

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE BACHARELADO EM BIOTECNOLOGIA

ALAM CLEBER FERREIRA CROCO FILHO

**EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DE ESTEROIDES ANABÓLICO-ANDROGÊNICOS
SOBRE VIAS METABÓLICAS E ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS NO TECIDO
MUSCULAR ESQUELÉTICO EXERCITADO**

SÃO CARLOS

2021

ALAM CLEBER FERREIRA CROCO FILHO

**EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DE ESTEROIDES ANABÓLICO-ANDROGÊNICOS
SOBRE VIAS METABÓLICAS E ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS NO TECIDO
MUSCULAR ESQUELÉTICO EXERCITADO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Bacharelado em
Biotecnologia da Universidade Federal de
São Carlos como pré-requisito à obtenção
do grau de Bacharel em Biotecnologia

Orientador: Prof. Dr. Wladimir Rafael
Beck

SÃO CARLOS

2021

RESUMO

O presente estudo, que se constituiu como uma revisão descritiva, teve como objetivo a compreensão dos efeitos da administração exógena de esteroides anabólico-androgênicos sobre vias metabólicas, bem como a modulação fisiológica exercida por estes sobre o tecido muscular esquelético mediante exercício, evidenciando detalhes das rotas bioquímicas e da morfofisiologia endócrina e muscular, diante da atuação de hormônios andrógenos, como a testosterona e seus derivados. Criados originalmente para fins estritamente médicos, os esteroides anabólico-androgênicos tiveram seu uso acentuado sobretudo por atletas a partir da década de 1950, e também para fins estéticos anos depois. Hoje, constituem um assunto delicado em vários países e ainda carecemos de estudos com ampla abrangência estatística sobre os efeitos dessas drogas no metabolismo, bem como sobre quais são os pontos-chave que conectam os mecanismos que permeiam o processo de hipertrofia. Dessa forma, a partir das informações obtidas, este estudo buscou contemplar a diversidade de fatores envolvidos no uso exógeno de andrógenos para fins de performance e estética, além de brevemente pontuar, ao longo do texto, perspectivas sobre como as pesquisas com EAAs colaboram para melhor compreender algumas questões de saúde que vão além dos fins de hipertrofia muscular, como síndromes metabólicas e obesidade, por exemplo.

Palavras-chave: Vias metabólicas celulares; Exercício muscular resistido; Hipertrofia muscular; Esteroides anabólico-androgênicos; Testosterona; Sinalização Andrógena

ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Esquema de tecido muscular estriado esquelético	25
Figura 2 - Representação da regulação dos filamentos de actina	26
Figura 3 - Via PI3K/AKT/mTOR	31
Figura 4 - Influência da miostatina na ação de células-satélite	35
Figura 5 - Esquema da ação da miostatina sobre o metabolismo proteico	36
Figura 6 - Intersecção de vias que respondem a andrógenos no tecido muscular	42

SUMÁRIO

1) INTRODUÇÃO	7
2) OBJETIVOS	8
3) METODOLOGIA	8
4) REVISÃO DE LITERATURA	8
4.1 - O Sistema endócrino	8
4.1.2 - Regulação Hormonal: eixo hipotalâmico-hipofisário	10
4.2.2 - Hormônios hipofisiotróficos e o eixo neuroendócrino	11
4.2.3 - Morfofisiologia dos testículos	13
4.2.4 - Células de Sertoli e células de Leydig	13
4.3 - Hormônios esteroides	15
4.4 - Testosterona	15
4.4.1 - A biossíntese da testosterona	17
4.4.2 - O transporte da testosterona	18
4.4.3 - Mecanismo geral de ação para o anabolismo e síntese proteica	19
4.5 - Os esteroides anabolizantes androgênicos (EAAs)	20
4.5.1 - O uso dos EAAs na medicina	22
4.5.2 - Histórico dos EAAs nos esportes	23
4.6 - O tecido muscular	24
4.7 - Exercício muscular resistido e o processo de hipertrofia muscular	27
4.8 - As vias de hipertrofia muscular	28
4.8.1 - Via PI3K/AKT/mTOR	29
4.8.2 - Via de ativação das células-satélite	31
4.8.3 - Via calcineurina/NFAT	32
4.8.4 - Via da miostatina	34
4.9 - Metabolismo e hipertrofia muscular: o papel da PGC-1 α	35

4.9.1 - Metabolismo: fluxo glicolítico e energia	36
4.9.2 - EAAs como potencializadores da hipertrofia muscular	38
5) DISCUSSÃO	42
6) CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS	45
7) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

1) INTRODUÇÃO

Os esteroides anabólico-androgênicos (EAAs) tiveram grande destaque em relação a novas descobertas a partir de pesquisas na década de 1930, dados os seus potenciais benefícios para a área médica. Já na década de 1950 estavam sendo utilizados por atletas para aumento de performance em diversos esportes ou mesmo para estética, e atualmente são ainda estudados para uma compreensão mais profunda acerca de seus mecanismos de ação, efeitos clínicos e para a otimização de suas formas farmacológicas (CÂMARA, 2018).

A abordagem do tema do uso de EAAs exige a compreensão de como funciona a morfofisiologia do sistema endócrino humano e também do tecido muscular esquelético, sendo este último o palco principal de atuação dos mecanismos de hipertrofia ocasionados pelo uso dos esteroides aliados ao exercício resistido. Nesse contexto, temos algumas vias bioquímicas que regem o processo da hipertrofia muscular esquelética, como PI3K/Akt/mTOR, via de ativação das células satélite, via da calcineurina/NFAT e via de regulação da miostatina (LIMA, 2017), que servirão como base para entender o funcionamento da administração exógena de andrógenos no organismo.

Um dos grandes pontos-chave na intersecção dessas vias gira em torno de um cenário de estresse mecânico e metabólico a partir do exercício muscular resistido orientado à hipertrofia, sendo que o uso de doses supra-fisiológicas de EAAs possui o potencial de promover maior regeneração estrutural celular, a partir da ativação de células-satélite (KADI, 2008), em confluência com um contexto de favorecimento à manutenção do saldo positivo entre síntese e quebra de proteínas, isto é, favorecendo o anabolismo (WEST, 2010), além da inibição de vias catabólicas, como a da miostatina (WEST; PHILLIPS, 2010).

É necessário destacar que ainda há diversas lacunas para o entendimento de como as vias atuam em sinergia (BAMMAN et al, 2017) para a hipertrofia, sobre como o estímulo proveniente da prática do exercício resistido cria um microambiente favorável ao anabolismo (NITZSCHE et al., 2020) e até mesmo sobre como a eficiência energética do metabolismo influencia na otimização da performance para o ganho de massa muscular magra (HARGREAVES; SPRIET, 2020). Cabe ainda ressaltar que variáveis nutricionais e genéticas, bem como a dificuldade de se estabelecerem estudos a longo prazo com o uso dessas drogas em grupos com relevância estatística (KERSEY et al, 2012) são entraves para a elucidação de diversas dúvidas remanescentes sobre o tema.

2) OBJETIVOS

O objetivo do presente trabalho é identificar vias metabólicas e alterações morfológicas estimuladas pela administração exógena de esteroides anabólico-androgênicos sobre o músculo esquelético a partir do exercício resistido orientado à hipertrofia.

2.1) Objetivos específicos

- Descrever a morfofisiologia do sistema endócrino, com enfoque em conceitos como o eixo hipotalâmico-hipofisário e testosterona;
- Descrever o conceito de hormônios esteroides anabólico-androgênicos (EAAs);
- Descrever o sistema muscular, bem como identificar as diferentes vias da hipertrofia muscular;
- Descrever a sinergia entre as vias de hipertrofia muscular e o papel dos EAAs como potencializadores do processo hipertrófico

3) METODOLOGIA

Para esta revisão narrativa, foi realizada uma extensa pesquisa bibliográfica na base eletrônica de dados PUBMED, juntamente com a consulta a livros. A busca pelos trabalhos científicos compreende artigos cujas datas vão até o ano de 2020. As buscas foram realizadas utilizando palavras-chave como: [*signaling hypertrophy pathways*], [*muscular hypertrophy*], [*anabolic-androgenic steroids*], [*hormonal system*] e [*testosterone*], além de derivadas desta, tanto nos idiomas inglês quanto português.

4) REVISÃO DE LITERATURA

4.1 O Sistema Endócrino

O sistema endócrino é composto por diversas glândulas e hormônios, que juntos, regulam inúmeras funções do organismo, como crescimento, desenvolvimento, metabolismo, balanço eletrolítico e reprodução. Em associação com o sistema nervoso, o sistema hormonal garante a comunicação entre diferentes regiões do corpo, possibilitando respostas apropriadas

a estímulos externos e internos, de modo a assegurar a homeostase do organismo (HILLER-STURMHÖFEL; BARTKE, 1998).

O termo “hormônio” foi usado pela primeira vez em 1905, por Ernest Starling, um professor de fisiologia da University College London, no Reino Unido. Pela definição dada pelo próprio professor, hormônios seriam “mensageiros químicos que viajam de célula a célula pela corrente sanguínea, coordenando atividades e o crescimento em diferentes partes do corpo”. Desde então, essas moléculas têm despertado o interesse de inúmeros campos da ciência e diversos estudos levaram a importantes descobertas (TATA, 2005).

Atualmente, a definição mais simples de hormônio, como um mensageiro intercelular que exerce controle sobre determinada célula-alvo, se mostra mais abrangente e completa do que a original, uma vez que permite que uma única célula seja considerada como uma glândula e além disso, elimina o fator circulação sanguínea como um pré-requisito. Assim, os conceitos de função endócrina expandiram-se também para termos como parácrino, autócrino e intrácrino, por exemplo, e hoje o sistema hormonal abrange, dadas as devidas particularidades, cada órgão ou célula que responda a estímulos hormonais (CHROUSOS, 2007). E as células responsáveis pela secreção de hormônios podem ser divididas de acordo com o local de atuação de seus metabólitos: células endócrinas secretam seus conteúdos diretamente na corrente sanguínea, para que possam atuar no organismo todo; as células parácrinas secretam seus produtos no espaço extracelular, com atuação nas células mais próximas; as células classificadas como autócrinas e intrácrinas afetam apenas seu próprio funcionamento.

Os hormônios compreendem diversos tipos de moléculas, sendo que alguns possuem ação estritamente específica, enquanto outros atuam de forma pleiotrópica. De modo geral, as células-alvo dos hormônios possuem receptores hormonais, estejam eles presentes na membrana celular ou no citoplasma, e a partir da ligação hormônio-receptor, uma cascata de transdução de sinais intracelulares ocasiona mudanças na função ou na atividade celular (HILLER-STURMHÖFEL; BARTKE, 1998). Temos diversas classes de hormônios, como esteroides, hormônios derivados de aminoácidos e hormônios polipeptídeos, cujas diferenças se dão em relação à localização do receptor nas células-alvo, meia-vida, diferenças na síntese e armazenamento, e também no modo de liberação das células secretoras, além de diferenças químicas entre as classes de moléculas (SILVERTHORN et al, 2011).

4.1.2 Regulação Hormonal: eixo hipotalâmico-hipofisário

O hipotálamo é uma região altamente conservada e essencial do cérebro dos mamíferos. Composto majoritariamente por massa cinzenta, o hipotálamo é responsável pela homeostase do organismo, o que deriva de sua capacidade de coordenar respostas endócrinas, autônomas e comportamentais a partir de estímulos, sejam eles externos, como luz e temperatura, ou internos, como a pressão arterial sistêmica e a glicemia sanguínea, bem como a partir do *feedback* (retroalimentação) proveniente da concentração sérica de cada hormônio. A partir da interpretação desses estímulos, o hipotálamo exerce sua atividade regulatória, respondendo com a produção de neurotransmissores e hormônios reguladores que podem atuar em locais como o córtex cerebral, a medula espinhal, neurônios motores, e a glândula pituitária (hipófise) anterior e posterior, sendo o controle desta última o ponto-chave para a coordenação endócrina de funções essenciais à manutenção da sobrevivência (MELMED et al, 2016).

A hipófise, também denominada glândula pituitária, por sua vez, localiza-se sob a chamada sella túrcica do osso esfenóide, abaixo da base do hipotálamo. Nos humanos, é dividida em duas regiões, de diferentes origens, sendo elas a adeno-hipófise (glandular) e a neuro-hipófise (tecido nervoso). Derivada da ectoderme (bolsa de Rathke), adeno-hipófise (ou hipófise anterior) possui células produtoras de hormônios e é controlada por hormônios hipotalâmicos reguladores ou inibidores, por meio do sistema porta, o qual passa pela porção inferior do hipotálamo (eminência mediana), onde os hormônios hipotalâmicos são liberados (EL SAYED et al, 2020).

A comunicação entre o hipotálamo e a glândula pituitária se dá por meio de dois mecanismos. Há a comunicação direta entre o hipotálamo e a neuro-hipófise, que se constitui como uma extensão deste, por meio do feixe hipotalâmico-hipofisário: trata-se de um sistema de rápida comunicação entre o hipotálamo e a pituitária posterior, assegurando, sobretudo, o transporte dos hormônios de liberação dos centros hipotalâmicos para a neuro-hipófise, de modo a garantir a homeostase do organismo (THLIVERIS; CURRIE, 1980). E há ainda a comunicação entre hipotálamo e a porção anterior da hipófise via sistema porta hipotalâmico-hipofisário, o qual se configura como um sistema de capilares entre as duas

regiões, caracterizando a adeno-hipófise como a porção mais vascularizada do organismo dos mamíferos (AMAR; WEISS, 2003).

4.2.2 Hormônios hipofisotróficos e o eixo neuroendócrino

Sabe-se desde a primeira metade do século XX que as secreções pituitárias são controladas pelos hormônios hipotalâmicos, anteriormente denominados “fatores de liberação”. A glândula pituitária é regulada por três elementos de interação, sendo eles: estímulos do hipotálamo (fatores de liberação ou hormônios hipofisotróficos), feedback de hormônios circulantes, e também por secreções parácrinas e autócrinas da própria hipófise. E além de regular a liberação de hormônios, alguns fatores hipofisotróficos controlam a diferenciação e a proliferação de células hipofisárias, além da síntese de hormônios. O hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), por exemplo, é um hormônio peptídico liberado pelo hipotálamo com a capacidade de estimular a adeno-hipófise a liberar tanto o LH (hormônio luteinizante) quanto o FSH (hormônio folículo-estimulante), ambos de suma importância para a gametogênese e para a esteroidogênese.

A secreção destes hormônios é estimulada, como já mencionado, pelo GnRH, isto é, pelo hormônio liberador de gonadotropinas, um hormônio decapeptídico produzido na área pré-óptica medial do hipotálamo. Os axônios dessa região projetam-se até a eminência mediana, onde o GnRH é secretado no plexo capilar primário e transportado para a adeno-hipófise via sistema porta. A secreção de LH e FSH se dá por meio de complexos mecanismos de feedback positivo e negativo em interação com o GnRH, sendo que ao que tudo indica, a secreção pulsátil de GnRH parece ser a de melhor performance para o adequado funcionamento reprodutivo e endócrino (AMAR; WEISS, 2003). Os pulsos de GnRH estimulam a síntese e a secreção de LH e de FSH a partir da porção anterior da hipófise. Uma vez atingido determinado desenvolvimento do sistema nervoso central, o hipotálamo inicia a secreção pulsátil do GnRH, dando início à puberdade (PLANT, 2015).

Dado que a frequência e a amplitude de GnRH são fundamentais para uma expressão e secreção diferenciais de gonadotropinas, a desregulação do pulso deste hormônio está associada a várias desordens. Má nutrição ou gasto calórico excessivo, bem como o envelhecimento podem afetar estes pulsos, e além disso, sabe-se que um estado prolongado de déficit calórico pode induzir distúrbios na produção pulsátil de GnRH (MECKZEKALSKI et al, 2014). Tal quadro de distúrbio do pulso gerador de GnRH se deve ao fato de que células do

rombencéfalo caudal e do hipotálamo detectam a falta de insumo calórico e comunicam-se com neurônios de GnRH direta e indiretamente via neurônios de hormônio liberador de corticotropina (CRH), de modo a inibir a secreção de GnRH. No caso do envelhecimento, a amplitude dos pulsos de GnRH diminui, ocasionando eventuais desordens hipotalâmicas, pituitárias e gonadais, o que requer um aumento de frequência dos pulsos do hormônio por feedback negativo, dado que a testosterona irá naturalmente diminuir com a menor amplitude dos pulsos deste em face do envelhecimento. Em suma, é relevante compreender o funcionamento pulsátil de GnRH no organismo humano, de modo não somente a elucidar eventuais desordens pituitárias, hipotalâmicas e gonadais, como também para aprofundar o entendimento sobre as consequências da regulação exercida pelo GnRH na produção de gonadotropinas humanas, essenciais no processo esteroideogênico (TSUTSUMI; WEBSTER 2009).

E para a ideal compreensão da regulação do eixo hipotalâmico-hipofisário, faz-se necessário o entendimento do papel das alças de retroalimentação para a homeostase do sistema, a qual é mantida em função da concentração de hormônio circulante na corrente sanguínea como variável determinante para a secreção hormonal. O feedback negativo inibe a secreção, enquanto que o feedback positivo permite que o processo ocorra, sendo que em ambos os casos, pode ou não haver participação do sistema nervoso (TSUTSUMI; WEBSTER, 2009).

É sabido que o eixo hipotalâmico-hipofisário é regulado por feedback negativo e a secreção dos hormônios de liberação é regulada por neurotransmissores e neuropeptídeos liberados por um complexo de neurônios que fazem sinapse com neurônios hipofisiotróficos, além de haver a regulação por meio de retroalimentação. A regulação da secreção pituitária por alças de retroalimentação pode se dar por diferentes mecanismos, a depender dos fatores envolvidos. A alça longa de retroalimentação baseia-se no feedback dado pelos hormônios produzidos nos próprios órgãos-alvo. A alça curta de retroalimentação, por sua vez, vale-se dos próprios hormônios da pituitária, que inibem a atividade hipotalâmica, enquanto que a alça ultra-curta de retroalimentação usa os próprios fatores hipofisiotróficos para regular a secreção pituitária (PRUMMEL et al, 2004).

4.2.3 Morfofisiologia dos testículos

Os testículos são órgãos ovóides pareados, localizados dentro do saco escrotal, na parte externa da cavidade abdominal e possuem dimensões que variam de 3,5 a 5 cm de comprimento por 2 a 3 cm de largura, com um volume entre 15 mL e 30 mL. O fluxo sanguíneo é oriundo das artérias testiculares, as quais são provenientes da aorta abdominal. Basicamente, os testículos compreendem dois compartimentos estruturalmente e funcionalmente distintos: o compartimento tubular (túbulos seminíferos), composto pelas células de Sertoli e células germinativas em processo de espermatogênese, abrangendo até 90% do volume dos testículos, e o compartimento intersticial, composto pelas células de Leydig, responsáveis pela síntese e secreção de testosterona (MELMED et al., 2016).

Os testículos são cercados por uma cápsula fibrosa, denominada *tunica albuginea*, e o tecido conectivo fibroso que emana dessa cápsula separa o parênquima dos testículos em diversos lóbulos. O compartimento tubular compreende esse conjunto de lóbulos, que alcança um número de até 300 lóbulos por testículo, cada qual com até 3 túbulos seminíferos (cujo comprimento varia de 30 a 80 cm) altamente emaranhados. É no compartimento tubular que encontramos as células de Sertoli e as células peritubulares, também denominadas miofibroblastos (WEINBAUER et al, 2010).

Os miofibroblastos são células estratificadas que formam camadas concêntricas separadas por camadas de colágeno, o que diferencia os testículos humanos dos testículos de outros mamíferos, por exemplo. São as células peritubulares que produzem fatores envolvidos na contratilidade celular, bem como outras substâncias, como colágeno, moléculas de adesão e fatores de crescimento. Essas células são as responsáveis, dentre outros fatores, pela saída do espermatozoide através dos túbulos seminíferos, dada sua capacidade contrátil, a qual é modulada pelas células de Sertoli (via produção do peptídeo adrenomedulina) (WEINBAUER et al, 2010).

4.2.4 Células de Sertoli e células de Leydig

Descritas inicialmente em 1865, as células de Sertoli possuem um papel central na regulação da espermatogênese, além de fornecer suporte estrutural e nutritivo às células germinativas em desenvolvimento, bem como realizar a fagocitose de células germinativas em degeneração e produzir complexos de proteínas regulatórias e responsivas a hormônios pituitários, exercendo influência na atividade mitótica das espermatogônias. De modo geral, o

funcionamento testicular se dá por meio do controle de genes e de produtos destes, por meio da expressão e supressão de atividades proteicas. Muitos destes fatores de controle exercem seus efeitos por intermédio das células de Sertoli (JOHNSON et al, 2008) e sabe-se ainda que além de proteínas e peptídeos, as células de Sertoli possuem a capacidade de sintetizar e metabolizar alguns hormônios esteroides.

A morfologia das células de Sertoli varia entre o nascimento e a fase adulta, sendo que a formação da chamada barreira hemato-testicular, pela formação de complexos especializados de junção entre as células de Sertoli, entre os vasos sanguíneos e os túbulos seminíferos, é o que marca sua progressiva entrada na fase adulta. De modo concomitante com a formação de tais complexos de junção, as células de Sertoli passam a desenvolver suas características típicas quando na fase adulta, isto é, um núcleo grande e irregular na porção basal da célula, com um citoplasma volumoso e uma distribuição polarizada de organelas (JÉGOU, 1992).

O compartimento intersticial, por sua vez, é o local onde se encontram as células de Leydig, responsáveis pela produção testicular de INSL3 (*Insulin-like factor 3*) e pela produção de testosterona, o principal hormônio sexual masculino. Além das células de Leydig, tal compartimento possui ainda células imunológicas, vasos sanguíneos e linfáticos, nervos, fibroblastos e tecido conectivo (WEINBAUER et al, 2010). Inicialmente relacionadas apenas a características sexuais secundárias (NEAVES, 1975), as células de Leydig levaram mais de uma centena de anos, desde os estudos iniciais em 1850, para que houvesse reconhecimento da totalidade de suas funções e do seu papel majoritário na produção de andrógenos, com a conversão de colesterol em testosterona (ZIRKIN; PAPADOPOULOS 2018).

As células de Leydig adultas são oriundas da diferenciação das células de Leydig fetais no período da puberdade, sendo necessárias para a iniciação e manutenção da espermatogênese, além das funções já mencionadas (YE et al, 2017). São derivadas de células perivasculares e tubulares mesenquimais, com diferenciação induzida pelo LH (hormônio luteinizante) e por fatores de diferenciação provenientes das células de Sertoli. Sabe-se que há uma estreita correlação entre o funcionamento das células de Sertoli e a testosterona produzida pelas células de Leydig (JÉGOU, 1992).

As células de Leydig são ricas em retículo endoplasmático liso e em mitocôndrias, características fisiológicas típicas de células produtoras de esteroides, semelhante ao que

ocorre em outras células de função análoga, como aquelas encontradas na glândula adrenal e nos ovários, por exemplo. Há ainda os corpos lipídicos, compartimentos celulares onde se localizam os estágios iniciais da produção de testosterona (WEINBAUER et al, 2010). É importante ainda destacar que o hormônio luteinizante, também denominado ICSH (Hormônio Estimulador das Células Intersticiais) no sistema reprodutor masculino, atua não somente na esteroidogênese das células de Leydig, como também em sua ultraestrutura, sendo responsável pela biogênese de membranas e pela quantidade de retículos endoplasmáticos lisos, mas não pelo número total de células de Leydig (ZIRKIN; PAPADOPOULOS 2018).

4.3 Hormônios esteroides

Os hormônios esteroides são sintetizados no córtex da adrenal, nas gônadas e também na placenta. São hormônios derivados do colesterol, produzidos na mitocôndria e no retículo endoplasmático liso. Devido à sua natureza lipofílica, não são armazenados em vesículas, sendo sintetizados apenas quando requeridos e liberados a partir da célula secretora por difusão simples. Por sua natureza hidrofóbica, estes hormônios não são solúveis no plasma sanguíneo, necessitando, majoritariamente, de proteínas carreadoras para seu transporte. As frações de hormônio livre (ativo) e hormônio ligado permanecem em equilíbrio dinâmico (HOLST et al, 2004).

Esses hormônios são derivados do mesmo precursor, o colesterol, de modo que no processo de biossíntese de esteroides, há basicamente duas classes de enzimas majoritariamente envolvidas: as citocromo P450 (CYP) e as hidroxiesteroide desidrogenases. Há quatro tipos principais de esteroides: progestágenos, andrógenos, estrógenos e corticóides, sendo os andrógenos aqueles responsáveis pelas características masculinizantes no homem, como aumento de massa muscular, força, pelos, voz, nível de gordura corporal. A testosterona é o principal exemplo de andrógeno, e em termos de classificação, os esteroides anabólico-androgênicos (EAAs) são colocados como subgrupo dos andrógenos (SANTOS, 2018)

4.4 Testosterona

A testosterona constitui-se como o principal hormônio masculinizante, e é responsável por múltiplas funções no metabolismo, exercendo efeito sobre o desenvolvimento muscular e ósseo, eritropoiese, libido, ereção peniana, humor e também cognição, de modo que

deficiências nos níveis deste hormônio no sangue relacionam-se à uma série de implicações (BAIN, 2007). A atividade pleiotrópica da testosterona possui influência direta no uso eficiente de energia pelo organismo, no metabolismo de proteínas, gorduras e carboidratos, bem como na composição corporal, o que vai além das funções apenas de diferenciação e desenvolvimento sexual anteriormente pensadas para este hormônio (TRAISH, 2017).

Os primeiros efeitos da testosterona são observados ainda durante a fase fetal. Durante as 6 primeiras semanas de gestação, os tecidos reprodutivos masculino e feminino são idênticos, havendo diferenciação na 7ª semana, em que o gene SRY (região Y determinante de sexo) atua sobre o desenvolvimento dos testículos. Tanto a testosterona quanto a diidrotestosterona, (ou DHT, metabólito da testosterona sob ação da enzima 5 α -redutase) agem para a formação da genitália externa e da próstata, ainda no feto. O pico dos níveis séricos de testosterona é atingido durante a fase de puberdade, período em que o hormônio é fundamental para o desenvolvimento de características secundárias masculinas, como alterações vocais, quantidade de pelos, massa muscular e libido. Após os 20 anos, os níveis tendem a cair, atingindo níveis mais baixos à medida em que os anos avançam, o que pode acarretar uma série de complicações fisiológicas (NASSAR; LESLIE, 2020).

Na década de 1960, estudos com testículos de ratos indicaram um aumento de testosterona a partir do estímulo de hormônio luteinizante (LH), sem se saber ao certo quais eram as células responsáveis por tal fenômeno, até que estudos conduzidos na mesma época apontaram as células intersticiais (células de Leydig) como produtoras de testosterona a partir da metabolização de colesterol. O hormônio luteinizante (LH) é secretado pela glândula pituitária em resposta ao GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormone*), o qual é liberado pelo hipotálamo. O LH liga-se ao receptor de LH (LHR) na superfície das células de Leydig, estimulando uma cascata de sinalização intracelular na qual o LHR se acopla a proteínas G, ativando a adenilato ciclase e estimulando a produção de AMP cíclico e em consequência, a ativação de proteínas quinase A (PKA) dependentes de cAMP. Este, por sua vez, ocasiona a translocação de colesterol de fontes intracelulares para o interior da mitocôndria, onde temos a formação de pregnenolona por meio da ação da enzima CYP11A1 (ou P450_{scc}) e em seguida, a conversão desta em testosterona, pela ação de enzimas do retículo endoplasmático liso (ZIRKIN; PAPADOPOULOS 2018).

4.4.1 A biossíntese da testosterona

A biossíntese de testosterona envolve duas classes de enzimas, sendo elas as proteínas do citocromo P450 da mitocôndria e as hidroxisteroide-desidrogenases do retículo endoplasmático liso. São quatro as enzimas envolvidas: CYP11A1, localizada na membrana interna da mitocôndria; 3 β -HSD, presente na mitocôndria e em maior parte no retículo endoplasmático; CYP17A1 e 17 β -HSD3, encontradas apenas no retículo endoplasmático liso. A conversão de colesterol para pregnenolona é mediada, como já mencionado, pela CYP11A1, a enzima que de fato determina a capacidade biossintética das células de Leydig. A conversão de colesterol em pregnenolona é o primeiro processo catalítico da biossíntese de andrógenos (ZIRKIN; PAPADOPOULOS, 2018).

A via clássica de biossíntese de andrógenos, também denominada via Δ^5 , ocorre tanto nas gônadas quanto no córtex das adrenais, e compreende desde a pregnenolona até o deidroepiandrosterona (DHEA). A 17 α -hidroxilação da pregnenolona, mediada pela CYP17A1, resulta na 17 α -hidroxipregnenolona, substrato para a ação 17,20-liase da própria CYP17A1, dependente do citocromo b₅ (CYB5A) em combinação com a enzima citocromo P450 oxidorreductase (POR), o que resulta em DHEA. Na adrenal, a maior parte do DHEA produzido na *zona reticularis* passa por um processo de sulfatação, sob ação da sulfotransferase SULT2A1, resultando em DHEA-S. É sob essa forma sulfatada que ocorre a liberação do DHEA e de outros esteroides Δ^5 na corrente sanguínea quando a biossíntese se dá no córtex da adrenal. E assim como na *zona reticularis*, nas células de Leydig, a rota é possível pela co-expressão de CYP17A1 e CYB5A, e como não há SULT2A1, não ocorre sulfatação. Temos, então, DHEA sendo convertido a androstenediol ou 5-Adiol (pela enzima HSD17B), e em seguida a testosterona (pela enzima HSD3B2) ou DHEA passando por androstenediona, também chamado A4 (via HSD3B2) e então a testosterona (via HSD17B) (SCHIFFER et al. 2019).

A conversão do colesterol em pregnenolona é precedida pela translocação do colesterol a partir de várias localidades na célula (sobretudo estoques intracelulares, como os corpos lipídicos) para a membrana externa da mitocôndria e em seguida, para a membrana interna desta, sendo a translocação de colesterol entre membranas mitocondriais regulada por uma proteína dependente da fosforilação pela PKA, denominada STAR (*Steroidogenic Acute Regulatory Protein*), induzida por LH, além de haver a participação de outros complexos de proteínas translocadoras e canais iônicos (ZIRKIN; PAPADOPOULOS, 2018).

O fator limitante para a síntese de hormônios esteroides é o transporte de colesterol do citoplasma para a mitocôndria, mediado pela proteína reguladora aguda da esteroidogênese STAR. A etapa enzimática de conversão de colesterol (C27) em pregnenolona (C21) é o ponto comum para a conversão de colesterol nos quatro tipos majoritários de esteróides, além de ser a etapa limitante para a esteroidogênese uma vez que o colesterol já está dentro da mitocôndria pós-translocação via proteína STAR (ZUBELDIA-BRENNER et al, 2016).

São as células de Leydig, nos testículos, as produtoras e secretoras majoritárias de andrógenos no homem (há ainda a participação das células da chamada *zona reticularis*, do córtex da adrenal), pelo estímulo advindo do LH, o hormônio luteinizante (ZUBELDIA-BRENNER et al, 2016). Após a conversão de colesterol em pregnenolona, há duas vias que podem ser seguidas até a produção da testosterona propriamente dita.

É válido destacar o papel da chamada *zona reticularis* do córtex adrenal como contribuinte, ainda que mínimo, como produtor de precursores de testosterona, como a dehidroepiandrosterona (DHEA) e dehidroepiandrosterona sulfato (DHEA-S). Estes esteroides androgênicos servem de substrato como pró-hormônios não apenas para a testosterona, mas também para o DHT (5 α -diidrotestosterona). Do total de testosterona no organismo, uma parte acaba sendo convertida, em meio intracelular, em DHT, via atuação da enzima 5 α -redutase, em tecidos sensíveis a andrógenos, ou seja, com receptores androgênicos, como é o caso da próstata, folículos capilares, epidídimo, e nos próprios testículos. Além disso, a testosterona pode ainda se converter em estradiol, em um processo conhecido como aromatização, via aromatases, enzimas da família das P450, em regiões de tecido adiposo, sobretudo (TYAGI et al, 2017).

4.4.2 O transporte da testosterona

No plasma sanguíneo, os esteroides distribuem-se em frações livres e em frações ligadas a proteínas, por meio de ligações não-covalentes. A porção ligada a proteínas é tida como inerte, enquanto que a porção livre é a que de fato se encontra biodisponível para exercer suas funções nos tecidos-alvo (HOBBS et al, 1992). Em indivíduos saudáveis, do total de testosterona, cerca de 2% encontra-se livre, 38% está ligado à albumina e 60% encontra-se ligado a uma proteína chamada globulina ligadora de hormônios sexuais, denominada SHBG (TYAGI et al, 2017). Assim sendo, depreende-se que a maior parte do transporte de

testosterona no organismo se dá por meio da ligação não-covalente com SHBG, com alta afinidade e também com alta especificidade.

A SHBG (do inglês *Sex Hormone Binding Globulin*) é uma globulina ligadora de hormônios sexuais, uma glicoproteína que se apresenta como dímero no plasma sanguíneo, contendo duas subunidades capazes de ligarem-se não somente à testosterona, mas também à diidrotestosterona e ao estradiol (GRASA et al, 2017). Trata-se de uma glicoproteína homodimérica produzida principalmente pelo fígado, que de acordo com a hipótese do hormônio livre, atua na atividade biológica da testosterona e do estradiol pela limitação da difusão destes em tecidos-alvo (LAURENT et al, 2016).

A concentração plasmática de SHBG é regulada pelo balanço andrógenos/estrógenos, pelos hormônios da tireoide, insulina e por fatores dietéticos (SELBY, 1990), de modo que desordens metabólicas e endócrinas afetam seus níveis no plasma, e por isso, para além de seu papel no transporte de hormônios sexuais, estudos vêm apontando a SHBG como importante marcador em relação a aspectos fisiológicos (GOLDŠTAJN et al, 2016). Em relação ao transporte e liberação de testosterona nos tecidos-alvo, sabe-se que a dissociação se dá majoritariamente nos capilares sanguíneos, onde a interação de SHBG com o glicocálix do endotélio leva a modificações estruturais no sítio de ligação com o hormônio, reduzindo a afinidade e possibilitando a liberação da testosterona para a célula-alvo ou então, a ligação (junto da SHBG) à megalina, uma proteína receptora expressa em células-alvo (WEINBAUER et al, 2010).

4.4.3 Mecanismo geral de ação para o anabolismo e síntese proteica

De modo geral, o mecanismo de ação da testosterona e de esteroides anabólico-androgênicos como um todo se dá em função de alguns pontos básicos no que tange ao potencial anabólico de estímulo à produção de proteínas: eles fazem com que o balanço de nitrogênio no organismo se mantenha sempre positivo, o que favorece a síntese proteica, sobretudo quando há uma adequada ingestão de proteínas. Essa síntese proteica se dá em função de que a testosterona se liga a receptores específicos, os receptores androgênicos, que então se translocam ao núcleo celular e possibilitam que o hormônio atue sobre sequências específicas do DNA, resultando na transcrição de genes relacionados à produção de proteínas (HERBST; BHASIN, 2004).

A natureza química da molécula de testosterona, enquanto um esteroide, permite que ela transpasse a bicamada lipídica do sarcolema, formando complexos diméricos com os receptores androgênicos, os quais possuem três subunidades básicas: uma porção C-terminal, que se liga ao ligante (testosterona); um domínio central, capaz de se ligar ao DNA; e uma porção N-terminal, com capacidade regulatória para a transcrição de genes relacionados à produção de proteínas. A ligação hormônio-receptor androgênico ocasiona uma mudança conformacional neste complexo, que se transloca então ao núcleo, e ao ligar-se a determinadas sequências gênicas denominadas elementos responsivos a andrógenos, dá seguimento à transcrição. Esse processo pode, inclusive, não apenas estimular a biossíntese de proteínas, mas também desencadear a produção local de IGF-1, um fator de transcrição com papel fundamental no anabolismo (WEST; PHILLIPS, 2010).

4.5 Os esteroides anabolizantes androgênicos (EAAs)

Os esteroides anabólico-androgênicos são moléculas sintéticas derivadas da testosterona. O termo “androgênico” indica capacidade masculinizante, uma vez que esteroides andrógenos são responsáveis pelo desenvolvimento do trato reprodutor masculino e por características sexuais secundárias nos homens. O termo “anabólico”, por sua vez, refere-se à capacidade de construção de tecido. Tal ação anabólica dos EAAs é mediada por receptores androgênicos presentes nas células do músculo esquelético: a testosterona possui a capacidade de aumento da síntese proteica nas células, o que gera aumento da área da seção transversal muscular, isto é, hipertrofia muscular (DOTSON; BROWN, 2007). A separação dos efeitos de anabolismo e de androgenia é algo recorrentemente aprimorado, ainda que a separação completa ainda não tenha sido obtida. No entanto, há atualmente diversos EAAs com uma das características mais acentuada em relação à outra (HARTGENS; KUIPERS, 2004).

Devido à rápida metabolização da testosterona, quando isolada, por efeito de primeira passagem hepática, sua administração exógena direta, seja por via oral ou parenteral, não constitui uma forma viável de uso, seja para fins médicos, estéticos ou para aumento de performance em esportes como o fisiculturismo. Isso explica o motivo pelo qual esse hormônio sofre modificações químicas para possibilitar seu uso, o que resulta em drogas com diferentes ações (HARTGENS; KUIPERS, 2004). Há três classes de hormônios quimicamente modificados que podem ser apontadas como mais comuns: ésteres de

testosterona; androgênios 17 α -alquilados; outros 7 α -metil-19-nortestosterona e tetraidrogestrinona (SANTOS, 2018).

O tipo de modificação química pela qual determinado esteroide anabólico foi sintetizado tem influência direta sobre seu modo de ação. A alquilação da posição 17 α da molécula de testosterona com algum grupo metil ou alquil, por exemplo, resulta na síntese de esteroides orais de difícil processamento pelo fígado, os quais passarão várias vezes pelo órgão sem sofrer degradação. Essa proteção contra a degradação pode sobrecarregar o fígado e ocasionar danos hepáticos (HARTGENS; KUIPERS, 2004). Essa classe de esteroides tem seu uso clínico indicado para o tratamento de anemia, prevenção de perda agressiva de peso em disfunções metabólicas, sendo que os EAAs 17 α -alquilados mais comuns são a metiltestosterona, a oxandrolona, a oximetolona, a metandrostenolona e o estanozolol. Nenhum esteroide dessa classe pode ser convertido a DHT (na realidade, são derivados do DHT, em sua maioria) ou sofrer aromatização para 17 β -estradiol, ainda que possam vir a ser convertidos a outros metabólitos (OBERLANDER et al, 2011).

Outra classe que podemos mencionar é a dos ésteres de testosterona. Esses esteroides anabólico-androgênicos são sintetizados a partir da esterificação da molécula de testosterona no grupo 17 β -hidroxil. No corpo, estes ésteres podem ser hidrolisados a testosterona livre, reduzidos em DHT, que é um forte agonista dos receptores androgênicos, (diidrotestosterona ou 5 α -diidrotestosterona) pela ação da enzima 5 α -redutase ou ainda aromatizados (convertidos em estrógenos). Como alguns exemplos, temos o propionato e o cipionato de testosterona (OBERLANDER et al, 2011). A maioria dos ésteres de testosterona são injetáveis via intramuscular, sendo geralmente menos danosos ao fígado que os EAAs orais (SANTOS, 2018).

Além das classes já mencionadas, há ainda os derivados da 19-nor-testosterona, que geralmente também são EAAs esterificados, mas com o processo de substituição de um átomo de hidrogênio por um grupo metil no carbono C19. Assim como os ésteres de testosterona 17 β -hidroxil, essa classe de esteroides também pode sofrer processo de aromatização, com conversão para 17 β -estradiol. Como um exemplo, podemos citar a nandrolona (OBERLANDER et al, 2011).

4.5.1 O uso dos EAAs na medicina

Já na década de 30, pesquisas indicavam o potencial dos esteroides anabólicos androgênicos para o tratamento de doenças, especialmente aquelas que envolvem déficits na síntese proteica do organismo, com conseqüente perda de massa muscular, uma vez que essas drogas possuem enorme potencial anticatabólico. As possíveis aplicações são várias, envolvendo melhorias na densidade mineral óssea, aumento da eritropoiese, melhora da sensibilidade à insulina, além de efeitos na concentração, energia e humor (KOCHAKIAN, 1976). A melhora na sensibilidade à insulina está relacionada com o tratamento de síndromes metabólicas, a partir do uso de testosterona, dado que baixos níveis deste hormônio têm sido apontados como agravantes nesse quadro patológico, que abrange aumento da circunferência abdominal, altos níveis de triglicérides, baixo HDL, hipertensão arterial e resistência insulínica (KOVAC et al, 2014)

O uso clínico da testosterona tem por objetivo o tratamento do hipogonadismo, através do que se chama de TRT (terapia de reposição de testosterona) ou ainda TRH (terapia de reposição hormonal). Por meio dessa intervenção, é possível reverter ou amenizar os sintomas desse quadro fisiopatológico, que engloba queda de libido, disfunção erétil, infertilidade, depressão e perda de massa muscular e cabelo, regulando os níveis de testosterona para o patamar fisiológico normal (SHOSKES; HAKIM, 2016). Esse valor varia entre diferentes literaturas, mas podemos apontar uma faixa entre 350 a 750 ng/dL para homens adultos saudáveis como sendo o normal para a testosterona total (RIVAS et al, 2014). Esse tipo de terapia já é realizado há mais de 70 anos, e ainda que não haja um consenso rígido sobre quando começar, os médicos levam em consideração sintomas, idade e também os níveis séricos de testosterona, sendo que atualmente, há mais de 30 tipos de preparações desse esteroide para administração, variando entre alternativas orais, subdérmicas e intramusculares, por exemplo (SHOSKES; HAKIM, 2016).

Usualmente, os problemas decorrentes da falta de testosterona acometem os homens com o tempo: com o passar dos anos, a produção desse hormônio nos testículos é reduzida, além de uma maior quantidade estar ligada à SHBG, o que resulta em uma menor concentração de testosterona livre, portanto, biodisponível. Estudos indicam que o hipogonadismo atinge cerca de 20% dos homens acima dos 60 anos, 30% daqueles acima de 70 anos, e cerca de 50% dos indivíduos do sexo masculino com mais de 80 anos de idade (RAMASAMY et al, 2014). Há estudos que apontam ainda a relação causal de níveis

deficitários de testosterona a uma série de enfermidades, como osteoporose, Alzheimer, diabetes e insuficiência cardíaca.

É necessário apontar, no entanto, que apesar dos benefícios da administração de testosterona exógena para a manutenção dos níveis fisiológicos, o uso deve ser feito com devido acompanhamento médico em virtude de quaisquer possíveis efeitos colaterais e eventuais riscos, a depender de comorbidades prévias que os pacientes possam apresentar (JONES, 2008). Cabe ressaltar que o uso de esteroides anabólico androgênicos é proibido no Brasil, a não ser para determinados e específicos fins médicos, dentro das diretrizes estabelecidas pelas sociedades médicas competentes, mediante regulamentação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). O uso de modo indiscriminado dessas drogas, seja para fins esportivos ou para fins estéticos pode acarretar graves problemas de saúde e eventualmente a morte.

4.5.2 Histórico dos EAAs nos esportes

Os estudos com hormônios avançaram muito a partir da década de 1930, com a síntese de testosterona isolada. Desde então, a exploração deste hormônio se deu para além do âmbito clínico, com o desenvolvimento de inúmeros andrógenos sintéticos nos anos seguintes (HILL; WARING, 2019). Foi a partir da década de 1950 que o potencial anabólico dessas drogas começou a ser de fato explorado por atletas de elite do fisiculturismo, dados os possíveis ganhos de massa muscular e força, descritos pela literatura da época. Não somente no fisiculturismo, mas também no levantamento de peso e em outras diversas modalidades esportivas os esteroides anabólico-androgênicos ganharam popularidade. Em 1967, o uso de EAAs foi banido das Olimpíadas, o que não impediu que inúmeros atletas continuassem fazendo o uso desse tipo de recurso ergogênico para aumentar sua performance, apesar das várias metodologias para detecção de drogas em exames clínicos (KANAYAMA; POPE 2017).

O tema do uso desses esteroides gerou polêmica no mundo dos esportes em relação ao aumento ou não de performance de modo significativo entre as décadas de 1970 e 1980, até que em 1996, foi demonstrada a correlação direta e inequívoca entre o uso de testosterona em doses supra-fisiológicas e o aumento de massa muscular, fato que já era constatado de modo experimental por atletas de elite há décadas.

O uso de EAAs, no entanto, não se limitou a atletas. Nos anos 80, a popularidade dessas drogas começou a aumentar entre atletas amadores e também para uso “recreacional”, sobretudo nos Estados Unidos. Apenas uma década depois, o uso indiscriminado de esteroides anabólico-androgênicos entre praticantes de musculação para fins estéticos já havia se tornado algo comum entre os norte-americanos, o que ocasionou a criação de leis regulatórias restritivas sobre o uso de EAAs, fato que diminuiu o consumo no país, mas que não foi suficiente para contê-lo, sobretudo com a ascensão da internet, que facilitou o acesso a essas drogas (KANAYAMA; POPE, 2017).

4.6 O tecido muscular

O tecido muscular é dividido em três grandes subtipos: liso, cardíaco e esquelético, sendo especificamente a musculatura estriada esquelética o subtipo em destaque no presente trabalho. As células musculares, também denominadas fibras musculares (ou miócitos), são formadas a partir da fusão de múltiplas células embrionárias, (por isso são multinucleadas) e cada qual é cercada por uma rede de tecido conjuntivo chamada de endomísio. Fibras adjacentes se agrupam formando uma estrutura envolta também por tecido conjuntivo (perimísio), chamada fascículo. E grupamentos de fascículos se unem para formar o músculo propriamente dito (envolto pelo epimísio, um tecido conjuntivo altamente resistente) (EXETER; CONNELL, 2010). Como as fibras musculares são terminantemente diferenciadas, não podendo recomeçar o ciclo celular, a hipertrofia depende do aumento de volume das células já existentes (BAMMAN et al, 2017).

A membrana celular é denominada plasmalema (sarcolema) e cada fibra, ou seja, cada unidade celular do tecido é formada por milhares de miofibrilas suspensas no sarcoplasma, que também são compostas por unidades menores: os sarcômeros. Estes constituem as menores unidades motoras de uma miofibrila. Basicamente cada sarcômero é formado por bandas de miofilamentos de diferentes espessuras, compostos por proteínas como actina e miosina (há também troponina e tropomiosina). Os filamentos de miosina possuem sítios de ligação para actina e também para hidrólise de ATP, e é importante destacar que é a troponina (em sua subunidade C) que possui os sítios de ligação para os íons de cálcio, essenciais para o início da contração muscular (EXETER; CONNELL, 2010). A figura 1 retrata um esquema do tecido muscular estriado esquelético.

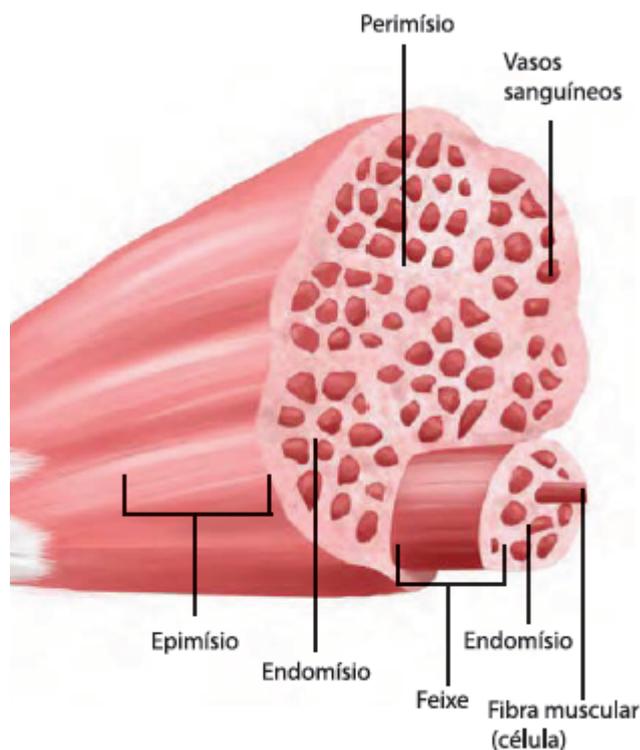


Figura 1 - Esquema de tecido muscular estriado esquelético. UNESCO, 2013.

Temos então actina e miosina como proteínas responsáveis pela contração muscular a partir da conversão de energia química em energia mecânica, em função da hidrólise de ATP. No entanto, é necessário destacar que para que isso ocorra, tropomiosina e troponina, que se encontram complexadas aos filamentos de actina, são fundamentais para iniciar a contração muscular a partir da ligação com íons de cálcio. O que ocorre é que sob baixas concentrações de Ca^{+2} , o complexo tropomiosina-troponina impede estericamente a interação entre actina e miosina (figura 2). Já quando em maiores concentrações, os íons de Ca^{+2} se ligam à subunidade C da troponina, desfazendo o impedimento estérico (da tropomiosina sobre actina), e com isso, a actina interage com a miosina e a contração muscular é então possibilitada (SWEENEY; HAMMERS, 2018).

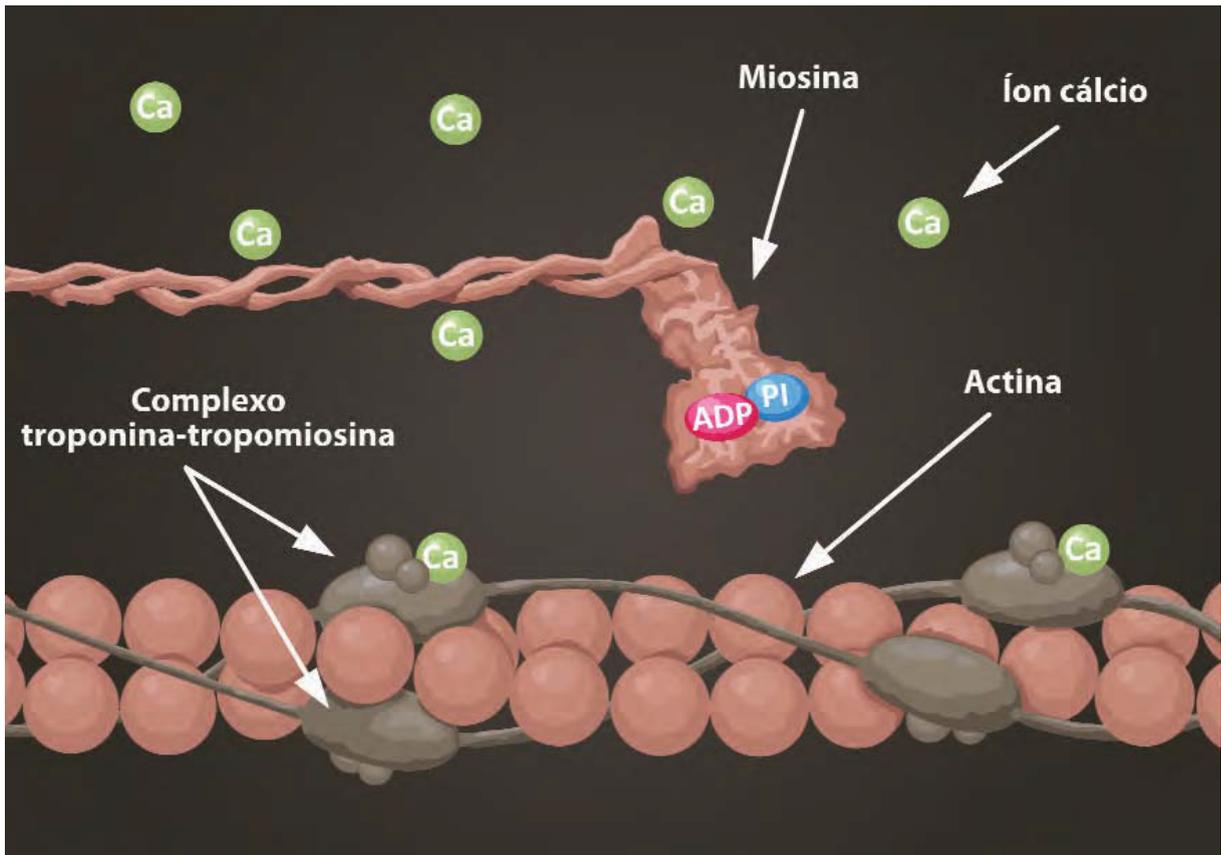


Figura 2 - Referências citadas ao longo do texto. UNESCO, 2013.

Esse arranjo muscular estriado, composto por filamentos regulares de actina e miosina alternados, permite a contração coordenada de todo o músculo em resposta a um estímulo neuronal através de uma despolarização dependente de voltagem e de cálcio, num processo conhecido como acoplamento excitação-contração (ROSENBERG, 2009). A contração de qualquer músculo depende do aumento da concentração de Ca^{+2} citosólico. Esses íons podem se encontrar no meio extracelular ou no interior do retículo sarcoplasmático, sendo que para os músculos estriados, esse aumento é oriundo da liberação do cálcio pelo retículo sarcoplasmático (KUO; EHRLICH, 2015).

Podemos apontar que mediante um estímulo neuronal em junções neuromusculares (neurônios somáticos conectados ao tecido muscular), como a liberação do neurotransmissor acetilcolina, o qual se liga a receptores na superfície muscular (sarcolema), ocorre uma despolarização (que permite a entrada de íons sódio no citosol), gerando um potencial de ação até os túbulos-T (estruturas que se aprofundam desde a membrana plasmática até o interior da célula, permeando espaços em contato com o retículo sarcoplasmático e os sarcômeros). Os

túbulos T possuem canais de cálcio tipo L (também denominados receptores diidropiridina), que sob estímulo, interagem com os receptores de rianodina (RyRs), no retículo sarcoplasmático, o que estimula a saída dos íons cálcio para o citosol. Estes íons podem então, ligar-se aos filamentos de actina no sarcômero e desencadear a contração muscular (KUO; EHRLICH, 2015).

É válido comentar ainda que no desenvolvimento embrionário, temos a participação de alguns elementos-chave para a miogênese, isto é, para a formação do tecido muscular, que requer uma regulação coordenada entre processos de diferenciação e apoptose. Nesse contexto podemos citar o papel do fator de transcrição regulatório MyoD, uma molécula com função em ambos os processos, e que possui papel na regulação de diversos genes (HARFORD et al, 2017). A MyoD pertence a uma família de fatores de transcrição chamada de “proteínas miogênicas bHLH (*basic helix-loop-helix*)”, família específica das células musculares, e cuja atuação resulta na diferenciação de quaisquer células-tronco em células musculares. Fazem parte desta família não só MyoD, mas também Myf-5, miogenina e MRF4 (MEGENEY et al, 1996), cada qual com um papel na diferenciação das linhagens de células-satélite, realizando o controle genético da regeneração muscular (ZAMMIT, 2017). MyoD e miogenina, por exemplo, ligam-se a diversos genes e ativam a transcrição destes durante a diferenciação do tecido muscular (EFTIMIE et al, 1991).

Os mioblastos, que expressam MyoD, e que são conhecidos como precursores de células musculares propriamente ditas, são as células que se fundem para formar os miotubos, como também são conhecidas as células multinucleadas diferenciadas características do tecido muscular (GILBERT, 2000). Tal diferenciação é caracterizada pela ativação transcricional de vários genes específicos que codificam para enzimas, proteínas contráteis, canais iônicos e receptores de neurotransmissores (EFTIMIE et al, 1991).

4.7 Exercício muscular resistido e o processo de hipertrofia muscular

O tecido muscular esquelético consiste em um tecido de múltiplas funções biomecânicas de alta complexidade, provendo força, contração e movimento, sendo diretamente relacionado à manutenção da homeostase do organismo, abrigando nervos do sistema autônomo para transmissão de sinais e vasos sanguíneos para oxigenação de membros (MUKUND; SUBRAMANIAM, 2019). O processo de hipertrofia desse tecido se dá por meio do exercício resistido orientado à hipertrofia, que combina tensão mecânica e estresse

metabólico (envolvendo técnicas de treinamento físico e o aspecto nutricional, que não serão abordados em profundidade). A hipertrofia consiste no aumento da secção transversal do músculo (aumento de volume) acompanhado de aumento de força em resposta adaptativa ao esforço crônico requerido (KRZYSZTOFIK et al, 2019).

Desde o século XX, o exercício físico resistido é apontado como promotor de aumento de massa muscular esquelética. Os benefícios desse tipo de treinamento são bem caracterizados: as adaptações compensatórias incluem desde o aumento de força até a hipertrofia muscular propriamente dita, sendo que qualquer estímulo desse tipo gera uma rápida resposta adaptativa (aguda) no microambiente muscular (KEEFE; WRIGHT, 2016). E como os benefícios das adaptações fenotípicas propiciadas por esse tipo de exercício englobam não apenas a estética, mas também o quadro geral de saúde, prevenindo sarcopenia, reumatismo, osteoartrite e doenças metabólicas, pesquisas têm sido conduzidas para compreender mais profundamente as complexidades das variáveis envolvendo o processo como um todo (SMEUNINX; MCKENDRY, 2016).

O exercício resistido resulta em um estímulo ameno em termos de catabolismo proteico, mas ao mesmo tempo, gera uma forte resposta na taxa de síntese proteica intramuscular, o que em sinergia com uma adequada ingestão de proteínas, em superávit calórico e com o correto ajuste das variáveis de treinamento físico, gera a hipertrofia (MCGLORY et al, 2017). E além desses fatores exógenos (classe em que os esteroides anabólico-androgênicos podem ser incluídos) para a hipertrofia, há diversos outros fatores endógenos que permeiam o processo de aumento de secção transversa do tecido muscular estriado esquelético, envolvendo genética, epigenética, transcriptômica e proteômica, em diversos graus. Recentemente tem-se atribuído uma importância fundamental para fatores endógenos moleculares em resposta ao exercício resistido para a hipertrofia (JOANISSE et al, 2020), o que pode ser ainda mais decisivo quando se trata de alta performance.

4.8 As vias de hipertrofia muscular

Dado o cenário de alta complexidade envolvendo a hipertrofia muscular, os mecanismos moleculares envolvidos no processo ainda não foram completamente elucidados, mas grandes avanços têm sido feitos recentemente, com destaque às áreas de função ribossomal, células-satélite, regulação transcricional e mecanotransdução em resposta ao exercício resistido (BAMMAN et al, 2017).

De modo geral, pode-se relacionar a hipertrofia muscular a algumas vias de sinalização em específico: PI3K/Akt/mTOR, isto é, pela proteína alvo da rapamicina em mamíferos, com regulação da proteína quinase ativada por adenosina monofosfato (AMPK); via de ativação das células-satélite; via da calcineurina/NFAT (Fator Nuclear de Células T Ativadas); via de regulação da miostatina (LIMA, 2017).

4.8.1 Via PI3K/AKT/mTOR

A manutenção da massa muscular esquelética depende do balanço entre anabolismo e catabolismo de proteínas, e a sinalização via Akt (proteína quinase B, ou PKB)/mTOR (proteína-alvo da rapamicina em mamíferos) possui influência nesse balanço entre síntese e degradação proteica (NORRBY et al, 2012). Descoberta no início da década de 1990, a Akt, uma serina/treonina quinase tem sido objeto de estudo em diversos campos, dado o seu papel no metabolismo e sua presença em quase todos os órgãos humanos, o que faz com que disfunções nessa quinase ocasionam diversas desordens, como câncer, resistência à insulina, diabetes tipo 2, neuropatologias e doenças autoimunes (MANNING; TOKER, 2017). Por sua vez, a mTOR (proteína-alvo da rapamicina nos mamíferos) é uma proteína composta por dois complexos: *mTOR complex 1* (mTORC1) e *mTOR complex 2* (mTORC2), de modo a servir como controladora tanto de processos anabólicos como catabólicos no corpo (SOLIMAN, 2011).

A proteína Akt (proteína quinase B) pode ser ativada a partir da sinalização molecular por fatores de crescimento, como por exemplo o IGF-1 (*Insulin-like Growth Factor 1*), após a ligação deste a um receptor de membrana (JESPERSEN et al, 2011). O IGF-1 é um fator de crescimento secretado que regula diversas vias bioquímicas. No tecido muscular, por exemplo, assim que ocorre a ligação com o receptor (IGFR), que é do tipo tirosina-quinase, este se autofosforila e recruta o chamado substrato receptor de insulina (IRS1).

Em seguida, ativa-se PI3K (fosfatidilinositol 3-quinase), quinase que catalisa a transferência de um grupo fosfato para PIP2 (fosfatidilinositol 4,5-bifosfato) por fosforilação, o que resulta em PIP3 (fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato). Com PIP3 temos, então, o recrutamento de PDK-1 (proteína quinase dependente de fosfoinosítídeos), a qual é capaz, por exemplo, de fosforilar Akt1 (subtipo de Akt) em seu resíduo de treonina. Quando ativada, Akt1 desencadeia uma cascata de fosforilação que acaba por ativar mTORC1, o que ocasiona

a fosforilação da quinase p70S6K (necessária à ativação da proteína ribossomal 6S), da glicogênio sintase quinase 3 (GSK-3 β , necessária à síntese de glicogênio muscular) e a ativação do fator de iniciação eucariótico 4E, o (eIF)4E, essencial ao início do processo de tradução. Em resumo, podemos afirmar que via ativação por IGF-1, temos que Akt ativa mTORC1, o que resulta mecanismos de aumento de síntese proteica, uma vez que mTORC1 ativa dois reguladores positivos da síntese de proteínas: (eIF)4E e p70S6K (SARTORELLI; FULCO, 2004). Um ponto que merece destaque é que mTOR responde a múltiplos estímulos além de Akt, como aminoácidos, por exemplo (SCHIAFFINO et al, 2013).

É interessante ainda mencionar que a atividade mTORC1 é regulada de acordo com a disponibilidade de energia e de nutrientes no meio celular. Em situações de privação de glicose e ATP, há uma inibição de mTORC1. Isso decorre a partir da atuação da AMPK (proteína quinase ativada por monofosfato), uma serina-treonina quinase que serve como reguladora energética para a célula. Em situações energeticamente desfavoráveis, em que a taxa AMP/ATP esteja elevada, a AMPK inibe processos anabólicos como a síntese proteica, de modo a poupar energia. Nesse tipo de cenário, AMPK torna-se ativa e fosforila TSC2 (tuberina), que por sua vez inibe a atividade de mTORC1, regulando negativamente a síntese proteica (ROUX; TOPISIROVIC, 2012). Aponta-se que AMPK favorece respostas adaptativas pós-exercício, como o aumento da biogênese mitocondrial, além de aumentar a expressão de GLUT4, um transportador de glicose na membrana celular (HARGREAVES; SPRIET, 2020). A figura 3 ilustra a via PI3K/AKT/mTOR.

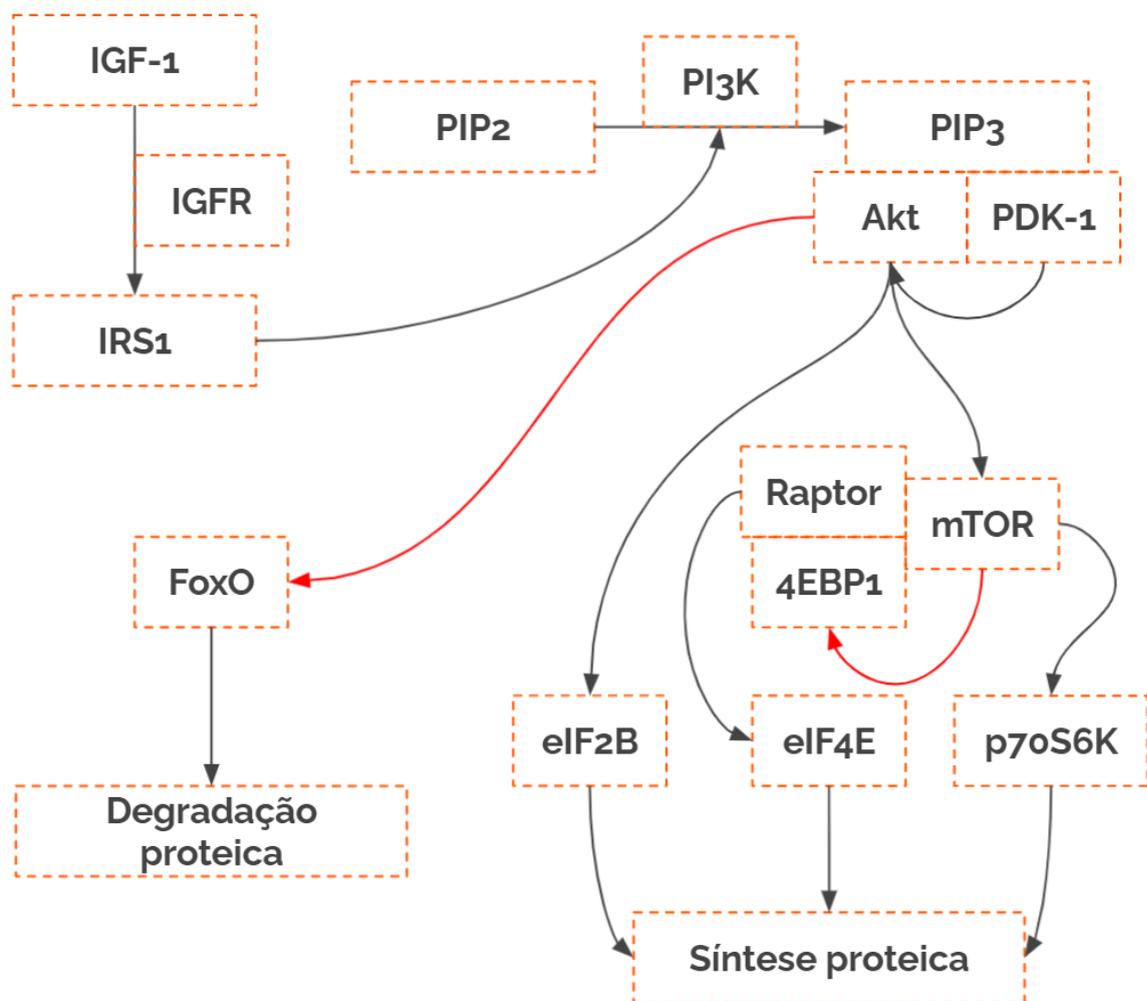


Figura 3 - Referências citadas ao longo do texto. Fonte: o autor.

4.8.2 Via de ativação das células-satélite

Um outro componente essencial do tecido muscular esquelético com relação ao processo de hipertrofia são as chamadas células-satélite. Estas são células musculares embrionárias localizadas entre a lâmina basal e o sarcolema dos miócitos, com a função de reparo pós-tensão, replicando-se na região lesada como mioblastos, exercendo papel fundamental na regeneração tecidual e no processo estrutural de aumento de massa muscular (DAYANIDHI; LIEBER, 2014).

Quando expostas à tensão mecânica, essas células se proliferam e se fundem às fibras musculares, doando seu núcleo (mionúcleo): sua ativação é controlada sobretudo a partir da liberação de citocinas como a interleucina 6 (IL-6) a partir de macrófagos e neutrófilos atuando em resposta inflamatória local (YABLONKA-REUVENI, 2011). E não somente IL-6,

como também IL-4, atuam como uma ativação parácrina das células-satélite, promovendo tanto a proliferação quanto a fusão destas à fibra muscular, respectivamente (SCHIAFFINO et al, 2013).

Essa fusão às fibras musculares é explicada pelo requerimento de maior capacidade transcricional por parte dos miócitos em situação de dano, de modo a aumentar a capacidade de síntese proteica em determinado domínio mionuclear dentro de cada miócito. O processo é baseado na teoria de que cada mionúcleo controla a transcrição de mRNA e consequente síntese de proteínas num espaço limitado ao seu redor (CONCEIÇÃO et al, 2018).

As células-satélite se encontram em estado quiescente, isto é, em dormência, até sua ativação mediante estresse. Seu papel no reparo muscular é evidente, ainda que não se saibam todos os detalhes permeando tal mecanismo. Especula-se que um dos pontos consequentes do estresse no tecido muscular, que é o acúmulo extracelular de lactato, possa também servir de estímulo à ativação das células-satélite, com aumento da expressão do fator de transcrição Pax7, presente nessas células (além de uma interação com a miostatina, causando algum grau de redução na expressão desta proteína). Supõe-se ainda que o lactato possa desencadear alguns estímulos à sinalização anabólica para miogênese e hipertrofia, além de estimular a fusão de mioblastos (a partir de células-satélites) em miotubos (OHNO et al, 2019).

Temos Pax 7, e também Pax 3 como fatores de transcrição indispensáveis à atividade básica miogênica e regenerativa das células-satélite (VON MALTZAHN et al, 2013), bem como MyoD, fator de regulação miogênica que atua como controle mestre da diferenciação das células-satélite em mioblastos adultos (HARFORD et al, 2017). A MyoD é tida como reguladora mestra da miogênese também devido a seu papel inicial na diferenciação das células-tronco mesenquimais das quais deriva o tecido muscular (KIM, 2013), sendo que na proliferação de mioblastos, a expressão de MyoD é dependente da indução de Pax3/Pax7 (HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ et al, 2017), isto é, MyoD atua como *downstream* de Pax3 e Pax7 na hierarquia dos fatores de regulação miogênica (BENTZINGER et al, 2012).

4.8.3 Via calcineurina/NFAT

A contração muscular esquelética é iniciada por um potencial de ação induzido quando da liberação de íons Ca^{+2} provenientes do retículo sarcoplasmático. Estudos recentes e ainda em processo de confirmação sugerem que o aumento da concentração intracelular de

íons Ca^{+2} , a partir tanto da contração quanto do estiramento dos músculos esqueléticos pode ter relação com a ativação de mTORC1 (portanto, com a síntese proteica) a partir da ativação da proteína quinase α dependente de Ca^{+2} /calmodulina (CaMKK α), a qual é regulada por estresse mecânico (GOODMAN, 2015).

A calcineurina (Cn ou ainda fosfatase 2B) é uma fosfatase do tipo serina-treonina ativada por Ca^{+2} /calmodulina, composta por uma subunidade catalítica (CnA) e por uma regulatória (CnB). A calcineurina desfosforila diversos substratos, participando de várias vias de sinalização, e especialmente a via envolvendo NFAT (Fator Nuclear de células-T Ativadas) é a que mais chama atenção, dada sua correlação com a transdução de sinal no sistema imune, cardíaco, nervoso e muscular esquelético (hipertrofia). Sabe-se que a calcineurina requer a ligação com calmodulina ligada a Ca^{+2} para sua máxima ativação. Os níveis de cálcio intracelular são controlados em grande parte por proteínas ou por fatores reguladores, como o IGF-1, que aumenta a concentração do íon no interior da célula e por consequência induz a desfosforilação de NFAT pela calcineurina.

No citosol, o Ca^{+2} se liga à calmodulina, a qual passa então a se ligar à calcineurina, ocasionando alterações conformacionais que alteram mecanismos de autoinibição CnA-CnB que possibilitam a exposição do sítio de ligação à NFAT em CnA. Como consequência, NFAT se liga à calcineurina e sofre desfosforilação. Esse complexo Cn-NFAT é translocado ao núcleo e se associa a fatores de transcrição para promover a indução de genes relacionados à hipertrofia muscular. Quando a $[\text{Ca}^{+2}]$ diminui, o complexo se desfaz, NFAT é fosforilado por GSK3 (glicogênio-sintase quinase), associa-se a fatores de exportação nuclear e volta ao citoplasma.

É válido mencionar que os efeitos dependem do tempo de sinalização, expressão celular de Cn e NFAT, além de fatores de transcrição. Outro ponto é que não há certeza com relação a todos os genes que são responsáveis pela hipertrofia muscular esquelética, mas níveis elevados de calcineurina têm mostrado correlação com maior quantidade de massa muscular (CARPENTER, 2001). Podemos afirmar que o cálcio, juntamente com a epinefrina, funciona como um primeiro estágio para a contração muscular por ativar enzimas regulatórias no metabolismo do ambiente muscular (HARGREAVES; SPRIET, 2020).

4.8.4 Via da miostatina

A miostatina, também conhecida como GDF8 (*growth differentiation factor 8*), pertence à superfamília dos fatores de transformação de crescimento β (TGF- β), e exerce papel essencial como regulador negativo da massa muscular. A via e o mecanismo de ação ainda não foram completamente caracterizados, mas sabe-se que a miostatina se liga a um de seus receptores de membrana (ActRIIB/ALK4/ALK5, sobretudo), ativando (fosforilação) o complexo heterodimérico SMAD2/3, fator de transcrição que atua como segundo mensageiro no espaço intracelular. A miostatina atua sobre processos de regeneração ou desenvolvimento muscular, inibindo a diferenciação de mioblastos (a partir de células-satélite) em miotubos. Níveis elevados de miostatina foram encontrados no tecido muscular e adiposo por estudos conduzidos com mulheres obesas, além de haver possíveis correlações com disfunções metabólicas envolvendo resistência à insulina: a miostatina tem sido apontada não apenas como influente na quantidade e qualidade muscular, mas também como ponto de atenção em disfunções metabólicas (LEBRASSEUR et al, 2011).

Essa regulação exercida pela miostatina sobre crescimento e desenvolvimento muscular em relação às células-satélite ainda necessita ser aprofundada. Sabe-se que estas células possuem papel essencial no processo estrutural de hipertrofia muscular, cedendo mionúcleos às fibras após estresse mecânico/metabólico. Alguns estudos sugerem que a miostatina interfere no processo de manutenção da quiescência (dormência) das células satélite, além de uma possível relação com sua quantidade, de modo inversamente proporcional (CARNAC et al, 2007), conforme a figura 4.

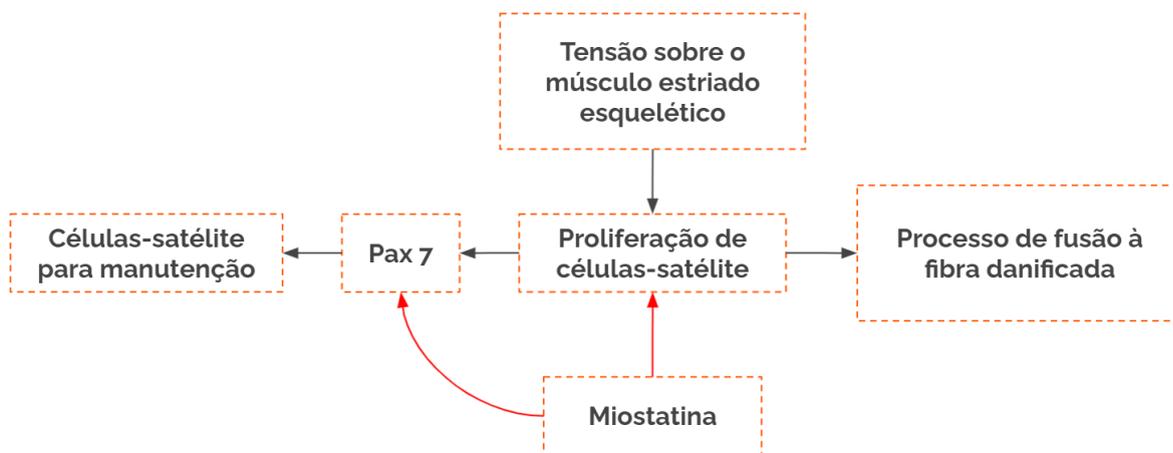


Figura 4 - Referências citadas ao longo do texto. Fonte: o autor.

Muitas pesquisas têm demonstrado que a cascata de reação desencadeada pela presença de miostatina é capaz de agir sobre a via PI3K/AKT/mTORC1. Inibindo Akt por desfosforilação, temos como consequência a não ativação de mTORC1, portanto, prejuízo sobre a síntese proteica (figura 5). Além disso, com Akt inativa, há a indução da expressão de FoxO (proteína responsável por vias de autofagia), o que tem impacto direto no aumento da proteólise muscular (RODRIGUEZ et al, 2014). Outro ponto interessante é que como outros membros da família TGF- β , a miostatina induz a ativação de cascatas de AMPK, que como visto anteriormente, exerce controle negativo sobre mTORC1 na síntese de proteínas (CARNAC et al, 2007).

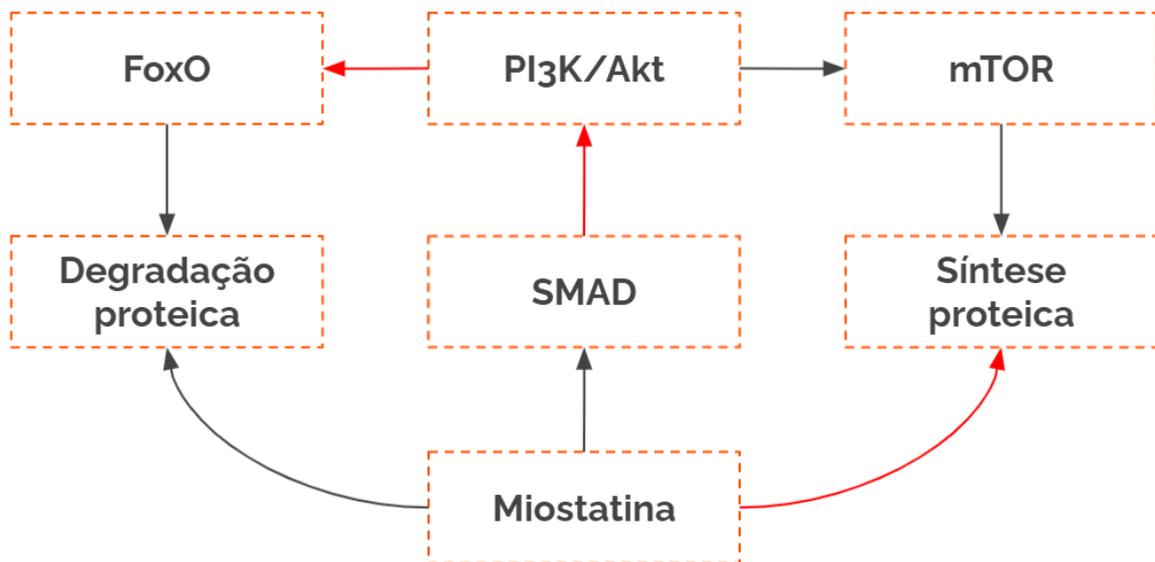


Figura 5 - Referências citadas ao longo do texto. Fonte: o autor

4.9 Metabolismo e hipertrofia muscular: o papel da PGC-1 α

Ainda no contexto de componentes importantes para a hipertrofia muscular, cabe destacar o papel do co-ativador 1- α do receptor ativado por proliferador do peroxissoma (PGC-1 α), um co-ativador transcricional com função essencial no metabolismo energético celular. Em exercícios de resistência muscular, essa molécula participa ativamente da biogênese mitocondrial, da adaptação das fibras musculares no músculo esquelético e do metabolismo de gorduras e carboidratos, além de ter um papel interessante em termogênese. Localizada no núcleo, é altamente expressa em tecidos ricos em mitocôndrias e com metabolismo oxidativo ativo, como nos músculos estriados esqueléticos, coração e tecido

adiposo marrom. Desbalanços nesse co-ativador resultam em síndromes metabólicas (LIANG; WARD, 2006).

É sabido que PGC-1 α tem uma atuação de adaptação muscular para exercícios de resistência muscular (*endurance*), mas sem efeito direto ainda identificado para processos de ganho de força ou hipertrofia. Um ponto relevante é que têm sido estudadas variantes como PGC-1 α 4 (que não atua sobre os mesmos alvos de PGC-1 α), a qual especificamente possui a capacidade de indução de IGF-1 e repressão da miostatina mediante estímulo de exercício resistido, o que acaba por resultar na proteção da massa muscular e em um processo de hipertrofia (RUAS et al, 2012). Há diversos fatores que podem influenciar na regulação de PGC-1 α , indo desde a concentração citosólica de Ca⁺², espécies reativas de oxigênio, adrenalina e também positivamente por AMPK (BRANDT et al, 2017). Cabe ainda destacar que a PGC-1 α possui um papel interessante no metabolismo da glicose, uma vez que promove maior transporte desta por meio da ativação de GLUT4 e da inibição de sua oxidação (favorecendo a síntese de glicogênio). A relação entre PGC-1 α em fibras glicolíticas e o exercício resistido não é algo completamente compreendido (LEBRASSEUR et al, 2011).

Outro ponto da discussão é que a correlação de PGC-1 α com a hipertrofia muscular ocorre de modo indireto: uma vez que é peça-chave na regulação do metabolismo energético celular, sua atuação em sinergia com mTORC1 é apontada como reguladora do músculo estriado esquelético. Sabe-se que a atividade de mTORC1 se correlaciona positivamente com o metabolismo oxidativo, ainda que o modo como o eixo mTORC1-PGC-1 α exerça essa regulação não seja bem conhecido. O que se sabe é que PGC-1 α reprime a atividade de FOXO3, fator de transcrição que exerce função na degradação de proteínas. O que tem sido investigado é se essa função de regulação metabólica exercida por mTORC1 pode requerer PGC-1 α para acontecer (PEREZ-SCHINDLER et al, 2013).

4.9.1 Metabolismo: fluxo glicolítico e energia

É necessário que se compreenda que para performance, há um complexo aparato energético envolvido. O ganho de massa muscular, acompanhado do aumento da capacidade glicolítica do tecido, promove maior efetividade metabólica, algo diretamente ligado à alta performance (LEBRASSEUR et al, 2011). É nesse sentido que a disponibilidade de ATP (adenosina trifosfato) para a atividade de contração do músculo esquelético se mostra essencial. As quantidades de ATP intramusculares são relativamente baixas, e por isso,

ativação de vias de ressíntese de ATP são necessárias, sejam aeróbicas (fosforilação oxidativa) ou anaeróbicas. Essa última, importante no exercício resistido voltado à hipertrofia, possui uma enorme capacidade (em velocidade) na taxa de produção de ATP (a partir de fosfocreatina e glicólise anaeróbia pós-quebra de glicogênio), ainda que em quantidade, a fosforilação oxidativa seja superior (HARGREAVES; SPRIET, 2020).

Indivíduos com treinamento resistido regular crônico possuem um quadro metabólico anaeróbio mais ativo, com aumento associado de enzimas como lactato desidrogenase e fosfofrutoquinase, por exemplo. Estudos sugerem que o aumento de volume muscular está associado a essa adaptação no quadro anaeróbico em face do estresse metabólico ao qual o músculo é submetido. A maior atividade desse tipo de enzima tem ainda um efeito intensificador no aumento da taxa de glicólise, o que disponibiliza mais ATP no exercício (NITZSCHE et al, 2020).

Em estudos com atletas de musculação de alta performance em treinamentos resistidos voltados à hipertrofia, percebeu-se como resultado pós-treino, em biópsias de tecido muscular, uma depleção dos níveis de ATP, CPr (creatina-fosfato ou fosfocreatina) e glicogênio intramuscular, mas níveis elevados de glicose, enzimas glicolíticas e altas concentrações de lactato, em virtude da glicogenólise (TESCH et al, 1986). Níveis elevados de ADP (adenosina difosfato) e AMP (adenosina monofosfato) resultam na ativação da glicogênio-fosforilase α (por regulação estérica), a qual provoca glicogenólise, disponibilizando substratos para a via glicolítica (HARGREAVES; SPRIET, 2020). No entanto, esses moduladores estéricos também sofrem com a acidose metabólica, o que também contribui para a diminuição do fluxo glicogenolítico (HOLLIDGE-HORVAT et al, 1999).

É importante ressaltar que a intensidade e a duração do exercício terão impacto direto sobre a resposta metabólica. A alta concentração de lactato tem correlação direta com o processo de acidose metabólica, o que acaba por deixar mais lento o fluxo glicolítico, dada a interferência na atividade e na estrutura enzimática de proteínas como a fosfofrutoquinase, devido à diminuição do pH, resultando menor ressíntese de CPr e ATP (TESCH et al, 1986). Tal interferência da maior $[H^+]$ é prejudicial, inclusive, não apenas à ação da fosfofrutoquinase no fluxo glicolítico, mas também à ação da própria glicogênio-fosforilase, no fluxo glicogenolítico, o que diminui a produção do piruvato. A maior concentração de lactato extracelular resulta da conversão de piruvato a lactato via lactato desidrogenase, e irá depender dos níveis de produção de piruvato a partir de glicogênio, tendo em vista que o

piruvato é o produto final da glicólise, cujo substrato (glicose) é advindo da quebra do glicogênio, pela glicogênio-fosforilase, ou da corrente sanguínea (HOLLIDGE-HORVAT et al, 1999).

O exercício resistido, sobretudo quando aliado a intervenções farmacológicas, possui relação positiva não apenas com a hipertrofia muscular, mas também com a capacidade glicolítica, portanto, com a eficiência energética dos músculos, proporcionando impacto a nível sistêmico no organismo (por exemplo, com a diminuição da resistência à insulina). Esse potencial glicolítico tem correlação com a grande presença de fibras do tipo IIa e IIx, em comparação à quantidade de fibras oxidativas em alguns tecidos. Nesse contexto, a responsividade da via PI3K/Akt/mTOR aos estímulos de fatores de crescimento como IGF-1 é essencial para o desencadeamento dos processos moleculares e fisiológicos que circundam não apenas a produção de proteínas como também o transporte de glicose e a síntese de glicogênio (LEBRASSEUR et al, 2011).

Um dos papéis mais importantes da Akt é estimular a captação de glicose pelos músculos em resposta à insulina: lembrando que o tecido muscular é o maior reservatório de glicogênio do corpo, e que essa conversão de glicose em glicogênio é mediada pela glicogênio sintase quinase 3 β , a GSK-3 β , outra proteína-alvo da via em questão. Ressalta-se aqui, então, mais uma ideia da importância dessa via para processos anabólicos e anticatabólicos (LEBRASSEUR et al, 2011).

4.9.2 EAAs como potencializadores da hipertrofia muscular

As diversas vias metabólicas que permeiam a hipertrofia muscular e a eficiência energética no tecido muscular esquelético são reguladas por hormônios que influenciam a ativação de enzimas, a disponibilidade de substratos e que se correlacionam com o metabolismo de carboidratos, proteínas e gorduras, sendo que ainda há várias lacunas remanescentes para a total compreensão dos fenômenos que levam à hipertrofia muscular (HARGREAVES; SPRIET, 2020).

Os mecanismos moleculares para a hipertrofia muscular apontados na literatura se comunicam também nos passos regulatórios do processo. O exercício resistido para hipertrofia parece ter um impacto agudo em hormônios como o IGF-1 (*insulin-like growth*

factor), testosterona e GH. E altos níveis de hormônios circulantes parecem aumentar a propensão de interação destes com seus receptores, o que especialmente num momento de pós-treino, pode ter impacto positivo no aumento de massa muscular, dado o ambiente de anabolismo criado. Além disso, a alta concentração de hormônios pode aumentar a sinalização intracelular, e atenuar o catabolismo proteico, retomando o anabolismo (SCHOENFELD, 2013).

Sabe-se que treinos resistidos com altas cargas representam um potente estímulo a aumentos agudos na concentração sanguínea de hormônios com poder anabólico, como a testosterona (tanto livre quanto ligada), e supõe-se que isso, em parte, e de modo não tão acentuado, coopere com o processo de hipertrofia muscular (WEST; PHILLIPS, 2010), uma vez que o músculo esquelético está exposto a maiores concentrações hormonais, e com isso, há maior interação entre testosterona (o que também vale para outros esteroides e derivados de testosterona) e seus receptores no tecido muscular (AHTIAINEN et al, 2003). E ainda que de acordo com alguns estudos, tal correlação entre aumento hormonal agudo pós-exercício e hipertrofia não tenha sido encontrada, sabe-se que o exercício resistido, pelo estímulo geral a diversas vias atuantes em conjunto, favorece o processo hipertrófico. Ainda assim, a correlação entre treino resistido e seus estímulos hormonais agudos no anabolismo não foi completamente elucidada (FINK et al, 2017). Além disso, é consenso que a disponibilidade elevada de hormônios, como em uma situação de administração suprafisiológica, tem potente efeito em termos anabólicos/anti-catabólicos sobre a musculatura esquelética (WEST et al, 2010).

A testosterona, sobretudo quando em doses suprafisiológicas, demonstra um intenso estímulo a diversas vias miogênicas e também lipolíticas (HERBST; BHASIN, 2004), proporcionando um aumento na área transversal de fibras tanto do tipo I quanto do tipo II, em razão semelhante (SINHA-HIKIM et al, 2002). Um dos pontos mais relevantes da atuação desse hormônio na massa muscular esquelética, por exemplo, é a ativação de células-satélite via receptores androgênicos expressos nestas. Isso já representa, de modo robusto, um favorecimento da diferenciação dessas células em mionúcleos e contribui com a síntese proteica celular, além de fornecer uma regeneração muscular altamente eficiente, o que produz resultados estéticos e de performance e que acabou por popularizar o uso desse recurso ergogênico (e de seus derivados) ao longo dos anos (KADI, 2008).

A administração exógena de testosterona (e de outros EAAs) tem seus efeitos - nos âmbitos de performance e estética - oriundos da complexa atuação conjunta entre várias rotas bioquímicas no metabolismo. Obviamente, deve-se pontuar que individualidade biológica, procedência das drogas, tempo de uso, e dose utilizada são algumas das variáveis que irão determinar a amplitude dos efeitos fisiológicos anabólicos (mas também, e especialmente, dos efeitos colaterais, que não serão abordados neste trabalho) observados (KADI, 2008). Temos dados sobre o uso de EAAs para fins medicinais, mas em relação ao uso suprafisiológico, informações mais sólidas são ainda escassas, em termos estatísticos, em relação aos detalhes de como a administração exógena (levando-se em consideração não apenas a testosterona, mas a diversa gama de esteroides no mercado) precisamente exerce efeito sobre a fisiologia do organismo (KERSEY et al, 2012).

Um ponto interessante de se destacar é que, em adultos saudáveis, a concentração de testosterona é de 3 a 10 vezes maior que o correspondente número de receptores androgênicos (CELLOTTI; CESI, 1992), o que nos leva a pensar que haja outros fatores que não somente a interação hormônio-receptor envolvidos na hipertrofia, uma vez que já em doses fisiológicas, os receptores estariam saturados. No entanto, mais recentemente, estudos demonstraram que os receptores podem ser suprarregulados (*up-regulated*) quando expostos a EAAs, além de também aumentarem de número no processo de hipertrofia, em resposta ao exercício resistido (EVANS, 2004). Ainda assim, dada a complexidade do uso de EAAs - que além de interagirem com receptores, atuam antagonizando processos anti-catabólicos, como a proteólise durante o exercício, além de favorecerem a recuperação muscular pós-estresse atuando de modo direto sobre a diferenciação de células-satélite - para alguns autores, a atuação dos EAAs sobre o tecido muscular estriado esquelético se daria muito mais de modo anti-catabólico do que por favorecer o anabolismo propriamente dito (CELLOTTI; CESI, 1992).

De qualquer modo, é válido ressaltar mais uma vez que são diversos os mecanismos pelos quais os EAAs atuam no processo de hipertrofia muscular e que eles variam, a depender das alterações moleculares pelas quais cada tipo de droga é submetido até o momento de uso (HARTGENS; KUIPERS, 2004). Eles podem ligar-se a receptores específicos, e com isso são capazes de ativar receptores nucleares, afetando diretamente a transcrição de genes envolvidos na produção de enzimas, proteínas estruturais e fatores de transcrição, por exemplo. Além dessa atuação na manutenção de um saldo positivo entre síntese e quebra proteicas (HERBST; BHASIN, 2004), há o papel crucial de comunicação destes esteroides

com diversas moléculas sinalizadoras, como Akt, IGF-1 e miostatina, como já tratado. Outro ponto é ainda a função exercida sobre a diferenciação de células-satélite e sobre o aumento da captação de Ca^{+2} e modulação da atividade de quinases em várias rotas metabólicas (DUBOIS et al, 2011).

Diversos estudos indicam que o uso de esteroides anabólico-androgênicos ativam vias responsáveis pelo anabolismo/anti-catabolismo, como a PI3K/Akt, a qual ocasiona a fosforilação de mTOR e a consequente síntese de proteínas (e também a inibição de vias de degradação mediadas por FoxO). Essa interação entre andrógenos e Akt parece ser mediada pela interação direta entre receptores androgênicos com subunidades regulatórias de PI3K (como a p85), o que acaba por iniciar a via com a fosforilação de Akt. Ao mesmo tempo, os andrógenos são capazes de inibir a miostatina (figura 6), um forte regulador negativo da hipertrofia muscular: tal fato se dá tanto pela repressão a nível gênico que os EAAs podem exercer sobre a miostatina quanto por estabilizar moléculas como a β -catenina, que atuam negativamente sobre a miostatina (DUBOIS et al, 2011).

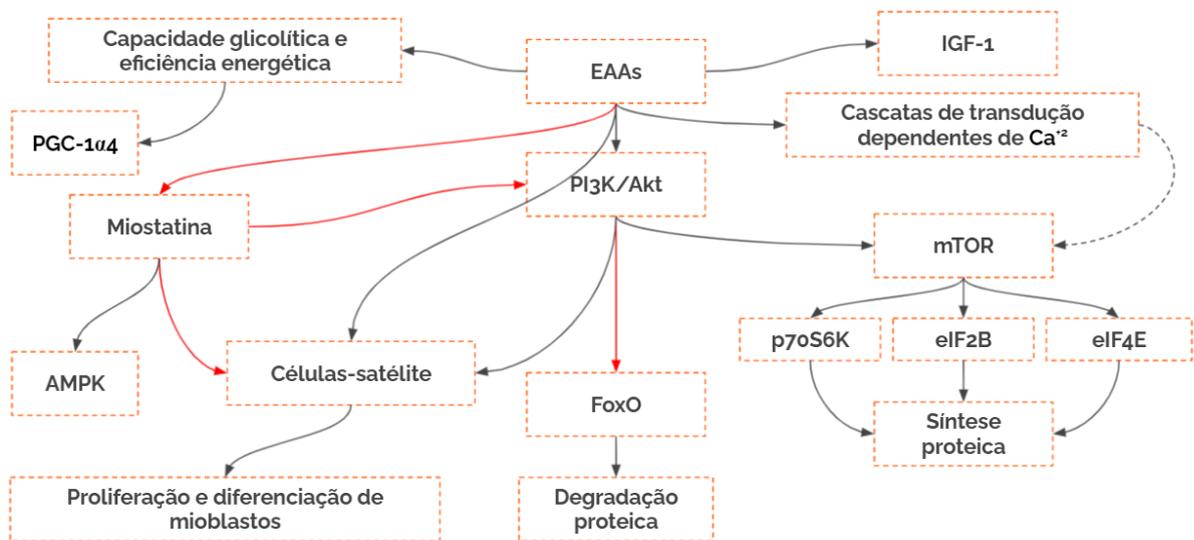


Figura 6 - Referências citadas ao longo do texto. Fonte: o autor.

Ainda nesse contexto, cabe ressaltar a interação entre os EAAs e o IGF-1. A correlação se dá a partir do fato de que com a administração de testosterona, há um estímulo à produção endógena de GH (hormônio do crescimento), e consequentemente, há estímulo à produção de IGF-1. Especula-se que a nível sistêmico, esse aumento de GH/IGF-1 pelo uso de testosterona, por exemplo, não favoreça a hipertrofia, mas que a nível local, cria um

cenário mais propício para a atuação esteroideal na massa muscular, especialmente pelo fato de que a partir da ativação de IGF-1, é possível a atuação em cascata (*downstream*) da proteína ribossomal p70^{S6K}, que regula o balanço de proteínas no músculo (DUBOIS et al, 2011). E além das interações já mencionadas entre andrógenos e vias, há ainda muitas outras envolvidas e que ainda carecem de estudos, como por exemplo a correlação entre testosterona e Ca⁺²: sabe-se que esse andrógeno é capaz de aumentar a concentração intracelular dos íons cálcio rapidamente, o que corrobora para o desencadeamento das cascatas de transdução dependentes de Ca⁺², mas os estudos seguem em andamento para várias dessas vias não genômicas de favorecimento de hipertrofia (DUBOIS et al, 2011).

E apesar da compreensão ainda incompleta de alguns fenômenos, como a correlação entre estímulo do exercício resistido e efeito hormonal agudo sobre o tecido muscular para a hipertrofia, ou sobre como se dá o concerto entre vias metabólicas para o processo de anabolismo/anti-catabolismo, ou ainda sobre o papel das cargas de peso no exercício e o estímulo a sinalizadores anabólicos, como o p70^{S6K} (tratado anteriormente), cada vez mais pesquisas têm sido conduzidas para averiguar a conjuntura dos processos e seu real impacto, não apenas a nível local, mas também sistêmico (e de modo crônico), sobre o poder da administração exógena de EAAs para a hipertrofia muscular, não podendo ser ignoradas outras variáveis, como nutrição, individualidade biológica e tipo de drogas utilizadas (WEST; PHILIPS, 2010)

5) DISCUSSÃO

O trabalho em questão se propôs a investigar, por meio de uma revisão descritiva, os mecanismos de hipertrofia muscular a partir do exercício resistido com o uso de esteroides anabólico-androgênicos. O intuito desta revisão foi a compreensão de vias metabólicas de atuação dos andrógenos e seu papel no processo de ganho de massa muscular a partir de alterações morfológicas teciduais no músculo estriado esquelético, seja para fins estéticos ou para performance.

Para uma compreensão mais robusta, a revisão tratou de elucidar pontos-chave da morfofisiologia humana masculina. Foram abordados temas como os testículos, em divisão estrutural e funcional, sobretudo no que tange às células de Sertoli e de Leydig, e na sua atuação conjunta destas para o funcionamento dos testículos e para a produção de testosterona em si. A complexidade do sistema hormonal como um todo também foi explorada, tendo sido

tratados pontos como o conceito mais recente de hormônio, a especificidade de receptores, classes hormonais e aspectos regulatórios envolvendo o eixo hipotalâmico-hipofisário, que se amparam nos mecanismos das alças de retroalimentação (MELMED, 2016).

Em relação às classes dos principais esteroides, o enfoque foi dado aos andrógenos, classe à qual pertence a testosterona, o principal hormônio masculino e que serve de base para a grande maioria das moléculas de esteroides anabólico-androgênicos sintéticos presentes no mercado. Os estudos com a testosterona são um dos pontos de partida para melhor elucidar o potencial dos esteroides para performance e estética, dada sua correlação com vias de hipertrofia muscular (WEST; PHILLIPS, 2010).

No que tange aos esteroides anabólico-androgênicos propriamente ditos, é de grande relevância salientar a ampla gama de moléculas envolvidas, e as particularidades atribuídas às classes em que se subdividem: ésteres derivados da testosterona, androgênios 17α -alquilados; outros 7α -metil-19-nortestosterona e tetraidrogestrinonas. Essas classes refletem a bioquímica molecular dessas substâncias, e na prática definem o modo de uso, modos de ação e os colaterais mais previsíveis (SANTOS, 2018). É com certo esforço que laboratórios vêm tentando separar as características anabólicas da androgenicidade associada nesses recursos ergogênicos (HARTGENS; KUIPERS, 2004), mas até o atual momento, isso não foi possível em sua totalidade.

Como visto, a história do uso dos EAAs remonta ao uso inicial na medicina, dado o potencial dessas drogas contra doenças degenerativas e processos de sarcopenia (KOCHAKIAN et al, 1976), sendo que até hoje são úteis para quadros de disfunções ou síndromes metabólicas (KOVAC et al, 2014) ou para as terapias de reposição hormonal (TRH ou TRT), a fim de manter as taxas fisiológicas hormonais regulares (SHOSKES; HAKIM, 2016). Por estas características anabólicas e anti-catabólicas que os desportistas e usuários em geral começaram a fazer uso de diversas dessas substâncias, sendo que atualmente, o uso indiscriminado de EAAs se constitui como um problema de saúde pública em muitos países. Informações mais precisas sobre o percentual de usuários são passíveis de dúvida, uma vez que as estimativas assumem uma grande taxa de erro, dado que é difícil a identificação daqueles que assumidamente fazem uso.

A hipertrofia muscular compreende um processo compensatório de aumento de secção transversal do músculo em função de tensão mecânica e estresse metabólico (KRZYSZTOFIK et al, 2019) e graças aos benefícios gerais à saúde e à complexidade dos

mecanismos, esse processo continua sendo alvo de diversos estudos (SMEUNINX; MCKENDRY, 2016), sendo que aspectos endógenos, como a genética, vêm ganhando cada vez mais importância para a compreensão de diversos fenômenos (JOANISSE et al, 2020). Há diversas vias moleculares que permeiam o processo de hipertrofia muscular e ainda carecemos de uma compreensão ampla sobre como se dá a sinergia de tais vias em detalhes (BAMMAN et al, 2017).

Um ponto que evidencia a complexidade dos mecanismos de hipertrofia muscular é como estes dependem do balanço energético do organismo, além do balanço de macronutrientes (algo que não foi amplamente explorado, mas que consta de forma contundente em diversos artigos deste trabalho). Um exemplo dessa dependência é a própria relação entre mTORC1 e AMPK em função da taxa AMP/ATP no contexto de síntese proteica (ROUX; TOPISIROVIC, 2012) e o papel atribuído à AMPK em respostas adaptativas envolvendo biogênese mitocondrial e transporte de glicose entre membranas (HARGREAVES; SPRIET, 2020).

E além do aspecto energético que permeia as vias de hipertrofia, um outro pilar para o processo engloba, como consenso, a participação das células-satélite. A importância destas se dá a partir do ponto em que explicam, de modo estrutural, como se dá o aumento de massa muscular (YABLONKA-REUVENI et al, 2011) e como os mecanismos compensatórios do organismo dependem também do sistema imunológico para sua ativação (SCHIAFFINO et al, 2013). E ainda no contexto das células-satélite, podemos também explorar a relação antagônica destas com a miostatina, que atua de modo inibitório na diferenciação dessas células (e também sobre as cascatas da via de mTORC1) e que além disso, também se correlaciona com o fator energético antes mencionado, uma vez que estudos recentes apontam a influência da miostatina sobre disfunções metabólicas (LEBRASSEUR et al, 2011). Esses estudos vão além do aspecto de hipertrofia muscular para performance ou estética, contemplando também um dos temas de saúde mais abordados da atualidade: a obesidade.

De qualquer modo, apesar da incerteza da literatura sobre detalhes na sinergia entre as vias, a otimização da síntese proteica, essencial para o balanço positivo entre produção e quebra de proteínas, nos leva a uma convergência sobre a importância da ativação da via PI3K/Akt/mTORC1 para o anabolismo, cuja relevância se mostra pelo destaque da via na confluência de outras rotas bioquímicas, até mesmo não endógenas, como apontam recentes

estudos envolvendo ativação desta mediante aumento das concentrações de Ca^{+2} em situação de estresse mecânico (GOODMAN et al, 2015).

A compreensão profunda de como as rotas se comunicam, no entanto, ainda é apenas um dos desafios a se transpor. A maior parte dos estudos deixa claro que as lacunas são várias no entendimento de como os esteroides anabólico-androgênicos de fato atuam. A complexidade fisiológica, a dependência da eficiência energética do organismo mediante o estímulo do exercício resistido e a falta de estudos com grande número de participantes usuários de EAAs na literatura médica (NITZSCHE et al, 2020) ainda nos coloca em situação especulativa sobre alguns pontos.

Como há certa dificuldade para a obtenção de dados confiáveis em relação às diversas apresentações farmacológicas dos EAAs, a testosterona acaba por ser um dos mais sólidos pilares para fomentar a base das pesquisas, uma vez que dela deriva diretamente boa parte das drogas de uso exógeno. Esse esteroide andrógeno levanta algumas dúvidas com relação à influência que possui de modo agudo no pós-exercício resistido (FINK et al, 2017), mas é consensual que sua administração exógena em doses supra-fisiológicas possui um poderoso efeito na hipertrofia muscular (LEBRASSEUR et al, 2011). Ao que tudo indica, o estímulo ao aumento de massa muscular se dá por uma confluência de fatores, que abrangem sobretudo a maior sinalização andrógena e atuação com receptores androgênicos (AHTIAINEN et al, 2003), o que significa maior capacidade de ativação das células-satélite (o que se traduz na maior capacidade regenerativa estrutural das células musculares), além da transcrição de sequências gênicas diretamente correlacionadas às vias de síntese proteica, inibição de vias catabólicas (WEST; PHILLIPS, 2010), ativação de fatores de transcrição como o IGF-1 e suas cascatas de sinalização *downstream* (DUBOIS et al, 2011) em um cenário nutricional adequado (ROUX; TOPISIROVIC, 2012).

6) CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

Ao final deste trabalho, podemos pontuar que de fato o uso de esteroides-anabólico androgênicos mediante o exercício resistido se constitui como um poderoso fator para a hipertrofia muscular esquelética, ainda que haja muitas lacunas na literatura quanto ao efeito e singularidade de cada tipo de droga em decorrência da dificuldade de estudos com grande espaço amostral e ao longo de um grande período de tempo. Ainda há muito campo de estudo e para compreender a sinergia entre mecanismos de hipertrofia, bem como em quais pontos os

EAA's atuam otimizando os resultados do aumento de massa muscular, o que pode contemplar também descobertas para a área da saúde como um todo, uma vez que desequilíbrios hormonais possuem reflexo na homeostase do organismo.

7) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHTIAINEN, Juha P.; PAKARINEN, Arto; ALLEN, Markku; *et al.* Muscle hypertrophy, hormonal adaptations and strength development during strength training in strength-trained and untrained men. **European Journal of Applied Physiology**, vol. 89, no. 6, p. 555–563, 2003.

AMAR, Arun Paul and WEISS, Martin H. Pituitary anatomy and physiology. **Neurosurgery Clinics of North America**, vol. 14, no. 1, p. 11–23, 2003.

BAMMAN, Marcos M.; ROBERTS, Brandon M. and ADAMS, Gregory R. Molecular Regulation of Exercise-Induced Muscle Fiber Hypertrophy. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, vol. 8, no. 6, 2017.

BENTZINGER, C. F.; WANG, Y. X. and RUDNICKI, M. A. Building Muscle: Molecular Regulation of Myogenesis. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, vol. 4, no. 2, 2012.

CARNAC, Gilles; BONNIEU, Anne; and VERNUS, Barbara. Myostatin in the Pathophysiology of Skeletal Muscle. **Current Genomics**, vol. 8, no. 7, p. 415–422, 2007.

BRANDT, Nina; DETHLEFSEN, Maja Munk; BANGSBO, Jens; *et al.* PGC-1 α and exercise intensity dependent adaptations in mouse skeletal muscle. **Plos One**, vol. 12, no. 10, 2017.

CÂMARA, Lucas Caseri. **Esteroides Anabólico-Androgênicos: Conceitos Fundamentais**. 1ª ed. São Paulo. Lura Editorial, 2018.

CARPENTER, C. E. Calcineurin-mediated signaling in skeletal muscle. **Canadian Journal of Animal Science**, vol. 81, no. 3, p. 307–314, 2001.

CELLOTTI, F. and CESI, P. Anabolic steroids: A review of their effects on the muscles, of their possible mechanisms of action and of their use in athletics. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, vol. 43, no. 5, p. 469–477, 1992.

CHROUSOS, George P. Organization and Integration of the Endocrine System: The Arousal and Sleep Perspective. **Sleep Medicine Clinics**, vol. 2, no. 2, p. 125–145, 2007.

CONCEIÇÃO, Miguel S.; VECHIN, Felipe C.; LIXANDRÃO, Manoel; *et al.* Muscle Fiber Hypertrophy and Myonuclei Addition. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, vol. 50, no. 7, p. 1385–1393, 2018.

DAYANIDHI, Sudarshan and LIEBER, Richard L. Skeletal muscle satellite cells: Mediators of muscle growth during development and implications for developmental disorders. **Muscle & Nerve**, vol. 50, no. 5, p. 723–732, 2014.

DOTSON, Jennifer L. and BROWN, Robert T. The History of the Development of Anabolic-Androgenic Steroids. **Pediatric Clinics of North America**, vol. 54, no. 4, p. 761–769, 2007.

DUBOIS, Vanessa; LAURENT, Michaël; BOONEN, Steven; *et al.* Androgens and skeletal muscle: cellular and molecular action mechanisms underlying the anabolic actions. **Cellular and Molecular Life Sciences**, vol. 69, no. 10, p. 1651–1667, 2011.

EFTIMIE, R.; BRENNER, H. R. and BUONANNO, A. Myogenin and MyoD join a family of skeletal muscle genes regulated by electrical activity. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, vol. 88, no. 4, p. 1349–1353, 1991.

EL SAYED Suzan A.; FAHMY Michael W.; SCHWARTZ Janice. **Physiology, Pituitary Gland**. Disponível em <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29083639/>. Acesso em 22 set. 2020.

EVANS, Nick A. Current Concepts in Anabolic-Androgenic Steroids. **The American Journal of Sports Medicine**, vol. 32, no. 2, p. 534–542, 2004.

EXETER, Dan and CONNELL, David. Skeletal Muscle: Functional Anatomy and Pathophysiology. **Seminars in Musculoskeletal Radiology**, vol. 14, no. 02, p. 97–105, 2010.

FINK, Julius; SCHOENFELD, Brad Jon and NAKAZATO, Koichi. The role of hormones in muscle hypertrophy. **The Physician and Sportsmedicine**, vol. 46, no. 1, p. 129–134, 2017.

UNESCO. Fisiologia do exercício. – Brasília: Fundação Vale, UNESCO, 2013. 74 p. – (Cadernos de referência de esporte; 2). ISBN: 978-85-7652-156-3.

GILBERT, S.F. Developmental Biology. 6th edition. Sunderland (MA): Sinauer Associates; 2000. **Myogenesis: The Development of Muscle**. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10006/>. Acesso em 27 out. 2020.

GOLDŠTAJN, Marina Šprem; TOLJAN, Karlo; GRGIĆ, Franjo; JURKOVIĆ, Ivan; BALDANI, Dinka Pavičić. Sex Hormone Binding Globulin (SHBG) as a Marker of Clinical Disorders. **Collegium antropologicum**, vol. 40, no. 3, p. 211-218, 2016.

GOODMAN, Craig A.; HORNBERGER, Troy A. and ROBLING, Alexander G. Bone and skeletal muscle: Key players in mechanotransduction and potential overlapping mechanisms. **Bone**, vol. 80, p. 24–36, 2015.

GRASA, María Del Mar; GULFO, José; CAMPS, Núria; *et al.* Modulation of SHBG binding to testosterone and estradiol by sex and morbid obesity. **European Journal of Endocrinology**, vol. 176, no. 4, p. 393–404, 2017.

HARFORD, Terri J.; KLIMENT, Greg; SHUKLA, Girish C.; *et al.* The muscle regulatory transcription factor MyoD participates with p53 to directly increase the expression of the pro-apoptotic Bcl2 family member PUMA. **Apoptosis**, vol. 22, no. 12, p. 1532–1542, 2017.

HARGREAVES, Mark and SPRIET, Lawrence L. Skeletal muscle energy metabolism during exercise. **Nature Metabolism**, vol. 2, no. 9, p. 817–828, 2020.

HARTGENS, Fred and KUIPERS, Harm. Effects of Androgenic-Anabolic Steroids in Athletes. **Sports Medicine**, vol. 34, no. 8, p. 513–554, 2004.

HERBST, Karen L; BHASIN, Shalender. Testosterone action on skeletal muscle. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, vol. 7, p. 271-277, 2004.

HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, J. Manuel; GARCÍA-GONZÁLEZ, Estela G.; BRUN, Caroline E.; *et al.* The myogenic regulatory factors, determinants of muscle development, cell identity and regeneration. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, vol. 72, p. 10–18, 2017.

HILL, Stephanie A. and WARING, W. Stephen. Pharmacological effects and safety monitoring of anabolic androgenic steroid use: differing perceptions between users and healthcare professionals. **Therapeutic Advances in Drug Safety**, vol. 10, p. 204-209, 2019.

HILLER-STURMHÖFEL, Susanne; BARTKE Andrezej. The endocrine system: an overview. **Alcohol Health Res World**, vol. 22, no. 3, p.153-64, 1998.

HOBBS, Curtis J.; JONES, Robert E. and PLYMATE, Stephen R. The effects of sex hormone binding globulin (SHBG) on testosterone transport into the cerebrospinal fluid. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, vol. 42, no. 6, p. 629–635, 1992.

HOLLIDGE-HORVAT, M. G.; PAROLIN, M. L.; WONG, D.; *et al.* Effect of induced metabolic acidosis on human skeletal muscle metabolism during exercise. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, vol. 277, no. 4, 1999.

HOLST, Jennifer P.; SOLDIN, Offie P.; GUO, Tiedong; *et al.* Steroid hormones: relevance and measurement in the clinical laboratory. **Clinics in Laboratory Medicine**, vol. 24, no. 1, p. 105–118, 2004.

JESPERSEN, Jakob G.; NEDERGAARD, Anders; REITELSEDER, Søren; *et al.* Activated Protein Synthesis and Suppressed Protein Breakdown Signaling in Skeletal Muscle of Critically Ill Patients. **PLoS ONE**, vol. 6, no. 3, 2011.

JOHNSON, Larry; THOMPSON, Donald L. and VARNER, Dickson D. Role of Sertoli cell number and function on regulation of spermatogenesis. **Animal Reproduction Science**, vol. 105, no. 1-2, p. 23–51, 2008.

JOANISSE, Sophie; LIM, Changhyun; MCKENDRY, James; *et al.* Recent advances in understanding resistance exercise training-induced skeletal muscle hypertrophy in humans. **F1000Research**, vol. 9, p. 141, 2020.

JONES, Hugh. Testosterone for the aging male; current evidence and recommended practice. **Clinical Interventions in Aging**, vol. Volume 3, p. 25–44, 2008.

JÉGOU, Bernard. The Sertoli cell in vivo and in vitro. **Cell Biology and Toxicology**, vol. 8, no. 3, p. 49–54, 1992.

KADI, F. Cellular and molecular mechanisms responsible for the action of testosterone on human skeletal muscle. A basis for illegal performance enhancement. **British Journal of Pharmacology**, vol. 154, no. 3, p. 522–528, 2008.

KANAYAMA, Gen and POPE, Harrison G. History and epidemiology of anabolic androgens in athletes and non-athletes. **Molecular and Cellular Endocrinology**, vol. 464, p. 4–13, 2018.

KEEFE, Giselle and WRIGHT, Craig. An intricate balance of muscle damage and protein synthesis: the key players in skeletal muscle hypertrophy following resistance training. **The Journal of Physiology**, vol. 594, no. 24, p. 7157–7158, 2016.

KERSEY, Robert D.; ELLIOT, Diane L.; GOLDBERG, Linn; *et al.* National Athletic Trainers' Association Position Statement: Anabolic-Androgenic Steroids. **Journal of Athletic Training**, vol. 47, no. 5, p. 567–588, 2012.

KICMAN, A T. Pharmacology of anabolic steroids. **British Journal of Pharmacology**, vol. 154, no. 3, p. 502–521, 2008.

KOBAYASHI, Jun; UCHIDA, Hiroyuki; KOFUJI, Ayaka; *et al.* Molecular regulation of skeletal muscle mass and the contribution of nitric oxide: A review. **FASEB BioAdvances**, vol. 1, no. 6, p. 364–374, 2019.

KOCHAKIAN C. D. **Anabolic-Androgenic Steroids: Handbook of Experimental Pharmacology**. 1st edition, New York, Springer, 1976.

KOEPPEN, Bruce M. and STANTON, Bruce A. **Berne & Levy physiology**. Seventh Edition, Philadelphia, PA; Elsevier, 2018.

KOVAC, Jason; PASTUSZAK, Alexander W.; LAMB, Dolores J.; *et al.* Testosterone Supplementation Therapy in the Treatment of Patients with Metabolic Syndrome. **Postgraduate Medicine**, vol. 126, no. 7, p. 149–156, 2014.

KRZYSZTOFIK, Michal; WILK, Michal; WOJDAŁA, Grzegorz; *et al.* Maximizing Muscle Hypertrophy: A Systematic Review of Advanced Resistance Training Techniques and Methods. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, vol. 16, no. 24, p. 4897, 2019.

KUO, Ivana Y. and EHRLICH, Barbara E. Signaling in Muscle Contraction. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, vol. 7, no. 2, 2015.

LAURENT, Michaël R.; HAMMOND, Geoffrey L.; BLOKLAND, Marco; *et al.* Sex hormone-binding globulin regulation of androgen bioactivity in vivo: validation of the free hormone hypothesis. **Scientific Reports**, vol. 6, no. 1, p. 1-10, 2016.

LEBRASSEUR, Nathan K.; WALSH, Kenneth and ARANY, Zoltan. Metabolic benefits of resistance training and fast glycolytic skeletal muscle. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, vol. 300, no. 1, 2011.

LIANG, Huiyun and WARD, Walter F. PGC-1 α : a key regulator of energy metabolism. **Advances in Physiology Education**, vol. 30, no. 4, p. 145–151, 2006.

LIMA, Waldecir Paula. Mecanismos moleculares associados à hipertrofia e hipotrofia muscular: relação com a prática de exercício físico. **Revista Brasileira de Fisiologia do Exercício**, v. 16, n. 2, p. 123-141, 2017.

MALTZAHN, J. Von; JONES, A. E.; PARKS, R. J.; *et al.* Pax7 is critical for the normal function of satellite cells in adult skeletal muscle. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, vol. 110, no. 41, p. 16474–16479, 2013.

MANNING, Brendan D. and TOKER, Alex. AKT/PKB Signaling: Navigating the Network. **Cell**, vol. 169, no. 3, p. 381–405, 2017.

MCGLORY, Chris; DEVRIES, Michaela C. and PHILLIPS, Stuart M. Skeletal muscle and resistance exercise training; the role of protein synthesis in recovery and remodeling. **Journal of Applied Physiology**, vol. 122, no. 3, p. 541–548, 2017.

MELMED, Shlomo. *et al.* **Williams Textbook of Endocrinology**. 13th edition. Canada: Elsevier, 2016

MEGENEY, L A; KABLAR, B; GARRETT, K; *et al.* MyoD is required for myogenic stem cell function in adult skeletal muscle. **Genes & Development**, vol. 10, no. 10, p. 1173–1183, 1996.

MORI, H and CHRISTENSEN, A K. Morphometric analysis of Leydig cells in the normal rat testis. **Journal of Cell Biology**, vol. 84, no. 2, p. 340–354, 1980.

MUKUND, Kavitha and SUBRAMANIAM, Shankar. Skeletal muscle: A review of molecular structure and function, in health and disease. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine**, 2019.

NASSAR, George M.; LESLIE Stephen W. **Physiology, Testosterone**. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK526128/>. Acesso em 12 out. 2020.

NEAVES, William B. A report prepared for the ford foundation review of research and support in reproductive biology and contraceptive development. **Contraception**, vol. 11, no. 5, p. 571–606, 1975.

WEINBAUER, Gerhard F; LUETJENS, Craig Marc; SIMONI, Manuela; *et al.* Physiology of Testicular Function. **Andrology**, p. 11–59, 2010

NITZSCHE, Nico; LENZ, Julian Christian; VORONOI, Pjotr; *et al.* Adaption of Maximal Glycolysis Rate after Resistance Exercise with Different Volume Load. **Sports Medicine International Open**, vol. 4, no. 02, 2020.

NORRBY, Marlene; EVERTSSON, Kim; FJÄLLSTRÖM, Ann-Kristin; *et al.* Akt (protein kinase B) isoform phosphorylation and signaling downstream of mTOR (mammalian target of rapamycin) in denervated atrophic and hypertrophic mouse skeletal muscle. **Journal of Molecular Signaling**, vol. 7, p. 7, 2012.

OBERLANDER, J. G.; PORTER, D. M.; PENATTI, C. A. A.; *et al.* Anabolic Androgenic Steroid Abuse: Multiple Mechanisms of Regulation of GABAergic Synapses in Neuroendocrine Control Regions of the Rodent Forebrain. **Journal of Neuroendocrinology**, vol. 24, no. 1, p. 202–214, 2011.

OHNO; ANDO; ITO; *et al.* Lactate Stimulates a Potential for Hypertrophy and Regeneration of Mouse Skeletal Muscle. **Nutrients**, vol. 11, no. 4, p. 869, 2019.

PEREZ-SCHINDLER, J.; SUMMERMATTER, S.; SANTOS, G.; *et al.* The transcriptional coactivator PGC-1 is dispensable for chronic overload-induced skeletal muscle hypertrophy and metabolic remodeling. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, vol. 110, no. 50, p. 20314–20319, 2013.

PLANT, Tony M. Neuroendocrine control of the onset of puberty. **Frontiers in Neuroendocrinology**, vol. 38, p. 73–88, 2015.

PRUMMEL, Mark F.; BROKKEN, Leon J.s. and WIERSINGA, Wilmar M. Ultra Short-Loop Feedback Control of Thyrotropin Secretion. **Thyroid**, vol. 14, no. 10, p. 825–829, 2004.

RAMASAMY, Ranjith; OSTERBERG, Echarles and BERNIE, Aaronm. Risks of testosterone replacement therapy in men. **Indian Journal of Urology**, vol. 30, no. 1, p. 2, 2014.

RIVAS, Ana Marcella; MULKEY, Zachary; LADO-ABEAL, Joaquin; *et al.* Diagnosing and Managing Low Serum Testosterone. **Baylor University Medical Center Proceedings**, vol. 27, no. 4, p. 321–324, 2014.

RODRIGUEZ, J.; VERNUS, B.; CHELH, I.; *et al.* Myostatin and the skeletal muscle atrophy and hypertrophy signaling pathways. **Cellular and Molecular Life Sciences**, vol. 71, no. 22, p. 4361–4371, 2014.

ROSENBERG, Paul B. Calcium entry in skeletal muscle. **The Journal of Physiology**, vol. 587, no. 13, p. 3149–3151, 2009.

ROUX, P. P. and TOPISIROVIC, I. Regulation of mRNA Translation by Signaling Pathways. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, vol. 4, no. 11, 2012.

RUAS, Jorge L.; WHITE, James P.; RAO, Rajesh R.; *et al.* A PGC-1 α Isoform Induced by Resistance Training Regulates Skeletal Muscle Hypertrophy. **Cell**, vol. 151, no. 6, p. 1319–1331, 2012.

SANTOS, Azenildo Moura. **O mundo anabólico: Análise do uso de esteroides anabólicos no esporte**. 3^a ed. rev. e atual. Barueri-SP; Manole, 2018.

SARTORELLI, V. and FULCO, M. Molecular and Cellular Determinants of Skeletal Muscle Atrophy and Hypertrophy. **Science Signaling**, vol. 2004, no. 244, 2004.

SCHIAFFINO, Stefano; DYAR, Kenneth A.; CICILIOT, Stefano; et al. Mechanisms regulating skeletal muscle growth and atrophy. **FEBS Journal**, vol. 280, no. 17, p. 4294–4314, 2013.

SCHIFFER, Lina; BARNARD, Lise; BARANOWSKI, Elizabeth S.; *et al.* Human steroid biosynthesis, metabolism and excretion are differentially reflected by serum and urine steroid metabolomes: A comprehensive review. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, vol. 194, p. 105-439, 2019.

SCHOENFELD, Brad J. Postexercise Hypertrophic Adaptations. **Journal of Strength and Conditioning Research**, vol. 27, no. 6, p. 1720–1730, 2013.

SCHOENFELD, Brad J.; CONTRERAS, Bret; KRIEGER, James; *et al.* Resistance Training Volume Enhances Muscle Hypertrophy but Not Strength in Trained Men. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, vol. 51, no. 1, p. 94–103, 2019.

SELBY, C. Sex Hormone Binding Globulin: Origin, Function and Clinical Significance. **Annals of Clinical Biochemistry: An international journal of biochemistry and laboratory medicine**, vol. 27, no. 6, p. 532–541, 1990.

SHOSKES, Daniel A. and HAKIM, Lawrence S. Testosterone replacement therapy. **Translational Andrology and Urology**, vol. 5, no. 6, p. 812–813, 2016.

SILVERTHORN, Dee Unglaub.; JOHNSON, Bruce R; OBER, William C.; *et al.* **Fisiologia humana: uma abordagem integrada**. 5^a edição. Porto Alegre: Artmed, 2011.

SINHA-HIKIM, Indrani; ARTAZA, Jorge; WOODHOUSE, Linda; *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**, vol. 283, no. 1, 2002.

SMEUNINX, Benoit and MCKENDRY, James. Mechanisms of resistance exercise-induced muscle hypertrophy: ‘You can’t make an omelette without breaking eggs.’ **The Journal of Physiology**, vol. 594, no. 24, p. 7159–7160, 2016.

SOLIMAN, Ghada A. The integral role of mTOR in lipid metabolism. **Cell Cycle**, vol. 10, no. 6, p. 861–862, 2011.

SWEENEY, H. Lee and HAMMERS, David W. Muscle Contraction. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, vol. 10, no. 2, 2018.

TATA, Jamshed R. One hundred years of hormones. **European Molecular Biology Organization**, vol. 6, no. 6, 2005.

TESCH, Per A.; COLLIANDER, Erland B. and KAISER, Peter. Muscle metabolism during intense, heavy-resistance exercise. **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology**, vol. 55, no. 4, p. 362–366, 1986.

THLIVERIS, James A. and CURRIE, R. William. Observations on the hypothalamo-hypophyseal portal vasculature in the developing human fetus. **American Journal of Anatomy**, vol. 157, no. 4, p. 441–444, 1980.

TRAISH, Abdulmaged M. Negative Impact of Testosterone Deficiency and 5 α -Reductase Inhibitors Therapy on Metabolic and Sexual Function in Men. **Sex and Gender Factors Affecting Metabolic Homeostasis, Diabetes and Obesity Advances in Experimental Medicine and Biology**, p. 473–526, 2017.

TSUTSUMI, Rie and WEBSTER, Nicholas J.g. GnRH Pulsatility, the Pituitary Response and Reproductive Dysfunction. **Endocrine Journal**, vol. 56, no. 6, p. 729–737, 2009.

TYAGI, Vineet; SCORDO, Michael; YOON, Richard S; LIPORACE, Frank A; GREENE, Loren Wissner . Revisiting the role of testosterone: Are we missing something? **Rev. Urol**, vol. 19, no.1, p. 16-24, 2017.

WEINBAUER, Gerhard F; LUETJENS, Craig Marc; SIMONI, Manuela; *et al.* Physiology of Testicular Function. **Andrology**, p. 11–59, 2010.

WEST, Daniel W. D. and PHILLIPS, Stuart M. Anabolic Processes in Human Skeletal Muscle: Restoring the Identities of Growth Hormone and Testosterone. **The Physician and Sportsmedicine**, vol. 38, no. 3, p. 97–104, 2010.

WEST, Daniel W. D.; BURD, Nicholas A.; TANG, Jason E.; *et al.* Elevations in ostensibly anabolic hormones with resistance exercise enhance neither training-induced muscle hypertrophy nor strength of the elbow flexors. **Journal of Applied Physiology**, vol. 108, no. 1, p. 60–67, 2010.

YABLONKA-REUVENI, Zipora. The Skeletal Muscle Satellite Cell. **Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, vol. 59, no. 12, p. 1041–1059, 2011.

YE, Leping; LI, Xiaoheng; LI, Linxi; *et al.* Insights into the Development of the Adult Leydig Cell Lineage from Stem Leydig Cells. **Frontiers in Physiology**, vol. 8, 2017.

ZAMMIT, Peter S. Function of the myogenic regulatory factors Myf5, MyoD, Myogenin and MRF4 in skeletal muscle, satellite cells and regenerative myogenesis. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, vol. 72, p. 19–32, 2017.

ZIRKIN, Barry R and PAPADOPOULOS, Vassilios. Leydig cells: formation, function, and regulation†. **Biology of Reproduction**, vol. 99, no. 1, p. 101–111, 2018.

ZUBELDIA-BRENNER, L.; ROSELLI, C. E.; RECABARREN, S. E.; *et al.* Developmental and Functional Effects of Steroid Hormones on the Neuroendocrine Axis and Spinal Cord. **Journal of Neuroendocrinology**, vol. 28, no. 7, p. 1-16, 2016.