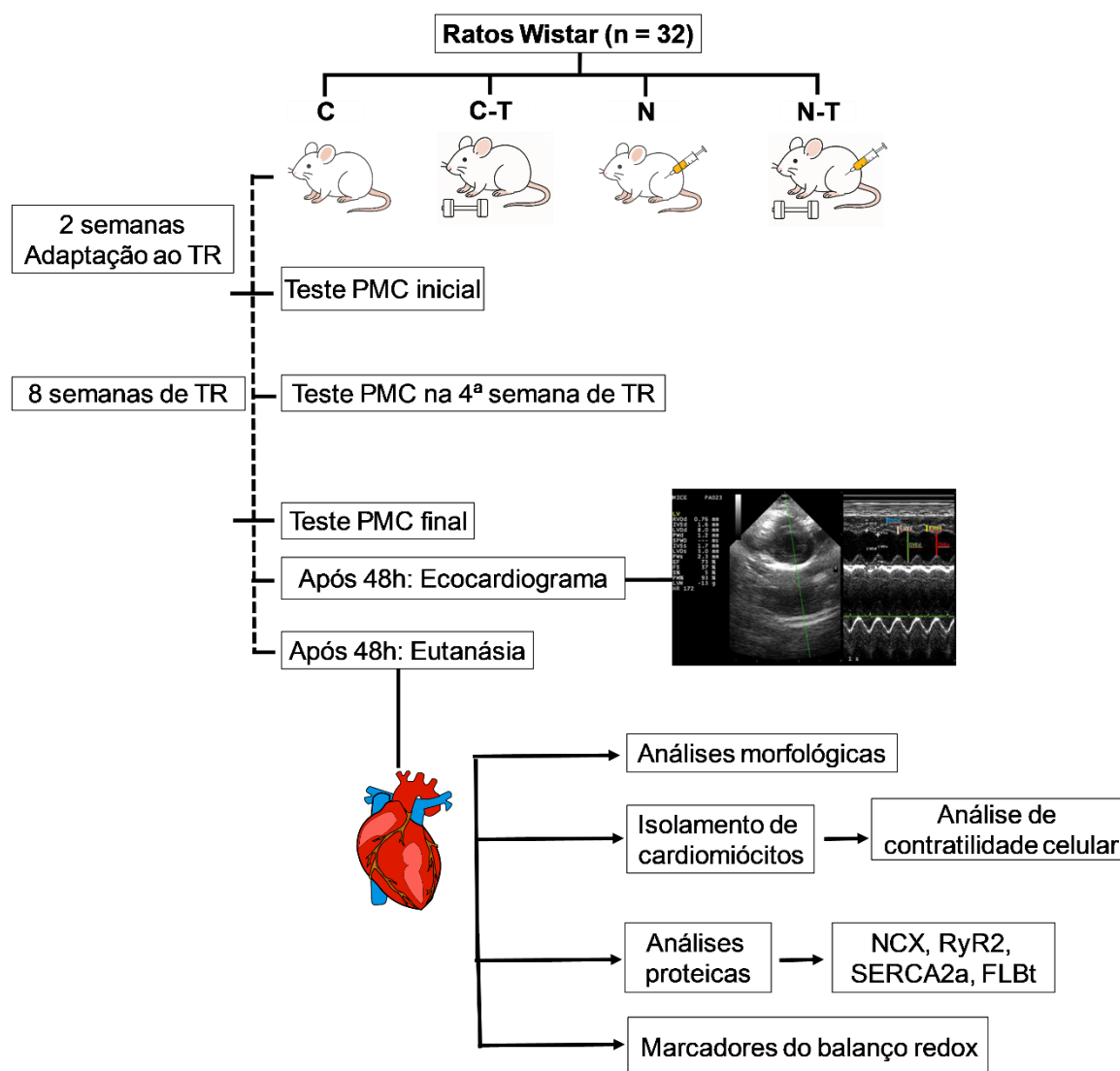
6.2.1. Grupos experimentais

Os animais foram randomicamente divididos em quatro grupos, sendo eles:

- C: animais controle submetidos à administração de solução de cloreto de sódio a 0,9%;
- C-T: animais submetidos ao programa de TR, com administração de solução de cloreto de sódio a 0,9%;
- N: animais controle submetidos à administração de DN;
- N-T: animais submetidos ao programa de TR, com administração de decanoato de nandrolona.

A figura 4 apresenta, de forma esquematizada, o protocolo experimental utilizado no presente estudo.

Figura 4. Protocolo experimental esquematizado.



Legenda: C, controle não-treinado; C-T, Controle treinado; FLBt, fosfolambam total; N, decanoato de nandrolona não-treinado; NCX, canal trocador de sódio e cálcio; N-T, decanoato de nandrolona treinado; PMC, peso máximo carregado; RyR2, canal receptor de rianodina do tipo 2; SERCA2a, isoforma cardíaca da cálcio-ATPase do retículo sarcoplasmático; TR, treinamento físico resistido. Fonte: dados da pesquisa, 2025.

6.2.2. Administração de DN

Os animais dos grupos N e N-T receberam duas doses semanais (quarta-feira e sexta-feira) de 10 mg/kg cada de DN (Deca-Durambolin®; Organon LTDA, São Paulo, Brasil), totalizando 20 mg/kg por semana, 30 minutos antes do início da sessão de treinamento, por 8 semanas. A escolha por esta dosagem se deu por mimetizar o uso abusivo da droga, em ciclos que podem variar de 6 a 12 semanas (Patanè et al.,

2020). Os estudos com modelos animais envolvendo a aplicação de DN associada a treinamento físico são variáveis, de modo que as doses semanais se apresentavam entre 5 mg/kg a 38 mg/kg de DN (Atias et al., 2025; Dantas et al., 2021; Shirpoor et al., 2019; Nascimento et al., 2016; Lima et al., 2015). Assim, a aplicação de 20 mg/kg se configura em uma faixa intermediária no espectro de dosagens aplicadas em estudos pregressos.

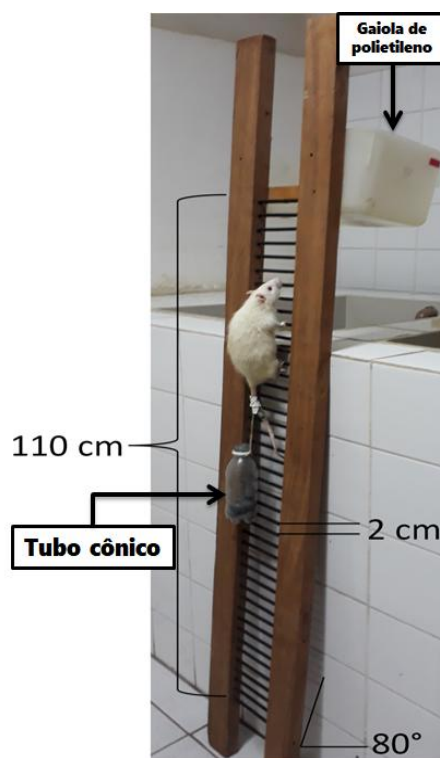
Os animais dos grupos C e C-T receberam 0,2 ml/kg de solução de cloreto de sódio a 0,9%, duas vezes por semana, 30 minutos antes do início da sessão de treinamento, por 8 semanas.

A administração das substâncias foi realizada de forma intramuscular na região posterior da coxa dos animais, com o cuidado de alternar os lados a cada administração.

6.2.3 Protocolo de treinamento físico resistido

O protocolo de TR utilizado foi adaptado do protocolo original proposto por Hornberger e Farrar (2004). Este consistiu em subida de escada vertical (figura 5) e foi dividido em etapas: adaptação, teste de peso máximo carregado (PMC) e treinamento.

Figura 5. Escada vertical e aparato de sobrecarga externa para realização do treinamento físico resistido.



Fonte: Moura, 2020.

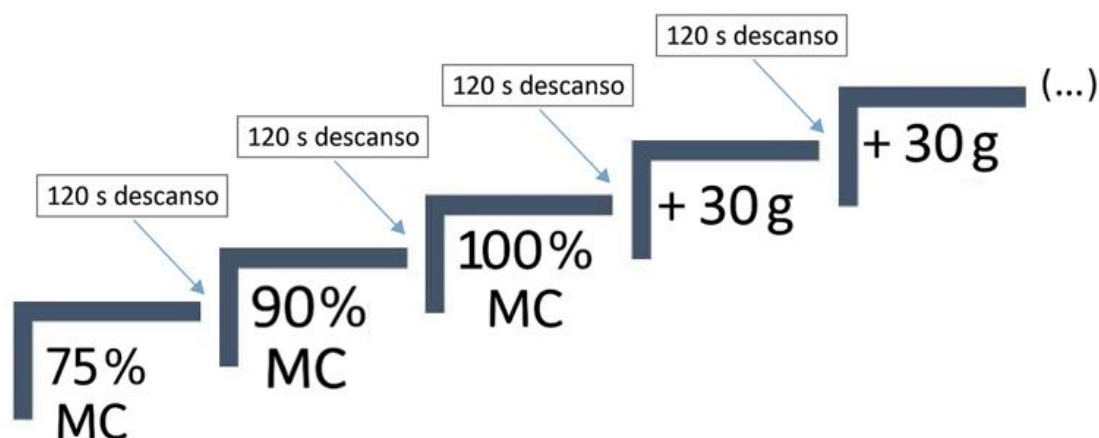
A fase de adaptação teve duração de duas semanas, com frequência semanal de três vezes. Na primeira semana, os animais foram familiarizados com o TR que consistiu em subida de escadas (1,1 x 0,18 m, 2 cm espaçamento entre os degraus da grade, 80° de inclinação). Eles foram incentivados a escalar através de um estímulo (pinçar dos dedos) em suas caudas para iniciar o movimento. No topo da escada, encontraram uma gaiola de polietileno (20 x 20 x 20 cm), onde puderam descansar por 120 segundos. Este procedimento foi repetido até que os animais voluntariamente subissem a escada três vezes consecutivas, sem o incentivo do estímulo na cauda, ao final da primeira semana.

Na segunda semana de adaptação, os ratos escalaram voluntariamente a escada em três séries, sem o incentivo do estímulo na cauda, com um aparato (tubo cônico) de 15g fixado à parte proximal da cauda com uma fita adesiva (1,5cm, 3M Tartan). Esse aparato foi, posteriormente, utilizado para aumentar a carga externa durante o período de TR.

Após três dias do fim do período de adaptação à escalada em escada vertical, foi realizado um teste de PMC (figura 6). Assim, na escalada inicial, foi aplicada 75% da massa corporal do animal, e colocou-se peso dentro do aparato fixado à cauda do

mesmo. O peso consistiu no material chumbada, comumente utilizado como isca para peixes. Uma vez que o animal conseguiu carregar esta carga com sucesso, descansou por 120 segundos e, em seguida, foi adicionada uma carga até que resultasse em 90% da massa corporal do animal. Nos casos em que os animais obtiveram êxito na escalada, o peso foi ajustado em 100% da massa corporal. Quando este peso se encontrou inferior ao PMC, foram adicionados 30 gramas em cada escalada, até que fosse alcançada uma sobrecarga que não mais permitisse a escalada pelo animal. Foi considerado PMC, portanto, o último valor que permitiu uma escalada completa pelo animal. Salienta-se que, após cada ajuste de carga, o animal descansou por 120 segundos.

Figura 6. Esquema demonstrativo do teste de peso máximo carregado pelos animais em protocolo de treinamento físico resistido com escalada em escada vertical.



Legenda: MC: Massa corporal. Fonte: dados da pesquisa, 2025.

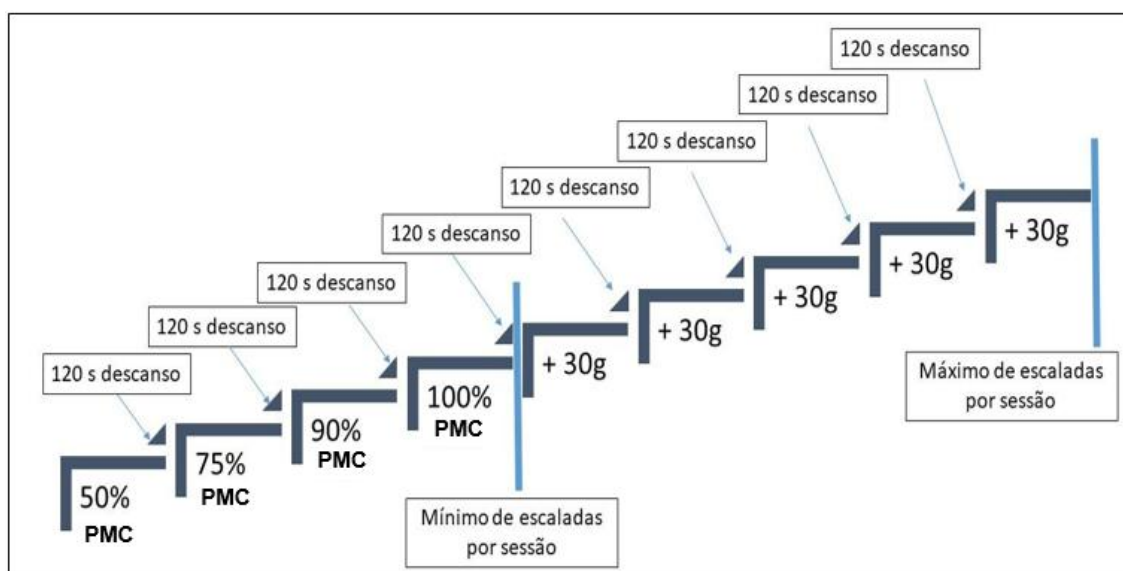
Esse mesmo teste foi realizado ao final da quarta semana de TR para reajustar a carga de treinamento; bem como ao final da oitava semana do protocolo de treinamento, a fim de verificar possíveis alterações no desempenho físico dos animais.

O TR propriamente ocorreu 48 horas após o teste de PMC. O protocolo consistiu em quatro a nove escaladas carregando progressivamente cargas mais pesadas. Nas quatro primeiras escaladas, os animais carregaram 50%, 75%, 90% e 100% do PMC. A partir da escalada subsequente, foram adicionados 30 gramas extras, até que o animal não conseguisse mais escalar ou atingisse 9 escaladas com sucesso (figura 7). O protocolo de TR ocorreu três vezes por semana, ao longo de oito

semanas. Salienta-se que, uma vez por semana ao longo das oito semanas de treinamento, os animais dos grupos não-treinados realizaram uma única escalada na escada, sem aparato de resistência, com o objetivo de se manterem familiarizados à atividade. Esta familiarização foi aplicada para evitar a perda da aprendizagem motora ao gesto da escalada, o qual poderia comprometer os resultados do teste de desempenho físico final.

O desempenho físico dos animais foi reportado utilizando-se o valor do PMC normalizado pelo peso corporal, sendo esta variável calculada ao início e ao final do experimento.

Figura 7. Representação esquemática do protocolo de treinamento resistido.



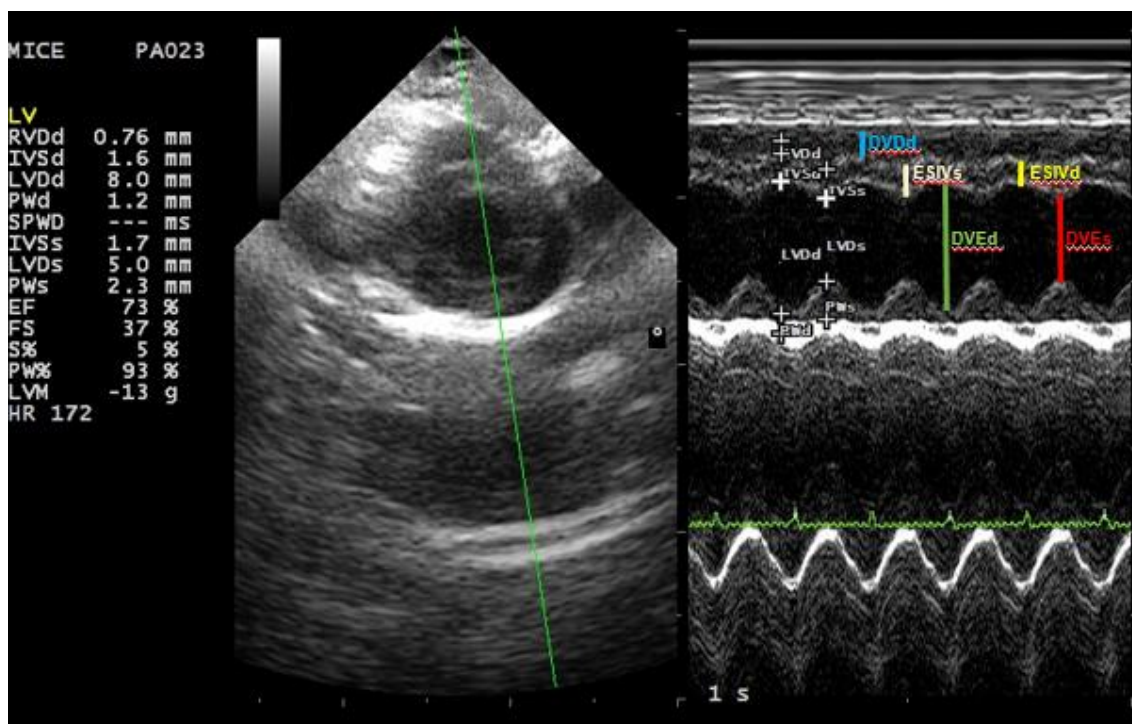
Legenda: PMC - Peso máximo carregado. Fonte: dados da pesquisa, 2025.

6.3. Ecocardiografia

Os protocolos de ecocardiografia foram realizados como descritos por Lavorato et al. (2016), sendo conduzidos por uma veterinária cardiologista. Quarenta e oito horas após a última sessão de treinamento, os animais foram anestesiados em câmara de indução com isoflurano 3% e oxigênio 100% em fluxo constante de 1 L/minuto. Para análise ecocardiográfica o agente anestésico foi administrado por um período aproximado de 3 minutos. O exame incluiu estudos bidimensionais (2D) com taxa de amostragem rápida (frame rate) de 120 fps e modo-M, usando o sistema de ultrassom (MyLabTM30 – Esaote, Genoa, Itália) com transdutor *phased array* de 11,0

MHz de frequência nominal. Os ecocardiogramas transtorácicos bidimensionais (2D) e modo-M foram obtidos com *sweep speed* de 200 mm/s e ajustados de acordo com a frequência cardíaca. As imagens foram coletadas de acordo com as recomendações da Sociedade Americana de Ecocardiografia e armazenadas para análise posterior (figura 8). Cada parâmetro foi mensurado em três ciclos cardíacos distintos e a média das medidas foi utilizada para as análises estatísticas. A espessura das paredes posterior e anterior do ventrículo esquerdo e do septo interventricular (final da diástole e final da sístole), as dimensões da câmara do ventrículo esquerdo e as frações de ejeção e de encurtamento foram mensuradas usando um método modificado preconizado pela Sociedade Americana de Ecocardiografia (Sahn et al., 1978). Os registros em modo-M foram analisados usando um sistema de análise disponível no próprio aparelho.

Figura 8. Esquema ilustrativo de parâmetros ecocardiográficos analisados.



Legenda: ESId – Espessura do septo interventricular na diástole; ESIs – Espessura do septo interventricular na sístole; DVDd – Diâmetro interno do ventrículo direito na diástole; DVEd – Diâmetro interno do ventrículo esquerdo na diástole; DVEs – Diâmetro interno do ventrículo esquerdo na sístole.
Fonte: dados da pesquisa, 2025.

A avaliação da função sistólica do VD, por sua vez, foi mensurada a partir da excursão sistólica no plano anular da válvula tricúspide (TAPSE – *Tricuspid Annular Plane Systolic Excursion*). Para tanto, utilizou-se o modo M com cursor posicionado

na porção lateral do plano anular da tricúspide. Assim, obteve-se o encurtamento da base para o ápice durante a sístole, identificando o ânulo lateral da valva tricúspide, a distância diastólica e sistólica final. A coleta das imagens foi realizada para posterior análise.

6.4. Eutanásia e coleta de amostras

A eutanásia dos animais foi realizada por decapitação, 48 horas após a realização do ecocardiograma, sem utilização de anestesia prévia e por meio de guilhotina própria para uso de roedores (Insight EB 271). A lâmina foi periodicamente amolada e a limpeza realizada após a morte de cada animal. Este método foi utilizado por saber-se que o uso de drogas anestésicas pode comprometer o material biológico, causar depressão miocárdica, alterar a frequência cardíaca e respiratória, além de possuir ação miorrelaxante, o que pode prejudicar as análises de cardiomiócitos isolados do presente estudo (Fish et al., 2008; Flecknell, 2015).

Após a eutanásia, o coração foi dissecado e os ventrículos foram removidos, fragmentados e armazenados a -80°C em tubos identificados, para a condução das análises de expressão proteica e de marcadores do balanço redox. Por fim, removeu-se a tíbia direita de cada animal, para posterior realização do cálculo do índice de hipertrofia dos ventrículos cardíacos.

6.5. Índice de hipertrofia ventricular

Após a remoção da tíbia direita de cada animal, o comprimento da mesma foi mensurado utilizando-se um paquímetro digital (modelo Absolute 150 mm, Mitutoyo, Rio de Janeiro, Brasil) com precisão de $\pm 0,2$ mm. Para a aferição, utilizou-se como referência o maléolo e o côndilo mediais.

O índice de hipertrofia ventricular foi calculado para os ventrículos cardíacos dissecados, com base na razão entre a massa de cada ventrículo e o comprimento da tíbia. Essa forma de normalização é amplamente utilizada em estudos com roedores, pois o comprimento da tíbia é considerado um marcador robusto do tamanho corporal e menos influenciado por variações do estado hídrico ou da massa corporal total, quando comparado à normalização pelo peso corporal. Assim, valores mais elevados

desse índice refletem proporcionalmente maior crescimento da massa ventricular em relação ao tamanho do animal, sendo indicativos de hipertrofia cardíaca (Yin et al., 1982). Neste contexto, o índice de hipertrofia ventricular foi calculado para os ventrículos cardíacos dissecados, através da seguinte equação baseada no estudo de Yin et al. (1982):

$$\text{Índice de hipertrofia ventricular} = \frac{\text{Peso do ventrículo (mg)}}{\text{Comprimento da tíbia direita (mm)}}$$

6.6. Isolamento de cardiomiócitos

Para o isolamento de cardiomiócitos, foi utilizado o método previamente descrito por Natali et al. (2015). Após a eutanásia, o coração foi imediatamente removido por meio de toracotomia e lavado em solução básica contendo 750 μM de CaCl_2 para a remoção do excesso de sangue (Solução A; Item 6.8.1). A seguir, a aorta ascendente foi fixada com um fio de sutura em uma agulha de aço inoxidável modificada (cânula), de modo que o coração foi colocado em um sistema de perfusão (Langendorff adaptado) e perfundido com a solução de isolamento (Solução A; Item 6.8.1), em um fluxo constante até que os vasos coronários estivessem limpos.

A solução perfundida foi então trocada por uma solução livre de Ca^{2+} contendo 0,1 mM de ácido tetracético etilenoglicol (EGTA) (Solução B; Item 6.8.1) por 6 minutos, para o rompimento dos discos intercalares entre os cardiomiócitos. Após este processo, o coração foi perfundido com uma solução contendo 1 mg.ml^{-1} de collagenase tipo 2 (Worthington, EUA), 3 mg.ml^{-1} de protease e 100 μM de CaCl_2 (Solução C; Item 6.8.1) durante 10 minutos, para que as fibras colágenas extracelulares sejam digeridas. Todas as soluções utilizadas foram oxigenadas (O_2 100% – White Martins, Brasil) e mantidas em temperatura de 37°C.

Após a perfusão, os ventrículos (direito e esquerdo) foram separados dos átrios e pesados em balança de precisão (Gehaka – Brasil, modelo AG 200). O VD foi removido e o VE foi aberto na região do septo interventricular. Os músculos papilares e o tecido conjuntivo foram removidos manualmente da superfície do ventrículo esquerdo.

As amostras de cada ventrículo foram colocadas em frascos identificados contendo 5 ml da solução enzimática (Solução C; Item 6.8.1). Os frascos foram agitados moderadamente durante 5 minutos, em “banho-maria” à temperatura de

37°C, sendo o tecido cardíaco oxigenado (O₂ 100% – White Martins, Brasil). A seguir, o conteúdo dos frascos foi filtrado e centrifugado (3000 rpm) por 10 segundos. O sobrenadante foi removido e os cardiomiócitos foram suspendidos na solução básica contendo 750 µM de CaCl₂. Esse processo foi repetido. Os cardiomiócitos foram armazenados em refrigerador para as análises, que foram feitas em até duas horas após o isolamento.

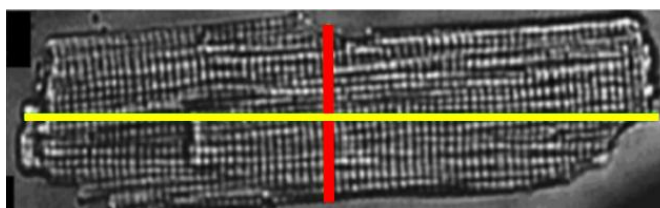
6.7. Mensuração do comprimento, largura e volume celulares

Os cardiomiócitos isolados foram posicionados em uma câmara experimental e banhados por solução de perfusão em temperatura ambiente (~25°C). As imagens das células foram captadas por uma câmera (MyoCam, Ionoptix, Milton, MA, EUA) acoplada a um microscópio invertido (Nikon Eclipse TS100, Melville, NY, EUA). Em seguida, as imagens foram visualizadas horizontalmente, com aumento de 400x por meio de lente de imersão em óleo (S Fluor, 40x, Nikon, Melville, NY, EUA) no monitor de um computador, utilizando um programa de captação de imagens (M-Vision 5XX, Ionoptix, Milton, MA, EUA).

Para a medição do comprimento e largura dos cardiomiócitos, foram utilizadas células que estavam em boas condições, apresentando bordas e estriações sarcoméricas bem definidas, relaxadas em repouso, sem apresentar contrações espontâneas.

As dimensões celulares foram mensuradas a partir da medição da imagem da célula gerada no monitor, utilizando uma régua com precisão de um milímetro (figura 9). O comprimento celular correspondeu à distância entre a borda direita até a borda esquerda, no ponto médio da largura do cardiomiócito. A largura celular, por sua vez, foi determinada através da medição da borda superior até a borda inferior, passando pelo ponto médio da célula.

Figura 9. Representação das dimensões de cardiomiócito ventricular.



Legenda: As linhas indicam como foram obtidos os dados de comprimento (amarelo) e largura (vermelho). Fonte: adaptado de Carneiro-Júnior (2013).

Para a transformação dos dados obtidos de centímetros para micrômetros, utilizou-se a seguinte equação:

$$\frac{X \cdot 10000}{400}$$

Em que:

X = dados em centímetros (comprimento ou largura do cardiomiócito avaliado);

10000 = valor de conversão de centímetros para micrômetros;

400 = coeficiente de ampliação microscópica, considerando o aumento de 40x da lente de aumento objetiva e 10x da lente de aumento ocular.

A partir dos dados de comprimento e largura obtidos dos cardiomiócitos, foi estimado o volume celular, utilizando-se a fórmula proposta por Satoh et al. (1996):

$$\text{Volume (pl)} = \text{comprimento } (\mu\text{m}) \times \text{largura } (\mu\text{m}) \times (7,59 \times 10^{-3} \text{ pl}/\mu\text{m}^2)$$

Em que:

pl – picolitros

μm – micrômetros

$7,59 \times 10^{-3} \text{ pl}/\mu\text{m}^2$ – constante obtida pela medida direta do volume celular através de microscopia confocal, com unidade de medida em picolitros por micrômetros ao quadrado, conforme Satoh et al. (1996).

6.8. Contratilidade celular

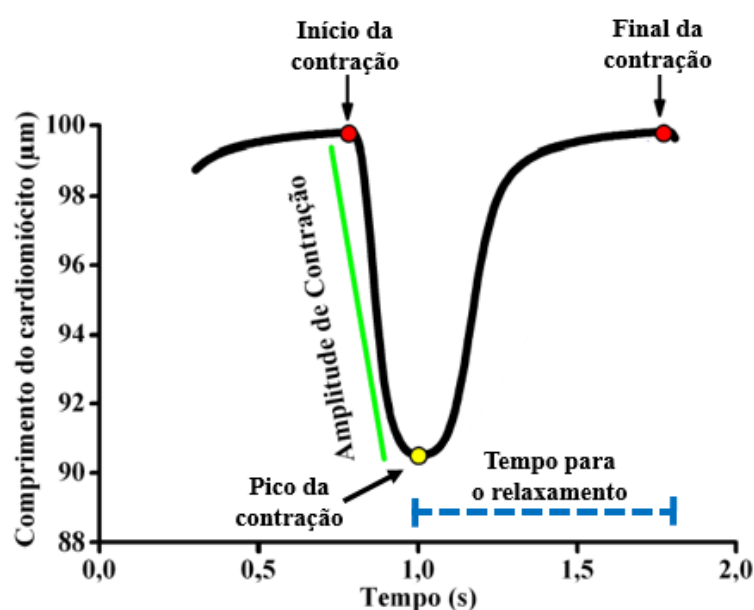
A análise da contratilidade celular foi feita tal como descrita por Roman-Campos (2012). As contrações dos cardiomiócitos isolados de ambos os ventrículos foram mensuradas através da técnica de alteração do comprimento dos cardiomiócitos usando-se o sistema de detecção de bordas (Ionoptix, EUA) montado num microscópio invertido (Nikon Eclipse – TS100, EUA) equipado com uma lente objetiva de imersão em óleo (S Fluor, 40x, Nikon, EUA).

Os cardiomiócitos isolados foram acomodados em uma câmara experimental giratória com a base de vidro montada no microscópio, e banhados pela solução de

perusão tampão HEPES (Solução tampão HEPES; Item 6.8.2) a uma temperatura de $\sim 37^{\circ}\text{C}$. As células foram visualizadas em um monitor através de uma câmera (Myocam, Ionoptix, EUA) acoplada ao microscópio invertido, utilizando um programa de detecção de imagens (Ionwizard, Ionoptix, EUA) com uma frequência de 240 Hz.

Para cada ventrículo analisado de cada animal, foram utilizadas 8 a 20 células. Os cardiomiócitos foram estimulados externamente às frequências de 1, 3, 5 e 7 Hz (20 V, duração de 5 ms) a partir de um par de eletrodos de aço, acoplado nos dois lados internos da câmara, através de um estimulador elétrico (Myopacer, Field Stimulator, Ionoptix, EUA). As bordas dos cardiomiócitos foram identificadas com duas janelas (direita e esquerda) e definidas através do ajuste do contraste (preto e branco) gerado pela qualidade da imagem projetada dos cardiomiócitos. As contrações dos cardiomiócitos após a estimulação elétrica foram capturadas pelo sistema de detecção de bordas (Ionwizard, Ionoptix, EUA) e armazenadas para análise. A partir dos registros obtidos, foram analisados os seguintes parâmetros de contratilidade: velocidade de contração, amplitude de contração, tempo para o pico de contração, velocidade de relaxamento, tempo para 50% do relaxamento e tempo para 90% do relaxamento, conforme esquematizado na figura 10. Todos os parâmetros foram determinados utilizando o programa IonWizard 6.3 (Ionoptix, EUA).

Figura 10. Representação esquemática da contração de um cardiomiócito estimulado na frequência de 1 Hz.



Fonte: adaptado de Carneiro-Júnior (2013).

6.9. Composição das soluções

6.8.1. Soluções de isolamento

Para o procedimento de isolamento de cardiomiócitos, foram necessárias diversas soluções, as quais foram feitas utilizando-se um litro de uma solução básica com água ultrapura (Milli-Q), que apresenta a seguinte composição (em mM): NaCl (130) – 7,6 g/L; MgCl₂ (143) – 0,28 g/L; KCl (5,4) – 0,4 g/L; (HEPES) (10) – 0,062 g/L; glicose (10) – 1,8 g/L; taurina (20) – 2,38 g/L; e creatina (10) – 1,3 g/L. O pH foi ajustado em 7,4 em temperatura ambiente.

- **Solução A:** Para a solução de isolamento contendo 750 mM de Ca²⁺, adicionaram-se 375 µL de CaCl₂ (1 M) em 500 ml da solução básica.
- **Solução B:** Para a solução de isolamento livre de Ca²⁺, adicionaram-se 250 µL de EGTA (100 mM) em 250 ml da solução básica.
- **Solução C:** Para a solução enzimática de isolamento, adicionaram-se 0,03 g de collagenase e 0,003 g de protease em 30 ml da solução básica.

6.9.2 Solução de perfusão-tampão HEPES

Para o processo de mensuração de parâmetros de contratilidade de cardiomiócitos, as células foram banhadas com uma solução fisiológica contendo, em Mm:

- **Solução estoque:** NaCl (113) – 65,99 g/L; HEPES (5) – 11,9 g/L; NaH₂PO₄ (1) – 1,42 g/L; MgSO₄ (1) – 2,46 g/L; KCl (5) – 3,72 g/L.
- **Solução sopa:** Acetato de Na (20) – 16,4 g/100 ml; glicose (10) – 18,1 g/100 ml.

A solução HEPES, por sua vez, foi composta por 100 ml da solução-estoque, 10 ml da solução sopa e 1,8 ml de CaCl₂ (1) a 890 ml de Milli-Q. Essa solução foi equilibrada para um pH de 7,4 e mantida em temperatura ambiente.

6.10. Análise da expressão de proteínas cardíacas

As análises de expressão das proteínas FLBt, NCX, SERCA2a e RyR2 no VE e VD dos animais foram realizadas no Laboratório de Imunoquímica e Glicobiologia da Universidade Federal de Viçosa.

Os níveis das proteínas nos sobrenadantes dos homogeneizados cardíacos foram mensurados por ensaio imunoenzimático do tipo captura (ELISA), utilizando os seguintes kits: FLBt e NCX (ABclonal Technology, Woburn - EUA); SERCA2a (AFG Scientific, Northbrook – EUA); e RyR2 (Cloud-Clone, Katy – EUA). O procedimento de ELISA foi realizado de acordo com o protocolo do fabricante. As concentrações das amostras analisadas foram determinadas com base em uma curva padrão obtida por diluições seriadas em duplicata das proteínas recombinantes de rato.

6.11. Expressão de marcadores do balanço redox

Para a realização dos ensaios relativos à atividade enzimática, cada ventrículo cardíaco foi homogeneizado (proporção 1:10 – 0,5 g de ventrículo em 5 mL de PBS pH 7,4), centrifugado a 3000 rpm por 10 minutos, e o sobrenadante foi coletado e utilizado para a realização das técnicas. A leitura foi realizada com o sistema analisador enzimático automático (Chemistry Analyzer BS-200, Mindray Medical International Limited, Shenzhen, China).

6.11.1. Atividade da superóxido dismutase

A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi determinada com base no método que se fundamenta na redução do ânion superóxido (O_2^-) e do peróxido de hidrogênio, resultando na diminuição da auto oxidação do pirogalol, conforme descrito por Dieterich et al. (2000). A mistura reacional continha 99 μ L de tampão fosfato de potássio (5 mmol/L, pH 7) e 30 μ L do sobrenadante da amostra de tecido cardíaco. A reação foi iniciada com a adição de 15 μ L de pirogalol (100 μ mol/L). A absorbância da mistura reacional foi medida a 570 nm. A atividade da SOD foi expressa em unidades por miligrama de proteína, sendo que uma unidade de SOD foi definida como a quantidade necessária para inibir em 50% a taxa de auto-oxidação do pirogalol.

6.11.2. Oxidação de proteínas

O conteúdo de carbonilas em proteínas foi mensurado utilizando-se o método com 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH), conforme descrito por Levine et al. (1994), baseado na reação dos grupos carbonila com o DNPH. Foram adicionados 50 µL de amostra a 0,5 mL de DNPH (10 mmol/L) diluído em ácido clorídrico a 7%. A mistura foi agitada em vortex e incubada em temperatura ambiente, protegida da luz, por 30 minutos, com agitação periódica. Em seguida, foram adicionados 0,5 mL de TCA a 10% gelado, centrifugando-se a 5000 g por 10 minutos a 4 °C. O sobrenadante foi descartado e o precipitado foi lavado três vezes com 1 mL de uma solução de acetato de etila e etanol (1:1, v/v). Por fim, 1 mL de SDS a 6% foi adicionado aos tubos, que foram agitados para solubilizar o pellet, e a absorbância do sobrenadante foi lida a 370 nm. Os resultados foram expressos em nmol por mg de proteína, com base no coeficiente de extinção molar $\epsilon_{370} = 22 \text{ mmol/L} \cdot \text{cm}$.

6.11.3. Produção de óxido nítrico

A produção de NO foi quantificada por meio da reação de Griess. Resumidamente, 50 µL da amostra foram incubados com igual volume do reagente de Griess (1% sulfanilamida, 0,1% N-(1-naftil)etilenodiamina e 2,5% H_3PO_4), à temperatura ambiente, por 10 minutos (Tsikas, 2007). A absorbância foi medida a 540 nm em espectrofotômetro de microplacas (Multiskan GO, Thermo Scientific). A conversão da absorbância em concentração micromolar de NO foi realizada a partir de curva padrão de nitrito de sódio (0–100 µM), sendo os resultados expressos em µmol/L.

6.11.4. Determinação de malondialdeído

A extensão da peroxidação lipídica foi medida conforme descrito por Buege & Aust (1978), por meio da quantificação do MDA, principal produto da peroxidação de lipídios. Brevemente, 0,2 mL de amostra foram homogeneizados em 0,4 mL de uma solução contendo ácido tricloroacético (15%), ácido tiobarbitúrico (0,375%) e ácido clorídrico (0,6%). A mistura foi incubada em banho-maria em ebulição por 40 minutos. Após resfriamento em gelo, foram adicionados 0,6 mL de butanol, seguido de agitação

por vortex durante 2 minutos e centrifugação por 10 minutos a 9000 g. O precipitado foi descartado e o sobrenadante foi utilizado para leitura da absorbância a 535 nm, em espectrofotômetro de varredura em microplacas (Multiskan GO). A concentração de MDA foi determinada com base em curva padrão de concentrações conhecidas de 1,1,3,3-tetrametoxipropano (TMPO) e os resultados foram expressos em $\mu\text{mol/L}$ por mg de proteína.

6.11.5. Atividade da catalase

A atividade da CAT foi determinada segundo Aebi (1984), utilizando H_2O_2 como substrato. Resumidamente, 1 mL de H_2O_2 foi adicionado à mistura reacional contendo 10 μL da amostra e 1,0 mL de tampão fosfato de potássio (50 mmol/L, pH 7,0). Após a adição, a mistura reacional foi monitorada a 240 nm durante 1 minuto, com leituras a cada 30 segundos. Foi utilizado um coeficiente de extinção de $\epsilon_{240} = 0,036$ mmol/L·cm para os cálculos. Uma unidade de atividade da catalase foi definida como a quantidade de enzima capaz de decompor 1 mmol de H_2O_2 por minuto. A atividade foi expressa em unidades por miligrama de proteína.

6.11.6. Capacidade antioxidante total

A capacidade antioxidante total foi estimada utilizando o método de poder redutor do ferro (FRAP), conforme descrito por Benzie e Strain (1996), utilizando o reagente TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina) como substrato. O método baseia-se na redução do complexo férrico-TPTZ (Fe^{3+} -TPTZ) para a forma ferrosa (Fe^{2+} -TPTZ). Foram adicionados 10 μL das amostras à solução FRAP (190 μL), composta por 25 mL de tampão acetato (300 mmol/L, pH 3,6), 2,5 mL de TPTZ (10 mmol/L) e 2,5 mL de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (20 mmol/L). A absorbância foi lida a 593 nm. A redução do complexo Fe^{3+} -TPTZ pelos antioxidantes foi determinada com base em curva padrão de diluições seriadas de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, iniciando com 2 mmol/L. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol/mL}$.

6.12. Análise estatística

As comparações das médias das variáveis entre os 4 grupos experimentais ao final do experimento foram realizadas através da análise de variância (ANOVA) *Two-way*, seguida do *post-hoc* de Tukey para comparações múltiplas. As comparações do desempenho físico relativo dos animais ao início *versus* ao final do experimento foram realizadas através de teste T pareado. Os dados foram apresentados como média $\pm$ erro-padrão da média (EPM). Para isto, foi utilizado o programa estatístico SigmaPlot, v.11.0, adotando-se o nível de significância como $p \leq 0,05$.

O tamanho do efeito (TE) foi mensurado utilizando-se o programa IBM SPSS Statistics 20.0. Para isto, calculou-se o valor de eta ao quadrado (η^2), adotando-se a seguinte interpretação: $\geq 0,01$ e $< 0,06$ – pequeno; $\geq 0,06$ e $< 0,14$ – médio; $\geq 0,14$ – grande (Cohen, 1988).

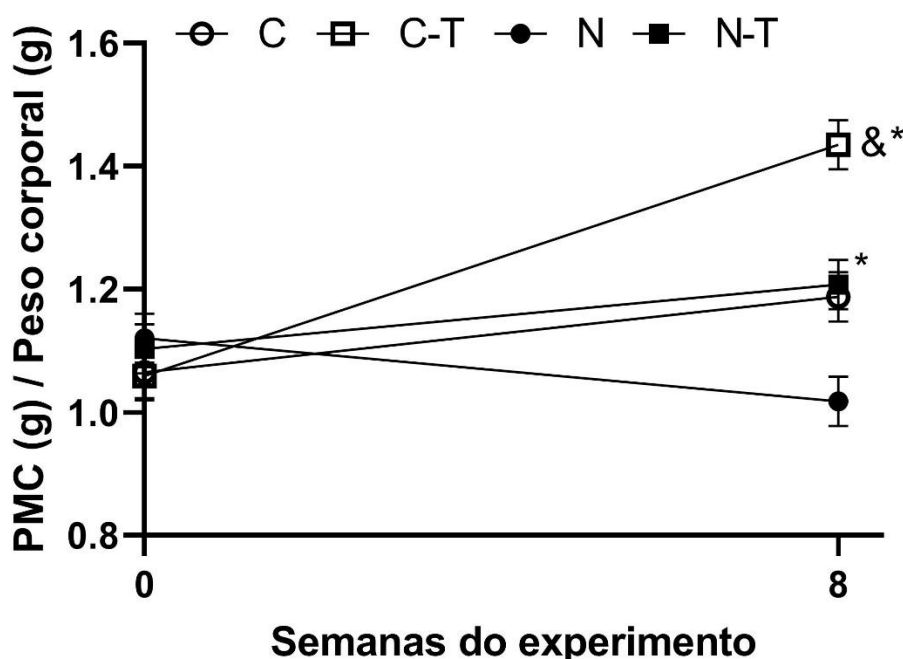
A verificação do grau de associação entre as proteínas reguladoras do ciclo de Ca^{2+} e os marcadores do balanço redox foi realizado por meio de correlação de Pearson para as variáveis com distribuição normal, e Spearman para as variáveis com distribuição não-normal. Para isto, adotou-se a interpretação proposta por Cohen (1992), em que o coeficiente de correlação (r): $\geq 0,1$ e $< 0,3$, ou $\leq -0,1$ e $< -0,3$, correlação fraca; $\geq 0,3$ e $< 0,5$, ou $\leq -0,3$ e $< -0,5$, correlação moderada; $\geq 0,5$ e < 1 , ou $\leq -0,5$ e < -1 , correlação forte. Esta análise também foi realizada no programa IBM SPSS Statistics 20.0, adotando-se o nível de significância como $p \leq 0,05$.

7. RESULTADOS

7.1 Teste de desempenho físico

Os resultados dos testes de desempenho físico ao início e ao final do experimento estão ilustrados na figura 11.

Figura 11. Efeitos do treinamento físico resistido e do decanoato de nandrolona sobre o desempenho físico ao início (0 semanas) e final do experimento (8 semanas).



Legenda: Valores apresentados como média $\pm$ erro padrão da média de 8 animais por grupo. Grupos: C, controle não-treinado; C-T, controle treinado; N, decanoato de nandrolona não-treinado; N-T, decanoato de nandrolona treinado. Teste T pareado: &, $p \leq 0,05$. ANOVA two-way: * $p \leq 0,05$ para fator treinamento físico resistido. Fonte: dados da pesquisa, 2025.

O teste de desempenho físico ao início do experimento não revelou diferenças entre os grupos.

A comparação do desempenho físico ao início *versus* ao final do experimento, por meio de teste T pareado, evidenciou que apenas o grupo CT exibiu aumento significativo desta variável ($p = 0,006$), enquanto o grupo NT apresentou uma tendência ao aumento da mesma ($p = 0,07$).

Após 8 semanas, não houve interação entre os fatores TR e DN. O fator TR aumentou o desempenho físico dos animais, com TE grande ($p = 0,04$, $\eta^2 = 0,16$, $F =$

4,5). O fator DN apresentou uma tendência a reduzir o desempenho físico, com TE médio ($p = 0,07$, $\eta^2 = 0,13$, $F = 3,7$). As múltiplas comparações não demonstraram diferenças significativas intergrupos.

7.2. Características gerais e dados morfológicos cardíacos

Os resultados obtidos referentes aos efeitos do TR e do DN sobre o peso corporal, peso do coração, peso absoluto dos ventrículos e seus respectivos índices de hipertrofia estão descritos na Tabela 1.

Na comparação intragrupo no tocante à diferença entre o peso corporal dos animais ao final em relação ao início do experimento, avaliada por teste T pareado, os animais dos grupos C-T, N e N-T apresentaram ganho significativo de peso corporal ($p \leq 0,05$). O aumento ponderal foi mais expressivo no grupo C-T, que aumentou 24% do seu peso corporal ao final do experimento, enquanto o grupo N-T apresentou a menor proporção de ganho – cerca de 8% em relação ao peso corporal inicial.

Na avaliação do peso corporal ao final do experimento, houve uma tendência à interação entre o TR e DN ($p = 0,06$), mas com pequeno TE ($\eta^2 = 0$). O fator TR não promoveu diferenças nesta variável ($p = 0,87$, $\eta^2 = 0$), enquanto o fator DN reduziu o peso corporal final dos animais, com tamanho de efeito grande ($p = 0,02$, $\eta^2 = 0,23$). As múltiplas comparações mostraram que o peso corporal dos animais do grupo N-T foi inferior ao do grupo C-T ($p = 0,04$).

Em relação ao peso do coração, houve tendência à interação entre TR e DN, com grande TE ($p = 0,06$, $\eta^2 = 0,15$). Os fatores TR e DN aumentaram o peso cardíaco, com grande TE ($p = 0,02$, $\eta^2 = 0,21$; $p = 0,00$, $\eta^2 = 0,40$, respectivamente). As múltiplas comparações evidenciaram que os grupos C-T e N obtiveram maior peso do coração em relação ao grupo C ($p = 0,01$).

Na análise do peso absoluto do VE, houve interação entre TR e DN, com grande TE ($p = 0,02$, $\eta^2 = 0,22$). Houve tendência do fator TR em aumentar esta variável, com grande TE ($p = 0,07$, $\eta^2 = 0,14$), enquanto o fator DN aumentou significativamente o peso do VE, com grande TE ($p = 0,04$, $\eta^2 = 0,18$). Nas múltiplas comparações, observou-se que os grupos C-T e N exibiram maior peso do VE em relação ao grupo C ($p = 0,05$ e $p = 0,04$, respectivamente).

Já no peso absoluto do VD, não houve interação entre TR e DN. Ambos os fatores TR e DN aumentaram esta variável, exibindo grande TE ($p = 0,01$, $\eta^2 = 0,30$;

$p = 0,00$, $\eta^2 = 0,39$, respectivamente). As múltiplas comparações demonstraram que o grupo N-T apresentou aumento do peso do VD em relação aos grupos C-T e N ($p = 0,013$ e $p = 0,05$, respectivamente). Estes grupos, por sua vez, apresentaram maiores médias em relação ao grupo C ($p = 0,02$).

O índice de hipertrofia do VE demonstrou interação entre TR e DN com grande TE ($p = 0,02$, $\eta^2 = 0,23$). Houve tendência do fator TR em aumentar esta variável, exibindo grande TE ($p = 0,06$, $\eta^2 = 0,15$), enquanto o fator DN aumentou significativamente este índice, também com grande TE ($p = 0,02$, $\eta^2 = 0,21$). Nas múltiplas comparações, os grupos C-T e N apresentaram maior índice de hipertrofia do VE em relação ao grupo C ($p = 0,05$ e $p = 0,03$, respectivamente).

No índice de hipertrofia do VD, por sua vez, não houve interação entre TR e DN. Tanto o fator TR quanto o fator DN aumentaram esta variável, exibindo grandes TEs ($p = 0,01$, $\eta^2 = 0,28$; $p = 0,00$, $\eta^2 = 0,39$, respectivamente). Nas múltiplas comparações, observou-se que o grupo N-T teve um maior índice de hipertrofia do VD em relação aos grupos C-T e N ($p = 0,013$ e $p = 0,05$, respectivamente). Já os grupos C-T e N exibiram maiores médias em relação ao grupo C ($p = 0,02$ em ambos os casos).

Tabela 1. Peso corporal dos animais, peso do coração e suas respectivas cavidades

Variável/Grupo	C (n = 8)	C-T (n = 8)	N (n = 8)	N-T (n = 8)	Interação TR vs DN			Fator TR			Fator DN		
					p	η^2	F	p	η^2	F	p	η^2	F
Peso corporal inicial (g)	352 ± 16	318 ± 12	319 ± 13	327 ± 14									
Peso corporal final (g)	391 ± 16	394 ± 12 ^{&}	360 ± 13 ^{&}	353 ± 14 ^{&,b}	0,06	0,00	0,1	0,87	0,00	0,0	0,02 [*]	0,23 [#]	6,7
Peso úmido do coração (g)	1,5 ± 0,1	1,9 ± 0,1 ^a	2 ± 0,1 ^a	2,1 ± 0,1	0,06	0,15 [#]	3,8	0,02 [*]	0,21 [#]	6,0	0,00 [*]	0,40 [#]	14,6
Peso VE (g)	0,7 ± 0,06	0,9 ± 0,05 ^a	0,9 ± 0,05 ^a	0,9 ± 0,06	0,02 [*]	0,22 [#]	6,4	0,07	0,14 [#]	3,7	0,04 [*]	0,18 [#]	5,0
Peso VD (g)	0,3 ± 0,03	0,4 ± 0,02 ^{a,d}	0,4 ± 0,03 ^{a,d}	0,5 ± 0,03 ^{b,c}	0,93	0,00	0,0	0,01 [*]	0,30 [#]	9,2	0,00 [*]	0,39 [#]	14,1
Peso VE / Comprimento tibial (mg/mm)	16,4 ± 1,5	22,5 ± 1,2 ^a	23,1 ± 1,3 ^a	22,3 ± 1,4	0,02 [*]	0,23 [#]	6,5	0,06	0,15 [#]	3,9	0,02 [*]	0,21 [#]	5,9
Peso VD / Comprimento tibial (mg/mm)	8,1 ± 0,8	10,3 ± 0,6 ^{a,d}	10,8 ± 0,7 ^{a,d}	13 ± 0,7 ^{b,c}	0,96	0,00	0,0	0,01 [*]	0,28 [#]	8,8	0,00 [*]	0,39 [#]	13,8

Legenda: Dados em média ± erro padrão da média de 8 animais em cada grupo. Grupos: C, Controle não-treinado; C-T, Controle treinado; N, Decanoato de nandrolona não-treinado; N-T, Decanoato de nandrolona treinado. F, Distribuição F de Fisher-Snedecor; TR, Treinamento físico resistido; VD, Ventrículo direito; VE, Ventrículo esquerdo; η^2 , Eta ao quadrado, indicativo de tamanho de efeito. Teste T pareado: [&] p ≤ 0,05, Peso corporal final – Peso corporal inicial. ANOVA *Two-way* seguido de *post-hoc* de Tukey: ^a p ≤ 0,05 vs. C; ^b p ≤ 0,05 vs. C-T; ^c p ≤ 0,05 vs. N; ^d p ≤ 0,05 vs. N-T; ^{*} p ≤ 0,05; [#] Tamanho do efeito grande. Fonte: dados da pesquisa, 2025.

7.3. Ecocardiograma

Os dados ecocardiográficos estão demonstrados na Tabela 2.

Observou-se que o fator DN não suscitou alterações morfofuncionais importantes em nenhuma das variáveis analisadas na avaliação ecocardiográfica.

No DVDd, houve interação entre os fatores TR e DN, com médio TE ($p = 0,04$, $\eta^2 = 0,12$). Entretanto, ambos os fatores não demonstraram exercer influência significativa. As múltiplas comparações demonstraram que o grupo N-T teve um aumento do diâmetro comparado ao grupo N ($p = 0,04$).

Observou-se padrão similar na ESIVd, em que houve interação entre TR e DN, com TE grande ($p = 0,02$, $\eta^2 = 0,15$), mas sem interferência dos fatores individualmente. Nas múltiplas comparações, a ESIVd do grupo N-T foi maior em relação ao grupo N ($p = 0,02$).

Ao analisar o DVEs, observou-se não houve interação entre os tratamentos aplicados. Todavia, o fator TR aumentou esta variável, com grande TE ($p = 0,02$, $\eta^2 = 0,16$). O fator DN isolado, por sua vez, não afetou esta variável. O grupo N-T apresentou maior média comparada ao grupo N ($p = 0,01$).

Nas frações de ejeção e encurtamento, bem como na TAPSE, não foram verificadas interações entre os tratamentos aplicados. Observou-se que o fator TR reduziu estas variáveis com grande TE ($p \leq 0,01$ e $\eta^2 \geq 0,24$ para as três variáveis). O fator DN não exerceu influência significativa sobre as mesmas. Todavia, as múltiplas comparações evidenciam que esta redução ocorreu apenas no grupo que realizou o TR em associação com a administração do DN, ao ser comparado com o grupo N ($p \leq 0,03$ em todos os casos).

As medidas de DVEDd, EPPVEd, ESIVs e EPPVEs não apresentaram interação entre os fatores TR e DN, assim como os tratamentos individualmente não suscitaram alterações significativas entre os grupos.

Tabela 2. Avaliação ecocardiográfica.

Variável/Grupo	C (n = 8)	C-T (n = 8)	N (n = 8)	N-T (n = 8)	Interação TR vs DN			Fator TR			Fator DN		
					p	η^2	F	p	η^2	F	p	η^2	F
DVDd (mm)	0,8 ± 0,08	0,6 ± 0,07	0,6 ± 0,06	0,8 ± 0,13 ^c	0,04*	0,12	4,3	0,4	0,02	0,6	0,8	0,00	0,0
ESIVd (mm)	1,5 ± 0,11	1,3 ± 0,15	1,2 ± 0,12	1,7 ± 0,1 ^c	0,02*	0,15 [#]	5,7	0,2	0,04	1,5	0,8	0,00	0,1
DVEd (mm)	7,8 ± 0,14	7,5 ± 0,3	7,1 ± 0,4	7,5 ± 0,2	0,28	0,04	1,2	0,8	0,00	0,1	0,3	0,03	1,1
EPPVEd (mm)	1,4 ± 0,0	1,6 ± 0,2	1,7 ± 0,2	1,8 ± 0,2	0,9	0,00	0,0	0,4	0,02	0,6	0,2	0,06	1,9
ESIVs (mm)	2,9 ± 0,2	2,5 ± 0,2	2,6 ± 0,2	2,6 ± 0,1	0,4	0,02	0,7	0,3	0,03	0,9	0,5	0,02	0,5
DVEs (mm)	4 ± 0,2	4,3 ± 0,3	3,6 ± 0,3	4,5 ± 0,2 ^c	0,2	0,05	1,5	0,02*	0,16 [#]	6,1	0,7	0,00	0,2
EPPVEs (mm)	2,4 ± 0,2	2,5 ± 0,2	2,5 ± 0,2	2,7 ± 0,1	0,8	0,00	0,1	0,5	0,01	0,4	0,3	0,03	1,1
Fração de ejeção (%)	83,9 ± 2,2	78,8 ± 2,1	85,8 ± 1,9	75,2 ± 2,7 ^c	0,2	0,04	1,5	0,00*	0,27 [#]	12,2	0,7	0,00	0,1
Fração de encurtamento (%)	48,9 ± 2,6	43 ± 2,2	50,7 ± 2,1	39,9 ± 2,3 ^c	0,3	0,03	1,1	0,00*	0,29 [#]	13,1	0,8	0,00	0,1
TAPSE (mm)	2,5 ± 0,2	2,15 ± 0,1	2,6 ± 0,1	2,1 ± 0,1 ^c	0,6	0,01	0,3	0,01*	0,24 [#]	7,4	0,9	0,00	0,0

Dados em média ± erro padrão da média de 8 animais em cada grupo. Grupos: C, Controle não-treinado; C-T, Controle treinado; N, Decanoato de nandrolona não-treinado; N-T, Decanoato de nandrolona treinado. Variáveis: DVDd, Diâmetro interno do ventrículo direito na diástole; ESIVd, Espessura do septo interventricular na diástole; DVEd, Diâmetro interno do ventrículo esquerdo na diástole; EPPVEd, Espessura da parede posterior do ventrículo esquerdo na diástole; ESIVs, Espessura do septo interventricular na sístole; DVEs, Diâmetro interno do ventrículo esquerdo na sístole; EPPVEs, Espessura da parede posterior do ventrículo esquerdo na sístole; TAPSE, *Tricuspid Annular Plane Systolic Excursion*. DN, Decanoato de nandrolona; F, Distribuição F de Fisher-Snedecor; TR, Treinamento físico resistido; η^2 , Eta ao quadrado, indicativo de tamanho de efeito. ANOVA *Two-way* seguido de *post-hoc* de Tukey: ^a p ≤ 0,05 vs. C; ^b p ≤ 0,05 vs. C-T; ^c p ≤ 0,05 vs. N; ^d p ≤ 0,05 vs. N-T; * p ≤ 0,05; # Tamanho do efeito grande. Fonte: dados da pesquisa, 2024.

7.4 Comprimento, largura e volume de cardiomiócitos

As estimativas de comprimento, largura, volume e razão comprimento / largura de cardiomiócitos do VE e do VD estão demonstradas na figura 12.

No que concerne aos miócitos do VE, ao analisar o comprimento dos mesmos (figura 12-A), não foi constatada interação entre os fatores TR e DN, tampouco diferenças relacionadas ao efeito dos fatores isoladamente sobre esta variável. As múltiplas comparações também não evidenciaram diferenças intergrupos.

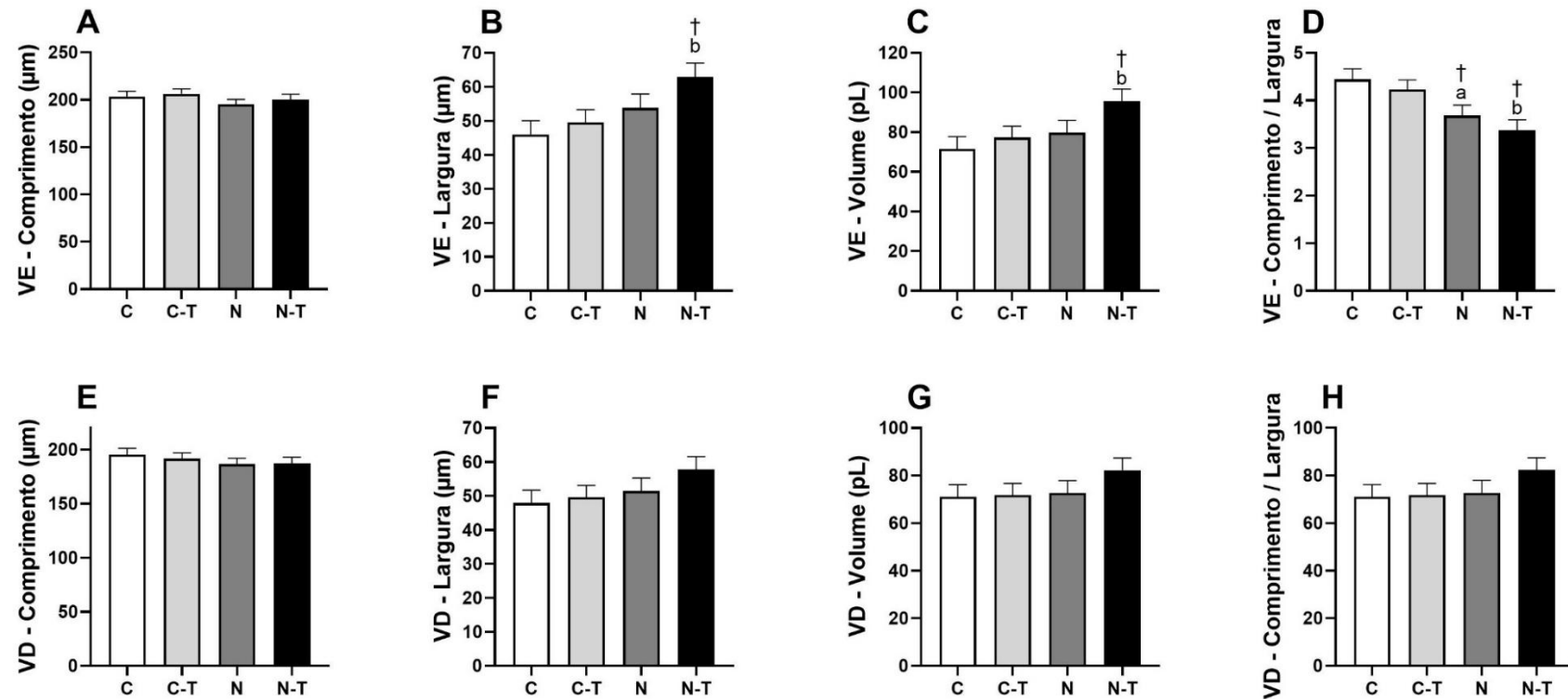
Na largura celular (figura 12-B), também não foi constatada interação entre TR e DN, nem diferença resultante do fator TR isoladamente ($p = 0,13$, $\eta^2 = 0,09$). Todavia, o fator DN aumentou a largura destes miócitos, com grande TE ($p = 0,01$, $\eta^2 = 0,22$, $F = 7$). As múltiplas comparações evidenciaram que o grupo N-T apresentou maior largura celular em relação ao grupo C-T ($p = 0,02$).

No volume celular (figura 12-C) também não houve interação entre TR e DN, nem influência significativa do fator TR, embora o TE tenha sido moderado ($p = 0,09$, $\eta^2 = 0,11$, $F = 3$). Contudo, observou-se que o fator DN aumentou o volume dos miócitos do VE, com grande TE ($p = 0,04$, $\eta^2 = 0,15$, $F = 4,5$). Nas múltiplas comparações, o grupo N-T teve maior média comparado ao grupo C-T ($p = 0,04$).

Na razão comprimento/largura celular (figura 12-D) também não houve interação entre TR e DN. Enquanto o fator TR isoladamente não promoveu efeitos sobre esta variável ($p = 0,24$, $\eta^2 = 0,04$), o fator DN reduziu esta razão ($p = 0,001$, $\eta^2 = 0,34$), com grande TE. Nas múltiplas comparações, o grupo N apresentou menores médias em relação ao grupo C ($p = 0,01$) e o N-T teve menor média em relação ao grupo C-T ($p = 0,02$).

No VD, por sua vez, não foi observada interação entre TR e DN em nenhum dos parâmetros morfológicos celulares, assim como não houve efeito significativo dos fatores TR e DN, de modo que todos os TEs observados nas análises destas células foram pequenos. Além disso, as múltiplas comparações também não evidenciaram diferenças significativas entre os grupos nas variáveis analisadas.

Figura 12. Efeitos do treinamento físico resistido e do decanoato de nandrolona sobre o comprimento, largura, volume e razão comprimento/largura celular de cardiomiócitos isolados dos ventrículos esquerdo e direito.



Legenda: (A) Comprimento de cardiomiócitos do ventrículo esquerdo, em micrômetros; (B) Largura de cardiomiócitos do ventrículo esquerdo, em micrômetros; (C) Volume de cardiomiócitos do ventrículo esquerdo, em picolitros; (D) Comprimento de cardiomiócitos do ventrículo direito, em micrômetros; (E) Largura de cardiomiócitos do ventrículo direito, em micrômetros; (F) Volume de cardiomiócitos do ventrículo direito, em picolitros. Valores apresentados como média ± erro padrão da média de 60 a 80 células por grupo. Grupos: C, controle não-treinado; C-T, Controle treinado; N, decanoato de nandrolona não-treinado; N-T, decanoato de nandrolona treinado. ^b $p \leq 0,05$, N-T vs. C-T. [†] $p \leq 0,05$, fator decanoato de nandrolona. Dados analisados por ANOVA *Two-way* seguido de *post-hoc* de Tukey. Fonte: dados da pesquisa, 2025.

7.5 Contratilidade de cardiomiócitos

7.5.1 Ventrículo esquerdo

As medidas de contratilidade celular realizadas em cardiomiócitos isolados do VE de ratos, estimulados eletricamente nas frequências de 1, 3, 5 e 7 Hz estão representadas na figura 13.

A interação entre TR e DN não foi significativa em nenhum dos parâmetros de contratilidade de células do VE analisados. Além disso, o fator DN não afetou as variáveis em questão.

Na amplitude de contração (figura 13-A), o TR aumentou esta variável nas frequências de 3 Hz ($p = 0,04$; $\eta^2 = 0,15$; $F = 4,5$) e 5 Hz ($p = 0,005$; $\eta^2 = 0,27$; $F = 9,4$), com grande TE em ambos os estímulos. Nas múltiplas comparações na frequência de 3 Hz, o grupo C-T aumentou a amplitude de contração celular em 35% comparado ao grupo C ($p \leq 0,05$). No estímulo de 5 Hz, o grupo N-T aumentou este parâmetro em 38% ($p \leq 0,05$) em relação ao seu análogo não-treinado.

Em relação ao tempo para o pico de contração (figura 13-B), os fatores TR e DN não apresentaram interação, tampouco suscitaram alterações significativas quando analisados individualmente. Nas múltiplas comparações, à frequência de 1 Hz, o grupo N-T mostrou menor média comparada ao grupo N ($p = 0,04$). Nas demais frequências de estímulo, não foram observadas diferenças significativas em relação aos efeitos, bem como nas múltiplas comparações intergrupos.

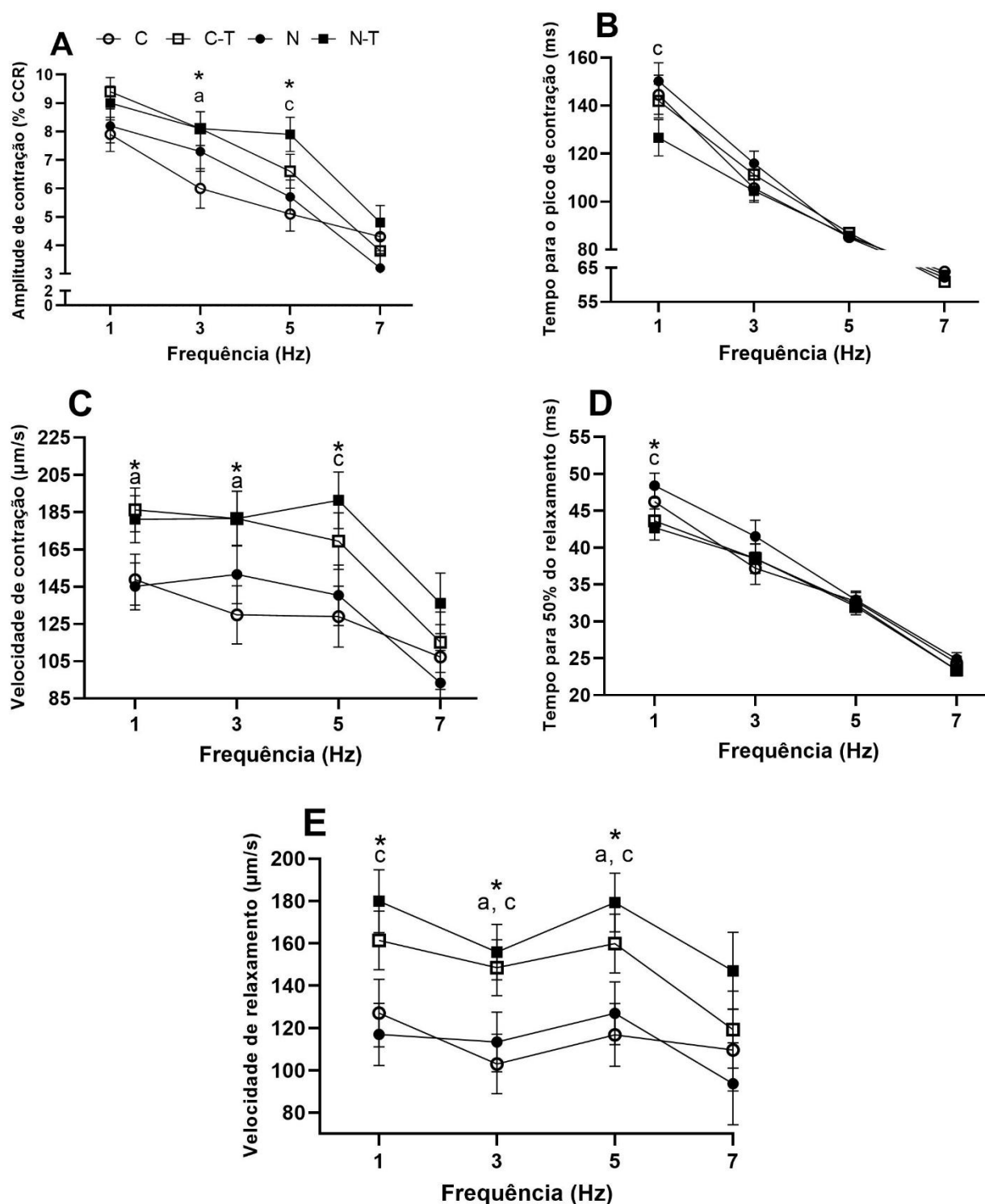
Na velocidade de contração celular (figura 13-C), o fator TR aumentou esta variável e apresentou grande TE nas frequências de 1 ($p < 0,01$; $\eta^2 = 0,26$; $F = 8,3$), 3 ($p = 0,01$; $\eta^2 = 0,22$; $F = 7,2$) e 5 Hz ($p < 0,01$; $\eta^2 = 0,26$; $F = 8,4$). Nas múltiplas comparações das frequências de 1 e 3 Hz, o grupo C-T exibiu as maiores médias de velocidade de contração, sendo significativamente maior que o grupo C ($p \leq 0,05$). Aos 5 Hz, por sua vez, o grupo N-T apresentou a maior média, sendo significativamente maior que o grupo N ($p \leq 0,05$).

No tocante ao tempo para 50% do relaxamento celular (figura 13-D), o fator TR reduziu as médias dos animais treinados na frequência de estimulação de 1 Hz ($p = 0,03$; $\eta^2 = 0,19$; $F = 5,6$), com grande TE. Nas demais frequências,

não foram observados efeitos significativos do TR, tampouco do DN. Nas múltiplas comparações, a 1 Hz, o grupo N-T apresentou a menor média neste padrão de estímulo, diferenciando-se significativamente do grupo N ($p = 0,04$).

Na velocidade de relaxamento celular (figura 13-E), o fator TR aumentou esta variável com grande TE nas frequências de 1 ($p < 0,01$; $\eta^2 = 0,19$; $F = 10,6$), 3 ($p < 0,01$; $\eta^2 = 0,28$; $F = 10,4$) e 5 ($p < 0,01$; $\eta^2 = 0,30$; $F = 11$) Hz. Nas múltiplas comparações nestas três frequências de estímulo, o grupo N-T apresentou os maiores valores de velocidade de relaxamento celular, diferenciando-se significativamente do grupo N ($p \leq 0,05$). Aos 3 e 5 Hz, o grupo C-T apresentou maiores médias comparado com o grupo C ($p \leq 0,05$).

Figura 13. Efeitos do treinamento físico resistido e do decanoato de nandrolona sobre parâmetros de contratilidade de cardiomiócitos do ventrículo esquerdo do coração de ratos Wistar, estimulados eletricamente nas frequências de 1, 3, 5 e 7 Hz.



Legenda: (A) Amplitude de contração celular, em % do comprimento celular de repouso (% CCR); (B) Tempo para o pico de contração, em milissegundos (ms); (C) Velocidade de contração, em micrômetros por segundo (μm/s); (D) Tempo para 50% do relaxamento celular, em milissegundos; (E) Velocidade de relaxamento, em micrômetros por segundo. Valores apresentados como média ± erro padrão da média de 6 a 10 células por animal (n = 6 a 8 animais).

por grupo). Grupos: C, controle não-treinado; C-T, Controle treinado; N, decanoato de nandrolona não-treinado; N-T, decanoato de nandrolona treinado. ^a $p \leq 0,05$, C vs. C-T; ^b $p \leq 0,05$, C vs. N; ^c $p \leq 0,05$, N vs. N-T; ^d $p \leq 0,05$, C-T vs. N-T. * $p \leq 0,05$, Fator treinamento físico resistido. Dados analisados por ANOVA *Two-way* seguido de *post-hoc* de Tukey, com exceção da variável Tempo para 50% do relaxamento celular, que foi analisado por teste de Kruskal-Wallis, seguido do *post-hoc* de Dunn para verificar comparação entre os grupos. Fonte: dados da pesquisa, 2025.

7.5.2. Ventrículo direito

As medidas de contratilidade celular realizadas em cardiomiócitos isolados do VD de ratos, estimulados eletricamente nas frequências de 1, 3, 5 e 7 Hz estão representadas na figura 14.

Foi observado que em todos os parâmetros de contratilidade celular do VD analisadas, não houve interação significativa entre os fatores TR e DN.

Na amplitude de contração (figura 14-A), o fator TR aumentou esta variável e apresentou grande TE nas frequências de estímulo de 1 ($p = 0,02$, $\eta^2 = 0,19$, $F = 6$), 3 ($p = 0,02$, $\eta^2 = 0,19$, $F = 8$) e 5 Hz ($p = 0,002$, $\eta^2 = 0,31$, $F = 11,5$). O fator DN aumentou a amplitude de contração na frequência de 7 Hz ($p = 0,046$, $\eta^2 = 0,14$, $F = 4,4$), com TE moderado. Nas múltiplas comparações, o grupo N-T apresentou médias maiores que o grupo N nas frequências de 1 ($p = 0,05$) e 5 Hz ($p = 0,01$). Ademais, o grupo C-T obteve maiores médias em relação ao grupo C nas frequências de 3 ($p = 0,04$) e 5 ($p = 0,04$) Hz.

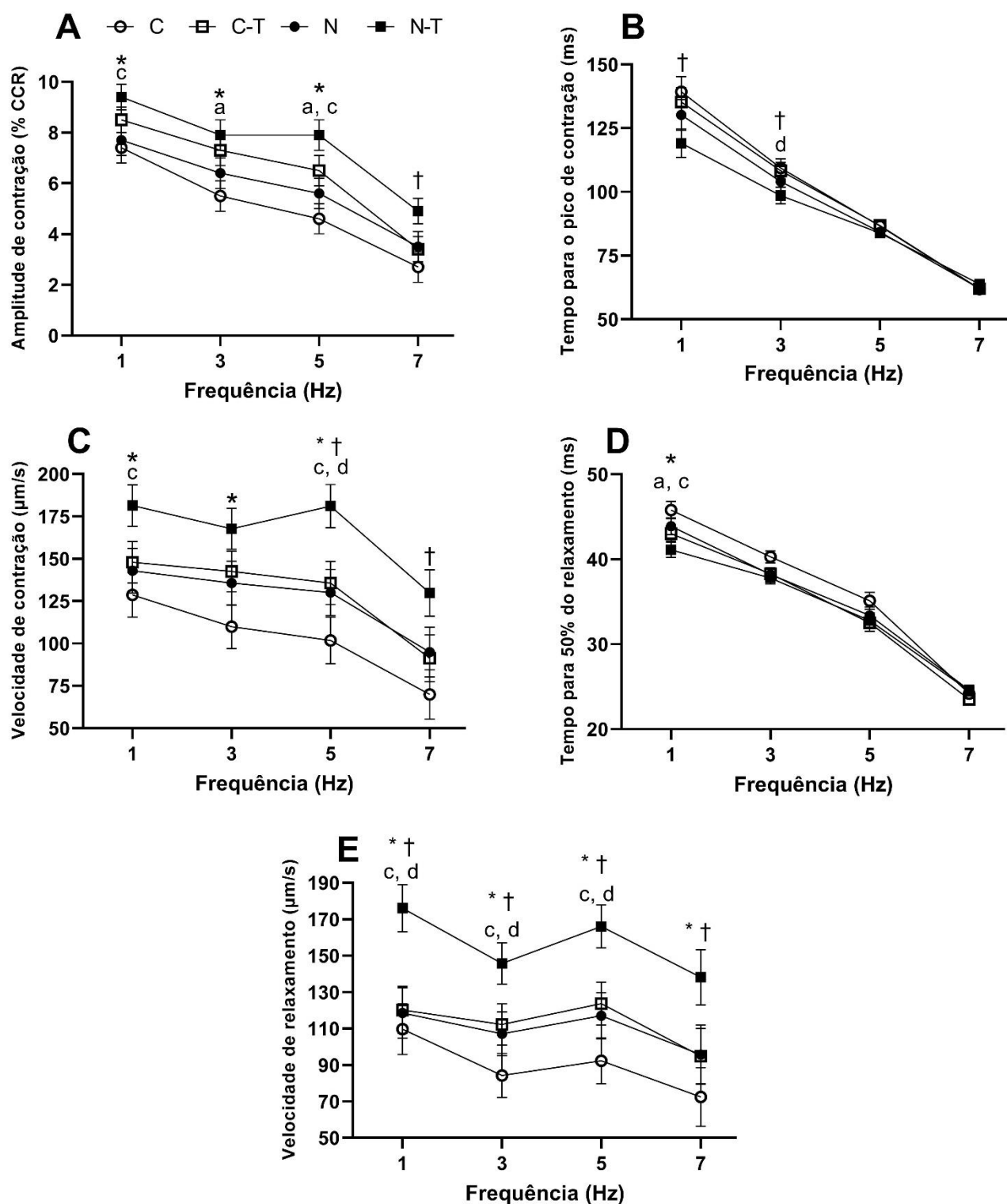
No tempo para o pico de contração (figura 14-B), o fator TR não alterou de forma isolada esta variável. O fator DN, por sua vez, reduziu o tempo para o pico de contração com grande TE nas frequências de 1 e 3 Hz ($p = 0,04$, $\eta^2 = 0,15$, $F = 5$, em ambas as frequências). Nas múltiplas comparações, o grupo N-T obteve menor média em relação ao grupo C-T ($p = 0,05$) na frequência de 3 Hz.

Na velocidade de contração (figura 14-C), o fator TR aumentou esta variável com grande TE nas frequências de 1 ($p = 0,03$; $\eta^2 = 0,16$; $F = 5$), 3 ($p = 0,03$, $\eta^2 = 0,16$, $F = 7$) e 5 Hz ($p = 0,003$, $\eta^2 = 0,28$; $F = 10$). O DN, por sua vez, aumentou esta variável nas frequências mais elevadas, de 5 ($p = 0,01$; $\eta^2 = 0,23$; $F = 8$) e 7 Hz ($p = 0,03$; $\eta^2 = 0,16$; $F = 5$), também apresentando grande TE. Nas múltiplas comparações, o grupo N-T obteve maiores médias em relação ao N nas frequências de 1 ($p = 0,04$) e 5 ($p = 0,02$) Hz, e também se mostrou maior que o grupo C-T aos 5 Hz ($p = 0,01$).

O tempo para o relaxamento celular (figura 14-D) foi reduzido pelo TR apenas na frequência de 1 Hz ($p = 0,007$; $\eta^2 = 0,25$; $F = 9$), com grande TE. O fator DN, por sua vez, não promoveu alterações significativas em nenhuma frequência. Nas múltiplas comparações, na frequência de 1 Hz, o grupo N-T obteve menor tempo para o relaxamento celular em relação ao grupo N ($p = 0,05$), enquanto o grupo C-T também teve menor média em relação ao grupo C ($p = 0,05$).

No que concerne à velocidade de relaxamento celular (figura 14-E), tanto o fator TR quanto o fator DN aumentaram esta variável em todas as frequências analisadas. O fator TR apresentou $p \leq 0,05$, $\eta^2 \geq 0,14$ e $F \geq 4$ em todas as frequências, enquanto o DN obteve $p \leq 0,02$, $\eta^2 \geq 0,18$ e $F \geq 4$. Nas múltiplas comparações, o grupo N-T apresentou médias significativamente maiores que os grupos N e C-T nas frequências de 1 ($p = 0,01$, em ambos os casos), 3 ($p = 0,03$ e $p = 0,04$, respectivamente) e 5 Hz ($p = 0,01$ e $p = 0,02$, respectivamente).

Figura 14. Efeitos do treinamento físico resistido e do decanoato de nandrolona sobre parâmetros de contratilidade de cardiomiócitos do ventrículo direito do coração de ratos Wistar, estimulados eletricamente nas frequências de 1, 3, 5 e 7 Hz.



Legenda: (A) Amplitude de contração celular, em % do comprimento celular de repouso (% CCR); (B) Tempo para o pico de contração, em milissegundos (ms); (C) Velocidade de contração, em micrômetros por segundo (μm/s); (D) Tempo para 50% do relaxamento celular, em milissegundos; (E) Velocidade de relaxamento, em micrômetros por segundo. Valores

apresentados como média $\pm$ erro padrão da média de 6 a 10 células por animal ($n = 6$ a 8 animais por grupo). Grupos: C, controle não-treinado; C-T, Controle treinado; N, decanoato de nandrolona não-treinado; N-T, decanoato de nandrolona treinado. ^a $p \leq 0,05$, C vs. C-T; ^b $p \leq 0,05$, C vs. N; ^c $p \leq 0,05$, N vs. N-T; ^d $p \leq 0,05$, C-T vs. N-T. * $p \leq 0,05$, fator treinamento físico resistido. † $p \leq 0,05$, fator decanoato de nandrolona. Dados analisados por ANOVA *Two-way* seguido de *post-hoc* de Tukey, com exceção da variável Tempo para 50% do relaxamento celular, que foi analisado por teste de Kruskal-Wallis, seguido do *post-hoc* de Dunn para verificar comparação entre os grupos. Fonte: dados da pesquisa, 2025.

7.6. Expressão proteica

7.6.1. Ventrículo esquerdo

As expressões das proteínas reguladoras do ciclo de cálcio no VE estão ilustradas na figura 15. Em todas as proteínas analisadas, não houve interação significativa entre os fatores TR e DN, e a droga reduziu todas as expressões proteicas, com grande TE.

Na expressão de RyR2 (figura 15-A), ambos os fatores reduziram a expressão proteica em questão, com grande TE (fator TR: $p = 0,012$, $\eta^2 = 0,28$, $F = 7,6$; fator DN: $p < 0,001$; $\eta^2 = 0,75$; $F = 60,7$). Nas múltiplas comparações, o grupo C exibiu maiores médias em relação aos grupos C-T ($p = 0,004$) e N ($p < 0,001$), enquanto o grupo C-T apresentou resultados superiores ao grupo N-T ($p < 0,001$).

A expressão da FLB_t (figura 15-B) foi reduzida pelo fator DN com $\eta^2 = 0,45$ ($p < 0,001$, $F = 16,2$). Os grupos C e C-T apresentaram maiores médias em relação aos seus análogos tratados com DN ($p = 0,002$ e $p = 0,04$, respectivamente).

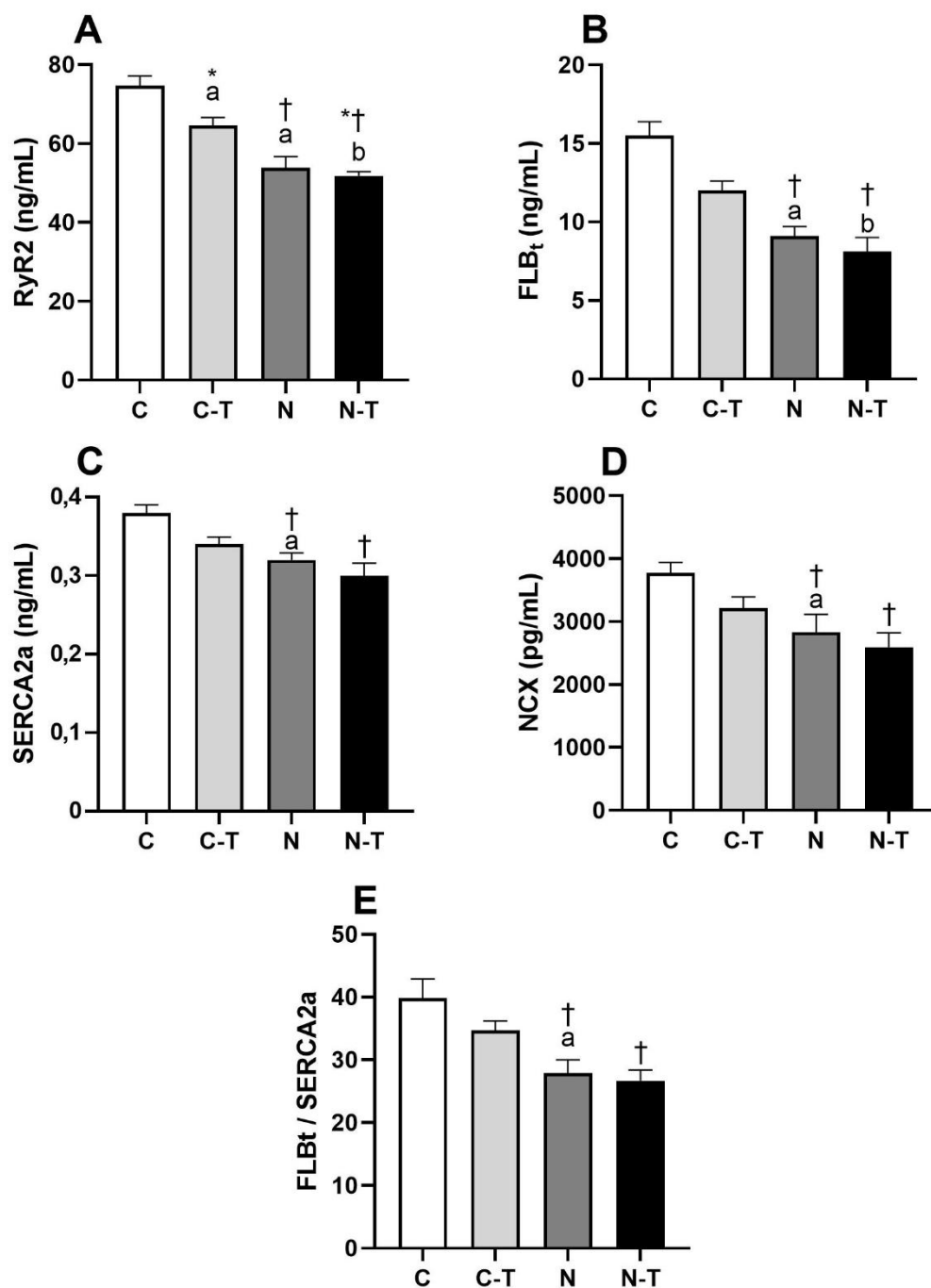
A expressão da SERCA2a (figura 15-C) foi reduzida pelo fator DN com $\eta^2 = 0,32$ ($p = 0,006$, $F = 9,6$). O grupo C apresentou maior média em relação ao N ($p = 0,02$).

A expressão de NCX (figura 15-D), por sua vez, foi reduzida pelo fator DN com $\eta^2 = 0,25$ ($p = 0,02$, $F = 6,8$). O grupo C apresentou maior média em relação ao N ($p = 0,004$).

Por fim, a relação FLB_t / SERCA2a (figura 15-E) também foi reduzida pelo fator DN com grande TE ($p < 0,001$, $\eta^2 = 0,46$, $F = 16,8$). As múltiplas comparações evidenciaram que os grupos C e C-T demonstraram valores

maiores que os seus análogos tratados com DN ($p = 0,003$ em ambas as comparações).

Figura 15. Efeitos do treinamento físico resistido e do decanoato de nandrolona sobre a expressão de proteínas reguladoras do ciclo do cálcio no ventrículo esquerdo do coração de ratos Wistar.



Legenda: (A) Canal receptor de rianodina do tipo 2 (RyR2); (B) Fosfolambam total (FLB_t); (C) Isoforma cardíaca da cálcio-ATPase do retículo sarcoplasmático (SERCA2a); (D) Canal trocador de sódio e cálcio; (E) Relação FLB_t / SERCA2a. Valores apresentados como média $\pm$ erro padrão da média, com $n = 6$ animais por grupo. Grupos: C, controle não-treinado; C-T, Controle treinado; N, decanoato de nandrolona não-treinado; N-T, decanoato de nandrolona treinado. ^a $p \leq 0,05$ vs.

C; ^b $p \leq 0,05$ vs. C-T; * $p \leq 0,05$, Fator treinamento físico resistido; † $p \leq 0,05$, fator decanoato de nandrolona. Dados analisados por ANOVA *Two-way* seguido de *post-hoc* de Tukey. Fonte: dados da pesquisa, 2025.

7.6.2. Ventrículo direito

As expressões das proteínas reguladoras do ciclo de cálcio no VE estão ilustradas na figura 16. Em todas as proteínas analisadas, não houve interação significativa entre os fatores TR e DN.

A expressão de RyR2 (figura 16-A) seguiu o mesmo padrão do VE, de modo que ambos os fatores reduziram sua expressão, com grande TE (fator TR: $p = 0,005$, $\eta^2 = 0,33$, $F = 9,9$; fator DN: $p < 0,001$; $\eta^2 = 0,76$; $F = 62,2$). Nas múltiplas comparações, o grupo C exibiu maiores médias em relação aos grupos C-T ($p = 0,002$) e N ($p < 0,001$), enquanto o grupo C-T apresentou resultados superiores ao grupo N-T ($p < 0,001$).

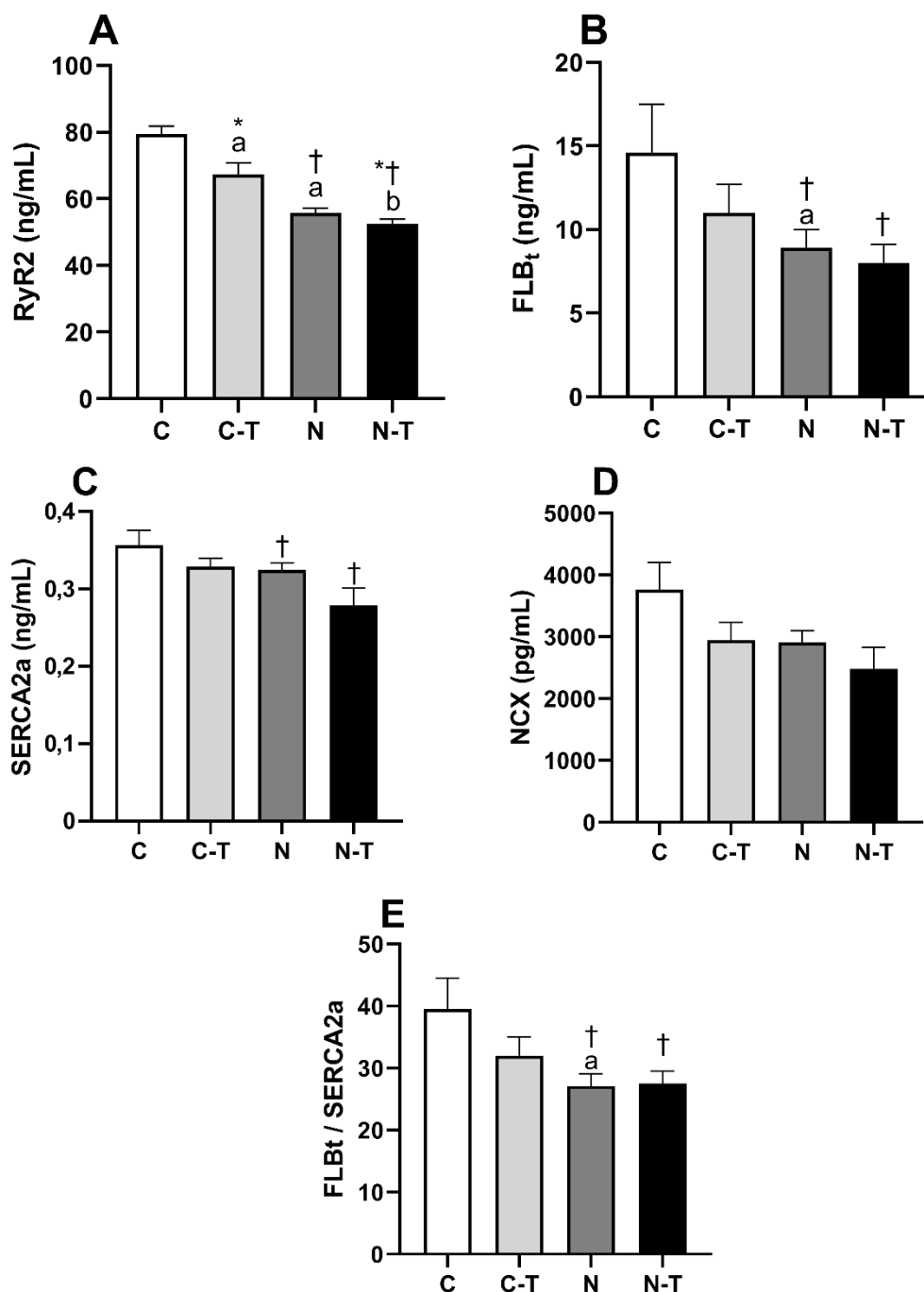
A expressão da FLB_t (figura 16-B) foi reduzida pelo fator DN com grande TE ($p = 0,03$, $\eta^2 = 0,21$, $F = 5,4$). Nas múltiplas comparações, o grupo C apresentou maior média em relação ao grupo N ($p = 0,04$).

A expressão da SERCA2a (figura 16-C) foi reduzida pelo fator DN com TE grande ($p = 0,04$, $\eta^2 = 0,19$, $F = 4,7$). Embora o fator TR tenha apresentado uma tendência a reduzir tal expressão proteica, observou-se grande TE ($p = 0,07$, $\eta^2 = 0,16$, $F = 3,7$). Não houve diferença significativa entre os grupos nas múltiplas comparações.

A expressão de NCX (figura 16-D) apresentou uma tendência a ser reduzida pelo fator DN, com grande TE ($p = 0,09$, $\eta^2 = 0,14$, $F = 3,3$). Nesta variável, também não foram observadas diferenças significativas entre os grupos.

Por fim, a relação FLB_t / SERCA2a (figura 16-E) foi reduzida pelo fator DN, com grande TE ($p = 0,049$, $\eta^2 = 0,18$, $F = 4,4$). Nas múltiplas comparações, o grupo C apresentou maior média em relação ao grupo N ($p = 0,042$).

Figura 16. Efeitos do treinamento físico resistido e do decanoato de nandrolona sobre a expressão de proteínas reguladoras do ciclo do cálcio no ventrículo direito do coração de ratos Wistar.



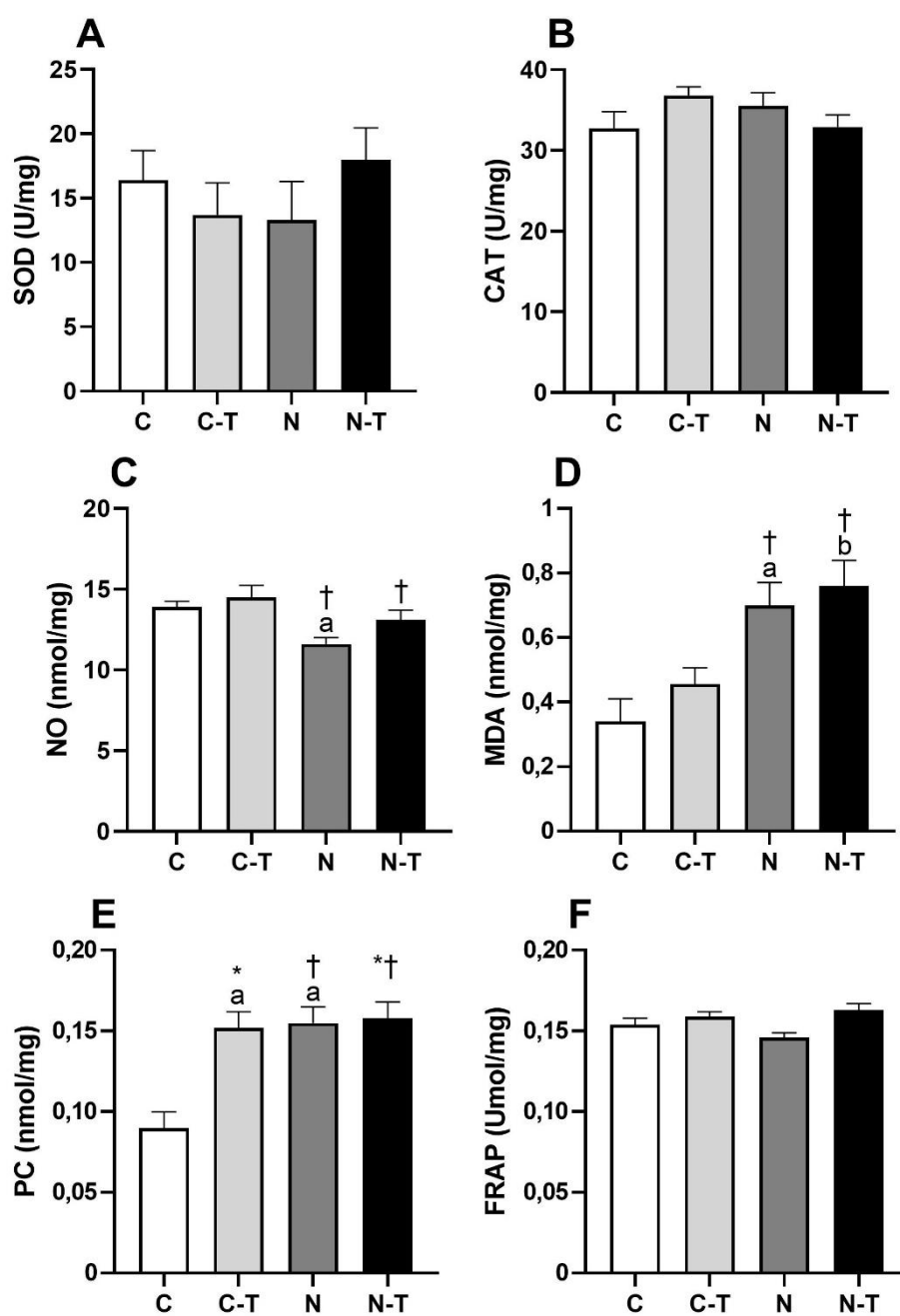
Legenda: (A) Canal receptor de rianodina do tipo 2 (RyR2); (B) Fosfolambam total (FLB_t); (C) Isoforma cardíaca da cálcio-ATPase do retículo sarcoplasmático (SERCA2a); (D) Canal trocador de sódio e cálcio; (E) Relação FLB_t / SERCA2a. Valores apresentados como média $\pm$ erro padrão da média, com $n = 6$ animais por grupo. Grupos: C, controle não-treinado; C-T, Controle treinado; N, decanoato de nandrolona não-treinado; N-T, decanoato de nandrolona treinado. ^a $p \leq 0,05$ vs. C; ^b $p \leq 0,05$ vs. C-T; * $p \leq 0,05$, Fator treinamento físico resistido; [†] $p \leq 0,05$, fator decanoato de nandrolona. Dados analisados por ANOVA *Two-way* seguido de *post-hoc* de Tukey. Fonte: dados da pesquisa, 2025.

7.7. Balanço redox

7.7.1. Ventrículo esquerdo

A expressão dos marcadores do balanço redox no VE está ilustrada na figura 17.

Figura 17. Efeitos do treinamento físico resistido e do decanoato de nandrolona sobre a expressão de marcadores do balanço redox no ventrículo esquerdo do coração de ratos Wistar.



Legenda: (A) Expressão de superóxido dismutase (SOD); (B) Expressão de catalase (CAT); (C) Expressão de óxido nítrico (NO); (D) Expressão de malonaldeído (MDA); (E) Expressão de proteína carbonilada (PC); (F) Nível de poder antioxidante redutor férrico (FRAP). Valores apresentados como média $\pm$ erro padrão da média, com $n = 6$ animais por grupo. Grupos: C, controle não-treinado; C-T, Controle treinado; N, decanoato de nandrolona não-treinado; N-T, decanoato de nandrolona treinado. ^a $p \leq 0,05$ vs. C; ^b $p \leq 0,05$ vs. C-T; * $p \leq 0,05$, Fator treinamento físico resistido; † $p \leq 0,05$, fator decanoato de nandrolona. Dados analisados por ANOVA Two-way seguido de *post-hoc* de Tukey. Fonte: dados da pesquisa, 2025.

A expressão da SOD (figura 17-A) não sofreu influência da interação entre TR e DN ($p = 0,72$), tampouco desses fatores de forma isolada, os quais apresentaram TE pequeno (TR: $p = 0,7$, $\eta^2 = 0,001$, $F = 0,04$; DN: $p = 0,8$, $\eta^2 = 0,03$, $F = 0,04$). As múltiplas comparações não evidenciaram diferenças intergrupos.

A expressão da CAT (figura 17-B) não exibiu significância na interação dos fatores em conjunto ($p = 0,09$), nem isoladamente (TR: $p = 0,7$, $\eta^2 = 0,008$, $F = 0,16$; DN: $p = 0,8$, $\eta^2 = 0,004$, $F = 0,08$). Também não foram constatadas diferenças significantes entre os grupos.

A produção de NO (figura 17-C) não apresentou interação entre TR e DN ($p = 0,58$), tampouco efeito significativo do TR ($p = 0,1$, $\eta^2 = 0,1$, $F = 2,3$). Entretanto, o DN reduziu a produção, com grande TE ($p = 0,01$, $\eta^2 = 0,27$, $F = 7,2$). Ademais, o grupo N apresentou menor média em relação ao grupo C ($p = 0,03$).

A expressão de MDA (figura 17-D) também não foi influenciada pela interação entre TR e DN ($p = 0,7$), nem pelo TR isoladamente ($p = 0,4$, $\eta^2 = 0,03$, $F = 0,7$). Contudo, o DN aumentou os níveis de MDA, com grande TE ($p = 0,001$, $\eta^2 = 0,42$, $F = 14,6$). Nas múltiplas comparações, os grupos N e N-T exibiram maiores resultados quando comparados aos seus análogos controles ($p = 0,01$ e $p = 0,03$, respectivamente).

O nível de PC (figura 17-E) apresentou interação significativa entre TR e DN ($p = 0,03$), sendo que ambos os fatores o aumentaram, com grande TE (TR: $p = 0,02$, $\eta^2 = 0,27$, $F = 6,7$; DN: $p = 0,01$, $\eta^2 = 0,29$, $F = 8,2$). Nas múltiplas comparações, os grupos C-T e N apresentaram maiores médias em relação ao grupo C ($p = 0,002$ em ambas as comparações).

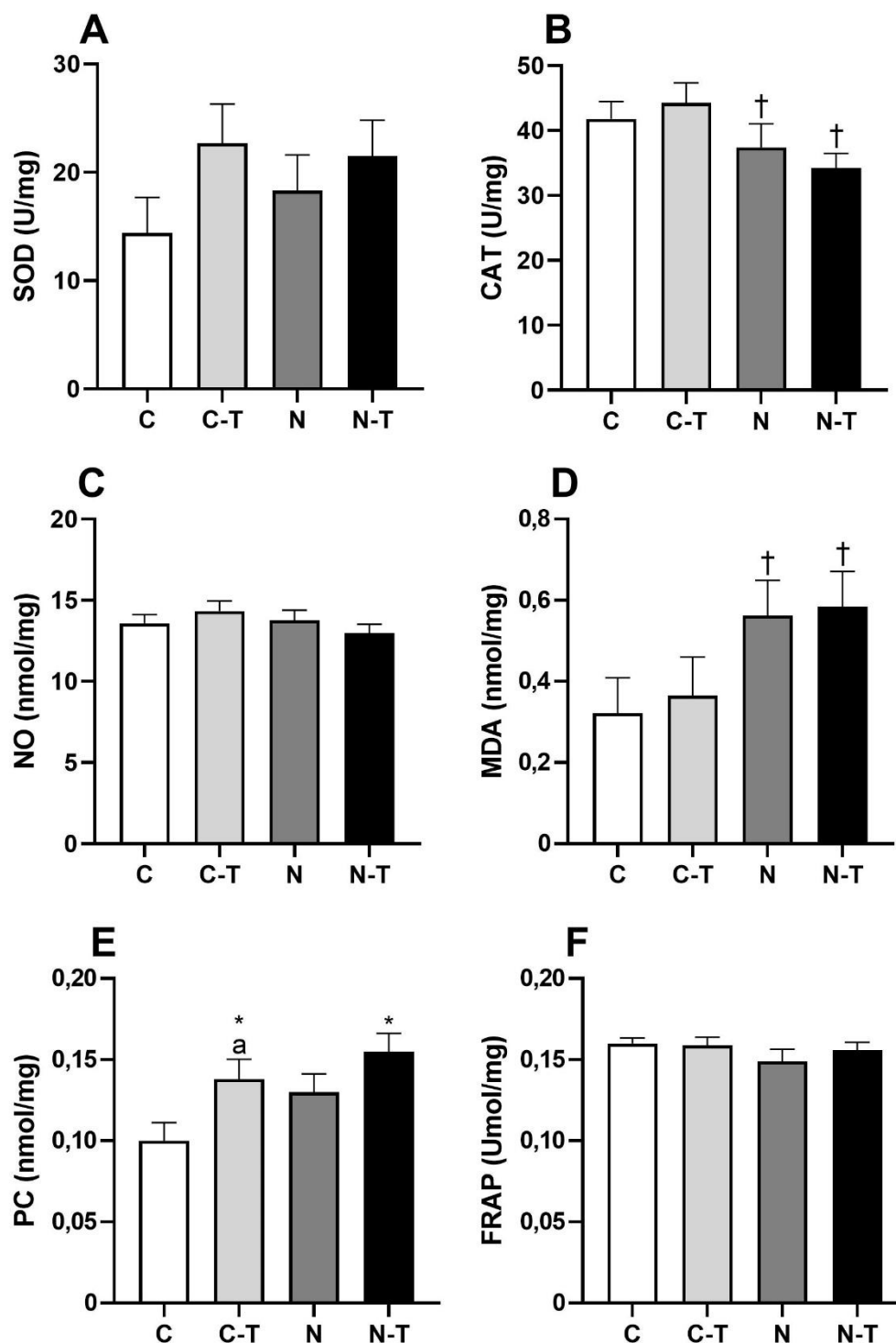
A capacidade antioxidante total, mensurada pelo FRAP (figura 17-F), não apresentou interação entre os fatores TR e DN ($p = 0,3$), embora o TR tenha apresentado uma tendência ao aumento do FRAP, com grande TE ($p = 0,07$, η^2

= 0,14, $F = 3,6$). O DN, por sua vez, não promoveu efeito sobre esta variável ($p = 0,8$, $\eta^2 = 0,009$, $F = 0,07$). As múltiplas comparações não exibiram diferenças intergrupos.

7.7.2. Ventrículo direito

A expressão dos marcadores do balanço redox no VD está ilustrada na figura 18.

Figura 18. Efeitos do treinamento físico resistido e do decanoato de nandrolona sobre a expressão de marcadores do balanço redox no ventrículo direito do coração de ratos Wistar.



Legenda: (A) Expressão de superóxido dismutase (SOD); (B) Expressão de catalase (CAT); (C) Expressão de óxido nítrico (NO); (D) Expressão de malonaldeído (MDA); (E) Expressão de proteína carbonilada (PC); (F) Nível de poder antioxidante redutor férrico (FRAP). Valores apresentados como média $\pm$ erro padrão da média, com $n = 6$ animais por grupo. Grupos: C, controle não-treinado; C-T, Controle treinado; N, decanoato de nandrolona não-treinado; N-T, decanoato de nandrolona treinado. ^a $p \leq 0,05$ vs. C; ^b $p \leq 0,05$ vs. C-T; * $p \leq 0,05$, Fator treinamento físico resistido; † $p \leq 0,05$, fator decanoato de nandrolona. Dados analisados por ANOVA Two-way seguido de *post-hoc* de Tukey. Fonte: dados da pesquisa, 2025.

Na expressão da SOD, (figura 18-A) não houve interação entre TR e DN ($p = 0,46$), e os fatores isoladamente também não geraram diferenças significativas neste indicador, embora o TR tenha exercido efeito moderado (TR: $p = 0,12$, $\eta^2 = 0,13$, $F = 2,9$; DN: $p = 0,7$, $\eta^2 = 0,008$, $F = 0,1$). As múltiplas comparações não evidenciaram diferenças intergrupos.

Na expressão da CAT (figura 18-B), não houve interação dos fatores ($p = 0,99$). Não houve efeito significativo do TR sobre esta variável ($p = 0,7$, $\eta^2 = 0,006$, $F = 0,1$). O DN, por sua vez, reduziu a atividade da CAT, com TE grande ($p = 0,01$, $\eta^2 = 0,29$, $F = 8$). Não foram constatadas diferenças entre os grupos.

A produção de NO (figura 18-C) no VD não apresentou interação entre TR e DN ($p = 0,2$), e os fatores isoladamente também não promoveram efeitos sobre esta variável (TR: $p = 0,98$, $\eta^2 = 0$, $F = 0,001$; DN: $p = 0,33$, $\eta^2 = 0,05$, $F = 1$). Não houve diferenças entre os grupos.

A expressão de MDA (figura 18-D) também não foi influenciada pela interação entre TR e DN ($p = 0,9$), nem pelo TR isoladamente ($p = 0,72$, $\eta^2 = 0,006$, $F = 0,1$). Assim como no VE, o DN aumentou a expressão de MDA no VD, com grande TE ($p = 0,02$, $\eta^2 = 0,26$, $F = 6$). Nas múltiplas comparações, não foram evidenciadas diferenças intergrupos.

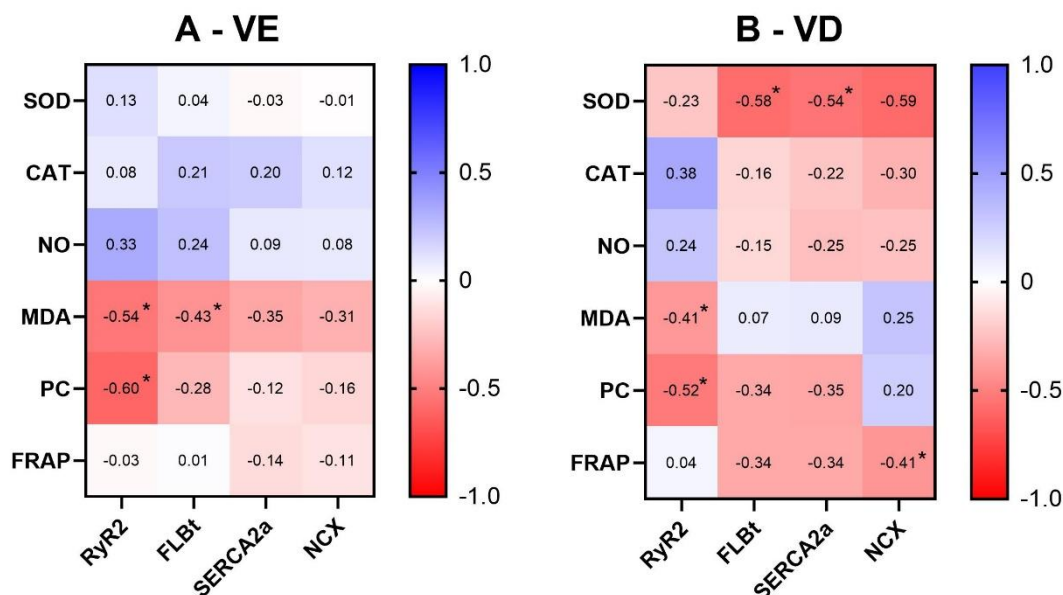
O nível de PC (figura 18-E) não evidenciou interação significativa entre TR e DN ($p = 0,7$). O TR aumentou as médias com TE grande ($p = 0,02$, $\eta^2 = 0,26$, $F = 6,8$). O DN apresentou uma tendência a aumentar a expressão de PC, com grande TE ($p = 0,07$, $\eta^2 = 0,15$, $F = 3,6$). Nas múltiplas comparações, o grupo C-T apresentou maiores valores que o C ($p = 0,0049$).

Por fim, o FRAP (figura 18-F), não apresentou interação entre os fatores TR e DN ($p = 0,7$). O TR e o DN, isoladamente, também tiveram TE pequeno sobre esta variável (TR: $p = 0,7$, $\eta^2 = 0,01$, $F = 0,1$; DN: $p = 0,5$, $\eta^2 = 0,01$, $F = 0,4$). As comparações intergrupos não revelaram diferenças.

7.8. Associação entre proteínas reguladoras do ciclo de Ca^{2+} e marcadores do balanço redox

Os resultados dos testes de correlação estão apresentados na figura 19.

Figura 19. Testes de correlação entre proteínas reguladoras de Ca^{2+} e marcadores do balanço redox no coração de ratos Wistar submetidos ou não ao treinamento físico resistido e/ou decanoato de nandrolona.



Legenda: (A) Ventrículo esquerdo; (B) Ventrículo direito. (*), $p \leq 0,05$; CAT, catalase; FLBt, Fosfolambam total; FRAP, Nível de poder antioxidante redutor férrico; MDA, malonaldeído; NCX, canal trocador de sódio-cálcio; NO, óxido nítrico; PC, proteína carbonilada; RyR2, canais de rianodina do tipo 2; SERCA2a, isoforma cardíaca da Cálcio-ATPase do retículo sarcoplasmático; SOD, superóxido dismutase. Dados analisados por correlação de Pearson para todas as variáveis, com exceção das correlações entre SOD e demais variáveis no VD, em que foi utilizada correlação de Spearman. Fonte: dados da pesquisa, 2025.

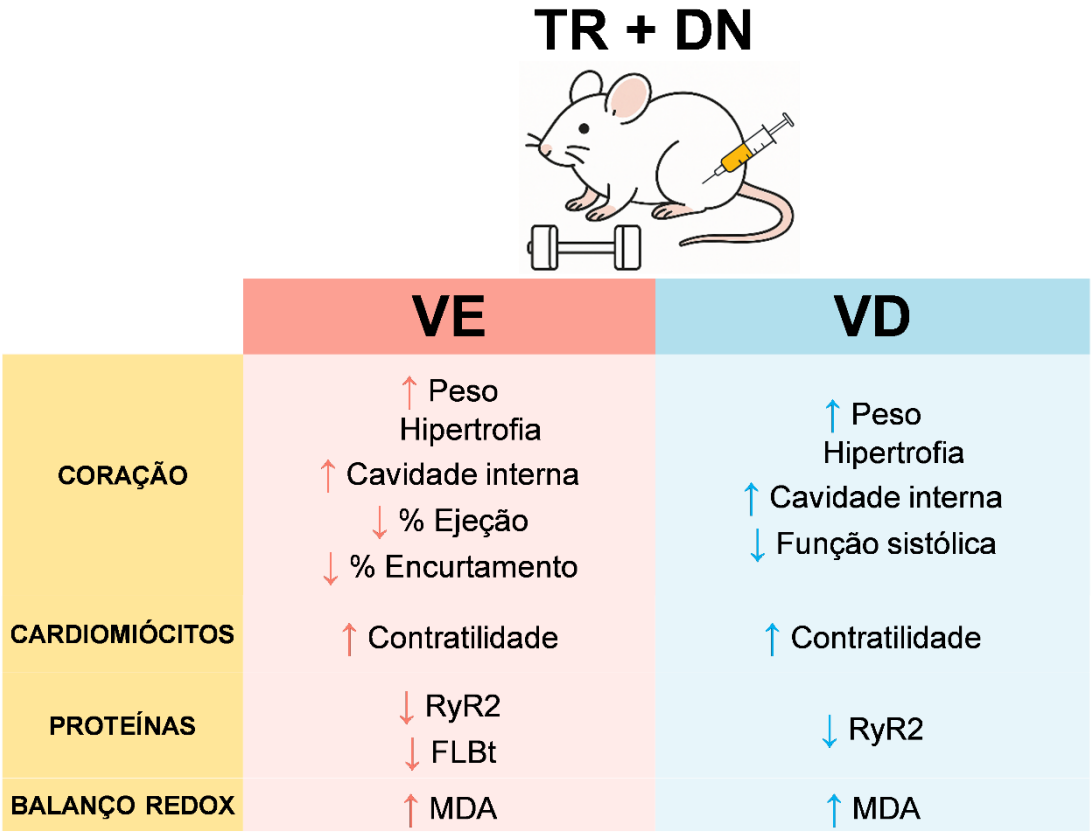
No VE (figura 19-A), todas as variáveis apresentaram distribuição normal, sendo realizada correlação de Pearson. Foram observadas correlações negativas fortes entre os níveis de MDA e RyR2 ($r = -0,54$, $p = 0,007$), bem como entre os níveis de PC e RyR2 ($r = -0,6$, $p = 0,002$). Também foi constatada correlação negativa moderada entre os níveis de MDA e FLBt.

No VD (figura 19-B), os níveis de SOD não apresentaram distribuição normal, sendo realizadas correlações de Spearman quando esta variável foi envolvida. As demais associações utilizaram correlação de Pearson, considerando a normalidade dos dados. Foram observadas correlações negativas fortes entre os níveis de: PC e RyR2 ($r = -0,52$, $p = 0,01$), SOD e FLBt ($r = -0,58$, $p = 0,004$), bem como SOD e SERCA2a ($r = -0,54$, $p = 0,007$). Foram também verificadas correlações negativas moderadas entre MDA e RyR2 ($r = -0,41$, $p = 0,05$), além de FRAP e NCX ($r = -0,41$, $p = 0,04$).

7.9. Síntese gráfica dos principais achados

A figura 20 apresenta um resumo gráfico dos efeitos observados na associação entre TR e DN nos ventrículos cardíacos.

Figura 20. Efeitos da associação entre treinamento físico resistido e decanoato de nandrolona sobre o coração.



Legenda: DN, decanoato de nandrolona; FLBt, fosfolambam total; MDA, malonaldeído; RyR2, canais receptores de rianodina do tipo 2; TR, treinamento físico resistido; VD, ventrículo direito; VE, ventrículo esquerdo. Fonte: Dados da pesquisa, 2025.

8. DISCUSSÃO

A presente tese teve por objetivo avaliar os efeitos do TR associado ao DN sobre a morfofisiologia cardíaca, propriedades moleculares, mecânicas e balanço redox em cardiomiócitos isolados de ratos Wistar. Faz-se importante salientar que se trata de um estudo pioneiro, posto que a avaliação do comportamento de tais células isoladas no contexto da utilização de anabolizantes combinada a um protocolo de TR permanece enquanto lacuna na literatura científica.

Os resultados indicaram que a interação entre o TR e o DN aumentou o peso e o índice de hipertrofia do VE, o diâmetro interno do VD na diástole, a espessura do septo interventricular e a expressão de PC no VE.

Ao analisar os fatores de forma isolada, foi observado que o fator DN não afetou parâmetros de contratilidade de células do VE. Todavia, no VD, aumentou a amplitude e a velocidade de contração de miócitos nas frequências mais altas de estímulo, além de ter incrementado a velocidade de relaxamento e reduzido o tempo para o pico de contração celular. Em ambos os ventrículos, a droga inibiu a expressão de todas as proteínas reguladoras do ciclo do Ca^{2+} analisadas e aumentou a expressão de MDA e PC. Além disso, a droga em questão aumentou a largura e volume celular de cardiomiócitos do VE; aumentou o peso do coração, bem como do VE e do VD isoladamente. Por fim, o DN tendeu a inibir o ganho de peso e o desempenho físico dos animais ao longo do experimento.

O protocolo de exercício resistido, por sua vez, promoveu otimizações na função contrátil de células do VE e do VD, resultando, em ambas as cavidades, em: aumento da amplitude e velocidade de contração; redução do tempo para o relaxamento e aumento da velocidade de relaxamento. Em ambos os ventrículos, inibiu a expressão de RyR2 e aumentou a expressão de PC. Assim como o DN, o treinamento físico também promoveu incrementos no peso do coração, do VE e do VD, gerando também aumento do desempenho físico nos grupos treinados.

O estudo mostrou, ainda, que elevados níveis de MDA e PC nos ventrículos cardíacos estão associados à inibição da expressão de RyR2. Além

disso, o aumento da atividade da defesa antioxidante promovida pela SOD está associado à redução da expressão de FLB_t e SERCA2a no VD.

8.1. Peso dos animais e desempenho físico

Os animais dos grupos C-T, N e N-T tiveram ganhos significativos de peso corporal. Contudo, a análise de fatores evidenciou que o DN inibiu tal incremento, com grande TE. Ao comparar os grupos experimentais, o N-T obteve a menor média de peso corporal ao final do experimento, diferindo significativamente do grupo N.

Em estudos prévios, as respostas ponderais frente ao tratamento com EAAs não apresentam um padrão, uma vez que foram documentados manutenção (Gonçalves et al., 2014; Pereira-Júnior et al., 2006), redução (Franqui et al., 2013; Soares et al., 2011) e ganho de peso corporal (Bissoli et al., 2009).

A inibição do ganho de peso corporal observado em nossos dados pode estar relacionada a diversos fatores. O primeiro deles é que o DN associado ao treinamento físico pode aumentar a expressão de catecolaminas, sendo que tais alterações neuro-humorais culminam em diminuição do apetite e, por conseguinte, resultam em menores ganhos ponderais (Woodiwiss et al., 2000).

Outra possível explicação é que o tratamento com a droga em questão pode gerar um aumento na lipólise do tecido adiposo dos animais. Todavia, esta hipótese inspira cautela, posto que, enquanto alguns investigadores observaram redução da gordura intra-abdominal de ratos sedentários tratados com DN (Hassan; Kamal et al., 2013), outros não identificaram redução da gordura peritoneal de animais também submetidos à administração da droga (Pereira-Júnior et al., 2006).

Salienta-se também que, embora o fator DN tenha sido apontado enquanto fator inibitório ao ganho ponderal, as múltiplas comparações intergrupos não evidenciaram diferença no peso corporal final entre os grupos C *versus* N, enquanto os grupos C-T e N-T diferenciaram-se significativamente. Este dado, somada à tendência estatística de interação entre os tratamentos TR e DN, sugere que, associados, estes fatores podem ter potencializado a inibição de ganho de peso corporal dos animais deste estudo.

No tocante ao desempenho físico dos animais, a interação entre as intervenções não foi significativa. Todavia, constatou-se que, enquanto o protocolo de TR, isoladamente, aumentou o desempenho físico dos animais treinados com um TE grande, o fator DN apresentou uma tendência a inibir o ganho de desempenho, com um TE médio.

Estes achados indicam que o protocolo de treinamento utilizado foi eficaz para o desenvolvimento de adaptações fisiológicas ao treinamento resistido, a começar pela melhora no desempenho dos animais no teste de PMC. Essa resposta pode ser atribuída a adaptações neurais promovidas pelo treinamento, tais como maior recrutamento de unidades motoras e sincronização motora mais eficiente, que são mudanças fisiológicas esperadas nas fases iniciais do treinamento de força. Essas adaptações podem ocorrer independentemente de alterações morfológicas musculares, explicando o aumento da força relativa mesmo na ausência de hipertrofia (Aagaard et al., 2002).

No que concerne à tendência ao prejuízo do desempenho físico dos animais provocado pelo DN, esta possivelmente se relaciona às disfunções cardíacas provocadas pela dosagem utilizada em nosso estudo, as quais serão melhor pormenorizadas adiante.

O resultado do desempenho físico dos animais da presente pesquisa distingue-se de estudos prévios envolvendo DN e TR, os quais reportaram que a combinação de tratamentos promoveu ganhos de performance anaeróbica em modelos de treinamento resistido com saltos em ambiente aquático, cujos protocolos tiveram duração de quatro a seis semanas (Dantas et al., 2021; Lima et al., 2015; Nascimento et al., 2016). A partir desta comparação, faz-se necessário atentar-se para uma diferença metodológica em comparação com o presente estudo: a dosagem total acumulada de DN nos animais dos artigos anteriormente mencionados variou de 60 a 80 mg/kg em cada rato, sendo aplicada ao longo de quatro a seis semanas, ao passo que esta investigação aplicou uma dosagem total acumulada de 160 mg/kg de DN, distribuída em doses semanais de 20 mg/kg, durante oito semanas.

A partir disso, é sabido que, quanto maior a dose acumulada de DN no organismo, maior a chance de ocorrência de disfunções não apenas no sistema cardiovascular – tal como hipertrófica cardíaca patológica, arritmias, diminuição da fração de ejeção e da complacência ventricular e surgimento de hipertensão

arterial -, mas também danos à função renal e hepatotoxicidade, os quais, somados, podem culminar em prejuízos ao desempenho físico (Bond et al., 2022).

A maioria dos estudos prévios se deteve a investigar os efeitos da administração de 10 mg/kg de DN ao longo de quatro a seis semanas, que corresponde a uma dosagem frequentemente utilizada por atletas em processo de dopagem (600 mg/semana, ou aproximadamente 8 mg/kg/semana) (Norton et al., 2000; Pope; Katz, 1988). Mesmo quando utilizada em curtos períodos, essa faixa já se mostrou suficiente para promover ganhos de performance anaeróbica, bem como eliciar disfunções cardíacas, a exemplo de arritmias, cardiomiopatias e hipertrofia cardíaca patológica (Dantas et al., 2021; Lima et al., 2015; Nascimento et al., 2016).

A escolha pela dose semanal de 20 mg/kg ao longo de 8 semanas se deve ao atual contexto do uso abusivo de DN, em que muitos indivíduos, na busca por um crescimento ainda mais acelerado de performance e massa muscular, optam por doses similares ou maiores, ao longo de ciclos que variam de 6 a 12 semanas, e que se repetem ao longo dos anos (Patanè et al., 2020; Sretenovic et al., 2016). Nessa perspectiva, a dose proposta suscitou alterações morfofuncionais cardíacas ainda mais pronunciadas, e que podem ter prejudicado o desempenho físico dos animais do grupo N-T, quando comparados ao grupo C-T.

8.2. Alterações morfofuncionais cardíacas

A interação entre o TR e o DN tendeu a aumentar o peso do coração, apresentando grande magnitude de efeito. Essa interação aumentou o peso e o índice de hipertrofia do VE, também com grande TE, mas não foi significativa no peso do VD e na hipertrofia desta cavidade.

Quando os fatores TR e DN foram analisados de forma individual, foi constatado que eles aumentaram o peso do coração, de seus ventrículos e respectivos índices de hipertrofia ventricular, com grande magnitude de efeito. Este resultado pôde ser reforçado nas múltiplas comparações, ao ser verificado que os grupos C-T e N apresentaram médias maiores que o grupo C em relação aos aspectos de peso e índice de hipertrofia cardíaco.

Esses resultados estão dentro do esperado em relação a estudos pregressos, uma vez que é bem estabelecido na literatura que o TR pode provocar hipertrofia cardíaca, sendo esta um mecanismo fisiológico e compensatório à sobrecarga pressórica a ser suplantada pelo coração. Tais alterações mecânicas ativam a cascata de sinalização de hipertrofia Fosfoinosítídeo 3-quinase (PI3K) / proteína quinase B (AKT) / alvo da rampamicina (mTOR) (Melo et al., 2011), resultando em estímulo à biossíntese ribossomal e tradução de proteínas, que culminam em um quadro hipertrófico que não é acompanhado por depósito de colágeno tecidual, tampouco por perda de função cardíaca (Kenney; Wilmore; Costill, 2013). Em nosso estudo, os animais submetidos somente ao TR apresentaram aumento do peso do coração e do índice de hipertrofia cardíaca, sem qualquer prejuízo funcional.

A utilização de EAAs e sua relação com a hipertrofia cardíaca, por sua vez, também já é bem estabelecida na literatura. Os resultados obtidos no presente estudo corroboram os achados de Stolt e colaboradores (1999), que reportaram hipertrofia ventricular esquerda em praticantes de exercícios resistidos que também eram usuários de altas doses de EAA. Além disso, um estudo conduzido por Tanno et al. (2011) também evidenciou que o TR de alta intensidade, quando associado à administração de nandrolona, promove hipertrofia cardíaca concêntrica. Até mesmo a utilização de outros modelos de exercício, como exercícios aeróbicos com natação e corrida, pode potencializar a hipertrofia cardíaca promovida pelo DN (Abdollahi et al., 2016; Baravati et al., 2015; Binayi et al., 2016).

Sabe-se que o efeito hipertrófico do DN no tecido cardíaco está ligado a dois principais mecanismos: genômico e não-genômico. O primeiro deles – já classicamente estabelecido na literatura - versa que, quando o esteroide anabolizante se liga ao receptor androgênico, o complexo hormônio-receptor se liga ao DNA celular. Esta interação resulta no recrutamento de coativadores da expressão de genes para regulação da transcrição e síntese proteica, o que, por conseguinte, se traduz em respostas anabólicas (Shahidi, 2001).

O segundo mecanismo, por sua vez, ainda não está completamente elucidado na literatura. Acredita-se que a testosterona e seus derivados também ativam a via de sinalização mTOR em cardiomiócitos pela fosforilação da Akt, tal como ocorre no treinamento físico (Proud, 2004). Entretanto, outros mecanismos

também foram descritos. A exemplo disto, observa-se que a resposta celular do esteroide anabolizante é mediada pelo aumento do cálcio intracelular provocado pela interação entre o EAA, o receptor androgênico e os canais de cálcio tipo L. Estes, ao serem ativados pela ação da droga, favorecem o aumento da concentração de Ca^{2+} intracelular. Essa resposta iônica, por sua vez, promove um aumento de inositol 1,4,5-trifosfato (IP3), que, por fim, ativa a via de sinalização mTOR (Altamirano et al., 2009). Além disso, tanto os EAAs quanto o treinamento físico exercem efeito sinérgico sobre a ativação da via mTOR pelo aumento da fosforilação das quinases reguladas por sinais extracelulares 1/2 (ERK1/2) (Altamirano et al., 2009; Chodari et al., 2016).

Estes mecanismos descritos estão, todavia, fortemente associados à hipertrofia fisiológica do coração. Por outro lado, o aumento da concentração de Ca^{2+} intracelular nos miócitos cardíacos também induz ao aumento da produção de calcineurina, um hormônio peptídico que é um importante marcador bioquímico em cardiomiopatias hipertróficas secundárias ao aumento da pós-carga cardíaca, ou a defeitos internos no miócito (Mill et al., 2004), e que também está relacionado ao aumento da expressão de genes pró-fibróticos, resultando em maior deposição de colágeno e remodelamento adverso do miocárdio (Wilkins et al., 2004). Este mecanismo necessita de maior aprofundamento, posto que há uma escassez de estudos que o associem à utilização de esteroides anabolizantes combinada ao TR.

Apesar da menção individualizada das vias que estão relacionadas à hipertrofia cardíaca observada nos achados em questão, faz-se necessário salientar que o impacto da associação entre o DN e o TR sobre as alterações morfofuncionais cardíacas é, na verdade, o resultado da convergência entre as vias genômicas e não-genômicas anteriormente mencionadas. Quando integradas, seus efeitos podem se comportar de forma sinérgica, resultando em ampla variabilidade de resultados, a depender das variáveis envolvidas na administração da droga e na esquematização do protocolo de treinamento (Schwartz et al., 2016).

Em nossos achados, verificou-se que a utilização do DN associada ao TR promoveu hipertrofia ventricular. Todavia, no grupo N-T, a combinação dos tratamentos não fez com que o peso ventricular e o índice de hipertrofia do VE grupo N-T fosse superior aos grupos N e C-T, ao passo que, no VD, o grupo N-

T já mostrou esses parâmetros superiores aos grupos que tiveram os tratamentos de forma isolada.

Sob a perspectiva celular, foi observado que apenas os miócitos do VE exibiram alterações em sua morfologia. Nestes, foi constatado que o DN aumentou a largura e volume celular, nas quais o grupo N-T exibiu maiores médias que o grupo C-T. Além disso, o DN reduziu a razão comprimento / largura celular nestas células, reforçando a ocorrência de uma hipertrofia de caráter concêntrico (Dantas et al., 2021; Nascimento et al., 2016). No VD, por sua vez, não foram observadas quaisquer diferenças significativas.

Uma possível explicação para as diferenças encontradas nas adaptações morfológicas e celulares entre VE e VD decorre das próprias distinções funcionais entre as câmaras. Durante a prática de TR, a sobrecarga pressórica sistêmica se eleva, de modo que o VE necessita suplantear pressões ainda maiores para assegurar o funcionamento do sistema cardiovascular. Esse estímulo ativa as repostas hipertróficas anteriormente mencionadas, sobretudo de hipertrofia concêntrica – caracterizada pelo aumento da largura e volume celular - que podem ser potencializadas pela utilização do DN (Dantas et al., 2021; Nascimento et al., 2016; Carneiro-Júnior et al., 2013).

Já no VD, uma possível explicação para o aumento de seu peso e índice de hipertrofia sem qualquer alteração significativa na morfologia dos miócitos é o aumento da deposição de colágeno na matriz extracelular e aumento da fibrose tecidual, que gera aumento do peso sem necessariamente alterar a morfologia celular. No VD, esse processo de remodelamento da matriz extracelular como resultado da combinação entre exercício físico e EAAs pode ficar mais evidente que o VE em alguns casos, considerando que o efeito anabólico do DN é dependente do estímulo mecânico para a síntese proteica dos miócitos, o qual tende a ser menor no VD, comparado ao VE. Neste cenário, os EAAs desenvolvem suas ações sobre a matriz extracelular ventricular, mas sem gerar efeitos anabólicos consideráveis (Fadah et al., 2023).

Na análise ecocardiográfica, a interação entre o TR e o DN potencializou o aumento da dimensão do VD na diástole, bem como na espessura do septo interventricular. Ao avaliar os grupos individualmente, verificou-se que o N-T foi o único grupo do experimento a apresentar alterações ecocardiográficas – mais especificamente, dilatação do VD na diástole, dilatação do VE na sístole e

aumento da espessura do septo interventricular na diástole, sendo todos maiores em relação ao grupo N.

Ademais, foram constatados prejuízos funcionais somente no grupo N-T, como redução da TAPSE e das frações de ejeção e de encurtamento, todos em relação ao grupo N. Estes declínios da função cardíaca podem, ainda, ter justificado o menor desempenho físico dos animais do grupo N-T. Esses achados caracteristicamente patológicos, portanto, corroboram a teoria de que os efeitos dos esteroides anabolizantes na morfologia cardíaca são mais pronunciados quando sua utilização ocorre de forma combinada ao treinamento físico (Hassan; Kamal, 2013).

As alterações ecocardiográficas apontam para o desenvolvimento de um possível quadro inicial de cardiomiopatia dilatada, posto que gerou dilatação biventricular com prejuízo da fração de ejeção (Ribeiro et al., 2022). Em ambientes clínicos, tem sido observado um aumento de pacientes que apresentam quadros de cardiomiopatia dilatada subsequente ao uso abusivo de EAAs. Contudo, os mecanismos fisiopatológicos que justificam estas ocorrências ainda permanecem obscuros (Bhattad; Roumia, 2022; Milevski et al., 2022). Uma possível explicação para este achado é que, embora o DN e o TR sejam estímulos hipertróficos para o coração (Nascimento et al., 2016), doses muito elevadas de testosterona atuam como agente pró-inflamatório, podendo ativar genes que resultam em inflamação miocárdica e necrose, induzindo ao desenvolvimento de quadros de miocardite, que se configuram como uma das causas de dilatação biventricular com prejuízo funcional (Sobreira-Filho et al., 2018). Todavia, a verificação desta hipótese necessita de análises mais aprofundadas, sobretudo acerca das vias de hipertrofia cardíaca patológica possivelmente associadas a estes achados.

8.3. Contratilidade de cardiomiócitos isolados e expressão de proteínas reguladoras do ciclo de Ca^{2+}

De maneira geral, nossos achados apontam que tanto o TR quanto a aplicação de 20 mg/kg/semana de DN durante 8 semanas otimizaram a função contrátil dos cardiomiócitos de ratos Wistar, embora não tenha sido detectada interação significativa entre esses fatores em nenhum dos ventrículos.

A despeito do iminente prejuízo à função cardíaca constatado pelos dados ecocardiográficos, as células parecem ter adotado um comportamento compensatório à disfunção cardíaca, sugerindo que as alterações funcionais podem estar atreladas ao remodelamento da matriz extracelular. Esta hipótese é reforçada por estudos que indicam que o DN aumenta a deposição de colágeno na matriz extracelular e promove aumento das citocinas pró-inflamatórias no coração (Franzini et al., 2013). Além disso, a dilatação biventricular associada ao prejuízo sistólico observado no grupo N-T pode fazer com que as células cardíacas estejam exibindo otimizações em seus parâmetros de contratilidade, na busca pela manutenção da homeostasia do funcionamento cardíaco, sobretudo da sístole (Mill et al., 2004).

Na comparação entre o efeito dos tratamentos administrados em ambos os ventrículos, percebe-se que o TR otimizou os parâmetros contráteis celulares tanto no VE, quanto no VD. Todavia, somente no VD o esteroide anabolizante administrado exerceu efeito significativo, otimizando todos os parâmetros analisados, com exceção do tempo para 50% do relaxamento. Uma possível explicação é que o exercício físico resistido gera uma sobrecarga pressórica sistêmica que aumenta, principalmente, a pós-carga do VE (Green et al., 2024). Assim sendo, o efeito do treinamento foi preponderante sobre o VE, podendo ter mitigado o impacto da droga isoladamente. Já no VD, o treinamento também influenciou a melhoria dos parâmetros contráteis, mas o fator DN se mostrou mais evidente.

No VE, o TR otimizou todos os parâmetros de contratilidade celular analisados, nas frequências de estímulo 1, 3 e 5 Hz, ao passo que o DN não pareceu afetá-los. Salienta-se, contudo, que as múltiplas comparações intergrupos apontaram que as diferenças foram, quase que em sua totalidade, entre os grupos submetidos à administração do esteroide anabolizante, ou seja, grupos N-T *versus* N. Sendo assim, o grupo N-T apresentou considerável melhora da amplitude e velocidade de contração, do tempo para o pico de contração, da velocidade de relaxamento além de redução no tempo para 50% do relaxamento. O treinamento físico analisado de forma isolada pelos resultados apresentados pelo grupo C-T, por sua vez, não melhorou parâmetros de tempo para o pico de contração, tempo para 50% do relaxamento, tampouco

velocidade de relaxamento nas células do VE, mas foi efetivo para melhora da amplitude e velocidade de contração das mesmas.

Do ponto de vista molecular, o DN reduziu a expressão de RyR2, SERCA2a, NCX, FLB_t e da razão FLB_t / SERCA2a no VE, com grandes TEs. Contudo, a análise intergrupos revelou que, na associação entre DN e TR, apenas os níveis de RyR2 e FLB_t foram inibidos.

Nessa perspectiva, o grupo N-T apresentou menor expressão de RyR2 em comparação ao grupo C-T. Essa redução poderia comprometer a amplitude de contração, o tempo para o pico e a velocidade de contração, já que o RyR2 é a principal via de liberação de Ca²⁺ do retículo sarcoplasmático para o citoplasma após a despolarização da membrana (Bers, 2001). Contudo, a ausência de disfunção contrátil nesses animais sugere a atuação de mecanismos compensatórios, como o aumento da sensibilidade da troponina C ao Ca²⁺. Evidências indicam que o TR promove alterações fosforilativas no complexo troponina, favorecendo a exposição do sítio de ligação actina-miosina e acelerando a cinética contrátil, especialmente sob sobrecarga fisiológica. Essa adaptação é particularmente benéfica diante da disfunção de proteínas reguladoras do cálcio, como o RyR2, e pode ter contribuído para a preservação da força contrátil nos animais tratados com DN (Layland; Solaro; Shah, 2005).

Apesar dos evidentes efeitos benéficos do TR sobre a contratilidade, este fator também reduziu a expressão de RyR2 em ambos os ventrículos. Uma possível hipótese é que o protocolo de exercício aplicado elevou o estresse oxidativo nas células, corroborado pelo aumento dos níveis de PC. O excesso de EROs, por sua vez, promove modificações oxidativas no RyR2, como oxidação de grupos sulfidril e nitrosilação, o que prejudica sua estabilidade funcional e ativa mecanismos de regulação negativa da sua expressão gênica (Heijman et al., 2014; Bellinger et al., 2009).

Por outro lado, o grupo N-T também apresentou menor expressão de FLB_t comparado ao C-T. A diminuição desta expressão proteica aumenta a sensibilidade da SERCA2a ao Ca²⁺, uma vez que a FLB é o inibidor primário da SERCA2a (MacLennan; Kranias, 2003; Bers, 2002). Apesar do DN também ter inibido a expressão da SERCA2a, a razão FLB_t / SERCA2a também foi reduzida, demonstrando que, proporcionalmente, a diminuição da FLB_t foi mais substancial. Sendo assim, a redução da FLB_t, somada à diminuição da razão

FLB_t / SERCA2a, podem ter favorecido a recaptação mais rápida do Ca²⁺ para o interior do retículo sarcoplasmático. Além disso, a recaptação mais eficiente do Ca²⁺ aumenta a disponibilidade deste íon para o próximo ciclo contrátil, otimizando a amplitude, velocidade e tempo de contração (MacLennan; Kranias, 2003; Bers, 2001). Este mecanismo, portanto, parece ser compensatório diante da regulação negativa do RyR2.

No VD, o TR também se mostrou determinante para a melhora de todos os aspectos de contratilidade analisados, com exceção do tempo para o pico de contração celular. Ainda neste ventrículo, foi constatado também que o DN pareceu exercer maior impacto na otimização de todos os parâmetros, com exceção do tempo para o relaxamento do cardiomiócito, visualizado através da análise de fatores. Ademais, nas frequências mais altas de estímulo, o DN aumentou a amplitude e a velocidade de contração celular. Na comparação intergrupos, a associação entre TR e DN fez com que o grupo N-T apresentasse todos os parâmetros de contratilidade melhores que os apresentados pelo grupo N, com exceção do tempo para o pico de contração. Além disso, o N-T apresentou melhores valores de tempo para o pico de contração e velocidades de contração e de relaxamento em relação ao C-T, sendo que todos esses achados se restringiram às frequências de 1 a 5 Hz de estímulo.

Assim como no VE, as proteínas reguladoras do Ca²⁺ analisadas no VD também tiveram as expressões inibidas pelo DN, com TE grande. O NCX, particularmente, apresentou apenas uma tendência estatística à redução pelo DN. Contudo, o TE também se mostrou grande, indicando que o efeito da droga parece, de fato, inibir a expressão proteica. Nas comparações intergrupos, a única diferença observada foi na expressão de RyR2, em que o N-T apresentou menores níveis comparados ao C-T. Tal como no VE, acredita-se que a melhora dos aspectos contráteis dos miócitos do VD possa estar relacionada principalmente à inibição da FLB_t e redução da razão FLB_t / SERCA2a, somado a outros mecanismos fisiológicos compensatórios (MacLennan; Kranias, 2003; Bers, 2001), conforme já anteriormente descrito.

Ao confrontarmos nossos dados com estudos pregressos no que concerne ao TR, verificamos que nossos são divergentes em partes. Outros autores apontam que o TR otimiza as propriedades mecânicas dos cardiomiócitos por gerar aumento da expressão da SERCA2a e de FLB_{thr17},

reduzir a expressão de FLB_{total} (Nascimento et al., 2016), além de aumentar a amplitude e velocidade até o pico do transiente de cálcio intracelular, o que se reflete no aumento da amplitude e velocidade de contração de cardiomiócitos (Guoxiang et al., 2005; Melo et al., 2015a; Melo et al., 2020). Em nossos resultados, o TR também melhorou os parâmetros de contratilidade, mas não evocou alterações otimizadoras às proteínas reguladoras do Ca²⁺, sugerindo que a melhora pode ter ocorrido por mecanismos que não foram investigados na presente pesquisa.

Já o efeito dos EAAs sobre os cardiomiócitos, por sua vez, é dependente da dose administrada, duração do tratamento e, por conseguinte, da dose total acumulada no organismo. Um estudo conduzido por Wadthaisong e colaboradores (2019) identificou que, ao aplicar 30 mg/kg/semana de testosterona em ratos, as propriedades contráteis dos miócitos cardíacos isolados, analisadas de forma similar ao método aplicado no presente estudo, foram significativamente otimizadas. No entanto, a administração durante 12 semanas provocou queda e disfunção celular, evidenciando um efeito tóxico do hormônio.

Ao calcular a dosagem total acumulada de EAA nos animais de nosso estudo com o anteriormente mencionado (160 mg/kg de DN ao longo de 8 semanas, *versus* 120 mg/kg de testosterona ao longo de 4 semanas), percebe-se similaridade em relação ao comportamento mecânico dos cardiomiócitos isolados: em ambas as investigações, o EAA exerceu efeito positivo sobre a contratilidade celular (Wadthaisong et al., 2019). Na presente investigação, ainda, o efeito da droga pareceu ser sinérgico ao do treinamento, potencializando ainda mais a função contrátil.

De forma contrária, um estudo conduzido por Seara e colaboradores (2019) identificou que a exposição de ratos a 10 mg/kg/semana de DN durante oito semanas – resultando em metade da dose total acumulada de DN dos animais do presente estudo –, sem treinamento físico associado, provocou disfunções nas respostas contráteis e no mecanismo de acoplamento excitação- contração, avaliados por técnica de *patch-clamp*. Tais declínios funcionais foram relacionados à redução da atividade de recaptação e extrusão do Ca²⁺ no retículo sarcoplasmático. Apesar desses achados, não foram observadas diferenças significativas nos índices de hipertrofia cardíaca, tampouco na

expressão da SERCA2a, do RyR2, e dos canais de Ca^{2+} do tipo L. No presente estudo, os animais não-treinados submetidos à administração do dobro da dose de DN não apresentaram disfunções contráteis, e o DN reduziu a expressão de todas as proteínas reguladoras do Ca^{2+} analisadas.

A associação do DN com o TR durante 4 semanas em ratas, no estudo de Nascimento et al. (2016), gerou aumento da contratilidade do VE, corroborando os achados aqui apresentados. Contudo, a combinação de tratamentos não resultou em diferenças na expressão da SERCA2a, nem da FLB. Além disso, as ratas treinadas em que foi administrado o DN apresentaram redução na expressão de NCX e de $\text{FLB}_{\text{thr17}}/\text{FLB}_t$ em relação ao grupo controle análogo.

Os EAAs, isoladamente, podem impulsionar a melhora da contratilidade de cardiomiócitos através da estimulação simpática induzida pela testosterona e consequente aumento do influxo de Ca^{2+} no retículo sarcoplasmático (Nascimento et al., 2016), pela maior ativação dos canais de Ca^{2+} do tipo L (Altamirano et al., 2009) e pela fosforilação da troponina I (Wadthaisong et al., 2019).

Outros estudos também evidenciam a hipótese do remodelamento elétrico de cardiomiócitos provocada pelo DN. A administração de 10 mg/kg/semana ao longo de 8 semanas em ratos promoveu o aumento da duração do potencial de ação e a redução da densidade da corrente transiente de saída de potássio em células isoladas do VE (Medei et al., 2010). Em conjunto, essas alterações eletrofisiológicas prolongam a fase de platô do potencial de ação, permitindo maior tempo de abertura dos canais de Ca^{2+} do tipo L e, consequentemente, maior influxo de Ca^{2+} para o interior da célula durante a sístole (Altamirano et al., 2009; Bers, 2002). Este mecanismo pode, em parte, explicar a melhora dos parâmetros contráteis observados em nosso estudo, mesmo diante da redução da expressão de RyR2. Embora o prolongamento do potencial de ação possa estar relacionado ao risco de arritmias e disfunções em modelos cardíacos in vivo, é possível que, no nível celular e em estágio ainda compensatório, essas alterações promovam adaptações eletromecânicas funcionais favoráveis à contratilidade (Medei et al., 2010). Este mecanismo, todavia, requer cautela ao ser utilizado enquanto

hipótese para os nossos achados, uma vez que ele não justifica a melhora dos parâmetros de relaxamento celular.

Adicionalmente, a melhoria dos parâmetros contráteis observada em nossos resultados pode também estar relacionada aos mecanismos compensatórios da atividade ATPásica da miosina nos filamentos contráteis. No curto prazo, doses suprafisiológicas de testosterona e seus derivados podem induzir à regulação positiva da expressão de alfa-miosina de cadeia pesada, a qual apresenta maior atividade ATPásica e, por conseguinte, maior velocidade de contração (Pirompol et al., 2016). Por outro lado, alguns estudos sugerem que, frente à sobrecarga hemodinâmica ou ao uso prolongado de EAAs, o coração pode responder com aumento da expressão da isoforma beta da miosina de cadeia pesada, mais lenta, porém energeticamente mais econômica, como mecanismo adaptativo à hipertrofia e ao estresse mecânico (Alpert; Mulieri, 1982). Dessa forma, é plausível que os efeitos observados nos cardiomiócitos reflitam uma fase inicial de adaptação funcional, anterior à transição fenotípica desfavorável e à perda de desempenho contrátil.

Salienta-se, todavia, que estudos envolvendo a associação entre DN e TR no comportamento de células isoladas do coração são escassos, o que dificulta o confronto com os dados de nosso estudo. Além disto, como as pesquisas envolvendo anabolizantes focam majoritariamente nos efeitos dos mesmos sobre o VE, as informações concernentes ao VD ainda são limitadas, sendo, portanto, necessárias maiores investigações para elucidar com robustez as diferenças encontradas nos parâmetros contráteis entre os ventrículos (Fadah et al., 2023).

8.4. Balanço redox

Os resultados deste estudo revelam que tanto o TR quanto o DN, isoladamente ou em associação, promoveram alterações nos indicadores de balanço redox cardíaco, com diferentes impactos entre os ventrículos. De maneira geral, o DN foi o principal responsável pelo aumento dos marcadores de dano oxidativo, enquanto o TR se restringiu a elevar o nível de carbonilação de proteínas em ambos os ventrículos, tendo também aumentado a capacidade antioxidante total no VD.

No VE, a administração de DN aumentou a expressão de MDA e, em interação com o TR, elevou os níveis de PC com grandes TEs, indicando peroxidação lipídica e danos oxidativos a proteínas estruturais, respectivamente (Dalle-Donne et al., 2003; Esterbauer et al., 1991). A indução de estresse oxidativo pela administração de DN é bem documentado na literatura, dado que a ativação do receptor androgênico pelo DN pode induzir ao aumento do mRNA da NADPH oxidase e ativação desta enzima, culminando no aumento da produção de radicais livres (Costa et al., 2015; Frankenfeld et al., 2014; Ko et al., 2014; Chignalia et al., 2012). Por outro lado, embora o TR geralmente promova adaptações antioxidantes, a indução de um aumento transitório na produção de EROs durante o processo adaptativo pode ser observado, especialmente em protocolos de alta intensidade (Köhler et al., 2014; Powers et al., 2011), como o realizado no presente estudo.

Adicionalmente, não foram observadas alterações significativas na expressão das enzimas antioxidantes endógenas SOD e CAT entre os grupos no VE, o que indica que os mecanismos enzimáticos clássicos de defesa contra EROs não foram eficientemente ativados. Este achado pode ser atribuído à possível exaustão adaptativa da resposta antioxidante frente à carga crônica de estresse oxidativo imposta pelo DN, ou ainda à insuficiência do estímulo redox transitório do TR para induzir sua expressão de forma significativa no tempo de protocolo utilizado (Gomes et al., 2020). Todavia, o TR apresentou, paralelamente, tendência ao aumento da capacidade antioxidante total, com grande tamanho de efeito, o que sugere possível ativação de vias antioxidantes não enzimáticas, como o aumento de glutathiona reduzida (Powers et al., 2011).

Do ponto de vista molecular, tais alterações oxidativas foram acompanhadas de uma redução significativa nas expressões das proteínas RyR2, SERCA2a, NCX, FLBt e da razão FLBt/SERCA2a. A correlação negativa forte entre os níveis de MDA e PC com a expressão de RyR2, em ambos os ventrículos, reforça a hipótese de que o ambiente oxidativo pode ter gerado alterações estruturais nesta proteína, culminando em sua regulação negativa. Isso pode ocorrer porque o estresse oxidativo promove modificações estruturais na RyR2, como carbonilação e oxidação de cisteínas, comprometendo sua estabilidade, por conseguinte, acarretando em disfunção ou degradação proteica (Heijman et al., 2014; Bellinger et al., 2009), conforme anteriormente descrito.

Adicionalmente, os altos níveis de MDA se mostraram moderadamente associados à redução da FLB_t. Como o MDA reflete o agravamento do ambiente oxidativo, essa condição pode interferir negativamente na atividade de proteínas quinases responsáveis pela fosforilação da FLB, como a PKA. A menor fosforilação da FLB reduz sua capacidade de inibir a SERCA2a, favorecendo a recaptação do Ca²⁺ pelo retículo sarcoplasmático para a manutenção da contratilidade, o que também parece ser um mecanismo compensatório ao aumento do estresse oxidativo (Bellinger et al., 2009).

Assim como no VE, os efeitos da droga sobre o ambiente oxidativo do VD também foram observados. O DN aumentou a expressão de MDA e apresentou tendência a aumentar o nível de PC, ambos com grande magnitude de efeito. O protocolo de treinamento, por sua vez, aumentou o nível de PC, mas, diferentemente do VE, não teve efeito sobre a capacidade antioxidante total do VD. Uma possível justificativa para este achado é que o VD apresenta menor eficiência antioxidante basal, devido à sua menor espessura miocárdica e menor exposição ao estresse hemodinâmico, comparado ao VE (Shults et al., 2018). Assim, esses fatores podem ter limitado sua capacidade de compensação frente ao estresse induzido pelo exercício.

No VD, observou-se forte associação negativa entre os níveis de SOD e SERCA2a, bem como SOD e FLB_t, indicando que maiores níveis de enzimas antioxidantes estariam associados à redução na expressão das proteínas reguladoras do ciclo de Ca²⁺ em questão. No entanto, é relevante destacar que não houve aumento expressivo da SOD neste ventrículo. Essa associação, portanto, não parece representar uma resposta antioxidante robusta, mas pode refletir um padrão adaptativo de células mais vulneráveis ao estresse oxidativo. Nesse contexto, a redução da FLB_t e da SERCA2a possivelmente decorreu da ação direta das EROs geradas pela ação do DN e do protocolo de exercícios aplicados, e não pela modulação da SOD (Bellinger et al., 2009).

Por fim, a correlação negativa e moderada entre FRAP e NCX observada no VD sugere que a elevação da capacidade antioxidante total pode estar relacionada a um redirecionamento das vias de regulação do Ca²⁺, com menor dependência da via de extrusão deste íon mediada pelo NCX, de modo a enfatizar ainda mais o papel do retículo sarcoplasmático para manutenção da contratilidade em ambientes celulares oxidativos (Zima; Blatter, 2006).

Em suma, os achados indicam que a dosagem de DN aplicada pareceu ser um potente indutor de estresse oxidativo cardíaco, tendo tido uma associação especialmente forte com o RyR2, que desempenha papel importante no ciclo de acoplamento excitação-contração. O protocolo de treinamento físico, por sua vez, demonstrou atuar parcialmente como fator protetor, sobretudo no VE, ao atenuar o ambiente pró-oxidativo, mas também gerou aumento da carbonilação de proteínas do tecido cardíaco. Esses dados corroboram estudos prévios que demonstram a dupla face do exercício físico no contexto redox: enquanto promove produção transitória de EROs, também estimula a resposta antioxidante adaptativa, visando a mitigar os danos celulares crônicos (Köler et al., 2014; Santos et al., 2011).

8.5. Limitações e perspectivas futuras

O presente estudo apresenta algumas limitações que poderão subsidiar futuras investigações envolvendo treinamento físico associado à administração de DN. A análise das proteínas reguladoras do ciclo de Ca^{2+} e dos marcadores de balanço redox fornece importantes *insights* sobre os mecanismos envolvidos nas alterações morfofuncionais das células cardíacas, contudo, não as elucidam por completo. Sendo assim, recomenda-se que estudos futuros possam analisar mecanismos pós-transcricionais e pós-traducionais relativos às proteínas investigadas, a fim de que o conhecimento sobre a temática seja aprofundado. Além disso, uma limitação deste estudo foi a ausência da mensuração do transiente de Ca^{2+} intracelular, o que certamente poderia conferir maior robustez à análise do mecanismo de acoplamento excitação-contração celular.

Cabe ressaltar, todavia, que até o presente momento não há estudos que analisem de forma associada os protocolos de TR e DN administrados sobre o comportamento de células cardíacas isoladas, sendo esta pesquisa pioneira neste aspecto. Ademais, a maior parte das pesquisas sobre a temática restringem seus resultados ao VE, de modo que o VD se configurou como uma importante lacuna explorada nesta tese.

8.6. Implicações práticas

Embora a presente tese se trate de um estudo pré-clínico, que limita a translação direta dos resultados para humanos devido a questões éticas e metodológicas, ela oferece valiosos insights sobre os mecanismos moleculares e fisiopatológicos envolvidos nos efeitos combinados do uso de EAAs e a prática de TR sobre o coração. Essa abordagem experimental controlada permite avaliar alterações morfofuncionais cardíacas difíceis de serem investigadas em humanos.

Os achados indicam que o uso de EAAs, mesmo associado a regimes de treinamento físico, pode promover remodelamento cardíaco patológico, aumento do estresse oxidativo e disfunção na regulação do cálcio intracelular, o que auxilia a explicar as recorrentes cardiopatias secundárias ao uso de EAAs em atletas e praticantes de atividade física.

Dessa forma, os resultados reforçam a importância da prevenção do uso abusivo dessas substâncias, alertando atletas, profissionais da saúde e o público geral para os potenciais riscos cardiovasculares ocultos no uso de EAAs, mesmo em indivíduos fisicamente ativos. Além disso, os dados obtidos podem subsidiar futuras pesquisas clínicas e o desenvolvimento de estratégias terapêuticas e educativas que visem à redução do uso indevido de EAAs.

9. CONCLUSÃO

A associação entre a administração de DN e um protocolo de TR neste modelo experimental:

- Inibiu a melhora do desempenho físico dos animais ao final do experimento;
- Inibiu o ganho de peso corporal dos animais ao final do experimento;
- Aumentou o peso e o índice de hipertrofia de ambos os ventrículos;
- Aumentou a largura e o volume de cardiomiócitos isolados do VE e não alterou a morfologia celular dos miócitos do VD;
- Gerou aumento da cavidade interna do VE na sístole, bem como do septo interventricular e do VD na diástole;
- Reduziu as frações de ejeção e de encurtamento do VE, bem como a TAPSE no VD;
- Em ambos os ventrículos, aumentou a amplitude e velocidade de contração e de relaxamento celular, reduziu o tempo para o pico de contração, bem como o tempo para 50% do relaxamento celular;
- Reduziu as expressões de RyR2 em ambos os ventrículos, e de FLB_t no VE;
- Aumentou os níveis de MDA no VE, e de PC em ambos os ventrículos;
- Demonstrou, no VE, que altos níveis de MDA estão fortemente associados à queda da expressão de RyR2 e FLB_t; e altos níveis de PC também estão fortemente associados à regulação negativa de RyR2;
- No VD, elevação de SOD está fortemente associada a regulação negativa de FLB_t e SERCA2a; níveis aumentados de MDA e PC estão associados à diminuição de RyR2.

REFERÊNCIAS

1. AAGAARD, P. et al. Increased rate of force development and neural drive of human skeletal muscle following resistance training. **Journal of Applied Physiology**, v. 93, n. 4, p. 1318-1326, 2002.
2. ABDOLLAHI, F. et al. The risk of life-threatening ventricular arrhythmias in presence of high-intensity endurance exercise along with chronic administration of nandrolone decanoate. **Steroids**, v. 105, p. 106-112, 2016.
3. AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods Enzymol**, v. 105, p. 121–126, 1984.
4. AHMADIASL, N. et al. Effect of short-and long-term strength exercise on cardiac oxidative stress and performance in rat. **Journal of Physiology and Biochemistry**, v. 68, p. 121-128, 2012.
5. AKKI, A. et al. NADPH oxidase signaling and cardiac myocyte function. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 47, n. 1, p. 15-22, 2009.
6. ALIBEGOVIĆ, A. C. et al. Insulin resistance induced by physical inactivity is associated with multiple transcriptional changes in skeletal muscle in young men. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 299, p. 752–763, 2010.
7. ALPERT, N. R.; MULIERI, L. A. Increased myothermal economy of isometric force generation in compensated cardiac hypertrophy induced by pulmonary artery constriction in the rabbit. A characterization of heat liberation in normal and hypertrophied right ventricular papillary muscles. **Circulation Research**, v. 50, n. 4, p. 491-500, 1982.
8. ALTAMIRANO, F. et al. Testosterone induces cardiomyocyte hypertrophy through mammalian target of rapamycin complex 1 pathway. **Journal of Endocrinology**, v. 202, p. 485, 2009.
9. ARMITAGE, P.; BERRY, G. The planning of statistical investigations. In (Ed.): **Statistical Methods in Medical Research**. Oxford, Blackwell, 1987 p. 179-185.
10. ATIAS, Y. et al. The effect of resistance training and nandrolone decanoate administration on cardiac tissue in mice. **Steroids**, v. 214, p. 109559, 2025.
11. BALDERAS-VILLALOBOS, J. et al. Oxidative stress in cardiomyocytes contributes to decreased SERCA2a activity in rats with metabolic syndrome. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 305, n. 9, p. H1344-H1353, 2013.

12. BARAVATI, H. G. et al. Nandrolone plus moderate exercise increases the susceptibility to lethal arrhythmias. **Research in Cardiovascular Medicine**, v. 4, n. 2, p. 1-9, 2015.
13. BARAUNA, V. G.; ROSA, K. T.; IRIGOYEN, M. C.; DE OLIVEIRA, E. M. Effects of resistance training on ventricular function and hypertrophy in a rat model. **Clinical Medicine & Research**, 5, n. 2, p. 114-120, 2007.
14. BARONE, R. et al. Nandrolone decanoate interferes with testosterone biosynthesis altering blood–testis barrier components. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 21, n. 8, p. 1636-1647, 2017.
15. BARREIROS, A. L. B. S; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química nova**, v. 29, p. 113-123, 2006.
16. BASARIA, S.; WAHLSTROM, J. T.; DOBS, A. S. Anabolic-androgenic steroid therapy in the treatment of chronic diseases. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 86, n. 11, p. 5108-5117, 2001.
17. BASSANI, R. A.; MATTIAZZI, A.; BERS, D. M. CaMKII is responsible for activity-dependent acceleration of relaxation in rat ventricular myocytes. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, 268, n. 2, p. H703-H712, 1995.
18. BELLINGER, A. M. et al. Hypernitrosylated ryanodine receptor calcium release channels are leaky in dystrophic muscle. **Nature Medicine**, v. 15, n. 3, p. 325-330, 2009.
19. BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70-76, 1996.
20. BERS, D. M. **Excitation-contraction coupling and cardiac contractile force**. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2001.
21. BERS, D. M. Cardiac excitation-contraction coupling. **Nature**, v. 415, p. 198-205, 2002.
22. BERS, D. M. Calcium cycling and signaling in cardiac myocytes. **Annual Review of Physiology**, 70, p. 23-49, 2008.
23. BERS, D. M. Cardiac sarcoplasmic reticulum calcium leak: basis and roles in cardiac dysfunction. **Annual Review of Physiology**, 76, p. 107-127, 2014.
24. BHATTAD, P. B.; ROUMIA, M. Building Body With Anabolics Is Weakening the Heart: Anabolic Steroid Induced Cardiomyopathy. **Cureus**, v. 14, n. 7, 2022.
25. BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, p. 123-130, 1999.

26. BINAYI, F. et al. The effects of nandrolone decanoate along with prolonged low-intensity exercise on susceptibility to ventricular arrhythmias. **Cardiovascular Toxicology**, v. 16, p. 23-33, 2016.
27. BISSOLI, N. S. et al. Long-term treatment with supraphysiological doses of nandrolone decanoate reduces the sensitivity of Bezold–Jarisch reflex control of heart rate and blood pressure. **Pharmacological Research**, v. 59, n. 6, p. 379-384, 2009.
28. BOND, P.; SMIT, D. L.; DE RONDE, W. Anabolic–androgenic steroids: How do they work and what are the risks?. **Frontiers in Endocrinology**, v. 13, p. 1059473, 2022.
29. BRIGELIUS-FLOHÉ, R. Glutathione peroxidases and redox-regulated transcription factors. 2006.
30. BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in Enzymology**. Academic press, 1978. p. 302-310.
31. CACERES, S. et al. Isoflavones and their effects on the onset of puberty in male Wistar rats. **Andrologia**, v. 47, n. 10, p. 1139-1146, 2015.
32. CAMPOS, J. et al. Right and Left Ventricular Response to Oxidative Stress Following Cardiac Deletion of MnSOD. **Physiology**, v. 40, n. S1, p. 1272, 2025.
33. CARNEIRO-JÚNIOR, M. A. **Efeitos do treinamento físico e do destreinamento sobre propriedades moleculares e mecânicas de cardiomiócitos isolados de ratos normotensos e hipertensos**. Orientador: José Geraldo Mill. 2013. 104 f. Tese (Doutorado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2013.
34. CARNEIRO-JÚNIOR, M. A. et al. Regional effects of low-intensity endurance training on structural and mechanical properties of rat ventricular myocytes. **Journal of Applied Physiology**, v. 115, n. 1, p. 107-115, 2013.
35. CARVAJAL, K. et al. Ca²⁺ mishandling and cardiac dysfunction in obesity and insulin resistance: Role of oxidative stress. **Cell Calcium**, v. 56, n. 5, p. 408-415, 2014.
36. CAVALCANTI, F. R. et al. Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salt-stressed cowpea leaves. **New Phytologist**, v. 163, n. 3, p. 563-571, 2004.
37. CHAVES, E. A. et al. Exercise-induced cardioprotection is impaired by anabolic steroid treatment through a redox-dependent mechanism. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 138, p. 267-272, 2013.
38. CHEESEMAN, K. H.; SLATER, T. F. An introduction to free radical biochemistry. **British Medical Bulletin**, v. 49, n. 3, p. 481-493, 1993.

39. CHENG, H.; LEDERER, W. J.; CANNELL, M. B. Calcium sparks: elementary events underlying excitation-contraction coupling in heart muscle. **Science**, 262, n. 5134, p. 740-744, 1993.
40. CHIAPETA, A. V. **Efeitos do treinamento resistido prévio à indução da dor crônica em biomarcadores centrais e periféricos em um modelo experimental de fibromialgia**. Orientador: Miguel Araujo Carneiro Júnior. 2024. 101 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2024.
41. CHIAPETA, A. V. et al. Effects of resistance training on pain, functionality and quality of life in women with fibromyalgia: A systematic review. **Journal of Bodywork and Movement Therapies**, v. 40, p. 761-768, 2024.
42. CHIGNALIA, A. Z. et al. Testosterone induces vascular smooth muscle cell migration by NADPH oxidase and c-Src-dependent pathways. **Hypertension**, v. 59, n. 6, p. 1263-1271, 2012.
43. CHODARI, L. et al. Testosterona e Exercício Voluntário, Individualmente ou em Conjunto, Aumentam a Ativação Cardíaca de AKT e ERK1/2 em Ratos Diabéticos. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 107, p. 532-541, 2016.
44. COHEN, J. **Statistical power analysis for the behavioral sciences**. 2. ed. Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum Associates, 1988.
45. COHEN, Jacob. Statistical power analysis. **Current Directions in Psychological Science**, v. 1, n. 3, p. 98-101, 1992.
46. COLAN, S. D. Mechanics of left ventricular systolic and diastolic function in physiologic hypertrophy of the athlete's heart. **Clinical Cardiology**, 15, n. 3, p. 355-372, Aug 1997.
47. COSTA, T. J. et al. Association of testosterone with estrogen abolishes the beneficial effects of estrogen treatment by increasing ROS generation in aorta endothelial cells. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 308, n. 7, p. H723-H732, 2015.
48. DALLE-DONNE, I. et al. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. **Clinica Chimica Acta**, v. 329, n. 1-2, p. 23-38, 2003.
49. DANTAS, P. S. et al. Nandrolone combined with strenuous resistance training impairs myocardial proteome profile of rats. **Steroids**, v. 175, p. 108916, 2021.
50. DA PALMA, R. K. et al. Resistance or aerobic training decreases blood pressure and improves cardiovascular autonomic control and oxidative stress in hypertensive menopausal rats. **Journal of Applied Physiology**, v. 121, n. 4, p. 1032-1038, 2016.

51. DE MORAES, C.; SAMPAIO, R. C. Estresse oxidativo e envelhecimento: papel do exercício físico. **Motriz Revista de Educação Física**, p. 506-515, 2010.
52. DENHAM, J.; O'BRIEN, B. J.; MARQUES, F. Z.; CHARCHAR, F. J. Changes in the leukocyte methylome and its effect on cardiovascular related genes after exercise. **Journal of Applied Physiology**, 2015.
53. DIETERICH, S. et al. Gene expression of antioxidative enzymes in the human heart: increased expression of catalase in the end-stage failing heart. **Circulation**, v. 101, n. 1, p. 33-39, 2000.
54. DRAPER, H. H.; HADLEY, M. Malondialdehyde determination as index of lipid Peroxidation. **Methods in Enzymology**, p. 421-431, 1990.
55. ESTERBAUER, H.; SCHAUR, R. J.; ZOLLNER, H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 11, n. 1, p. 81-128, 1991.
56. FABIATO, A; FABIATO, F. Calcium release from the sarcoplasmic reticulum. **Circulation Research**, n. 40, p. 119-29, 1977.
57. FABIATO, A. Calcium-induced release of calcium from the cardiac sarcoplasmic reticulum. **American Journal of Physiology**, 245, n. 1, p. C1-C14, 1983.
58. FADAH, K. et al. Anabolic androgenic steroids and cardiomyopathy: an update. **Frontiers in Cardiovascular Medicine**, v. 10, p. 1214374, 2023.
59. FERNANDES, A. A. et al. A single resistance exercise session improves myocardial contractility in spontaneously hypertensive rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 48, n. 9, p. 813-821, 2015.
60. FINAUD, J.; LAC, G.; FILAIRE, E. Oxidative stress: relationship with exercise and training. **Sports Medicine**, v. 36, p. 327-358, 2006.
61. FISH, E. R.; BROWN, M. J.; DANNEMAN, P. J.; KARAS, A. Z. **Anaesthesia and Analgesia for Laboratory Animals**. Oxford: Elsevier, 2008.
62. FLECKNELL, P. **Laboratory Animal Anaesthesia**. 4ed. Elsevier, 2015.
63. FLECK, S. J.; KRAEMER, W. J. **Fundamentos do treinamento de força muscular**. Artmed Editora, 2017.
64. FRANKENFELD, S. P. et al. Nandrolone decanoate inhibits gluconeogenesis and decreases fasting glucose in Wistar male rats. **J Endocrinol**, v. 220, n. 2, p. 143-53, 2014.
65. FRANQUINI, J. V. M. et al. Nandrolone decanoate determines cardiac remodelling and injury by an imbalance in cardiac inflammatory cytokines

- and ACE activity, blunting of the Bezold–Jarisch reflex, resulting in the development of hypertension. **Steroids**, v. 78, n. 3, p. 379-385, 2013.
66. FRIDOVICH, I. Superoxide radical and superoxide dismutases. **Oxygen and Living Processes: An Interdisciplinary Approach**, p. 250-272, 1981.
 67. GOMES, M. J. et al. Effects of aerobic and resistance exercise on cardiac remodelling and skeletal muscle oxidative stress of infarcted rats. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 24, n. 9, p. 5352-5362, 2020.
 68. GÓMEZ-VIQUEZ, N. L. et al. Oxidative stress in early metabolic syndrome impairs cardiac RyR2 and SERCA2a activity and modifies the interplay of these proteins during Ca^{2+} waves. **Archives of Physiology and Biochemistry**, v. 129, n. 5, p. 1058-1070, 2023.
 69. GONÇALVES, Leandro et al. Resistance exercise and testosterone treatment alters the proportion of numerical density of capillaries of the left ventricle of aging Wistar rats. **The Aging Male**, v. 17, n. 4, p. 243-247, 2014.
 70. GREEN, D. J. et al. Cardiac functional adaptation to resistance and endurance exercise training: a randomized crossover study. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 326, n. 4, p. H929-H937, 2024.
 71. GUYENET, Patrice G. The sympathetic control of blood pressure. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 7, n. 5, p. 335-346, 2006.
 72. HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. The importance of free radicals and catalytic metal ions in human diseases. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 8, n. 2, p. 89-193, 1985.
 73. HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free Radicals in Biology and Medicine**. Oxford university press, 2015.
 74. HASSAN, A. F.; KAMAL, M. M. Effect of exercise training and anabolic androgenic steroids on hemodynamics, glycogen content, angiogenesis and apoptosis of cardiac muscle in adult male rats. **International Journal of Health Sciences**, v. 7, n. 1, p. 47, 2013.
 75. HEIJMAN, J. et al. Calcium dysregulation in atrial fibrillation: the role of CaMKII. **Frontiers in Pharmacology**, v. 5, p. 30, 2014.
 76. HERRERA, S. M. et al. Efecto del anabólico acetato de trembolona sobre el crecimiento de *Carassius auratus* (Pisces: Cyprinidae). **Hidrobiológica**, v. 18, n. 1, p. 41-50, 2008.
 77. HILGE, M. Ca^{2+} regulation of ion transport in the $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ exchanger. **Journal of Biological Chemistry**, v. 287, n. 38, p. 31641-31649, 2012.

78. HOBBERMAN, J. M.; YESALIS, C. E. The history of synthetic testosterone. **Scientific American**, v. 272, n. 2, p. 76-81, 1995.
79. HORNBERGER, T. A.; FARRAR, R. P. Physiological Hypertrophy of the FHL Muscle Following 8 Weeks of Progressive Resistance Exercise in the Rat. **Canadian Journal of Applied Physiology**, v. 04, n. 13, p. 16–31, 2004.
80. HUND, T. J.; MOHLER, P. J. Role of CaMKII in cardiac arrhythmias. **Trends in Cardiovascular Medicine**, v. 25, n. 5, p. 392-397, 2015.
81. INFARMED. **Resumo das características do decanoato de nandrolona.** [2013]. Disponível em: http://www.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=2372&tipo_doc=rcm. Acessado em 01/04/2024. Acesso em: 06 julho. 2024.
82. JACOB, M. H. V. M. et al. Dehydroepiandrosterone modulates antioxidant enzymes and Akt signaling in healthy Wistar rat hearts. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 112, n. 1-3, p. 138-144, 2008.
83. JUGDUTT, B. I. Remodeling of the Myocardium and Potential Targets in the Collagen Degradation and Synthesis Pathways. **Current Drug Targets-Cardiovascular & Haematological Disorders**, v. 3, n. 1, p. 1–30, 2003.
84. JUNQUEIRA, L. C. U.; COSSERMELLI, W.; BRENTANI, R. Differential Staining of Collagens Type I, II and III by Sirius Red and Polarization Microscopy. **Archives of Histology Japan**, v. 41, n. 3, p. 267–274, 1978.
85. KANAYAMA, G.; POPE JR., H. G. History and epidemiology of anabolic androgens in athletes and non-athletes. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 464, p. 4-13, 2018.
86. KEMI, O. J.; WISLOFF, U. Mechanisms of exercise-induced improvements in the contractile apparatus of the mammalian myocardium. **Acta Physiologica (Oxford)**, v. 199, p. 425-439, 2010.
87. KENNEY, W. L., WILMORE, J. H. COSTILL, D. L. **Fisiologia do Esporte e do Exercício.** 5 ed. Barueri, São Paulo: Editora Manole, 2013.
88. KIRCHBERGER, M. A.; TADA, M.; KATZ, A. M. Adenosine 3':5'-monophosphate-dependent protein kinase-catalyzed phosphorylation reaction and its relationship to calcium transport in cardiac sarcoplasmic reticulum. **Journal of Biological Chemistry**, 249, n. 19, p. 6166-6173, 1974.
89. KO, E. et al. Testosterone stimulates Duox1 activity through GPRC6A in skin keratinocytes. **Journal of Biological Chemistry**, v. 289, n. 42, p. 28835-28845, 2014.

90. KOCHAKIAN, C. D. History, chemistry and pharmacodynamics of anabolic-androgenic steroids. **Wiener Medizinische Wochenschrift**, v. 143, n. 14-15, p. 359-363, 1993.
91. KÖHLER, A. C.; SAG, C. M.; MAIER, L. S. Reactive oxygen species and excitation–contraction coupling in the context of cardiac pathology. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 73, p. 92-102, 2014.
92. KRAEMER, W. J. et al. American College of Sports Medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. **Medicine and Science in Sports And Exercise**, v. 34, n. 2, p. 364-380, 2002.
93. KUTSCHER, E. C.; LUND, B. C.; PERRY, P. J. Anabolic steroids: a review for the clinician. **Sports Medicine**, v.32, n.5, p.285-296, 2002.
94. LAYLAND, J.; SOLARO, R. J.; SHAH, A. M. Regulation of cardiac contractile function by troponin I phosphorylation. **Cardiovascular Research**, v. 66, n. 1, p. 12-21, 2005.
95. LAVORATO, V. N. et al. Mesenchymal stem cell therapy associated with endurance exercise training: Effects on the structural and functional remodeling of infarcted rat hearts. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 90, p. 111–119, 2016.
96. LEHOTSKÝ, J. et al. Membrane ion transport systems during oxidative stress in rodent brain: protective effect of stobadine and other antioxidants. **Life Sciences**, v. 65, n. 18-19, p. 1951-1958, 1999.
97. LEITE, L. B. et al. Combined physical training protects the left ventricle from structural and functional damages in experimental pulmonary arterial hypertension. **Clinical Hypertension**, v. 30, n. 1, p. 12, 2024.
98. LEVINE, R. L. Carbonyl assay for determination of oxidatively modified proteins. **Methods. Enzymol.**, v. 233, p. 246-257, 1994.
99. LI, H. et al. MicroRNA-21 Lowers Blood Pressure in Spontaneous Hypertensive Rats by Upregulating Mitochondrial Translation Clinical Perspective. **Circulation**, [s.l.], v. 134, n. 10, p.734-751, 19 ago. 2016.
100. LIMA, E. M. et al. Cardiopulmonary reflex, cardiac cytokines, and nandrolone decanoate: response to resistance training in rats. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 93, n. 11, p. 985-991, 2015.
101. LINHARES-LACERDA, L. et al. Circulating plasma microRNA-208a as potential biomarker of chronic indeterminate phase of Chagas disease. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 269, 2018.

102. LISTER, R. et al. Human DNA methylomes at base resolution show widespread epigenomic differences. **Nature**, v. 462, n. 7271, p. 315-322, 2009.
103. MACLENNAN, D. H.; KRANIAS, E. G. Phospholamban: a crucial regulator of cardiac contractility. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 4, p. 566-577, 2003.
104. MADSEN, A. et al. An important role for DNMT3A-mediated DNA methylation in cardiomyocyte metabolism and contractility. **Circulation**, v. 142, n. 16, p. 1562-1578, 2020.
105. MAGALHÃES, S. C. et al. High-dose Nandrolone Decanoate induces oxidative stress and inflammation in retroperitoneal adipose tissue of male rats. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 203, p. 105728, 2020.
106. MARCHESI BOZI, L. H. et al. Exercise training prior to myocardial infarction attenuates cardiac deterioration and cardiomyocyte dysfunction in rats. **Clinics**, v. 68, n. 4, p. 549-556, 2013.
107. MAROCOLO, M. et al. Combined effects of exercise training and high doses of anabolic steroids on cardiac autonomic modulation and ventricular repolarization properties in rats. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 97, n. 12, p. 1185-1192, 2019.
108. MARSH, J. D. et al. Androgen receptors mediate hypertrophy in cardiac myocytes. **Circulation**, v. 98, n. 3, p. 256-261, 1998.
109. MATTIAZZI, A.; MUNDINA-WEILENMANN, C.; GUOXIANG, C.; VITTONI, L. et al. Role of phospholamban phosphorylation on Thr17 in cardiac physiological and pathological conditions. **Cardiovascular Research**, 68, n. 3, p. 366-375, 2005.
110. MEDEI, E. et al. Chronic treatment with anabolic steroids induces ventricular repolarization disturbances: cellular, ionic and molecular mechanism. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 49, n. 2, p. 165-175, 2010.
111. MELCHERT, R. B.; WELDER, A. A. Cardiovascular effects of androgenic-anabolic steroids. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 27, n. 9, p. 1252-1262, 1995.
112. MELO, S. S.; AMADEU, M. A.; MAGALHÃES, F. D. C.; FERNANDES, T. et al. Exercício de força ativa a via AKT/mTor pelo receptor de angiotensina II tipo I no músculo cardíaco de ratos. **Revista Brasileira de Educação Física e Esporte**, v. 25, n. 03, p. 377-385, 2011.
113. MELO, S. F. S.; BARAUNA, V. G.; CARNEIRO-JÚNIOR, M. A. C.; BOZI, L. H. M. et al. Resistance training regulates cardiac function through modulation of miRNA-214. **International Journal of Molecular Sciences**, 16, n. 4, p. 6855-6867, 2015a.

114. MELO, A. B. et al. Resistance training promotes reduction in Visceral Adiposity without improvements in Cardiomyocyte Contractility and Calcium handling in Obese Rats. **International Journal of Medical Sciences**, v. 17, n. 12, p. 1819, 2020.
115. MIGUEL-DOS-SANTOS, R. et al. Treino de Força Reduz Stress Oxidativo Cardíaco e Renal em Ratos com Hipertensão Renovascular. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 116, p. 4-11, 2021.
116. MIHL, C. et al. Cardiac remodelling: concentric versus eccentric hypertrophy in strength and endurance athletes. **Netherlands Heart Journal**, v. 16, n. 4, p. 129-133, 2008.
117. MILEVSKI, S. V. et al. Anabolic steroid misuse is an important reversible cause of cardiomyopathy: a case report. **European Heart Journal-Case Reports**, v. 6, n. 7, p. ytac271, 2022.
118. MILL, J. G. et al. Hipertrofia cardíaca: mecanismos bioquímicos. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Rio Grande do Sul**, v. 13, n. 3, p. 1-4, 2004.
119. MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO. Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou de Pesquisa Científica –DBCA. 2016. Disponível em: <https://www.gov.br/mcti/pt-br/composicao/conselhos/concea/arquivos/arquivo/legislacao/resolucao-normativa-no-55-de-5-de-outubro-de-2022.pdf>. Acesso em: 06 junho. 2022.
120. MIYAKODA G, YOSHIDA A, TAKISAWA H, NAKAMURA T. Beta-Adrenergic regulation of contractility and protein phosphorylation in spontaneously beating isolated rat myocardial cells. **The Journal of Biochemistry**. 1987; 102: 211-224.
121. MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO. **Diretrizes da Prática de Eutanásia**. Brasília, DF: 2018.
122. MONCADA, S.; HIGGS, A. The L-arginine-nitric oxide pathway. **New England Journal of Medicine**, v. 329, n. 27, p. 2002-2012, 1993.
123. MONTGOMERY, R. L. et al. Therapeutic inhibition of miR-208a improves cardiac function and survival during heart failure. **Circulation**, v. 124, n. 14, p. 1537-1547, 2011.
124. MOURA, A. G. **Efeitos do treinamento físico resistido sobre propriedades histológicas, morfológicas, mecânicas, gênicas e proteicas do coração de ratos espontaneamente hipertensos**. Orientador: Antonio José Natali. 2020. 113f. Tese (Doutorado em Educação Física) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2020.

125. MOVASSAGH, M. et al. Distinct epigenomic features in end-stage failing human hearts. **Circulation**, v. 124, n. 22, p. 2411-2422, 2011.
126. MURALIDHARAN, P. et al. The cardiac L-type calcium channel alpha subunit is a target for direct redox modification during oxidative stress—the role of cysteine residues in the alpha interacting domain. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 44, p. 46-54, 2017.
127. NASCIMENTO, A. M. et al. Serca2a and Na (+)/Ca (2+) exchanger are involved in left ventricular function following cardiac remodelling of female rats treated with anabolic androgenic steroid. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 301, p. 22-30, 2016.
128. NATALI, A. J. et al. Voluntary exercise delays heart failure onset in rats with pulmonary artery hypertension. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**, v. 309, n. 3, p. H421–H424, 2015.
129. NEVES, V. J. Efeitos cardiovasculares da associação de esteroides anabólicos androgênicos com treinamento físico resistido. **Arquivos em Movimento**, v. 11, n. 2, 2015.
130. NICASTRO, Humberto et al. An experimental model for resistance exercise in rodents. **BioMed Research International**, v. 2012, n. 1, p. 457065, 2012.
131. NIGGLI, E. et al. Posttranslational modifications of cardiac ryanodine receptors: Ca²⁺ signaling and EC-coupling. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research**, v. 1833, n. 4, p. 866-875, 2013.
132. NIKOLIC, T. et al. The effects of chronic administration of nandrolone decanoate on redox status in exercised rats. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 411, p. 95-105, 2016.
133. NISHI, H. et al. MicroRNA-27a regulates beta cardiac myosin heavy chain gene expression by targeting thyroid hormone receptor β 1 in neonatal rat ventricular myocytes. **Molecular and Cellular Biology**, v. 31, n. 4, p. 744-755, 2011.
134. NORTON, G. R.; TRIFUNOVIC, B.; WOODIWISS, A. J. Attenuated β -adrenoceptor-mediated cardiac contractile responses following androgenic steroid administration to sedentary rats. **European Journal of Applied Physiology**, v. 81, p. 310-316, 2000.
135. OEING, C. U. et al. Indirect epigenetic testing identifies a diagnostic signature of cardiomyocyte DNA methylation in heart failure. **Basic Research in Cardiology**, v. 118, n. 1, p. 9, 2023.
136. OPIE, L. H. **Myocardial contraction and relaxation**. In: Opie LH. Heart Physiology: From Cell to Circulation. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; p.209-31, 1998.

137. OTTOLIA, M.; TORRES, N.; BRIDGE, J. H.; PHILIPSON, K. D. et al. Na/Ca exchange and contraction of the heart. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, 61, p. 28-33, 2013.
138. OZEMEK, Cemal et al. **ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription**. Lippincott Williams & Wilkins, 2025.
139. PATANÈ, F. G. et al. Nandrolone decanoate: use, abuse and side effects. **Medicina**, v. 56, n. 11, p. 606, 2020.
140. PEAKE, J. M. et al. Muscle damage and inflammation during recovery from exercise. **Journal of Applied Physiology**, 2017.
141. PEREIRA-JUNIOR, P. P. et al. Cardiac autonomic dysfunction in rats chronically treated with anabolic steroid. **European Journal of Applied Physiology**, v. 96, p. 487-494, 2006.
142. PERJES, A. et al. Physiological regulation of cardiac contractility by endogenous reactive oxygen species. **Acta Physiologica**, v. 205, n. 1, p. 26-40, 2012.
143. PINHEIRO, J. L. et al. Nandrolone decanoate is prooxidant in the myocardium of exercised or sedentary rats. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 26, n. 1, p. 16–20, 1 jan. 2020.
144. PIROMPOL, P. et al. Supra-physiological dose of testosterone induces pathological cardiac hypertrophy. **Journal of Endocrinology**, v. 229, n. 1, p. 13-23, 2016.
145. POPE JR, H. G.; KATZ, D. L. Affective and psychotic symptoms associated with anabolic steroid use. **The American Journal of Psychiatry**, v. 145, n. 4, p. 487-490, 1988.
146. POPESCU, I. et al. Lower sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ threshold for triggering afterdepolarizations in diabetic rat hearts. **Heart Rhythm**, v. 16, n. 5, p. 765-772, 2019.
147. POWERS, S. K.; JACKSON, M. J. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. **Physiological Reviews**, v. 88, n. 4, p. 1243-1276, 2008.
148. POWERS, S. K.; TALBERT, E. E.; ADIHETTY, P. J. Reactive oxygen and nitrogen species as intracellular signals in skeletal muscle. **The Journal of Physiology**, v. 589, n. 9, p. 2129-2138, 2011.
149. PRÍMOLA-GOMES, T. N. et al. Exercise capacity is related to calcium transients in ventricular cardiomyocytes. **Journal of Applied Physiology**, v. 107, p. 593–598, 2009.
150. PROUD, C. G. Ras, PI3-kinase and mTOR signaling in cardiac hypertrophy. **Cardiovascular Research**, v. 63, n. 3, p. 403-413, 2004.

151. RADAK, Z. et al. Oxygen consumption and usage during physical exercise: the balance between oxidative stress and ROS-dependent adaptive signaling. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 18, n. 10, p. 1208-1246, 2013.
152. RIBEIRO, L. C. P. et al. Uma análise sobre as cardiomiopatias: hipertrófica e dilatada. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 15, n. 8, p. e10740-e10740, 2022.
153. ROMAN-CAMPOS, D. et al. Chronic exercise partially restores the transmural heterogeneity of action potential duration in left ventricular myocytes of spontaneous hypertensive rats. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 39, n. 2, p. 155–157, fev. 2012.
154. SAGOE, D. et al. The global epidemiology of anabolic-androgenic steroid use: a meta-analysis and meta-regression analysis. **Annals of Epidemiology**, v. 24, n. 5, p. 383-398, 2014.
155. SAHN, D. J. et al. Recommendations Regarding Quantitation in M-Mode Echocardiography: Results of a Survey of Echocardiographic Measurements of the committee on m-mode standardization of the American Society of Echocardiography with the technical assistance of Melissa Lebedeck. **Circulation**, v. 59, n. 6, p. 1072–1083, 1978.
156. SANTOS, C. X. C. et al. Redox signaling in cardiac myocytes. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 50, n. 7, p. 777-793, 2011.
157. SATOH, H. et al. Surface: volume relationship in cardiac myocytes studied with confocal microscopy and membrane capacitance measurements: species-dependence and developmental effects. **Biophysical Journal**, v. 70, n. 3, p. 1494-1504, 1996.
158. SCHWARTZ, N. et al. Rapid steroid hormone actions via membrane receptors. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research**, v. 1863, n. 9, p. 2289-2298, 2016.
159. SEARA, F. A. C. et al. Cardiac electrical and contractile disorders promoted by anabolic steroid overdose are associated with late autonomic imbalance and impaired Ca²⁺ handling. **Steroids**, v. 148, p. 1-10, 2019.
160. SHAFFER, P. L. et al. Structural basis of androgen receptor binding to selective androgen response elements. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 101, n. 14, p. 4758-4763, 2004.
161. SHAHIDI, N. T. A review of the chemistry, biological action, and clinical applications of anabolic-androgenic steroids. **Clinical Therapeutics**, v. 23, n. 9, p. 1355-1390, 2001.
162. SHAMI, N. J. I. E.; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. **Revista de Nutrição**, v. 17, p. 227-236, 2004.

163. SHIRPOOR, A. et al. Nandrolone administration with or without strenuous exercise increases cardiac fatal genes overexpression, calcium/calmodulin-dependent protein kinase β , and monoamine oxidase activities and enhances blood pressure in adult wistar rats. **Gene**, v. 697, p. 131-137, 2019.
164. SHULTS, N. V. et al. Redox biology of right-sided heart failure. **Antioxidants**, v. 7, n. 8, p. 106, 2018.
165. SIES, H. Strategies of antioxidant defense. **European Journal of Biochemistry**, v. 215, n. 2, p. 213-219, 1993.
166. SILVA, D. V. et al. Comparison of cardiac and vascular parameters in powerlifters and long-distance runners: comparative cross-sectional study. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 111, n. 6, p. 772-781, 2018.
167. SJÖDIN, B.; WESTING, Y. H.; APPLE, F. S. Biochemical mechanisms for oxygen free radical formation during exercise. **Sports Medicine**, v. 10, p. 236-254, 1990.
168. SKOGASTIERNA, C. et al. A supraphysiological dose of testosterone induces nitric oxide production and oxidative stress. **European Journal of Preventive Cardiology**, v. 21, n. 8, p. 1049-1054, 2014.
169. SOARES, L. L. et al. O treinamento físico resistido atenua as Disfunções Ventriculares Esquerdas em Modelo de Hipertensão Arterial Pulmonar. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 119, p. 574-584, 2022.
170. SOARES, L. L. et al. Resistance exercise training benefits pulmonary, cardiac, and muscular structure and function in rats with stable pulmonary artery hypertension. **Life Sciences**, v. 332, p. 122128, 2023.
171. SOARES, M. C. R. et al. Nandrolone decanoate increases the left ventricular wall but attenuates the cavity increase caused by swimming training in rats. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 17, p. 420-424, 2011.
172. SOBREIRA-FILHO, F. M. et al. Miocardite aguda em paciente usuário de hormônios anabolizantes diagnosticada por ressonância magnética: um relato de caso. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, 2018.
173. SOMMESE, L. et al. Ryanodine receptor phosphorylation by CaMKII promotes spontaneous Ca²⁺ release events in a rodent model of early stage diabetes: the arrhythmogenic substrate. **International Journal of Cardiology**, v. 202, p. 394-406, 2016.
174. SOUZA, C. F.; FERNANDES, L. C.; CYRINO, E. S. Produção de espécies reativas de oxigênio durante o exercício aeróbio e anaeróbio. **Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano**, 2006.

175. SRETENOVIC, J. et al. The effects of high doses of nandrolone decanoate on cardiac muscle tissue. **Experimental and Applied Biomedical Research (EABR)**, v. 17, n. 4, p. 303-308, 2016.
176. STOLT, A. et al. QT interval and QT dispersion in endurance athletes and in power athletes using large doses of anabolic steroids. **American Journal of Cardiology**, v. 84, n. 3, p. 364-366, 1999.
177. STRICKLAND, J. C.; SMITH, Mark A. Animal models of resistance exercise and their application to neuroscience research. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 273, p. 191-200, 2016.
178. SUAREZ, P. Z. et al. Effects of moderate-continuous and high-intensity interval aerobic training on cardiac function of spontaneously hypertensive rats. **Experimental Biology and Medicine**, v. 247, n. 18, p. 1691-1700, 2022.
179. TAMAKI, T.; UCHIYAMA, S.; NAKANO, S. A weight-lifting exercise model for inducing hypertrophy in the hindlimb muscles of rats. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 24, n. 8, p. 881-886, 1992.
180. TANNO, A. P. et al. Nandrolone and resistance training induce heart remodeling: role of fetal genes and implications for cardiac pathophysiology. **Life Sciences**, v. 89, n. 17-18, p. 631-637, 2011.
181. TIDBALL, J. G. Inflammatory processes in muscle injury and repair. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 288, n. 2, p. R345-R353, 2005.
182. TOFIGHI, A. et al. The effect of nandrolone treatment with and without enforced swimming on histological and biochemical changes in the heart and coronary artery of male rats. **Anatolian Journal of Cardiology**, v. 17, n. 3, p. 176, 2017.
183. TSIKAS, D. Analysis of nitrite and nitrate in biological fluids by assays based on the Griess reaction: appraisal of the Griess reaction in the L-arginine/nitric oxide area of research. **Journal of Chromatography B**, v. 851, n. 1-2, p. 51-70, 2007.
184. VAN ROOIJ, E. et al. Dysregulation of microRNAs after myocardial infarction reveals a role of miR-29 in cardiac fibrosis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 35, p. 13027-13032, 2008.
185. VASILAKI, F. et al. Cardiotoxicity in rabbits after long-term nandrolone decanoate administration. **Toxicology letters**, v. 241, p. 143-151, 2016.
186. VENÂNCIO, D. P. et al. Avaliação descritiva sobre o uso de esteroides anabolizantes e seu efeito sobre as variáveis bioquímicas e neuroendócrinas em indivíduos que praticam exercício resistido. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 16, p. 191-195, 2010.

187. VOLLAARD, N. B. J.; SHEARMAN, J. P.; COOPER, C. E. Exercise-induced oxidative stress: myths, realities and physiological relevance. **Sports Medicine**, v. 35, p. 1045-1062, 2005.
188. WADTHAISONG, M. et al. Chronic high-dose testosterone treatment: impact on rat cardiac contractile biology. **Physiological Reports**, v. 7, n. 14, p. e14192, 2019.
189. WANG, J. et al. Cardiomyocyte overexpression of miR-27b induces cardiac hypertrophy and dysfunction in mice. **Cell Research**, v. 22, n. 3, p. 516-527, 2012.
190. WEGENER, A. D. et al. Phospholamban phosphorylation in intact ventricles. Phosphorylation of serine 16 and threonine 17 in response to beta-adrenergic stimulation. **Journal of Biological Chemistry**, 264, n. 19, p. 11468-11474, 1989.
191. WILKINS, B. J. et al. Calcineurin/NFAT coupling participates in pathological, but not physiological, cardiac hypertrophy. **Circulation Research**, v. 94, n. 1, p. 110-118, 2004.
192. WILLIAMS, M. A. et al. Resistance exercise in individuals with and without cardiovascular disease: 2007 update: a scientific statement from the American Heart Association Council on Clinical Cardiology and Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. **Circulation**, v. 116, n. 5, p. 572-584, 2007.
193. WINDFELD-MATHIASSEN, J. et al. Cardiovascular disease in anabolic androgenic steroid users. **Circulation**, v. 151, n. 12, p. 828-834, 2025.
194. WINETT, R. A.; CARPINELLI, R. N. Potential health-related benefits of resistance training. **Preventive Medicine**, v. 33, n. 5, p. 503-513, 2001.
195. WOODIWISS, A. J. et al. Effects of an androgenic steroid on exercise-induced cardiac remodeling in rats. **Journal of Applied Physiology**, v. 88, n. 2, p. 409-415, 2000.
196. YAN, Y. et al. Bidirectional regulation of Ca²⁺ sparks by mitochondria-derived reactive oxygen species in cardiac myocytes. **Cardiovascular Research**, v. 77, n. 2, p. 432-441, 2008.
197. YIN, F. C. et al. Use of tibial length to quantify cardiac hypertrophy: application in the aging rat. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 243, n. 6, p. H941-H947, 1982.
198. YU, B. P. Aging and oxidative stress: modulation by dietary restriction. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 21, n. 5, p. 651-668, 1996.
199. ZANIQUELI, D. et al. Heart rate at 4 s after the onset of exercise in endurance-trained men. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 92, n. 6, p. 476-480, 2014.

200. ZENG, Q. et al. Endothelin-1 regulates cardiac L-type calcium channels via NAD (P) H oxidase-derived superoxide. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 326, n. 3, p. 732-738, 2008.
201. ZHANG, T.; MAIER, L.S.; DALTON, N. D.; MIYAMOTO, S., et al. The δ C isoform of CaMKII is activated in cardiac hypertrophy and induces dilated cardiomyopathy and heart failure. **Circulation Research**, v. 92, n. 8, p. 912-919, 2003.
202. ZHANG, Y.; LI, H. H.; YANG, R.; YANG, B. J.; GAO, Z. Y. Association between circulating microRNA-208a and severity of coronary heart disease. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation**, v. 77, p. 379-384, 2017.
203. ZIMA, A. V.; BLATTER, L. A. Redox regulation of cardiac calcium channels and transporters. **Cardiovascular Research**, v. 71, n. 2, p. 310-321, 2006.

ANEXO A

PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA/UFV



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA

Campus Universitário – Viçosa, MG, Brasil, 36570-900 – Telefone: (31) 3612-2315

Viçosa, 19 de dezembro de 2022

Prof.
Miguel Araújo Carneiro Júnior
Coordenador do projeto
DES/UFV

Sr. Coordenador,

Após avaliação da Metodologia utilizada no Projeto de Pesquisa intitulado “Efeitos do treinamento físico resistido e da utilização de decanoato de nandrolona em propriedades morfológicas, histológicas, mecânicas, moleculares e epigenéticas no coração de ratos wistar”, aqui nomeado Processo 44/2022, a CEUA/UFV emite parecer favorável ao protocolo de utilização de animais proposto, tendo como base para análise a Legislação vigente (Lei Nº 11.794, de 08 de outubro de 2008), as Resoluções Normativas editadas pelo CONCEA/MCTIC, bem como a DBCA (Diretriz Brasileira de Prática para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos) e as Diretrizes da Prática de Eutanásia preconizadas pelo CONCEA/MCTIC.

Acresce a esse Parecer a exigência de Relatório Final de Atividades conforme itens a seguir:

RESUMO DOS RESULTADOS FINAIS OBTIDOS A PARTIR DOS EXPERIMENTOS ENVOLVENDO A UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS NO PROJETO DE PESQUISA

- 1 Número do protocolo de submissão do projeto de pesquisa à CEUA/UFV:
- 2 Metodologia completa obrigatoriamente com:
 - Local (is) Geral (is) e específico (s) oficial (is) onde ocorreu a experimentação;
 - O nome científico do animal em questão;
 - Número total de animais utilizados na pesquisa.
- 3 Resultados:
- 4 Nome do Coordenador do Projeto:
Assinatura:
- 5 Nome do Responsável Técnico:
Assinatura:
Inscrição em CRMV:

Prof. Fabrício Luciani Valente
Coordenador

Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UFV