



Universidade Federal do Ceará
Faculdade de Medicina
Departamento de Fisiologia e Farmacologia
Programa de Pós-Graduação em Farmacologia

ANDRIELI TAISE HAUSCHILDT

***DECANOATO DE NANDROLONA ASSOCIADO AO EXERCÍCIO FÍSICO DE
INTENSIDADE MODERADA: CARACTERIZAÇÃO DOS EFEITOS
GASTRINTESTINAIS CRÔNICOS EM RATOS***

FORTALEZA

2024

ANDRIELI TAISE HAUSCHILDT

***DECANOATO DE NANDROLONA ASSOCIADO AO EXERCÍCIO FÍSICO DE
INTENSIDADE MODERADA: CARACTERIZAÇÃO DOS EFEITOS
GASTRINTESTINAIS CRÔNICOS EM RATOS***

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Farmacologia.

Orientador: Prof. Armênio Aguiar dos Santos

FORTALEZA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Hauschildt, Andrieli Taise.

Decanoato de nandrolona associado ao exercício físico de intensidade moderada: :
caracterização dos efeitos gastrintestinais crônicos em ratos / Andrieli Taise Hauschildt. –
2024.

99 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa
de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2024.

Orientação: Prof. Dr. Armênio Aguiar dos Santos.

1. anabolizante. 2. treino aeróbico. 3. esvaziamento gástrico. 4. motilidade gastrintestinal.
I. Título.

CDD 615.1

ANDRIELI TAISE HAUSCHILDT

*DECANOATO DE NANDROLONA ASSOCIADO AO EXERCÍCIO FÍSICO DE
INTENSIDADE MODERADA: CARACTERIZAÇÃO DOS EFEITOS
GASTRINTESTINAIS CRÔNICOS EM RATOS*

Tese de doutorado aprovada como requisito para a obtenção do grau de Doutora em Farmacologia pelo Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, pela seguinte banca examinadora:

Banca Examinadora da Tese

Profº Dr. Pedro Jorge Caldas Magalhães
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profº Dr. Moises Tolentino Bento da Silva
Universidade Federal do Piauí (UFPI)

Profª. Dra. Madileine Francely Américo
Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT)

Profº Dr. José Ricardo de Arruda Miranda
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP)

Profº Dr. Armênio Aguiar dos Santos (*Orientador*)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Aprovada em 19/01/2024

“Vivemos em uma sociedade extremamente dependente da ciência e tecnologia, na qual pouquíssimos sabem alguma coisa sobre ciência e tecnologia. Isto é uma clara prescrição para o desastre.”

(Carl Sagan)

AGRADECIMENTOS

À minha família pelo apoio, inspiração e amor durante toda a minha. Em especial à minha irmã, Graciele, que é a minha parceira de vida.

Ao meu grande amigo Luis Eduardo, já são 15 anos de um companheirismo sem par.

À minha amiga Thais, que resiste firme e forte comigo desde a época de ouro da Biomedicina na UFMT.

Aos meus professores e grandes exemplos de profissionais que não só contribuíram para minha formação acadêmica como serviram de modelo à professora que sou hoje.

Ao meu orientador Professor Armênio, que me recebeu de braços abertos sem nem me conhecer e foi a figura principal da minha escolha do doutorado. Serei eternamente grata por toda a paciência, sabedoria e sanduíches compartilhados no almoço.

À toda a equipe do Laboratório Escola Luiz Capelo, que participaram de todos os passos da minha caminhada e sempre estiveram dispostos a me estenderem as mãos nos momentos mais conturbados.

À todos dos laboratórios parceiros por cederem equipamentos, espaço e/ou insumos e que, em um momento ou outro, me acudiram e possibilitaram a execução de todos os ensaios experimentais.

À minha amiga e parceira de crime, Mônica. Mais do que uma colega de laboratório, foi a amiga e irmã que ganhei com o doutorado. Você foi meu norte nestes anos, um abrigo e um farol em horas felizes e tristes.

Aos alunos de iniciação científica que apoiaram este trabalho e, como bons aprendizes de feiticeiros, proporcionaram bons momentos de descontração.

À todos os amigos que fiz no lindo Ceará. Não escolhemos onde nascemos mas talvez a nossa naturalidade possa ser descrita pelo lugar no qual encontramos pessoas que nos acolham e entendam.

Às queridas secretárias do Programa de pós-graduação em Farmacologia, Milena e Laura, que sempre me trataram com muita gentileza e disponibilidade.

Aos animais de experimentação que esse estudo pudesse acontecer e são os responsáveis por grande parte do avanço da ciência.

Ao CNPq, à FUNCAP e à CAPES pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de auxílio e financiamento da pesquisa.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 01.** Estrutura química do decanoato de nandrolona25
- Figura 02.** Delimitação de procedimentos realizados em cada ensaio experimental do estudo.....33
- Figura 03.** Representação esquemática da esteira ergométrica motorizada para ratos.....34
- Figura 04.** Representação esquemática da via de administração intramuscular do fármaco e seu respectivo veículo nos grupos estudados.....35
- Figura 05.** Disposição dos eletrodos para a avaliação da composição corporal de ratos por espectroscopia de bioimpedância tetra polar.....36
- Figura 06.** Representação esquemática da câmara acrílica cilíndrica (a) confeccionada com uma válvula de entrada (b) e uma válvula de saída (c) utilizadas para a coleta de amostras do ar expirado (d).....37
- Figura 07.** Analisador de isótopos por infravermelho Wagner Analyser Technik para a quantificação da curva de concentração de ^{13}C38
- Figura 08.** Representação esquemática do de registro da pressão intragástrica pelo Sistema LabChart e do volume gástrico por pletismômetro em ratos acordados.....39
- Figura 09.** Representação esquemática do protocolo de diluição do corante vermelho fenol injetado diretamente no intestino delgado de ratos.....40
- Figura 10.** Representação esquemática do protocolo de contratilidade *in vitro* de tiras isoladas de fundo, antro e duodeno de ratos.....42
- Figura 11.** Níveis séricos de lactato de animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona e submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em

esteira motorizada45

Figura 12. Performance física no teste de capacidade máxima de animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona e submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.....46

Figura 13. Composição corporal dos animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.....48

Figura 14. Curvas representativas do perfil do esvaziamento gástrico de uma refeição-teste líquida realizados nos dias 0, 3, 7, 14, 28, 42 e 56 do protocolo experimental, obtidas a partir do teste do $^{13}\text{CO}_2$ expirado.....50

Figura 15. Quantificação de $^{13}\text{CO}_2$ expirado a partir de uma refeição-teste líquida dos animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.....51

Figura 16. Esvaziamento gástrico de uma refeição-teste líquida dos animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.....52

Figura 17. Curvas representativas do perfil do esvaziamento gástrico de uma refeição-teste sólida realizados nos dias 0, 3, 7, 14, 28, 42 e 56 do protocolo experimental, obtidas a partir do teste do $^{13}\text{CO}_2$ expirado.....52

Figura 18. Quantificação de $^{13}\text{CO}_2$ expirado a partir de uma refeição-teste sólida dos animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.....53

Figura 19. Esvaziamento gástrico de refeição-teste sólida dos animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.....54

Figura 20. Volume intragástrico dos animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.....	55
Figura 21. Variações na amplitude (mmHg) e frequência (contrações/min) das contrações gástricas dos animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.....	55
Figura 22. Centro geométrico do trânsito intestinal em animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.....	56
Figura 23. Contratilidade <i>in vitro</i> de tiras isoladas de antro gástrico após adição de concentrações crescentes de KCl (a), CCh (b), ISO (c) e NPS (d) dos animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.....	57
Figura 24. Contratilidade <i>in vitro</i> de tiras isoladas de fundo gástrico após adição de concentrações crescentes de KCl (a), CCh (b), ISO (c) e NPS (d) dos animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.....	58
Figura 25. Contratilidade <i>in vitro</i> de tiras isoladas de duodeno após adição de concentrações crescentes de KCl (a), CCh (b), ISO (c) e NPS (d) dos animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.....	59
Figura 26. Fotomicrografia representativa da histologia do duodeno de animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.....	60
Figura 27. Morfometria das camadas mucosas e musculares do duodeno de animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao	

exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.....61

Figura 28. Parâmetros bioquímicos avaliados em animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.....65

Figura 29. Peso relativo de órgãos (g/100g) de animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.....66

LISTA DE TABELAS

Tabela 01. Média semanal de peso (g) de animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.....63

Tabela 02. Média semanal de consumo alimentar (g) de animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.....63

Tabela 03. Média semanal de consumo hídrico (mL) de animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.....64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HT_{2A}: Receptor de serotonina
5-HT_{1B}: Receptor de serotonina
ABS: Absorbância
ALT: Alanina transaminase
AS: Anabolizante sedentário
AST: Aspartato transaminase
AE: Anabolizante exercício
ATP: Trifosfato de adenosina
AUC: Área sob a curva
BIOIMP: Bioimpedância
C17: Carbono 17
C19: Carbono 19
C₂₈H₄₄O₃: Molécula química do decanoato de nandrolona
CCh: Carbacol
CEUA: Comissão de Ética no Uso de Animais
CH₃: Grupo metila
Cmax: Concentração máxima
CS: Controle sedentário
CE: Controle exercício
CT: Colesterol total
DN: Decanoato de nandrolona
EAA: Esteróides anabólicos androgênicos
EGL: Esvaziamento gástrico de líquido
EGS: Esvaziamento gástrico de sólido
ELISA: Ensaio de imunoabsorção enzimática
EP: Erro padrão
FA: Fosfatase alcalina
GH: Hormônio do crescimento
HDL: Lipoproteína de alta densidade
i.e: isto é (do latim *id est*)
i.p.: Intraperitoneal
i.m.: Intramuscular

ICC: Células intersticiais de Cajal
IFG-1: Fator de crescimento de insulina 1
IgA: Imunoglobulina A
IRIS 2: Analisador de isótopos por infravermelho
ISO: Isoproterenol
NPS: Nitroprussiato de sódio
OH: Grupo hidroxila
pH: Potencial hidrogeniônico
PR: Peso relativo
SIDA: Síndrome da imunodeficiência adquirida
SNA: Sistema nervoso autônomo
SNE: Sistema nervoso entérico
TCA: Ácido tricloroacético
TCM: Teste de capacidade máxima
TG: Triglicérides
TGI: Trato gastrointestinal
Tmax: Tempo máximo
UFC: Universidade Federal do Ceará
VLDL: Lipoproteínas de densidade muito baixa
WHO: Organização Mundial da Saúde

LISTA DE SÍMBOLOS

^{13}C : Isótopo de carbono-13

$\Delta^{13}\text{CO}_2$: delta da concentração de dióxido de carbono-13

O_2 : gás oxigênio

CO_2 : gás carbônico ou dióxido de carbono

® : marca registrada

% : porcentagem

< : menor que

> : maior que

~ : aproximadamente

± : mais ou menos

Σ : somatória

°C : graus Celsius

m : metros

mm : milímetros

cm : centímetros

μg : microgramas

g : gramas

mL: mililitros

kJ : quilo joule

min : minutos

seg : segundos

ppm : partículas por milhão

rpm : rotação por minuto

[ppm] : concentração de partículas por milhão

mg/kg : miligramas por quilo

mg/mL : miligramas por mililitros

mmol/L : milimol por litro

mL/kg : mililitros por quilo

m/min : metros por minuto

min/dia : minutos por dia

ppm/min : partículas por milhão por minuto

ppm/min² : partículas por milhão por minuto ao quadrado

mmHg : milímetros de mercúrio

I: número romano Um

II: número romano Dois

III: número romano Três

IV: número romano Quatro

N : normal

M : molar

mM : milimolar

CaCl₂ : Cloreto de cálcio

KCl: cloreto de potássio

MgCl₂ : cloreto de magnésio

NaOH : hidóxido de sódio

NaCl : cloreto de sódio

NaH₂PO₄ : fosfato de sódio bibásico

NaHCO₃ : carbonato de sódio

RESUMO

O uso de esteróides anabólicos-androgênicos associado à prática de exercício físico está vinculado à diversos efeitos colaterais agudos e crônicos, entretanto suas repercussões no trato gastrointestinal ainda não estão bem elucidadas. Objetiva-se caracterizar os efeitos do tratamento de decanoato de nandrolona associado ao exercício físico moderado sobre diferentes parâmetros gastrointestinais em ratos. Para tal, ratos machos Wistar foram divididos em: Controle Sedentário (CS), Controle Exercício (CE), Anabolizante Sedentário (AS) e Anabolizante Exercício (AE). Animais receberam decanoato de nandrolona (05 mg/kg) ou veículo (0,2 mL de óleo de amendoim) por via intramuscular 2 vezes por semana durante 8 semanas. Para o treinamento físico adotou-se o protocolo de corrida em esteira motorizada. Inicialmente, todos os animais passaram por período de adaptação progressiva seguido do Teste de Capacidade Máxima para determinar o limiar de intensidade do treinamento. Após a adaptação, os animais exercitados foram submetidos a sessões de corrida em 60% da velocidade máxima, 5 dias/semana durante 8 semanas. Animais sedentários foram expostos a esteira (5 minutos à 5 m/min) uma vez por semana. Nos dias 0, 3, 7, 14, 28, 42 e 56 do protocolo experimental foram avaliados o esvaziamento gástrico de líquido (EGL) e sólido (EGS) pelo do teste respiratório com ^{13}C e a composição corporal pelo método de bioimpedância. Ao final dos 56 dias de acompanhamento foram avaliados a pressão e o volume intragástricos, o trânsito intestinal e a contratilidade *in vitro* de tiras isoladas de antro, fundo e duodeno, assim como a morfometria de tais regiões. A normalidade dos dados foi analisada por Shapiro-Wilk e os testes ANOVA (teste posthoc de Tukey) ou Kruskal-Wallis (teste posthoc de Dunn) foram empregados, sendo as diferenças significativas para $p < 0,05$. Como resultados principais, o grupo CE mostrou aumento do lactato sérico, reduziu a massa gorda e aumentou a massa magra e o teor de água corporal; acelerou transitoriamente o EGL; aumentou amplitude e diminuiu frequência das contrações gástricas; diminuiu a espessura das tunicas musculares duodenais O grupo AS mostrou efeito transiente de diminuição de massa gorda, aumento de massa livre de gordura e no teor de água corporal total, que foram invertidos ao longo do tempo; esvaziamento gástrico aguda e cronicamente acelerados; aumento da amplitude e diminuição da frequência das contrações gástricas; trânsito intestinal mais rápido; e maior responsividade à carbacol e maior resposta via nitroprussiato de sódio; aumento

da profundidade de criptas e espessura das tunicas musculares; No grupo AE, o EGL e EGS foram acelerados; houve maior distensibilidade gástrica; aumentou a amplitude e diminuiu a frequência das contrações do estômago; reduziu a camada mucosa, com aumento da muscular da mucosa e da aumentou a submucosa. Assim, observou-se um efeito dual do decanoato de nandrolona na composição corporal dos animais, que é dependente do tempo de tratamento. Nos padrões gastrintestinais, a nandrolona age acelerando o esvaziamento do estômago, provavelmente através de maior excitabilidade gástrica mediada por receptores muscarínicos e maior relaxamento induzido por vias do óxido nítrico no duodeno.

Palavras-chave: anabolizante; treino aeróbico; esvaziamento gástrico; motilidade gastrintestinal.

ABSTRACT

Anabolic-androgenic steroids use associated with physical exercise has several acute and chronic side effects, however its repercussion on the gastrointestinal tract remains unknown. Thus, we aimed to establish the effects of nandrolone decanoate treatment and moderate physical exercise on different gastrointestinal parameters in rats. Male Wistar rats were used, divided into 4 groups: Sedentary Control (CS), Exercise Control (CE), Sedentary Anabolic (AS) and Anabolic Exercise (AE). Animals received nandrolone decanoate (5 mg/kg) or vehicle (0.2 mL of peanut oil) intramuscularly twice a week for 8 weeks. For physical training, the motorized treadmill running protocol was adopted. Initially, all animals went through an adaptation period and the Maximum Capacity Test was performed to determine the training intensity threshold. After adaptation, the exercised animals were subjected to running sessions at 60% of maximum speed, 5 days/week for 8 weeks. Sedentary animals were exposed to the treadmill (5 minutes at 5 m/min) once a week. On days 0, 3, 7, 14, 28, 42 and 56 of the experimental protocol, we evaluated gastric emptying of a liquid (EGL) and a solid (EGS) meal using the ^{13}C breathing test and body composition using the bioimpedance method. At the end of 56 days of protocol, intragastric pressure and volume, intestinal transit and both morphometry and *in vitro* contractility from the antrum, fundus and duodenum were measured. Data normality was analyzed by Shapiro-Wilk and the ANOVA (Tukey's posthoc test) or Kruskal-Wallis (Dunn's posthoc test) tests were applied, differences being significant at $p < 0.05$. As result, serum lactate was increased in both exercise groups. As main results, the CE group showed increase in serum lactate, reduced fat mass and increased fat-free mass and body water content; transiently accelerated the EGL; increased amplitude and decreased frequency of gastric contractions; The AS group showed transient effect in body composition by decreasing fat mass, increasing fat-free mass and total body water content, which were reversed over time; acutely and chronically accelerated gastric emptying; increased amplitude and decreased frequency of gastric contractions; fastened intestinal transit; and enhanced carbachol and sodium nitroprusside responsiveness; In AE animals the GE of liquid and solid was faster, gastric fundus distensibility was improved and gastric contractions showed higher amplitude and lower frequency. Thus, nandrolone decanoate had a dual effect on the body composition, which seems dependent on the treatment time. In gastrointestinal

parameters, nandrolone decanoate acts by intensely accelerating gastric emptying, likely through greater excitability mediated by muscarinic receptors in the gastric fundus and enhanced duodenal relaxation induced by nitric oxide pathway.

Keywords: anabolic; aerobic training; gastric emptying; gastrointestinal motility.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	21
2. OBJETIVOS.....	31
2.1 Geral.....	31
2.2 Específicos	31
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	32
3.1 Animais.....	32
3.2 Grupos e delineamento experimental	32
3.3 Exercício físico de intensidade moderada	33
3.3.1 <i>Adaptação em esteira</i>	33
3.3.2 <i>Teste de capacidade máxima</i>	33
3.3.3. <i>Exercício físico por corrida</i>	34
3.4 Tratamento com decanoato de nandrolona.....	34
3.5 Análise do perfil de consumo e composição corporal	35
3.6 Avaliação do esvaziamento gástrico: método respiratório ¹³ C.....	36
3.6.1 <i>Esvaziamento gástrico de líquidos pelo método indireto do acetato de sódio ¹³C</i>	36
3.6.2 <i>Esvaziamento gástrico de sólidos pelo método indireto do ácido octanóide ¹³C</i>	36
3.6.3 <i>Obtenção e análise dos dados</i>	37
3.7 Avaliação da pressão e volume intragástrico	38
3.8 Avaliação do trânsito intestinal pelo método da diluição de corante	39
3.9 Avaliação <i>in vitro</i> da contratilidade gastrintestinal	41
3.10 Morfometria intestinal.....	42
3.11 Determinação do perfil bioquímico	43
3.12 Peso de órgãos	43
3.13 Análise estatística	43
4. RESULTADOS	45

4.1 Validação do protocolo de exercício físico moderado utilizando esteira motorizada.....	45
4.2 Efeitos do decanoato de nandrolona associado ao exercício físico sobre o esvaziamento gástrico de refeições líquida e sólida.	49
4.3 Efeitos fisiológicos do protocolo experimental sobre a complacência gástrica e o trânsito intestinal.	54
4.4 Resposta contrátil <i>in vitro</i> de tiras gastrintestinais após o tratamento com decanoato de nandrolona associado ao exercício físico.	56
4.5 Morfometria de segmentos gastrintestinais após o tratamento com decanoato de nandrolona associado ao exercício físico.	60
4.6 Efeitos secundários do tratamento de decanoato de nandrolona associado ao exercício físico nos padrões de ingestão, marcadores bioquímicos e peso de órgãos.....	62
5. DISCUSSÃO.....	67
6. CONCLUSÃO.....	77
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78
8. ANEXOS.....	98

1. INTRODUÇÃO

O sedentarismo é definido como qualquer comportamento acordado abrangendo a postura sentada, reclinada ou deitada com baixo gasto de energia, sendo associado ao aumento na mortalidade por todas as causas (Ekelund et al., 2019). Segundo a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2022) 27,5% dos adultos e 81% dos adolescentes praticam atividade física considerada insuficiente, o que implicaria em gastos da ordem de US\$ 54 bilhões em assistência médica direta e outros US\$ 14 bilhões em perda de produtividade (WHO, 2022). No Brasil, esse quadro é ainda mais alarmante tendo em vista que 40,3% da população acima de 18 anos é considerada insuficientemente ativa (IBGE, 2020).

Em contraposto, a atividade física caracteriza-se como qualquer movimento corporal produzido pelos músculos esqueléticos que requeira gasto de energia, podendo ser executado em diversas intensidades (WHO, 2022). Quando praticada regularmente, ela é reconhecida como ferramenta importante na prevenção e manejo de diversas doenças, como as cardiovasculares, metabólicas, câncer de mama e cólon (Lee et al., 2012; McTiernan et al., 2019), além de atuar positivamente em aspectos psicossociais como cognição, ansiedade, depressão e autoestima (Hillman et al., 2008; Paillard et al., 2015; Kredlow et al., 2015). A prática do exercício físico estaria também relacionada com a redução na prevalência de algumas doenças do trato gastrintestinal (TGI), como o câncer de colón, diverticulite, colelitíase e constipação (Everhart et al., 1989; Aldoori et al., 1995; Colditz, Cannuscio e Frazier, 1997; Leitzmann et al., 1999). As novas diretrizes da OMS recomendam pelo menos 150 a 300 minutos de atividade aeróbica moderada a vigorosa por semana para todos os adultos, incluindo quem vive com doenças crônicas ou incapacidade (WHO, 2022).

Porém, o exercício físico não é uma atividade inócua. Estudos apontam que os efeitos positivos são dependentes da intensidade, frequência, duração e tipo de prática física (Paillard et al., 2015; Gholamnezhad et al., 2014; Kredlow et al., 2015). Com base no metabolismo, há dois tipos de atividade física – aeróbica e anaeróbica. O exercício aeróbico é aquele onde há gasto de energia na forma de ATP proveniente da fosforilação oxidativa de glicogênio e ácidos graxos livres, sendo o processo dependente da disponibilidade de oxigênio. Já o exercício anaeróbio usa ATP da glicólise, sem necessidade do oxigênio na sua produção (Nobrega, 2005; Leandro et al., 2007). No que tange à intensidade, é possível classificá-lo como leve (<55% de

consumo máximo de O₂), moderado (entre 55-80% de consumo máximo de O₂) ou intenso (>80% de consumo máximo de O₂) (Hutchison et al., 2011; Miri, Jashni e Alipour, 2014), com efeitos fisiológicos diferenciados (Flora et al., 2016). A intensidade do exercício físico refere-se à taxa em que a atividade está sendo realizada ou a magnitude do esforço necessário. Sendo assim, há notável variação interpessoal quanto à intensidade de diferentes formas de exercício, vinculada à experiência prévia e ao nível relativo de aptidão do indivíduo (WHO, 2022).

Quando o exercício físico é realizado de forma sistemática e a intensidade do esforço é controlada, denomina-se treinamento físico. Usualmente, o exercício aeróbico é caracterizado por atividades de baixa intensidade, longa duração e com elevação sustentada da frequência cardíaca. Enquanto o exercício anaeróbico é determinado por recrutamento muscular intenso durante um curto período de tempo e com acúmulo de ácido láctico no sangue (Botezelli et al., 2010; Morris et al., 2011; Pinho et al., 2012). Dentre tantas variáveis, a repercussão dos diferentes programas de exercício físico sobre as funções gastrintestinais e metabólicas são diversas, dependendo da frequência e da carga de trabalho adotada.

No que tange ao trato gastrintestinal, o exercício intenso e prolongado ocasiona redução marcante do fluxo sanguíneo esplâncnico, aumento da permeabilidade intestinal, inibição do esvaziamento gástrico e trânsito intestinal (Gisolfi, 2000; Lira et al., 2008). De maneira geral, esse tipo de exercício está relacionado com o aparecimento de sintomas como náusea, azia, diarreia e sangramento gastrintestinal, acometendo de 20% a 50% dos praticantes (Peters et al, 2001, Simrén, 2002; Oliveira e Burini, 2009). Em oposição, o exercício físico de intensidade baixa ou moderada parece ter efeito protetor sobre o TGI melhorando seu funcionamento (Peters et al., 2001; Silva et al., 2014). Todavia, tais estudos são, muitas vezes inconclusivos ou até contraditórios, tendo em vista a complexidade em se determinar o limiar de intensidade do exercício e suas respostas metabólicas em modelos pré-clínicos. Assim, têm-se buscado desenvolver modelos biológicos experimentais com o intuito de melhor compreender os aspectos metabólicos decorrentes da prática física e identificar a carga de exercício apropriada para cada situação (Nieman, 2000; Leandro et al., 2007; Gholamnezhad et al., 2015).

Além disso, outro fenômeno relevante associado à prática física é o uso concomitante de moléculas de potencial anabólico. Dentre os quais se destacam os Esteróides Anabólicos Androgênicos (EAA), fármacos desenvolvidos sinteticamente

com estrutura molecular análoga à testosterona (Kicman, 2008), no intuito de maximizar as características anabólicas de estímulo da síntese proteica e aumento da força muscular além de minimizar os efeitos colaterais androgênicos, como a manutenção dos caracteres sexuais (Shahidi, 2001; Evans, 2004; Kicman, 2008). O principal mecanismo de ação dos EAA é a interação direta com o receptor androgênico citoplasmático, estimulando a sinalização para a síntese proteica e inibindo a proteólise, o que resulta na hipertrofia das fibras musculares tipo IIa, além de estimular a diferenciação das células progenitoras (Hartgens e Kuipers, 2004; Pope et al., 2013). Outras vias de ação dos EAA – especialmente o decanoato de nandrolona – envolvem a modulação de receptores de dopamina e serotonina (5-HT_{2A} e 5-HT_{1B}), interação indireta com fatores tróficos como o hormônio do crescimento (GH) e o fator de crescimento de insulina 1 (IGF-1), bem como do antagonismo nos receptores de glicocorticoides, desta forma inibindo a atividade catabólica (Bhasin et al., 2003; Hartgens e Kuipers, 2004).

Dentre as indicações terapêuticas dessa classe de fármacos estão o tratamento de disfunção sexual masculina e atraso de desenvolvimento na puberdade, hipogonadismo em adultos, queimaduras severas, anemia aplásica, catabolismo crônico na Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA), osteoporose, insuficiência renal crônica e algumas neoplasias (Busardò et al., 2015).

Entretanto, os EAA passaram a ser utilizados de forma abusiva para o aumento de força e massa muscular, melhora da performance atlética e aperfeiçoamento estético, estando o uso indiscriminado dessas substâncias relacionado a diversos efeitos colaterais (Rocha et al., 2014). De modo geral, os efeitos adversos agudos e crônicos englobam alterações nos caracteres sexuais secundários e funções hormonais, complicações relacionadas à adulteração e administração indevida do fármaco como doenças infecciosas, além de amplo espectro de efeitos em tecidos somáticos como cérebro, rins, coração e vasculatura, e até mesmo alterações comportamentais, como agressividade e desenvolvimento de dependência (Vieira et al., 2008; Venâncio et al., 2010). O uso indevido de EAA pode ainda acarretar em alterações indiretas no trato gastrointestinal como distúrbios na secreção de sais biliares, náuseas, vômitos, diarreia e sangramento gastrointestinal (Modlinski e Fields, 2006; Buttner e Thieme, 2010).

Embora o abuso de EAA seja considerado fenômeno de escala global, ainda são limitados os dados epidemiológicos sobre o assunto. Além da escassez de estudos,

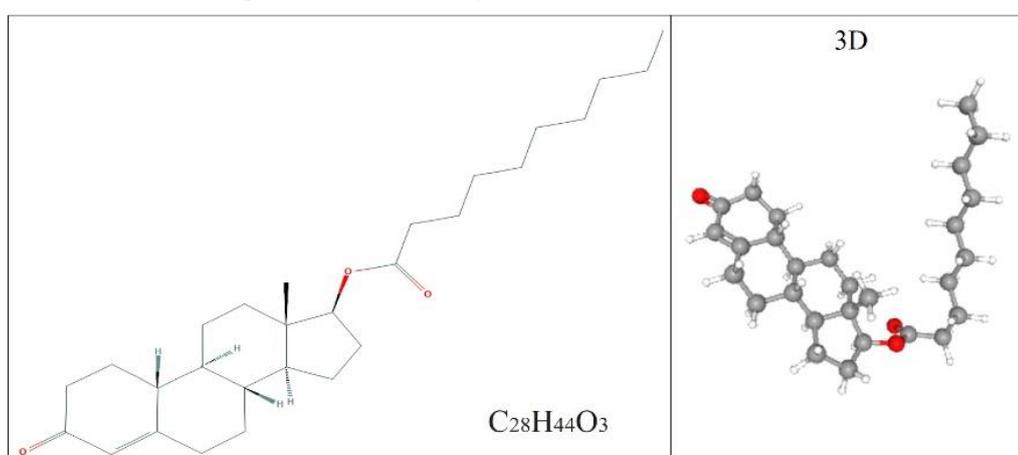
os dados disponíveis apresentam vícios observacionais advindos da dificuldade de reconhecer o abuso por parte dos usuários, mas também pelo uso concomitante de diversas classes de EAA (Basaria, 2010; Birgner, 2008; Ribeiro, 2011). Em um estudo multicêntrico, Sagoe e colaboradores (2014) relataram que mundialmente pelo menos 3,3% da população já fez uso de EAA alguma vez na vida, sendo a maioria dos usuários atletas homens (profissionais e amadores). No Brasil, a prevalência do abuso de EAA variaria entre 2,1% e 31,6% de acordo com a região estudada e as características da amostra (Abrahin et al., 2014), mesmo com o uso e comercialização de tais fármacos sendo altamente regulado. De acordo com recente resolução nº 2.333/2023 do Conselho Federal de Medicina, fica vedada a utilização de qualquer formulação de testosterona sem a devida comprovação diagnóstica de sua deficiência, com finalidade estética ou melhora do desempenho esportivo, seja para atletas amadores ou profissionais (CFM, 2023).

Nota-se ainda que a auto-administração intramuscular é predominante dentre os usuários e ao menos 13% deles admitem práticas não-seguras de aplicação, aumentando o risco de propagação de infecções sexualmente transmissíveis (Givens e Deuster, 2015). Dado seu impacto na saúde pública, o abuso de esteróides anabólicos vem sendo considerado epidemia silenciosa e progressiva (Rocha et al., 2014). O mais alarmante é o crescente índice de abuso destes fármacos entre adolescentes, jovens e adultos desejosos de hipertrofia muscular e melhora da aparência física, despreocupados sobre os respectivos efeitos negativos (Van Amsterdam, Opperhuizen e Hartgens, 2010). Ademais, os efeitos colaterais podem ser ainda mais intensos entre jovens devido à maior sensibilidade corporal e ao alto índice de utilização incorreta do medicamento (Nieschlag e Vorona, 2015). Como tais substâncias biologicamente ativas apresentam ação do tipo dose-dependente, é comum os usuários utilizarem doses de 10 a 100 vezes maiores do que as recomendadas para fins terapêuticos, trazendo risco real à saúde (Bonetti et al., 2008; Busardò et al., 2015).

Nesse cenário, o decanoato de nandrolona (DN) é o EAA mais utilizado e, conseqüentemente, um dos mais estudados. Apesar de sua ampla aplicação clínica, o abuso de DN é notável pelas suas propriedades na reconstrução de tecidos, no estímulo da síntese proteica e no aumento da força muscular e da libido (Busardò et al., 2015). Farmacologicamente, o DN pertence à classe II dos esteróides sintéticos, sendo derivado da 19-nortestosterona (Hartgens e Kuipers, 2004; Lindqvist e Fahlke,

2005) e diferindo de testosterona pela posição C19, sendo um grupo metila (CH₃) substituído por um átomo de hidrogênio. Essa substituição contribui para a esterificação do grupo hidroxila (OH) na posição C17, produzindo a nandrolona (Figura 01). Sendo assim, o fármaco apresenta grande efeito anabólico e meia-vida longa (Shahidi, 2001; Busardò et al., 2015) em comparação ao seu hormônio análogo, estando ainda relacionado à diversos distúrbios cardíacos, vasculares, renais, hepáticos, metabólicos e imunológicos (Hassan e Kamal, 2013; Pozzi et al., 2013; Riezzo et al., 2014; Busardò et al., 2015; Nieschlag e Vorona, 2015).

Figura 01. Estrutura química do decanoato de nandrolona.



Fonte: adaptado de PubChem.

Embora tanto o treinamento físico quanto a nandrolona aumentem o número de receptores androgênicos no músculo, potencializado a hipertrofia muscular (Bordbar et al., 2014; Brasil et al., 2015), a associação com esteróides anabólicos androgênicos pode acarretar perda dos efeitos benéficos proporcionados pela atividade física (Flora et al., 2016), como por exemplo a melhora da vascularização e do aumento das enzimas antioxidantes relacionadas à prática física são suprimidas pelo uso crônico de nandrolona (Chaves et al., 2006).

A relação se torna ainda complexa ao se levar em conta o impacto dos EAA e do exercício físico no metabolismo corporal. Tendo como função primordial abastecer o corpo com substâncias essenciais como água, eletrólitos, vitaminas e nutrientes necessários aos processos metabólicos, o trato gastrointestinal apresenta padrões únicos de motilidade que sofrem influência de sinais neurais, químicos e humorais (Schneeman, 2002; Soenen et al., 2015). Ao mesmo tempo, o funcionamento do TGI parece ser influenciado tanto pela prática física quanto pelo abuso de substâncias anabólicas-androgênicas.

Anatomicamente, o TGI é composto pela cavidade oral, faringe, esôfago, estômago, intestino delgado, intestino grosso e glândulas anexas (fígado, pâncreas e glândulas salivares), sendo cada órgão adaptado às suas funções específicas (Reed e Wickham, 2009). Já histologicamente, esses órgãos ocós são formados por quatro camadas principais: mucosa, submucosa, muscular e serosa. A camada mucosa está em contato direto com o lúmen e conta com um revestimento de células epiteliais diferenciadas que agem como um mediador central entre a mucosa e o ambiente externo, facilitando os processos absorptivos, ao mesmo tempo impedindo a invasão de patógenos (Schneeman, 2002; Turner, 2009; Soenen et al., 2015). A partir das células epiteliais encontra-se a lâmina própria composta de tecido conjuntivo, vasos sanguíneos e linfáticos, servindo como suporte para a barreira epitelial. Em seguida têm-se uma fina camada de musculatura lisa, denominada muscular da mucosa. Sequencialmente têm-se a submucosa, composta por glândulas, vasos sanguíneos e células produtoras de IgA. Na junção entre a submucosa e a muscular, encontra-se o plexo submucoso que constitui a primeira rede de neurônios (Kang e Kudsk, 2007; Reed e Wickham, 2009; Boeckxstaens et al., 2016). A camada muscular é composta de músculo liso arranjado espacialmente em fibras circulares e longitudinais, sendo que entre elas, encontra-se o plexo mioentérico coordenando-as. Esses dois plexos compõem o conjunto de neurônios vinculado ao TGI, ou seja, o sistema nervoso entérico (SNE). Por fim, encontra-se a serosa revestindo mais externamente todos os órgãos gastrintestinais (Schneeman, 2002; Boeckxstaens et al., 2016).

A motilidade gastrintestinal é complexa. O controle neural ocorre via inervação extrínseca por fibras simpáticas e parassimpáticas do sistema nervoso autônomo (SNA), e também pela inervação intrínseca, formada pelas células intersticiais de Cajal (ICC), a extensa rede de fibras que ligam as ICC a outros nervos e pelo sistema nervoso entérico (SNE) (Gershon, 2004; Auteri et al., 2015; Sanders et al., 2016). O SNE atua no repasse de atividade sensorial para o cérebro mediante o nervo vago e nervos esplâncnicos bem como na propagação de impulsos motores em todo o TGI, controlando a digestão e absorção de nutrientes através da motilidade e da secreção de produtos digestivos do TGI (Lacy e Weiser, 2005; Saffrey, 2014). Da mesma maneira, diversos hormônios controlam a motilidade do TGI, como a gastrina, a colecistocinina, a secretina, o peptídeo inibitório gástrico e a motilina, ao estimular ou inibir a atividade motora e/ou secretora do tubo digestivo (Inui et al., 2004; Hunt et al., 2015).

A partir do momento que o alimento é ingerido ocorrem simultaneamente diversos eventos mecânicos e químicos em prol da mistura do conteúdo alimentar com as secreções digestivas, da propulsão do bolo alimentar ao longo do TGI e sua exposição à superfície absorptiva, assim como da eliminação de resíduos (Corá et al., 2011; Boeckxstaens et al., 2016). Essas ações coordenadas permitem a digestão do alimento, melhorando a absorção de nutrientes (Hunt et al., 2015; Phillips et al., 2015). Quando estimulado o músculo circular forma anel contrátil diminuindo o diâmetro intraluminal enquanto que a contração da camada de músculo longitudinal provoca o encurtamento do tubo, facilitando a passagem do conteúdo ao longo do TGI (Saffrey, 2014; Soenen et al., 2015; Azuma et al., 2016).

No estômago a função motora está associada ao armazenamento de grandes quantidades de alimento até serem processados, a mistura desse alimento com as secreções gástricas com a formação do quimo, ao deslocamento do quimo da região proximal para a distal, onde o mesmo é triturado em partículas pequenas e, por fim, o esvaziamento do quimo sob ritmo compatível à taxa de absorção do intestino delgado (Boeckxstaens et al., 2016).

O esvaziamento gástrico é promovido por intensas contrações peristálticas no antro gástrico e facilitado pela redução da resistência à passagem do quimo pelo piloro (Hunt et al., 2015). A regulação do esvaziamento gástrico é feita por sinais tanto do estômago quanto do duodeno, estimulando ou inibindo a saída do alimento (Phillips et al., 2015). Dentre os fatores reguladores estão a distensão da parede gástrica, a natureza do componente ingerido, a densidade de energia do alimento, o grau de acidez do quimo e a ação de hormônios sobre o TGI (Gershon, 2004; Boeckxstaens et al., 2016). Essa movimentação propicia a digestão, facilita a absorção de nutrientes para a corrente sanguínea e ocasiona a sensação de saciedade (Xing e Chen, 2004; Reed e Wickham, 2009). Na verdade, o esvaziamento gástrico é etapa crítica para a absorção: o quimo deve ser esvaziado sob uma taxa que permita a completa digestão e absorção pelo intestino delgado. Se o quimo for esvaziado muito rapidamente, nem todos os nutrientes serão aproveitados (Hunt et al., 2015; Liu et al., 2020).

No intestino delgado, a motilidade decorre das contrações de mistura e peristálticas que promovem tanto a mistura do alimento com as secreções entéricas quanto sua propulsão em direção ao cólon, propiciando o contato do conteúdo intraluminal com o epitélio absorptivo. Resíduos indigeríveis de alimentos passam para o intestino grosso, onde a água é absorvida e os resíduos são decompostos por

bactérias, produzindo metabólitos e as fezes a serem excretadas (Somaratne et al. 2020). Nos cólons, a motilidade é controlada por sinais nervosos e hormonais que determinam a intensidade do peristaltismo responsável pela propulsão mais lenta do bolo fecal (Boeckxstaens et al., 2016).

Assim, é notável a necessidade de desenvolvimento e aplicação de técnicas de avaliação da motilidade gastrointestinal. No que tange a avaliação do esvaziamento gástrico, a cintilografia é considerada a técnica padrão-ouro (Souza et al., 2009; Szarka e Camilleri, 2009). Nela, as imagens são obtidas a partir da ingestão de refeição teste marcada com elemento radioativo, permitindo a quantificação da radioatividade total do estômago, diretamente proporcional ao volume de alimento presente no estômago além da avaliação da retenção regional do marcador nos estômagos proximal e distal (Rao et al., 2011). Entretanto, a exposição à radiação ionizante e necessidade de recursos físicos e pessoais especializados constituem desvantagens consideráveis da técnica (Szarka e Camilleri, 2009).

Foram desenvolvidos outros métodos como a ultrassonografia e a ressonância magnética para avaliar o conteúdo do estômago e estimar o esvaziamento gástrico, sem exposição à radiação (Szarka e Camilleri, 2009). Entretanto, tais técnicas necessitam equipamentos caros e são operador – dependentes. Ademais, são realizadas com o paciente em posição supina, condição não fisiológica (Liu et al., 2020).

A taxa de esvaziamento gástrico também pode ser estimada de forma indireta, como no teste do acetaminofeno. Sendo tal fármaco absorvida quase exclusivamente no intestino delgado, seus níveis plasmáticos refletem a taxa de esvaziamento gástrico (Kim, 2012). Apesar de simples e não invasiva, a técnica apresenta grande variabilidade, além de estar condicionada à utilização de refeições líquidas para sua execução (Kim, 2012; Liu et al., 2020).

Já o trânsito intestinal humano pode ser avaliado pela detecção de variações intraluminais de pH, pressão e temperatura (Bratten e Jones, 2006; Szarka e Camilleri, 2009; Rao et al., 2011). No caso do teste respiratório com isótopo estável, é administrado uma refeição teste contendo carboidratos marcados, que passam pelo intestino delgado sem serem digeridos nem absorvidos. No intestino grosso, sofre fermentação pela microbiota produzindo hidrogênio que, ao ser absorvido pela mucosa intestinal colônica, atinge a circulação sistêmica, sendo eliminado na respiração. Desse modo, é avaliada a quantidade de gás produzido pelo intestino e

liberado ao longo do tempo. Há um tempo padrão para a chegada do bolo alimentar até o cólon, estimando, de forma indireta, o tempo de trânsito orocecal. Entretanto, a interpretação deste teste pode ser influenciada pelo aumento da população bacteriana no intestino delgado (Quigley, 1996; Schoonjans et al., 2002).

Em animais experimentais, o esvaziamento gástrico e o trânsito gastrintestinal podem ser mensurados por deslocamento de corantes, radiomarcadores e materiais magnéticos (Baggio et al., 2003; Quini et al., 2012). Ao incorporar um corante à uma refeição teste ofertada ao animal, é possível avaliar a quantidade de alimento marcado presente no estômago e no intestino em intervalos pré-determinados de tempo, medindo-se a distância percorrida por este durante a cada intervalo (Silva et al, 2014). Apesar de ser de baixo custo e simples execução, tal metodologia implica na morte de grande número de animais. Como alternativa, foram desenvolvidas técnicas biomagnéticas utilizando material magnético incorporado ao alimento sólido podendo servir como método de análise do esvaziamento gástrico, trânsito intestinal e da contratilidade gastrintestinal *in vivo* (Dallagnol et al., 2020). Além de apresentar baixo custo, o método dispensa radiação ionizante e pode ser utilizada de forma repetida no mesmo animal (Quini et al., 2012).

Novos métodos não-invasivos para análise do esvaziamento de diferentes componentes de uma refeição mista (i.e., líquidos, semisólidos e sólidos) devem ser aprimorados afim de melhor compreender a motilidade do trato gastrintestinal. Neste contexto, destaca-se o teste respiratório com isótopo estável ^{13}C como alternativa útil à cintilografia, em especial ao evitar exposição à radiação (Liu et al., 2020). Originalmente o teste respiratório com carbono 13 (^{13}C) incorporado ao ácido octanóico permitiu a análise do esvaziamento gástrico de sólidos (Ghoos et al., 1993; Maes et al., 1998) e ao adicionar o isótopo ^{13}C ao acetato permitiu-se a avaliação do esvaziamento gástrico de líquidos e semi-sólidos (Braden et al., 1995), metodologia previamente validada quando contraposta a cintilografia (Hiele et al., 1992).

A técnica de esvaziamento gástrico por teste respiratório utiliza um marcador isotópico inerte na refeição teste. Após ser absorvido rapidamente no duodeno é metabolizado em nível hepático, passando então para a circulação sistêmica. Ao nível dos pulmões, o ^{13}C é eliminado no ar expirado, podendo ser detectado pois o mesmo se trata de isótopo incomum na natureza (Choi et al., 1997). Esses isótopos são quantificados mediante um espectrômetro infravermelho de isótopos. Assim, a coleta de ar expirado em tempos estipulados gera uma curva quantitativa de ^{13}C que

expressa indiretamente a curva de esvaziamento gástrico (Ghoos et al., 1993). Tal método apresenta inclusive vantagens sobre a radiocintilografia, ao usar equipamentos de menor custo, dispensar a imobilização animal (Demedts et al., 2013), além do teste poder ser repetido no mesmo animal diversas vezes.

A partir da avaliação de diversos parâmetros da função gastrointestinal fica claro que o TGI é intrinsecamente regulado através de uma complexa rede neural e hormonal. Conforme supracitado no texto, sabe-se existir hormônios (como a gastrina, a colecistocinina, a secretina, o peptídeo inibitório gástrico e a motilina) que são classicamente reconhecidos por sua ação direta na modulação gastrointestinal. Porém destaca-se que hormônios androgênicos endógenos – como a testosterona, o estrógeno e a progesterona – podem ter como potencial alvo a musculatura lisa gastrointestinal, com proeminente variações fisiológicas relacionadas ao sexo biológico do organismo (Rastelli et al., 2021). Entende-se ainda que, ante a escassez dos estudos e a contradição dos dados sobre os efeitos da atividade física na motilidade gastrointestinal, em especial no contexto do uso de esteróides anabolizantes sintético, aponta-se a necessidade de melhor elucidar seus potenciais efeitos em tecidos não-reprodutivos. Desta forma, testou-se neste estudo a hipótese de que o decanoato de nandrolona causa modificações morfofuncionais no trato gastrointestinal e o exercício físico de intensidade moderada pode modular o desenvolvimento de tais alterações.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar os efeitos do tratamento com decanoato de nandrolona associado à prática de exercício físico de intensidade moderada sobre parâmetros gastrintestinais em ratos.

2.2 Específicos

- Verificar a intensidade do protocolo de exercício físico adotado, mensurando os níveis séricos de lactato;
- Avaliar o peso corporal, consumo hídrico e consumo alimentar ao longo do protocolo experimental;
- Identificar as alterações no esvaziamento gástrico de sólido e líquido decorrentes do tratamento com nandrolona e exercício físico moderado;
- Avaliar o tônus gástrico e contratilidade gástrica *in vivo* em animais submetidos ao tratamento com nandrolona e exercício físico moderado;
- Avaliar o trânsito intestinal de líquido em animais submetidos ao tratamento com nandrolona e exercício físico moderado;
- Determinar, *in vitro*, a contratilidade gastrintestinal em animais submetidos ao tratamento com nandrolona e exercício físico moderado;
- Determinar a composição corporal através de bioimpedância dos animais submetidos ao tratamento com nandrolona e exercício físico moderado;
- Averiguar os parâmetros morfométricos das camadas mucosa e muscular do intestino delgado;
- Avaliar o peso úmido do coração, rins, fígado e baço;
- Avaliar o perfil bioquímico de proteínas totais, aspartato transaminase, alanina transaminase, fosfatase alcalina, creatinina, uréia, triglicérides, colesterol total e suas frações.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Animais

Obtivemos ratos machos da linhagem Wistar entre 270-330 g de peso junto ao Biotério Central da Universidade Federal do Ceará (UFC). Os animais foram mantidos em gaiolas de polietileno com maravalha, em condições temperatura (21 ± 4 °C), umidade (50 ± 10 %) e fotoperíodo (ciclo claro/escuro de 12 horas) controlados, com livre acesso à água e ração, exceto no período de jejum prévio necessário aos exames gastrintestinais. Nos processos cirúrgicos ou análises exigentes de sedação, aplicamos protocolo anestésico que consistiu na prévia administração intraperitoneal da combinação de 75 mg/kg de quetamina e 10 mg/kg xilazina. Na eutanásia, adotou-se a *overdose* anestésica (quetamina 300 mg/kg e xilazina 45 mg/kg, i. p.) seguida de exsanguinação para coleta de amostras de sangue. Todos os procedimentos experimentais estão de acordo com o Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da instituição (CEUA nº 3507130618) (Anexo I).

3.2 Grupos e delineamento experimental

Os animais foram distribuídos aleatoriamente nos seguintes grupos para cada ensaio experimental (I, II, III e IV):

- Controle Sedentário (CS): animais tratados com veículo e sem exercício físico;
- Controle Exercício (CE): animais tratados com veículo e submetidos ao exercício físico;
- Anabolizante Sedentário (AS): animais tratados com 5 mg/kg de decanoato de nandrolona e sem exercício físico;
- Anabolizante Exercício (AE): animais tratados com 5 mg/kg de decanoato de nandrolona e submetidos ao exercício físico.

Foram realizados quatro ensaios experimentais isolados para a obtenção dos seguintes parâmetros: esvaziamento gástrico de líquidos (ensaio I) e esvaziamento gástrico de sólidos (ensaio II) nos dias 0, 3, 7, 14, 28, 42 e 56 de acompanhamento, assim como contratilidade gastrintestinal *in vitro* (ensaio I), histologia gastrintestinal (II), complacência gástrica (ensaio III) e trânsito intestinal de líquido (IV) ao final do experimento. Para evitar a influência do jejum necessário aos registros de esvaziamento gástricos, os dados de peso corporal e ingesta alimentar e hídrica foram

contabilizados através dos ensaios III e IV (Figura 02).

Figura 02. Delimitação de procedimentos realizados em cada ensaio experimental.

Ensaio I	Ensaio II	Ensaio III	Ensaio IV
TCM (dias 0, 19, 40 e 54)	TCM (dias 0, 19, 40 e 54)	TCM (dias 0, 19 e 40)	TCM (dias 0, 19, 40 e 54)
EGL (dias 0, 3, 7, 14, 28, 42 e 56)	EGS (dias 0, 3, 7, 14, 28, 42 e 56)	Consumo alimentar e hídrico (diário)	Consumo alimentar e hídrico (diário)
Contratilidade in vitro	Coleta sorológica e tecidual	Peso e BIOIMP (dias 0, 3, 7, 14, 28, 42 e 55)	Trânsito intestinal
		Volume e pressão intragástricos	

TCM: teste de capacidade máxima; EGL: esvaziamento gástrico de líquido; EGS: esvaziamento gástrico de sólido; BIOIMP: composição corporal por bioimpedância. Fonte: autora.

3.3 Exercício físico de intensidade moderada

O protocolo adotado foi adaptado de Moreira e colaboradores (2013), visando aplicar exercício físico de intensidade moderada em ratos, que corresponde a 60% da capacidade máxima, mediante corrida em esteira ergométrica (Figura 03). Para o início das sessões de treinamento, foi necessário primeiro adaptar os animais à esteira e realizar o teste de esforço físico para determinar o limiar individual da velocidade de corrida.

3.3.1 Adaptação em esteira

Inicialmente, todos os animais foram expostos durante 5 minutos à esteira para a adaptação ao ambiente durante 3 dias, seguidos de 7 dias nos quais foram incentivados a caminhar sob velocidade de 6 m/min (Moreira et al, 2013). Esta etapa é fundamental para a habituação do animal ao equipamento, reduzindo assim o estresse durante as sessões de treinamento.

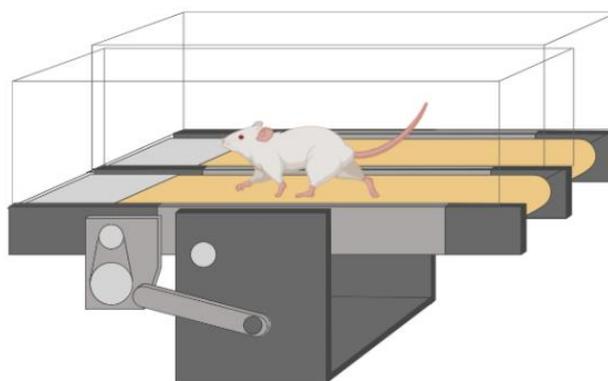
3.3.2 Teste de capacidade máxima

Após a adaptação, submetemos os animais ao teste de esforço físico colocando-os para correr na esteira, sem inclinação, com velocidade inicial em 6 m/min e gradualmente aumentada em 3 m/min a cada 3 minutos até à exaustão. A capacidade de cada animal ao exercício foi estimada pela distância total percorrida durante o teste e a velocidade máxima atingida serviu para estimar o limiar de 60%, considerado como exercício moderado (Moreira et al., 2013).

3.3.3. Exercício físico por corrida

As sessões de treinamento físico foram realizadas submetendo os animais à corrida em esteira ergométrica sem inclinação durante 60 min/dia, 5 dias por semana em um total de 8 semanas. Precedendo cada sessão era realizado o pré-aquecimento (*warm-up*) e ao final o período de recuperação (*cool-down*) do animal, durante 5 minutos à velocidade de 6 m/min. No final da terceira e sexta semana de treino, os animais dos grupos exercitados foram novamente submetidos à reavaliação do teste de capacidade máxima para o ajuste da intensidade da corrida. Os animais sedentários foram expostos à esteira, sob a velocidade de 6 m/min por 5 minutos uma vez por semana para manter suas habilidades de corrida (Moreira et al., 2013).

Figura 03. Representação esquemática da esteira ergométrica motorizada para ratos.

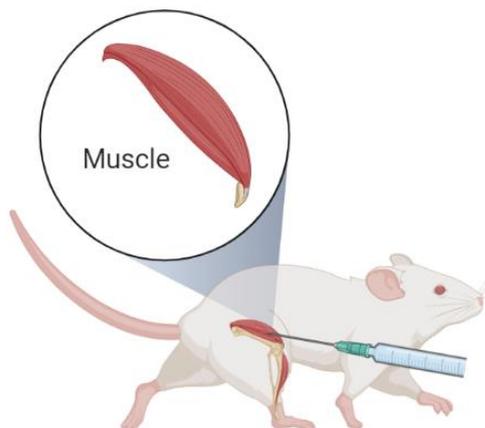


Criado em *BioRender.com*. Fonte: autora.

3.4 Tratamento com decanoato de nandrolona

Os animais dos grupos tratados com o decanoato de nandrolona (Deca-Durabolin®, Schering-Plough, Brasil) receberam o fármaco por via intramuscular (i.m.), duas vezes por semana durante as 8 semanas (totalizando semanalmente 10 mg/kg). Os animais dos grupos controle receberam somente o veículo (0,2 mL de óleo de amendoim) pela mesma via para mimetizar o estresse (Kurling et al., 2005; Chaves et al., 2006; Brasil et al., 2015) (Figura 04). A dose de decanoato de nandrolona adotada foi de 5 mg/kg, calculada segundo o peso, visando corresponder ao uso abusivo da substância em roedores e sendo amplamente suportada na literatura (Kurling et al., 2005; Kurling et al., 2008; Vieira et al., 2008; Brasil et al., 2015; Gomes et al., 2016). Tal dose equivale ao uso abusivo do decanoato de nandrolona administrada a atletas, cerca de 10 a 100 vezes maior que a margem terapêutica (Pope et al., 2013).

Figura 04. Representação esquemática da via de administração intramuscular do fármaco e seu respectivo veículo nos grupos estudados.



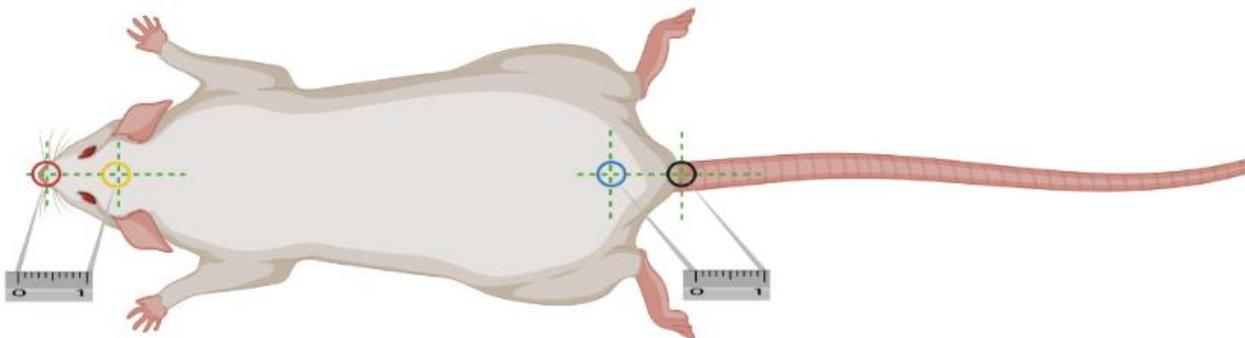
Criado em *BioRender.com*. Fonte: autora.

3.5 Análise do perfil de consumo e composição corporal

A massa corporal, ingesta hídrica e alimentar foram avaliados diariamente, no período da manhã (6:00-8:00), antecedendo os tratamentos e as sessões de treinamento. A partir daí foram calculados a média semanal do peso corporal e consumo de água e ração.

A avaliação da composição corporal dos animais foi realizada nos dias 0, 3, 7, 14, 28, 42, e 56 de tratamento mediante a técnica de espectroscopia de bioimpedância (Vet BIS1, ImpediMed), útil na avaliação da relação água/gordura corporal (Smith, Johnson e Nagy, 2009; Hu et al., 2012; Shen, et al., 2013). Inicialmente, os ratos foram pesados, anestesiados e colocados em contato numa superfície plana com abdome, membros superiores e inferiores ao lado do corpo e cauda estendida. Eletrodos e 4 agulhas foram inseridos de acordo com as instruções do fabricante, sendo conectados ao aparelho. O comprimento entre os eletrodos de agulha foi medido ao longo da linha média dorsal com uma fita métrica padrão (Figura 05). Após seleção dos parâmetros de medida adequados, a composição corporal é determinada através dos índices de água corporal total, líquido extracelular, líquido intracelular, massa livre de gordura, massa gorda e índice de massa corporal.

Figura 05. Disposição dos eletrodos para a avaliação da composição corporal de ratos por espectroscopia de bioimpedância tetra polar.



Criado em *BioRender.com*. Fonte: adaptado do manual Vet BIS1 (ImpedMed).

3.6 Avaliação do esvaziamento gástrico: método respiratório ^{13}C

O esvaziamento gástrico foi mensurado nos dias 0, 3, 7, 14, 28, 42 e 56 de tratamento após o período de jejum prévio de 12 horas.

3.6.1 Esvaziamento gástrico de líquidos pelo método indireto do acetato de sódio ^{13}C

Para a avaliar o esvaziamento gástrico de líquidos foi utilizada refeição teste obtida pela adição de 16 mg/kg de acetato de sódio ^{13}C a uma bebida achocolatada (Nescau® Prontinho, Nestlé Brasil), cuja composição nutricional é de 550kJ/200 ml (sendo 22 g de carboidratos, 4 g de proteínas, 3 g de gorduras totais, 0,9 g de fibra alimentar, e demais micronutrientes; Anexo 2), administrada via gavagem na dose 2,5 mL/kg (Uchida, Endo e Shimizu, 2005).

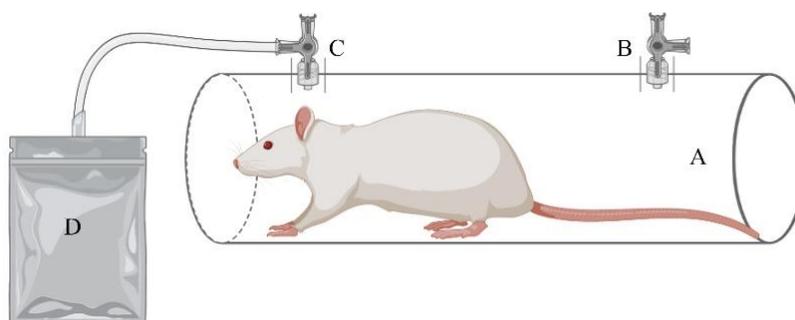
3.6.2 Esvaziamento gástrico de sólidos pelo método indireto do ácido octanóide ^{13}C

Para avaliar o esvaziamento gástrico de sólidos foi utilizada refeição teste produzida pela adição de 400 μg ácido octanóide ^{13}C em uma gema de ovo, 200 mL de leite desnatado, 184 g de farinha de trigo enriquecida com ferro e ácido fólico sem fermento, 10 g de açúcar cristal, 1 g de sal iodado e 5 g de fermento químico em pó. Essa mistura resulta em conteúdo calórico de 580 kJ/100 g (conteúdo calórico de 72% de carboidratos, 10% de lipídios e 18% de proteínas). A refeição teste foi cozida e dividida em pedaços de 1 g, contendo 1 μg de ácido octanóide ^{13}C , e ofertada ao animal para a ingestão espontânea (Schoonjans et al., 2002).

3.6.3 Obtenção e análise dos dados

Após receberem as respectivas refeições testes, cada animal foi alocado em câmara cilíndrica de acrílico (12,6 cm de diâmetro por 20 cm de comprimento, totalizando um volume de 2500 mL) (Figura 06), contendo uma válvula de entrada e outra válvula de saída de ar, conectada a tubos de borracha de 2 mm. Mediante a válvula de entrada passa um fluxo contínuo de ar por um tempo de 5 minutos, sendo a seguir fechadas as válvulas de entrada e saída de ar, em prol da acumulação na câmara do CO₂ expirado por cada animal. Decorridos o tempo ideal de coleta da amostra (1 min 30 seg de acordo com experimento previamente realizado), a válvula de saída foi aberta e uma amostra de ar aspirada via tubulação de saída mediante um comunicador, enchendo a bolsa de coleta de amostra. Após o fechamento da válvula de saída, a válvula de entrada é aberta por novo período de tempo de modo a renovar o ar da câmara (tempo determinado em experimento piloto).

Figura 06. Representação esquemática da câmara acrílica cilíndrica (a) confeccionada com uma válvula de entrada (b) e outra de saída (c) para a coleta de amostras do ar expirado (d).



Criado em *BioRender.com*. Fonte: autora.

Este processo era repetido em intervalos pré-determinados de tempo para a obtenção de 13 amostras de ar durante 4 horas quando do esvaziamento de refeições sólidas e de 1,5 hora para refeições líquidas. A seguir, amostras de ar das bolsas de coletas foram injetadas no analisador de isótopos por infravermelho IRIS 2 - Infra Red Isotope Analyser (Wagner Analyser Technik, Alemanha) (Figura 07) para a determinação da concentração de ¹³C e cálculo do esvaziamento gástrico (Schoonjans et al., 2002). Após quantificação das amostras de ar expirado, os valores obtidos foram apresentados como o $\Delta^{13}\text{CO}_2$ (‰). A partir da curva de esvaziamento gástrico (ppm/min) foram analisados a concentração máxima (C_{max}; ppm), o tempo necessário para atingir a concentração máxima (T_{max}; min) e a área sob a curva de esvaziamento (AUC; ppm/min²) além de calcular o momento estatístico, definido como

o tempo em minutos no qual a quantidade média de material marcado foi expelido do estômago, ponderado pela área sob a curva de esvaziamento (Podczeck et al., 1995).

Figura 07. Analisador de isótopos por infravermelho Wagner Analysern Technik para a quantificação da curva de concentração de ^{13}C .



Fonte: autora.

3.7 Avaliação da pressão e volume intragástrico

Para monitoração da pressão intragástrica, foi realizado cirurgia prévia para inserção de cateteres-balão no fundo do estômago dos ratos. Os cateteres-balão foram confeccionados a partir de sonda uretral n° 6 sendo fixado na extremidade livre um balão de látex (produzido a partir do dedo médio de luva cirúrgica, tamanho médio, com 3 cm de comprimento e capacidade máxima de volume de 50 mL) (Jucá et al., 2011).

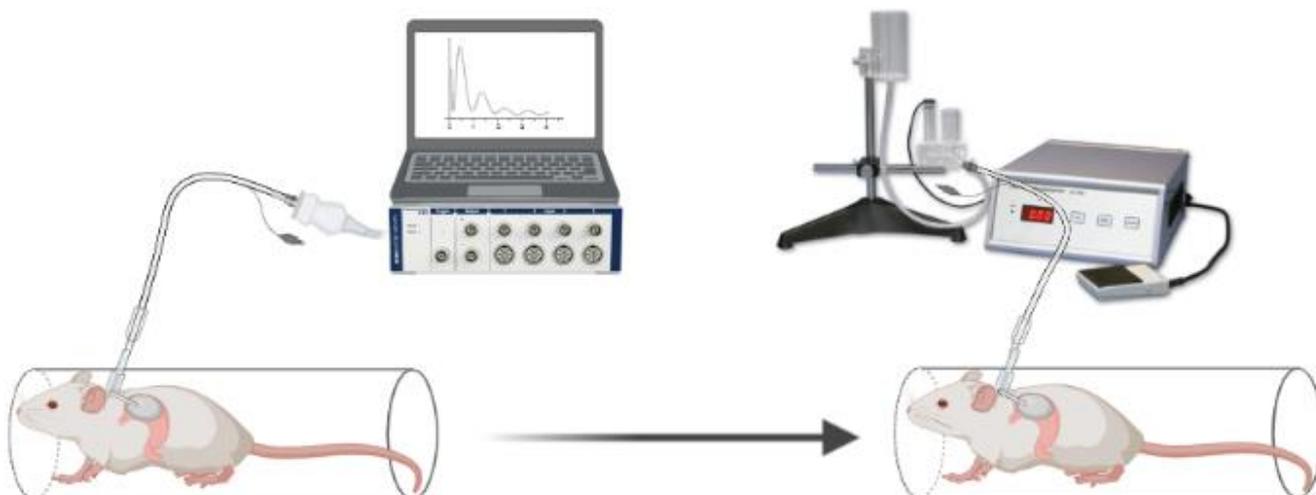
Após jejum de 12 horas com livre acesso a soro de reidratação oral, os animais foram submetidos sob anestesia a laparotomia para exposição do estômago, por onde foi inserido o cateter intragástrico via fístula no fundo gástrico e sendo ali fixado mediante sutura em fundo de saco. Já a extremidade livre do cateter (devidamente ocluída com mandril) foi guiada por via subcutânea com auxílio de trocater até a região inter-escapular onde foi exposta e fixada. Na sequência, os animais receberam ampicilina (200 mg/kg, i.m) e foram mantidos por 24 horas em gaiolas individuais com livre acesso à solução de reidratação oral.

Após 24 horas, foi realizado o registro da pressão intragástrica ao se preencher o balão com 3 mL de salina e conectá-lo a extremidade livre do cateter balão a um transdutor de pressão com o auxílio de um conector de três vias (“three way”). Assim sendo, obtivemos a monitoração contínua da motilidade gástrica em ratos acordados (Young e Deutsch, 1980; Raybould et al., 1987; Lu e Owyang, 1995), sendo as

variações contínuas na pressão intraluminal (em mmHg) captadas pelo transdutor e registradas pelo computador com auxílio do software de aquisição de dados (LabChart v 8; ADInstruments). A partir deste registro foi possível determinar os valores de frequência de contração (contrações gástricas por min) e amplitude das contrações (diferença entre o vale [contração tônica] e o pico de contração [contração fásica]) (Nozu et al., 2014).

Após o registro da pressão intragástrica, conectamos a extremidade livre do cateter-balão à um reservatório dito barostato (2,5 cm de diâmetro interno, 30 mL de volume) preenchido com solução iônica padrão (45 mg% NaCl e 0.3 mL% de Imbeebient, BBC Ornano, Comerio, Italia), criando sistema de vasos comunicantes cujas variações no volume eram registradas continuamente via pletismômetro (modelo 7140, Ugo Basille, Comerio, Italy), sendo consideradas como volume intragástrico (Jucá et al., 2011). Após o equilíbrio do sistema, o estômago foi progressivamente distendido a cada 5 minutos ao elevarmos consecutivamente a altura do nível líquido do reservatório para 4, 8, e 12 cm acima do processo xifóide do animal (Figura 08).

Figura 08. Representação esquemática do de registro da pressão intragástrica pelo Sistema LabChart e do volume gástrico por pletismômetro em ratos acordados.



Criado em *BioRender.com*. Fonte: autora.

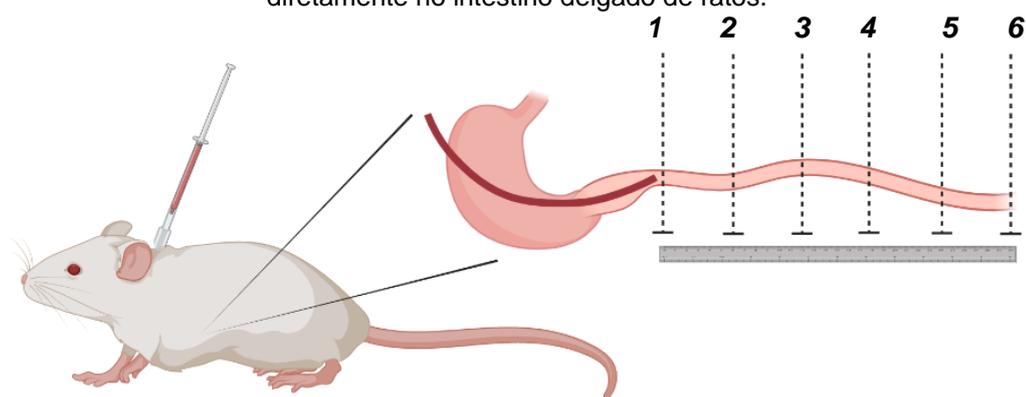
3.8 Avaliação do trânsito intestinal pelo método da diluição de corante

Para a avaliação do trânsito intestinal de líquido utilizamos a técnica de diluição do corante vermelho fenol, descrito inicialmente por Reynell & Spray (1956). Inicialmente, os animais foram submetidos, sob anestesia, a laparotomia seguida da criação de uma fístula no fundo do estômago. A seguir, introduzimos via fístula gástrica uma cânula de silicone nº 10 com 0,3 mm de diâmetro cuja extremidade foi

posicionada 1 cm após o piloro e ali fixada com o auxílio de sutura em tabaqueira na parede gástrica. A extremidade livre do tubo foi guiada subcutaneamente até a região cervical onde foi exteriorizada e ali fixada mediante sutura, de modo a permitir a posterior administração da refeição teste diretamente no duodeno. Na sequência, os animais foram tratados com ampicilina (200 mg/kg, i.m) e mantidos por 24 horas em gaiolas individuais com livre acesso à solução de reidratação oral (Silva et al., 2014).

Inicialmente, os ratos foram mantidos em gaiolas individuais sob jejum por 12 horas mas com livre acesso à solução de reidratação oral. Por ocasião do teste, os ratos foram alimentados via sonda duodenal com 1 mL da refeição teste (solução glicosada a 5% contendo vermelho fenol 0,75 mg/mL) (Figura 09). Após um período pós-prandial de 10 minutos, os ratos foram eutanasiados e submetidos à laparotomia, seguida de ligaduras obstrutivas no piloro e na junção gastroesofágica. Após a exérese das vísceras, o estômago e o intestino delgado foram estendidos delicadamente sobre uma prancha. O intestino delgado foi então dividido em 5 segmentos consecutivos de igual tamanho (~ 20 cm), sendo cada um deles numerado de 2 a 6. O primeiro segmento é constituído pelo estômago e o primeiro centímetro do intestino delgado, onde se encontra a extremidade interna da sonda (Reynell & Spray, 1956; Silva et al., 2014).

Figura 09. Representação esquemática do protocolo de diluição do corante vermelho fenol injetado diretamente no intestino delgado de ratos.



Criado em *BioRender.com*. Fonte: autora.

Cada segmento foi então colocado em proveta graduada contendo 100 mL de NaOH 0,1N para medição do volume. A seguir, tais segmentos foram fragmentados e homogeneizados com auxílio de um processador, sendo retirados 10 mL do sobrenadante para centrifugação (2800 rpm por 10 min). A seguir, 5 mL do sobrenadante foi coletado e adicionado à 0,5 mL de solução de ácido tricloroacético

(TCA - 20%) a fim de precipitar as proteínas teciduais. Após nova centrifugação (2800 rpm por 20 minutos), foi retirado 3 mL do sobrenadante sendo então adicionado 4 mL de NaOH 0,5N para determinação afinal da absorvância (ABS) sob comprimento de onda de 560nm pelo método colorimétrico com o auxílio de leitor de ELISA (Asys Expert Plus, Biochrom, Brasil). Assim, determinou-se a massa de vermelho fenol existente em cada segmento (massa = concentração x volume). Ao final, a retenção fracional de cada segmento foi multiplicada pelo respectivo número identificador os quais somados entre si geraram o índice de trânsito intestinal, aos moldes do centro de massa de um objeto (Sallam et al., 2007; Silva et al., 2014).

Retenção Segmento X = Absorvância em X / Σ Absorvância em todos os segmentos

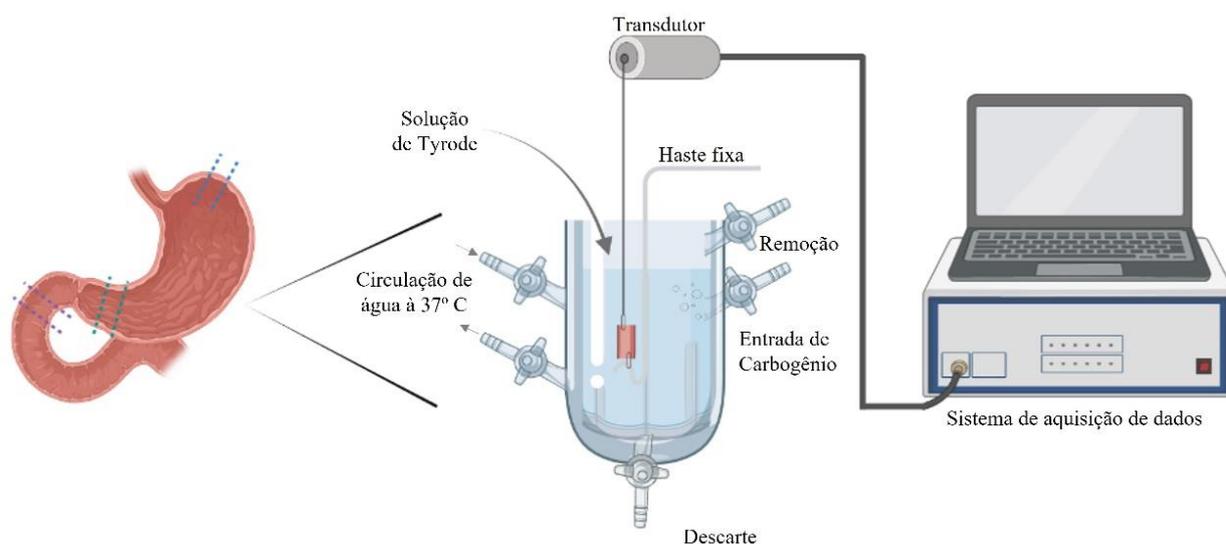
3.9 Avaliação *in vitro* da contratilidade gastrointestinal

As contrações *in vitro* de diferentes segmentos do trato gastrointestinal foram avaliadas após a estímulos excitatórios mediante a adição de soluções concentradas de cloreto de potássio (KCl) e carbacol (CCh). Adicionalmente, foi avaliada a resposta inibitória da musculatura lisa gastrointestinal mediante a adição de isoproterenol (ISO) e nitroprussiato de sódio (NPS). Inicialmente, os animais foram submetidos a eutanásia seguida de laparotomia para a remoção do estômago e intestino delgado, sendo cuidadosamente imersos em uma placa de Petri contendo solução de Tyrode modificada (136,0 mM de NaCl; 5,0 mM de KCl; 0,98 mM de MgCl₂; 2,0 mM de CaCl₂; 0,36 mM de NaH₂PO₄; 11,9 mM de NaHCO₃; 5,5 mM de glicose). Após a dissecação, foram obtidas tiras de 1 cm de comprimento das regiões do antro e fundo gástricos e do duodeno. Cada tira gastrointestinal foi colocada em um banho contendo 5 mL de solução de Tyrode, mantida à 37 °C, pH 7,4, sob mistura gasosa (5% de CO₂ em O₂), e suspensa longitudinalmente por um fio de seda conectado a um transdutor de força (MLT0201, AD Instruments, Bella Vista, NSW, Austrália), sendo aplicado uma tensão muscular de repouso inicial de 1 g (Oliveira et al., 2017).

A tensão muscular isométrica foi registrada continuamente com o auxílio de um sistema digital de aquisição de dados (LabChart v 8; ADInstruments) (Figura 10). Na sequência foi permitido um intervalo de 30 min para o equilíbrio do sistema, sendo descartados registros de segmentos sem atividade espontânea. A avaliação do tônus basal foi realizada para quantificar o aumento ou redução do tônus em relação à uma resposta controle frente a adição sucessiva de KCl 60 mM. Por fim, as tiras

gastrointestinais foram expostas às concentrações crescentes das substâncias supracitadas (KCl, CCh, ISO e NPS) para a construção de curva concentração-efeito, obtida a partir do valor assintótico registrado a cada adição (Silva et al., 2014; Oliveira et al., 2017).

Figura 10. Representação esquemática do protocolo de contratilidade *in vitro* de tiras isoladas de fundo, antro e duodeno de ratos.



Adaptado de Criado em *BioRender.com*. Fonte: autora.

3.10 Morfometria intestinal

Ao final do estudo, os animais foram submetidos à anestesia seguida de eutanásia para a coleta de amostras de duodeno destinados ao processamento histológico. Os segmentos intestinais foram cuidadosamente lavados com solução salina NaCl 0,9% e, em seguida, imersos em solução de formalina tamponada a 4% durante 24 horas. Na sequência, foram submetidos a rotina de desidratação em álcool seriado, diafanização em xilol e inclusão em parafina. Os cortes histológicos transversais foram obtidos com espessura de 4 μm com o auxílio de um micrótomo, fixados em lâminas, desparafinizados e corados com Hematoxilina e Eosina (HE) (Belém et al., 2015).

Após a coloração das lâminas com HE, foram feitas imagens utilizando uma câmera de alta-resolução (Moticam, Kowloon, Hong Kong) acoplada a um microscópio ótico (Zeiss, Oberkochen, Alemanha), com o auxílio das objetiva de 10x e 40x para a aquisição das fotos. Para a quantificação morfométrica utilizou-se o analisador de imagens ImagePro Plus (Media Cybernetics, Inc., Rockville, EUA) para avaliar a espessura das túnicas mucosa e muscular do duodeno, quantificando-se a altura de

vilosidades, profundidade de cripta, espessura da muscular da mucosa, da mucosa total, da submucosa, do músculo longitudinal, do músculo circular e da túnica muscular total (Belém et al., 2015; Lima et al., 2017; Guimarães et al., 2021).

3.11 Determinação do perfil bioquímico

Imediatamente após a sessão de exercício físico no 53^o dia, foi coletado do plexo retro-orbital 1 mL de sangue em tubo fluoretado para a dosagem das concentrações de lactato, servindo como biomarcador para avaliar a intensidade do treinamento físico (Voltarelli et al., 2002).

Ao final dos experimentos, amostras do sangue total foram coletas por exsanguinação em tubo livre de anticoagulante, submetido à centrifugação à 3500 rpm para obtenção de amostras de soro, armazenados à -80 °C para posterior determinação bioquímica. Após o processamento das amostras, elas foram descongeladas em temperatura ambiente (22 ± 2 °C) e os níveis de creatinina, uréia, proteínas totais, aspartato transaminase (AST), alanina transaminase (ALT), e fosfatase alcalina (FA), triglicerídios (TG), colesterol total (CT), lipoproteínas de densidade alta (HDL) e de densidade baixa (LDL) foram mensurados por método colorimétrico utilizando kits Liquiform® (Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil), cada qual seguindo os procedimentos determinados pelo fabricante, com o auxílio de leitor de ELISA (Asys Expert Plus, Biochrom, Brasil). Para determinação das lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL) foi utilizada a fórmula $[VLDL = TG/5]$, (Friedwald et al., 1972; Young, 2000).

3.12 Peso de órgãos

Após a eutanásia (quetamina 300 mg/Kg plus xilazina 45 mg/Kg, i.p.), foram retirados o coração, o fígado, os rins e o baço sendo os mesmos pesados para a obtenção do Peso Relativo (PR) mediante a relação $PR = [(peso\ do\ órgão/peso\ final) \times 100]$, na qual o peso final corresponde àquele obtido no último dia de tratamento. O resultado foi expresso em gramas/100 gramas (g/100g) (Lana et al., 2006).

3.13 Análise estatística

Todos os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk para avaliar a dispersão das amostras. A análise de variâncias ANOVA seguida de pós-teste de Tukey ou o teste de Kruskal-Wallis seguido do pós-teste de Dunn foram apropriadamente aplicados a depender da normalidade dos dados, sendo as diferença

consideradas estatisticamente significativa quando $p < 0,05$. Os resultados estão expressos como média \pm erro padrão da média (EP) ou como mediana e intervalo interquartil (25-75%) usando o GraphPad Prism Software (San Diego, Califórnia, EUA).

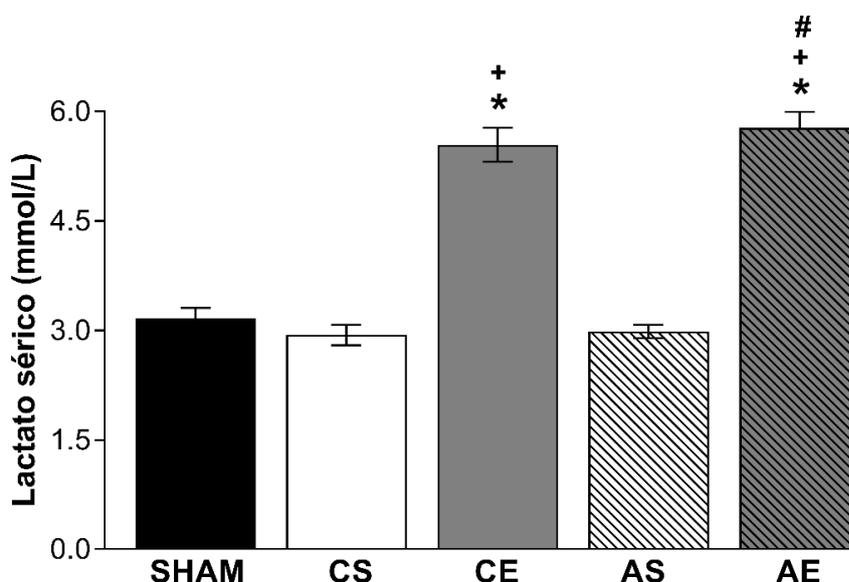
Foram aceitos como critérios para comparações biologicamente relevantes o efeito isolado de cada uma das intervenções estudadas (exercício físico e tratamento com o anabolizante), assim como sua ação combinada frente à condição fisiológica basal (animais controle sedentário).

4. RESULTADOS

4.1 Validação do protocolo de exercício físico moderado utilizando esteira motorizada.

Com o intuito de verificar o limiar de intensidade do modelo adotado de exercício físico utilizamos a determinação sérica de lactato pós-exercício. Foi possível notar a elevação do lactato sanguíneo nos animais submetidos ao treinamento por corrida (CE $5,2 \pm 0,1$ mmol/L e AE $5,1 \pm 0,2$ mmol/L) em relação aos respectivos grupos sedentários (CS $2,9 \pm 0,2$ mmol/L e AS $2,9 \pm 0,1$ mmol/L) ($p < 0,001$) (Figura 11), refletindo em um acúmulo de aproximadamente 80% em relação aos níveis basais. Visando ainda assegurar que a exposição do grupo Controle Sedentário à esteira motorizada não causaria repercussões metabólicas referentes à prática física, dosamos o lactato sérico também no grupo SHAM ($n=5$), cujos animais não receberam nenhum tipo de intervenção (sem administração do veículo nem ambientalizados na esteira). A inexistência de diferença significativa nas concentrações de lactato sérico entre os grupos CS e SHAM ($2,9 \pm 0,2$ mmol/L vs. $3,1 \pm 0,1$ mmol/L) demonstra que ambos os grupos apresentam condições semelhantes de esforço físico.

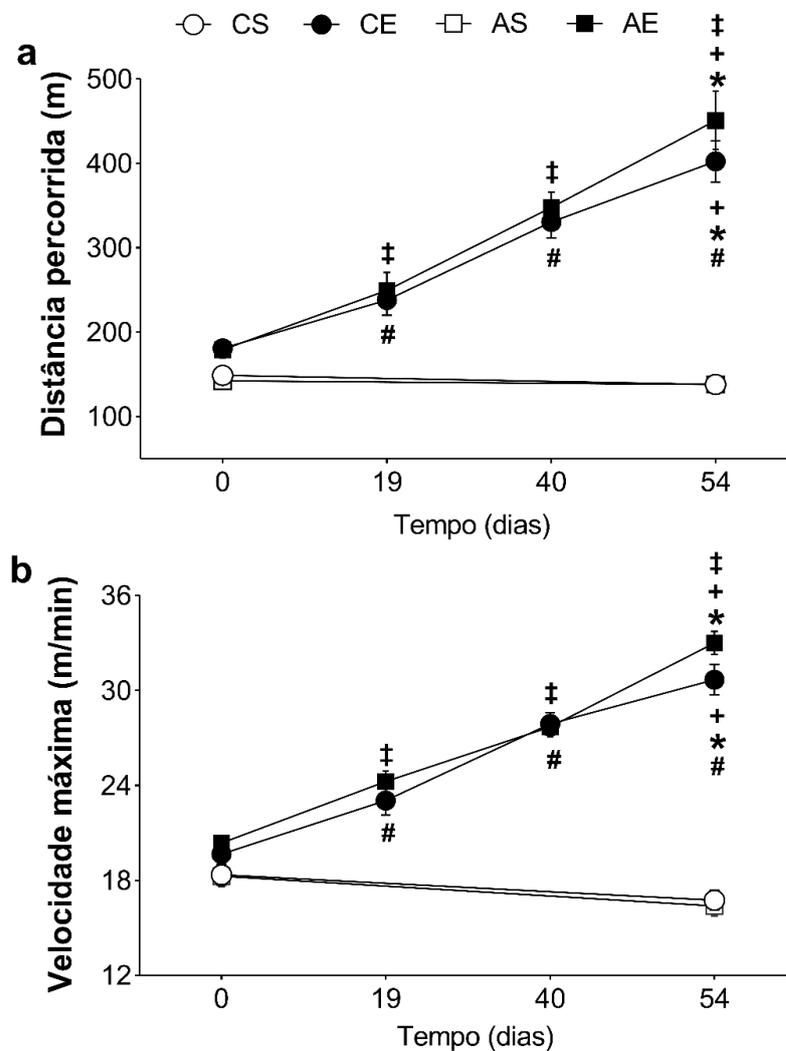
Figura 11. Níveis séricos de lactato de animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona e submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.



SHAM – sem intervenções experimentais; CS – controle sedentário, CE – controle exercício, AS – anabolizante sedentário, AE – anabolizante exercício. Dados analisados por ANOVA (Tukey) e expressos em média \pm EP ($n=6$): * $p < 0,001$ vs. controle sedentário; + $p < 0,001$ vs. sham; # $p < 0,001$ vs. ao anabolizante sedentário.

O teste de capacidade máxima foi realizado para monitorar a performance física dos animais treinados, demonstrando-se assim a melhora gradual no condicionamento físico nos grupos CE e AE visto pelo aumento da velocidade máxima atingida ($30,7 \pm 0,9$ m/min e $33,0 \pm 0,7$ m/min vs. $16,7 \pm 0,6$ m/min e $16,3 \pm 0,6$ m/min; $p < 0,0001$) e da distância percorrida durante o teste ($402,4 \pm 24,6$ m e $450,9 \pm 34,5$ m vs. $138,1 \pm 9,8$ m e $138,2 \pm 9,7$ m; $p < 0,0001$) em relação aos animais sedentários (CS e AS) (Figura 12).

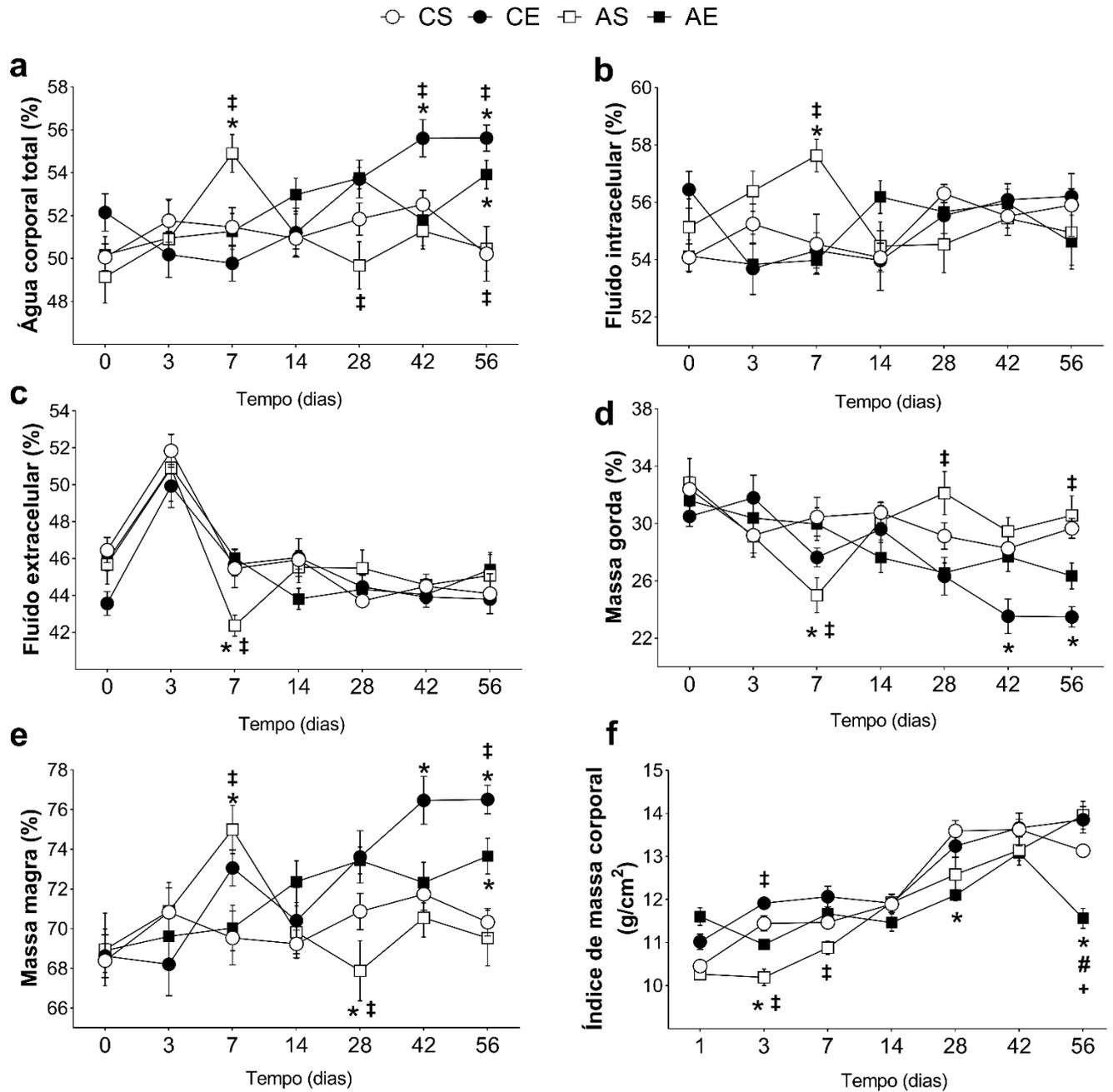
Figura 12. Performance física no teste de capacidade máxima de animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona e submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.



CS – controle sedentário, CE – controle exercício, AS – anabolizante sedentário, AE – anabolizante exercício. Dados analisados por ANOVA (Tukey) e expressos em média \pm EP (n=10/ensaio): * $p < 0,001$ vs. controle sedentário; + $p < 0,001$ vs. anabolizante sedentário; # $p < 0,001$ vs. controle exercício no dia 0; ‡ $p < 0,001$ vs. anabolizante exercício no dia 0.

Ao avaliar a composição corporal dos animais ao longo do estudo, nota-se a influencia do tratamento com DN e o exercício físico na relação água/gordura depender do tempo de tratamento/treinamento (Figura 13). No grupo AS, o tratamento com nandrolona levou à diminuição transiente de massa gorda ($25,0 \pm 1,2\%$; $p < 0,01$), aumento da massa livre de gordura ($75,0 \pm 1,2\%$; $p < 0,05$) e da água corporal total ($54,9 \pm 0,9\%$; $p < 0,05$) devido ao maior conteúdo de água intracelular ($57,6 \pm 0,5\%$; $p < 0,05$) e menor conteúdo de água extracelular ($42,3 \pm 0,5\%$; $p < 0,05$) no dia 7 do protocolo experimental, quando comparados aos respectivos valores nos animais CS ($30,4 \pm 1,3\%$; $69,5 \pm 1,3\%$; $50,9 \pm 0,9\%$; $54,5 \pm 1,0\%$; $45,5 \pm 1,0\%$), porém tais efeitos agudos são revertidos ao longo dos dias de tratamento. Já o exercício físico crônico foi eficaz em reduzir a massa gorda (CE $26,3 \pm 1,3\%$ e AE $26,5 \pm 0,6\%$) e aumentar a massa magra (CE $73,6 \pm 1,3\%$ e AE $73,4 \pm 1,9\%$) de maneira mais consistente a partir do dia 28 em comparação aos animais CS ($67,8 \pm 1,5\%$, $p < 0,01$ e $p < 0,05$ respectivamente), principalmente no grupo CE. Ao fim dos 56 dias de acompanhamento, o exercício físico isoladamente aumentou o teor de água corporal (CE $56,0 \pm 0,5\%$ vs. CS $50,4 \pm 1,1\%$; $p < 0,001$), assim como causou aumento expressivo na massa magra ($76,5 \pm 0,7\%$) associado à redução da massa gorda em comparação aos animais sedentários (CS $68,8 \pm 1,5\%$ e AS $68,3 \pm 1,4\%$, $p < 0,001$). Quando calculado o índice de massa corporal (IMC), vemos aumento do IMC no grupo CE no dia 03 de acompanhamento ($11,91 \pm 0,11$) quando comparados à animais AE ($10,96 \pm 0,10$; $p < 0,001$). Já o tratamento com a nandrolona reduziu agudamente o IMC em animais sedentários (AS *dia 03* $10,19 \pm 0,19$ e *dia 07* $10,88 \pm 0,15$) e cronicamente em animais exercitados (AE *dia 28* $12,10 \pm 0,12$ e AE *dia 56* $13,59 \pm 0,24$).

Figura 13. Composição corporal dos animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada, avaliada nos dias 0, 3, 7, 14, 28, 42 e 56 do protocolo experimental.



CS – controle sedentário, CE – controle exercício, AS – anabolizante sedentário, AE – anabolizante exercício. Dados analisados por ANOVA (Tukey) e expressos em média±EP (n=7): * $p < 0,05$ vs. controle sedentário; # $p < 0,05$ vs. controle exercício; + $p < 0,01$ vs. anabolizante sedentário; ‡ $p < 0,05$ vs. anabolizante exercício.

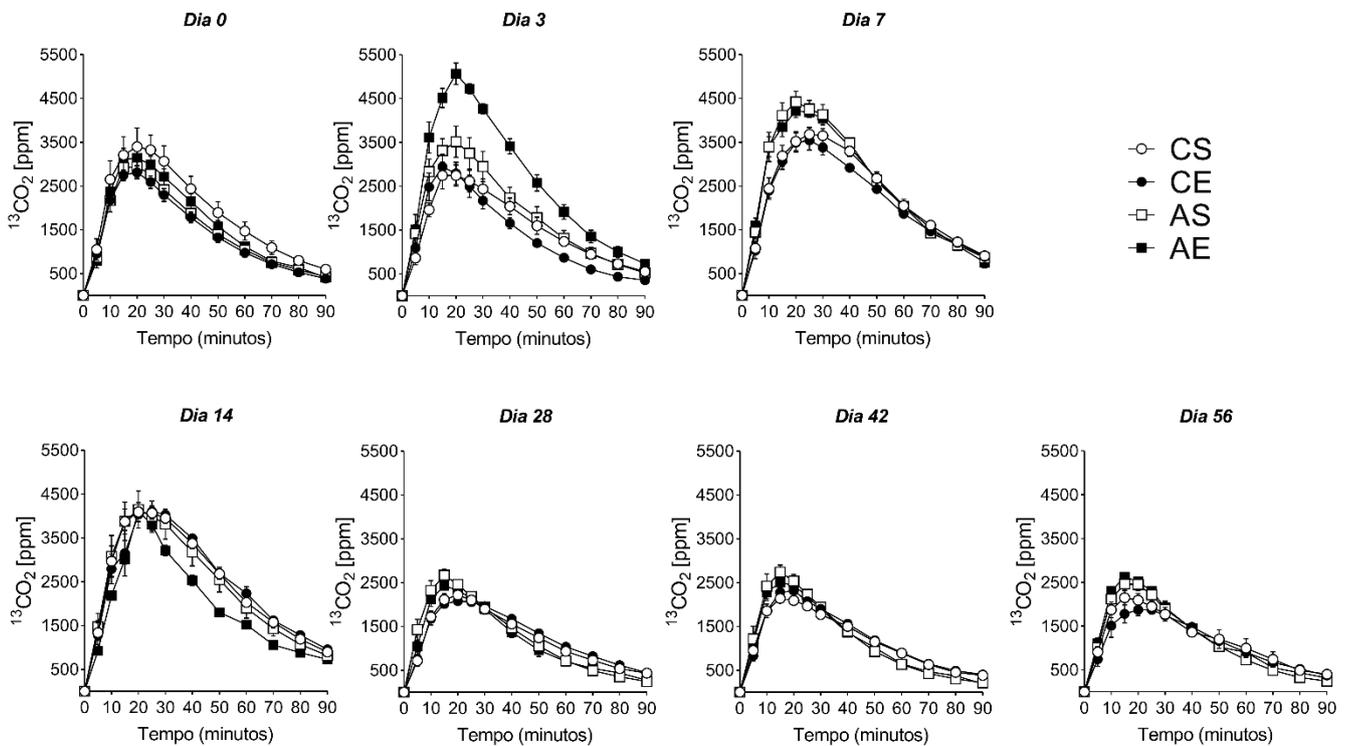
4.2 Efeitos do decanoato de nandrolona associado ao exercício físico sobre o esvaziamento gástrico de refeições líquida e sólida.

As figuras 14-16 mostram os dados referentes à taxa de esvaziamento gástrico de refeição líquida (EGL) por $^{13}\text{CO}_2$. É possível observar no dia 0 (prévio ao tratamento e início das sessões de treinamento) todos os grupos experimentais apresentarem curva de EGL estatisticamente iguais, configurando a homogeneidade no padrão de esvaziamento gástrico antes das intervenções (Figura 14). Ao analisar os parâmetros brutos de Cmax e Tmax das curvas em cada um dos dias de avaliação (3, 7, 14, 28, 42 e 56) destaca-se que no dia 3 do protocolo experimental o pico máximo da curva de $^{13}\text{CO}_2$ (Figura 15c) ocorrer mais precocemente no grupo CE, alteração esta revertida ao longo do tempo. Enquanto isso, os animais AE mostraram maior liberação de $^{13}\text{CO}_2$ (Figura 15b) na primeira semana de experimento (dias 3 e 7) em comparação aos animais controles, e a partir do 28 o aumento da concentração máxima se repetir de maneira consistente. Para sumarizar o comportamento das curvas quantificou-se o tempo médio de esvaziamento gástrico mediante o cálculo do momento estatístico, demonstrando o exercício físico moderado ter acelerado temporariamente o esvaziamento gástrico de líquidos em 11,1% no grupo CE no dia 3 ($33,43 \pm 0,92$ min) em comparação aos animais controle sedentários ($37,69 \pm 0,34$ min) ($p < 0,05$). No dia 28 do protocolo experimental, o EGL acelerou em aproximadamente 13% para ambos os grupos tratados com a nandrolona (AS $32,1 \pm 0,7$ min e AE $33,26 \pm 1,0$ min) em relação aos animais que receberam o veículo (CS $37,16 \pm 1,0$ min e CE $38,23 \pm 0,7$ min) ($p < 0,01$), assim permanecendo mais rápido até o final do acompanhamento dos grupos (Figura 16).

As figuras 17-19 apresentam os dados quantificados do esvaziamento gástrico de uma refeição sólida (EGS) avaliada via $^{13}\text{CO}_2$. Através do item 17 nota-se no início do ensaio (dia 0) todos os grupos experimentais apresentavam-se estatisticamente homogêneos na curva de liberação do isótopo marcado. A partir da análise da Cmax atingida, evidencia-se a nandrolona em animais sedentários aumentar a liberação de $^{13}\text{CO}_2$ no dia 3 ($441,7 \pm 37,9$ $^{13}\text{CO}_2$ [ppm]) em relação ao grupo AE ($223,0 \pm 16,1$ $^{13}\text{CO}_2$ [ppm]) ($p < 0,001$) (Figura 18b), sem mudanças significativas no Tmax. Sob o cálculo do momento estatístico (Figura 19), destaca-se que tanto o tratamento com nandrolona (AS $90,9 \pm 3,8$ min) quanto o exercício físico (CE $98,9 \pm 3,4$ min) isoladamente aceleraram o EGS no dia 3 em comparação aos níveis do grupo CS, ($113,6 \pm 5,2$ min) ($p < 0,001$ e $p < 0,05$, respectivamente), reduzindo em 19,5% e em

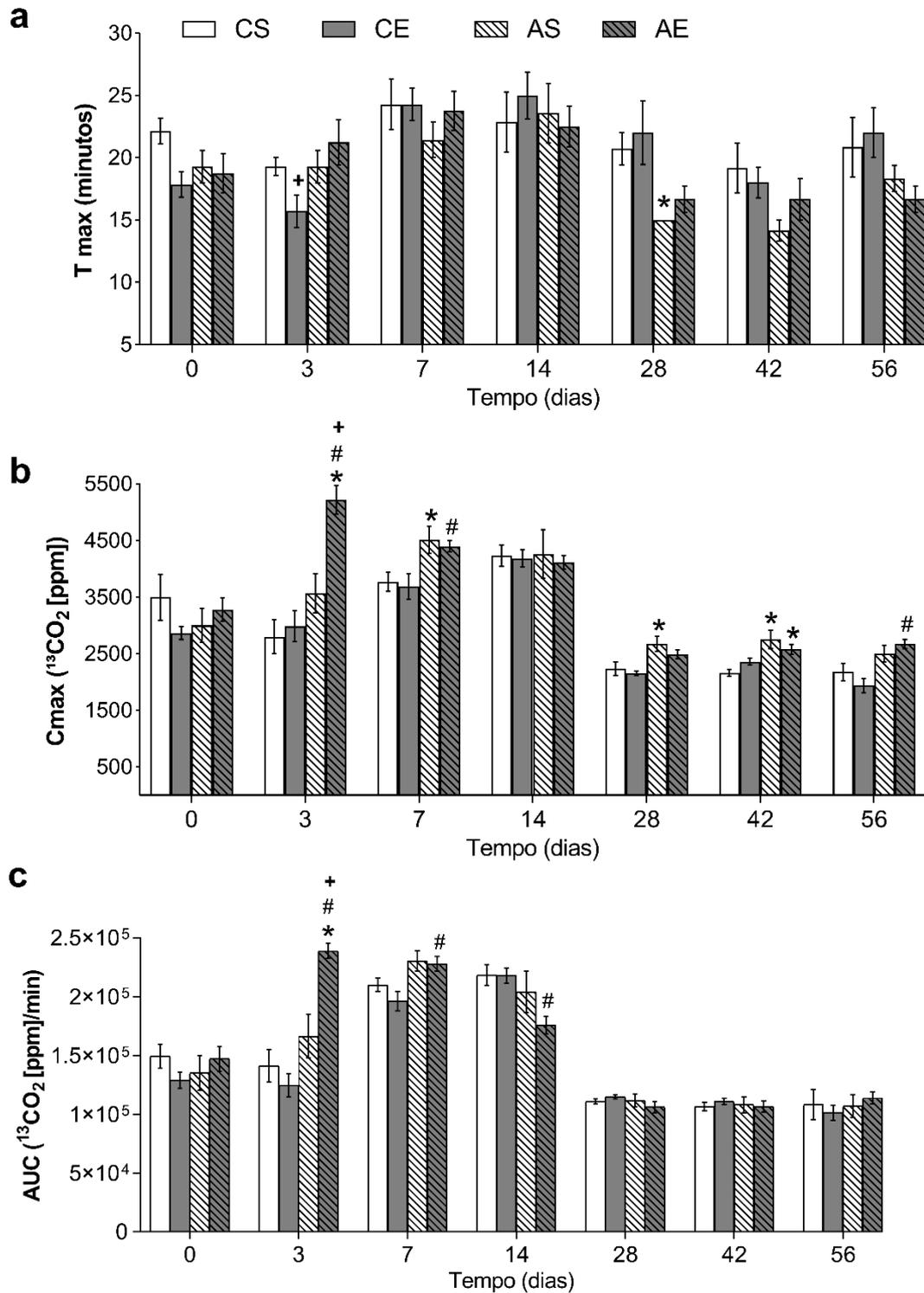
12,4% o tempo de saída da refeição do estômago, respectivamente. Com a evolução do protocolo, vemos o EGS ligeiramente acelerado no dia 14 no grupo AS ($91,1 \pm 4,6$ min) em comparação aos animais exercitados tratados com o decanoato de nandrolona ($109,5 \pm 4,5$ min) ($p < 0,05$) e, ao final do experimento, ambos os grupos apresentam o esvaziamento de sólidos mais rápido (AS $85,0 \pm 3,3$ min e AE $92,3 \pm 3,9$ min) comparado ao CS ($112,0 \pm 4,8$ min) ($p < 0,001$ e $p < 0,05$, respectivamente), sendo o EGS 24,1% mais rápido grupo AS e 17,5% no grupo AE.

Figura 14. Curvas representativas do perfil do esvaziamento gástrico de uma refeição-teste líquida realizados nos dias 0, 3, 7, 14, 28, 42 e 56 do protocolo experimental, obtidas a partir do teste do $^{13}\text{CO}_2$ expirado.



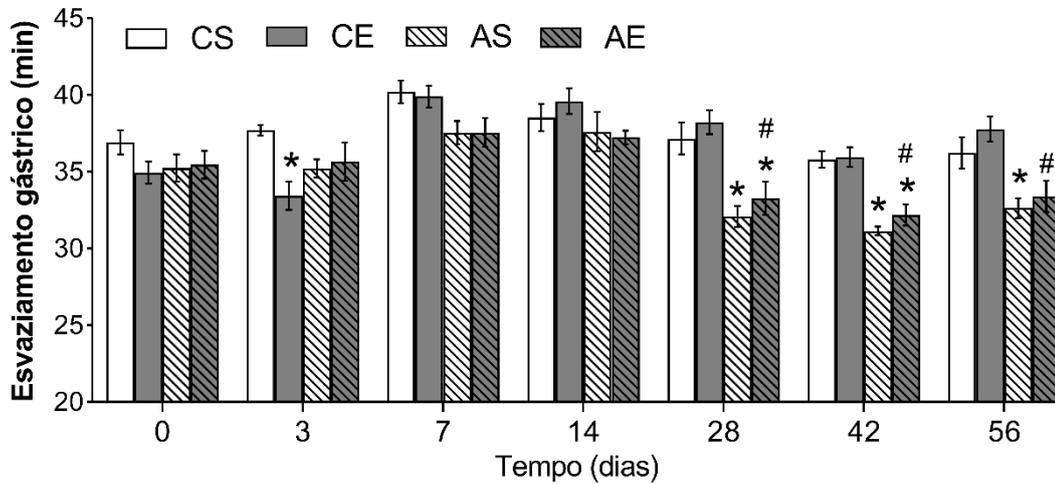
CS – controle sedentário, CE – controle exercício, AS – anabolizante sedentário, AE – anabolizante exercício.

Figura 15. Quantificação de $^{13}\text{CO}_2$ expirado de uma refeição-teste líquida dos animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada, avaliado nos dias 0, 3, 7, 14, 28, 42 e 56 do protocolo experimental.



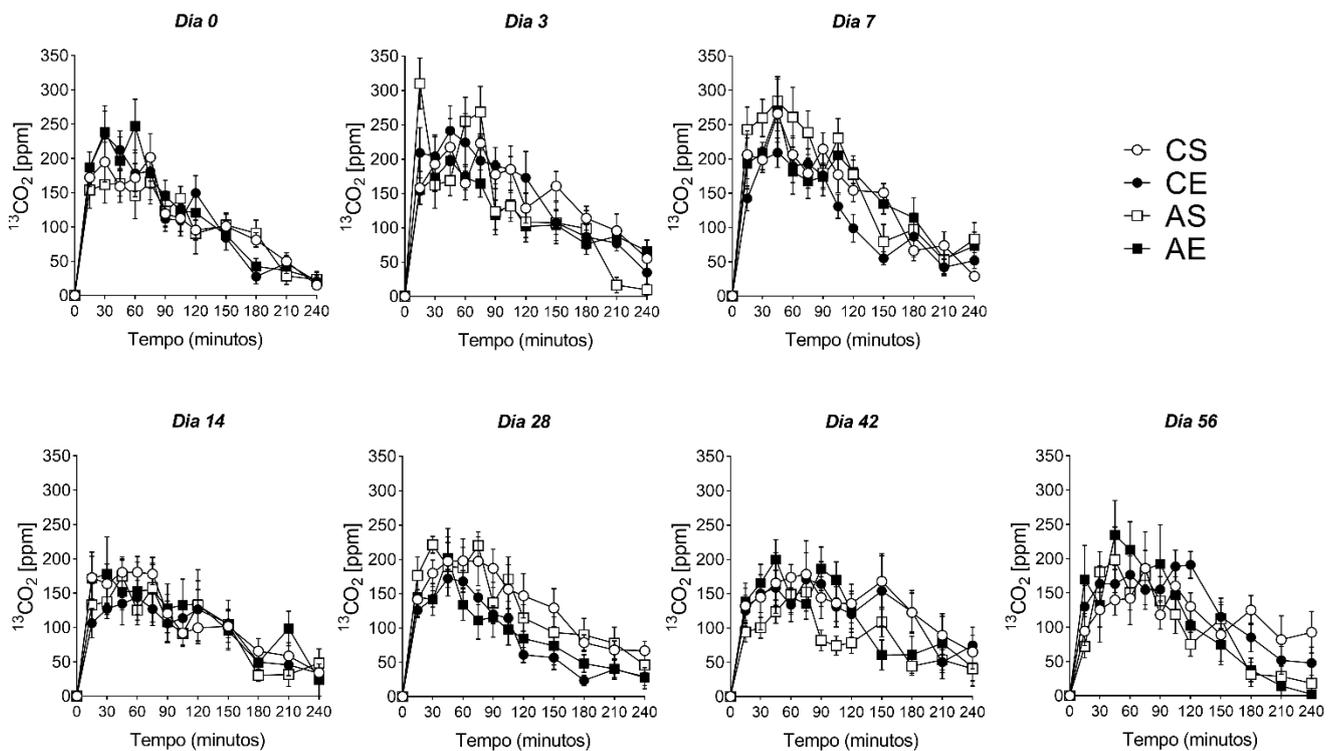
CS – controle sedentário, CE – controle exercício, AS – anabolizante sedentário, AE – anabolizante exercício. Dados analisados por ANOVA (Tukey) e expressos em média±EP (n=7): * $p < 0,05$ vs. controle sedentário; # $p < 0,05$ vs. controle exercício; + $p < 0,05$ vs. anabolizante sedentário.

Figura 16. Esvaziamento gástrico de uma refeição-teste líquida dos animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada, avaliado nos dias 0, 3, 7, 14, 28, 42 e 56 do protocolo experimental.



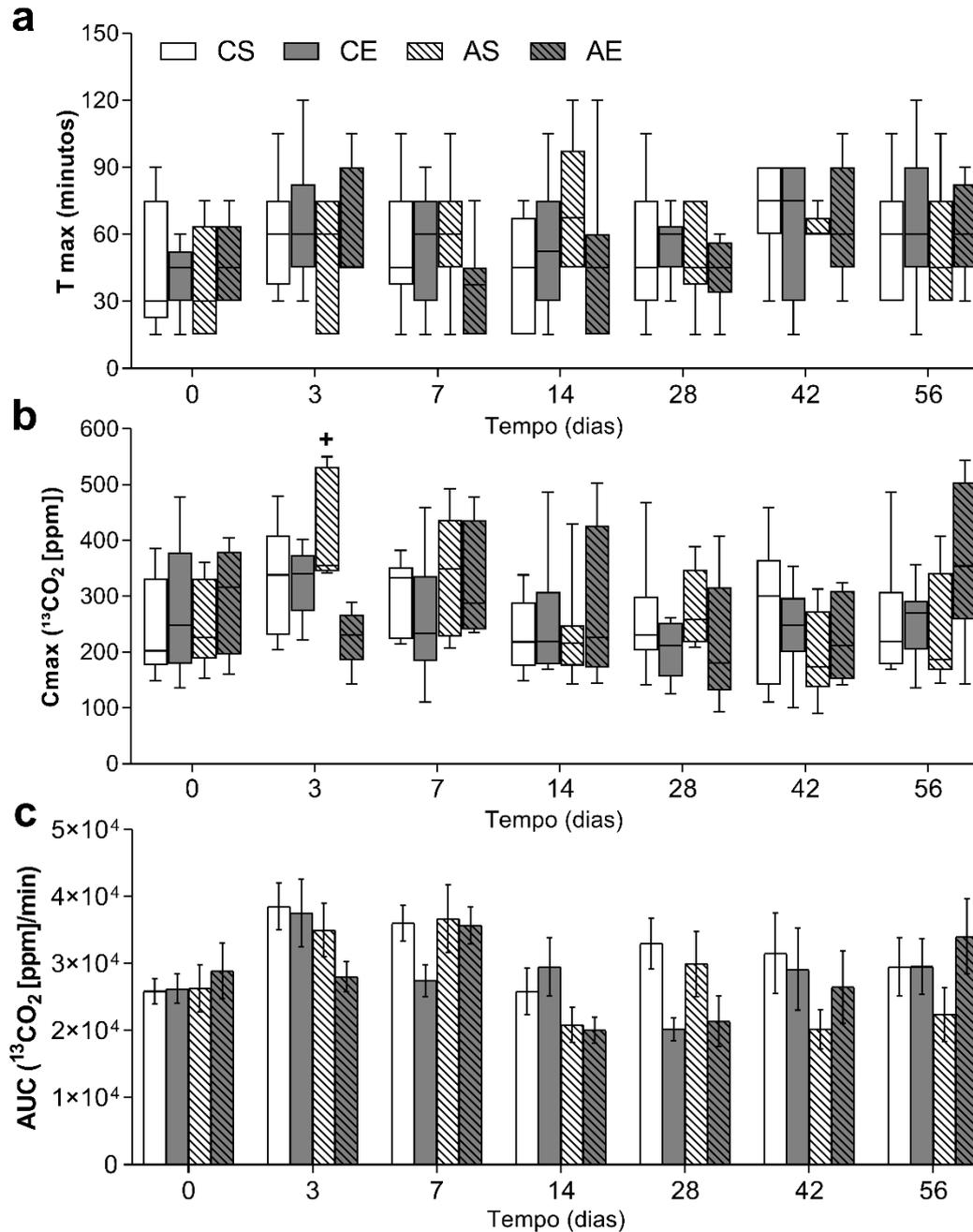
CS – controle sedentário, CE – controle exercício, AS – anabolizante sedentário, AE – anabolizante exercício. Dados analisados por ANOVA (Tukey) e expressos em média±EP (n=7): * $p < 0,05$ vs. controle sedentário; # $p < 0,05$ vs. controle exercício.

Figura 17. Curvas representativas do perfil do esvaziamento gástrico de uma refeição-teste sólida realizados nos dias 0, 3, 7, 14, 28, 42 e 56 do protocolo experimental, obtidas a partir do teste do $^{13}\text{CO}_2$ expirado.



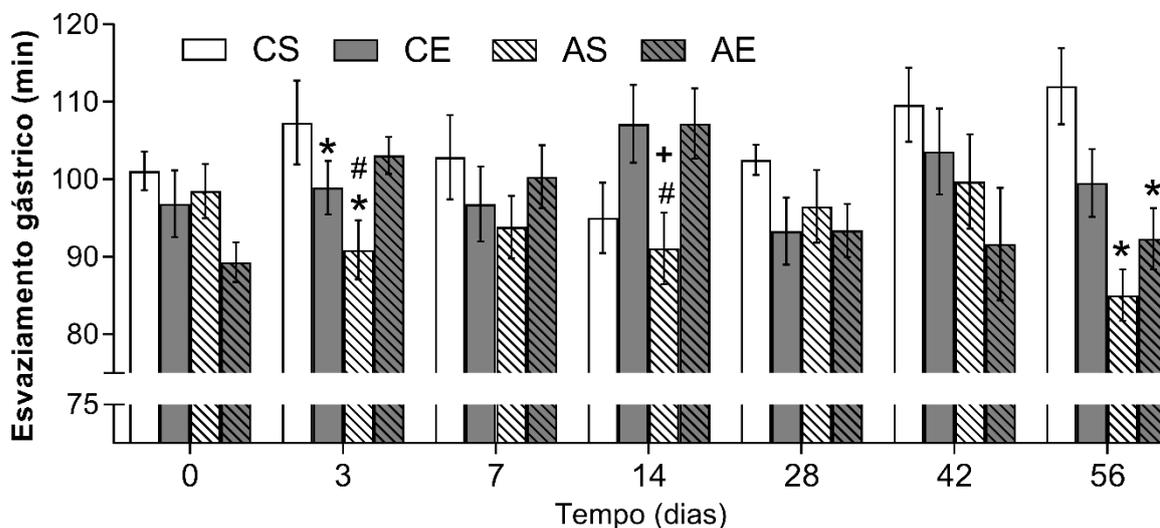
CS – controle sedentário, CE – controle exercício, AS – anabolizante sedentário, AE – anabolizante exercício.

Figura 18. Quantificação de $^{13}\text{CO}_2$ expirado de refeição-teste sólida dos animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada, avaliados nos dias 0, 3, 7, 14, 28, 42 e 56 do protocolo experimental.



CS – controle sedentário, CE – controle exercício, AS – anabolizante sedentário, AE – anabolizante exercício. Dados analisados por ANOVA (Tukey) e expressos em média \pm EP ou analisados por Kruskal-Wallis (Dunn) e expressos em mediana e interquartil (25;75); + $p < 0,05$ vs. *anabolizante exercício*.

Figura 19. Esvaziamento gástrico de refeição-teste sólida dos animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada, avaliados nos dias 0, 3, 7, 14, 28, 42 e 56 do protocolo experimental.



CS – controle sedentário, CE – controle exercício, AS – anabolizante sedentário, AE – anabolizante exercício. Dados analisados por ANOVA (Tukey) e expressos em média±EP (n=7): * $p < 0,05$ vs. controle sedentário; # $p < 0,05$ vs. controle exercício; + $p < 0,05$ vs. anabolizante exercício.

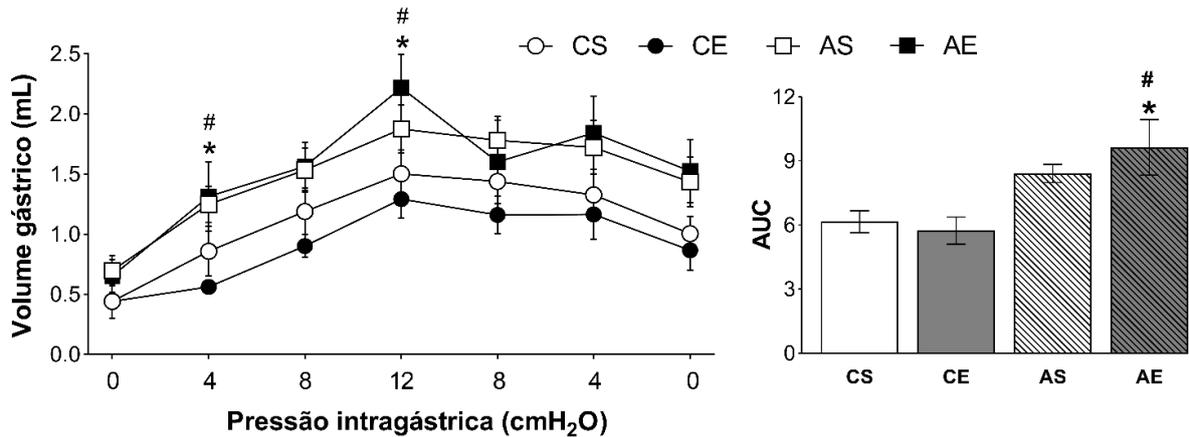
4.3 Efeitos fisiológicos do protocolo experimental sobre a complacência gástrica e o trânsito intestinal.

Na tentativa de elucidar quais vias fisiológicas poderiam estar relacionadas com a alteração no padrão de esvaziamento do estômago analisamos a pressão e volume intragástrico através da implantação de um cateter-balão intraluminal. Desta forma, na figura 20 nota-se maior distensibilidade do estômago no grupo exercitado tratado com nandrolona, demonstrado pelo aumento do volume intragástrico (AUC AE $9,6 \pm 1,3$ vs. CS $5,7 \pm 0,6$; $p < 0,05$), o que representa 1,7 vezes o volume distendido.

Com o monitoramento da pressão intraluminal observamos mudanças significantes nas curvas de pressão intragástrica em todos os grupos que receberam alguma intervenção (CE, AS e AE), quando comparados à animais controle sedentários, conforme ilustrado pela figura 21. Sob análise mais detalhada do registro de pressão, nota-se tais alterações estarem interligadas às contrações gástricas notavelmente mais intensas (CE $30,7 \pm 1,4$ mmHg e AE $31,6 \pm 1,2$ mmHg; respectivamente $p < 0,0001$, e $p < 0,0001$) nos grupos exercitados, com aumento de $\approx 730\%$ na amplitude das contrações. Por outro lado, nos animais sedentários tratados com o anabolizante (AS $7,7 \pm 0,4$ mmHg; $p < 0,001$), com contrações 2 vezes mais forte

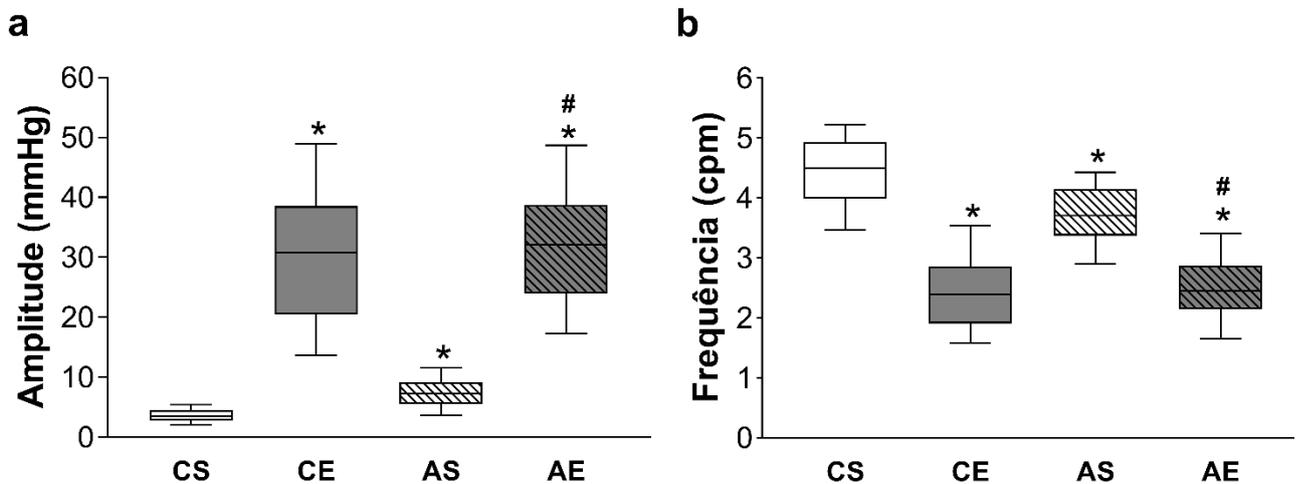
em comparação ao grupo CS ($3,7 \pm 0,1$ mmHg). Porém os mesmos grupos mostraram redução de 17,7% à 53,3% na frequência das contrações gástricas registradas através do cateter-balão (CE $2,4 \pm 0,07$ cpm; AS $3,7 \pm 0,06$; e AE $2,5 \pm 0,07$ cpm; $p < 0,001$ vs. CS $4,5 \pm 0,07$ cpm).

Figura 20. Volume intragástrico dos animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.



CS – controle sedentário, CE – controle exercício, AS – anabolizante sedentário, AE – anabolizante exercício. Dados analisados por ANOVA (Tukey) e expressos em média \pm EP (n=6): * $p < 0,05$ vs. controle sedentário; # $p < 0,05$ vs. controle exercício.

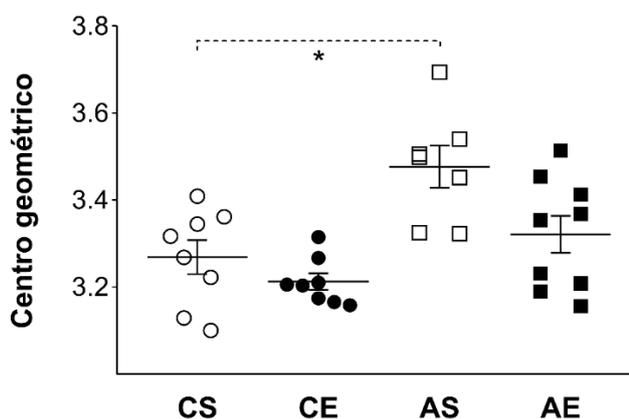
Figura 21. Variações na (a) amplitude (mmHg) e (b) frequência (contrações/min) das contrações gástricas dos animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.



CS – controle sedentário, CE – controle exercício, AS – anabolizante sedentário, AE – anabolizante exercício. Dados analisados por Kruskal-Wallis (Dunn) e expressos em mediana e interquartil (25;75) (n=6): * $p < 0,01$ vs. controle sedentário; # $p < 0,01$ vs. anabolizante sedentário.

A figura 22 mostra que o grupo AS teve o deslocamento do corante acelerado ao longo dos segmentos intestinais demonstrado pela elevação significativa do centro geométrico de massa ($3,4\pm 0,04$) em comparação ao grupo CS ($3,2\pm 0,03$; $p<0,001$)

Figura 22. Centro geométrico do trânsito intestinal em animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.

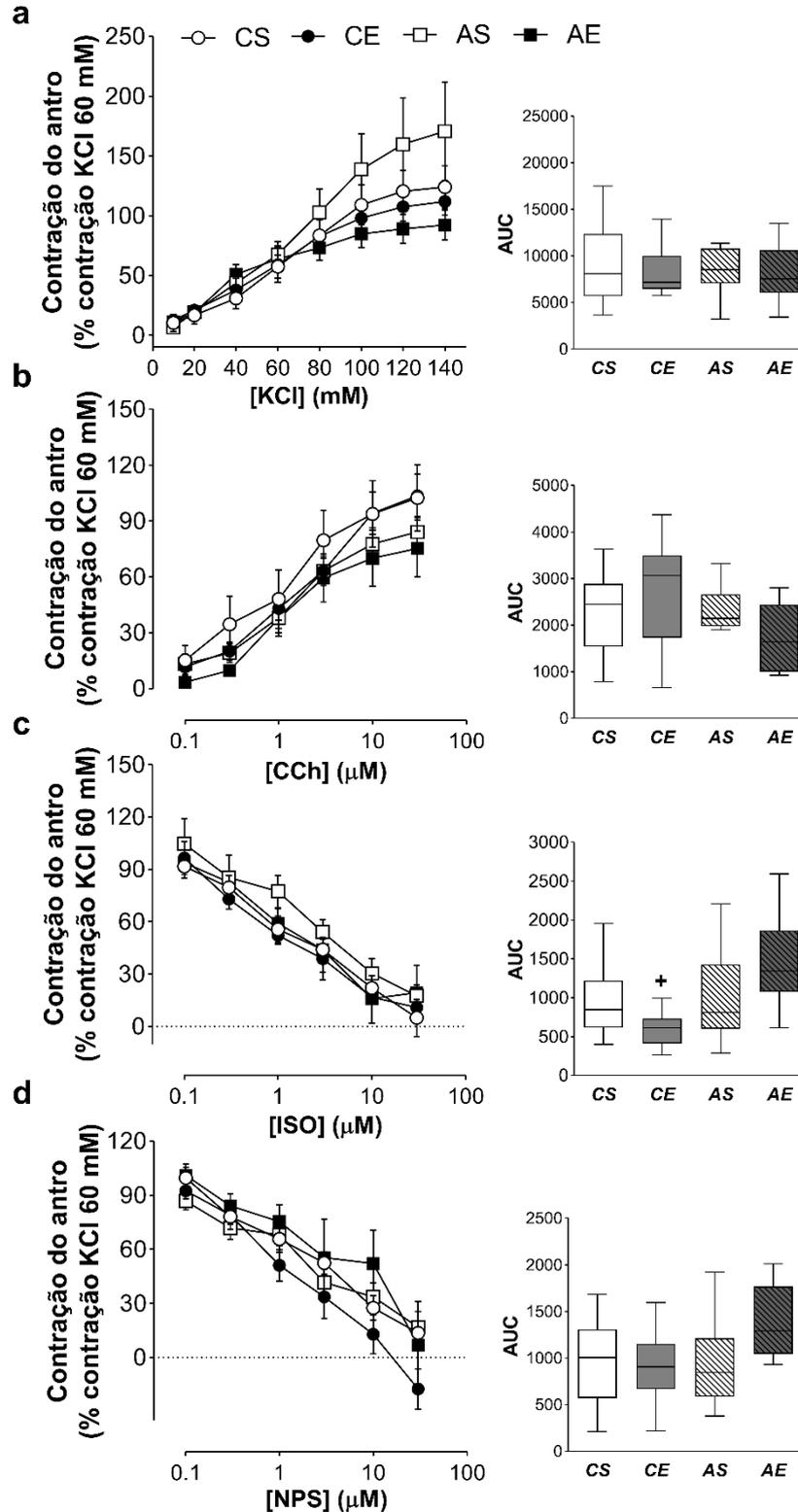


CS – controle sedentário, CE – controle exercício, AS – anabolizante sedentário, AE – anabolizante exercício. Dados analisados por ANOVA (Tukey) e expressos em média±EP: * $p<0,01$ vs. controle sedentário.

4.4 Resposta contrátil *in vitro* de tiras gastrintestinais após o tratamento com decanoato de nandrolona associado ao exercício físico.

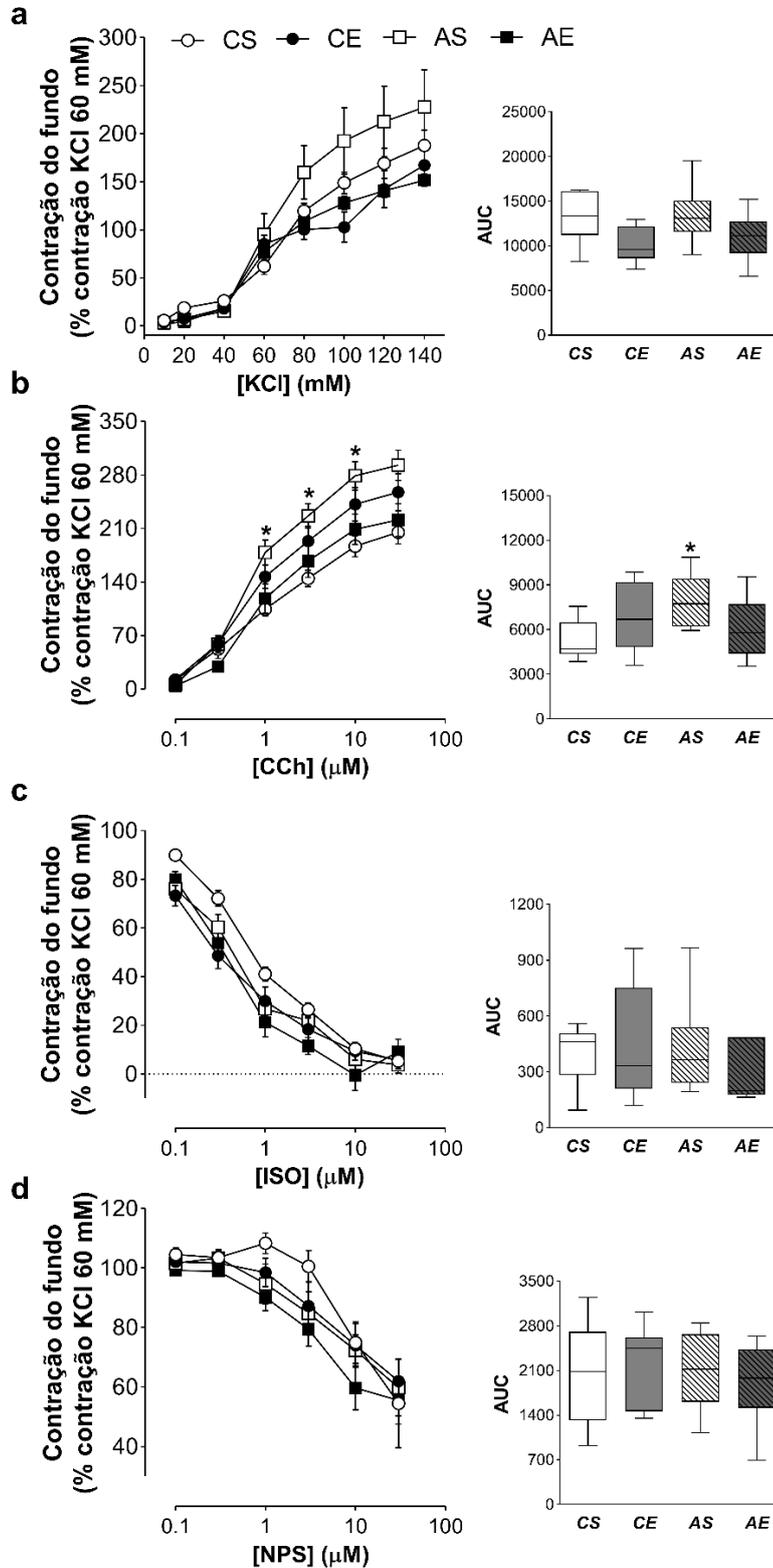
Para averiguar se os efeitos fisiológicos observados no esvaziamento gástrico, complacência do estômago e trânsito intestinal estavam vinculados à alterações contráteis da musculatur lisa, submetemos tiras isolados de fundo, antro e duodeno à concentrações crescentes de fármacos contracturantes e relaxantes, conforme figuras 23-25. Assim, observamos que os animais sedentários tratados com nandrolona tiveram maior responsividade *in vitro* ao agonista muscarínico carbacol nas tiras de fundo (AUC: 7979 ± 535) (Figura 24b) e duodeno (AUC: 2724 ± 162) (Figura 25b), em comparação ao grupo CS (AUC: 5391 ± 387 e 2059 ± 65 , respectivamente; $p<0,05$ e $p<0,01$). Nesses animais é notável ainda maior responsividade ao relaxamento duodenal via óxido nítrico, demonstrado pela redução da área sob a curva de contração frente à adição de ao nitroprossiato de sódio (AUC: 1111 ± 118 vs. CS 1679 ± 57) (Figura 25d). Ademais, o grupo de animais controle submetidos ao exercício físico teve aumento discreto do relaxamento por isoproterenol nas tiras de antro gástrico (AUC: $635,8\pm 85,75$) em relação ao animais exercitados que receberam a nandrolona (AUC: $1442\pm 158,4$; $p<0,01$) (Figura 23c).

Figura 23. Contratilidade *in vitro* de tiras isoladas de antro gástrico após adição de concentrações crescentes de KCl (a), CCh (b), ISO (c) e NPS (d) dos animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.



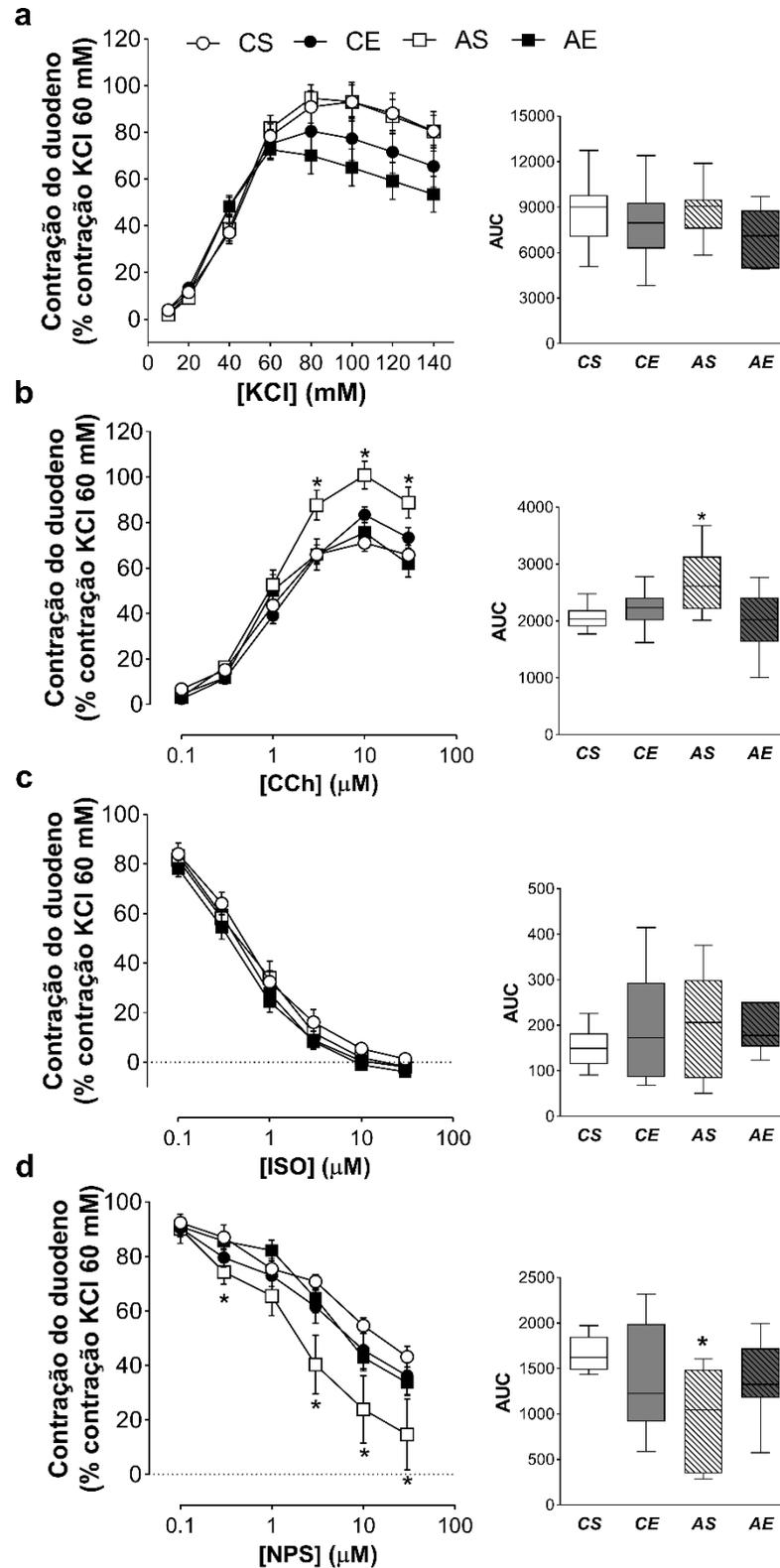
CS – controle sedentário, CE – controle exercício, AS – anabolizante sedentário, AE – anabolizante exercício. Dados analisados por Kruskal-Wallis (Dunn) e expressos em mediana e interquartil (25;75) (n = 8): + $p < 0,01$ vs. anabolizante exercício.

Figura 24. Contratilidade *in vitro* de tiras isoladas de fundo gástrico após adição de concentrações crescentes de KCl (a), CCh (b), ISO (c) e NPS (d) dos animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.



CS – controle sedentário, CE – controle exercício, AS – anabolizante sedentário, AE – anabolizante exercício. Dados analisados por Kruskal-Wallis (Dunn) e expressos em mediana e interquartil (25;75) (n = 8): * $p < 0,05$ vs. controle sedentário.

Figura 25. Contratilidade *in vitro* de tiras isoladas de duodeno após adição de concentrações crescentes de KCl (a), CCh (b), ISO (c) e NPS (d) dos animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.

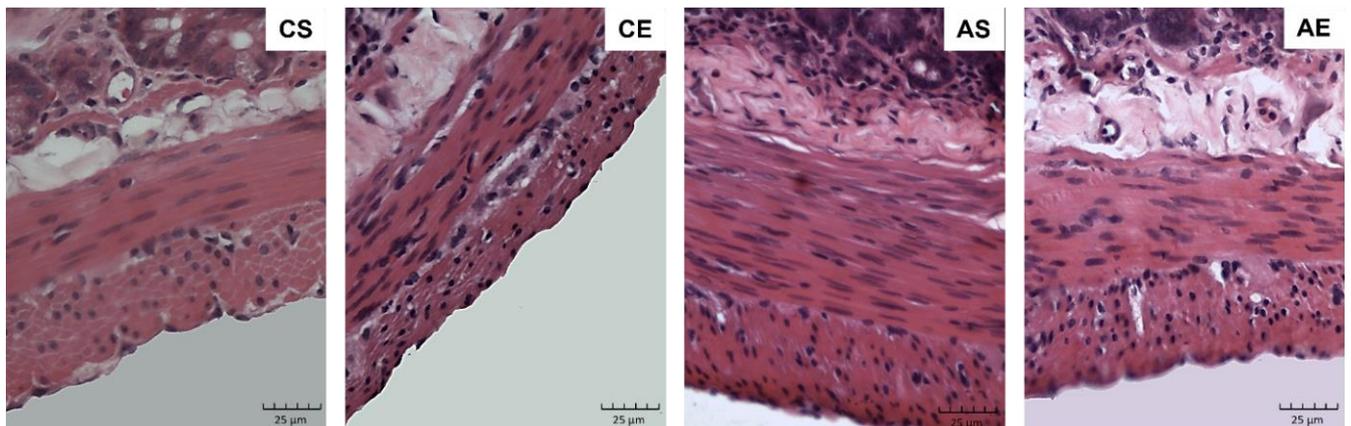


CS – controle sedentário, CE – controle exercício, AS – anabolizante sedentário, AE – anabolizante exercício. Dados analisados por Kruskal-Wallis (Dunn) e expressos em mediana e interquartil (25;75) (n = 8): * $p < 0,05$ vs. *controle sedentário*.

4.5 Morfometria duodenal após o tratamento com decanoato de nandrolona associado ao exercício físico.

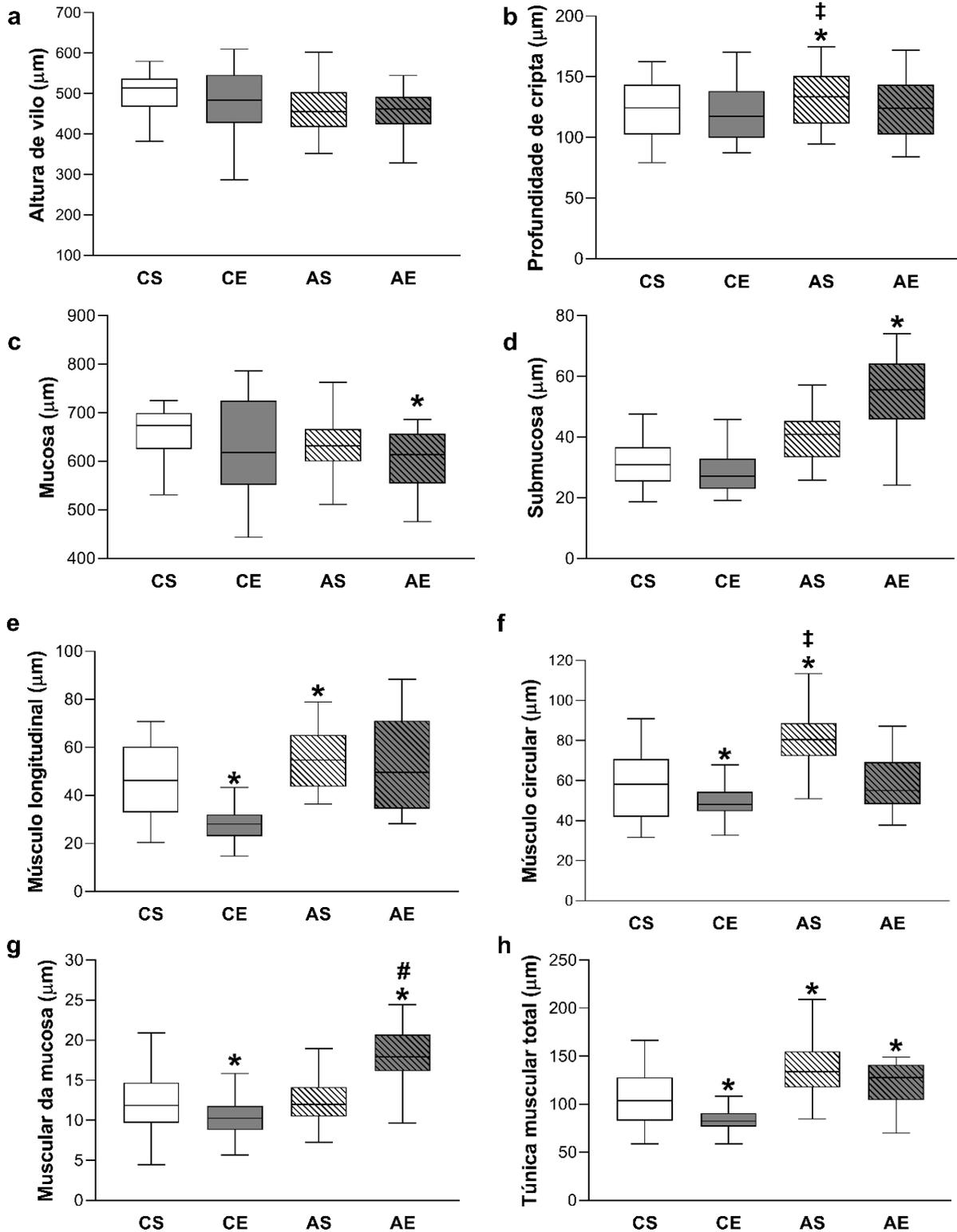
A figura 26 apresenta fotomicrografia representativa da histologia duodenal. As análises morfométricas mostram que no duodeno o exercício físico moderado reduziu a espessura da camada de músculo circular ($50,06 \pm 8,46 \mu\text{m}$), de músculo longitudinal ($28,32 \pm 6,84 \mu\text{m}$) e da túnica muscular total ($85,33 \pm 13,82 \mu\text{m}$) em comparação com os animais CS ($58,32 \pm 17,42 \mu\text{m}$; $44,96 \pm 16,02 \mu\text{m}$; $106,9 \pm 28,14 \mu\text{m}$, respectivamente). Já o tratamento com a nandrolona aumentou a profundidade das criptas ($131,8 \pm 21,87 \mu\text{m}$) e a espessura das musculaturas circular (AS $82,76 \pm 17,86 \mu\text{m}$) e longitudinal ($53,77 \pm 12,72 \mu\text{m}$), refletindo-se também no espessamento da túnica muscular total ($138,7 \pm 32,14 \mu\text{m}$) em animais sedentários. Ademais quando o tratamento foi associado ao exercício físico, observa-se o aumento da túnica muscular total ($121,2 \pm 21,96 \mu\text{m}$) e da camada submucosa ($54,55 \pm 11,57 \mu\text{m}$ vs. CS $31,43 \pm 10,56 \mu\text{m}$), bem como a redução da camada mucosa ($604,8 \pm 57,43 \mu\text{m}$ vs. CS $659,4 \pm 48,75 \mu\text{m}$) (Fig. 27).

Figura 26. Fotomicrografia representativa da histologia do duodeno de animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.



CS – controle sedentário, CE – controle exercício, AS – anabolizante sedentário, AE – anabolizante exercício. Coloração Hematoxilina&Eosina, amplificação 40x, escala = 25 µm.

Figura 27. Morfometria das camadas mucosas e musculares do duodeno de animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.



CS – controle sedentário, CE – controle exercício, AS – anabolizante sedentário, AE – anabolizante exercício. Coloração HE, amplificação 40x, escala = 25 μm. Dados analisados por Kruskal-Wallis

(Dunn) e expressos em mediana e interquartil (25;75) (n = 6): * $p < 0,05$ vs. *controle sedentário*; # $p < 0,05$ vs. *controle exercício*; ‡ $p < 0,001$ vs. *anabolizante exercício*.

4.6 Efeitos secundários do tratamento de decanoato de nandrolona associado ao exercício físico nos padrões de ingesta, marcadores bioquímicos e peso de órgãos.

Com o acompanhamento diário dos animais durante o protocolo experimental foi possível determinar a média de peso semanal nos grupos estudados, conforme ilustrado na tabela 01. Para avaliar a influência das intervenções estudadas ao longo do tempo no perfil de consumo hídrico e alimentar, o volume (mL) de água e o peso (g) de ração foram medidos diariamente, mas apresentados como média semanal de consumo para melhor visualização. De acordo com a tabela 02 o tratamento com o decanoato de nandrolona reduziu a média semanal de ingesta de ração padrão no grupo sedentário a partir da primeira semana de tratamento em comparação aos animais controles. De forma inversa, o exercício físico aumentou transitoriamente o consumo alimentar nos animais CE ao início do protocolo (semanas 1, 2 e 3) quando comparados aos demais grupos (CS, AS e AE). No grupo AE, houve aumento da ingesta nas semanas 1, 2 e 8 em comparação aos animais sedentários (CS e AS). No que concerne o consumo hídrico, na primeira semana de acompanhamento houve uma redução discreta no volume de água ingerido pelos animais excitados que foram tratados com o decanoato de nandrolona, em relação ao grupo CS, alteração está que foi revertida ao longo do do protocolo experimental. Observa-se também aumento na ingesta hídrica dos animais CE nas semanas 1, 3 e 8 em relação aos demais grupos (Tabela 03).

Tabela 01. Média semanal de massa corporal (g) de animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.

	Grupos			
	CS (g)	CE (g)	AS (g)	AE (g)
Semana 1	299,1±10,7	296,9±7,9	302,7±9,5	289,6±10,3
Semana 2	319,0±9,4	316,7±9,8	324±30,9	321,0±11,8
Semana 3	338,2±7,4	322,8±6,8	328,4±13,7	319,7±5,8
Semana 4	345,1±7,8	325,2±5,8	336,9±15,1	315,8±6,2
Semana 5	356,9±14,0	340,2±7,8	346,9±10,3	321,3±5,7
Semana 6	355,7±10,3	349,7±5,3	341,3±9,7	323,6±13,5*
Semana 7	387,2±8,5	357,0±7,4	343,6±14,5*	316,7±6,2*#
Semana 8	393,4±8,2	359,5±5,6	348,9±13,6*	313,5±4,9*

CS, controle sedentário; CE, controle exercício; AS, anabolizante sedentário; AE, anabolizante exercício. Valores de média calculados em relação à 5 dias de acompanhamento por semana, referentes ao peso corporal em gramas (n=10). Os dados estão expressos como média ± EP e analisados por ANOVA (teste Tukey's *post hoc*). * $p < 0,01$ vs. controle sedentário; # $p < 0,05$ vs. controle exercício.

Tabela 02. Média semanal de consumo alimentar (g) de animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.

	Grupos			
	CS (g)	CE (g)	AS (g)	AE (g)
Semana 1	30,1±1,2	45,3±0,9*‡	23,2±0,7*‡	34,6±1,1*
Semana 2	34,8±1,7	52,5±0,8*	32,6±0,7	47,3±0,8*+
Semana 3	30,5±1,0	52,0±0,5*	24±0,9*‡	32,2±1,8
Semana 4	32,0±2,4	38,0±2,1	23,2±0,9*‡	35,3±1,1
Semana 5	38,3±2,6	38,8±1,9	22,8±0,5*‡	35,0±1,2
Semana 6	36,0±1,7	37,5±1,9	26,8±1,1*‡	38,6±1,2
Semana 7	44,5±0,9	41,2±2,0	25,0±0,9*‡	45,8±1,0
Semana 8	42,6±0,6	38,2±2,2	24,5±1,3*‡	53,7±1,0*#

CS, controle sedentário; CE, controle exercício; AS, anabolizante sedentário; AE, anabolizante exercício. Valores de média calculados em relação à 5 dias de acompanhamento por semana, referentes ao consumo em gramas, por animal, por dia (g/animal/dia) (n=8). Os dados estão expressos como média ± EP e analisados por ANOVA (teste Tukey's *post hoc*). * $p < 0,01$ vs. controle sedentário; # $p < 0,05$ vs. controle exercício; + $p < 0,05$ vs. anabolizante sedentário; ‡ $< 0,001$ vs. anabolizante exercício.

Tabela 03. Média semanal de consumo hídrico (mL) de animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.

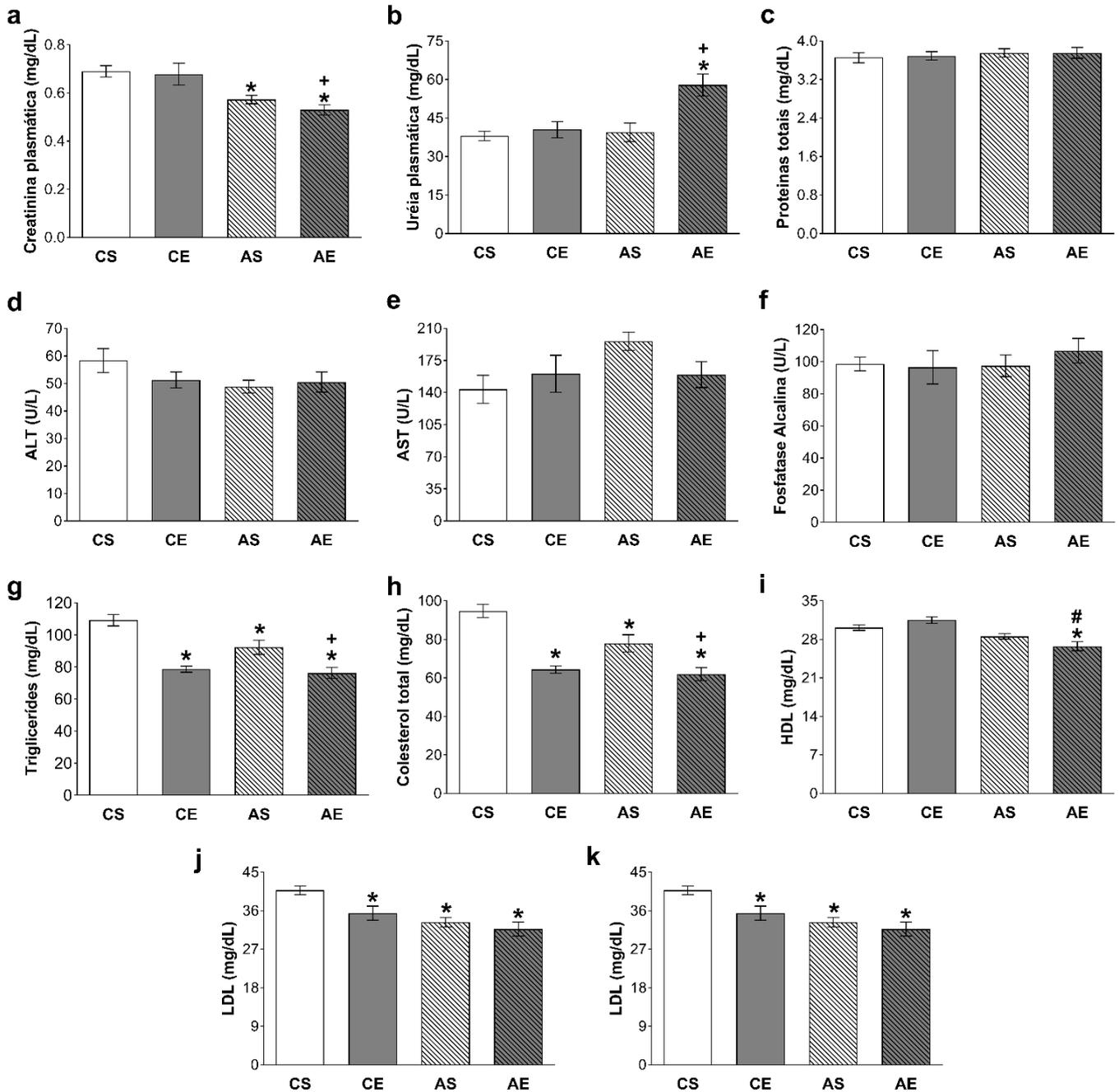
	Grupos			
	CS (mL)	CE (mL)	AS (mL)	AE (mL)
<i>Semana 1</i>	25,6±1,1	31,6±1,2*‡	24,4±1,0	20,5±0,9*+
<i>Semana 2</i>	24,1±0,7	23,6±1,2	27,8±1,7	25,6±1,8
<i>Semana 3</i>	26,3±1,8	36,6±1,2*‡	26,2±1,7	24,1±1,7
<i>Semana 4</i>	25,6±1,9	31,29±1,8	27,8±1,6	30,5±1,8
<i>Semana 5</i>	28,6±1,9	32,3±2,0	31,0±1,5	32,8±1,3
<i>Semana 6</i>	32,0±1,5	30,5±1,4	32,0±1,8	31,3±1,6
<i>Semana 7</i>	34,8±1,9	29,8±1,0	30,0±1,6	31,7±1,6
<i>Semana 8</i>	31,3±2,1	38,6±1,5*‡	28,8±1,0	27,3±1,8

CS, controle sedentário; CE, controle exercício; AS, anabolizante sedentário; AE, anabolizante exercício. Valores de média calculados em relação à 5 dias de acompanhamento por semana, referentes ao consumo em mililitros, por animal, por dia (ml/animal/dia) (n=8). Os dados estão expressos como média ± EP e analisados por ANOVA (teste Tukey's *post hoc*). * $p < 0,05$ vs. controle sedentário; + $p < 0,05$ vs. anabolizante sedentário; ‡ $p < 0,01$ vs. anabolizante exercício.

A análise de marcadores bioquímicos indica no grupo AE haver redução na concentração sérica de creatinina ($0,53 \pm 0,03$ mg/dL vs. CS $0,69 \pm 0,02$ mg/dL e CE $0,67 \pm 0,04$ mg/dL; $p < 0,05$) e aumento do nível sérico de uréia ($57,8 \pm 4,2$ mg/dL vs. CS $38,0 \pm 1,8$ mg/dL, CE $40,5 \pm 3,1$ mg/dL e AS $39,4 \pm 3,6$ mg/dL, $p < 0,01$). Quanto ao perfil lipídico, o tratamento crônico com decanoato de nandrolona associado ao exercício moderado reduziu os níveis de triglicérides ($76,3 \pm 3,4$ mg/dL) e colesterol total ($62,0 \pm 3,4$ mg/dL) em comparação com ambos os grupos sedentários, e suas porções HDL ($26,7 \pm 0,8$ mg/dL), LDL ($31,7 \pm 1,6$ mg/dL) e VLDL ($15,2 \pm 0,7$ mg/dL) em relação aos animais controles. Já no grupo CE a corrida em esteira mostrou-se capaz de aumentar os níveis séricos de triglicérides ($78,6 \pm 1,9$ mg/dL; $p < 0,0001$), colesterol total ($64,3 \pm 1,9$ mg/dL; $p < 0,0001$), LDL ($35,45 \pm 1,6$ mg/dL; $p < 0,05$) e VLDL ($15,7 \pm 0,4$ mg/d; $p < 0,0001$) em relação aos animais CS. Os animais sedentários tratados com a nandrolona apresentaram resultados semelhantes, com discreta redução triglicérides ($92,3 \pm 4,4$ mg/dL; $p < 0,05$), colesterol total ($78,0 \pm 4,4$ mg/dL; $p < 0,05$), LDL ($33,3 \pm 1,0$ mg/dL; $p < 0,01$) e VLDL ($18,4 \pm 0,8$ mg/d; $p < 0,05$) em relação aos animais CS. Por outro lado, inexistiu diferenças significantes nos níveis séricos de proteínas totais e enzimas

marcadoras da condição hepática (aspartato transaminase, alanina transaminase e fosfatase alcalina) entre os grupos estudados (Figura 28).

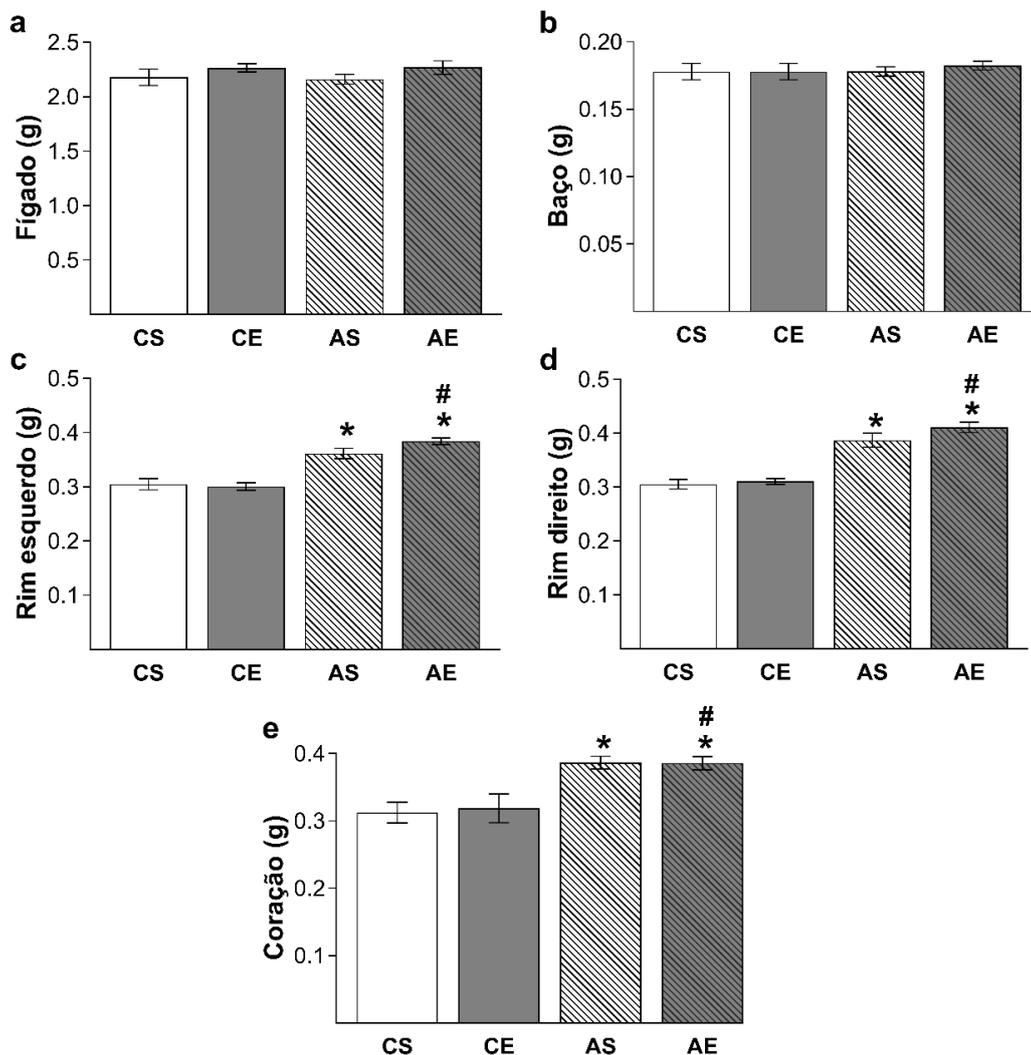
Figura 28. Parâmetros bioquímicos avaliados em animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.



CS – controle sedentário, CE – controle exercício, AS – anabolizante sedentário, AE – anabolizante exercício; ALT, alanina transaminase; AST, aspartato transaminase; HDL, lipoproteína de densidade alta; LDL, lipoproteína de densidade baixa; VLDL, lipoproteína de densidade muito baixa. Dados analisados por ANOVA (Tukey) e expressos em média±EP (n=10): * $p < 0,05$ vs. controle sedentário; # $p < 0,05$ vs. controle exercício; + $p < 0,05$ vs. anabolizante sedentário.

Ainda é possível notar que o tratamento com DN resultou no aumento do peso relativo do coração (AS $0,38\pm 0,009$ e AE $0,38\pm 0,009$ vs. CS $0,31\pm 0,01$ e CE $0,31\pm 0,02$) e dos rins direito e esquerdo (AS $0,387\pm 0,013$; $0,361\pm 0,009$ e AE $0,411\pm 0,009$; $0,384\pm 0,005$ vs. CS $0,305\pm 0,008$; $0,305\pm 0,01$ e CE $0,31\pm 0,005$; $0,30\pm 0,007$), com ou sem sua associação ao exercício físico moderado. Já o peso do fígado e do baço não diferiu significativamente dentre os animais estudados, conforme ilustrado pela figura 29.

Figura 29. Peso relativo de órgãos (g/100g) de animais tratados e não tratados com decanoato de nandrolona, submetidos ou não ao exercício físico moderado por corrida em esteira motorizada.



CS – controle sedentário, CE – controle exercício, AS – anabolizante sedentário, AE – anabolizante exercício. Dados analisados por ANOVA (Tukey) e expressos em média \pm EP: * $p < 0,01$ vs. controle sedentário; # $p < 0,01$ vs. controle exercício.

5. DISCUSSÃO

Este estudo mostra a notável influência do uso abusivo de decanoato de nandrolona na função gastrointestinal, com ou sem a associação do exercício físico moderado. O seguimento ao longo do tempo mostrou o tratamento supraterapêutico com a nandrolona acelerar o esvaziamento gástrico de líquidos a partir do dia 28 do protocolo em ambos os grupos que receberam o fármaco, enquanto a corrida em esteira parece afetar a velocidade de esvaziamento de líquidos de forma mais pontual e transitória no início do protocolo, sugerindo seu efeito agudo ser revertido com a adaptação do exercício físico moderado. Quando a natureza do alimento teste é alterada para refeição sólida destaca-se de forma aguda tanto o tratamento com nandrolona quanto o exercício físico isolado acelerarem o esvaziamento gástrico mas com a evolução do protocolo apenas os animais que receberam o decanoato de nandrolona demonstram ter esvaziamento mais rápido. Além disso, identificamos consideráveis variações no monitoramento da pressão intraluminal na região fúndica do estômago, com o aumento da área sob a curva da pressão intragástrica refletindo-se no aumento da amplitude e diminuição da frequência das contrações nos animais sedentários tratados com a nandrolona. O exercício físico isolado também alterou tais parâmetros, havendo contrações mais intensas porém menos frequentes nos animais controle submetidos à corrida. Na tentativa de compreender a resposta contrátil vinculada à tais alterações do esvaziamento do estômago, observamos importantes alterações na contratilidade gastrointestinal. Desta forma, demonstrou-se maior responsividade *in vitro* ao agonista muscarínico carbacol nas tiras de fundo e duodeno em animais sedentários tratados com a nandrolona, assim como maior relaxamento via óxido nítrico no duodeno. Já nos animais controle exercitados apenas o antro gástrico mostrou ser menos responsivo ao relaxamento por isoproterenol. Ademais, foram encontradas alterações importantes na morfometria duodenal, destacando-se o espessamento das camadas musculares relacionado ao tratamento com a nandrolona e o adelgaçamento das mesmas quando o exercício físico moderado foi estudado.

Enquanto o exercício físico regular seja prática incentivada para a prevenção e tratamento em diversas comorbidades, assim como para melhorar o bem-estar físico e mental (Pereira et al., 2015), o binômio exercício físico-anabolizantes é tema de ampla discussão no âmbito do esporte, sendo seu uso indevido entre não-esportistas objeto de preocupação no Brasil e no mundo. É fundamentado que o comportamento

sedentário foi intimamente impactado nos recentes anos frente à pandemia de COVID-19, quando considera-se as restrições durante o distanciamento e isolamento social adotadas pela maioria dos países como forma de enfrentamento da infecção (Park et al., 2022; Wunsch et al., 2022). Estima-se que houve uma redução de ao menos 20% na prática física no mundo em diferentes faixas etárias, impactando negativamente na saúde e no desenvolvimento, em especial no que se refere à população jovem (Neville et al., 2022).

Ademais, é estritamente proibido a utilização de esteróides anabolizantes para fins estéticos ou para aumentar o rendimento esportivo pois estão relacionados a diversos efeitos colaterais agudos e crônicos, em especial entre adolescentes e jovens. Além disso, a prática de injeções repetidas eleva o risco de transmissão de infecções como HIV e hepatites (Ministério da Saúde, 2017). Em contrapartida, há escassos estudos envolvendo EAA em seres humanos devido diversos obstáculos éticos e operacionais referentes à obtenção de voluntários, adesão e adequação dos protocolos, ampliando variáveis e dificultando a interpretação dos resultados (Cotman e Berchtold, 2002; Shephard, 2003; Sagoe et al., 2014). Assim, as pesquisas com animais de laboratório se tornam ferramenta crucial para elucidar as repercussões fisiológicas da prática física e do abuso de EAA em diversas condições experimentais (Moreira et al., 2013; Sagoe et al., 2014; Almeida et al., 2022). A padronização de protocolos experimentais de exercício físico visa reproduzir da melhor maneira possível as adaptações fisiológicas, avaliando de modo comparativo a influência de determinadas cargas no metabolismo entre as espécies (Gobatto et al., 2013; Scariot et al., 2016).

Segundo Manchado e colaboradores (2005), atividades como a corrida em esteira desencadeiam uma série de respostas fisiológicas para melhorar o fornecimento de oxigênio às células musculares, otimizando assim o metabolismo e levando à estabilização do lactato sanguíneo em animais treinados. Desta forma, os autores propuseram utilizar as concentrações de lactato para estimar a intensidade de esforço físico. O teste do lactato mínimo proporciona informações sobre o limiar anaeróbio em diferentes modalidades físicas, visto começar a se acumular desproporcionalmente no sangue durante exercícios progressivos (Jones e Doust, 1998; Scariot et al., 2016). A quantificação do lactato sérico reflete a transição nas vias metabólicas para a produção de energia de forma aeróbia para anaeróbia,

podendo o animal ser mantido nessa intensidade por longo período de tempo sem causar fadiga (Gobatto et al., 2013). Os dados obtidos neste trabalho corroboram diversos estudos prévios, onde animais submetidos à corrida em esteira apresentaram aumento importante nos níveis séricos de lactato em relação àqueles sedentários, mas sem atingir o grau caracterizado como intenso (Manchado et al., 2005; Chen et al., 2008; Brito-Vieira et al., 2014; Almeida et al., 2022). Ademais, notamos a evidente melhora do desempenho no teste de capacidade máxima pelos animais treinados, ao demonstrarem resposta aprimorada ao esforço físico mediante aumento da velocidade máxima atingida e da distância percorrida. Sendo assim, o protocolo de exercícios adotado trouxe desdobramentos correspondentes à prática física de intensidade moderada.

Também vimos, pela análise da composição corporal por bioimpedância, o exercício físico crônico atuar de maneira mais marcante na relação entre água e gordura. Além disto, observou-se efeito dual do decanoato de nandrolona na composição corporal dos animais, dependente do tempo de tratamento. É interessante que, apesar de seu efeito anabólico marcante, o tratamento isolado com a nandrolona modificou o equilíbrio entre massa gorda e massa livre de gordura no modelo animal de uma forma inconstante. Mesmo com a diminuição do consumo da ração padrão, em especial após a fase aguda do protocolo, nossos animais sedentários tratados com o decanoato de nandrolona tiveram um maior acúmulo de massa gorda e diminuição da massa magra, sendo que este quadro invertido quando o fármaco estudado foi associado ao exercício por corrida em esteira.

Os efeitos da nandrolona na massa corporal está frequentemente relacionado à diminuição do consumo alimentar, porém os AAS têm potencial ação no metabolismo direto de lipídios, aumentando a lipólise e inibindo a adipogênese (Frederiksen et al., 2012; Magalhães et al., 2020; Bond, Smit e Ronde, 2022). Pozzi e associados (2021) demonstraram que, apesar da nandrolona alterar parâmetros hormonais sobre o balanço energético e o controle da fome/saciedade (i. e., diminuindo a leptina plasmática), ela não pareceu ter efeitos acentuados no perfil de massa corporal em animais sedentários (Pozzi et al., 2021). Tal discrepância pode estar relacionada à diferença nos esquemas de tratamento: por se tratar de um análogo de hormônio o do tempo de tratamento é relevante ao estabelecimento dos seus efeitos (Bond et al., 2022).

Em relação ao treinamento físico, a literatura mostra dados controversos tendo em vista a ampla variabilidade nos programas de exercício físico adotados, porém é reconhecido o potencial positivo da prática física regular na redução da massa gorda corporal (Hartsook e Nee, 1976; Yeh et al., 1994; Narath, Skalicky e Viidik, 2001; Hao et al., 2010, Moraes et al., 2016). O treinamento físico, especialmente programas aeróbicos e crônicos, é capaz de reduzir o peso corporal, a gordura corporal total e a sinalização de insulina no músculo esquelético e tecido adiposo (Tjonna et al., 2008). Em ratos, o exercício crônico potencialmente altera a composição corporal ao promover a perda de tecido adiposo e aumentar a síntese protéica e a massa muscular, processo variável segundo a natureza da atividade física (Gobatto et al., 2013; Coll-Risco et al., 2016). Além disso, a corrida em esteira diminuiu o percentual de gordura localizada na região epididimal após 5 semanas (Fediuc, Campbell e Riddell, 2006).

Já está bem estabelecido que alterações no perfil do esvaziamento gástrico e no trânsito intestinal podem ocasionar movimentação anormal do conteúdo luminal, interferindo na capacidade de digestão e absorção de nutrientes e fármacos pelo TGI com repercussões no balanço energético e na saúde do indivíduo (Phillips et al., 2015; Valentin et al., 2015). Funcionalmente, o TGI atua de maneira altamente especializada na interface entre o ambiente externo para obtenção e o ambiente interno para consumo de reservas energéticas essenciais para a realização das atividades vitais. Uma motilidade gastrintestinal coordenada permite processos digestivos e absorptivos eficientes para atender às necessidades nutricionais (Szarka e Camilleri, 2009). Desta forma, as características físico-químicas da refeição ingerida influenciam o padrão do esvaziamento gástrico, principalmente ao se considerar (1) a natureza da refeição teste, se sólida, líquida ou pastosa (Hinder e Kelly, 1977), (2) a composição calórica da mesma (Calbet e MacLean, 1997) e (3) o volume da refeição, pois aquelas de menor volume apresentam esvaziamento gástrico mais rápido (Moran et al., 1999).

O método tido como padrão-ouro para verificar a taxa de esvaziamento gástrico é a cintilografia. Porém, a técnica tem como desvantagens o uso de material radioativo e o custo elevado da respectiva aparelhagem, restringindo o seu uso (Szarka e Camilleri, 2009). Como método alternativo, surgiu a verificação indireta do esvaziamento gástrico pelo $^{13}\text{CO}_2$ expirado, a qual tem ganho crescente número de adeptos (Karamanolis et al., 2007; Hauser et al., 2016), por ser teste relativamente

barato, seguro e capaz de ser replicado em ocasiões consecutivas (Braden, 2009). As curvas de concentração de $^{13}\text{CO}_2$ em função do tempo obtidas nas amostras de ar expirado serviram de base bruta para o cálculo proposto por Podczeck e colaboradores (1995), no qual define-se o tempo médio de esvaziamento gástrico como o tempo em minutos no qual a quantidade média de isótopo marcado foi liberado, ponderado pela área sob a curva de esvaziamento. Este cálculo vem sendo empregado para sumarizar – na dimensão tempo (min) – a saída do alimento do estômago, quando disponíveis técnicas baseadas na detecção da concentração de uma substância marcadora ingerida (Corá, et al., 2005; Quini et al., 2012; Lima et al., 2017; Dallagnol et al., 2020).

Neste sentido, nossos dados mostram a nandrolona acelerar o esvaziamento gástrico de líquidos e sólidos, de forma aguda e crônica, tanto administrada isoladamente quando associada ao exercício físico moderado. Durante o seguimento, houve mudança nítida no perfil de esvaziamento gástrico ao final do protocolo – período no qual as sessões de corrida em esteira repercutem a intensidade moderada de esforço físico e o tratamento com a nandrolona ultrapassa o limiar subcrônico – indicando a capacidade da prática física moderada de compensar, ao menos parcial e transitoriamente, os efeitos deletérios do tratamento com a nandrolona. A rotina de exercício físico pode ser capaz de modificar de forma contrastante a velocidade de esvaziamento gástrico, bem como visto por Cavalcante e colaboradores (2018) ao observar o exercício agudo retardar o esvaziamento gástrico de líquido, fenômeno que parece ser mediado pela via do óxido nítrico, com envolvimento de receptores do fator liberador de corticotrofina (CRF) e peptídeo vasoativo intestinal (VIP) (Cavalcante et al., 2018).

Levando em consideração a ação de substâncias androgênicas no perfil de saída do alimento do estômago, níveis diminuídos de estradiol combinados com o aumento de progesterona já foi vinculado à inibição de contrações gástricas e lentificação do esvaziamento gástrico em roedores (Matos et al., 2016). A deficiência de estradiol pode estar ligada ao esvaziamento gástrico lentificado via inibição do relaxamento gástrico pela via óxido nítrico (NO) (Ravella et al., 2010) e parece sofrer influência significativa do sexo biológico do indivíduo, observando-se por exemplo expressão aumentada de receptores androgênicos ($\text{ER}\alpha$ $\text{Er}\beta$) no tecido gástrico em fêmeas (Al-Shboul et al., 2018). Em um estudo anterior, demonstramos que o tratamento com

decanoato de nandrolona acelerou o esvaziamento gástrico em ratos, alteração esta que se desenvolveu independentemente da adição do protocolo de exercício físico (Hauschildt, 2017).

Um dos estímulos à saída do alimento do estômago é a distensão gástrica. Assim, o tônus inerente da parede gástrica e o relaxamento receptivo do fundo do estômago culminam no aumento da pressão intraluminal após a chegada de uma refeição, resultando na distensão da região proximal (Jacobs, Quingley e Rikkers, 1990; Boeckxstaens et al., 2016). Além disso, as contrações fásicas do antro que servem para triturar e misturar o conteúdo do estômago – quando coordenadas e regulares – impulsiona-o em direção ao duodeno, resultando no esvaziamento gástrico (Boeckxstaens et al., 2016). Assim, o aumento da complacência gástrica associada à contrações de maior amplitude podem gerar um esvaziamento gástrico acelerado conforme observado neste estudo.

O trânsito gastrintestinal e a contratilidade do músculo liso, além da pressão intraluminal, são importantes parâmetros de motilidade (Huizinga, 2019). Nosso estudo mostrou o decanoato de nandrolona acelerando o trânsito intestinal de uma refeição líquida, a medida que a progressão mais rápida do alimento ao longo do intestino delgado possa estar vinculada ao aumento da responsividade colinérgica no duodeno. Diferentes substâncias são capazes de modificar a contratilidade do TGI, assim como os inúmeros programas, frequências e intensidades de treinamento físico.

Os hormônios androgênicos influenciam intensamente a movimentação do conteúdo intestinal. Já foi reportado trânsito intestinal retardado devido à níveis elevados de progesterona e estradiol, estando estes vinculados à inibição da contração do músculo liso intestinal (Herman et al., 2010). Além disso, a progesterona modula o sistema 5-HT do cólon, que é conhecido por regular o peristaltismo (Atkinson et al., 2006). De acordo com González-Montelongo e associados (2010), a pré-exposição da musculatura ileal à testosterona ou ao seu metabólito ativo, a diidrotestosterona (DHT), resultou no aumento da resposta contrátil do tecido ao estímulo do cálcio extracelular e à exposição ao CCh, indicando que esses hormônios esteróides podem ser moduladores fisiológicos da contratilidade no TGI. Sugere-se ainda que tais ações indutoras da contração tecidual podem estar relacionadas à sensibilização ao cálcio do músculo liso intestinal (González-Montelongo et al., 2006; González-Montelongo et al., 2010).

Em relação aos agentes estudados na contratilidade *in vitro* das tiras gastrintestinais, sabe-se que o KCl e o CCh causam resposta de contração bifásica, constituída por contração inicial fásica seguida por contração tônica, que se mantém durante o período de exposição a essas substâncias (Triggle e Triggle, 1976; Triggle et al., 1989; Burgen, 1989; Maruyama et al., 1999). A resposta contracturante parece estar vinculada ao Ca^{+2} extracelular e ao Ca^{+2} intracelular no músculo liso (Abdel-Latif, 1989). O KCl e o CCh utilizados para avaliar o efeito contrátil das tiras de antro, de fundo e de duodeno apresentaram estimulação positiva à atividade contrátil (Maruyama et al., 1999; Peachey, Hourani e Kitchen, 1996). Todavia, o mecanismo de ação destas substâncias difere: em relação ao KCl, altas concentrações de potássio induzem contração do músculo liso mediada por despolarização da membrana celular e aumento de influxo de Ca^{+2} por meio de canais operados por voltagem (Hipólito et al., 2009); já o CCh, um agonista muscarínico, age via receptor por resposta farmacomecânica (Maruyama et al., 1999).

A ação dos fármacos de efeito relaxante, isoproterenol (agonista β_2 -adrenérgico) e o NPS (doador de NO), se dá por meio de interação com receptor específico, inibindo a despolarização Ca^{+2} dependente (Jenkinson e Morton, 1967; Karaki et al., 1988; Papapetropoulos et al., 1996; Nakahira et al., 2001; Tepavčević et al., 2008). A resposta nitrérgica ao longo dos segmentos gastrintestinais é de suma relevância para os processos digestivos. O NO age na inibição do tônus do esfíncter esofágico inferior e atua na acomodação do estômago proximal, permitindo assim a entrada de alimento no estômago durante a deglutição (Burns et al., 1996; Kim, Goyal e Mashimo 1999; Sanders e Ward, 2019). No intestino delgado, Voussen e colaboradores (2018) sugerem que a via intrínseca de liberação de NO está envolvido na regulação do tônus e na amplitude das contrações espontâneas em roedores (Voussen et al., 2018).

Outro dado relevante obtido foi o aumento da espessura das túnicas musculares. Vimos as camadas de músculo circular e longitudinal do duodeno mais espessas no animais sedentários tratados com a nandrolona, podendo estar ligada à potencialização da atividade contrátil do tecido. Paralelamente, o exercício físico causou o adelgaçamento das tunicas de músculo liso duodenal. De maneira interessante, o anabolizante em associação com a prática física parece ter maiores desfechos em alterar os componentes da camada mucosa e submucosa, sendo contrabalanceados os efeitos isolados das duas intervenções à nível muscular. A

musculatura do intestino pode responder ao estímulo anabólico com o aumento de volume da célula muscular – causando a hipertrofia – ou até através do processo de hiperplasia (Soenen et al., 2015). Consensualmente, com o aumento do maquinário celular de células mioentéricas há um maior potencial para a contração para o músculo liso (Modlinski e Fields, 2006; Soenen et al., 2015).

Tanto a prática física quanto o uso de fármacos esteróides anabólicos-androgênicos estão relacionados à repercussões no trato gastrointestinal, como distúrbios na secreção de sais biliares, náuseas, vômitos, diarreia e sangramento gastrointestinal (Modlinski e Fields, 2006; Buttner e Thieme, 2010). Experimentalmente, já foi constatada a existência de receptores androgênicos na musculatura lisa em ratos (Takeda et al., 1990). Além disso receptores para andrógenos foram encontrados em células esofágicas e intestinais no homem, significando a musculatura lisa do TGI ser potencial alvo para atuação direta do fármaco (Fisher et al., 1978; Waliszewski et al., 1997). Também, alguns dos efeitos colaterais da nandrolona, quando em doses supraterapêuticas, podem ser mediados pela sua aromatização enzimática em estradiol nos tecidos periféricos, que passa então a interagir com os receptores de estrogênio (Shahidi, 2001; Lindblom et al., 2003; Modlinski e Fields, 2006).

Neste estudo avaliamos alguns parâmetros indiretos do metabolismo na tentativa de evidenciar alguns efeitos sistêmicos do decanoato de nandrolona. No que diz respeito ao peso relativo de órgãos, o uso da nandrolona em associação ao exercício físico aumentou o peso do coração e de ambos os rins. A influência do DN no desenvolvimento de anomalias cardíacas vem sendo amplamente descrita, já tendo sido atribuída à alterações morfológicas nas células cardíacas, aumento da deposição de colágeno na matriz extracelular, prejuízos no controle reflexo da pressão arterial e indução da inflamação na musculatura do coração (Sullivan et al., 1998; Franquni et al., 2013; Hassan e Kamal, 2013; Brasil, 2015).

No que concerne o equilíbrio eletrolítico e a metabolização dos xenobióticos, os rins agem de forma sistêmica e regulada na manutenção da homeostase do organismo, mantendo o volume corporal por meio dos processos de filtração glomerular, reabsorção tubular, metabolismo, produção e sítio de atuação de hormônios, tornando seu funcionamento adequado imprescindível (Sodré et al., 2007). O decanoato de nandrolona tem nítida associação com a hipertrofia renal, principalmente devido à deposição de colágeno na matriz das células (Brasil et. al,

2015) e aumento do volume dos túbulos contorcidos proximais e distais (Hoseini et al., 2008). Sendo assim, além do efeito direto do fármaco em receptores androgênicos no tecido renal, o aumento no peso relativo dos rins pode ser um indicativo indireto de toxicidade da substância biologicamente ativa, visto que seu uso supraterapêutico possa culminar em maior necessidade de excreção renal dessa substância (Kohler e Lambert, 2002; Riezzo et al., 2014). Um dos parâmetros que podem estar relacionados com a condição renal é a taxa de depuração (*clearance*) de creatinina e uréia (Sodré et al., 2007; Brazzano et al., 2015). Entretanto as concentrações sérica de creatinina – vinculada à estimativa de filtração glomerular – e de uréia – indicativo da reabsorção nos túbulos renais – sofrem influência de inúmeros fatores relacionados ou não ao abuso de substâncias e ao exercício físico (Segura et al., 2002; Sodré et al., 2007; Costa de Oliveira et al., 2009).

Concomitantemente, os efeitos do exercício físico e da nandrolona no perfil lipídico é alvo de interesse no estudo do binômio atividade física-anabolizantes. O papel do exercício físico na prevenção e melhora da dislipidemia é bem documentado (Durstine e Haskell, 1994; Eriksson, Taimela e Koivisto, 1997; Castaneda et al., 2002; Botezelli et al., 2011; Strasser, 2013; Lira et al., 2014). Além disso, o aumento dos níveis plasmáticos de HDL associados com a adoção da prática física regular e outras mudanças no estilo de vida merecem destaque por estarem fortemente relacionados com a diminuição de doenças coronarianas e metabólicas (Kodama et al., 2007; Hamer et al., 2014; Ruiz-Ramie et al., 2019). Em modelos experimentais, o exercício agudo mostrou-se capaz de reduzir os níveis séricos de triglicérides, colesterol e LDL, assim como o conteúdo lipídico hepático de ratos submetidos à dieta rica em frutose e colesterol (Devi et al., 2003; Damasceno et al., 2013, Sakr, 2013). Por outro lado, o papel dos EAAs no metabolismo lipídico relaciona-se com (Rosca et al., 2019). No protocolo experimental adotado, a associação entre o tratamento com DN e o exercício físico parecem agir em sinergia na melhoria do metabolismo lipídico, com maior destaque para os efeitos isolados do exercício moderado no colesterol e suas porções.

Por fim, a elucidação dos possíveis efeitos gastrintestinais dos esteróide-anabólico-androgênicos se mostra relevante tendo em vista a complexidade das interações entre o sistema digestivo e o aporte energético do indivíduo. Mesmo com a proibição destas substâncias no esporte, seu uso não-terapêutico é uma realidade

alcançável àqueles que visam o ganho de massa corporal e melhora da força física entre não-atletas, o que aponta para a necessidade de melhor entendermos o fármaco para além dos eixos renal, cardiovascular e hepático. Dentre as possibilidades promissoras para explorarmos detalhadamente está a melhor compreensão da sinalização colinérgicas e nitrégicas que parecem envolvidas com a dismotilidade gastrointestinal encontrada após o tratamento com o decanoato de nandrolona. Ainda, levando em consideração a modulação dos hormônios androgênicos endógenos, se torna vital explorarmos a influência dos sexos biológicos frente aos efeitos do decanoato de nandrolona, fazendo-se necessários estudos das repercussões gastrintestinais em organismos fêmeas.

6. CONCLUSÃO

Nosso estudo teve ponto norteador a caracterização das repercussões gastrintestinais relacionadas ao uso de um esteróide anabolizante, com e sem associação ao modelo de exercício físico moderado. Assim, concluímos que:

- [1] O treino de corrida por esteira se mostrou um protocolo experimental condizente com esforço de intensidade moderada, causando acúmulo de lactato sérico imediatamente após a sessão de corrida porém não ultrapassando o limiar considerado anaeróbico, fortalecendo a idéia de que as o exercicio fisico acarreta em efeitos metabólicos positivos;
- [2] O decanoato de nandrolona, quando utilizado em faixas supraterapêuticas, demonstrou ter forte influência na motilidade gastrintestinal, tanto aguda como cronicamente. Houveram mudanças notáveis no padrão de esvaziamento gástrico de refeições sólidas e líquidas, na complacência do estômago, na contratilidade gástrica *in vitro* e *in vivo* e no trânsito intestinal;
- [3] Apesar dos benefícios do exercício físico moderado, o mesmo não foi capaz de reverter o comprometimento da função gastrintestinal causado pelo abuso da substância farmacologicamente ativa. Mesmo isoladamente, a prática física causou sutil alterações no esvaziamento gástrico e na frequência e amplitude das contrações gástricas *in vivo*, chamando atenção para a necessidade de planejamento racional quando o exercício físico é recomendado como tratamento para diversas doenças;
- [4] O decanoato de nandrolona, com e sem a associação ao exercício físico por corrida, alterou diversos parâmetros bioquímicos e causou mudanças significativas em parâmetros indiretos de toxicidade, especialmente renal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-LATIF, Ata A. Calcium-mobilizing receptors, polyphosphoinositides, generation of second messengers and contraction in the mammalian iris smooth muscle: historical perspectives and current status. **Life sciences**, v. 45, n. 9, p. 757-786, 1989.
- ABRAHIN, Odilon Salim Costa; DE SOUSA, Evitom Corrêa; SANTOS, Azenildo Moura. Prevalence of the use of anabolic-androgenic steroids in Brazil: a systematic review. **Substance use & misuse**, v. 49, n. 9, p. 1156-1162, 2014.
- ALDOORI, Walid H. et al. Prospective study of physical activity and the risk of symptomatic diverticular disease in men. **Gut**, v. 36, n. 2, p. 276-282, 1995.
- ALMEIDA, Erin J. R. et al. Modulation of Inflammatory Mediators and Microglial Activation Through Physical Exercise in Alzheimer's and Parkinson's Diseases. **Neurochemical Research**, v. 47, n. 11, p. 3221-3240, 2022.
- AL-SHBOUL, Othman A. et al. Estrogen relaxes gastric muscle cells via a nitric oxide-and cyclic guanosine monophosphate-dependent mechanism: A sex-associated differential effect. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 16, n. 3, p. 1685-1692, 2018.
- ATKINSON, Wendy et al. Altered 5-hydroxytryptamine signaling in patients with constipation-and diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. **Gastroenterology**, v. 130, n. 1, p. 34-43, 2006.
- AUTERI, Michelangelo; ZIZZO, Maria Grazia; SERIO, Rosa. GABA and GABA receptors in the gastrointestinal tract: from motility to inflammation. **Pharmacological research**, v. 93, p. 11-21, 2015.
- AZUMA, Yasu-Taka et al. Differences in time to peak carbachol-induced contractions between circular and longitudinal smooth muscles of mouse ileum. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 389, p. 63-72, 2016.
- BAGGIO, Cristiane H. et al. Gastroprotective effects of a crude extract of *Baccharis illinita* DC in rats. **Pharmacological Research**, v. 47, n. 1, p. 93-98, 2003.
- BASARIA, Shehzad. Androgen abuse in athletes: detection and consequences. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 95, n. 4, p. 1533-1543, 2010.
- BAZZANO, Telma et al. Renal biomarkers of male and female Wistar rats (*Rattus norvegicus*) undergoing renal ischemia and reperfusion. **Acta cirurgica brasileira**, v. 30, p. 277-288, 2015.
- BELÉM, Mônica O. et al. Intestinal morphology adjustments caused by dietary restriction improves the nutritional status during the aging process of rats. **Experimental Gerontology**, v. 69, p. 85-93, 2015.

BHASIN, Shalender et al. The mechanisms of androgen effects on body composition: mesenchymal pluripotent cell as the target of androgen action. **The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 58, n. 12, p. M1103-M1110, 2003.

BIRGNER, Carolina et al. The anabolic androgenic steroid nandrolone decanoate affects mRNA expression of dopaminergic but not serotonergic receptors. **Brain research**, v. 1240, p. 221-228, 2008.

BOECKXSTAENS, Guy et al. Fundamentals of neurogastroenterology: physiology/motility–sensation. **Gastroenterology**, v. 150, n. 6, p. 1292-1304. e2, 2016.

BOND, Peter; SMIT, Diederik L.; DE RONDE, Willem. Anabolic–androgenic steroids: How do they work and what are the risks?. **Frontiers in Endocrinology**, v. 13, p. 1059473, 2022.

BONETTI, Antonio et al. Side effects of anabolic androgenic steroids abuse. **International journal of sports medicine**, v. 29, n. 08, p. 679-687, 2008.

BORDBAR, Hossein et al. Modulatory effect of gonadotropins on rats' ovaries after nandrolone decanoate administration: a stereological study. **Iranian journal of medical sciences**, v. 39, n. 1, p. 44, 2014.

BOTEZELLI, José D. et al. Exercise counteracts fatty liver disease in rats fed on fructose-rich diet. **Lipids in health and disease**, v. 9, p. 1-9, 2010.

BOTEZELLI, José D. et al. Different exercise protocols improve metabolic syndrome markers, tissue triglycerides content and antioxidant status in rats. **Diabetology & metabolic syndrome**, v. 3, p. 1-8, 2011.

BRADEN, Barbara et al. The [13C] acetate breath test accurately reflects gastric emptying of liquids in both liquid and semisolid test meals. **Gastroenterology**, v. 108, n. 4, p. 1048-1055, 1995.

BRADEN, Barbara. Methods and functions: Breath tests. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 23, n. 3, p. 337-352, 2009.

BRASIL, Girlandia A. et al. Nandrolone decanoate induces cardiac and renal remodeling in female rats, without modification in physiological parameters: The role of ANP system. **Life sciences**, v. 137, p. 65-73, 2015.

BRATTEN, Jason; JONES, Michael P. New directions in the assessment of gastric function: clinical applications of physiologic measurements. **Digestive Diseases**, v. 24, n. 3-4, p. 252-259, 2006.

BRITO VIEIRA, Wouber H. et al. Increased lactate threshold after five weeks of treadmill aerobic training in rats. **Brazilian Journal of Biology**, v. 74, p. 444-449, 2014.

BURGEN, Arnold S. V. History and basic properties of the muscarinic cholinergic receptor. In: **The Muscarinic Receptors**. Totowa, NJ: Humana Press, 1989. p. 3-27.

BURNS, Alan J. et al. Interstitial cells of Cajal mediate inhibitory neurotransmission in the stomach. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 93, n. 21, p. 12008-12013, 1996.

BUSARDO, Francesco et al. The impact of nandrolone decanoate on the central nervous system. **Current Neuropharmacology**, v. 13, n. 1, p. 122-131, 2015.

BÜTTNER, Andreas; THIEME, Detlef. Side effects of anabolic androgenic steroids: pathological findings and structure–activity relationships. **Doping in Sports: Biochemical Principles, Effects and Analysis**, p. 459-484, 2010.

CALBET, Jose A.; MACLEAN, D. A. Role of caloric content on gastric emptying in humans. **The Journal of physiology**, v. 498, n. 2, p. 553-559, 1997.

CASTANEDA, Carmen et al. A randomized controlled trial of resistance exercise training to improve glycemic control in older adults with type 2 diabetes. **Diabetes care**, v. 25, n. 12, p. 2335-2341, 2002.

CAVALCANTE, Ana. K. M. et al. Acute exercise inhibits gastric emptying of liquids in rats: influence of the NO-cGMP pathway. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 51, p. e7541, 2018.

CHAVES, Elen A. et al. Nandrolone decanoate impairs exercise-induced cardioprotection: role of antioxidant enzymes. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 99, n. 4-5, p. 223-230, 2006.

CHEN, Hsiun-Ing et al. Treadmill exercise enhances passive avoidance learning in rats: the role of down-regulated serotonin system in the limbic system. **Neurobiology of learning and memory**, v. 89, n. 4, p. 489-496, 2008.

CHOI, Myung-Gyu et al. Reproducibility and simplification of ¹³C-octanoic acid breath test for gastric emptying of solids. **Official Journal of the American College of Gastroenterology| ACG**, v. 93, n. 1, p. 92-98, 1998.

COLDITZ, Graham A.; CANNUSCIO, Carolyn C.; FRAZIER, A. Lindsay. Physical activity and reduced risk of colon cancer: implications for prevention. **Cancer Causes & Control**, v. 8, p. 649-667, 1997.

COLL-RISCO, Irene et al. Effects of interval aerobic training combined with strength exercise on body composition, glycaemic and lipid profile and aerobic capacity of obese rats. **Journal of Sports Sciences**, v. 34, n. 15, p. 1452-1460, 2016.

CORÁ, Luciana A. et al. AC biosusceptometry in the study of drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 57, n. 8, p. 1223-1241, 2005.

COSTA, Cláudia M. et al. Prevalence and staging of chronic kidney disease in renal transplant recipients. **Clinical Transplantation**, v. 23, n. 5, p. 628-636, 2009.

COTMAN, Carl W.; BERCHTOLD, Nicole C. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. **Trends in Neurosciences**, v. 25, n. 6, p. 295-301, 2002.

DALLAGNOL, Denize J. R. et al. Gastrointestinal side effects of triple immunosuppressive therapy evaluated by AC biosusceptometry and electrogastrography in rats. **Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)**, v. 20, n. 9, p. 1494-1503, 2020.

DAMASCENO, Débora C. et al. Diabetic rats exercised prior to and during pregnancy: maternal reproductive outcome, biochemical profile, and frequency of fetal anomalies. **Reproductive Sciences**, v. 20, n. 7, p. 730-738, 2013.

DE ARAUJO, Gustavo G. et al. Monitoring chronic physical stress using biomarkers, performance protocols and mathematical functions to identify physiological adaptations in rats. **Laboratory Animals**, v. 47, n. 1, p. 36-42, 2013.

DEMEDTS, Ingrid et al. Validation of octanoate breath test for measuring gastric emptying in rats. **Journal of Neurogastroenterology and Motility**, v. 19, n. 2, p. 171, 2013.

DEVI, S. Asha; PRATHIMA, S.; SUBRAMANYAM, M. V. V. Dietary vitamin E and physical exercise: I. Altered endurance capacity and plasma lipid profile in ageing rats. **Experimental Gerontology**, v. 38, n. 3, p. 285-290, 2003.

EKELUND, Ulf et al. Dose-response associations between accelerometry measured physical activity and sedentary time and all cause mortality: systematic review and harmonised meta-analysis. **BMI**, v. 366, 2019.

ERIKSSON, Jonas; TAIMELA, Simo; KOIVISTO, V. A. Exercise and the metabolic syndrome. **Diabetologia**, v. 40, p. 125-135, 1997.

EVANS, Nick A. Current concepts in anabolic-androgenic steroids. **The American Journal of Sports Medicine**, v. 32, n. 2, p. 534-542, 2004.

FEDIUC, Sergiu; CAMPBELL, Jonathan E.; RIDDELL, Michael C. Effect of voluntary wheel running on circadian corticosterone release and on HPA axis responsiveness to restraint stress in Sprague-Dawley rats. **Journal of Applied Physiology**, v. 100, n. 6, p. 1867-1875, 2006.

FISHER, Robert S. et al. Inhibition of lower esophageal sphincter circular muscle by female sex hormones. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 234, n. 3, p. E243, 1978.

FLORA, Rostika et al. Effect of anaerobic and aerobic exercise toward serotonin in rat brain tissue. 2016.

FRANQUINI, João Vincente 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.

FREDERIKSEN, Louise et al. Testosterone therapy increased muscle mass and lipid oxidation in aging men. **Age**, v. 34, p. 145-156, 2012.

FRIEDEWALD, William T.; LEVY, Robert I.; FREDRICKSON, Donald S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, v. 18, n. 6, p. 499-502, 1972.

GERSHON, Michael D. Serotonin receptors and transporters—roles in normal and abnormal gastrointestinal motility. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 20, p. 3-14, 2004.

GHOLAMNEZHAD, Zahra et al. Evaluation of immune response after moderate and overtraining exercise in wistar rat. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 17, n. 1, p. 1, 2014.

GHOOS, Yvo F. et al. Measurement of gastric emptying rate of solids by means of a carbon-labeled octanoic acid breath test. **Gastroenterology**, v. 104, n. 6, p. 1640-1647, 1993.

GISOLFI, Carl V. Is the GI system built for exercise?. **Physiology**, v. 15, n. 3, p. 114-119, 2000.

GIVENS, Melissa L.; DEUSTER, Patricia A. Androgens and Androgen Derivatives: Science, Myths, and Theories: Explored From a Special Operations Perspective. **Journal of Special Operations Medicine: a Peer Reviewed Journal for SOF Medical Professionals**, v. 15, n. 3, p. 98-104, 2015.

GOMES, Fernando C. et al. Nandrolone decanoate and resistance exercise training favor the occurrence of lesions and activate the inflammatory response in the ventral prostate. **Andrology**, v. 4, n. 3, p. 473-480, 2016.

GONZÁLEZ-MONTELONGO, Maria C. et al. Androgens are powerful non-genomic inducers of calcium sensitization in visceral smooth muscle. **Steroids**, v. 75, n. 8-9, p. 533-538, 2010.

GONZÁLEZ-MONTELONGO, Maria C. et al. Androgens differentially potentiate mouse intestinal smooth muscle by nongenomic activation of polyamine synthesis and Rho kinase activation. **Endocrinology**, v. 147, n. 12, p. 5715-5729, 2006.

GUIMARÃES, Alana G. C. et al. Morphological alterations in gastrointestinal organs of western-diet obese rats submitted to vertical sleeve gastrectomy or Roux-en-Y gastric bypass. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 93, p. e20200884, 2021.

HAMER, Mark; STAMATAKIS, Emmanuel; STEPTOE, Andrew. Effects of substituting sedentary time with physical activity on metabolic risk. **Medicine and**

Science in Sports and Exercise, v. 46, n. 10, p. 1946, 2014.

HAO, Like et al. Effects of treadmill exercise training on liver fat accumulation and estrogen receptor alpha expression in intact and ovariectomized rats with or without estrogen replacement treatment. **European Journal of Applied Physiology**, v. 109, p. 879-886, 2010.

HARTGENS, Fred; KUIPERS, Harm. Effects of androgenic-anabolic steroids in athletes. **Sports Medicine**, v. 34, p. 513-554, 2004.

HARTSOOK, Elmer W.; NEE, John CM. Effects in the rat of environmental temperature, diet dilution and treadmill running on voluntary food intake, body composition and endocrine organ mass: a multiple regression analysis. **The Journal of Nutrition**, v. 106, n. 9, p. 1314-1325, 1976.

HASSAN, Asmaa F.; KAMAL, Manal 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.

HAUSCHILDT, Andrieli Taise. **Decanoato de nandrolona e exercício físico de intensidade moderada: efeitos sobre a motilidade gastrointestinal associados à mastócitos da mucosa em ratos**. 2017. Dissertação (Mestrado em Imunologia e Parasitologia Básicas e Aplicadas), Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Mato Grosso. Barra do Garças, p. 73.

HAUSER, Bruno et al. Gastric emptying of solids in children: reference values for the ¹³C-octanoic acid breath test. **Neurogastroenterology & Motility**, v. 28, n. 10, p. 1480-1487, 2016.

HERMAN, Jeremy et al. Gender distribution in irritable bowel syndrome is proportional to the severity of constipation relative to diarrhea. **Gender Medicine**, v. 7, n. 3, p. 240-246, 2010.

HIELE, Martin I. et al. The ¹⁴C-octanoic acid breath test for gastric emptying of solids closely correlates with scintigraphy. **Gastroenterology**, v. 102, p. A458, 1992.

HILLMAN, Charles H.; ERICKSON, Kirk I.; KRAMER, Arthur F. Be smart, exercise your heart: exercise effects on brain and cognition. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 9, n. 1, p. 58-65, 2008.

HINDER, Ronald A.; KELLY, Keith A. Human gastric pacesetter potential: site of origin, spread, and response to gastric transection and proximal gastric vagotomy. **The American Journal of Surgery**, v. 133, n. 1, p. 29-33, 1977.

HIPÓLITO, Ulisses V. et al. Mechanisms underlying the vasorelaxant action of the pimarane ent-8 (14), 15-pimaradien-3 β -ol in the isolated rat aorta. **European Journal of Pharmacology**, v. 616, n. 1-3, p. 183-191, 2009.

HOSEINI, Leila et al. Nandrolone decanoate increases the volume but not the length

of the proximal and distal convoluted tubules of the mouse kidney. **Micron**, v. 40, n. 2, p. 226-230, 2009.

HU, Xiaojie et al. Combination of fucoxanthin and conjugated linoleic acid attenuates body weight gain and improves lipid metabolism in high-fat diet-induced obese rats. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 519, n. 1, p. 59-65, 2012.

HUNT, Richard H. et al. The stomach in health and disease. **Gut**, v. 64, n. 10, p. 1650-1668, 2015.

HUTCHISON, Samantha K. et al. Effects of exercise on insulin resistance and body composition in overweight and obese women with and without polycystic ovary syndrome. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 96, n. 1, p. e48-e56, 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, Pesquisa nacional de saúde: 2019-percepção do estado de saúde, estilos de vida, doenças crônicas e saúde bucal: Brasil e grandes regiões/IBGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento. **Rio de Janeiro: IBGE**, 113p. 2020.

INUI, Akio et al. Ghrelin, appetite, and gastric motility: the emerging role of the stomach as an endocrine organ. **The FASEB Journal**, v. 18, n. 3, p. 439-456, 2004.

JENKINSON, Donald H.; MORTON, Ian K. M. The role of α - and β -adrenergic receptors in some actions of catecholamines on intestinal smooth muscle. **The Journal of Physiology**, v. 188, n. 3, p. 387-402, 1967.

JACOBS, Donald L.; QUIGLEY, Eamonn M. M.; RIKKERS, Layton F. Gastric compliance and motility in the portal hypertensive rat. **Journal of Investigative Surgery**, v. 5, n. 2, p. 109-114, 1992.

JONES, Andrews M.; DOUST, Jonathan H. The validity of the lactate minimum test for determination of the maximal lactate steady state. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 30, n. 8, p. 1304-1313, 1998.

JUCÁ, Davi M. et al. The essential oil of *Eucalyptus tereticornis* and its constituents, α - and β -pinene, show accelerative properties on rat gastrointestinal transit. **Planta Medica**, v. 77, n. 01, p. 57-59, 2011.

KANG, Woodae; KUDSK, Kenneth A. Is there evidence that the gut contributes to mucosal immunity in humans?. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 31, n. 3, p. 246-258, 2007.

KARAKI, Hideaki et al. Effects of sodium nitroprusside on cytosolic calcium level in vascular smooth muscle. **European Journal of Pharmacology**, v. 156, n. 2, p. 259-266, 1988.

KARAMANOLIS, George et al. Determinants of symptom pattern in idiopathic severely delayed gastric emptying: gastric emptying rate or proximal stomach dysfunction?. **Gut**, v. 56, n. 1, p. 29-36, 2007.

KICMAN, Andrew T. Pharmacology of anabolic steroids. **British Journal of Pharmacology**, v. 154, n. 3, p. 502-521, 2008.

KIM, Chi Dae; GOYAL, Raj K.; MASHIMO, Hiroshi. Neuronal NOS provides nitrenergic inhibitory neurotransmitter in mouse lower esophageal sphincter. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 277, n. 2, p. G280-G284, 1999.

KIM, Ji Won. Could Carbon Breath Test Measurement Accurately Reflect Gastric Emptying of Liquid Nutrient Meal in the Critically Ill Patients?(Gut 2011; 60: 1336-1343). **Journal of Neurogastroenterology and Motility**, v. 18, n. 2, p. 222, 2012.

KODAMA, Satoru et al. Effect of aerobic exercise training on serum levels of high-density lipoprotein cholesterol: a meta-analysis. **Archives of Internal Medicine**, v. 167, n. 10, p. 999-1008, 2007.

KOHLER, Ryan M. N.; LAMBERT, Mike I. Urine nandrolone metabolites: false positive doping test?. **British Journal of Sports Medicine**, v. 36, n. 5, p. 325-329, 2002.

KREDLOW, M. Alexandra et al. The effects of physical activity on sleep: a meta-analytic review. **Journal of Behavioral Medicine**, v. 38, p. 427-449, 2015.

KURLING, Sanna et al. The effect of sub-chronic nandrolone decanoate treatment on dopaminergic and serotonergic neuronal systems in the brains of rats. **Brain Research**, v. 1044, n. 1, p. 67-75, 2005.

KURLING, Sanna; KANKAANPÄÄ, Aino; SEPPÄLÄ, Timo. Sub-chronic nandrolone treatment modifies neurochemical and behavioral effects of amphetamine and 3, 4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) in rats. **Behavioural Brain Research**, v. 189, n. 1, p. 191-201, 2008.

LACY, Brian E.; WEISER, Kirsten. Gastric motility, gastroparesis, and gastric stimulation. **Surgical Clinics**, v. 85, n. 5, p. 967-987, 2005.

LANA, Ademir da Costa; PAULINO, Célia Aparecida; GONÇALVES, Ivair Donizeti. Influência dos exercícios físicos de baixa e alta intensidade sobre o limiar de hipernocicepção e outros parâmetros em ratos. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 12, p. 248-254, 2006.

LEANDRO, Carol G. et al. Adaptative mechanisms of the immune system in response to physical training. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 13, p. 343-348, 2007.

LEE, I.-Min et al. Effect of physical inactivity on major non-communicable diseases worldwide: an analysis of burden of disease and life expectancy. **The Lancet**, v. 380, n. 9838, p. 219-229, 2012.

LEITZMANN, Michael F. et al. Recreational physical activity and the risk of

cholecystectomy in women. **New England Journal of Medicine**, v. 341, n. 11, p. 777-784, 1999.

LIMA, Maysa B. de et al. Gastrointestinal motility, mucosal mast cell, and intestinal histology in rats: effect of prednisone. **BioMed Research International**, v. 2017, 2017.

LINDBLOM, Jonas et al. Anabolic androgenic steroid nandrolone decanoate reduces hypothalamic proopiomelanocortin mRNA levels. **Brain Research**, v. 986, n. 1-2, p. 139-147, 2003.

LINDQVIST, Ann-Sophie; FAHLKE, Claudia. Nandrolone decanoate has long-term effects on dominance in a competitive situation in male rats. **Physiology & Behavior**, v. 84, n. 1, p. 45-51, 2005.

LIRA, Fábio S. et al. The relationship between inflammation, dyslipidemia and physical exercise: from the epidemiological to molecular approach. **Current Diabetes Reviews**, v. 10, n. 6, p. 391-396, 2014.

LIU, Qing et al. Updated evaluation of endoscopic submucosal dissection versus surgery for early gastric cancer: A systematic review and meta-analysis. **International Journal of Surgery**, v. 73, p. 28-41, 2020.

LU, Yuanxu; OWYANG, Chung. Secretin at physiological doses inhibits gastric motility via a vagal afferent pathway. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 268, n. 6, p. G1012-G1016, 1995.

MAES, Bart D. et al. Gastric emptying flow curves separated from carbon-labeled octanoic acid breath test results. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 275, n. 1, p. G169-G175, 1998.

MAGALHÃES, Saulo 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.

MANCHADO, Fúlvia B. et al. Non-exhaustive test for aerobic capacity determination in swimming rats. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 31, n. 6, p. 731-736, 2006.

MARUYAMA, Yoshiaki et al. Subcellular distribution of protein kinase C isoforms in gastric antrum smooth muscle of STZ-induced diabetic rats. **Life Sciences**, v. 64, n. 21, p. 1933-1940, 1999.

MATOS, Juliana F. et al. Role of sex hormones in gastrointestinal motility in pregnant and non-pregnant rats. **World Journal of Gastroenterology**, v. 22, n. 25, p. 5761, 2016.

MCTIERNAN, Anne et al. Physical activity in cancer prevention and survival: a systematic review. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 51, n. 6, p. 1252, 2019.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **ANVISA regulamenta o uso de anabolizantes** (2017). Disponível em [//bvsms.saude.gov.br/anabolizantes/](https://bvsms.saude.gov.br/anabolizantes/). Acesso em: 28/03/2020.

MIRI, Maryamosadat; KARIMI JASHNI, Hojatolah; ALIPOUR, Farzaneh. Effect of exercise intensity on weight changes and sexual hormones (androstenedione and free testosterone) in female rats with estradiol valerate-induced PCOS. **Journal of Ovarian Research**, v. 7, p. 1-7, 2014.

MODLINSKI, Ryan; FIELDS, Karl B. The effect of anabolic steroids on the gastrointestinal system, kidneys, and adrenal glands. **Current Sports Medicine Reports**, v. 5, n. 2, p. 104-109, 2006.

MORAES, Ruan. C. M. et al. Experimental training by swimming or running: influence of body composition in aerobic performance in a ovariectomised model of obesity. **Comparative Exercise Physiology**, v. 12, n. 3, p. 151-156, 2016.

MORAN, Timothy H. et al. Interactions between gastric volume and duodenal nutrients in the control of liquid gastric emptying. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 276, n. 4, p. R997-R1002, 1999.

MOREIRA, José B. et al. High-versus moderate-intensity aerobic exercise training effects on skeletal muscle of infarcted rats. **Journal of Applied Physiology**, v. 114, n. 8, p. 1029-1041, 2013.

MORRIS, David M. et al. Effects of lactate consumption on blood bicarbonate levels and performance during high-intensity exercise. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 21, n. 4, p. 311-317, 2011.

NAKAHIRA, Yoko et al. Effects of isoproterenol on spontaneous excitations in detrusor smooth muscle cells of the guinea pig. **The Journal of Urology**, v. 166, n. 1, p. 335-340, 2001.

NARATH, Eike; SKALICKY, Monika; VIIDIK, Andrus. Voluntary and forced exercise influence the survival and body composition of ageing male rats differently. **Experimental gerontology**, v. 36, n. 10, p. 1699-1711, 2001.

NEVILLE, Ross D. et al. Global changes in child and adolescent physical activity during the COVID-19 pandemic: a systematic review and meta-analysis. **JAMA Pediatrics**, v. 176, n. 9, p. 886-894, 2022.

NIEMAN, David C. Is infection risk linked to exercise workload?. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 32, n. 7 Suppl, p. S406-11, 2000.

NIESCHLAG, Eberhard; VORONA, Elena. Doping with anabolic androgenic steroids (AAS): Adverse effects on non-reproductive organs and functions. **Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders**, v. 16, n. 3, p. 199-211, 2015.

NOBREGA, Antonio Claudio Lucas. The subacute effects of exercise: concept,

characteristics, and clinical implications. **Exercise and Sport Sciences Reviews**, v. 33, n. 2, p. 84-87, 2005.

NOZU, Tsukasa et al. Water-avoidance stress enhances gastric contractions in freely moving conscious rats: role of peripheral CRF receptors. **Journal of Gastroenterology**, v. 49, p. 799-805, 2014.

OLIVEIRA, Erick Prado; BURINI, Roberto Carlos. The impact of physical exercise on the gastrointestinal tract. **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, v. 12, n. 5, p. 533-538, 2009.

OLIVEIRA, Daniel M. N. et al. Extracellular acidosis selectively inhibits pharmacomechanical coupling induced by carbachol in strips of rat gastric fundus. **Experimental Physiology**, v. 102, n. 12, p. 1607-1618, 2017.

PAILLARD, Thierry; ROLLAND, Yves; DE SOUTO BARRETO, Philippe. Protective effects of physical exercise in Alzheimer's disease and Parkinson's disease: a narrative review. **Journal of Clinical Neurology**, v. 11, n. 3, p. 212, 2015.

PAPAPETROPOULOS, Andreas et al. Mechanisms of tolerance to sodium nitroprusside in rat cultured aortic smooth muscle cells. **British Journal of Pharmacology**, v. 117, n. 1, p. 147-155, 1996.

PARK, Amaryllis H. et al. Impact of COVID-19 on physical activity: A rapid review. **Journal of Global Health**, v. 12, 2022.

PEACHEY, Julie A.; HOURANI, Susanna M. O.; KITCHEN, Ian. Differential development of adenosine A1 and A2b receptors in the rat duodenum. **British Journal of Pharmacology**, v. 119, n. 5, p. 949-958, 1996.

PEREIRA, Vanessa H. et al. Complex network models reveal correlations among network metrics, exercise intensity and role of body changes in the fatigue process. **Scientific Reports**, v. 5, n. 1, p. 10489, 2015.

PETERS, Harry P. F. et al. Potential benefits and hazards of physical activity and exercise on the gastrointestinal tract. **Gut**, v. 48, n. 3, p. 435-439, 2001.

PHILLIPS, Liza K. et al. Gastric emptying and glycaemia in health and diabetes mellitus. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 11, n. 2, p. 112-128, 2015.

PINHO, Ricardo A. et al. Alterations in muscular oxidative metabolism parameters in incremental treadmill exercise test in untrained rats. **European Journal of Applied Physiology**, v. 112, p. 387-396, 2012.

PODCZECK, Fridrun; NEWTON, John Michael; YUEN, Kay-Hay. The description of the gastrointestinal transit of pellets assessed by gamma scintigraphy using statistical moments. **Pharmaceutical Research**, v. 12, p. 376-379, 1995.

POPE, Harrison G. et al. Adverse health consequences of performance-enhancing drugs: an Endocrine Society scientific statement. **Endocrine Reviews**, v. 35, n. 3, p.

341-375, 2014.

POZZI, Renan et al. Nandrolone decanoate and resistance exercise affect body composition and energy metabolism. **Steroids**, v. 174, p. 108899, 2021.

QUIGLEY, Eamonn M. Gastric and small intestinal motility in health and disease. **Gastroenterology Clinics**, v. 25, n. 1, p. 113-145, 1996.

QUINI, Caio C. et al. Employment of a noninvasive magnetic method for evaluation of gastrointestinal transit in rats. **Journal of Biological Engineering**, v. 6, p. 1-6, 2012.

RAO, Satish S. C. et al. Evaluation of gastrointestinal transit in clinical practice: position paper of the American and European Neurogastroenterology and Motility Societies. **Neurogastroenterology & Motility**, v. 23, n. 1, p. 8-23, 2011.

RASTELLI, Daniella et al. Diminished androgen levels are linked to irritable bowel syndrome and cause bowel dysfunction in mice. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 132, n. 2, 2022.

RAVELLA, Krishna et al. Chronic estrogen deficiency causes gastroparesis by altering neuronal nitric oxide synthase function. **Digestive diseases and sciences**, v. 58, p. 1507-1515, 2013.

RAYBOULD, Helen E.; ROBERTS, Megan E.; DOCKRAY, Graham J. Reflex decreases in intragastric pressure in response to cholecystokinin in rats. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 253, n. 2, p. G165-G170, 1987.

REED, Kathleen K.; WICKHAM, Rita. Review of the gastrointestinal tract: from macro to micro. In: **Seminars in Oncology Nursing**. WB Saunders, 2009. p. 3-14.

REYNELL, P. C.; SPRAY, G. H. The simultaneous measurement of absorption and transit in the gastro-intestinal tract of the rat. **The Journal of Physiology**, v. 131, n. 2, p. 452, 1956.

RIBEIRO, Basil. Esteroides androgênicos anabolizantes (EAAs) – uma breve revisão. **Revista de Medicina Desportiva in.**, v. 2, p. 22-2, 2011.

ROCHA, Madalena; AGUIAR, Fátima; RAMOS, Helena. O uso de esteroides androgênicos anabolizantes e outros suplementos ergogênicos—uma epidemia silenciosa. **Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo**, v. 9, n. 2, p. 98-105, 2014.

ROSCA, Adrian E. et al. Lipid profile changes induced by chronic administration of anabolic androgenic steroids and taurine in rats. **Medicina**, v. 55, n. 9, p. 540, 2019.

RUIZ-RAMIE, Jonathan J.; BARBER, Jacob L.; SARZYNSKI, Mark A. Effects of exercise on HDL functionality. **Current Opinion in Lipidology**, v. 30, n. 1, p. 16-23, 2019.

SAFFREY, Margareth J. Aging of the mammalian gastrointestinal tract: a complex organ system. **Age**, v. 36, p. 1019-1032, 2014.

SAGOE, Dominic 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.

SAKR, Hussein F. Modulation of metabolic and cardiac dysfunctions by swimming in overweight rats on a high cholesterol and fructose diet: possible role of adiponectin. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 64, n. 2, p. 231-240, 2013.

SALLAM, Hanaa S. et al. Ghrelin improves burn-induced delayed gastrointestinal transit in rats. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 292, n. 1, p. R253-R257, 2007.

SANDERS, Kenton M. et al. Regulation of gastrointestinal smooth muscle function by interstitial cells. **Physiology**, v. 31, n. 5, p. 316-326, 2016.

SCARIOT, Pedro P. et al. Continuous aerobic training in individualized intensity avoids spontaneous physical activity decline and improves MCT1 expression in oxidative muscle of swimming rats. **Frontiers in Physiology**, v. 7, p. 187763, 2016.

SCHNEEMAN, Barbara O. Gastrointestinal physiology and functions. **British Journal of Nutrition**, v. 88, n. S2, p. S159-S163, 2002.

SCHOONJANS, Renaat et al. The ¹³C-octanoic acid breath test: validation of a new noninvasive method of measuring gastric emptying in rats. **Neurogastroenterology & Motility**, v. 14, n. 3, p. 287-293, 2002.

SEGURA, Julián; CAMPO, Carlos; RUILOPE, Luis M. How relevant and frequent is the presence of mild renal insufficiency in essential hypertension?. **The Journal of Clinical Hypertension**, v. 4, n. 5, p. 332-336, 2002.

SHAHIDI, Nasrollah 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.

SHEN, Chwan-Li et al. Energy-restricted diet benefits body composition but degrades bone integrity in middle-aged obese female rats. **Nutrition Research**, v. 33, n. 8, p. 668-676, 2013.

SHEPHARD, Roy J. Limits to the measurement of habitual physical activity by questionnaires. **British journal of sports medicine**, v. 37, n. 3, p. 197-206, 2003.

SILVA, Moisés T. B. et al. Sodium bicarbonate treatment prevents gastric emptying delay caused by acute exercise in awake rats. **Journal of Applied Physiology**, v. 116, n. 9, p. 1133-1141, 2014.

SMITH JR, Daniel L.; JOHNSON, Mark S.; NAGY, Tamas. R. Precision and accuracy of bioimpedance spectroscopy for determination of in vivo body composition in rats. **International journal of body composition research**, v. 7, n. 1, p. 21, 2009.

SIMRÉN, Magnus. Physical activity and the gastrointestinal tract. **European Journal of Gastroenterology & Hepatology**, v. 14, n. 10, p. 1053-1056, 2002.

SODRÉ, Fábio L.; COSTA, Josete Conceição Barreto; LIMA, José Carlos C. Avaliação da função e da lesão renal: um desafio laboratorial. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, p. 329-337, 2007.

SOENEN, Stijn et al. Gastric emptying in the elderly. **Clinics in Geriatric Medicine**, v. 31, n. 3, p. 339-353, 2015.

SOMARATNE, Geeshani et al. Food material properties as determining factors in nutrient release during human gastric digestion: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 60, n. 22, p. 3753-3769, 2020.

SOUZA, Miguel A. N. et al. Evaluation of gastrointestinal motility in awake rats: a learning exercise for undergraduate biomedical students. **Advances in Physiology Education**, v. 33, n. 4, p. 343-348, 2009.

STRASSER, Barbara. Physical activity in obesity and metabolic syndrome. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1281, n. 1, p. 141-159, 2013.

SULLIVAN, Mack Lee et al. The cardiac toxicity of anabolic steroids. **Progress in Cardiovascular Diseases**, v. 41, n. 1, p. 1-15, 1998.

SZARKA, Lawrence A.; CAMILLERI, Michael. Methods for measurement of gastric motility. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 296, n. 3, p. G461-G475, 2009.

TJØNNA, Arnt Erik et al. Aerobic interval training versus continuous moderate exercise as a treatment for the metabolic syndrome: a pilot study. **Circulation**, v. 118, n. 4, p. 346-354, 2008.

TAKEDA, Hideo et al. Immunohistochemical localization of androgen receptors with mono-and polyclonal antibodies to androgen receptor. **Journal of Endocrinology**, v. 126, n. 1, p. 17-NP, 1990.

TELLES, Pedro V. N. et al. Effect of anaerobic resistance training on gastric emptying of solids, nutritional parameters and food behavior in the rats treated with dexamethasone. **Physiology & Behavior**, v. 245, p. 113674, 2022.

TEPAVČEVIĆ, Sanja N. et al. Sodium nitroprusside regulates the relaxation of the longitudinal muscle in the gut. **Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 63, n. 2, p. 151-155, 2008.

TRIGGLE, David John; TRIGGLE, Cris R. **Chemical Pharmacology of the Synapse**. Academic Press, 1976.

TRIGGLE, David J.; LANGS, David A.; JANIS, Ronald A. Ca²⁺ channel ligands: Structure-function relationships of the 1, 4-dihydropyridines. **Medicinal Research Reviews**, v. 9, n. 2, p. 123-180, 1989.

TURNER, Jerrold R. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. **Nature Reviews Immunology**, v. 9, n. 11, p. 799-809, 2009.

UCHIDA, Masayuki; ENDO, Noriko; SHIMIZU, Kimiko. Simple and noninvasive breath test using ¹³C-acetic acid to evaluate gastric emptying in conscious rats and its validation by metoclopramide. **Journal of Pharmacological Sciences**, v. 98, n. 4, p. 388-395, 2005.

VALENTIN, Nelson; ACOSTA, Andres; CAMILLERI, Michael. Early investigational therapeutics for gastrointestinal motility disorders: from animal studies to Phase II trials. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, v. 24, n. 6, p. 769-779, 2015.

VOUSSEN, Barbara et al. Comparison of nitrenergic signaling in circular and longitudinal smooth muscle of murine ileum. **Neurogastroenterology & Motility**, v. 30, n. 3, p. e13175, 2018.

VAN AMSTERDAM, Jan; OPPERHUIZEN, Antoon; HARTGENS, Fred. Adverse health effects of anabolic–androgenic steroids. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 57, n. 1, p. 117-123, 2010.

VENÂNCIO, Daniel 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.

VIEIRA, Rodolfo P. et al. Dose-dependent hepatic response to subchronic administration of nandrolone decanoate. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 40, n. 5, p. 842, 2008.

VOLTARELLI, Fabricio A.; GOBATTO, Claudio A.; DE MELLO, M. A. R. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 35, p. 1389-1394, 2002.

XING, Jinhong; CHEN, Jiande DZ. Alterations of gastrointestinal motility in obesity. **Obesity Research**, v. 12, n. 11, p. 1723-1732, 2004.

WALISZEWSKI, Przemyslaw et al. Molecular study of sex steroid receptor gene expression in human colon and in colorectal carcinomas. **Journal of Surgical Oncology**, v. 64, n. 1, p. 3-11, 1997.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. **Global status report on physical activity 2022**. World Health Organization, 2022. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240059153>. Acesso: 15/02/2023.

WUNSCH, Kathrin; KIENBERGER, Korbinian; NIESSNER, Claudia. Changes in physical activity patterns due to the COVID-19 pandemic: a systematic review and meta-analysis. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 4, p. 2250, 2022.

YEH, James K. et al. Effect of growth hormone administration and treadmill exercise on the body composition of rats. **Journal of Applied Physiology**, v. 77, n. 1, p. 23-29, 1994.

YOUNG, Warren G.; DEUTSCH, J. A. Intra-gastric pressure and receptive relaxation in the rat. **Physiology & Behavior**, v. 25, n. 6, p. 973-975, 1980.

YOUNG, Donald S. Effects of drugs on clinical laboratory tests. **Annals of Clinical Biochemistry**, v. 34, n. 6, p. 579-581, 1997.



UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ

ANEXO I

Comissão de Ética no
Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "DECANOATO DE NANDROLONA ASSOCIADO AO EXERCÍCIO FÍSICO DE INTENSIDADE MODERADA: CARACTERIZAÇÃO DOS EFEITOS GASTROINTESTINAIS CRÔNICOS EM RATOS.", protocolada sob o CEUA nº 3507130618 (ID 000557), sob a responsabilidade de **Armenio Aguiar dos Santos e equipe; Andrieli Taise Hauschildt** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Ceará (CEUA-UFC) na reunião de 16/10/2018.

We certify that the proposal "NANDROLONE DECANOATE TREATMENT ASSOCIATED WITH MODERATE TREADMILL EXERCISE: CHARACTERIZATION OF CHRONIC GASTROINTESTINAL EFFECTS IN RATS.", utilizing 160 Heterogenics rats (160 males), protocol number CEUA 3507130618 (ID 000557), under the responsibility of **Armenio Aguiar dos Santos and team; Andrieli Taise Hauschildt** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Ceará (CEUA-UFC) in the meeting of 10/16/2018.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **08/2018** a **06/2021**

Área: **Departamento de Fisiologia E Farmacologia**

Origem: **Biotério Central da UFC**

Espécie: **Ratos heterogênicos**

sexo: **Machos**

idade: **8 a 12 semanas**

N: **160**

Linhagem: **Wistar**

Peso: **150 a 250 g**

Local do experimento: Laboratório Escola Prof.º Luiz Capelo (LELC)

Fortaleza, 25 de outubro de 2018

Alexandre Havt Bindá

Prof. Dr. Alexandre Havt Bindá
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal do Ceará

Virginia Cláudia Carneiro Girão

Profa. Dra. Virginia Cláudia Carneiro Girão
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal do Ceará

ANEXO II



Ingredientes

Leite reconstituído integral, soro de leite reconstituído, calda de cacau (água e cacau), açúcar, minerais [cálcio (carbonato de cálcio tribásico) e ferro (pirofosfato férrico)], vitaminas [vitamina C (ácido L-ascorbato de sódio), niacina (nicotinamida), vitamina B6 (cloridrato de piridoxina), vitamina B2 (riboflavina), vitamina A (acetato de retinila), vitamina D (colecalfiferol) e vitamina B12 (cianocobalamina)], sal, estabilizantes goma guar, carragena e goma gelana e aromatizantes. **ALÉRGICOS: CONTÉM LEITE E DERIVADOS. PODE CONTER SOJA. CONTÉM LACTOSE. NÃO CONTÉM GLÚTEN. BEBIDA LÁCTEA NÃO É IOGURTE.**

Informações nutricionais

Nutriente	200ml (1 unidade)***	%VD*
Valor energético	131 kcal = 550kJ	7%
Carboidratos	22g, dos quais	7%
Açúcares	21g	**
Proteínas	4,0g	5%
Gorduras totais	3,0g, das quais	5%
Gorduras saturadas	2,0g	9%
Gorduras trans	0g	**
Gorduras monoinsaturada	0,6g	**
Gorduras poli-insaturada	0,1g	**
Colesterol	11mg	4%
Fibra alimentar	0,9g	4%
Sódio	128mg	5%
Cálcio	180mg	18%
Ferro	2,6mg	19%
Vitamina A	114 µg RE	19%
Vitamina D	2,8 µg	56%
Vitamina C	6,8mg	15%
Vitamina B2	0,23mg	18%
Niacina	2,9mg	18%
Vitamina B6	0,24mg	18%
Vitamina B12	0,46 µg	19%

* % Valores Diários de referência com base em uma dieta de 2.000 Kcal ou 8.400 kJ. Seus valores diários podem ser maiores ou menores dependendo de suas necessidades energéticas. ** VD não estabelecido. Este produto apresenta 41% menos gorduras totais quando comparado à média de mercado. Este é um alimento reduzido em valor energético.



Nandrolone decanoate impairs gastrointestinal motility and duodenal morphometry in moderately exercised rats

A.T. Hauschildt^{1,3}, L.A. Gama¹, G.T. Volpato¹, L.A. Corá², A.A.V. Silva³, M.O. Belém³, P.J.C. Magalhães³, A.A. Santos³, and M.F. Américo¹✉

¹Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Mato Grosso, Barra do Garças, MT, Brasil

²Centro de Ciências Integradoras, Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas, Maceió, AL, Brasil

³Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil

Abstract

The misuse of anabolic androgenic steroid associated or not with physical workouts disrupts gastrointestinal (GI) function homeostasis. Our goal was to investigate the effects of nandrolone decanoate (ND) and moderate swimming on the GI transit of solid meals, GI motor contractility, and intestinal histology in rats. Male Wistar rats were allocated to four groups that received intramuscular injections of ND (5.0 mg/kg) or vehicle (60.0 mL) and were submitted or not to swimming sessions (60 min, 5% body weight overload) for 4 weeks. Gastric emptying, intestinal transit, *in vitro* GI contractility, intestinal morphometry, and duodenal mucosal mast cells were evaluated in all experimental groups. ND treatment accelerated gastric emptying, slowed small intestine transit time, enhanced gastric carbachol-mediated reactivity, decreased crypt depth and villus height, reduced mucosal thickness, and increased the circular and longitudinal muscle layer thickness of the duodenum in sedentary rats. Moderate exercise accelerated intestinal transit time and reduced submucosa thickness. In vehicle-treated animals, a strong negative correlation was found between intestinal transit and mucosal mast cells, which was reversed by ND treatment. Combining ND treatment and swimming accelerated gastric emptying, increased duodenal cholinergic reactivity, inhibited the sodium nitroprusside relaxing response, increased the number of duodenal mast cells, decreased villus height, and increased the thickness of all muscle layers. ND changed the morphological and functional properties of the GI tract over time, with intense dysmotility, especially in sedentary animals, but moderate exercise seemed to have played a compensatory role in these harmful effects in the gut.

Key words: Anabolic androgenic steroids; Gastrointestinal motility; Gastrointestinal transit; Swimming

Introduction

Anabolic androgenic steroids (AAS) are synthetic molecules chemically similar to testosterone that were originally synthesized for treating hypogonadism (1). Nandrolone decanoate (ND) is one of the most popular injectable drugs prescribed as anabolic therapy for several clinical conditions including burns, radiation therapy, surgery, trauma, anemia, chronic kidney disease, and osteoporosis in postmenopausal women, among others (2). However, over the years, ND has been commonly misused in higher than therapeutic doses for improving physical performance and body composition (3). Supratherapeutic doses can lead to a wide range of side effects in several organs and systems, both in animals and humans (2,4). ND has shown deleterious effects on the nervous system, impairing central neurotransmission via GABA_A, serotonin, and dopamine receptors, decreasing cell proliferation and

neurogenesis, and impairing cardiac and vascular autonomic regulation (1,5,6).

The gastrointestinal (GI) tract is a potential target of endogenous AAS (7–9) and thus susceptible to the action of testosterone derivatives - either by direct interaction or aromatization into estradiol (2). AAS misuse can disturb gut physiology by eliciting malabsorption, nausea, vomiting, diarrhea, GI irritation, and abdominal pain (10). Furthermore, physical activity has been prescribed for the management of gut dysmotility (11), but the effects of physical exercise on GI motor behavior are controversial (12–14) and influenced by differences in experimental conditions and protocols (13).

Gut motility is closely controlled by a complex neuroendocrine network, including mucosal mast cells (15). Mast cells are widely distributed in the gut and influence

Correspondence: M.F. Américo: <madileine.americo@ufmt.br>

Received February 16, 2024 | Accepted May 6, 2024

blood flow, smooth muscle contractions, peristalsis, mucosal secretion, and immune response (16). Several stimuli activate mast cells, which release agents that can disrupt the integrity of the gut epithelial barrier and its permeability (16). Moreover, the direct interaction between mast cells and enteric nervous system cells may also alter the motility patterns of the gut (15).

The relationship between AAS misuse, physical exercise, and GI motility, including mast cell activation, remains unclear. Studies using animal models provide valuable information about the side effects of AAS misuse in several conditions. Additionally, animal models are also useful in addressing issues regarding pathophysiological mechanisms, generating solid experimental evidence with a potential contribution to translational research (17). Thus, the present study investigated the combined effects of ND and moderate swimming workout on the gut transit of a solid meal, GI motor contractility, intestinal morphometry, and mucosal mast cells in rats.

Material and Methods

Ethical approval

All of the experimental procedures were conducted according to the National Institutes of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, following the Animal Research: Reporting of *In Vivo* Experiments protocol, and after approval by the Ethics Committee on Animal Research of the Federal University of Mato Grosso (protocol No. 23108.049862/13-3).

Animals and experimental design

Male Wistar rats (weighing initially 250–300 g, n=28 animals) were randomly assigned to one of four groups (n=7 animals/group) treated with vehicle (peanut oil) or ND: sedentary vehicle (SV; sedentary animals treated with vehicle), exercise vehicle (EV; animals trained to swim and treated with vehicle), sedentary ND (SN; sedentary animals treated with ND), and exercise ND (EN; animals trained to swim and treated with ND). The animals were housed in polycarbonate cages with wire lids and hardwood chips for bedding and were maintained under controlled conditions of temperature ($22 \pm 1^\circ\text{C}$), humidity ($50 \pm 10\%$), and a 12-h light/dark cycle with free access to chow and water. Body weight was measured daily at 7:00 am and weekly weight gain was determined as the difference between the weight on the last and first day of the week. These measurements were used to assess the correlation between weight loss and ND treatment.

Drug and vehicle treatment protocols

ND (Deca-Durabolin, Schering-Plough, Brazil) at 5.0 mg/kg or peanut oil (60.0 mL), according to the experimental group, was administered by intramuscular injection 5 days per week for 4 weeks. The injections were given

alternately in the left and right hind leg. ND dose was based on previous studies in rodents (18,19).

Exercise protocol

The exercise program was adapted from de Araújo et al. (20). Our study adopted a swimming protocol with a load of 5% of body weight. The intensity of this protocol is considered moderate. However, to confirm this information, blood lactate was measured. Two weeks before the tests, rats were exposed to water for 10 consecutive days. Firstly, they were placed in tanks (80x150 cm) filled to a maximum depth of 10 cm of water at $31 \pm 1^\circ\text{C}$ for 10 min daily for 5 days. For the next 5 days, the exposure time increased gradually by 10 min per day until a maximum of 60 min. At this stage, two animals from the trained group were simultaneously placed in the same tank (B100 cm water depth) and the sedentary animals remained in the shallow water (10 cm). Adaptation periods were necessary to reduce physiological changes due to stress since forced swimming was not applied (20,21).

The exercise protocol consisted of moderate-intensity swimming. Trained rats were placed individually for 60 min in the same tanks filled with water ($31 \pm 1^\circ\text{C}$) to a depth of 100 cm, and with a 5% body weight load attached to their tail. Swimming sessions were performed 5 days/week for 4 weeks in the morning and immediately after ND or vehicle administration. Sedentary animals remained in shallow water for the same time interval without the weight load (21). Trained animals were kept in the swimming status throughout the training session under continuous supervision by the authors, preventing them from reaching the bottom or hanging on the side of the tank (20,22). Animals that showed persistent immobility in the tank were excluded from the study (2 in the EV group and 1 in the EN group), thus only the active ones remained in the study (n=7).

Body composition and blood lactate assessment

Bioimpedance spectroscopy (Vet BIS1, ImpediMed, Australia) was performed after short-acting anesthesia with 50 mg/kg ketamine (*ip*, Cetamin, Syntec, Brazil) plus 5 mg/kg xylazine hydrochloride solution (*ip*, Xilazin, Syntec) on days 1, 14, and 28. The following parameters were used to calculate body composition: total body water (TBW), intracellular fluid (ICF), extracellular fluid (ECF), fat-free mass (FFM), fat mass (FM), and body mass index (BMI). Blood samples (25 mL) were collected from the tail vein immediately after the training sessions on day 26 of treatment to determine blood lactate concentrations using the Accutrend test-strip system (Accutrend Plus, Roche Diagnostics, Germany).

Gastrointestinal transit measurements

Gut motility was assessed by alternating current biosusceptometry (ACB) using an ACB magnetic sensor (Br4-Science, Brazil). This technique was previously

applied to evaluate GI motility in rodents (23,24). Briefly, the ACB sensor detects magnetic signals generated from a magnetic test meal, whose signal intensity depends on the amount of magnetic material and the distance between the sensor and the magnetic sample (23). Ferrite powder ($\text{MgZnFe}_2\text{O}_3$, Imag, Brazil) was previously incorporated into the rats' laboratory chow and served as the nonabsorbable magnetic marker. Detailed technical information has been reported elsewhere (24).

After fasting overnight, the animals ingested the magnetically marked chow (0.4 g ferrite powder and 1.6 g laboratory chow). Afterward, the ACB sensor was gently placed on the animals' abdominal surface to monitor the displacement of the magnetically marked chow from the gastric to the cecum projection. These measurements were performed in awake rats at regular 15-min intervals for at least 6 h (24) and repeated in all animals on days 1, 14, and 28 after treatments.

Gastric emptying (GE) and cecum arrival (CA) were determined as differences in the intensity of the magnetic signals from the stomach to the cecum. Data were analyzed in Origin software (OriginLab Northampton, USA), and statistical moments (25) were applied to determine the mean GE time (defined as the time t [in minutes] at which a mean amount of the magnetic meal was emptied from the stomach, calculated as the area under the emptying curve) and the mean CA time (defined as the time t [in minutes] at which an increase in the mean amount of magnetic meal arrived in the cecum, calculated as the area between the cecum arrival curve and maximal cumulative values). Mean small intestine transit time was quantified as the difference between CA time and GE time (24,25).

Tissue sample collection

At the end of the 28-day protocol, the animals were euthanized by an intraperitoneal overdose of 240 mg/kg ketamine (Cetamin, Syntec) plus 45 mg/kg xylazine hydrochloride solution (Xilazin, Syntec).

In vitro gastrointestinal contractions

Immediately after euthanasia, isolated strips of the gastric fundus, gastric antrum, and duodenum were collected. The stomach was opened along the lesser curvature, and 1 cm-long strips were cut from the antrum and fundic region. The duodenum was cut into 1 cm-long longitudinal segments. Tissues were maintained in physiological solution (modified Tyrode solution: 136 mM NaCl, 5 mM KCl, 0.98 mM MgCl_2 , 2 mM CaCl_2 , 0.36 mM NaH_2PO_4 , 11.9 mM NaHCO_3 , and 5.5 mM glucose) at room temperature and rapidly transferred to bath chambers for contractile recordings. For this purpose, tissues were mounted while considering the longitudinal orientation of the smooth muscle layers. Experimental bath chambers (5 mL) were used to simulate physiological conditions and maintain tissue viability. Each bath chamber was filled with Tyrode solution and continuously

aerated with a mixture of 5% CO_2 in 95% O_2 , maintained at 37°C and pH 7.4. Tissues were tied with inextensible cotton thread, with one extremity attached to a fixed pin in the bath chamber and the other extremity attached to a force transducer (MLT0201, AD Instruments, Australia) coupled to a data acquisition system (PowerLab 8/30, AD Instruments). A basal tension of 1 g was applied to the tissues. They were initially maintained under these conditions for 20–30 min for equilibration, followed by the renewal of Tyrode solution and tension adjustments at 10 min intervals (26,27).

Tissue viability was evaluated by an initial addition of 60 mM KCl. Segments without spontaneous activity were discarded. The strips were subjected to increasing concentrations of KCl (10–140 mM), carbachol (CCh; 0.01–30 mM), isoproterenol (ISO; 0.1–30 mM), and sodium nitroprusside (SNP; 0.1–30 mM) to generate concentration-effect curves for contractile or relaxant agents, which were obtained from the asymptotic value recorded at each concentration. Relaxing responses were measured after initial stimulation with 10 mM CCh. *In vitro* GI contractile activity data are reported as a percentage of the maximal tension attained during the initial 60 mM KCl challenge (27).

Histological analyses

Tissue samples of the duodenum were fixed in Methacarn (60% methanol, 30% chloroform, and 10% glacial acetic acid), dehydrated in an ascending series of alcohol (70, 90, 96, and 100%), cleared in xylene, and embedded in paraffin. Semiserial 4-mm sections were cut with a microtome (HM-355S Automatic Microtomes, Thermo Scientific, Germany) and stained with 0.5% toluidine blue or hematoxylin and eosin (HE). Toluidine blue-stained sections were used to identify mast cells in the mucosa. Mast cell granules exhibit metachromatic staining after the uptake of toluidine blue dye. Sections of the duodenum were randomly selected from each rat. Twenty well-oriented villus-crypt units (VCU) were examined per animal and the number of mucosal mast cells per VCU was recorded. Hematoxylin and eosin staining were used for the morphometric assessment of the total intestinal wall, villus height, crypt depth, and thickness of the mucosa, submucosa, and external muscle (circular and longitudinal layers) (28). Images were captured with an optical microscope (Zeiss, Germany) coupled to a high-resolution camera (Moticam, Hong Kong) and analyzed using ImagePro software (Media Cybernetics, USA). Eight histological sections were photographed per animal, and 10 different measurements were obtained for each parameter. The number of mucosal mast cells and morphometry were assessed in a blinded manner to avoid bias.

Statistical analyses

Statistical analysis was performed using the Prism software (GraphPad, USA). The Shapiro-Wilk normality