

UNIVERSIDADE SÃO JUDAS TADEU

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM EDUCAÇÃO FÍSICA

EFEITOS DO USO PRÉVIO DE PROPIONATO DE TESTOSTERONA
SOBRE A MORFOLOGIA DO MÚSCULO GASTROCNÊMIO DE
RATOS WISTAR ADULTOS SUBMETIDOS AO TREINAMENTO
RESISTIDO

ÍTALO MÁRCIO LOURENÇO DO CARMO

SÃO PAULO

2021

ÍTALO MÁRCIO LOURENÇO DO CARMO

**EFEITOS DO USO PRÉVIO DE PROPIONATO DE
TESTOSTERONA SOBRE A MORFOLOGIA DO MÚSCULO
GASTROCNÊMIO DE RATOS WISTAR ADULTOS
SUBMETIDOS AO TREINAMENTO RESISTIDO**

Dissertação apresentada ao programa de mestrado da Universidade Judas Tadeu, como requisito para obtenção do título de Mestre em Educação Física.

Área de concentração: Escola, Esporte, Atividade Física e Saúde.

Linha de Pesquisa: Atividade Física e Disfunções Orgânicas.

Orientador: Profº. Drº. Erico Chagas Caperuto

São Paulo

2021

**Ficha catalográfica elaborada pela
Biblioteca da Universidade São Judas**

Bibliotecária: Adriana Aparecida Magalhães - CRB

8/10264

Carmo, Ítalo Márcio Lourenço do.

C287e Efeitos do uso prévio de propionato de testosterona sobre a morfologia do músculo gastrocnêmio de ratos Wistar adultos submetidos ao treinamento resistido / Ítalo Márcio Lourenço do Carmo. - São Paulo, 2021. f. 50: il.; 30 cm.

Orientador: Erico Chagas Caperuto.

Dissertação (mestrado) – Universidade São Judas Tadeu, São Paulo, 2021.

1. Treinamento resistido. 2. Esteroide. 3. Modelo experimental. 4. Saúde. I. Rodrigues, Graciele Massoli. II. Universidade São Judas, Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Educação Física. III. Título.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Erico Chagas Caperuto pelo acolhimento, apoio e toda confiança depositada.

Ao meu co-orientador, amigo e irmão Walter Krause Neto, por toda paciência, confiança e amizade. E por todas as discussões e ensinamentos que me fez tornar mais criterioso nas minhas escolhas.

A querida professora Eliane Florencio Gama, por ter me apresentado ao programa e por todas as palavras de perseverança.

Ao amigo professor Gilberto Laurentino por toda confiança e ensinamentos que auxiliaram no meu crescimento acadêmico.

Ao professor Carlos Alberto Anaruma por disponibilizar o laboratório da UNESP-Rio Claro para nos dar suporte técnico para a preparação dos materiais.

Ao querido amigo e professor Adriano Polican Ciena da UNESP-Rio Claro, por toda colaboração na fase de coleta e preparação dos materiais.

Ao técnico do laboratório de morfologia da UNESP-Rio Claro Beto e ao aluno Jurandyr no auxílio das coletas e preparação dos materiais.

Aos meus amigos e parceiros de laboratório, Vitor Lopes, Gabriel Henrique, Laura Portela, Vagner Munhoz, Amanda Massoni, Beatriz Massensini e Jackson Torres por todo apoio que foi dado para a conclusão deste trabalho. Vocês foram fundamentais.

Ao meu amigo de curso Diego Queiroz por sempre me incentivar e apoiar ao longo desses dois anos e meio de luta.

A professora Maria de Jesus Miranda, pela oportunidade de estudar em uma das universidades de referência em educação física no país.

Ao chefe dos laboratórios de biologia André Hanne, pela paciência e auxílio na fase experimental.

Ao técnico Ricardo e a Denise veterinária responsável do biotério USJT, por toda ajuda durante todo o processo de treinamento e cuidado dos animais.

Dedico esta pesquisa a minha querida esposa Carla Catarina Salerno por todo o incentivo, gestos de carinho e palavras de conforto que me ajudaram a seguir com firmeza todo o período deste trabalho.

Também dedico aos meus pais e meus irmãos por estarem sempre ao meu lado me apoiando e incentivando.

RESUMO

Para alcançar o aumento da força e massa muscular, tanto atletas de alto rendimento quanto praticantes recreacionais utilizam o treinamento resistido (TR) como forma de buscar tais desfechos. Além disso, estratégias, como o uso de esteroides androgênicos anabolizantes (EAA), são utilizadas concomitantemente com o TR para potencializar o efeito sobre o aumento da massa muscular. Entretanto, não está claro na literatura científica se a administração prévia de EAA potencializaria as alterações morfofuncionais adquiridas durante um período *a posteriori* de TR. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi analisar os efeitos do uso prévio de EAA associado ao TR sobre a morfologia do músculo gastrocnêmio de ratos Wistar jovens. Ratos Wistar machos, com idade entre 3 à 4 meses, foram divididos em 4 grupos: grupo CI - controle inicial dos procedimentos. (n = 7); grupo CT4 – controle experimental submetido à administração prévia de propionato de testosterona durante 4 semanas (n = 7); grupo TRT - administração prévia de propionato de testosterona durante 4 semanas e submetidos ao protocolo de treinamento resistido (n = 7); grupo RT - submetidos ao protocolo de treinamento resistido (n = 7). Inicialmente, todos os grupos foram submetidos ao protocolo de adaptação ao equipamento de treinamento, familiarização e testes de carga carregada máxima (TCCM). O TCCM foi aplicado antes e após o período de TR. O TR (10 escaladas/sessão, carga de 60%TCCM, 3x/semana, 120 segundos de pausa) foi realizado em modelo de treinamento resistido em escada (TRE) durante 10 semanas. A administração de propionato de testosterona (PT) foi feita 2x/semana com dose de 10 mg/kg do animal. Os grupos CT4, e TRT, foram submetidos a administração prévia de EAA somente por 4 semanas. Após o período de experimentação, os animais foram eutanasiados em câmara de gás, e o músculo gastrocnêmio do membro inferior direito retirado e preparados para análise em microscopia de luz e histoquímica. Logo após o término do TRE, quantificamos a carga máxima carregada e a razão peso do músculo/peso corporal do animal. Para as análises morfológicas usamos a morfometria para medir a área de secção transversa das fibras do tipo I, IIa e IIx e estereologia para estimar a densidade numérica das fibras do tipo I, IIa, IIx e mionúcleos. Os dados foram analisados estatisticamente usando média e desvio padrão. Para comparar o peso corporal inicial e final de cada grupo utilizamos análise de variância de duas vias (2-way ANOVA post hoc Bonferroni). Para comparar a massa muscular entre os grupos usamos análise de

variância para uma via (1-way ANOVA post hoc Tukey). Para comparar os grupos TRT e RT no desfecho volume total de carga final utilizamos teste-t de Student para amostras independentes. Para comparação do volume de carga e carga por escalada ao longo das 10 semanas de TRE entre e dentro dos grupos TRT e RT usamos 2-way ANOVA para medidas repetidas (post hoc Tukey). Para comparar os momentos T1, T2 e T3 do TCCM dentro e entre os grupos TRT e TR, utilizamos 2-way ANOVA para medidas repetidas (post hoc Tukey). Para análise dos desfechos ASTf e N/f, utilizamos 1-way ANOVA (post hoc Tukey). Os seguintes resultados significativos foram encontrados: 1) a administração de PT por 4 semanas aumentou a razão N/f sem alterar o tamanho da ASTf do músculo Gastrocnêmio e a capacidade de carregar carga dos roedores; 2) a administração de PT não alterou a massa da próstata e nem testículos dos roedores; 3) a administração prévia de PT, por curto prazo, potencializou o aumento da ASTf média do Gastrocnêmio após 10 semanas de TRE. Assim, podemos concluir que a administração de PT, por curto prazo, prévia ao TR é capaz de elicitar maior razão N/f e tamanho da ASTf média do músculo Gastrocnêmio de ratos Wistar adultos jovens do que treinamento resistido isolado.

Palavras-chave: treinamento resistido; esteroide; modelo experimental.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Corte transversal do músculo gastrocnêmio de rato Wistar. Localização periférica do mionúcleo (setas azul). Coloração H.E. Aumento 400x..... 11
- Figura 2** - Representação da teoria do domínio mionuclear proposta por Cheek et al. (1971). O aumento da AST nas primeiras semanas de TR é suportável por cada mionúcleo já existente. No entanto, nas semanas finais do período de TR leva a uma expansão que ultrapassa a quantidade de área que cada mionúcleo é capaz de gerenciar, tornando necessário a adição de novos mionúcleos. Adaptado de Bamman; Roberts e Adams (2018). 16
- Figura 3** - Equipamento para treinamento resistido em modelo experimental a) Ilustração das dimensões da escada utilizada para treinamento resistido em modelo experimental. – b) Estrutura do equipamento para treinamento resistido em modelo experimental. – c) Momento em que o rato escala a escada durante o protocolo. Retirado de Neto et al. (2016) 24
- Figura 4** - Desenho experimental – Legenda: CI: Controle Inicial; CT4: Controle Testosterona 4 semanas; TR: Treinamento Resistido; TRT: Testosterona 4 semanas +Treinamento Resistido. 26
- Figura 5** - Imagem representativa dos tipos de fibras musculares após preparação histoquímica em miosina ATPase. Fibras escuras são tipo I e claras tipo II. Aumento de 400x. 27
- Figura 6** - Volume total de carga ao final do período de treinamento dos grupos placebo 4 semanas + treinamento resistido (TR) e testosterona 4 semanas + treinamento resistido (TRT). 28
- Figura 7** - Volume de carga (peso x número de escaladas) semanal. A - grupo placebo 4 semanas + treinamento resistido (RT); B - testosterona 4 semanas + treinamento resistido (TRT); C – comparação do volume de carga entre os grupos RT e TRT.... 29
- Figura 8** - Carga por escalada semanal. A - grupo placebo 4 semanas + treinamento resistido (RT); B - testosterona 4 semanas + treinamento resistido (TRT); C – comparação da carga por escalada entre os grupos RT e TRT. 30

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 - Classificação das fibras musculares com suas respectivas características.	10
Tabela 1 - Testes de carga carregada máxima dos grupos testosterona 4 semanas + treinamento resistido (TRT) e placebo 4 semanas + treinamento resistido (RT) nos momentos linha de base (T1), pós 4 semanas (T2) e pós 14 semanas (T3).	31
Tabela 2 - Comparação dos desfechos peso corporal inicial e final, razão massa muscular/peso corporal (Gastro/PC), massa muscular do Gastrocnêmio, massa da próstata, razão próstata/peso corporal (Prost/PC), massa do testículo esquerdo (E), razão testículo esquerdo/peso corporal (TestE/PC), massa do testículo direito (D) e razão testículo direito/peso corporal (TestD/PC) entre os grupos controle inicial (CI), controle 4 semanas de testosterona (CT4), 4 semanas de placebo + treinamento resistido (RT) e 4 semanas de testosterona + treinamento resistido (TRT).	32
Tabela 3 - Descrição dos valores da área de secção transversa (ASTf [μm^2]) dos tipos de fibras musculares (tipo I, II e média) e razão de mionúcleos por fibras muscular (razão N/f) entre os grupos controle inicial (CI), controle 4 semanas de testosterona (CT4), 4 semanas de placebo + treinamento resistido (RT) e 4 semanas de testosterona + treinamento resistido (TRT).	33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AST - Área de secção transversa - *Cross-Sectional Area*

ASTf - Área de secção transversa da fibra muscular – *Fiber Cross-Sectional Area*

CO₂ - Dióxido de carbono

CS - Célula satélite

EAA - Esteroide androgênico anabolizante

GnRH - Hormônio liberador de gonadotrofinas – *Gonadotropin-Releasing Hormone*

HM - Hipertrofia Muscular

JNK - Proteína quinase c-Jun NH₂-terminal

LH - Hormônio luteinizante – *Luteinizing Hormone*

MyoD - Fator D de diferenciação miogênica

PCa - peso corporal do animal

PT - Propionato de testosterona

RA - Receptor de androgênio – *Androgen Receptor*

SHBG - Globulina transportadora de hormônios sexuais – *Sex Hormone-Binding Globulin*

T - Testosterona

TCCM - Teste de carga carregada máxima

TME - Tecido musculoesquelético

TR - Treinamento resistido

TRE - Treinamento resistido em escada (*ladder-based resistance training*)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	5
2	REVISÃO DE LITERATURA	7
2.1	Tecido Musculoesquelético.....	7
2.1.1	O estudo morfológico e seus procedimentos quantitativos.....	7
2.1.2	Morfologia Musculoesquelética.....	9
2.2	Adaptações do tecido musculoesquelético e o treinamento resistido.....	12
2.2.1	Hipertrofia muscular.....	12
2.2.2	Síntese Proteica.....	12
2.2.3	Células Satélites e Mionúcleos.....	14
2.3	Esteróide androgênico anabolizante e a morfologia do tecido musculoesquelético.....	17
2.3.1	Testosterona.....	17
2.3.2	Administração de testosterona exógena e o treinamento resistido.....	18
2.3.3	O uso contínuo dos esteróides androgênicos anabolizantes e seus efeitos colaterais.....	20
3	JUSTIFICATIVA	21
4	OBJETIVO	22
4.1	Objetivo Geral.....	22
4.2	Objetivos Específicos.....	22
5	MÉTODOS	23
5.1	Treinamento Resistido.....	23
5.2	Administração do esteroide androgênico anabolizante.....	25
5.3	Eutanásia, coleta e preparação do material para análise.....	25
5.4	Análise Estatística.....	27
6	Resultados	28
6.1	Parâmetros de treinamento e testes de carga carregada máxima.....	28

6.2	Peso corporal e massa gastrocnêmio, próstata e testículos	31
6.3	Área de secção transversa e razão N/f	32
7	DISCUSSÃO	34
8	CONCLUSÃO	39
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

1 INTRODUÇÃO

A hipertrofia muscular (HM) é definida como o aumento axial da área de secção transversa muscular (AST), mensurada via ressonância magnética, tomografia computadorizada, ultrassom ou por biópsias musculares (Joanisse *et al.*, 2020). Este fenômeno é caracterizado como resultado da ação de fatores hormonais ou mecânicos sobre a membrana das fibras musculares que, conseqüentemente, desencadeiam uma cascata de sinalizações intracelulares, cujo desfecho principal é a síntese proteica (Gonzalez *et al.*, 2016). Dentre as inúmeras estratégias capazes de estimular a HM, destacam-se o treinamento resistido (TR) e a administração de esteroides androgênicos anabolizantes (AAS).

O TR pode ser definido como qualquer exercício físico que estimule os músculos esqueléticos a contraírem contra uma determinada resistência externa, sendo a intervenção primária usada para desenvolver força e HM (Hass; Feigenbaum; Franklin, 2001). O desenvolvimento de HM a partir de sessões subseqüentes de TR decorre da perturbação da membrana muscular pelo stress mecânico induzido pelo exercício, processo conhecido como mecanotransdução (Wackerhage *et al.*, 2019). Em seguida, uma cascata de sinalizações intracelulares, associada a proliferação de células satélites, aumento do número de mionúcleos e ribossomos, estimula a síntese proteica (Bamman; Roberts; Adams, 2018). A cronicidade deste processo, em conjunto com alterações epigenéticas, possibilita o desenvolvimento da HM a médio e longo prazo (Turner; Seaborne; Sharples, 2019).

Os esteroides androgênicos anabolizantes (EAA) são hormônios sintéticos estruturalmente relacionados à molécula de testosterona (T). Os AAS possuem sua estrutura química alterada com o intuito de aumentar a meia vida hormonal ou diminuir seus efeitos colaterais (Giagulli *et al.*, 2011). Semelhantemente a T, ao penetrar na membrana da célula muscular, os EAA se ligam aos receptores de androgênios (RA), proteínas encontradas no citosol da célula, deslocando-se até o núcleo da célula. Em seguida, o complexo hormônio-receptor estimula o processo de transcrição e, subseqüente, a tradução que ocorre já fora do núcleo, no citoplasma pelos ribossomos. Este processo leva a formação de novas proteínas estimuladoras do aumento da AST muscular

(Basualto-Alarcón *et al.*, 2013; Howard *et al.*, 2020). Além disso, estudos têm mostrado que os EAA também são capazes de aumentar o número de células satélites e mionúcleos por fibra muscular (N/f), fatores fundamentais para a HM das fibras tipo I e II (Sinha-Hikim *et al.*, 2002; Sinha-Hikim *et al.*, 2003).

Embora a administração isolada dos EAA seja conhecida por aumentar tanto a força quanto a massa muscular de indivíduos jovens de maneira dose-dependente, a associação destes fármacos com o TR potencializa seus efeitos, promovendo uma condição anabólica ainda mais favorável sobre os ganhos de HM (Kadi, 1999; Bhasin *et al.*, 2001; Woodhouse *et al.*, 2003). No entanto, apesar dos satisfatórios ganhos de massa muscular, a administração destes fármacos pode acarretar inúmeros efeitos colaterais como alterações hepáticas, renais, cardíacas e até a morte (Albano *et al.*, 2021). Por conta disto, a utilização de fármacos anabólicos, em doses supra-fisiológicas e para indivíduos não doentes, é contraindicada pela comunidade médica. Todavia, a busca por estratégias hormonais que estimulem satisfatoriamente a HM, porém com pouco, ou nenhum, efeito colateral, faz-se necessária.

Recentemente, Egner *et al.* (2013) demonstraram que a utilização de implantes com propionato de testosterona (PT), por curto prazo (2 semanas), previamente ao processo de overload funcional, resultou em maiores e mais significativos ganhos de HM. Segundo os autores, os efeitos gerados pela exposição prévia do EAA facilitaram a HM, traduzindo-se em um potente efeito ergogênico. No entanto, no modelo experimental proposto por Egner *et al.* (2013), a utilização de camundongos fêmeas pode ter sido um fator importante para os resultados encontrados, vez que fêmeas são mais sensíveis a T devido as menores concentrações endógenas circulantes deste hormônio. Além disso, o protocolo de sobrecarga utilizado pelos autores para estimular o HM foi realizado por meio do overload funcional, estratégia com características diferentes aquelas usadas no TR.

A partir disto, decidimos propor um experimento com a seguinte pergunta de pesquisa: Qual é o efeito da administração supra-fisiológica de PT de curto prazo, previamente ao protocolo de TR, sobre a força e HM de ratos machos? Nossa hipótese estabelece que a exposição prévia ao hormônio será eficiente em promover maiores ganhos musculares em comparação ao grupo submetido ao TR isolado. Portanto, o objetivo deste estudo foi investigar os efeitos da

administração prévia de PT, por curto prazo, sobre a morfologia do músculo gastrocnêmio de ratos Wistar machos adultos-jovens submetidos ao TR.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Tecido Musculoesquelético

2.1.1 O estudo morfológico e seus procedimentos quantitativos

Morfologia é a ciência que estuda a forma e a estrutura de tecidos, células e organelas celulares (Aronoff; Fudeman, 2011). Para se quantificar essas estruturas a morfologia faz uso de métodos específicos, como a morfometria e estereologia, que permitem extrair o máximo de informações contidas na amostra analisada (Mandarim-De-Lacerda, 2003).

Toda estrutura morfológica, seja um órgão, tecido ou célula, apresenta um formato tridimensional; entretanto, para que sejam quantificadas, faz-se necessário, na maior parte das vezes, cortes bidimensionais (Ross; Pawlina, 2016). A morfometria tem como objetivo quantificar parâmetros bidimensionais como a área, perímetro e comprimento (Mandarim-De-Lacerda, 2003). Já a estereologia, baseia-se nas informações obtidas a partir de um corte bidimensional para determinar medidas tridimensionais, tais como, densidade de volume, densidade numérica e densidade de superfície (Mandarim-De-Lacerda, 2003).

O estudo da morfologia por meio das ferramentas morfoquantitativas permite fazer inferências a respeito das alterações geradas por determinados estímulos (Koehl, 1996). Para realizar análise do tecido faz-se necessário tomar alguns cuidados em seu preparo para que suas características morfológicas não sejam alteradas [ex. artefatos presentes no momento pós-fixação] (Pérez-Olvera; Balderas; Martínez, 2012). Esse preparo é dividido em três etapas: fixação, inclusão e coloração (Junqueira; Carneiro, 2018).

O processo de fixação se inicia logo após a remoção do tecido, que tem como objetivo evitar a autólise (digestão do tecido por enzimas da própria célula), preservando grande parte da estrutura coletada (Junqueira; Carneiro, 2018). Métodos de fixação química (formaldeído a 4% ou glutaraldeído) e fixação física

(congelamento) são utilizados no preparo inicial do tecido coletado (Ross; Pawlina, 2016; Junqueira; Carneiro, 2018).

Após feita a fixação por formaldeído ou glutaraldeído, a amostra é preparada para inclusão, podendo ser feita tanto por parafina ou resina plástica, tornando possível a preparação para o corte histológico (Ross; Pawlina, 2016; Junqueira; Carneiro, 2018). Por vez, a fixação por congelamento instantâneo, feito em nitrogênio líquido, torna rapidamente o tecido rígido, deixando-o pronto para ser seccionado (Ross; Pawlina, 2016; Junqueira; Carneiro, 2018). A partir daí, cortes variando entre 1 e 10 μm de espessura são feitos e o material biológico é conduzido a marcação histoquímica.

Para que seja possível a análise pela microscopia de luz, os cortes devem passar pelo processo de coloração, tornando evidente todos os seus componentes (Ross; Pawlina, 2016; Junqueira; Carneiro, 2018). A hematoxilina, uma substância de natureza básica, é utilizada para corar em azul o núcleo das células, enquanto a eosina, substância de natureza ácida, evidencia em cor-de-rosa o citoplasma (Ross; Pawlina, 2016; Junqueira; Carneiro, 2018).

Substâncias como a hematoxilina e a eosina são utilizadas para apresentar as características estruturais do tecido (Ross; Pawlina, 2016). Outros procedimentos químicos específicos são usados para fornecer informações a respeito da funcionalidade das células (Ross; Pawlina, 2016). Por exemplo, o método histoquímico é utilizado para marcação da enzima miosina ATPase, que apresenta diferenças de coloração quando a amostra é mergulhada em solução com diferentes pHs (Staron, 1997). Essas colorações são correlacionadas com específicas propriedades contráteis das fibras musculares (Staron, 1997).

Após feito a preparação da amostra, é selecionado o corte mais adequado para cada tipo de análise (Pérez-Olvera; Balderas; Martínez, 2012). Um microscópio acoplado a uma câmera e um monitor permite fotografar as áreas que serão analisadas (Pérez-Olvera; Balderas; Martínez, 2012). Posteriormente, utilizam-se programas com sistema de contagem de pontos, tais como, AxioVision ou MATLAB, permitindo medir alguns parâmetros, como densidade numérica e de volume (Trovato *et al.*, 2016).

Sendo assim, por meio de ferramentas morfoquantitativas específicas, como a morfometria, podemos medir a área de secção transversa (AST – *cross-sectional area*) e o diâmetro de fibras musculares individualmente (Krause Neto

et al., 2017). Por outro lado, a estereologia permite medir a densidade de volume (Vv) e a densidade numérica (Nv) das fibras musculares (Krause Neto *et al.*, 2017).

2.1.2 Morfologia Musculoesquelética

O corpo humano possui mais de 600 músculos com funções específicas (Blaauw; Schiaffino; Reggiani, 2011). O tecido musculoesquelético (TME) é o responsável pela produção de movimento, ocupando aproximadamente 40% da massa corporal total (Gollnick; Matoba, 1984).

A área de secção transversa (AST) de um músculo esquelético possui arranjos de fibras musculares que por sua vez demonstram diferentes mosaicos (Pette; Staron, 1990). Cada fibra muscular pode variar de 20 a 80 μm de diâmetro em mamíferos (Lieber, 1986). Outros componentes, tais como capilares, responsáveis pelo fornecimento de oxigênio e nutrientes (Maxwell; White; Faulkner, 1980), e mionúcleos, responsáveis pela síntese proteica (Schmalbruch; Hellhammer, 1977) fazem parte da estrutura do TME .

As fibras musculares podem ser classificadas de acordo com suas características morfológicas, bioquímicas ou mecânicas (Staron, 1997). Segundo Scott; Stevens e Binder–Macleod (2001), a classificação dos tipos de fibras musculares pode variar de acordo com suas propriedades contráteis (lenta ou rápida), conteúdo de capilares e mioglobinas (branca, intermediária ou vermelha), características metabólicas (glicolítica ou oxidativa) e expressão da isoforma da cadeia pesada de miosina (*myosin heavy chain* (MHC) tipo I, IIa, IIx e IIb).

As fibras musculares do tipo I possuem velocidade de contração lenta e predominância do metabolismo oxidativo (resistentes à fadiga e ricas em mioglobina) (Scott; Stevens; Binder–Macleod, 2001; Blaauw; Schiaffino; Reggiani, 2011). Por outro lado, as fibras musculares do tipo IIx/b apresentam rápida velocidade de contração, metabolismo predominantemente glicolítico e ausência de mioglobinas (Scott; Stevens; Binder–Macleod, 2001; Schiaffino; Reggiani, 2011). De forma intermediária, as fibras do tipo IIa possuem rápida velocidade de contração e moderada capacidade de resistência à fadiga (participação tanto do metabolismo oxidativo quanto glicolítico). Vale ressaltar

que as fibras musculares do tipo IIb não são expressas na maioria dos músculos esqueléticos de seres humanos (Wilson; Deschenes, 2005). O Quadro 1 apresenta as diferentes formas de caracterizar os tipos de fibras musculares.

Quadro 1 - Classificação das fibras musculares com suas respectivas características.

Isoforma da Miosina ATPase	Tipo I	Tipo IIa	Tipo IIx	Tipo IIb*
Ativação e Bioquímica	Lenta e oxidativa	Rápida e oxidativa-glicolítica	Rápida e glicolítica	-
Conteúdo de Mioglobina	Alto	Moderado	Baixo	-
Tamanho	Pequeno	Intermediário	Grande	Muito grande
Potência	Baixa	Intermediária	Alta	Muito alta
Resistência à fadiga	Alta	Intermediária	Baixa	Muito baixa
Capacidade oxidativa	Alta	Intermediária	Baixa	Muito baixa
Capacidade glicolítica	Baixa	Intermediária	Alta	Muito alta
Capilaridade	Alta	Intermediária	Baixa	Muito baixa

* Fibras musculares do tipo IIb não são expressas em humanos. As fibras musculares tradicionalmente classificadas como tipo IIb são atualmente IIx (Wilson, M. H.; Deschenes, M. R., 2005).

Por demonstrarem características distintas, tanto em suas propriedades funcionais quanto metabólicas, as fibras musculares apresentam diferenças em sua estrutura (Van Wessel *et al.*, 2010). Por exemplo, as fibras do tipo II do músculo gastrocnêmio de ratos apresentam maior AST quando comparadas com suas fibras do tipo I (Schiaffino; Reggiani, 2011). Entretanto, alguns músculos, como por exemplo o sóleo de ratos, apresentam fibras do tipo I com maior AST quando comparadas com suas fibras do tipo II (Schiaffino; Reggiani, 2011).

De acordo com Zierath e Hawley (2004), a capacidade de ajuste e resposta a determinado tipo de estímulo depende diretamente da composição morfológica dos músculos esqueléticos. O sóleo, por exemplo, apresenta predominância de fibras do tipo I; por outro lado, o gastrocnêmio apresenta predominantemente fibras do tipo II em sua composição (Armstrong; Phelps, 1984).

Embora esses músculos façam parte da pata traseira de ratos, e ambos realizem a flexão plantar na articulação do tornozelo, suas respectivas composições são explicadas pela função que cada um exerce (Schiaffino;

Reggiani, 2011). O sóleo é um músculo mais resistente à fadiga, enquanto que o gastrocnêmio é considerado um músculo de força (Stein; Padykula, 1962).

Além dos mosaicos de tipos de fibras encontrados em um determinado músculo, a célula muscular é multinucleada, ou seja, apresenta inúmeros núcleos (mionúcleos) ao longo do seu comprimento (Zammit; Partridge; Yablonka-Reuveni, 2006). Sobre um corte transversal, os mionúcleos estão localizados na periferia de cada fibra muscular (Figura 1). Baseado em análises histoquímicas e imuno-histoquímicas é encontrado em média entre ~ 1,85 a 2,5 núcleos por fibra muscular (Hikida *et al.*, 1998; Olsen *et al.*, 2006; Hanssen *et al.*, 2013; Xing; Liu; Zhou, 2020). Em adição, as fibras do tipo I apresentam uma maior quantidade de mionúcleos quando comparadas com as fibras do tipo II (Atherton; James, 1980; Allen *et al.*, 1995). O número de núcleos por área (Nv) é maior para as fibras do tipo I do que nas fibras do tipo II; entretanto, o volume por núcleo (Vv) das fibras do tipo I é menor do que nas fibras do tipo II (Atherton; James, 1980; Allen *et al.*, 1995). Essas diferenças podem estar relacionadas a uma alta renovação proteica e a uma maior demanda de transcrição de RNA mensageiro para proteínas mitocondriais nas fibras do tipo I (Blaauw; Schiaffino; Reggiani, 2011; Van Der Meer *et al.*, 2011).

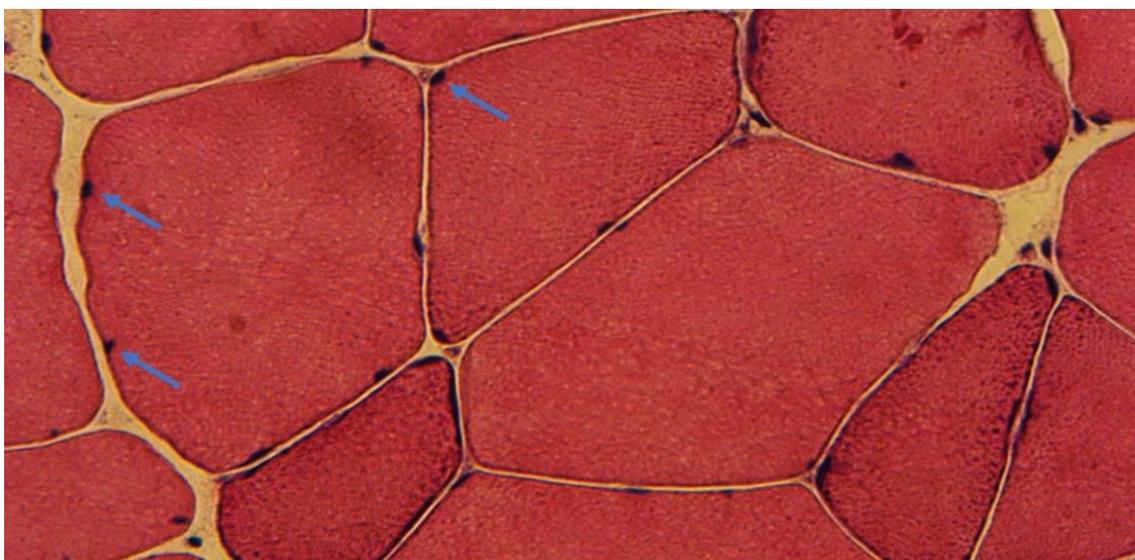


Figura 1 - Corte transversal do músculo gastrocnêmio de rato Wistar. Localização periférica do mionúcleo (setas azul). Coloração H.E. Aumento 400x.

2.2 Adaptações do tecido musculoesquelético e o treinamento resistido

2.2.1 Hipertrofia muscular

O TME pode aumentar ou diminuir sua AST em resposta a estímulos internos e externos, conseqüentemente levando à hipertrofia muscular (HM) (Schoenfeld, 2010; Joanisse *et al.*, 2020). A HM é o aumento axial da AST do músculo, que pode ser analisado ou por via ressonância magnética, tomografia computadorizada, ultrassom ou por meio de biópsia para analisar a área de secção transversa da fibra muscular (ASTf) (Joanisse *et al.*, 2020).

Por se tratar de um tecido pós mitótico (não sofre mitose), o TME necessita de um mecanismo de manutenção contínua para evitar apoptose e manter sua integridade (Schoenfeld, 2010; Blaauw; Reggiani, 2014; Snijders *et al.*, 2015). Para que isso ocorra, é necessário a interação coordenada de diversos órgãos, tecidos, células, componentes intracelulares e sinalizações moleculares (Snijders *et al.*, 2015).

2.2.2 Síntese Proteica

A ingestão e absorção de nutrientes ao longo do dia leva a uma alteração na dinâmica das flutuações entre a síntese e a degradação de proteínas promovendo a manutenção do TME (Mcglory; Devries; Phillips, 2017; Damas; Libardi; Ugrinowitsch, 2018). No entanto, a síntese proteica induzida pela alimentação de forma isolada é transitória e não é suficiente para o acréscimo de proteínas musculares (Burd *et al.*, 2009). Para que ocorra a HM, a síntese deverá superar a degradação, levando a um balanço proteico positivo (Mcglory; Devries; Phillips, 2017; Damas; Libardi; Ugrinowitsch, 2018).

Um potente estimulador de síntese de proteínas, no qual levará a um aumento na AST é o treinamento resistido (TR) (Phillips *et al.*, 1997; Damas *et al.*, 2016). Por meio de um conjunto de exercícios físicos o TR leva os músculos esqueléticos a se contraírem contra uma determinada resistência levando a alterações estruturais (aumento da massa muscular/hipertrofia) e funcionais (aumento da força) no TME (Hass; Feigenbaum; Franklin, 2001; Schoenfeld,

2010; Schiaffino; Reggiani, 2011; Krause Neto *et al.*, 2017; Jorgenson; Phillips; Hornberger, 2020). Já, as repetidas sessões de TR ao longo de um período levam ao acúmulo de síntese de proteínas, levando a um balanço proteico positivo (Burd *et al.*, 2009; Damas *et al.*, 2016).

A tensão mecânica produzida pelo TR causa uma perturbação na integridade da membrana da célula muscular, que por vez é traduzida em um sinal químico, processo conhecido como mecanotransdução (Toigo; Boutellier, 2006; Wackerhage *et al.*, 2019). Em seguida, uma cascata de sinalizações intracelulares, juntamente com a proliferação de células satélites, aumento do número de mionúcleos e ribossomos, são eventos que estimulam a síntese proteica (Bamman; Roberts; Adams, 2018).

Uma única sessão de TR é capaz de elevar a taxa de síntese proteica por até 48 h (Phillips *et al.*, 1997). Entretanto, o aumento AST concomitante ao aumento da taxa de síntese promovida por uma única sessão de TR não se correlaciona, pois esse aumento é atribuído ao edema induzido pelo “inchaço” muscular (Mitchell *et al.*, 2014; Damas *et al.*, 2016; Damas; Libardi; Ugrinowitsch, 2018). Por outro lado, a partir da 8ª a 12ª sessão de TR o edema é atenuado e a taxa de síntese proteica se correlaciona com o aumento da AST sendo ainda mais significativo a partir da 18ª sessão, por volta da 6ª à 10ª semana de TR (Damas *et al.*, 2016; Damas; Libardi; Ugrinowitsch, 2018). Portanto, o efeito combinado de um conjunto de sessões de TR com uma alimentação adequada demonstram ser uma estratégia não farmacológica mais efetiva para promover a HM (Morton *et al.*, 2018; Joannis *et al.*, 2020).

Os estágios iniciais de aumento de síntese proteica são mediados por meio de uma maior eficiência na tradução de RNA mensageiro por ribossomo (Laurent; Sparrow; Millward, 1978). Além disso, uma maior capacidade de tradução pelo aumento na quantidade de ribossomos seria uma outra maneira de estimular a síntese proteica (Figueiredo, 2019). Entretanto, todas essas ações são controladas por cada mionúcleo de uma miofibrila, no qual é o componente intracelular que possui toda a maquinaria genética responsável pela síntese proteica (Cheek, 1985; Wang; Rudnicki, 2012; Damas; Libardi; Ugrinowitsch, 2018). Em adição, baseado na teoria do domínio nuclear proposta por Cheek (1985), cada mionúcleo controla uma determinada área do citoplasma podendo

ser um possível fator limitante para a síntese proteica (Cheek, 1985; Petrella *et al.*, 2006).

2.2.3 Células Satélites e Mionúcleos

O TME se utiliza de um mecanismo específico para seu reparo e remodelamento (Hawke, 2005; Schoenfeld, 2010; Blaauw; Schiaffino; Reggiani, 2011). Embora ele seja composto por células multinucleadas, as células musculoesquelética já são diferenciadas, ou seja, não sofrem mitose (Heron; Richmond, 1993; Brook *et al.*, 2019). Desta forma, células tronco localizadas entre o sarcolema e a lâmina basal, chamadas de células satélites (CS), possuem um grande potencial mitótico e são importantes no desenvolvimento da fibra muscular, ou seja, são responsáveis pelo reparo, regeneração e remodelamento do TME (Bintliff; Walker, 1960; Mauro, 1961; Brook *et al.*, 2019).

Uma das principais formas de ativação das CS é por meio do dano muscular causado pelo TR (Almeida *et al.*, 2016; Damas; Libardi; Ugrinowitsch, 2018). Esse dano leva ao rompimento da membrana onde elas estão localizadas, que por sua vez, são ativadas e deixam seu estado quiescente (Damas; Libardi; Ugrinowitsch, 2018). Após a ativação, as CS se movem e se proliferam, sendo uma parte retornando ao estado quiescente para restabelecer os seus estoques e as demais, entram no ciclo celular e se diferenciam (Schoenfeld, 2010; Damas; Libardi; Ugrinowitsch, 2018). Ao se diferenciarem, as CS podem se fundir a fibra danificada e doar seu núcleo (Hawke, 2005; Conceicao *et al.*, 2018). Para que seja necessário a doação do núcleo, um aumento na capacidade de transcrição precisa ser requerido ou para realizar o reparo do dano ou para adicionar proteínas a uma determinada área do citoplasma (Cheek, 1985; Hawke, 2005; Conceicao *et al.*, 2018; Damas; Libardi; Ugrinowitsch, 2018)

É bem descrito na literatura que o aumento na AST promovida pelo TR resulta na expansão do volume da fibra muscular pelo aumento no conteúdo proteico (Allen *et al.*, 1995; Hikida *et al.*, 1998; Petrella *et al.*, 2008; Schoenfeld, 2010; Blaauw; Schiaffino; Reggiani, 2011). No entanto esse aumento parece exceder a quantidade de área citoplasmática suportável por cada mionúcleo (Allen *et al.*, 1995; Hikida *et al.*, 1998; Petrella *et al.*, 2006). Segundo Cheek (1985), cada mionúcleo é responsável por todo processo de transcrição, síntese

e degradação de proteínas de uma determinada área citoplasmática. Portanto, o aumento da AST da miofibrila promovida por repetidas sessões de TR excede o domínio mionuclear, sendo necessário a aquisição de novos mionúcleos (Kadi; Thornell, 2000; Petrella *et al.*, 2006; Conceicao *et al.*, 2018).

Estudos com seres humanos apresentaram um aumento na AST concomitantemente com o aumento no número de mionúcleos após terem realizado um determinado período de TR (Kadi; Thornell, 2000; Petrella *et al.*, 2008). No trabalho de Kadi e Thornell (2000), 9 mulheres submetidas ao TR apresentaram aumento AST concomitante com o aumento do número de mionúcleos. Petrella *et al.* (2006) após terem submetidos homens jovens com idade entre 20-35 anos por 16 semanas de TR encontram aumento no número de mionúcleos e AST. Já, no trabalho de Bruusgaard *et al.* (2010), embora tenham utilizado um modelo que pouco se assemelha ao TR, submeterem ratos Wistar a uma sobrecarga funcional e encontraram aumento na AST e na quantidade de mionúcleos. No trabalho de Krause Neto *et al.* (2018), ratos Wistar idosos foram submetidos a 15 semanas de TR três vezes por semana, onde foi utilizado um equipamento de escalada em escada que mimetiza os efeitos do TR em humanos. Nesse trabalho os autores encontraram tanto um aumento na AST da fibra muscular (ASTf) quanto um aumento na quantidade de mionúcleos por fibra muscular no grupo treinado.

Diante desses achados, a adição de novos mionúcleos se mostrou necessário para suportar o aumento no tamanho da área gerenciada pelos mionúcleos já existentes na miofibrila (Figura 2). No trabalho de Snijders *et al.* (2016), foram realizadas coletas de biópsia muscular para verificar a alteração na quantidade de mionúcleos e ASTf do tipo I e II ao longo do período de 12 semanas de TR. Tanto para as fibras do tipo I quanto para as fibras do tipo II, o conteúdo de mionúcleos aumentou somente no final do período do TR, mostrando que a magnitude do aumento da AST foi fator determinante para a adição de novos mionúcleos. Por outro lado, no trabalho de Mackey *et al.* (2011), após terem submetido homens saudáveis a 12 semanas de TR com cargas de baixa intensidade, não foi encontrado aumento na quantidade de mionúcleos.

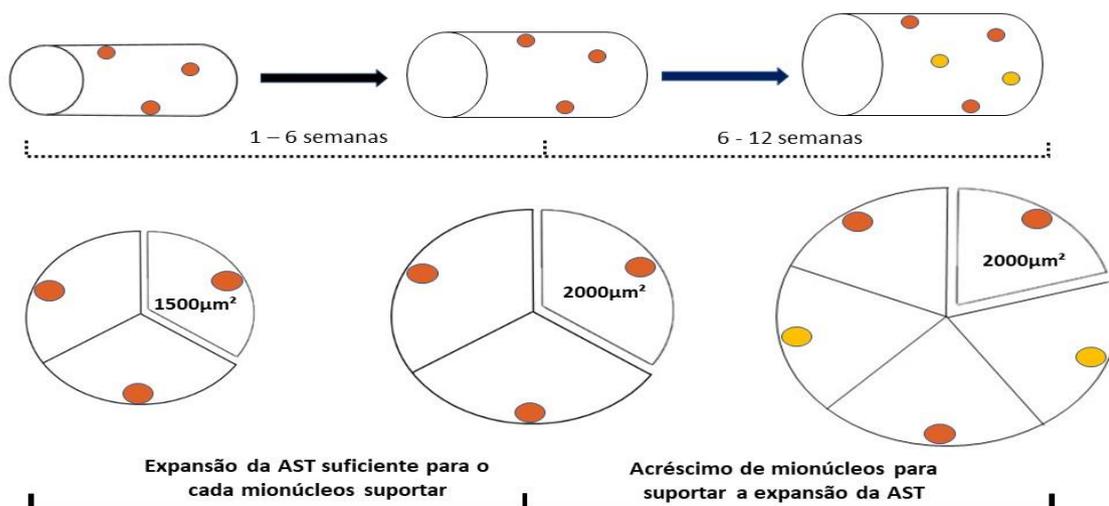


Figura 2 - Representação da teoria do domínio mionuclear proposta por Cheek et al. (1971). O aumento da AST nas primeiras semanas de TR é suportável por cada mionúcleos já existente. No entanto, nas semanas finais do período de TR leva a uma expansão que ultrapassa a quantidade de área que cada mionúcleos é capaz de gerenciar, tornando necessário a adição de novos mionúcleos. Adaptado de Bamman; Roberts e Adams (2018).

Portanto, as evidências apontam que repetidas sessões de TR são necessárias para determinar a magnitude tanto para os ganhos hipertróficos quanto para o aumento na força (Damas; Libardi; Ugrinowitsch, 2018). Além disso, o controle e manipulação das variáveis que medeiam o TR, não só a intensidade (Schoenfeld *et al.*, 2017), mas também o volume (Schoenfeld; Ogborn; Krieger, 2017; Baz-Valle; Fontes-Villalba; Santos-Concejero, 2021), a frequência (Schoenfeld; Ogborn; Krieger, 2016) e a escolha dos exercícios (Lourenço *et al.*, 2020) mostram ser importantes para gerar as adaptações no TME.

Muitas evidências têm apresentado aumentos na AST seguido de um determinado período de TR observado tanto em seres humanos quanto em modelo experimental (Hornberger Jr; Farrar, 2004; Tibana *et al.*, 2017; Krause Neto *et al.*, 2018; Roberts *et al.*, 2018). Atualmente, o volume total do treinamento, que consiste no produto das séries, repetições e a carga utilizada, é essencial para se obter o aumento na força e hipertrofia muscular (Schoenfeld; Ogborn; Krieger, 2017; Soares; Lopes; Marchetti, 2017). Por outro lado, o modelo de TR para roedores, esse cálculo é feito por meio do produto do número de vezes que o animal escala a escada pela carga a qual está fixada em sua cauda

(Neto *et al.*, 2016). Tibana *et al.* (2017) submetem ratos Wistar jovens ao TR em escada a diferentes volumes de escaladas (4 séries x 8 séries). Após 8 semanas, o grupo que realizou 8 séries teve um aumento significativo tanto na capacidade de carregar carga (aumento da força) quanto na ASTf do músculo gastrocnêmio quando comparado com ao grupo 4 séries (Tibana *et al.*, 2017).

Considerando a seleção de exercícios uma condição essencial para atingir um músculo alvo, ela é uma importante variável do TR a ser controlada (Neto *et al.*, 2016). O equipamento de escalada em escada desenvolvido por Hornberger Jr e Farrar (2004), é uma forma de exercício de força para roedores que tem se mostrado eficiente por trazer resultados significativos no aumento da ASTf e na força (Neto *et al.*, 2016; Krause Neto *et al.*, 2018; Lourenço *et al.*, 2020).

2.3 Esteroide androgênico anabolizante e a morfologia do tecido musculoesquelético

2.3.1 Testosterona

A Testosterona (T) é um hormônio anabólico produzido a partir da molécula de colesterol, cuja produção é controlada pelo eixo hipotalâmico-hipófise-testicular (Mooradian A.; And; S., 1987; Deschenes *et al.*, 1991). A T é um dos hormônios androgênicos anabólicos mais potentes secretados naturalmente e que possui efeitos biológicos no desenvolvimento das características sexuais secundárias masculinas e também no crescimento muscular (Mooradian; Morley; Korenman, 1987; Vingren *et al.*, 2010). A T exerce efeito em diversos tecidos do corpo que possuem receptores androgênicos, dentre eles, os músculos, ossos, folículos capilares, pele, fígado, rins, testículos, próstata, cérebro entre outros (Mooradian; Morley; Korenman, 1987). No TME, a T estimula a síntese e inibe a degradação proteica, que por sua vez, esses efeitos combinados levam a HM (Mauras *et al.*, 1998; Vingren *et al.*, 2010). Segundo Deschenes *et al.* (1991), a T é capaz de estimular um efeito trófico induzindo HM das fibras musculares do tipo I e II.

A produção de T inicia no sistema nervoso central. O hipotálamo secreta o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) estimulando a região anterior da

hipófise, localizada na base do cérebro, a liberar o hormônio luteinizante (LH) na corrente sanguínea (Deschenes *et al.*, 1991). A partir daí, o LH estimula as células de Leydig, localizadas nos testículos, a sintetizar e secretar T (Deschenes *et al.*, 1991). No sangue, a maior parte da T circula na forma ligada, podendo ser em albumina (38%) ou globulina ligadora de hormônios sexuais [SHBG (60%)] (Deschenes *et al.*, 1991; Vingren *et al.*, 2010). Os outros 1 a 3% de T circulam na forma livre, ou seja, biologicamente ativa (Mooradian; Morley; Korenman, 1987; Deschenes *et al.*, 1991; Vingren *et al.*, 2010).

Ao penetrar por difusão na membrana da célula muscular, a T se liga aos receptores androgênicos (AR), proteínas encontradas no citosol da célula, formando o complexo hormônio-receptor (Deschenes *et al.*, 1991). Esse complexo se desloca até o núcleo celular e interage com o DNA estimulando na formação de RNA mensageiros e a tradução de novas proteínas estimuladoras do aumento da AST (Mooradian A.; And; S., 1987; Deschenes *et al.*, 1991; Vingren *et al.*, 2010; Basualto-Alarcón *et al.*, 2013). Estudos utilizando derivados sintéticos advindos da molécula de T associam os efeitos ao aumento no número de CS e mionúcleos por fibra muscular [N/f] cujo são fatores fundamentais para a hipertrofia das fibras do tipo I e II (Sinha-Hikim *et al.*, 2002; Sinha-Hikim *et al.*, 2003).

2.3.2 Administração de testosterona exógena e o treinamento resistido

Os esteroides androgênicos anabolizantes (EAA) são substâncias sintéticas derivadas da molécula de T que possuem sua estrutura química alterada com o intuito de aumentar sua meia vida ou até mesmo diminuir seus efeitos colaterais (Kicman, 2008; Krause Neto *et al.*, 2017). Além disso, essas alterações são capazes de melhorar o efeito anabólico, porém, não podem totalmente anular o efeito androgênico (Kicman, 2008).

Segundo Shahidi (2001) os derivados sintéticos da T são classificados de acordo com sua estrutura química. Os derivados sintéticos desenvolvidos a partir da alquilação na posição α do carbono 17, com um grupo metil ou etil, são conhecidos por sua administração oral (Mooradian; Morley; Korenman, 1987;

Shahidi, 2001; Kicman, 2008). As substâncias modificadas adicionando um éster a posição β do carbono 17 permite uma ação mais prolongada do seu efeito (Mooradian; Morley; Korenman, 1987; Shahidi, 2001; Kicman, 2008). Já as modificações nucleares aumentam seu efeito anabólico (Mooradian; Morley; Korenman, 1987; Shahidi, 2001; Kicman, 2008).

Os EAAs tem sido usados na prática clínica desde os anos 40 no tratamento de doenças crônicas debilitantes, traumas, queimaduras e cirurgias, e mais adiante, no tratamento de anemias, câncer e no combate a AIDS (Basaria; Wahlstrom; Dobs, 2001). Por outro lado, além da utilização para o tratamento de desordens relacionadas à saúde, seu uso pode manter ou aumentar a massa e força muscular tanto em seres humanos quanto em modelo experimental (Bhasin *et al.*, 2001; Krause Neto *et al.*, 2017).

Bhasin *et al.* (1996) conduziram o primeiro estudo controlado mostrando que a administração suprafisiológica de um éster de testosterona foi capaz de aumentar a força e hipertrofia de jovens saudáveis, além de trazer efeitos ainda mais significativos para o grupo que associou o TR. No trabalho de Krause Neto *et al.* (2018) com ratos idosos, o uso isolado de propionato de testosterona (PT) foi o suficiente para levar ao aumento da AST das fibras do tipo I e ao aumento do N/f. Mais adiante, Sinha-Hikim *et al.* (2002) verificaram aumento na área de secção transversa das fibras do tipo I e II, demonstrando uma relação dose-dependente. Além disso, Sinha-Hikim *et al.* (2003) encontraram uma associação entre o aumento da AST com o aumento das células satélites e mionúcleos ao submeterem homens saudáveis a diferentes doses de enantato de testosterona.

Embora a administração isolada dos EAAs em pessoas saudáveis são conhecidas por aumentar tanto a força quanto a massa muscular, a associação da tensão mecânica gerada pelo TR potencializa seus efeitos promovendo uma condição anabólica ainda mais favorável a estimulação das vias da mecanotransdução (Schoenfeld, 2010). Outro ponto que vale destaque é da capacidade do TR por aumentar o conteúdo de receptores androgênicos (Kadi *et al.*, 2000; Bamman *et al.*, 2001).

2.3.3 O uso contínuo dos esteroides androgênicos anabolizantes e seus efeitos colaterais

Grande parte dos estudos anteriormente mencionados encontraram os efeitos do EAA nos aumentos da força e massa muscular. No entanto, essas pesquisas foram conduzidas por um período em torno de 10 a 12 semanas. Para os praticantes do TR usuários de EAA, tanto atletas que buscam melhorar sua performance quanto indivíduos que buscam desenvolver seu aspecto estético, utilizam de forma corriqueira essa associação (Kicman, 2008; Sagoe *et al.*, 2014; Albano *et al.*, 2021). Consequentemente, essa conduta pode trazer sérios riscos à saúde podendo levar a alterações hepáticas, renais, cardíacas, ou até mesmo levar a morte (Kicman, 2008; Sagoe *et al.*, 2014; Albano *et al.*, 2021).

Um dos sistemas mais acometidos pela administração suprafisiológica e contínua de EAA é o sistema reprodutor masculino, podendo trazer alterações morfológicas em órgãos como testículos e próstata (Hartgens; Kuipers, 2004; Saddick, 2021). Por outro lado, os efeitos colaterais do uso exógeno de EAA em mulheres está associado com anormalidades no ciclo menstrual e efeitos masculinizantes como o surgimento de pelos no rosto, engrossamento da voz, alargamento do clitóris e acne excessiva (Hartgens; Kuipers, 2004).

Estudos com animais e seres humanos mostraram que a administração de doses suprafisiológicas de EAAs de forma contínua induziu a uma diminuição da secreção de LH e FSH, atrofia testicular e espermatogênese prejudicada (Bueno *et al.*, 2017; Alibegović, 2018; Albano *et al.*, 2021). Noorafshan; Karbalay-Doust e Ardekani (2005) ao submeterem ratos Wistar a 14 semanas de administração de altas doses de decanoato de nandrolona encontraram uma redução do volume médio dos testículos dos animais em aproximadamente 32%. No estudo de Krause Neto *et al.* (2018), ao associarem a administração suprafisiológica de PT com o TR em ratos Wistar, encontraram diminuição do peso dos testículos dos animais.

A administração diária de 160mg de undecanoato de testosterona em homens eugonádicos causou um aumento no peso da próstata de 12% (Holmäng *et al.*, 1993). Embora a hipertrofia da próstata em alguns casos seja considerada benigna, essa alteração morfológica poderá acometer o trato

urinário (Pandita *et al.*, 1998). A hiperatividade do trato urinário (aumento na frequência urinária) pode estar relacionada com um aumento do volume da próstata, que por sua vez, causa uma redução no fluxo urinário e acarretando em uma instabilidade na função da bexiga (Pandita *et al.*, 1998). O estudo de Pandita *et al.* (1998) encontrou aumento no peso da próstata de ratos Sprague-Dawley machos após a administração de 2 semanas de doses diárias de PT.

3 JUSTIFICATIVA

Inúmeros estudos associando o TR com os EAAs, apresentaram mudanças positivas na estrutura do TME levando a um aumento na força e massa muscular de seres humanos e roedores (Bhasin *et al.*, 1996; Cunha *et al.*, 2006; Hildreth *et al.*, 2013; Krause Neto *et al.*, 2017).

Bhasin *et al.* (1996) observaram melhora tanto na força quanto na massa muscular de jovens submetidos a administração de EAA associado ao TR. Corroborando este fato, Bhasin *et al.* (2001) demonstraram aumento na força e volume muscular de membros inferiores por meio de uma relação dose-resposta. Além disso, Sinha-Hikim *et al.* (2002) sugerem que pode haver uma íntima relação entre a hipertrofia das fibras musculares tipo I e II e o aumento do número de mionúcleos do músculo vasto lateral de indivíduos saudáveis submetidos ao tratamento com EAA.

Todavia, estes estudos foram conduzidos associando o tratamento de EAA concomitantemente ao TR. Recentemente, Egner *et al.* (2013) submeteram camundongos fêmeas a um tratamento com implantes contendo propionato de testosterona por um período de 14 dias. Após esse período, o grupo que recebeu o implante apresentou um aumento na ASTF quando comparado com o grupo controle. Curiosamente, três semanas após a remoção do implante, os camundongos foram submetidos a uma condição chamada de *overload functional* durante seis dias. Ao final do protocolo, o grupo que foi exposto previamente ao implante apresentou maiores ASTf. Segundo os autores, os dados apresentados demonstram que os efeitos gerados pela exposição prévia do EAAs facilitaram a hipertrofia muscular, e se traduziram em um efeito ergogênico ainda mais potente.

Apesar disso, o modelo experimental utilizado por Egner *et al.* (2013) foi composto por camundongos fêmeas, cujo sensibilidade ao hormônio é maior devido as baixas concentrações endógenas de testosterona. Além disso, o protocolo de sobrecarga utilizado para estimular o TME foi realizado por meio do *overload functional*, estratégia pouco comum em ambientes associados ao TR. Tal condição nos direciona a hipotetizar que: 1) a administração suprafisiológica de propionato de testosterona em ratos machos previamente ao TR será eficiente em estimular maiores ganhos de força e AST e 2) a inclusão de um protocolo padronizado de TR proporcionará ganhos mais significativos de força e estimulará os maiores aumentos de ASTf e demais parâmetros celulares avaliados ao final do estudo. Portanto, cabe elucidar quais seriam os efeitos da exposição prévia de EAA por um período mais longo e a associação do TR sobre a morfologia do TME e a capacidade de carregar carga de roedores machos adultos-jovens.

4 OBJETIVO

4.1 Objetivo Geral

Analisar os efeitos morfológicos da administração prévia de propionato de testosterona sobre o músculo gastrocnêmio de ratos Wistar machos adultos-jovens submetidos ao TR.

4.2 Objetivos Específicos

Avaliar a capacidade de carregar carga e quantificar os parâmetros do TR ao longo do período experimental, como: volume total de targa ao final do treinamento, volume de carga semanal e carga por escalada semana.

Avaliar os parâmetros relacionados ao peso corporal dos animais, massa do músculo gastrocnêmio, razão peso do músculo pelo peso corporal, massa dos testículos e massa da próstata e suas respectivas razões.

Mensurar parâmetros morfológicos do músculo gastrocnêmio como: AST das fibras do tipo I e II e números de núcleos por fibra muscular e razão número de núcleos por fibra muscular.

5 MÉTODOS

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso de Animais sob protocolo número 036/2019. Ao todo, vinte e oito ratos Wistar machos adultos jovens (4 meses de idade), provenientes do Biotério da Universidade São Judas Tadeu, foram igualmente divididos em 4 grupos:

- Grupo CI – controle inicial dos procedimentos. (n=7);
- Grupo CT4 – controle experimental submetido à administração prévia de propionato de testosterona durante 4 semanas (n = 7);
- Grupo TRT - administração prévia de propionato de testosterona durante 4 semanas e submetidos ao protocolo de treinamento resistido (n = 7);
- Grupo RT - submetidos ao protocolo de treinamento resistido (n = 7);

Durante o período de experimentação, os roedores permaneceram alojados em caixas de polipropileno (quatro a cinco ratos em cada), providas de bebedouro e comedouro, mantidos em condições ambientais controladas de temperatura (22° C) e iluminação (ciclo de 12 horas claro e 12 horas escuro). Para todos os grupos foi fornecido ração comercial de referência para ratos e água à vontade.

5.1 Treinamento Resistido

O protocolo de treinamento resistido foi realizado em ciclo claro-escuro invertido (período noturno e ativo dos roedores). O modelo de treinamento resistido em escada (*ladder-based resistance training*) (TRE) (Figura 3) foi escolhido a partir do proposto por Krause Neto *et al.* (2017).

Inicialmente, todos os roedores foram familiarizados ao equipamento de escalada durante 5 dias consecutivos. No processo de familiarização, os roedores escalaram três vezes a escada, partindo de três posicionamentos distintos (terço superior, médio e base), sem qualquer peso adicional atado a sua cauda. Os ratos não tiveram qualquer auxílio ou recompensa para escalar o equipamento. Para iniciar o movimento, caso fosse necessário, o animal era estimulado a partir de um toque na cauda.

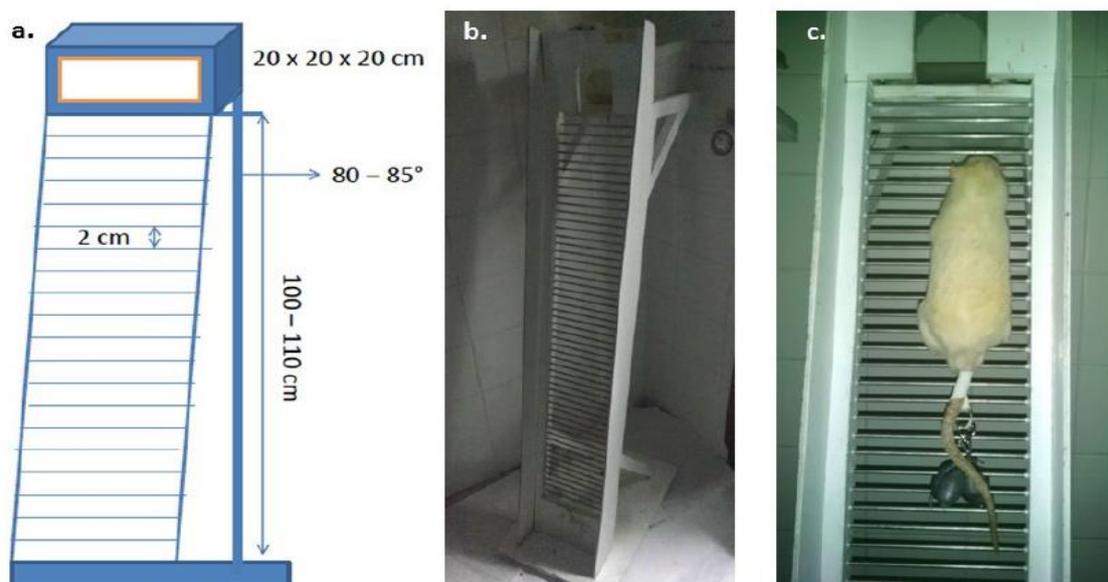


Figura 3 - Equipamento para treinamento resistido em modelo experimental a) Ilustração das dimensões da escada utilizada para treinamento resistido em modelo experimental. – b) Estrutura do equipamento para treinamento resistido em modelo experimental. – c) Momento em que o rato escala a escada durante o protocolo. Retirado de Neto et al. (2016)

Na semana subsequente ao término do período de familiarização ao equipamento, todos os roedores foram submetidos ao teste de carga carregada máxima (TCCM) em duas sessões distintas separadas por 72h. A maior carga carregada nos testes foi considerada como carga máxima [CM] (T1). O teste consistiu no roedor escalar a escada pelo maior número de vezes possível, a partir de um determinado peso inicial, acrescentando a cada tentativa bem-sucedida um novo percentual. Sendo assim, o protocolo foi conduzido da seguinte forma: cada roedor foi previamente pesado e suas cargas relativas (pesos) calculadas. A partir daí o roedor escalou a escada duas vezes, sem qualquer peso adicional, com intervalo de um minuto entre cada escalada. Em seguida foi calculado o peso inicial do teste a partir de 50% do peso corporal do roedor (PC), sendo feitos acréscimos subsequentes de 10% PC a cada escalada bem-sucedida. O teste foi conduzido até que o roedor fosse incapaz de escalar a escada por duas tentativas consecutivas. Após os testes iniciais, todos os grupos, com exceção do grupo CI, foram reavaliados após 4 semanas (T2). Ao final das 10 semanas de LRT, os grupos TRT e RT foram reavaliados (T3).

Subsequentemente ao término do T2, os grupos TRT e RT foram submetidos a 10 semanas de TRE (30 sessões). Primeiramente, os animais realizaram duas escalas iniciais sem peso adicional como forma de aquecimento com 1 minuto de intervalo entre as duas escalas. Na primeira sessão do TRE,

os ratos escalaram a escada 10 vezes com um peso referente a 60%CM do peso máximo atingido em T2. Caso o roedor completasse as 10 escaladas, um acréscimo de peso (5 a 10%) foi adicionado na próxima sessão. Por outro lado, caso as 10 escaladas não fossem concluídas, o peso era mantido para a próxima sessão. Cada roedor teve um intervalo de dois minutos entre cada escalada. O TRE foi realizado três vezes por semana em dias alternados (segundas, quartas e sextas-feiras).

5.2 Administração do esteroide androgênico anabolizante

O medicamento ANDROGENOL® do laboratório CEVA, em frasco ampola com 10 ml, contendo 100mg/10 ml de propionato de testosterona (PT) foi utilizado neste estudo. A dosagem suprafisiológica de 10 mg/kgPCa/semana foi utilizada aqui. Esta dose tem sido utilizada por nosso laboratório com efeitos positivos sobre a força e massa muscular de roedores (Krause Neto *et al.*, 2017). Além disso, é sabido que esta dosagem é suficiente para estimular o aumento da densidade mineral óssea de ratos adultos (Fitts; Klein; Powers, 2004).

A administração de PT foi feita duas vezes por semana (segunda e quintas-feiras) por via injeção intraperitoneal, nos grupos CT4 e TRT, durante 4 semanas. A administração de substância salina (soro fisiológico) no grupo RT foi feita seguindo os mesmos procedimentos, dias e horários que os grupos testosterona.

5.3 Eutanásia, coleta e preparação do material para análise

Seguindo o cronograma experimental (Figura 4), os animais foram eutanasiados através do método de inalação de CO₂. Após a eutanásia, o músculo gastrocnêmio foi retirado e preparado para técnicas de microscopia de luz e histoquímica. Após sua retirada, o terço médio do músculo gastrocnêmio foi limpo de gordura, coberto com talco neutro (Synth T 1001.06 AH, Brasil) e criofixado em nitrogênio líquido, sendo mantido a -80°C até sua análise. Para análise, as lâminas foram montadas com cortes na espessura de 8 µm, incubados por 30 minutos à 37°C em solução contendo 10 mg de ATP dissolvido

em 2 gotas de água destilada adicionado com 10 ml de tampão glicina/NaCl mais CaCl₂ e acertando o pH para 9.4 adicionado de DDT.

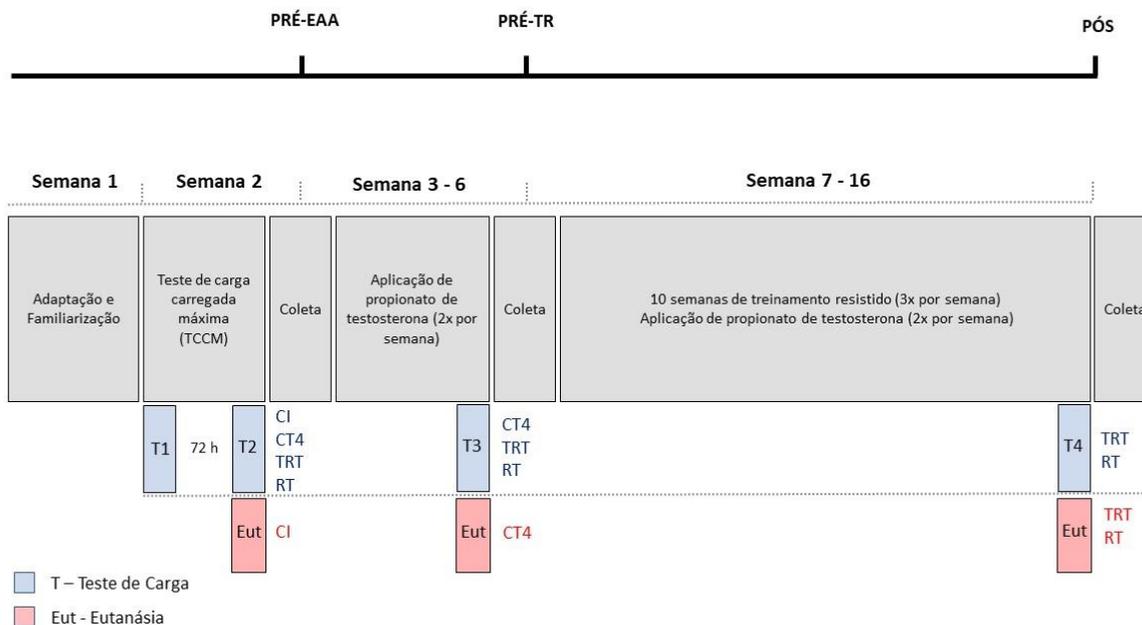


Figura 4 - Desenho experimental – Legenda: CI: Controle Inicial; CT4: Controle Testosterona 4 semanas; TR: Treinamento Resistido; TRT: Testosterona 4 semanas +Treinamento Resistido.

Em seguida, lavamos os cortes em água destilada e incubamos por 2 minutos em cloreto de cobalto a 2% por 3 vezes. Novamente, lavamos em água destilada e desidratamos em séries de álcool crescente (70%, 90%, 95% e 100%) e clareamos em xilol. Por último montamos em Balsamo do Canadá. Para o método histoquímico em pH 4.6, pré-incubamos os cortes em tampão acetato de sódio 0.1 M com EDTA 10mM durante 10 minutos a 4°C. Lavamos com água destilada e incubamos por 2 minutos em cloreto de cobalto a 2% durante 3 vezes. Novamente, lavamos em água destilada, desidratamos em séries de álcool crescente (70%, 90%, 95% e 100%) e clareamos em xilol. Por último finalizamos as amostras com a fixação com Entellan®. Além destes, também montamos lâminas para verificação da morfologia geral com Hematoxilina e Eosina para contagem do número de células e núcleos.

Para quantificação da área de secção transversa dos tipos de fibras musculares (ASTf) I e II (μm^2), analisamos 35 fotomicrografias de cada grupo com ampliação final de 400x (figura 5). As medidas foram feitas no software AxioVision (versão 4.8) acoplado ao microscópio de luz (Zeiss).

Além disso, contabilizamos a razão de núcleos por fibra muscular (N/f) a partir do quociente entre o número de núcleos e fibras musculares por meio das lâminas marcadas em HE. Neste procedimento, utilizamos o software Image J.

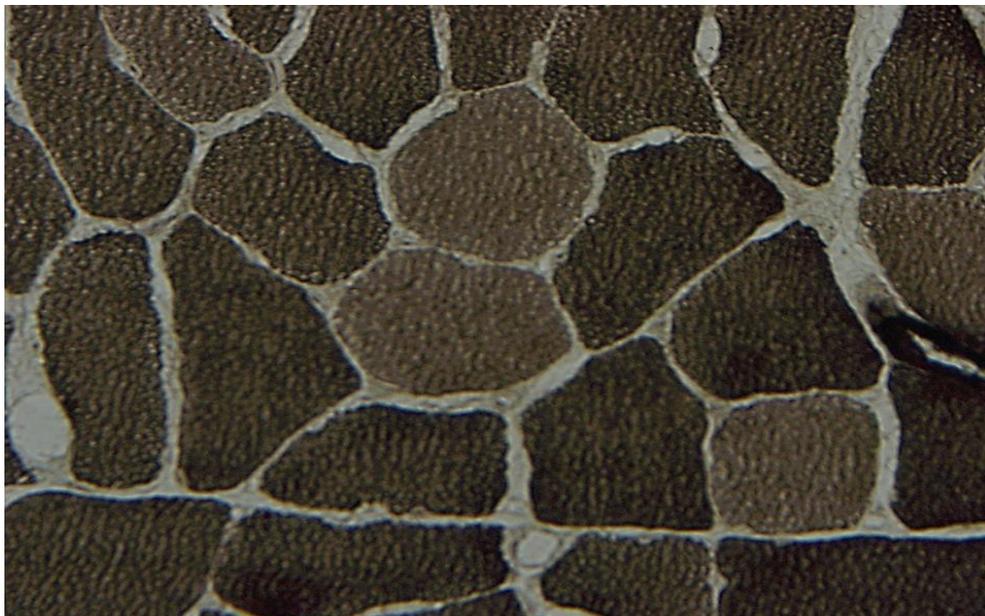


Figura 5 - Imagem representativa dos tipos de fibras musculares após preparação histoquímica em miosina ATPase. Fibras escuras são tipo I e claras tipo II. Aumento de 400x.

5.4 Análise Estatística

Todos os dados são apresentados como média e desvio padrão. Para a análise da normalidade fizemos o teste de Shapiro-Wilk. Para comparar o peso corporal inicial e final de cada grupo utilizamos análise de variância de duas vias (ANOVA 2-way com post hoc Bonferroni). Para comparar a massa do gastrocnêmio, razão massa do músculo/peso corporal (Gastro/PC), massa da próstata, razão massa da próstata/peso corporal (Prost/PC), massa dos testículos esquerdo (TE) e direito (TD) e suas respectivas razões (TestE/PC e TestD/PC) entre os grupos usamos análise de variância para uma via (ANOVA 1-way com post hoc Tukey). Para comparar os grupos TRT e RT no desfecho volume total de carga final utilizamos teste-t de Student para amostras independentes. Para comparação do volume de carga e carga por escalada ao longo das 10 semanas de TRE entre e dentro dos grupos TRT e RT usamos ANOVA 2-way para medidas repetidas (post hoc Tukey). Para comparar os

momentos T1, T2 e T3 do TCCM dentro e entre os grupos TRT e TR, utilizamos 2-way ANOVA para medidas repetidas (post hoc Tukey). Para análise dos desfechos ASTf e N/f, utilizamos ANOVA 1-way (post hoc Tukey). Para o cálculo do efeito do tamanho (ES) dos desfechos TCCM, ASTf tipo I, II e média e N/f utilizamos Hedge's g. O ES foi definido como muito pequeno [0,01 – 0,2], pequeno [0,21 - 0,5], médio [0,51 - 0,8], grande [0,81 – 1,2], muito grande [1,21 – 2,0] e enorme [$\geq 2,0$] (Sawilowsky, 2009). Para os cálculos estatísticos utilizamos o software SPSS versão 21.0 e fixamos o nível de significância em $P \leq 0.05$.

6 Resultados

6.1 Parâmetros de treinamento e testes de carga carregada máxima

Para o volume de carga final, não houve diferença estatística entre os grupos TR e TRT (TR = $148561,43 \pm 43$ versus TRT = $155508,43 \pm 29796,23$; figura 6). Por outro lado, o grupo RT e TRT tiveram volumes de carga estatisticamente diferentes ($P < 0,05$) na semana 2 de treinamento (RT $2629,52 \pm 476,35$ g versus TRT $3115,52 \pm 612,19$ g; Figura 7). Ao longo das 10 semanas de treinamento, o grupo RT demonstrou aumento estatístico do volume

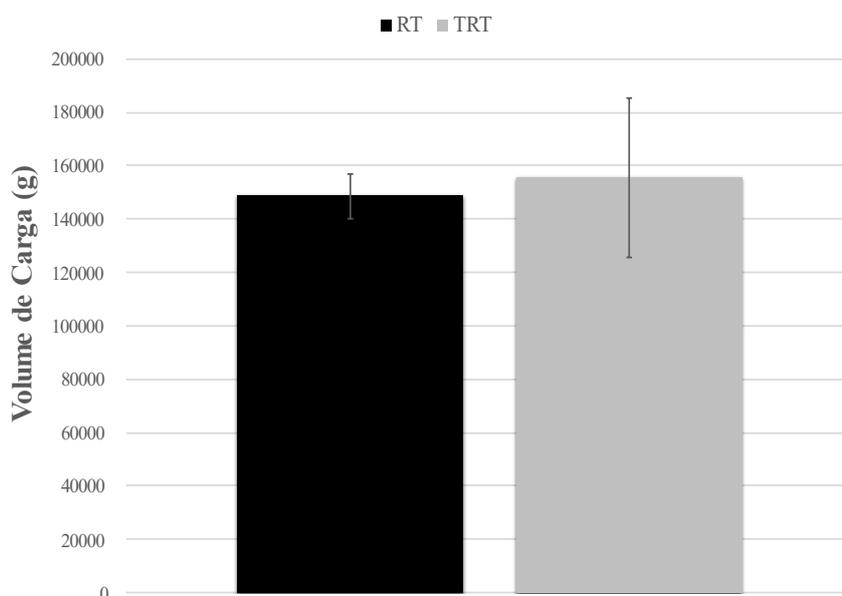


Figura 6 - Volume total de carga ao final do período de treinamento dos grupos placebo 4 semanas + treinamento resistido (TR) e testosterona 4 semanas + treinamento resistido (TRT).

de carga a partir da semana 3 ($P < 0,01$), entrando em platô na semana 7 de treinamento (Figura 7). Já o grupo TRT, mostrou um aumento estatístico do volume de carga a partir da semana 4 ($P < 0,01$) e platô na semana 7 de treinamento.

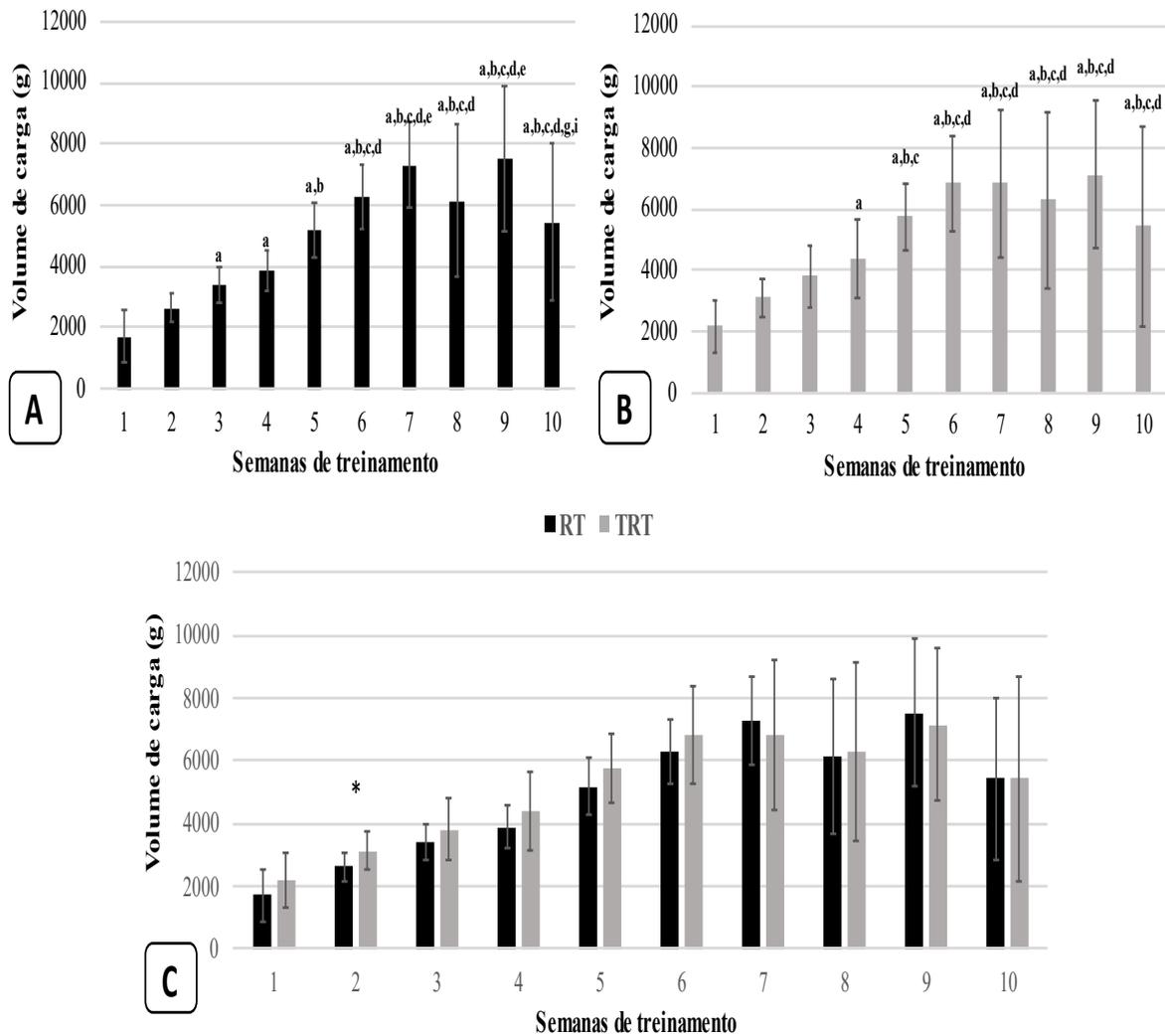


Figura 7 - Volume de carga (peso x número de escaladas) semanal. A - grupo placebo 4 semanas + treinamento resistido (RT); B - testosterona 4 semanas + treinamento resistido (TRT); C – comparação do volume de carga entre os grupos RT e TRT.

^a estatisticamente diferente da semana 1.

^b estatisticamente diferente da semana 2.

^c estatisticamente diferente da semana 3.

^d estatisticamente diferente da semana 4.

^e estatisticamente diferente da semana 5.

^g estatisticamente diferente da semana 7.

ⁱ estatisticamente diferente da semana 9.

*diferença estatística entre grupos.

A figura 8 demonstra a evolução da carga por escalada ao longo das 10 semanas de treinamento. Os grupos RT e TRT demonstraram valores estatisticamente diferentes nas semanas 1 (189,24±89,52 e 270,90±44,45, respectivamente), 2 (262,95±47,63 e 323,81±55,86, respectivamente), 3 (344±61,67 e 402,81±75, respectivamente), 4 (440,24±72,52 e 503,1±91,2, respectivamente) e 5 (542,1±78,14 e 616,38±112,37, respectivamente) ($P < 0,05$). Na comparação entre as semanas de treinamento, ambos os grupos apresentaram aumento estatístico da carga por escalada a partir da semana 3 ($P < 0,01$).

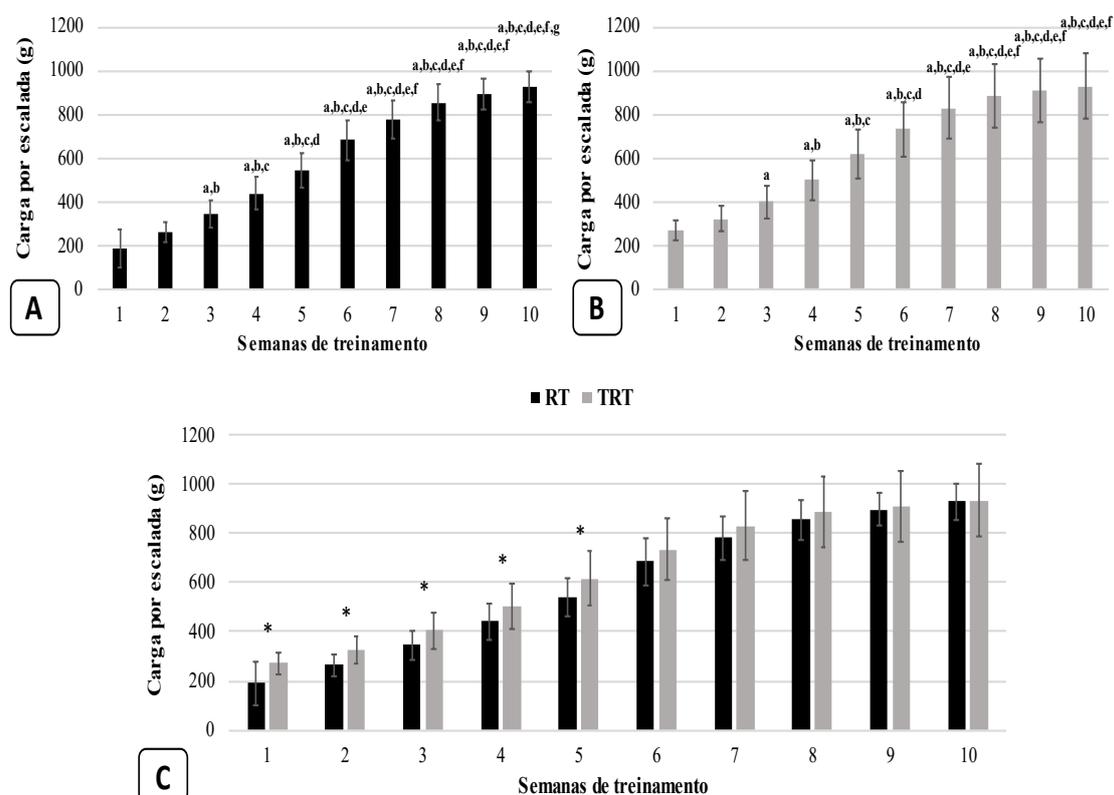


Figura 8 - Carga por escalada semanal. A - grupo placebo 4 semanas + treinamento resistido (RT); B - testosterona 4 semanas + treinamento resistido (TRT); C – comparação da carga por escalada entre os grupos RT e TRT.

^a estatisticamente diferente da semana 1.

^b estatisticamente diferente da semana 2.

^c estatisticamente diferente da semana 3.

^d estatisticamente diferente da semana 4.

^e estatisticamente diferente da semana 5.

^f estatisticamente diferente da semana 6.

^g estatisticamente diferente da semana 7.

*diferença estatística entre grupos.

Nos testes de carga carregada máxima, o grupo CT4 não demonstrou diferença estatística entre T1 e T2 e nem em comparação com o grupo CI ($P > 0,05$). Por outro lado, os grupos TRT e TR demonstraram maiores valores de carga carregada do que os grupos CI e CT4 ($P < 0,001$). Entre os grupos TRT e RT, observamos diferença estatística apenas no momento T2 ($TRT\Delta\%25,14\pm33,46$ versus $TR\Delta\% -1\pm27,13$, $P < 0,05$). Por outro lado, a análise dentro dos grupos TRT e RT demonstrou aumento estatístico da carga carregada máxima em T3 comparativamente aos momentos T1 e T2 ($P < 0,01$, Tabela 1). O tamanho do efeito no grupo TRT foi grande em T2 e T1 ($ES = 0,99$) e enorme entre T3 e T1 ($ES = 2,76$) e T3 e T2 ($ES = 2,21$). No grupo RT o tamanho do efeito foi classificado como muito pequeno entre T2 e T1 ($ES = -0,14$) e enorme entre T3 e T1 ($ES = 3,83$) e T3 e T2 ($ES = 3,52$).

Tabela 1 - Testes de carga carregada máxima dos grupos testosterona 4 semanas + treinamento resistido (TRT) e placebo 4 semanas + treinamento resistido (RT) nos momentos linha de base (T1), pós 4 semanas (T2) e pós 14 semanas (T3).

Momentos	TRT	ES	RT	ES
T1	341,36±57,63	--	313,61±48,20	--
T2	417,26±91,91*	--	304,6±80,12	--
T2-T1	--	0,99	--	-0,14
T3	816,25±237,56 ^{a,b}	--	721,64±142,88 ^{a,b}	--
T3-T1	--	2,76	--	3,83
T3-T2	--	2,21	--	3,52

^a estatisticamente diferente de T1 ($P < 0,01$).

^b estatisticamente diferente de T2 ($P < 0,01$).

* estatisticamente diferente de RT ($P < 0,05$).

6.2 Peso corporal e massa gastrocnêmio, próstata e testículos

Inicialmente, o peso corporal do grupo RT era estatisticamente maior do que o grupo CI ($P < 0,05$). Quanto ao peso corporal final, os grupos TRT e RT eram estatisticamente mais pesados do que o grupo CT4 ($P < 0,05$). Em relação a análise intra-grupos, o peso corporal dos grupos TRT e RT aumentaram estatisticamente ($P < 0,001$).

A razão Gastro/PC e a massa muscular do Gastrocnêmio do grupo CT4 foi estatisticamente menor do que o grupo CI ($P < 0,05$). No entanto, nenhuma outra diferença estatística foi identificada entre os outros grupos.

A próstata dos grupos TRT e RT era estatisticamente mais pesada do que o grupo CT4 ($P < 0,01$). A razão Prost/PC do grupo TRT era estatisticamente diferente do grupo CT4 ($P < 0,05$). Além disso, o grupo TRT também apresentou uma próstata mais pesada do que o grupo CI ($P < 0,01$). Não houve diferença estatística no peso dos testículos esquerdo e direito entre os grupos. Todos os dados são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Comparação dos desfechos peso corporal inicial e final, razão massa muscular/peso corporal (Gastro/PC), massa muscular do Gastrocnêmio, massa da próstata, razão próstata/peso corporal (Prost/PC), massa do testículo esquerdo (E), razão testículo esquerdo/peso corporal (TestE/PC), massa do testículo direito (D) e razão testículo direito/peso corporal (TestD/PC) entre os grupos controle inicial (CI), controle 4 semanas de testosterona (CT4), 4 semanas de placebo + treinamento resistido (RT) e 4 semanas de testosterona + treinamento resistido (TRT).

Desfechos	Grupos			
	CI	CT4	TRT	RT
PC inicial (g)	481,78±21,84	433,56±30,05	458,69±34,91	422,05±25,22 ^a
PC final (g)	-----	462,16±36,58	555,67±53,18 ^{*.b}	515,07±33,99 ^{*.b}
Gastrocnêmio (g)	2,71±0,33	2,12±0,17 ^a	2,57±0,37	2,38±0,34
Gastro/PC	0,0050±0,0005	0,0043±0,0003 ^a	0,0046±0,0004	0,0046±0,0004
Próstata (mg)	481,57±126	357,29±97,02	762,14±163,91 ^{a.b}	612,43±207,18 ^b
Prost/PC	0,99±0,23	0,77±0,18	1,39±0,37 ^b	1,19±0,37
Testículo E (mg)	1983,14±80,41	1699,86±166,25	1900,43±684,79	2175,71±241,32
TestE/PC	4,12±0,25	3,69±0,34	3,47±1,25	4,22±0,31
Testículo D (mg)	1988,57±81,2	1700,02±206,58	1752,43±698,48	2035,86±240,39
TestD/PC	4,14±0,26	3,69±0,44	3,21±1,27	3,95±0,33

PC = peso corporal;

^a estatisticamente diferente de CI.

^b estatisticamente diferente de CT4.

*estatisticamente diferente do momento inicial.

6.3 Área de secção transversa e razão N/f

Todos os dados são apresentados na Tabela 3. As intervenções proporcionaram maiores AST das fibras tipo I ($F = 35,085$, $P < 0,001$), II ($F =$

19,963, $P < 0,001$) e média ($F = 54,635$, $P < 0,001$). O grupo RT apresentou maiores ASTf para tipo I e média em comparação ao grupo CI e CT4 ($P < 0,01$). Por outro lado, o grupo RT apresentou maior AST das fibras tipo II em comparação ao grupo CT4 ($P < 0,01$). O grupo TRT demonstrou ter maiores AST das fibras tipo I, II e média do que todos os demais grupos ($P < 0,001$). O grupo CT4 apresentou o tamanho do efeito muito pequeno para ASTf tipo I ($ES = 0,11$), pequeno para ASTf tipo II ($ES = -0,23$) e muito pequeno para ASTf média ($ES = 0,01$). O grupo RT apresentou o tamanho do efeito moderado para ASTf tipo I ($ES = 0,61$), pequeno para ASTf tipo II ($ES = 0,38$) e moderado para ASTf média ($ES = 0,54$). O grupo TRT apresentou o tamanho do efeito grande para ASTf tipo I ($ES = 1,01$), tipo II ($ES = 0,88$) e média ($ES = 0,97$).

Em relação a razão N/f, os grupos CT4, RT e TRT apresentaram maiores valores do que CI ($P < 0,01$). O grupo RT demonstrou maior razão N/f do que CT4 ($P < 0,001$), porém menor do que TRT ($P < 0,001$). O tamanho do efeito foi grande para o grupo CT4 ($ES = 1,22$) e enorme para os grupos RT ($ES = 2,43$) e TRT ($ES = 3,46$).

Tabela 3 - Descrição dos valores da área de secção transversa (ASTf [μm^2]) dos tipos de fibras musculares (tipo I, II e média) e razão de mionúcleos por fibras muscular (razão N/f) entre os grupos controle inicial (CI), controle 4 semanas de testosterona (CT4), 4 semanas de placebo + treinamento resistido (RT) e 4 semanas de testosterona + treinamento resistido (TRT).

Desfechos	Grupos							
	CI	ES	CT4	ES	TRT	ES	RT	ES
ASTf Tipo I	1171,08±348,75	---	1209,35±343,25	0,11	1591,83±478,22 ^{a,b,c}	1,01	1404,09±410,77 ^{a,b}	0,61
ASTf Tipoll	1241,61±361,91	---	1160,88±344,81	-,23	1613,31±478,34 ^{a,b,c}	0,88	1377,64±361,47 ^b	0,38
ASTf média	1192,27±353,55	---	1194,50±343,76	0,01	1600,36±477,18 ^{a,b,c}	0,97	1394,93±393,70 ^{a,b}	0,54
Razão N/f	1,91±0,44	---	2,51±0,59 ^a	1,22	3,71±0,59 ^{a,b,c}	3,46	2,98±0,44 ^{a,b}	2,43

^a estatisticamente diferente de CI;

^b estatisticamente diferente de CT4;

^c estatisticamente diferente de TR.

7 DISCUSSÃO

Este estudo investigou os efeitos da administração de PT em ratos Wistar adulto machos, por curto prazo, previamente a um programa de TRE. Com base nos resultados, podemos enumerar os seguintes principais achados: 1) a administração de PT por 4 semanas aumentou a razão N/f sem alterar o tamanho da ASTf do músculo Gastrocnêmio e a capacidade de carregar carga dos roedores; 2) a administração de PT não alterou a massa da próstata e nem testículos dos roedores; 3) a administração prévia de PT, por curto prazo, potencializou o aumento da ASTf média do Gastrocnêmio após 10 semanas de LRT.

O uso crônico de esteroides anabólicos aumenta a massa muscular e o tamanho dos tipos I e II de fibras musculares de seres humanos (Bhasin *et al.*, 2001; Sinha-Hikim *et al.*, 2003) e roedores (Krause Neto *et al.*, 2018) a médio prazo. Este processo envolve o aumento de células satélites e mionúcleos nas fibras musculares (Sinha-Hikim *et al.*, 2003) e segue um padrão dose-resposta (Bhasin *et al.*, 2001; Sinha-Hikim *et al.*, 2003). Aqui, demonstramos que a administração suprafisiológica de PT no grupo CT4, por curto prazo (4 semanas), elicitou menores valores de massa muscular e razão músculo/PC, não alterou o tamanho da ASTf e aumentou a razão N/f no gastrocnêmio em comparação ao grupo controle.

Seguramente, a menor massa muscular e razão músculo/PC aferidas no grupo CT4 foi inesperada. No entanto, este desfecho não afetou o tamanho das fibras musculares. Desta forma, a variação da massa muscular neste grupo pode ter sido um fato transitório associado ao stress da intervenção. Além disso, de acordo com Dimauro; Balnave e Shorey (1992), a aplicação de esteroides anabólicos parece não mudar a massa muscular de roedores. Por outro lado, a razão N/f foi estatisticamente maior no grupo CT4 comparativamente ao grupo controle. Corroborando nossos resultados, Sinha-Hikim *et al.* (2003) demonstrou que a administração de doses supra-fisiológicas de testosterona causam aumento do número de mionúcleos. Porém, a administração de PT por 4 semanas, conduzida em nosso estudo, não foi capaz de elicitare aumentos no tamanho das ASTf. Tal condição pode ter sido influenciada pelo sexo do roedor utilizado neste estudo (ratos machos). O estudo de Egner *et al.* (2013), por

exemplo, mostrou que duas semanas de exposição ao PT, com implantes hormonais em fêmeas, aumentou significativamente o número de mionúcleos e a AST muscular.

Diferentes mecanismos celulares e moleculares estão envolvidos na HM induzida pela T. Um deles é o aumento da atividade miogênica, promovendo a proliferação, diferenciação e fusão das CS em novos mionúcleos (Sinha-Hikim *et al.*, 2003; Basualto-Alarcón *et al.*, 2013; Horwath *et al.*, 2020). Conboy *et al.* (2003) apontam que a via de sinalização Notch possui um papel importante na ativação das CS tanto na fase embriogênica quanto na regeneração muscular na fase adulta. No estudo de Sinha-Hikim *et al.* (2006) demonstrou que diferentes doses de T exógena, além de aumentar a ASTf, número de CS e mionúcleos, os autores encontraram uma associação com o aumento da expressão do receptor transmembrana Notch. Mais adiante, Brown *et al.* (2009), além de destacar o papel da sinalização via Notch por meio da administração de T exógena, os autores observaram uma supressão da proteína quinase c-Jun NH₂-terminal (JNK), cuja função está na participação da apoptose e inibição do crescimento celular.

A associação de fármacos anabólicos, a partir de ésteres de testosterona, e TR causa maiores ganhos de hipertrofia muscular em comparação com ambas as terapias isoladas (Bhasin *et al.*, 1996). Além disso, a associação de ambas as estratégias costuma ser feita simultaneamente. Neste estudo, confirmamos a hipótese de que o uso prévio de dose supra-fisiológica de PT elicit maiores ASTf após o treinamento resistido. Corroborando nossos resultados, Egner *et al.* (2013) demonstrou que o stress mecânico (overload funcional) induziu maiores valores de AST após a exposição prévia ao PT em roedores fêmeas. Tal fato pode ser explicado por um maior número de mionúcleos por fibra muscular pré-treinamento, tal como visto no grupo CT4. Além disso, o treinamento resistido também tem a capacidade de estimular aumentos significativos de mionúcleos (Bruusgaard *et al.*, 2010; Conceicao *et al.*, 2018; Ato *et al.*, 2019; Lundberg *et al.*, 2020) pós-treinamento, assim como demonstrado neste estudo. Sendo assim, os maiores valores de N/f encontrados no grupo TRT explicam os maiores valores de ASTf encontrados aqui.

Ao analisar os parâmetros do treinamento, o que explica as diferenças na carga por escalada no grupo TRT nas primeiras semanas foi o efeito da

administração prévia do PT que levou o grupo a uma condição ainda mais favorável para carregar carga observado pelo TCCM no momento T2. A administração do EAA de forma isolada é capaz de aumentar a capacidade de carregar carga de ratos Wistar (Krause Neto *et al.*, 2018). No entanto, os maiores valores de carga carregada por escalada do grupo TRT não se sustentaram a médio prazo e ambos os grupos demonstraram curvas semelhantes de progressão de cargas e, conseqüentemente, os mesmos valores de volume de carga total no final do experimento. Tal fato pode ser explicado pela quantificação dos parâmetros de treino, tais como a curva de progressão da carga e volume total de carga, cujo foi similar para ambos os grupos que realizaram o treinamento.

Nossos achados relacionados as adaptações funcionais dos animais mostraram que, ambos os grupos obtiveram ganhos no TCCM final (T3) quando comparado com o momento T1 e T2. No entanto, na comparação entre os dois grupos, não houve diferença entre eles no teste final. Primeiramente o que explica os ganhos de força para ambos os grupos foi o ajuste aplicado (5 a 10%) na intensidade (60%CM) ao longo das sessões após os animais terem realizado as 10 escaladas bem-sucedidas respeitando o princípio da sobrecarga progressiva (Kraemer; Ratamess, 2004). Controlar as variáveis que estão envolvidas no TR é a forma mais adequada de obter maiores ganhos de força e massa muscular (Schoenfeld, 2010; Krause Neto *et al.*, 2018). Segundo Philippe *et al.* (2015), a precisão na quantificação das variáveis do TR com modelo experimental permite modelar os desfechos gerados pelo treinamento. Schoenfeld *et al.* (2015) apontam que a intensidade é uma variável que está intimamente relacionada com os aumentos de força muscular. No trabalho de Deus *et al.* (2012) demonstrou que o grupo de animais que treinou somente com o peso corporal foi capaz de aumentar tanto o peso corporal quanto a carga carregada final. Entretanto, o grupo que treinou com carga equivalente a 75% do peso corporal, obteve valores significativamente maiores tanto no peso corporal final quanto na carga carregada final.

Para explicar os ganhos similares no TCCM final entre os grupos podemos olhar os valores encontrados no volume total de carga. Corroborando com nossos achados, no trabalho de Krause Neto *et al.* (2018), ratos Wistar foram submetidos a administração de PT concomitantemente com o TR. Ao

completarem as 30 sessões do protocolo, ganhos similares foram encontrados no volume total de carga quando comparado com o grupo que somente realizou o TR de forma isolada. Diante dessas evidências já esperávamos que os parâmetros do treinamento como, o TCCM final e o volume de carga total, fossem semelhantes independente da administração prévia de PT. O volume total de carga é uma variável que pode ser influenciada não só pela intensidade (Schoenfeld *et al.*, 2015; Padilha *et al.*, 2019) como também pela frequência (Schoenfeld; Ogborn; Krieger, 2016; Tibana *et al.*, 2017) e o intervalo entre as séries (De Salles *et al.*, 2009; Schoenfeld *et al.*, 2016). Além disso, muitos desses estudos vem demonstrando que ao equalizar o volume do treinamento, as adaptações fisiológicas tendem a ser similares (Figueiredo; De Salles; Trajano, 2018). Por outro lado, manipular o volume mostra ser uma estratégia eficaz não só para aumentar a força, como também promover maior ativação de CS, aumento do número de mionúcleos e aumento na AST (Hanssen *et al.*, 2013; Tibana *et al.*, 2017).

A utilização de fármacos anabólicos por longo prazo e em altas doses pode causar sérios efeitos colaterais, como aumento da próstata (Saddick, 2021) e atrofia testicular (Bueno *et al.*, 2017; Alibegović, 2018; Krause Neto *et al.*, 2018). Neste estudo, mostramos que o uso de PT, por curto prazo, não causou mudança na massa da próstata e testículos. Tal fato sugere que apesar da dose ter sido supra-fisiológica, o curto tempo de administração pode não ser suficiente para mudar a massa destes tecidos. Por outro lado, ambos os grupos submetidos ao TRE tiveram a massa da próstata estatisticamente maior do que os demais grupos. No entanto, ao relativizar o peso da próstata com o peso corporal final não houve diferença estatística entre os grupos. Corroborando com esses achados, no trabalho de Veras *et al.* (2020) ao submeterem os animais tanto a 8 quanto 12 semanas de TR, não encontraram diferença significativa no peso relativo da próstata. Valores similares no peso relativo da próstata também foi encontrado no trabalho de Bolotari *et al.* (2021) ao submeterem os animais a 8 semanas de treinamento intervalado de alta intensidade em esteira rolante. Embora o grupo CT4 tenha demonstrado diferença estatística tanto na massa da próstata quanto em seu peso relativo, esse fato é explicado devido ao grupo não ter apresentado diferença estatística em seu peso corporal final quando comparado com o seu peso inicial.

Outro ponto que gostaríamos de levantar, embora não devamos extrapolar os dados aqui apresentados, seria na possibilidade que o uso de EAA no âmbito do esporte de alto rendimento possa levar a uma vantagem no desempenho do atleta cujo já fez o uso dessas substâncias. Nos dados do estudo de Egner *et al.* (2013) juntamente com os nossos aqui apresentados, nos mostram a respeito de um possível efeito duradouro após a retirada da administração de EAA sobre os efeitos diretos e possivelmente prolongados no TME de animais no que tange a força e a massa muscular. Sinha-Hikim *et al.* (2003) demonstrou que a administração de EAA aumenta o número de mionúcleos, indicando ser um fator essencial para o aumento da massa muscular. Diante disso, com o número de mionúcleos aumentado visto em nosso estudo no grupo CT4, possivelmente trouxe uma condição mais favorável ao músculo para sintetizar mais proteínas e levar ao aumento da massa muscular. Basualto-Alarcón *et al.* (2013) demonstra que a hipertrofia induzida pela administração de EAA está envolvida por mais de uma via de sinalização celular, podendo ser tanto por via RA como também por vias rápidas de sinalização intracelular. No estudo de Howard *et al.* (2020) a administração de EAA levou a um aumento no conteúdo de receptores androgênicos e de RNA total. Segundo Ferry *et al.* (2014), os receptores androgênicos são requeridos para aumentar a AST. Já, a respeito do aumento de RNA total, Figueiredo (2019) aponta que o aumento na quantidade de RNA total, sendo ~80% deste conteúdo RNA ribossomal, está relacionado a um aumento na capacidade de tradução por meio do biogênese ribossomal que conseqüentemente leva ao aumento da taxa de síntese proteica.

Algumas limitações do estudo devem ser levadas em consideração. Primeiro, a técnica histológica para marcação utilizada nesse estudo para verificar mionúcleos já não é mais utilizada. Nos estudos mais atuais que analisam esse componente são utilizadas técnicas mais modernas e com maior poder de acurácia, como análises imuno-histoquímica que possibilita identificar tanto células satélites quanto os mionúcleos. Outro ponto que gostaria de destacar a respeito das análises seria na quantificação tanto da Testosterona circulante quanto das proteínas e genes relacionados aos receptores androgênicos, podendo ajudar a entender melhor a respeito da fisiologia do fenômeno estudado.

8 CONCLUSÃO

A administração de PT, por curto prazo, prévia ao TR é capaz de elicitar maior razão N/f e tamanho da ASTf média do músculo Gastrocnêmio de ratos Wistar adultos jovens do que treinamento resistido isolado. Além disso, a utilização de PT a curto prazo não gerou efeitos colaterais significativos relacionados a morfologia dos testículos e próstata, podendo ser sugerido como uma possível forma de tratamento para desordens relacionadas a saúde. Vale destacar que a utilização de EAA a curto prazo já é suficiente para trazer alterações morfofuncionais significativas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBANO; AMICO; COCIMANO; LIBERTO *et al.*, 2021, **Adverse Effects of Anabolic-Androgenic Steroids: A Literature Review**. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. 97.

ALIBEGOVIĆ. Testicular morphology in hypogonadotropic hypogonadism after the abuse of anabolic steroids. **Forensic Science, Medicine and Pathology**, 14, n. 4, p. 564-567, 2018.

ALLEN; MONKE; TALMADGE; ROY *et al.* Plasticity of myonuclear number in hypertrophied and atrophied mammalian skeletal muscle fibers. **Journal of Applied Physiology**, 78, n. 5, p. 1969-1976, 1995.

ALMEIDA; FERNANDES; RIBEIRO JUNIOR; KEITH OKAMOTO *et al.* Muscle satellite cells: exploring the basic biology to rule them. **Stem cells international**, 2016, 2016.

ARMSTRONG; PHELPS. Muscle fiber type composition of the rat hindlimb. **American journal of anatomy**, 171, n. 3, p. 259-272, 1984.

ARONOFF; FUDEMAN. **What is morphology?** John Wiley & Sons, 2011. 1444351761.

ATHERTON; JAMES. Stereological analysis of the number of nuclei in skeletal muscle fibres. **Cells Tissues Organs**, 107, n. 2, p. 236-240, 1980.

ATO; KIDO; SATO; FUJITA. Type 2 diabetes causes skeletal muscle atrophy but does not impair resistance training-mediated myonuclear accretion and muscle mass gain in rats. **Experimental physiology**, 104, n. 10, p. 1518-1531, 2019.

BAMMAN; ROBERTS; ADAMS. Molecular regulation of exercise-induced muscle fiber hypertrophy. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, 8, n. 6, p. a029751, 2018.

BAMMAN; SHIPP; JIANG; GOWER *et al.* Mechanical load increases muscle IGF-I and androgen receptor mRNA concentrations in humans. **American journal of physiology-endocrinology and metabolism**, 280, n. 3, p. E383-E390, 2001.

BASARIA; WAHLSTROM; DOBS. Anabolic-androgenic steroid therapy in the treatment of chronic diseases. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, 86, n. 11, p. 5108-5117, 2001.

BASUALTO-ALARCÓN; JORQUERA; ALTAMIRANO; JAIMOVICH *et al.* Testosterone signals through mTOR and androgen receptor to induce muscle hypertrophy. **Medicine and science in sports and exercise**, 45, n. 9, p. 1712-1720, 2013.

BAZ-VALLE; FONTES-VILLALBA; SANTOS-CONCEJERO. Total number of sets as a training volume quantification method for muscle hypertrophy: a systematic review. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, 35, n. 3, p. 870-878, 2021.

BHASIN; STORER; BERMAN; CALLEGARI *et al.* The effects of supraphysiologic doses of testosterone on muscle size and strength in normal men. **New England Journal of Medicine**, 335, n. 1, p. 1-7, 1996.

BHASIN; WOODHOUSE; CASABURI; SINGH *et al.* Testosterone dose-response relationships in healthy young men. **American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism**, 2001.

BINTLIFF; WALKER. Radioautographic study of skeletal muscle regeneration. **American Journal of Anatomy**, 106, n. 3, p. 233-245, 1960.

BLAAUW; REGGIANI. The role of satellite cells in muscle hypertrophy. **Journal of muscle research and cell motility**, 35, n. 1, p. 3-10, 2014.

BLAAUW; SCHIAFFINO; REGGIANI. Mechanisms modulating skeletal muscle phenotype. **Comprehensive Physiology**, 3, n. 4, p. 1645-1687, 2011.

BOLOTARI; ANDREAZZI; DE LADE; COSTA *et al.* Effects of moderate intensity endurance training and high-intensity interval training on the reproductive parameters of wistar rats overfed in infancy. **Chinese Journal of Physiology**, 64, n. 2, p. 106, 2021.

BROOK; WILKINSON; SMITH; ATHERTON. It's not just about protein turnover: the role of ribosomal biogenesis and satellite cells in the regulation of skeletal muscle hypertrophy. **European journal of sport science**, 19, n. 7, p. 952-963, 2019.

BROWN; HIKIM; KOVACHEVA; SINHA-HIKIM. Mouse model of testosterone-induced muscle fiber hypertrophy: involvement of p38 mitogen-activated protein kinase-mediated Notch signaling. **The Journal of endocrinology**, 201, n. 1, p. 129, 2009.

BRUUSGAARD; JOHANSEN; EGNER; RANA *et al.* Myonuclei acquired by overload exercise precede hypertrophy and are not lost on detraining. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 107, n. 34, p. 15111-15116, 2010.

BUENO; CARVALHO; GUTIERRES; LHAMAS *et al.* Impacts of dose and time of boldenone and stanazolol exposure in inflammatory markers, oxidative and nitrosative stress and histopathological changes in the rat testes. **Theriogenology**, 90, p. 101-108, 2017.

BURD; TANG; MOORE; PHILLIPS. Exercise training and protein metabolism: influences of contraction, protein intake, and sex-based differences. **Journal of applied physiology**, 106, n. 5, p. 1692-1701, 2009.

CHEEK. The control of cell mass and replication. The DNA unit-a personal 20-year study. **Early human development**, 12, n. 3, p. 211-239, 1985.

CONBOY; CONBOY; SMYTHE; RANDO. Notch-mediated restoration of regenerative potential to aged muscle. **Science**, 302, n. 5650, p. 1575-1577, 2003.

CONCEICAO; VECHIN; LIXANDRAO; DAMAS *et al.* Muscle fiber hypertrophy and myonuclei addition: a systematic review and meta-analysis. **Medicine and science in sports and exercise**, 50, n. 7, p. 1385-1393, 2018.

CUNHA; TANNO; MARCONDES; PEREZ *et al.* A administração de nandrolona não promove hipertrofia do músculo sóleo em ratos. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, 2006.

DAMAS; LIBARDI; UGRINOWITSCH. The development of skeletal muscle hypertrophy through resistance training: the role of muscle damage and muscle protein synthesis. **European journal of applied physiology**, 118, n. 3, p. 485-500, 2018.

DAMAS; PHILLIPS; LIBARDI; VECHIN *et al.* Resistance training-induced changes in integrated myofibrillar protein synthesis are related to hypertrophy only after attenuation of muscle damage. **The Journal of physiology**, 594, n. 18, p. 5209-5222, 2016.

DE SALLES; SIMAO; MIRANDA; DA SILVA NOVAES *et al.* Rest interval between sets in strength training. **Sports medicine**, 39, n. 9, p. 765-777, 2009.

DESCHENES; KRAEMER; MARESH; CRIVELLO. Exercise-induced hormonal changes and their effects upon skeletal muscle tissue. **Sports Medicine**, 12, n. 2, p. 80-93, 1991.

DEUS; BASSI; SIMOES; OLIVEIRA *et al.* MMP-2 expression in skeletal muscle after strength training. **International journal of sports medicine**, 33, n. 02, p. 137-141, 2012.

DIMAURO; BALNAVE; SHOREY. Effects of anabolic steroids and high intensity exercise on rat skeletal muscle fibres and capillarization. **European journal of applied physiology and occupational physiology**, 64, n. 3, p. 204-212, 1992.

EGNER; BRUUSGAARD; EFTESTØL; GUNDERSEN. A cellular memory mechanism aids overload hypertrophy in muscle long after an episodic exposure to anabolic steroids. **The Journal of Physiology**, 591, n. 24, p. 6221-6230, 2013.

FERRY; SCHUH; PARLAKIAN; MGRDITCHIAN *et al.* Myofiber androgen receptor promotes maximal mechanical overload-induced muscle hypertrophy and fiber type transition in male mice. **Endocrinology**, 155, n. 12, p. 4739-4748, 2014.

FIGUEIREDO. Revisiting the roles of protein synthesis during skeletal muscle hypertrophy induced by exercise. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, 317, n. 5, p. R709-R718, 2019.

FIGUEIREDO; DE SALLES; TRAJANO. Volume for muscle hypertrophy and health outcomes: the most effective variable in resistance training. **Sports Medicine**, 48, n. 3, p. 499-505, 2018.

FITTS; KLEIN; POWERS. Comparison of tamoxifen and testosterone propionate in male rats: differential prevention of orchidectomy effects on sex organs, bone mass, growth, and the growth hormone—IGF-I axis. **Journal of andrology**, 25, n. 4, p. 523-534, 2004.

GIAGULLI; TRIGGIANI; CORONA; CARBONE *et al.* Evidence-based medicine update on testosterone replacement therapy (TRT) in male hypogonadism: focus on new formulations. **Current pharmaceutical design**, 17, n. 15, p. 1500-1511, 2011.

GOLLNICK; MATOBA. The muscle fiber composition of skeletal muscle as a predictor of athletic success: An overview. **The American journal of sports medicine**, 12, n. 3, p. 212-217, 1984.

GONZALEZ; HOFFMAN; STOUT; FUKUDA *et al.* Intramuscular anabolic signaling and endocrine response following resistance exercise: implications for muscle hypertrophy. **Sports Medicine**, 46, n. 5, p. 671-685, 2016.

HANSSEN; KVAMME; NILSEN; RØNNESTAD *et al.* The effect of strength training volume on satellite cells, myogenic regulatory factors, and growth factors. **Scandinavian journal of medicine & science in sports**, 23, n. 6, p. 728-739, 2013.

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

HASS; FEIGENBAUM; FRANKLIN. Prescription of resistance training for healthy populations. **Sports medicine**, 31, n. 14, p. 953-964, 2001.

HAWKE. Muscle stem cells and exercise training. **Exercise and sport sciences reviews**, 33, n. 2, p. 63-68, 2005.

HERON; RICHMOND. In-series fiber architecture in long human muscles. **Journal of Morphology**, 216, n. 1, p. 35-45, 1993.

HIKIDA; WALSH; BARYLSKI; CAMPOS *et al.* Is hypertrophy limited in elderly muscle fibers? A comparison of elderly and young strength-trained men. **BAM-PADOVA-**, 8, p. 419-428, 1998.

HILDRETH; BARRY; MOREAU; VANDE GRIEND *et al.* Effects of testosterone and progressive resistance exercise in healthy, highly functioning older men with

low-normal testosterone levels. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, 98, n. 5, p. 1891-1900, 2013.

HOLMÄNG; MÅRIN; LINDSTEDT; HEDELIN. Effect of long-term oral testosterone undecanoate treatment on prostate volume and serum prostate-specific antigen concentration in eugonadal middle-aged men. **The Prostate**, 23, n. 2, p. 99-106, 1993.

HORNBERGER JR; FARRAR. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. **Canadian journal of applied physiology**, 29, n. 1, p. 16-31, 2004.

HORWATH; APRÓ; MOBERG; GODHE *et al.* Fiber type-specific hypertrophy and increased capillarization in skeletal muscle following testosterone administration in young women. **Journal of Applied Physiology**, 128, n. 5, p. 1240-1250, 2020.

HOWARD; MARGOLIS; BERRYMAN; LIEBERMAN *et al.* Testosterone supplementation upregulates androgen receptor expression and translational capacity during severe energy deficit. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, 319, n. 4, p. E678-E688, 2020.

JOANISSE; LIM; MCKENDRY; MCLEOD *et al.* Recent advances in understanding resistance exercise training-induced skeletal muscle hypertrophy in humans. **F1000Research**, 9, 2020.

JORGENSON; PHILLIPS; HORNBERGER. Identifying the Structural Adaptations that Drive the Mechanical Load-Induced Growth of Skeletal Muscle: A Scoping Review. **Cells**, 9, n. 7, p. 1658, 2020.

JUNQUEIRA; CARNEIRO. **Histologia básica - Texto e Atlas**. 13^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018.

KADI. Eriksson A, Holmner S, and Thornell LE. **Effects of anabolic steroids on the muscle cells of strength-trained athletes**. **Med Sci Sports Exerc**, 31, p. 1528-1534, 1999.

KADI; BONNERUD; ERIKSSON; THORNELL. The expression of androgen receptors in human neck and limb muscles: effects of training and self-administration of androgenic-anabolic steroids. **Histochemistry and cell biology**, 113, n. 1, p. 25-29, 2000.

KADI; THORNELL. Concomitant increases in myonuclear and satellite cell content in female trapezius muscle following strength training. **Histochemistry and cell biology**, 113, n. 2, p. 99-103, 2000.

KICMAN. Pharmacology of anabolic steroids. **British journal of pharmacology**, 154, n. 3, p. 502-521, 2008.

KOEHL. When does morphology matter? **Annual Review of Ecology and Systematics**, 27, n. 1, p. 501-542, 1996.

KRAEMER; RATAMESS. Fundamentals of resistance training: progression and exercise prescription. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, 36, n. 4, p. 674-688, 2004.

KRAUSE NETO; DE ASSIS SILVA; CIENA; ANARUMA *et al.* Divergent effects of resistance training and anabolic steroid on the postsynaptic region of different skeletal muscles of aged rats. **Experimental Gerontology**, 98, p. 80-90, 2017.

KRAUSE NETO; DE ASSIS SILVA; POLICAN CIENA; BOCALINI *et al.* Total training load may explain similar strength gains and muscle hypertrophy seen in aged rats submitted to resistance training and anabolic steroids. **The Aging Male**, 21, n. 1, p. 65-76, 2018.

LAURENT; SPARROW; MILLWARD. Turnover of muscle protein in the fowl. **Hihem. J**, 176, p. 407-417, 1978.

LIEBER. Skeletal muscle adaptability. I: Review of basic properties. **Dev Med Child Neurol**, 28, n. 3, p. 390-397, 1986.

LOURENÇO; KRAUSE NETO; DOS SANTOS PORTELLA AMORIM; MORAES MUNHOZ ORTIZ *et al.* Muscle hypertrophy and ladder-based resistance training for rodents: A systematic review and meta-analysis. **Physiological Reports**, 8, n. 17, p. e14502, 2020.

LUNDBERG; MARTÍNEZ-ARANDA; SANZ; HANSSON *et al.* Early accentuated muscle hypertrophy is strongly associated with myonuclear accretion. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, 319, n. 1, p. R50-R58, 2020.

MACKEY; HOLM; REITELSEDER; PEDERSEN *et al.* Myogenic response of human skeletal muscle to 12 weeks of resistance training at light loading intensity. **Scandinavian journal of medicine & science in sports**, 21, n. 6, p. 773-782, 2011.

MANDARIM-DE-LACERDA. Stereological tools in biomedical research. **Anais da Academia brasileira de Ciências**, 75, n. 4, p. 469-486, 2003.

MAURAS; HAYES; WELCH; RINI *et al.* Testosterone deficiency in young men: marked alterations in whole body protein kinetics, strength, and adiposity. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, 83, n. 6, p. 1886-1892, 1998.

MAURO. Satellite cell of skeletal muscle fibers. **The Journal of Cell Biology**, 9, n. 2, p. 493-495, 1961.

MAXWELL; WHITE; FAULKNER. Oxidative capacity, blood flow, and capillarity of skeletal muscles. **Journal of Applied Physiology**, 49, n. 4, p. 627-633, 1980.

MCGLORY; DEVRIES; PHILLIPS. Skeletal muscle and resistance exercise training; the role of protein synthesis in recovery and remodeling. **Journal of applied physiology**, 122, n. 3, p. 541-548, 2017.

MITCHELL; CHURCHWARD-VENNE; PARISE; BELLAMY *et al.* Acute post-exercise myofibrillar protein synthesis is not correlated with resistance training-induced muscle hypertrophy in young men. **PloS one**, 9, n. 2, p. e89431, 2014.

MOORADIAN A.; AND; S. Biological actions of androgens. **Endocrine Review**, 8, p. 1-28, 1987.

MOORADIAN; MORLEY; KORENMAN. Biological actions of androgens. **Endocrine reviews**, 8, n. 1, p. 1-28, 1987.

MORTON; MURPHY; MCKELLAR; SCHOENFELD *et al.* A systematic review, meta-analysis and meta-regression of the effect of protein supplementation on resistance training-induced gains in muscle mass and strength in healthy adults. **British journal of sports medicine**, 52, n. 6, p. 376-384, 2018.

NETO; SILVA; CIENA; ANARUMA *et al.* Vertical climbing for rodent resistance training: a discussion about training parameters. **Int J Sports Sci**, 6, p. 36-49, 2016.

NOORAFSHAN; KARBALAY-DOUST; ARDEKANI. High doses of nandrolone decanoate reduce volume of testis and length of seminiferous tubules in rats. **Apmis**, 113, n. 2, p. 122-125, 2005.

OLSEN; AAGAARD; KADI; TUFKOVIC *et al.* Creatine supplementation augments the increase in satellite cell and myonuclei number in human skeletal muscle induced by strength training. **The Journal of physiology**, 573, n. 2, p. 525-534, 2006.

PADILHA; CELLA; RIBEIRO; VOLTARELLI *et al.* Moderate vs high-load resistance training on muscular adaptations in rats. **Life sciences**, 238, p. 116964, 2019.

PANDITA; PERSSON; HEDLUND; ANDERSSON. Testosterone-induced prostatic growth in the rat causes bladder overactivity unrelated to detrusor hypertrophy. **The Prostate**, 35, n. 2, p. 102-108, 1998.

PÉREZ-OLVERA; BALDERAS; MARTÍNEZ. Revisión de los métodos estereológicos y su aplicación en biología celular. **Patología Revista Latinoamericana**, 50, n. 2, p. 63-71, 2012.

PETRELLA; KIM; CROSS; KOSEK *et al.* Efficacy of myonuclear addition may explain differential myofiber growth among resistance-trained young and older men and women. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, 291, n. 5, p. E937-E946, 2006.

PETRELLA; KIM; MAYHEW; CROSS *et al.* Potent myofiber hypertrophy during resistance training in humans is associated with satellite cell-mediated myonuclear addition: a cluster analysis. **Journal of applied physiology**, 104, n. 6, p. 1736-1742, 2008.

PETTE; STARON. Cellular and molecular diversities of mammalian skeletal muscle fibers. *In: Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology, Volume 116*: Springer, 1990. p. 1-76.

PHILIPPE; PY; FAVIER; SANCHEZ *et al.* Modeling the responses to resistance training in an animal experiment study. **BioMed research international**, 2015, 2015.

PHILLIPS; TIPTON; AARSLAND; WOLF *et al.* Mixed muscle protein synthesis and breakdown after resistance exercise in humans. **American journal of physiology-endocrinology and metabolism**, 273, n. 1, p. E99-E107, 1997.

ROBERTS; ROMERO; MOBLEY; MUMFORD *et al.* Skeletal muscle mitochondrial volume and myozenin-1 protein differences exist between high versus low anabolic responders to resistance training. **PeerJ**, 6, p. e5338, 2018.

ROSS; PAWLINA. **Histologia - Texto e Atlas - Correlações biologia celular e molecular**. 7^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.

SADDICK. Effect of Nandrolone decanoate induced-oxidative stress on rat testes, prostate, and seminal vesicle: Biochemical, morphometric and histopathological studies. **Saudi Journal of Biological Sciences**, 28, n. 1, p. 196-203, 2021.

SAGOE; MOLDE; ANDREASSEN; TORSHEIM *et al.* The global epidemiology of anabolic-androgenic steroid use: a meta-analysis and meta-regression analysis. **Annals of epidemiology**, 24, n. 5, p. 383-398, 2014.

SAWILOWSKY. New effect size rules of thumb. **Journal of Modern Applied Statistical Methods**, 8, n. 2, p. 26, 2009.

SCHIAFFINO; REGGIANI. Fiber types in mammalian skeletal muscles. **Physiological reviews**, 91, n. 4, p. 1447-1531, 2011.

SCHMALBRUCH; HELLHAMMER. The number of nuclei in adult rat muscles with special reference to satellite cells. **The Anatomical Record**, 189, n. 2, p. 169-175, 1977.

SCHOENFELD. The mechanisms of muscle hypertrophy and their application to resistance training. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, 24, n. 10, p. 2857-2872, 2010.

SCHOENFELD; GRGIC; OGBORN; KRIEGER. Strength and hypertrophy adaptations between low-vs. high-load resistance training: a systematic review

and meta-analysis. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, 31, n. 12, p. 3508-3523, 2017.

SCHOENFELD; OGBORN; KRIEGER. Effects of resistance training frequency on measures of muscle hypertrophy: a systematic review and meta-analysis. **Sports Medicine**, 46, n. 11, p. 1689-1697, 2016.

SCHOENFELD; OGBORN; KRIEGER. Dose-response relationship between weekly resistance training volume and increases in muscle mass: A systematic review and meta-analysis. **Journal of sports sciences**, 35, n. 11, p. 1073-1082, 2017.

SCHOENFELD; PETERSON; OGBORN; CONTRERAS *et al.* Effects of low-vs. high-load resistance training on muscle strength and hypertrophy in well-trained men. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, 29, n. 10, p. 2954-2963, 2015.

SCHOENFELD; POPE; BENIK; HESTER *et al.* Longer intersets rest periods enhance muscle strength and hypertrophy in resistance-trained men. **Journal of strength and conditioning research**, 30, n. 7, p. 1805-1812, 2016.

SCOTT; STEVENS; BINDER-MACLEOD. Human skeletal muscle fiber type classifications. **Physical therapy**, 81, n. 11, p. 1810-1816, 2001.

SHAHIDI. A review of the chemistry, biological action, and clinical applications of anabolic-androgenic steroids. **Clinical therapeutics**, 23, n. 9, p. 1355-1390, 2001.

SINHA-HIKIM; ARTAZA; WOODHOUSE; GONZALEZ-CADAVID *et al.* Testosterone-induced increase in muscle size in healthy young men is associated with muscle fiber hypertrophy. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, 283, n. 1, p. E154-E164, 2002.

SINHA-HIKIM; CORNFORD; GAYTAN; LEE *et al.* Effects of testosterone supplementation on skeletal muscle fiber hypertrophy and satellite cells in community-dwelling older men. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, 91, n. 8, p. 3024-3033, 2006.

SINHA-HIKIM; ROTH; LEE; BHASIN. Testosterone-induced muscle hypertrophy is associated with an increase in satellite cell number in healthy, young men. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, 285, n. 1, p. E197-E205, 2003.

SNIJDERS; NEDERVEEN; MCKAY; JOANISSE *et al.* Satellite cells in human skeletal muscle plasticity. **Frontiers in physiology**, 6, p. 283, 2015.

SNIJDERS; SMEETS; VAN KRANENBURG; KIES *et al.* Changes in myonuclear domain size do not precede muscle hypertrophy during prolonged resistance-type exercise training. **Acta physiologica**, 216, n. 2, p. 231-239, 2016.

SOARES; LOPES; MARCHETTI. Efeitos agudos e adaptações neuromusculares decorrente da manipulação de volume e densidade no treinamento de força. **Revista CPAQV–Centro de Pesquisas Avançadas em Qualidade de Vida** Vol, 9, n. 2, p. 2, 2017.

STARON. Human skeletal muscle fiber types: delineation, development, and distribution. **Canadian Journal of Applied Physiology**, 22, n. 4, p. 307-327, 1997.

STEIN; PADYKULA. Histochemical classification of individual skeletal muscle fibers of the rat. **American Journal of Anatomy**, 110, n. 2, p. 103-123, 1962.

TIBANA; FRANCO; CUNHA; SOUSA *et al.* The effects of resistance training volume on skeletal muscle proteome. **International Journal of Exercise Science**, 10, n. 7, p. 1051, 2017.

TOIGO; BOUTELLIER. New fundamental resistance exercise determinants of molecular and cellular muscle adaptations. **European journal of applied physiology**, 97, n. 6, p. 643-663, 2006.

TROVATO; IMBESI; CONWAY; CASTROGIOVANNI. Morphological and functional aspects of human skeletal muscle. **Journal of Functional Morphology and Kinesiology**, 1, n. 3, p. 289-302, 2016.

TURNER; SEABORNE; SHARPLES. Comparative transcriptome and methylome analysis in human skeletal muscle anabolism, hypertrophy and epigenetic memory. **Scientific reports**, 9, n. 1, p. 1-12, 2019.

VAN DER MEER; JASPERS; JONES; DEGENS. Time-course of changes in the myonuclear domain during denervation in young-adult and old rat gastrocnemius muscle. **Muscle & nerve**, 43, n. 2, p. 212-222, 2011.

VAN WESSEL; DE HAAN; VAN DER LAARSE; JASPERS. The muscle fiber type–fiber size paradox: hypertrophy or oxidative metabolism? **European journal of applied physiology**, 110, n. 4, p. 665-694, 2010.

VERAS; DE FREITAS; THORPE; SERAPHIM *et al.* Strength Training Modulates Prostate of Wistar Rats Submitted to High-Fat Diet. **Reproductive Sciences**, 27, n. 12, p. 2187-2196, 2020.

VINGREN; KRAEMER; RATAMESS; ANDERSON *et al.* Testosterone physiology in resistance exercise and training. **Sports medicine**, 40, n. 12, p. 1037-1053, 2010.

WACKERHAGE; SCHOENFELD; HAMILTON; LEHTI *et al.* Stimuli and sensors that initiate skeletal muscle hypertrophy following resistance exercise. **Journal of Applied Physiology**, 126, n. 1, p. 30-43, 2019.

WANG; RUDNICKI. Satellite cells, the engines of muscle repair. **Nature reviews Molecular cell biology**, 13, n. 2, p. 127-133, 2012.

WILSON; DESCHENES. The neuromuscular junction: anatomical features and adaptations to various forms of increased, or decreased neuromuscular activity. **International journal of neuroscience**, 115, n. 6, p. 803-828, 2005.

WOODHOUSE; REISZ-PORSZASZ; JAVANBAKHT; STORER *et al.* Development of models to predict anabolic response to testosterone administration in healthy young men. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, 2003.

XING; LIU; ZHOU. Satellite cell proliferation and myofiber cross-section area increase after electrical stimulation following sciatic nerve crush injury in rats. **Chinese medical journal**, 133, n. 16, p. 1952, 2020.

ZAMMIT; PARTRIDGE; YABLONKA-REUVENI. The skeletal muscle satellite cell: the stem cell that came in from the cold. **Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, 54, n. 11, p. 1177-1191, 2006.

ZIERATH; HAWLEY. Skeletal muscle fiber type: influence on contractile and metabolic properties. **PLoS Biol**, 2, n. 10, p. e348, 2004.