

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS**

**MÔNICA NAVES BARCELOS**

**AVALIAÇÃO DO USO DOSE-DEPENDENTE DE 17B-  
CICLOPENTILPROPIONATO DE TESTOSTERONA NA MANIFESTAÇÃO DE  
DISTÚRBIOS COMPORTAMENTAIS, OVARIANOS, UTERINOS E  
REPRODUTIVOS EM CAMUNDONGOS**

**ALFENAS/MG**

**2024**

**MÔNICA NAVES BARCELOS**

**AVALIAÇÃO DO USO DOSE-DEPENDENTE DE 17B-CICLOPENTILPROPIONATO  
DE TESTOSTERONA NA MANIFESTAÇÃO DE DISTÚRBIOS  
COMPORTAMENTAIS, OVARIANOS, UTERINOS E  
REPRODUTIVOS EM CAMUNDONGOS**

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciências Aplicada à Saúde, pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Biociências Aplicadas à Saúde

Orientador: Rômulo Dias Novaes

**ALFENAS/MG**

**2024**

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas  
Biblioteca Central

Barcelos, Mônica Naves.

Avaliação pré-clínica de esteroide anabólico androgênico como indutor de distúrbios comportamentais, ovarianos, uterinos e reprodutivos / Mônica Naves Barcelos. - Alfenas, MG, 2024.

96 f. : il. -

Orientador(a): Rômulo Dias Novaes.

Tese (Doutorado em Biociências Aplicadas à Saúde) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2024.

Bibliografia.

1. Esteroides anabolizantes androgênicos. 2. Sistema reprodutor feminino. 3. Eixo hipotalâmico hipofisário-gonadal (HPG). 4. 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona. I. Novaes, Rômulo Dias, orient. II. Título.

MÔNICA NAVES BARCELOS

**AVALIAÇÃO PRÉ-CLÍNICA DE ESTEROIDE ANABÓLICO ANDROGÊNICO COMO INDUTOR DE DISTÚRBIOS  
COMPORTAMENTAIS, OVARIANOS, UTERINOS E REPRODUTIVOS**

O Presidente da banca examinadora abaixo assina a aprovação da Tese apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Ciências pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Biociências Aplicada à Saúde.

Aprovada em: 28 de agosto de 2024.

Prof. Dr. Rômulo Dias Novaes - Presidente da Banca Examinadora

Instituição: Universidade Federal de Alfenas

UNIFAL-MG

Profª. Drª. Graziela Domingues de Almeida Lima

Instituição: Universidade Federal de Alfenas

UNIFAL-MG

Profª. Dra. Drª. Elda Gonçalves dos Santos

Instituição: Universidade Federal de Alfenas

UNIFAL-MG

Profª. Drª. Eliziária Cardoso dos Santos

Instituição: Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

UFVJM

Profª. Drª. Juliana dos Santos Neves

Instituição: Universidade Federal de Alfenas

UNIFAL-MG



Documento assinado eletronicamente por **Rômulo Dias Novaes, Professor do Magistério Superior**, em 28/08/2024, às 11:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **1306020** e o código CRC **020FCBBB**.

## **AGRADECIMENTOS**

À DEUS, que guiou meus passos e iluminou meus caminhos ao longo desta jornada, com fé inabalável e esperança.

À minha amada mãe, Marilda Naves Barcelos, cuja presença constante e amor incondicional foram faróis de força e inspiração. Sua coragem e apoio foram a âncora que me manteve firme, e seu amor inestimável é o que me sustentou em todos os momentos.

Ao meu pai, Jonas Donizeti Barcelos, que partiu para o céu apenas um mês antes da realização deste sonho compartilhado. Sua memória é uma luz eterna que brilha em meu coração, e eu sinto sua presença em cada conquista e passo dado. Sua ausência foi uma dor profunda, mas seu espírito continua a me inspirar e guiar.

Aos meus orientadores, verdadeiras luzes em minha trajetória acadêmica, que surgiram como faróis de sabedoria e transformação. Vocês não apenas orientaram meu trabalho, mas também moldaram a minha visão do mundo acadêmico, revelando que é possível ser um docente que transforma a realidade e inspira o crescimento genuíno. Agradeço profundamente por cada conselho, cada ensinamento e pela crença em meu potencial.

À Adriana, secretária do programa de doutorado em Biociências Aplicadas à Saúde, cuja disposição e empatia foram um alívio constante em meio à complexidade. Seu apoio e compreensão foram inestimáveis e ajudaram a suavizar os desafios ao longo do caminho.

À Universidade Federal de Alfenas e à CAPES, que proporcionaram o ambiente e os recursos necessários para a realização deste trabalho. Agradeço pela oportunidade de crescer e desenvolver minha pesquisa em um espaço de excelência acadêmica.

Por fim, que eu continue acreditando na vida, com a mesma fé e determinação que me trouxeram até aqui. Que este trabalho seja apenas o começo de uma jornada ainda mais enriquecedora e transformadora.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## RESUMO

O consumo de forma prolongada e excessiva de Esteroides Anabolizantes Androgênicos (EAA) causa alterações patológicas em órgãos vitais, como o coração e em outros sistemas do corpo, como o sistema reprodutor, renal e hepático. Atualmente, há uma crescente ao que se refere ao uso de EAA, principalmente de forma indiscriminada, ou seja, sem acompanhamento de especialista. Apesar dos benefícios que seu uso pode proporcionar, existem evidências que comprovam que o uso excessivo de anabolizantes esteroides, ocasiona danos reversíveis e muitas vezes irreversíveis, como, óbito. O objetivo deste estudo foi avaliar a utilização do 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona em distúrbio no aparelho reprodutor feminino. Para tanto, foram utilizados camundongos fêmeas que foram medicadas com o andrógeno e depois sacrificadas para que seus órgãos reprodutivos fossem analisados. Doses de 5, 10 e 20 mg/kg de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona foram aplicadas nos camundongos fêmeas e os resultados mostraram a influência deste no sistema reprodutor feminino.

Palavras-chave: Esteroides anabolizantes androgênicos; sistema reprodutor feminino; eixo hipotalâmico hipofisário-gonadal (HPG); 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona.

## ABSTRACT

Prolonged and excessive consumption of Anabolic Androgenic Steroids (AAS) causes pathological changes in vital organs such as the heart and in other body systems such as the reproductive, renal and hepatic systems. Currently, there is a growing trend regarding the use of AAS, mainly indiscriminately, that is, without specialist monitoring. Despite the benefits that its use can provide, there is evidence that proves that the excessive use of anabolic steroids causes reversible and often irreversible damage, such as death. The objective of this study was to evaluate the use of testosterone 17 $\beta$ -cyclopentylpropionate in disorders of the female reproductive system. For this purpose, female mice were used that were medicated with the androgen and then sacrificed so that their reproductive organs could be analyzed. Doses of 5, 10 and 20 mg/kg of testosterone 17 $\beta$ -cyclopentylpropionate were applied to female mice and the results showed its influence on the female reproductive system.

Keywords: Anabolic androgenic steroids; female reproductive system; hypothalamic hypophyseal-gonadal axis (HPG); Testosterone 17 $\beta$ -cyclopentylpropionate.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Sistema Reprodutor Feminino.....	15
Figura 2 -	Ciclo ovárico.....	18
Figura 3 -	Ciclo uterino - Principais mecanismos de síntese de hormônios esteroides. ....	19
Figura 4 -	Reações 1, 4, 7 e 8: mitocôndria; Reações 2, 3, 5 e 6: reticulo endoplasmático; Reações 9 e 10: Testículo e ovário .....	22
Figura 5 -	Estrutura química do 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona .....	26
Figura 6 -	Representação esquemática do teste de campo aberto.....	33
Figura 7 -	Comportamento ansioso em camundongos fêmeas tratados com 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona.....	45
Figura 8 -	Comportamento agressivo e sexual em camundongos fêmeas tratados com 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona.....	48
Figura 9 -	Respostas nociceptivas mecânicas (A) e térmicas (B) em camundongos fêmeas não tratados e tratados com diferentes doses de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona.....	51
Figura 10 -	Alterações nos Níveis Circulantes de Hormônios Sexuais em Camundongos Fêmeas Tratadas com 17 $\beta$ -Ciclopentilpropionato de Testosterona.....	54
Figura 11 -	Expressão do gene CYP19a1 (A), atividade da aromatase (B) e índice de aromatização (C e D) no ovário de camundongos fêmeas não tratados e tratados com testosterona 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato (TC).....	56
Figura 12 -	Expressão gênica no útero de camundongos fêmeas não tratados e tratados com 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato (TC) de testosterona.....	59
Figura 13 -	Fotomicrografias da Medula Ovariana em Camundongos Fêmeas: Efeitos do Tratamento com 17 $\beta$ -Ciclopentilpropionato de Testosterona.....	62
Figura 14 -	Fotomicrografias representativas do córtex ovariano em camundongos fêmeas tratados e não tratados com 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona.....	64

Figura 15 - Distribuição de folículos ovarianos em diferentes estágios evolutivos em camundongos fêmeas não tratados e tratados com testosterona 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato (TC). .....	65
Figura 16 - Fotomicrografias representativas de folículos ovarianos em diferentes estágios evolutivos (A), pontuação histopatológica baseada em diagrama de campo (B) e distribuição de folículos ovarianos (C) em camundongos fêmeas não tratados e tratados com testosterona 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato (TC). .....	66
Figura 17 - Alterações histológicas no útero de camundongos tratados com 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona.....	69
Figura 18 - Avaliação do Desempenho Reprodutivo em Camundongos Fêmeas Tratados com 17 $\beta$ -Ciclopentilpropionato de Testosterona: Número de Filhotes, Massa dos Filhotes e Taxa de Sobrevivência .....	73

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Primers utilizados na reação em cadeia da polimerase quantitativa* . ....	37
Tabela 2 - Parâmetros microestruturais quantitativos de folículos ovarianos em diferentes estágios evolutivos, distribuição de células estromais e vasos sanguíneos na medula ovariana em camundongos fêmeas não tratados e tratados com testosterona 17 $\beta$ - ciclopentilpropionato (TC). ....	67
Tabela 3 - Parâmetros microestruturais quantitativos do oviduto em camundongos fêmeas não tratados e tratados com testosterona 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato (TC).....	68
Tabela 4 - Parâmetros microestruturais quantitativos uterinos em camundongos fêmeas não tratados e tratados com 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato (TC) de testosterona. ....	70

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
1.1	OBJETIVOS.....	14
1.1.1	<b>Objetivo geral</b> .....	<b>14</b>
1.1.2	<b>Objetivos específicos</b> .....	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>DESENVOLVIMENTO</b> .....	<b>15</b>
2.1	O DESENVOLVIMENTO PUBERAL DAS MULHERES .....	15
2.1.1	<b>Ciclo ovárico</b> .....	<b>17</b>
2.1.2	<b>Ciclo uterino</b> .....	<b>18</b>
2.1.3	<b>Fecundação e nidação</b> .....	<b>20</b>
2.2	Efeitos dos Hormônios Androgênicos: Benefícios e Riscos.....	20
2.2.1	<b>17<math>\beta</math>-ciclopentilpropionato de testosterona</b> .....	<b>24</b>
2.2.2	<b>Uso terapêutico de esteroides anabolizantes androgênicos: Análise da intervenção e avaliação do risco-benefício</b> .....	<b>28</b>
<b>3</b>	<b>MÉTODOS</b> .....	<b>30</b>
3.1	PROTOCOLO EXPERIMENTAL.....	31
3.2	AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL.....	31
3.3	AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DE HORMÔNIOS SEXUAIS: MÉTODOS E APLICAÇÕES EXPERIMENTAIS .....	34
3.4	ANÁLISE DA EXPRESSÃO GÊNICA POR MEIO DE ENSAIOS MOLECULARMENTE ESPECÍFICOS .....	35
3.5	AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DA ATIVIDADE DA AROMATASE: MÉTODOS E PROCEDIMENTOS.....	37
3.6	ABORDAGENS E PROTOCOLOS PARA PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO.....	38
3.7	AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DO OVÁRIO, OVIDUTO E ÚTERO: METODOLOGIAS E PROTOCOLOS .....	40
3.8	CARACTERIZAÇÃO MICROESTRUTURAL DO OVÁRIO, OVIDUTO E ÚTERO .....	40
3.9	AVALIAÇÃO DA FERTILIDADE REPRODUTIVA.....	41
3.10	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	42
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>43</b>
<b>5</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>77</b>

<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>79</b>
--------------------------	-----------

## 1 INTRODUÇÃO

O ciclopentilpropionato de testosterona (TC), um derivado sintético da testosterona, tem sido amplamente utilizado tanto em contextos terapêuticos quanto recreativos devido às suas propriedades anabólicas e androgênicas. No âmbito clínico, a utilização desses compostos é rigorosamente controlada, sendo indicada em estados catabólicos associados a doenças crônicas, como AIDS, doença pulmonar obstrutiva crônica, câncer, além de ser utilizada na recuperação pós-operatória (Anawalt, 2019; Çatakoğlu; Kendirci, 2017; Ide; Vanderschueren; Antonio, 2020). Contudo, o uso abusivo de esteroides anabólicos androgênicos (EAA), especialmente em doses suprafisiológicas, tem levantado sérias preocupações, principalmente no que tange aos distúrbios comportamentais, ovarianos, uterinos e reprodutivos em mulheres (Kanakis *et al.*, 2019).

No Brasil, assim como em outros países, a prescrição e a comercialização de esteroides anabólicos são controladas por órgãos reguladores (Kicman, 2008). Entretanto, há um crescimento significativo do uso não terapêutico desses compostos, especialmente entre adolescentes e adultos que buscam ganhos rápidos de massa muscular e força física. Esse comportamento envolve, muitas vezes, o uso de doses até 100 vezes superiores às recomendadas para fins clínicos (Clark; Fast, 1996; Perry *et al.*, 2005; Yates *et al.*, 1999), resultando em uma série de complicações à saúde. Entre os compostos mais comuns, destacam-se o decanoato de nandrolona e os ésteres de testosterona, que frequentemente são utilizados de maneira abusiva (Perry *et al.*, 2005).

A testosterona, embora presente em menores quantidades no organismo feminino, desempenha um papel fundamental no sistema reprodutivo, na manutenção da disposição e no aumento da massa muscular. Entretanto, o uso indiscriminado de EAA em mulheres pode acarretar uma série de efeitos adversos, especialmente em doses suprafisiológicas, incluindo virilização irreversível, como hipertrofia clitoriana, engrossamento da voz, hirsutismo, irregularidades menstruais e atrofia das mamas (Kanakis *et al.*, 2019; Kicman, 2008; Yates *et al.*, 1999). Além disso, há evidências de que o uso prolongado de andrógenos pode causar alterações significativas nos ovários e no útero, como atrofia do epitélio cervical, infiltração de eosinófilos no miométrio e presença de cistos foliculares (Bienenfeld *et al.*, 2019).

Os distúrbios comportamentais associados ao uso de esteroides, incluindo agressividade, labilidade emocional e sintomas depressivos, têm sido extensivamente documentados em homens, mas seus efeitos sobre o comportamento feminino ainda são insuficientemente explorados. Relatos indicam que o uso excessivo de testosterona pode também afetar o comportamento das mulheres, sendo necessárias investigações mais detalhadas sobre essas interações (Kadi, 2008).

Neste contexto, este estudo busca preencher a lacuna existente na literatura científica quanto aos efeitos morfológicos e funcionais do ciclopentilpropionato de testosterona em doses elevadas no sistema reprodutivo feminino, com ênfase nas alterações comportamentais, ovarianas e uterinas. A maioria dos estudos concentra-se nos impactos dos EAA em homens, enquanto os efeitos em mulheres, especialmente no período pré e pós-gestacional, permanecem pouco conhecidos.

Neste estudo, utilizamos um modelo animal (camundongos fêmeas) para investigar os efeitos do TC em doses de 5, 10 e 20 mg/kg, com o objetivo de avaliar as consequências de seu uso sobre o comportamento e a morfologia do sistema reprodutivo. A escolha de doses suprafisiológicas busca simular as condições de abuso frequentemente observadas em seres humanos. Os resultados obtidos poderão fornecer subsídios importantes para a compreensão dos impactos do uso abusivo de andrógenos no organismo feminino, contribuindo para o desenvolvimento de estratégias mais eficazes para a prevenção e tratamento desses efeitos adversos.

A presente pesquisa tem como objetivo avaliar, de forma sistemática, os efeitos do ciclopentilpropionato de testosterona sobre o útero, os ovários e o comportamento de camundongos fêmeas, fornecendo uma análise detalhada dos distúrbios induzidos por doses elevadas desse hormônio. Além disso, espera-se que os achados deste estudo possam fundamentar políticas de saúde pública voltadas à conscientização sobre os riscos do uso indiscriminado de EAA entre mulheres, bem como abrir novas perspectivas para futuras investigações científicas na área.

## 1.1 OBJETIVOS

Os objetivos deste estudo visam analisar e compreender os efeitos do ciclopentilpropionato de testosterona no comportamento, nos sistemas ovariano e uterino, bem como na reprodução de camundongos fêmeas, fornecendo dados que possam contribuir para o avanço do conhecimento científico sobre os impactos de doses suprafisiológicas de esteroides anabólicos androgênicos no organismo feminino. O estudo também busca avaliar as possíveis implicações dessas alterações para a saúde humana e as potenciais consequências para o uso clínico e não terapêutico de esteroides em mulheres.

### 1.1.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos do ciclopentilpropionato de testosterona em diferentes doses sobre o comportamento, o sistema reprodutivo e a morfologia uterina e ovariana de camundongos fêmeas, no período pré e pós-gestacional.

### 1.1.2 Objetivos específicos

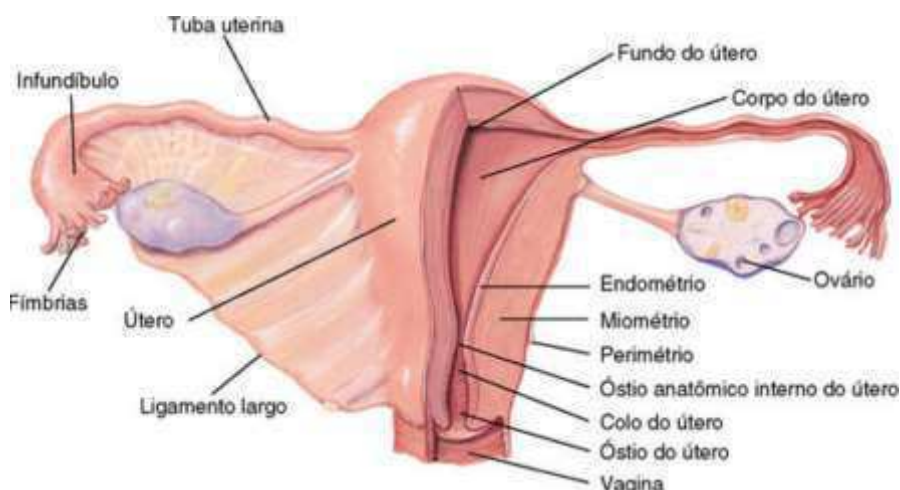
- a) Examinar as alterações comportamentais induzidas pelo ciclopentilpropionato de testosterona em camundongos fêmeas, com foco em agressividade, alterações emocionais e comportamento reprodutivo;
- b) Avaliar os efeitos morfológicos do ciclopentilpropionato de testosterona no útero e nos ovários, considerando diferentes doses e períodos de administração;
- c) Investigar o impacto do ciclopentilpropionato de testosterona na fertilidade, gestação e desenvolvimento pós-gestacional de camundongos fêmeas.

## 2 DESENVOLVIMENTO

### 2.1 O DESENVOLVIMENTO PUBERAL DAS MULHERES

O sistema reprodutor feminino é um componente central da fisiologia da mulher, responsável pela secreção dos hormônios sexuais que regulam o ciclo reprodutivo e a fertilidade. Este sistema é constituído por dois ovários, que produzem os óvulos e os principais hormônios sexuais, duas trompas de Falópio, que são responsáveis pelo transporte dos óvulos e pela fertilização, um útero, onde ocorre a implantação do embrião e o desenvolvimento fetal, uma vagina, que serve como canal de parto e via de entrada para o esperma, e uma vulva, que é a estrutura externa do sistema reprodutivo. Localizado na cavidade pélvica, o sistema reprodutor feminino é essencial para a reprodução e também desempenha papéis importantes em outros aspectos da saúde hormonal e metabólica feminina. A Figura 1 ilustra a anatomia detalhada do aparelho reprodutor feminino, proporcionando uma visão clara e abrangente de sua estrutura e organização funcional.

Figura 1 - Aparelho reprodutor feminino.



Fonte: Camportez (2021).

Os ovários são estruturas ovais localizadas na cavidade pélvica, cuja principal função é a produção de gametas femininos, especificamente os ovócitos secundários, e de hormônios sexuais femininos, como estrógeno e progesterona. Estas glândulas desempenham um papel central na regulação do ciclo menstrual e na manutenção da fertilidade. A região cortical dos ovários abriga os folículos

ovarianos, que são compostos pelo ovócito e pelas células foliculares circundantes. Durante o ciclo menstrual, um folículo dominante amadurece e libera o ovócito na ovulação, que ocorre tipicamente no 14º dia de um ciclo de 28 dias. O folículo rompido se transforma em corpo lúteo, que continua a secretar estrógeno e progesterona, desempenhando um papel crucial na preparação do endométrio para a implantação embrionária (Pask, 2016).

Durante a puberdade, os ovários contêm aproximadamente 400 mil folículos primordiais. Esses folículos, localizados na periferia dos ovários, são as células germinativas que, ao longo da vida reprodutiva feminina, passam por um processo de maturação, com cerca de 450 atingindo a maturidade funcional, enquanto o restante sofre degeneração (Colvin; Abdullatif, 2017). Este processo é essencial para a manutenção da fertilidade e para a regulação hormonal.

O processo de ovulação envolve a maturação e a ruptura de um folículo, resultando na liberação do ovócito, que é então transportado pelas trompas de Falópio em direção ao útero. A ovulação é um aspecto crítico da reprodução, destacando a complexidade e a precisão do sistema reprodutivo feminino (Colvin; Abdullatif, 2017).

O útero, um órgão com formato semelhante a uma pera e com aproximadamente 9 cm de comprimento, é composto por três partes principais: corpo, fundo e colo uterino. Sua parede é constituída por três camadas distintas: a camada serosa, externa e fina; o miométrio, que é a camada intermediária de músculo liso; e o endométrio, a camada interna rica em vasos sanguíneos. O endométrio é responsável pela implantação do embrião e é parcialmente eliminado durante a menstruação. A vagina, um canal muscular que conecta o útero à parte externa do corpo, desempenha funções essenciais tanto na reprodução quanto na sexualidade (Pask, 2016).

Os órgãos genitais externos, coletivamente denominados vulva, incluem os pequenos e grandes lábios, que protegem as estruturas internas, e o clitóris, que é fundamental para a excitação sexual. O orifício vaginal, parte da vulva, é igualmente significativo para a função reprodutiva (O'Connell; Sanjeevan; Hutson, 2005).

O sistema reprodutor feminino funciona de forma cíclica, englobando o ciclo ovárico e o ciclo uterino, que, em conjunto, constituem o ciclo menstrual. A compreensão detalhada da anatomia e fisiologia deste sistema é crucial para a prática clínica e para a pesquisa científica, evidenciando a importância de estudos

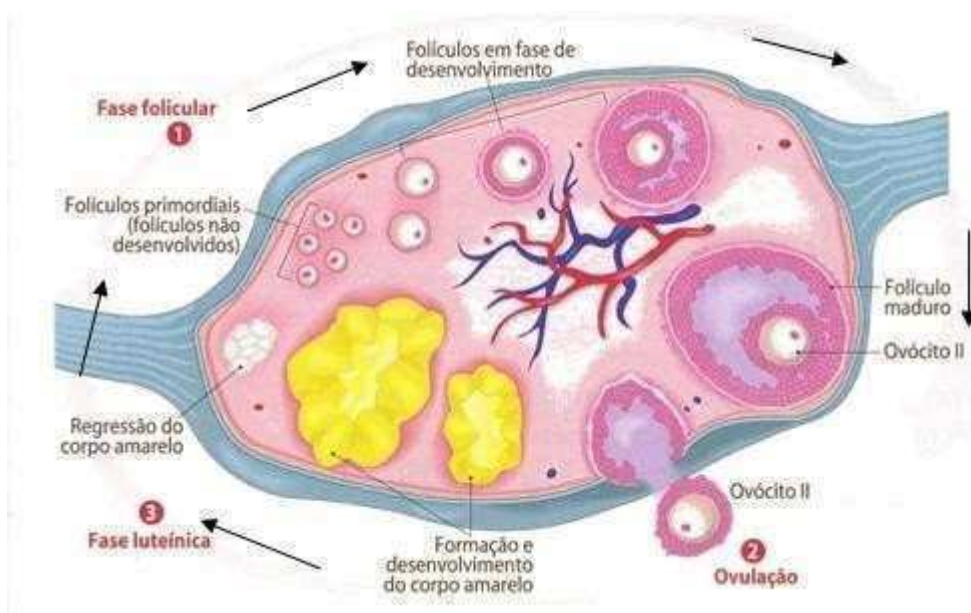
aprofundados sobre suas funções e disfunções (Colvin; Abdullatif, 2017).

### **2.1.1 Ciclo ovárico**

O ciclo ovariano é um processo essencial para a reprodução no sistema reprodutor feminino, caracterizado por três fases distintas: folicular, ovulatória e lútea. Na fase folicular, que inicia o ciclo e se estende por aproximadamente 14 dias, múltiplos folículos primários se desenvolvem nos ovários. No entanto, geralmente apenas um folículo atinge a maturidade completa e é capaz de liberar um óvulo. Durante esta fase, os folículos produzem estrogênio, o qual é crucial para a preparação do endométrio, visando otimizar as condições para uma possível implantação de um embrião. A ovulação, que ocorre por volta do 14º dia do ciclo, marca o momento de maior fertilidade, sendo desencadeada por um pico nos níveis de hormônio luteinizante (LH). Neste estágio, o folículo maduro rompe-se, liberando o óvulo na superfície do ovário, onde é capturado pelo infundíbulo da trompa de Falópio e transportado para o útero para possível fertilização.

Subsequentemente, o folículo rompido se transforma em corpo lúteo, uma estrutura temporária que secreta progesterona e estrogênio. Esses hormônios são fundamentais para preparar o revestimento uterino (endométrio) para a possível implantação do embrião. Na ausência de fecundação, o corpo lúteo regrede, o que resulta em uma redução nos níveis hormonais. Essa queda provoca a descamação do endométrio, culminando na menstruação e sinalizando o início de um novo ciclo menstrual. Assim, o ciclo ovariano não apenas regula a liberação de óvulos, mas também influencia a saúde geral da mulher, afetando aspectos como o humor e a densidade óssea (Yang; Gilman-Sachs; Kwak-Kim, 2019). A Figura 2 ilustra detalhadamente as fases e processos do ciclo ovariano, proporcionando uma visão abrangente das transformações que ocorrem no ovário ao longo do ciclo e destacando a complexidade e a importância desse processo para a saúde reprodutiva feminina.

Figura 2 - Ciclo ovário.



Fonte: Diagrama do Ciclo Ovariano (2024).

Disponível em: <Sistema Reprodutor Feminino | Atlas da Saúde (atlasdasaude.pt)>. Acesso em: 24 set. 2024.)

### 2.1.2 Ciclo uterino

O ciclo uterino é um processo biológico fundamental no sistema reprodutor feminino, sincronizado com as variações hormonais do ciclo ovariano, e ocorre aproximadamente a cada 28 dias. Este ciclo é dividido em quatro fases principais: menstruação, fase proliferativa, ovulação e fase secretora. A fase menstrual, que marca o início do ciclo, é caracterizada pela descamação do revestimento uterino (endométrio) devido à queda nos níveis de progesterona e estrogênio, resultando na expulsão do tecido endometrial e no reinício de um novo ciclo menstrual. A duração da menstruação geralmente varia de 3 a 7 dias, dependendo do indivíduo.

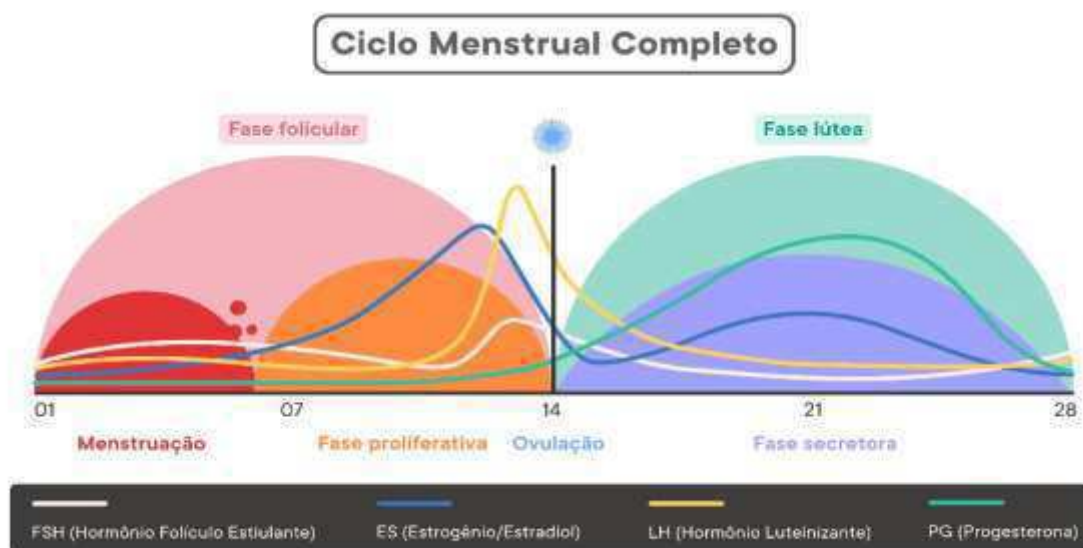
Seguindo a menstruação, a fase proliferativa inicia-se com a regeneração e espessamento do endométrio sob a influência do estrogênio, produzido pelos folículos ovarianos em desenvolvimento. Esta fase é crucial para a preparação do útero para uma possível gravidez, com a regeneração do endométrio e a reconstituição dos vasos sanguíneos levando aproximadamente 9 dias. A ovulação ocorre em torno do 14<sup>o</sup> dia do ciclo, quando um folículo maduro libera um óvulo, um

evento que é precedido por um pico nos níveis de hormônio luteinizante (LH). Este período é o mais fértil do ciclo e é crucial para a concepção.

Após a ovulação, a fase secretora se inicia com a transformação do folículo rompido em corpo lúteo, que secreta progesterona. Este hormônio é essencial para preparar o endométrio para a possível implantação de um embrião, mantendo-o espesso e vascularizado. Caso a fecundação não ocorra, o corpo lúteo degenera, levando a uma queda nos níveis hormonais e ao início de um novo ciclo menstrual. O ciclo uterino, portanto, não apenas regula a liberação de óvulos, mas também prepara o corpo feminino para a gravidez e influencia significativamente a saúde geral da mulher, afetando aspectos como humor e densidade óssea (Baerwald; Adams; Pierson, 2012).

A Figura 3 apresenta uma ilustração detalhada do ciclo uterino, oferecendo uma representação visual das fases e dos processos envolvidos, o que facilita a compreensão das transformações que ocorrem no endométrio ao longo do ciclo e sua relevância para a fertilidade e a saúde reprodutiva feminina.

Figura 3 - Ciclo uterino - Principais mecanismos de síntese de hormônios esteroides.



Fonte: Diagrama do Ciclo Menstrual Completo (2024).

Disponível em: <<https://drafernandamaiastarck.com.br/2023/07/19/descubra-como-o-seu-peso-pode-influenciar-os-sintomas-pre-menstruais/>>. Acesso em: 24 set. 2024.)

### 2.1.3 Fecundação e nidação

A fecundação é um processo fundamental no início da gestação, ocorrendo quando um espermatozoide penetra a membrana externa do óvulo, resultando na formação de uma célula única conhecida como zigoto. Este evento crucial tipicamente acontece cerca de 14 dias após o início do ciclo menstrual, em ciclos de 28 dias. Após a fecundação, o zigoto inicia uma série de divisões celulares e migra pelas trompas de Falópio em direção ao útero. A chegada ao útero e a subsequente implantação no endométrio, processo conhecido como nidação, são essenciais para a continuidade da gravidez. A nidação é vital, pois estabelece a conexão inicial entre o embrião e o organismo materno, permitindo a produção do hormônio gonadotrofina coriônica humana (HCG), que é fundamental para a manutenção da gestação e a prevenção da menstruação.

Com a conclusão da nidação, o embrião, inicialmente uma célula única, passa a se desenvolver e se transforma em um feto após a oitava semana de gestação (Baerwald; Adams; Pierson, 2012). Este processo é marcado por um intenso desenvolvimento das estruturas embrionárias, evoluindo para um ser humano plenamente formado. Durante este período, o ciclo menstrual é interrompido, uma vez que a gravidez estabelece uma nova dinâmica hormonal para sustentar o desenvolvimento do embrião. A parede uterina continua a ser estimulada por hormônios para garantir que permaneça espessa e adequada para a nidação. Simultaneamente, a placenta começa a se formar, estabelecendo uma comunicação vital com o embrião através do cordão umbilical. Este cordão umbilical desempenha um papel crítico ao fornecer oxigênio e nutrientes ao embrião e ao remover dióxido de carbono e outros resíduos metabólicos (Yang; Gilman-Sachs; Kwak-Kim, 2019). A partir da oitava semana, o embrião é denominado feto, e após aproximadamente 40 semanas de gestação, o feto está completamente desenvolvido e pronto para o nascimento.

## 2.2 EFEITOS DOS HORMÔNIOS ANDROGÊNICOS: BENEFÍCIOS E RISCOS

Os hormônios são compostos químicos essenciais que desempenham um papel crítico na regulação e no desenvolvimento do organismo. Dentre eles, os hormônios esteroides se destacam por suas propriedades anabólicas e

androgênicas, que promovem a maturação dos tecidos ósseos e a divisão e desenvolvimento da massa muscular, contribuindo significativamente para o progresso físico e a adaptação do corpo às suas necessidades (Cunha *et al.*, 2017).

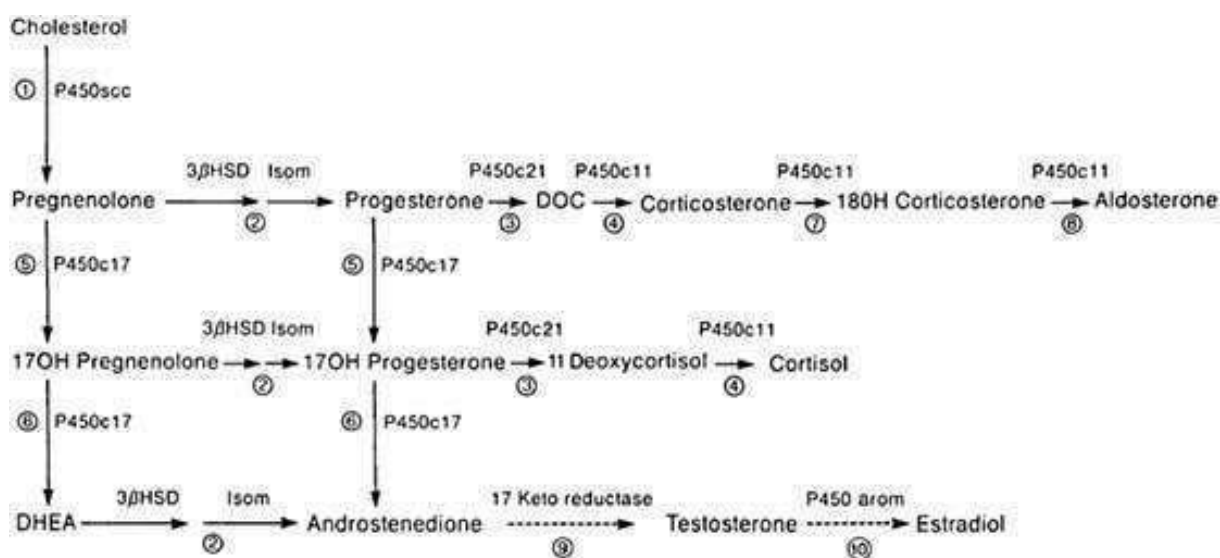
A regulação da produção hormonal é um processo altamente complexo e preciso, essencial para a homeostase e o funcionamento adequado das funções corporais. Ferreira (2013) destaca que a produção de hormônios deve ser meticulosamente controlada para garantir que as células-alvo possam responder de forma eficaz. Este controle é realizado pelo sistema nervoso autônomo, que ajusta a síntese hormonal por meio de um sistema de feedback, conhecido como retroalimentação. Esse processo é mediado por fatores liberadores e inibidores de hormônios, e envolve a regulação da secreção hormonal na adeno-hipófise, bem como controle direto na neuro-hipófise e na medula suprarrenal (Ferreira, 2013).

Para ilustrar a complexidade da regulação hormonal, a Figura 4 mostra o mecanismo de síntese dos hormônios esteroides. Esta figura é um fluxograma detalhado que descreve a esteroidogênese, o processo biológico pelo qual os esteroides são gerados a partir do colesterol. O fluxograma apresenta os principais hormônios esteroides, como pregnenolona, progesterona, 17OH pregnenolona, 17OH progesterona, dehidroepiandrosterona (DHEA), androstenediona, testosterona, estradiol, corticosterona, 18OH corticosterona, aldosterona, DOC (11-deoxicorticosterona) e cortisol, além das enzimas responsáveis pelas reações de síntese, incluindo P450scc (enzima de clivagem da cadeia lateral do colesterol), 3 $\beta$ HSD (3 $\beta$ -hidroxiesteroide desidrogenase), P450c17 (17 $\alpha$ -hidroxilase/17,20-liase) e P450c21 (21-hidroxilase).

Este fluxograma não apenas ilustra as etapas complexas da produção de hormônios esteroides, mas também destaca as interconexões entre diferentes vias hormonais e suas respectivas enzimas. Compreender essas vias é fundamental para estudantes de bioquímica e medicina, pois oferece uma visão abrangente da síntese hormonal e de como esses processos são regulados no organismo. O conhecimento detalhado dessas vias é essencial para o desenvolvimento de intervenções clínicas eficazes e para a promoção de uma saúde equilibrada.

Portanto, a integração do conhecimento sobre a regulação da produção hormonal e a esteroidogênese oferece uma base sólida para a compreensão dos mecanismos hormonais complexos e suas implicações na prática clínica e na ciência da saúde.

Figura 4 - Reações 1, 4, 7 e 8: mitocôndria; Reações 2, 3, 5 e 6: retículo endoplasmático; Reações 9 e 10: Testículo e ovário.



Fonte: Miller (1988).

Os andrógenos, incluindo a testosterona, são hormônios que desempenham papéis essenciais não apenas no desenvolvimento das características sexuais masculinas, mas também na fisiologia feminina. Na mulher, a testosterona é produzida pelos ovários e pelas glândulas adrenais, e sua regulação é crucial para a manutenção da libido, da saúde óssea e da função reprodutiva (Bienenfeld *et al.*, 2019; Montie; Pienta, 1994). No entanto, o uso terapêutico e não terapêutico de esteroides anabolizantes (EAA), derivados sintéticos da testosterona, pode ter efeitos complexos e potencialmente prejudiciais sobre a saúde reprodutiva feminina.

Embora os EAA possam ser indicados para tratar condições como hipogonadismo feminino ou perda de massa muscular associada ao envelhecimento, é fundamental considerar os riscos associados a esses hormônios. O uso inadequado ou excessivo de EAA pode resultar em desregulação do ciclo menstrual e afetar a fertilidade. A administração de esteroides anabolizantes pode interferir na produção dos hormônios sexuais essenciais, como o estrogênio e a progesterona, levando a ciclos menstruais irregulares ou até mesmo à amenorreia (Bienenfeld *et al.*, 2019). Essas alterações hormonais podem comprometer a ovulação e, conseqüentemente, dificultar a concepção, prejudicando a capacidade reprodutiva da mulher.

Além da desregulação menstrual, o uso de EAA pode provocar efeitos

adversos como a masculinização. Este fenômeno inclui alterações visíveis como o crescimento de pelos faciais, a mudança na voz e o aumento do clitóris, conhecido como clitoromegalia (Cussen *et al.*, 2022). Esses efeitos não só alteram a aparência física, mas também podem impactar negativamente a autoimagem e o bem-estar psicológico das mulheres, criando uma tensão adicional na saúde reprodutiva e na autoestima.

Os andrógenos desempenham um papel importante na manutenção da saúde óssea. Embora a terapia com EAA possa inicialmente melhorar a densidade óssea, o uso prolongado pode resultar em mudanças metabólicas que aumentam o risco de osteoporose (Fink; Schoenfeld; Nakazato, 2018). Tais mudanças não apenas comprometem a saúde óssea, mas também podem afetar indiretamente a saúde reprodutiva ao desregular os níveis hormonais e metabólicos no longo prazo.

A administração de EAA também pode levar a complicações cardiovasculares e hepáticas significativas. Estudos mostram que o uso prolongado de esteroides anabolizantes pode induzir hipertrofia ventricular e aterosclerose, elevando o risco de doenças cardíacas (Jones *et al.*, 2018; Lehmann *et al.*, 2019). Além disso, a toxicidade hepática associada ao uso oral de EAA pode afetar a saúde geral, interferindo na função reprodutiva por meio da desregulação metabólica e hormonal (Cunha *et al.*, 2017).

A via de administração dos EAA, seja ela oral, intramuscular ou tópica, também desempenha um papel importante nos efeitos adversos. Os esteroides administrados oralmente têm uma maior tendência a causar toxicidade hepática e problemas metabólicos, enquanto a administração intramuscular pode afetar a função endócrina e cardiovascular (Albano *et al.*, 2021). Mesmo a administração tópica, que é menos invasiva, pode resultar em efeitos sistêmicos que afetam a saúde hormonal e reprodutiva.

Portanto, o uso de andrógenos e esteroides anabolizantes apresenta um balanço complexo entre benefícios e riscos, especialmente quando se trata da saúde reprodutiva feminina. A regulação hormonal e a manutenção da função reprodutiva são aspectos cruciais que devem ser cuidadosamente monitorados durante a administração de EAA. Mulheres que utilizam esteroides anabolizantes devem ser avaliadas e acompanhadas rigorosamente por profissionais de saúde para garantir a segurança e a eficácia do tratamento, minimizando assim os impactos adversos potenciais sobre a saúde reprodutiva.

### 2.2.1 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona

Os esteroides anabolizantes sintéticos derivados da testosterona e da dihidrotestosterona (DHT) são frequentemente utilizados na medicina para tratar condições relacionadas ao déficit hormonal, bem como para otimizar o desempenho físico. Entre os derivados da testosterona, destacam-se o enantato de testosterona, a boldenona, o dianabol e a trembolona; e, da di-hidrotestosterona, a hemogenina, o estanozolol e a oxandrolona. Estes compostos são projetados para aprimorar os efeitos anabólicos enquanto minimizam os efeitos adversos associados às propriedades androgênicas, oferecendo também alternativas em termos de administração (oral e injetável) e variações na taxa de metabolização e eliminação (Castilho *et al.*, 2022).

O 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona é um éster sintético, derivado do cipionato de testosterona e solúvel em óleo, disponível sob marcas como Depo-Testosterone®. Este medicamento androgênico e esteroide anabolizante é utilizado predominantemente para tratar baixos níveis de testosterona em homens, com a vantagem de uma liberação mais lenta após a injeção e uma meia-vida prolongada (Llewellyn, 2011; Nieschlag; Behre; Nieschlag, 2012). Desenvolvido pela Pharmacia e Upjohn e aprovado pela FDA em 1979, o 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona é também utilizado em terapia hormonal para homens trans (Costa *et al.*, 2018; Irwig, 2017). Sua administração ocorre por injeção intramuscular ou subcutânea, com frequência variando entre uma e quatro semanas, conforme a indicação clínica (Costa *et al.*, 2018; Irwig, 2017; Llewellyn, 2011; Nieschlag; Behre; Nieschlag, 2012).

Para a saúde reprodutiva feminina, é crucial considerar o impacto dos esteroides anabolizantes sintéticos, como o 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato, que pode influenciar de maneira significativa o equilíbrio hormonal e o funcionamento reprodutivo. Entre os efeitos colaterais associados a este esteroide, observam-se sintomas de masculinização, como acne, aumento da pilosidade, alterações na voz e incremento do desejo sexual (Llewellyn, 2011). Estes efeitos podem ter implicações adversas para a saúde reprodutiva feminina, uma vez que o desequilíbrio hormonal pode afetar a ovulação, o ciclo menstrual e a fertilidade.

O 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato atua como um agonista do receptor de andrógeno (AR), o que o torna um alvo para andrógenos como a testosterona e a DHT (Kicman, 2008; Llewellyn, 2011). A substância possui fortes efeitos androgênicos e efeitos

anabólicos moderados, sendo útil na promoção da masculinização e na terapia de reposição androgênica (Llewellyn, 2011). Para as mulheres, o uso desses compostos pode levar a um quadro de hiperandrogenismo, com potenciais consequências para a saúde reprodutiva, como disfunções ovarianas e alterações na estrutura uterina (Santoro *et al.*, 2016).

Juntamente com o enantato de testosterona, o undecanoato de testosterona e o propionato de testosterona, o 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato é um dos ésteres de testosterona mais comumente utilizados (Kicman, 2008; Llewellyn, 2011). Embora seja utilizado para otimizar o desempenho físico e em contextos médicos, o uso não regulamentado destes esteroides é frequentemente ilícito e pode resultar em complicações de saúde, incluindo efeitos adversos na saúde reprodutiva feminina (Llewellyn, 2011).

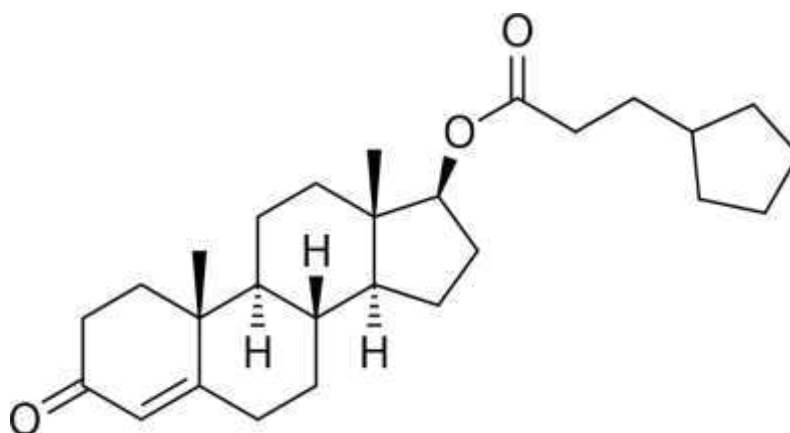
Atualmente, o 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato é aprovado pela FDA para tratar hipogonadismo primário ou hipogonadotrófico, com sua eficácia na andropausa ainda não completamente estabelecida (Pfizer, 2018). Além de suas indicações médicas, é utilizado off-label para condições como câncer de mama, distúrbios mamários, puberdade atrasada em meninos, oligospermia e terapia de reposição hormonal em homens transgêneros (Hembree *et al.*, 2017; Pfizer, 2018). No entanto, a segurança e os efeitos colaterais desse esteroide, como virilização, aumento da próstata e problemas hepáticos, podem ter implicações adversas para a saúde reprodutiva feminina (Llewellyn, 2011; Pfizer, 2018).

A farmacocinética do 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato, administrado por injeção intramuscular, apresenta uma meia-vida de eliminação e duração de ação comparáveis às do enantato de testosterona, o que torna ambos os medicamentos "funcionalmente intercambiáveis" (Llewellyn, 2011). Com uma meia-vida de eliminação de 4,5 dias e um tempo médio de residência de 8,5 dias, o enantato de testosterona requer administração frequente e resulta em flutuações significativas nos níveis de testosterona (Payne; Hardy, 2007). A farmacocinética do 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato tem sido estudada e comparada (Nankin, 1987). A Figura 5 ilustra a estrutura química do 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona, evidenciando sua relevância para a discussão sobre a saúde reprodutiva feminina.

Ademais, a compreensão dos efeitos dos esteroides anabolizantes sintéticos, como o 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona, é essencial para a gestão adequada de terapias hormonais e para a avaliação dos impactos sobre a saúde

reprodutiva feminina. Embora esses compostos sejam amplamente utilizados para tratar condições como o hipogonadismo e para melhorar o desempenho físico, sua influência sobre o equilíbrio hormonal feminino e as potenciais consequências adversas para a fertilidade e a função reprodutiva são preocupações significativas. O 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato, em particular, destaca-se por sua farmacocinética que se assemelha ao enantato de testosterona, proporcionando uma liberação prolongada, mas também carrega o risco de efeitos colaterais androgênicos que podem afetar negativamente a saúde reprodutiva das mulheres. A necessidade de monitoramento rigoroso e de estratégias terapêuticas personalizadas é crucial para mitigar os riscos e garantir a segurança das pacientes. Portanto, uma abordagem equilibrada e informada é imperativa para integrar a terapia com esteroides anabolizantes na prática clínica, assegurando que os benefícios médicos sejam maximizados enquanto os efeitos adversos sejam minimizados, especialmente no contexto da saúde reprodutiva feminina.

Figura 5 – Estrutura química do 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona.



Fonte: Shoskes; Wilson; Spinner (2016).

O número de átomos de carbono no éster da testosterona está diretamente relacionado à sua meia-vida, influenciando sua eficácia e duração de ação clínica. No contexto da saúde reprodutiva feminina, a testosterona exerce efeitos significativos ao inibir a secreção de gonadotropinas pela glândula pituitária e reduzir a produção endógena de estrogênio pelos ovários. A diminuição dos níveis de estrogênio endógeno interfere no ciclo menstrual e pode afetar a função ovariana, contribuindo para condições de hipogonadismo ou disfunção ovariana. Este efeito é

particularmente relevante em contextos terapêuticos onde a testosterona é usada para tratar distúrbios hormonais ou promover características sexuais masculinas em terapias hormonais, como na terapia de reposição para homens hipogonádicos (Shoskes; Wilson; Spinner, 2016).

No organismo feminino, a testosterona atua através de dois mecanismos principais: a ativação direta do receptor androgênico e a conversão em 5- $\alpha$ -dihidrotestosterona (DHT). A testosterona livre (T) é transportada para o citoplasma das células-alvo, onde pode se ligar ao receptor androgênico ou ser convertida em DHT pela enzima 5- $\alpha$ -redutase. A DHT, com sua afinidade elevada pelo receptor androgênico, possui uma potência androgênica aproximadamente 2,5 vezes superior à da testosterona, intensificando os efeitos androgênicos. No útero e nos ovários, essa interação pode influenciar a expressão de genes relacionados ao desenvolvimento e à função sexual, levando a alterações nas características sexuais secundárias e potenciais distúrbios hormonais (Hoberman; Yesalis, 1995; Sampaio; Medrado; Lyra, 2021).

O cipionato de testosterona, um esteróide anabolizante esterificado, possui uma solubilidade em lipídios que permite uma liberação e absorção mais gradual. Após administração intramuscular, os níveis plasmáticos de cipionato de testosterona atingem picos de aproximadamente 1122 ng/dL entre 4 e 5 dias, com uma redução subsequente para cerca de 400 ng/dL (Shoskes; Wilson; Spinner, 2016). A excreção do cipionato de testosterona ocorre principalmente na urina, como conjugados de ácido glicurônico e sulfúrico, com uma menor quantidade excretada nas fezes (Pfizer, 2018).

Estudos pré-clínicos revelaram que implantes de testosterona podem induzir tumores cervicais em modelos animais, com potencial para metástases. Em mulheres, o uso de cipionato de testosterona tem sido associado ao aumento da suscetibilidade ao hepatoma, com relatos de carcinoma hepatocelular em tratamentos prolongados e de alta dose (Acunã, 2019; Chen; Ji; Chen, 2002). Esses achados ressaltam a necessidade de monitoramento rigoroso na aplicação clínica de testosterona, especialmente em contextos relacionados à saúde reprodutiva feminina, onde alterações hormonais e o risco de efeitos adversos devem ser cuidadosamente avaliados para evitar impactos negativos na função ovariana e no útero.

### **2.2.2 Uso terapêutico de esteroides anabolizantes androgênicos: Análise da intervenção e avaliação do risco-benefício**

A utilização terapêutica dos esteroides anabolizantes androgênicos (EAA), como o cipionato de testosterona e o enantato de testosterona, é destinada a tratar deficiências hormonais e promover o aumento da massa muscular em pacientes com condições médicas específicas. No entanto, quando esses agentes são utilizados de forma inadequada ou abusiva, podem apresentar efeitos adversos significativos sobre a saúde reprodutiva feminina, afetando os ovários e o útero. A testosterona tem a capacidade de inibir a secreção de gonadotropinas pela glândula pituitária, o que resulta na redução da produção de estrogênio pelos ovários. Essa diminuição dos níveis de estrogênio endógeno pode causar alterações no ciclo menstrual, afetar a fertilidade e impactar a saúde do útero (Shoskes; Wilson; Spinner, 2016).

Os efeitos da testosterona e de seus derivados na fisiologia humana ocorrem por meio da ativação dos receptores androgênicos, direta ou indiretamente via 5- $\alpha$ -diidrotestosterona (DHT), e pela conversão em estradiol, que pode ativar receptores estrogênicos específicos. A testosterona livre é transportada para o citoplasma das células alvo, onde pode se ligar ao receptor androgênico ou ser convertida em DHT pela enzima 5- $\alpha$ -redutase. DHT se liga ao receptor androgênico com uma afinidade aproximadamente 2,5 vezes maior do que a testosterona, resultando em efeitos androgênicos mais pronunciados. O complexo receptor-andrógeno se desloca para o núcleo celular, ligando-se a elementos de resposta hormonal (HREs) no DNA, o que influencia a expressão gênica e os efeitos fisiológicos androgênicos (Hoberman; Yesalis, 1995; Sampaio; Medrado; Lyra, 2021).

Os esteroides anabolizantes, como o cipionato de testosterona, são projetados para apresentar uma liberação prolongada e sustentada. A administração intramuscular de cipionato resulta em uma absorção lenta e níveis plasmáticos que alcançam picos em 4-5 dias após a injeção, com uma redução gradual subsequente (Shoskes; Wilson; Spinner, 2016). Aproximadamente 90% da testosterona administrada é excretada na urina como conjugados de ácido glicurônico e sulfúrico, enquanto cerca de 6% é eliminada nas fezes, predominantemente na forma não conjugada (Pfizer, 2018).

O uso indiscriminado de esteroides anabolizantes é frequentemente

impulsionado pela busca por um corpo idealizado, desempenho atlético elevado e manutenção de uma aparência física atraente (Bates *et al.*, 2019; Castilho *et al.*, 2022; Hoffman; Ratamess, 2006). A produção ilícita e a falta de regulamentação desses produtos contribuem para a sua ampla disponibilidade, muitas vezes com qualidade comprometida devido à fabricação em condições inadequadas e à presença de contaminantes. A automedicação e o uso excessivo de dosagens, que podem ser de 10 a 100 vezes superiores às doses terapêuticas, exacerbam os riscos associados ao uso de esteroides (Diniz; Muniz, 2020).

Os efeitos adversos do abuso de esteroides anabolizantes podem ser graves e abrangem diversos sistemas orgânicos, incluindo o sistema reprodutivo. Entre os efeitos colaterais mais críticos estão câncer de fígado, aumento do colesterol LDL, diminuição do colesterol HDL, infertilidade, ginecomastia e alterações cardiovasculares (Cunha *et al.*, 2017). Alterações laboratoriais comuns incluem aumento das transaminases hepáticas, piora do perfil lipídico e diminuição da secreção de hormônios gonadotróficos, refletindo a disfunção endócrina provocada pelo uso abusivo (Castilho *et al.*, 2022).

A crescente prevalência do uso excessivo de esteroides anabolizantes e os potenciais riscos associados ressaltam a necessidade de uma investigação mais profunda sobre os impactos desses agentes na saúde reprodutiva feminina. Apesar das evidências acumuladas, ainda são necessárias pesquisas adicionais, incluindo estudos com modelos animais, para entender completamente as implicações da exposição a EAA sobre o comportamento sexual, a libido e a função ovariana e uterina (Bates *et al.*, 2019; Socas *et al.*, 2005). Esses estudos são essenciais para desenvolver estratégias de manejo eficazes e diretrizes clínicas que garantam a proteção da saúde reprodutiva das mulheres enquanto se busca um equilíbrio entre os benefícios terapêuticos e os riscos associados ao uso de esteroides anabolizantes.

### 3 MÉTODOS

Para a execução deste estudo, foram selecionadas fêmeas da linhagem C57BL/6 com 12 semanas de idade. Os animais foram alojados em condições experimentais altamente controladas, garantindo um ambiente que segue rigorosamente os parâmetros estabelecidos para a realização de pesquisas científicas de alta qualidade. A temperatura do ambiente foi mantida a  $21 \pm 2$  °C, com umidade relativa controlada entre 60 e 70%, e o fotoperíodo foi ajustado para ciclos diários de 12 horas de luz e 12 horas de escuridão, conforme recomendado por Gonçalves *et al.*, (2019). A dieta fornecida consistiu em alimentos padrão para roedores, disponível ad libitum, e a água foi oferecida continuamente para assegurar condições nutricionais e hidratação adequadas.

A caracterização do ciclo estral das fêmeas foi conduzida com precisão por meio da coleta diária de esfregaços vaginais ao longo de três ciclos estrais consecutivos. A identificação dos estágios do ciclo estral — proestro, estro, metaestro e diestro — foi realizada com base na análise microscópica dos esfregaços, conforme a metodologia estabelecida por Goldman *et al.*, (2007). Os critérios de classificação foram os seguintes: diestro caracterizado pela predominância de leucócitos e presença esporádica de células epiteliais cornificadas; proestro identificado pela presença predominante de células epiteliais redondas e polinucleadas; estro evidenciado pela predominância de células epiteliais cornificadas; e metaestro com alta concentração de células cornificadas associadas a infiltração de leucócitos.

A seleção dos animais foi criteriosa, abrangendo apenas fêmeas virgens que demonstraram ciclos estrais regulares e bem definidos. Esse rigor na seleção é fundamental para assegurar a homogeneidade da amostra e minimizar variáveis que possam influenciar a integridade dos dados experimentais. A aplicação meticulosa desses protocolos de controle garante a precisão e a confiabilidade dos resultados obtidos, estabelecendo uma base sólida para a interpretação dos dados e a formulação de conclusões científicas robustas.

### 3.1 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Os animais foram alocados aleatoriamente em quatro grupos experimentais, cada um composto por 10 fêmeas, para avaliar os efeitos do 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona (TC). O delineamento experimental incluiu um grupo controle não tratado (GC) e três grupos tratados com diferentes dosagens de TC: TC1, administrado com 5 mg/kg; TC2, com 10 mg/kg; e TC3, com 20 mg/kg de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona. Estas dosagens foram previamente estabelecidas como eficazes na indução de distúrbios metabólicos, pancreáticos, adiposos e musculares em modelos murinos, conforme demonstrado por Gonçalves *et al.*, (2019). O composto 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona (Deposteron, EMS, Hortolândia, SP, Brasil) foi administrado por via intraperitoneal a cada 48 horas durante um período total de 12 semanas.

Após a última administração do TC, os animais foram anestesiados com tribromoetanol a uma dose de 250 mg/kg por via intraperitoneal e subsequentemente sacrificados por punção cardíaca. O sangue coletado foi centrifugado a 3000  $\times$  g por 10 minutos a 4 °C para obter o plasma. Os ovários e útero foram então dissecados e pesados para avaliação posterior.

Este estudo foi conduzido com a devida aprovação do Comitê Institucional de Ética em Pesquisa Animal, conforme o Protocolo nº 579/2014. O rigor metodológico e o controle experimental rigoroso garantem a validade dos resultados e a conformidade com os padrões éticos estabelecidos para a pesquisa com animais.

### 3.2 AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL

No teste de campo aberto, a avaliação da atividade exploratória e da resposta ansiosa dos animais foi conduzida com rigor metodológico, 12 horas após a administração da última dose do tratamento, utilizando um aparato padronizado com dimensões de 72  $\times$  54  $\times$  35 cm, revestido com papel de filtro branco para garantir a neutralidade do ambiente. Esse design experimental, conforme estabelecido por Bronson *et al.*, (1996a), proporciona uma plataforma controlada para a observação do comportamento dos camundongos em um espaço desconhecido, essencial para isolar os efeitos específicos dos tratamentos administrados.

O aparato foi meticulosamente marcado com uma grade de quadrículas de 3

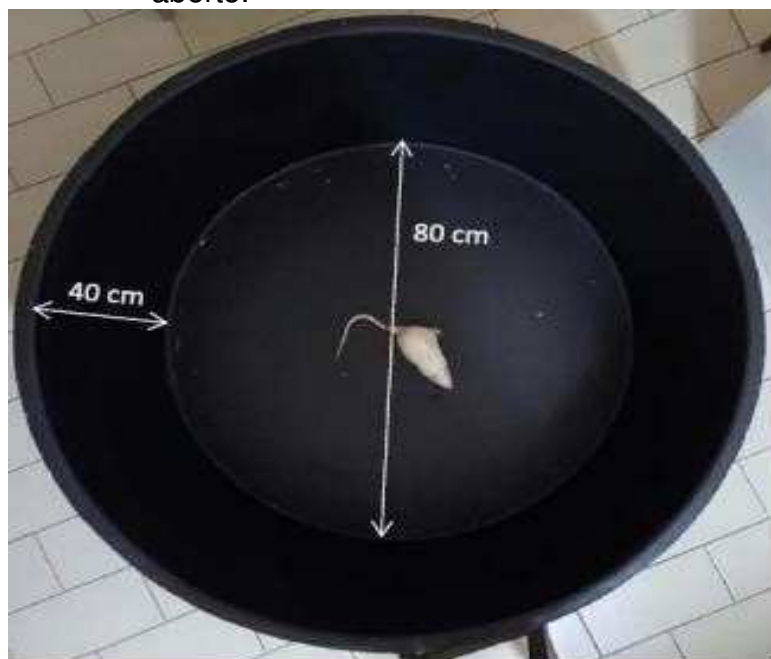
× 4 cm, permitindo a quantificação precisa da exploração espacial dos animais. A colocação dos camundongos no centro do aparato e a subsequente contagem dos cruzamentos de linha em um intervalo de 4 minutos fornecem uma medida direta da atividade exploratória, um indicador crítico da curiosidade e do comportamento investigativo dos animais. Essa abordagem permite diferenciar entre comportamentos exploratórios ativos e reações de ansiedade.

A separação dos registros das entradas nas duas praças centrais e nas 10 praças periféricas oferece uma análise detalhada da distribuição do tempo dos animais entre as áreas mais expostas e as menos expostas, refletindo seu nível de ansiedade. Adicionalmente, o monitoramento dos bolos fecais e das poças de urina serve como uma medida objetiva da ansiedade, considerando que a defecação e a micção são respostas fisiológicas frequentemente associadas ao estresse e à ansiedade.

Para garantir a integridade dos dados e minimizar a possibilidade de contaminação cruzada, o revestimento de papel de filtro foi substituído entre os testes, e todos os testes foram realizados exclusivamente com camundongos em metaestro ou diestro. Essa abordagem assegura que as variações hormonais relacionadas a outras fases do ciclo estral não interfiram nos resultados experimentais.

A Figura 6 fornece uma ilustração detalhada do aparato utilizado, facilitando a compreensão visual do teste e reforçando a robustez do design experimental adotado. Essa metodologia rigorosa e bem controlada é crucial para obter dados confiáveis e interpretar de forma precisa os efeitos dos tratamentos sobre os comportamentos exploratórios e ansiosos dos camundongos.

Figura 6 - Representação esquemática do teste de campo aberto.



Fonte: Laboratório de Neurofisiologia da UFS.

A avaliação da agressividade e da resposta sexual foi realizada utilizando um protocolo rigorosamente estabelecido, com base no desenho experimental descrito por Bronson *et al.*, (1996). Neste estudo, foram utilizadas trinta fêmeas de camundongo, que foram pareadas com indivíduos dos grupos experimentais 24 horas após a administração do tratamento final. As combinações experimentais incluíram o grupo controle versus os grupos tratados com 5 mg/kg (TC1), 10 mg/kg (TC2) e 20 mg/kg (TC3) de  $17\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona. Cada animal foi testado em uma única ocasião para garantir a precisão e a confiabilidade dos dados obtidos.

Para a avaliação da agressividade, os camundongos foram colocados em uma gaiola dividida por uma barreira sólida de 38 × 29 × 16 cm, com um camundongo de cada grupo posicionado de cada lado da barreira. Após um período de aclimação de 4 horas, a barreira foi removida, permitindo a interação entre os animais por 10 minutos. Durante esse período, foram monitorados comportamentos indicativos de agressividade, incluindo o movimento da cauda, um marcador clássico de ataque iminente, e quaisquer episódios de luta foram registrados. Para avaliar a resposta sexual, foram observadas e registradas a frequência de investigações anogenitais e a quantidade de montas realizadas pelos camundongos, conforme os

métodos descritos por Barreto-Estrada, Parilla-Carrero e Jorge (2007). As fêmeas do grupo controle foram testadas exclusivamente durante os estágios de metaestro ou diestro, enquanto as fêmeas tratadas com TC seguiram um cronograma experimental similar.

A sensibilidade nociceptiva foi avaliada por meio de dois testes distintos, o de filamento de von Frey e o Tail-Flick, empregando metodologias estabelecidas e validadas para a quantificação da resposta nociceptiva. No teste Tail-Flick, os camundongos foram aclimatados na sala experimental por 1 hora antes da aplicação de uma fonte de calor radiante (Panlab, LE7106, MA, EUA), posicionada a 5 cm da extremidade distal da cauda. Os animais foram contidos em um aparato cilíndrico de polipropileno perfurado, e a latência de retirada da cauda foi registrada quando o animal respondeu ao calor. Foram realizadas três medições de latência por animal, com intervalos de 5 minutos entre cada medição, e um tempo máximo de corte de 10 segundos foi utilizado para prevenir danos térmicos.

No teste de filamento de von Frey, os camundongos foram posicionados em compartimentos de vidro individuais sobre uma plataforma elevada de malha de arame, 36 horas após o tratamento final. Após um período de aclimatação de 30 minutos, estímulos mecânicos foram aplicados na superfície plantar utilizando filamentos de von Frey com forças de flexão crescentes. Cada estímulo foi aplicado por aproximadamente 2 a 3 segundos, com intervalos de 5 minutos entre as aplicações subsequentes. O limiar médio de retirada da pata (PWT) foi calculado a partir de três medições realizadas em intervalos de 5 minutos, refletindo a resposta nociceptiva dos camundongos, conforme descrito por Kaliappan, Simone e Banik (2018) e Bannon e Malmberg (2007).

### 3.3 AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DE HORMÔNIOS SEXUAIS: MÉTODOS E APLICAÇÕES EXPERIMENTAIS

A quantificação dos hormônios sexuais estrogênio, progesterona e testosterona foi realizada utilizando ensaios imunoenzimáticos (ELISA), uma técnica amplamente reconhecida por sua precisão e especificidade na medição de níveis hormonais em amostras biológicas. O estrogênio foi analisado empregando um kit colorimétrico de 96 poços, conforme as orientações do fabricante (Abcam, Cambridge, Reino Unido). Este kit permite uma faixa de detecção de 20 pg/ml a

2.000 pg/ml e possui uma sensibilidade de 8,68 pg/ml, garantindo a capacidade de quantificar estrogênio com alta precisão em uma ampla gama de concentrações. A escolha deste kit foi baseada em sua comprovada eficácia na detecção de estrogênio em estudos similares, assegurando a confiabilidade dos dados obtidos.

A progesterona foi quantificada utilizando um kit colorimétrico de 96 poços, seguindo as instruções do fabricante (Novus Biologicals, Centennial, CO, EUA). Este método oferece uma faixa de detecção de 0,3 ng/ml a 10 ng/ml e uma sensibilidade de 0,2 ng/ml. A precisão do kit para detectar níveis de progesterona é crucial para a análise dos efeitos hormonais, especialmente em contextos experimentais onde a variação hormonal deve ser monitorada de forma rigorosa. Para a quantificação da testosterona, foi utilizado um kit colorimétrico de 96 poços de acordo com as diretrizes do fabricante (Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, EUA). Este kit apresenta uma faixa de detecção de 3,9 pg/ml a 500,0 pg/ml e uma sensibilidade de 6,0 pg/ml. A precisão deste ensaio é fundamental para avaliar os níveis de testosterona e suas implicações biológicas.

Todos os kits empregados foram submetidos a rigorosos controles de qualidade para garantir a ausência de interferências e reatividade cruzada com outros esteroides, com uma taxa de reatividade cruzada inferior a 0,004%. Para a avaliação do índice de aromatização (AI), foi calculado conforme a fórmula  $AI = \text{níveis de estrogênio} / \text{níveis de testosterona}$ , conforme descrito por Penatti, Porter e Henderson (2009). O índice de aromatização é uma métrica essencial para entender as relações hormonais e suas possíveis alterações, fornecendo insights valiosos sobre o equilíbrio hormonal e suas variações. A utilização destes métodos analíticos avançados e a escolha criteriosa dos kits ELISA asseguram a obtenção de dados altamente confiáveis e relevantes, imprescindíveis para a interpretação precisa dos resultados e para o avanço do conhecimento na endocrinologia. A integridade metodológica e a precisão analítica são fundamentais para a robustez dos achados e para a fundamentação das conclusões científicas apresentadas nesta pesquisa.

#### 3.4 ANÁLISE DA EXPRESSÃO GÊNICA POR MEIO DE ENSAIOS MOLECULARMENTE ESPECÍFICOS

A expressão gênica das proteínas Homeobox abdominal B10 (HOXA-10), Fator Inibidor de Leucemia (LIF), Receptor Alfa de Estrogênio (ER- $\alpha$ ) e Receptor de

Progesterona (PR) foi avaliada em amostras de útero, enquanto a expressão do Citocromo P450 Família 19 Subfamília A Membro 1 (CYP19a1) foi examinada em amostras de ovário. A seleção do gene ribossômico L19 (RPL19) como gene de referência para normalização foi feita com base nas recomendações estabelecidas por Lorenz *et al.*, (2020).

Para a extração de RNA, as amostras uterinas foram individualmente homogeneizadas em reagente TRIzol, seguindo rigorosamente as orientações do fabricante (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA). A extração do RNA total foi realizada conforme os protocolos recomendados. A avaliação da expressão dos genes-alvo foi conduzida através de PCR quantitativo em tempo real (qRT-PCR), de acordo com os métodos descritos por Lorenz *et al.*, (2020). O cDNA foi sintetizado utilizando um kit comercial de transcrição reversa (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, EUA) e seguindo as instruções fornecidas pelo fabricante.

Os primers empregados na amplificação dos genes-alvo foram previamente validados (Kipp *et al.*, 2007; Lorenz *et al.*, 2020) e estão detalhados na Tabela 1. A reação de qPCR foi realizada utilizando o SYBR Green PCR Mastermix (Applied Biosystems, Carlsbad, CA, EUA), em conformidade com as instruções do fabricante. A quantificação relativa da expressão de mRNA foi determinada pelo método  $\Delta\Delta C_t$ , no qual  $\Delta\Delta C_t = \Delta C_t$  do gene-alvo -  $\Delta C_t$  do gene de referência GAPDH. O valor de  $\Delta C_t$  foi calculado como a diferença entre o Ct do grupo de interesse e o Ct do grupo de controle. A quantidade relativa (RQ) foi então calculada utilizando a fórmula  $RQ = (1 + E)^{-\Delta\Delta C_t}$ , onde E representa a eficiência da amplificação. Os resultados obtidos para cada gene-alvo foram expressos em termos de expressão dobrada em relação aos valores de controle, sendo que a normalização dos genes-alvo foi realizada com base na expressão do gene de referência e comparada com a expressão do gene-alvo em amostras de controle (Lorenz *et al.*, 2020).

Essa abordagem metodológica permite uma quantificação precisa e robusta da expressão gênica, essencial para a análise detalhada dos perfis de expressão dos genes estudados em contextos fisiológicos e patológicos relevantes. Nesse sentido, a Tabela 1 é de extrema relevância para a presente pesquisa, pois detalha os primers utilizados na amplificação dos genes Homeobox abdominal B10 (HOXA-10), Fator Inibidor de Leucemia (LIF), Receptor Alfa de Estrogênio (ER- $\alpha$ ), Receptor de Progesterona (PR) e Citocromo P450 Família 19 Subfamília A Membro 1 (CYP19a1) por meio de PCR quantitativo em tempo real (qPCR). Cada primer,

conforme especificado na tabela, foi rigorosamente validado e escolhido para garantir a precisão e especificidade das reações, assegurando a obtenção de dados robustos e reprodutíveis. A inclusão do gene ribossômico L19 (RPL19) como gene de referência para a normalização dos resultados, conforme as diretrizes estabelecidas por Lorenz *et al.*, (2020), é fundamental para a quantificação relativa da expressão gênica. A tabela, portanto, não apenas proporciona os detalhes técnicos necessários para a realização da qPCR, mas também é crucial para assegurar a confiabilidade e a acuracidade dos resultados obtidos, permitindo uma análise comparativa eficaz entre as amostras experimentais e os controles.

Tabela 1 - Primers utilizados na reação em cadeia da polimerase quantitativa\*.

Genes alvo	PCR primers	Tamanho dos produtos (bp)
Forward HOXA-10 <sup>a</sup>	5'-GAAAACAGTAAAGCCTCTCC-3'	148
Reverse	5'-ATAGAAACTCCTTCTCCAGC-3'	
Forward ER- $\alpha$ <sup>b</sup>	5'-ACCATTGACAAGAACCGGAG-3'	170
Reverse	5'-CCTGAAGCACCCATTTTCATT-3'	
Forward LIF <sup>a</sup>	5'-AGAGTCAACTGGCTCAACTC-3'	95
Reverse	5'-CTTATCCACGTTGTTGGGAA-3'	
Forward PGR <sup>a</sup>	5'-GACCAGTCTCAACCAACTAGGC-3'	137
Reverse	5'-ACACCATCAGGCTCATCCAG-3'	
Forward CYP19A1 <sup>c</sup>	5'-ATGTTCTTGGAATGCTGAACCC-3'	150
Reverse	5'-AGGACCTGGTATTGAAGACGAG-3'	
Forward RPL19 <sup>a</sup>	5'-AGCCTGTGACTGTCCATTCC-3'	99
Reverse	5'-TGGCAGTACCCTTCCTCTTC-3'	

Fonte: Do autor.

Nota: \* Todos os primers foram validados em estudos anteriores: a: Food Chem Toxicol. 2020;143:111560. b: J Biol Chem. 2007;282(50):36755-65. c: Reprod Fertil Dev. 2018;30(9):1225-1233.

### 3.5 AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DA ATIVIDADE DA AROMATASE: MÉTODOS E PROCEDIMENTOS

A avaliação da atividade da aromatase (CYP19A) em amostras de ovário foi conduzida utilizando um ensaio comercial de 96 poços, seguindo rigorosamente as diretrizes do fabricante (Abcam, Cambridge, Reino Unido). Este método de

quantificação é de vital importância, pois permite a medição precisa da atividade enzimática da aromatase, uma enzima crucial no metabolismo de esteroides e na regulação hormonal. A atividade enzimática foi detectada através de espectroscopia de fluorescência com uma configuração de excitação a 488 nm e emissão a 527 nm, empregando o equipamento Varioskan Flash (Thermo Scientific, EUA). A utilização desse método garantiu a obtenção de dados robustos e confiáveis, expressos em unidades relativas de fluorescência (RFU) por minuto. Este procedimento não apenas assegura a sensibilidade e a precisão na quantificação da atividade da aromatase, mas também reforça a importância da metodologia empregada na análise detalhada das funções bioquímicas em amostras biológicas. Dessa forma, o estudo contribui significativamente para a compreensão dos mecanismos endócrinos e metabólicos associados à aromatase e suas implicações fisiológicas.

### 3.6 ABORDAGENS E PROTOCOLOS PARA PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO

Para garantir a precisão e a integridade da análise histológica dos tecidos do ovário esquerdo, oviduto e útero, empregou-se um rigoroso protocolo de processamento. Inicialmente, os tecidos foram imersos em formaldeído 10% p/v, preparado recentemente em tampão fosfato 0,1 M (pH 7,2), por 48 horas à temperatura ambiente, seguindo as diretrizes estabelecidas por Novaes *et al.* (2018). Este método de fixação é crucial para preservar a estrutura e a integridade celular, assegurando que os detalhes morfológicos dos tecidos sejam mantidos para análise subsequente. Após a fixação, as amostras foram desidratadas utilizando uma série de soluções de etanol e embebidas em metacrilato de 2-hidroxietila, conforme as recomendações da Leica Biosystems (Wetzlar, Alemanha), um procedimento que facilita a obtenção de cortes histológicos finos e de alta qualidade.

Os cortes semi-seriados, com espessura de 3  $\mu\text{m}$ , foram meticulosamente preparados, com duas lâminas contendo seis cortes cada para cada animal, e selecionados com um intervalo de 200 seções para evitar a repetição da análise na mesma área histológica. Esse intervalo foi escolhido com base no diâmetro médio de um folículo maduro pré-ovulatório de camundongo, que é de aproximadamente 424 micrômetros (Griffin *et al.*, 2006), garantindo assim a representatividade das amostras analisadas. A coloração dos cortes com azul de toluidina e fucsina básica seguiu os procedimentos descritos por Novaes *et al.*, (2018), permitindo a

visualização detalhada das estruturas celulares e teciduais. As preparações permanentes foram montadas com Entellan (Merk, Darmstadt, Alemanha), e as imagens digitais foram capturadas utilizando um microscópio de campo claro (AxionVision A1, Carl Zeiss, Alemanha) (Novaes *et al.*, 2018).

A análise das imagens histológicas, totalizando 432 imagens para cada grupo, foi realizada de forma sistemática e aleatória, utilizando uma lente objetiva de  $\times 20$  (ampliação  $\times 200$ ), o que possibilitou uma avaliação abrangente e precisa das amostras. A abordagem metodológica adotada não apenas assegura a obtenção de dados histológicos confiáveis, mas também contribui para a robustez e a validade dos resultados obtidos, sendo fundamental para a interpretação das características teciduais e morfológicas investigadas.

### 3.7 AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DO OVÁRIO, OVIDUTO E ÚTERO: METODOLOGIAS E PROTOCOLOS

A análise histopatológica dos tecidos ovarianos, ovidutais e uterinos foi conduzida com rigor metodológico, utilizando protocolos e metodologias bem estabelecidos para garantir a precisão e a relevância dos resultados. Para o ovário, a avaliação histopatológica seguiu as diretrizes descritas por Scudamore *et al.*, (2014), considerando aspectos morfológicos clássicos, tais como: (i) a proporção entre estroma e parênquima, (ii) a celularidade intersticial e o grau de infiltração inflamatória, (iii) a presença de hipertrofia ou hipotrofia celular, e (iv) a dilatação ou colapso dos vasos sanguíneos. A análise das pregas mucosas do oviduto incluiu a observação do tamanho e da ramificação dessas estruturas, enquanto no útero, foram investigadas as condições do endométrio e do miométrio, com foco em hipertrofia ou hipotrofia.

A análise histopatológica foi realizada por um patologista cego em relação aos grupos experimentais, assegurando a imparcialidade dos resultados. Os achados foram descritos qualitativamente para cada órgão. Dada a complexidade microestrutural do ovário e suas implicações na dinâmica folicular, foi adicionalmente utilizado um escore histopatológico geral para uma avaliação mais abrangente. Este escore, baseado em um método semiquantitativo, emprega um sistema de diagrama de campo estratificado em quatro níveis: (-) sem dano ou normal, (- - +) leve, (+ +) danos moderados e (+ + +) graves, conforme descrito por Felizardo *et al.* (2018).

Para assegurar a validade das observações, órgãos de animais controle não tratados foram utilizados como referência para a normalidade microestrutural. Esse rigor na abordagem metodológica e na interpretação dos dados fortalece a robustez dos resultados obtidos, proporcionando uma análise detalhada e confiável dos tecidos estudados.

### 3.8 CARACTERIZAÇÃO MICROESTRUTURAL DO OVÁRIO, OVIDUTO E ÚTERO

A análise microestrutural dos tecidos ovarianos, ovidutais e uterinos foi conduzida com rigor metodológico, empregando protocolos e abordagens altamente detalhados para garantir a precisão e a robustez dos resultados obtidos. A avaliação do número e da proporção de folículos ovarianos não atresícos, identificados pela ausência de núcleos picnóticos, foi realizada através de uma contagem diferencial dos estágios foliculares. Essa contagem foi normalizada pela área ovariana, e os folículos foram quantificados em seis áreas transversais dos ovários de cada animal. Para a medição da área histológica, foi utilizada planimetria computacional, empregando o software de análise de imagens Image Pro-Plus 4.5® (Media Cybernetics, Silver Spring, EUA) (Santos *et al.*, 2018). A classificação dos subtipos foliculares seguiu um sistema modificado baseado nas descrições de Pedersen e Peters (1968) e Meng *et al.* (2021), incluindo: (i) Folículo primordial (PF), (ii) Folículo primário unilaminar (UPF), (iii) Folículo primário multilaminar (MPF), (iv) Folículo pré-antral (PAF), (v) Folículo antral (AF) e (vi) Folículo atresíco (AT). A análise microestrutural dos folículos no córtex ovariano incluiu a avaliação da espessura da camada granulosa e do volume folicular, sendo este último calculado pelo método do esferoide oblato:  $V = (4/3) \times \pi \times a^2 \times b$ , onde a e b representam os raios menor e maior, respectivamente (Levi *et al.*, 2011). A espessura da camada granulosa foi medida em quatro pontos equidistantes e perpendiculares, com a espessura média (MT) calculada como  $MT = (T1 + T2 + T3 + T4)/4$ . Medidas foram realizadas apenas em oócitos centralmente seccionados, utilizando o nucléolo como ponto de referência (Meng *et al.*, 2021). Na medula ovariana, a densidade numérica das células estromais e a densidade volumétrica dos vasos sanguíneos foram quantificadas nas imagens histológicas obtidas com aumento de 400x (Silva *et al.*, 2020).

Para o oviduto, foram quantificados os seguintes parâmetros

histomorfométricos: (i) espessura média da parede, (ii) altura e largura das pregas mucosas, (iii) altura do epitélio de revestimento e (iv) relação entre a área do lúmen e a área da parede. A espessura média da parede do oviduto (MTOW) foi determinada em regiões livres de pregas mucosas, sendo medida em quatro pontos aleatórios equidistantes e perpendiculares, conforme  $MTOW = (T1 + T2 + T3 + T4)/4$ . A largura das pregas mucosas (MFOW) foi avaliada em dez imagens por animal, considerando a largura média obtida na base, região intermediária e ápice de cada dobra, conforme  $MFOW = (T1 + T2 + T3)/3$ . A altura das pregas mucosas foi definida pelo maior comprimento entre o ápice das pregas e uma linha perpendicular que intercepta sua base. Para o útero, os parâmetros avaliados foram: (i) espessura média da parede, (ii) espessura do endométrio e miométrio, (iii) altura do epitélio de revestimento e (iv) relação entre a área do lúmen e a área da parede. A espessura média do endométrio e do miométrio foi medida em quatro pontos aleatórios e equidistantes, com a espessura média calculada como  $MT = (T1 + T2 + T3 + T4)/4$ . Todas as medições foram realizadas com precisão usando planimetria computacional, utilizando o software Image Pro-Plus 4.5<sup>®</sup> (Media Cybernetics, Silver Spring, EUA) (Sequetto *et al.*, 2013). As análises quantitativas microestruturais foram conduzidas por um patologista cego para todos os grupos de intervenção, assegurando a imparcialidade e a integridade dos dados analisados.

### 3.9 AVALIAÇÃO DA FERTILIDADE REPRODUTIVA

A avaliação da eficiência reprodutiva foi realizada conforme o protocolo meticulosamente descrito por Sharma *et al.* (2021), com o intuito de assegurar uma análise rigorosa e precisa dos parâmetros reprodutivos. Os animais foram aleatoriamente alocados em grupos experimentais, cada um contendo oito fêmeas, o que possibilitou uma comparação equilibrada entre as condições de tratamento e controle. Camundongos tratados com TC apresentaram diestro persistente e, portanto, foram submetidos a um período de recuperação do ciclo estral antes da reintegração ao protocolo experimental. Esta abordagem visou normalizar o ciclo estral, minimizando as variáveis que poderiam influenciar os resultados do experimento.

Após a normalização do ciclo estral, as fêmeas dos grupos controle e TC, que estavam no estágio de proestro, foram acasaladas com machos em gaiolas de

polipropileno (17,5 × 27,5 × 13,0 cm) na proporção de 1:2 (macho-fêmea), conforme prática estabelecida na literatura para garantir o sucesso do acasalamento. O sucesso do acasalamento foi validado pela detecção de um plugue vaginal, sinalizando o início da gestação. A monitorização contínua das fêmeas durante todo o período gestacional foi essencial para garantir a integridade e a precisão dos dados obtidos.

Os indicadores de eficiência reprodutiva foram definidos com base no tamanho da ninhada, que inclui tanto o número de filhotes vivos quanto de natimortos, além do peso corporal médio dos filhotes ao nascimento. A viabilidade dos filhotes foi adicionalmente avaliada pela quantidade de filhotes vivos e sua massa pós-natal. Para calcular o sucesso de sobrevivência (SS, %), foi utilizada a fórmula:  $SS = (\sum \text{ninhada desmamada} \times 100) / \sum \text{litro nascido vivo}$  (Carvalho *et al.*, 2009).

### 3.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram apresentados como média ± desvio padrão (DP) ou mediana e intervalos interquartis, conforme a distribuição dos dados. A normalidade dos dados foi rigorosamente avaliada utilizando o teste de D'Agostino-Pearson. Para os dados que seguiram uma distribuição normal, a análise estatística foi conduzida por meio de análise de variância unidimensional (one-way ANOVA), complementada pelo teste post hoc de Student-Newman-Keuls (SNK), permitindo a identificação de diferenças significativas entre os grupos experimentais. Em contraste, para dados que não seguiram uma distribuição normal, foi aplicado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, que é apropriado para comparações entre múltiplos grupos quando as suposições de normalidade não são atendidas. Considerou-se que um valor de  $p \leq 0,05$  indicava uma diferença estatística significativa, estabelecendo um rigoroso critério de significância para todas as análises realizadas.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A crescente atenção voltada para compostos químicos que afetam o sistema endócrino, especialmente o sistema reprodutor feminino, reflete uma preocupação crescente com as implicações para a saúde pública e animal. Espartero *et al.* (2022) destacam que os desreguladores endócrinos têm a capacidade de mimetizar ou antagonizar os efeitos dos hormônios esteroides, levando a alterações significativas e potencialmente prejudiciais no sistema endócrino. Essas alterações podem impactar severamente o desenvolvimento e a função do sistema reprodutor feminino, desde a puberdade até a menopausa, influenciando a regulação do ciclo menstrual, o desenvolvimento dos órgãos sexuais e a fertilidade. Liao *et al.*, (2022) ressaltam a importância dos hormônios na manutenção da homeostase e no controle do desenvolvimento, observando que qualquer disfunção no sistema endócrino pode resultar em condições graves, como irregularidades menstruais, anovulação e infertilidade. A exposição a desreguladores endócrinos pode perturbar a secreção hormonal e a função normal dos hormônios, comprometendo a capacidade reprodutiva das fêmeas (Espartero *et al.*, 2022). Portanto, a compreensão detalhada desses mecanismos é crucial para a formulação de estratégias eficazes que mitiguem os efeitos adversos desses compostos sobre o sistema reprodutor feminino.

Além disso, há evidências crescentes de que hormônios contaminantes presentes em ambientes aquáticos e alimentos destinados ao consumo humano podem ter efeitos adversos sobre a fertilidade das fêmeas de mamíferos. Ruiz-García, Roco e Bullejos (2021) e Alemany (2022) documentam que a exposição a hormônios contaminantes pode comprometer significativamente a fertilidade das fêmeas, com efeitos variando de acordo com a via de administração, a dose e a duração da exposição. Estudos mostram que a exposição a andrógenos durante o desenvolvimento pré-natal pode induzir masculinização psicológica e alterações comportamentais, prejudicando o desenvolvimento do fenótipo feminino e a função reprodutiva (Hotchkiss *et al.*, 2007; Huffmand; Hendricks, 1981). No entanto, Ruiz-García *et al.*, (2021) e Alemany (2022) observam que muitos estudos se concentram em doses elevadas e períodos curtos de tratamento, o que pode não refletir adequadamente os efeitos de exposições prolongadas e baixas doses. Essa limitação ressalta a necessidade de modelos experimentais mais representativos,

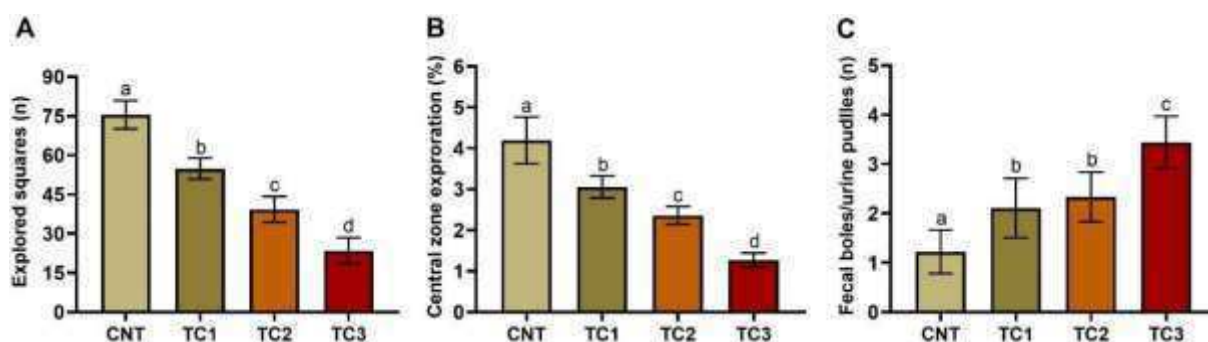
que simulem condições ambientais reais para fornecer uma compreensão mais precisa dos riscos para a saúde reprodutiva.

Os resultados do presente estudo, que administrou 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona por via intraperitoneal a cada 48 horas durante 12 semanas, fornecem novas evidências sobre os efeitos prolongados e de alta dose desses compostos químicos no sistema reprodutor feminino. Os dados mostram que todos os grupos tratados apresentaram comportamentos significativamente mais ansiosos em comparação com o grupo controle, evidenciado pela redução na exploração espacial e pelo aumento na liberação de fezes e urina durante o teste de campo aberto. Esses achados são consistentes com a literatura existente sobre os efeitos dos esteroides anabolizantes no comportamento (Hotchkiss *et al.*, 2007). O efeito dose-dependente observado, com o grupo TC3 mostrando comportamento ansioso mais pronunciado do que os grupos TC1 e TC2, sublinha a importância de considerar a dose e a duração da exposição ao avaliar os riscos associados aos desreguladores endócrinos. A evidência comportamental significativa destaca a necessidade de uma avaliação crítica da segurança e dos riscos dos compostos químicos que afetam o sistema endócrino. Este estudo contribui para a compreensão dos impactos comportamentais e fisiológicos dos esteroides anabolizantes e reforça a urgência de regulamentações mais rigorosas para o manejo desses compostos, visando proteger a saúde reprodutiva feminina e prevenir efeitos adversos a longo prazo.

Como ilustrado na Figura 7, os resultados obtidos mostram que todos os grupos tratados com 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona apresentaram um comportamento ansioso significativamente mais acentuado em comparação com o grupo controle. Esse comportamento ansioso foi caracterizado por uma redução notável na exploração espacial e um aumento significativo na liberação de fezes e urina durante o teste de campo aberto ( $P < 0,05$ ). A Figura 7 evidencia claramente essas diferenças comportamentais, demonstrando a relação entre o tratamento com esteroides anabolizantes e o aumento da ansiedade nos animais experimentais. Além disso, a análise dos dados revelou um efeito dose-dependente, com o grupo TC3 exibindo comportamentos ansiosos mais acentuados em relação aos grupos TC1 e TC2, corroborando a hipótese de que a exposição prolongada e em alta dose aos esteroides anabolizantes pode induzir alterações comportamentais mais severas. Esses resultados confirmam achados anteriores sobre os efeitos adversos

dos esteroides anabolizantes, reforçando a necessidade de uma análise aprofundada dos impactos a longo prazo desses tratamentos sobre o sistema reprodutor feminino e sublinhando a importância de regulamentações mais rigorosas para a utilização desses compostos em contextos experimentais e clínicos.

Figura 7 - Comportamento ansioso em camundongos fêmeas tratados com 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona.



Fonte: Do autor.

Legenda: Os dados são expressos como média e desvio padrão da média. Grupos: CNT = Controle não tratado; TC1 = 5 mg/kg de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona; TC2 = 10 mg/kg de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona; TC3 = 20 mg/kg de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona. Grupos com letras diferentes (a, b, c, d) apresentam diferença estatística ( $P < 0,05$ ), e grupos com qualquer letra em comum não diferem estatisticamente ( $P > 0,05$ ).

A Figura 7 ilustra a exploração espacial (painéis A e B), bem como a liberação fecal e urinária (painel C), utilizados como indicadores de ansiedade no teste de campo aberto em camundongos fêmeas, tanto não tratados quanto tratados com 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona (TC). Observou-se que camundongos fêmeas não tratados demonstraram uma maior exploração espacial em comparação aos tratados com TC, com a exploração mostrando uma relação inversamente proporcional à dose administrada: doses menores resultaram em maior exploração do campo aberto. No painel C, os dados de urina e fezes eliminadas refletem o nível de ansiedade dos animais tratados, com um aumento proporcional à dose administrada de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona (20 mg/kg), evidenciando uma resposta ansiosa mais acentuada. Ramos (2002) sugere que um aumento na exploração periférica pode indicar um aumento na ansiedade, já que animais ansiosos tendem a explorar mais a periferia do campo aberto.

Esses achados contrastam com estudos anteriores sobre o decanoato de nandrolona, um andrógeno diferente, que não mostrou variações significativas na

locomoção espontânea, mesmo com aumento de dose (Bing *et al.*, 1998; Bitran *et al.*, 1993; Bronson, 1996a; Clark; Fast, 1996; Martinez-Sanchis *et al.*, 2003). Essa discrepância sugere que os efeitos comportamentais da testosterona podem ser distintos daqueles observados com outros andrógenos.

Pesquisas adicionais revelam efeitos variados da testosterona sobre a atividade motora. Cunningham, Locatelli e Rodriguez (2011) e Wang *et al.*, (2016) demonstraram que a testosterona está positivamente correlacionada com o aumento da atividade motora em ratos, sugerindo um efeito estimulante sobre o comportamento motor. Por outro lado, Lambadjieva (1998) e Onaolapo *et al.* (2016) relataram uma redução na atividade motora associada à testosterona. Estudos anteriores confirmam que hormônios androgênicos desempenham um papel crucial na modulação do sistema dopaminérgico (De Souza Silva *et al.*, 2009), especificamente através da via nigroestriatal, que é fundamental para o controle do movimento voluntário (Luo; Huang, 2016). Johnson *et al.*, (2010) e Khan (2002) evidenciam que a gonadectomia em roedores machos reduz a atividade motora, mas a suplementação com testosterona reverte essa redução, sublinhando a importância do hormônio para a manutenção da atividade motora em condições fisiológicas normais.

A testosterona pode influenciar a atividade motora por meio de vários mecanismos, incluindo a modulação da síntese e liberação de dopamina e a regulação da expressão dos transportadores de dopamina como DAT e VMAT-2 (De Souza Silva *et al.*, 2009; Purves-Tyson *et al.*, 2014). Além disso, os andrógenos podem ativar vias intracelulares como o ERK/MAPK, desempenhando um papel significativo na neuroproteção (Nguyen; Yao; Pike, 2005; Hatanaka *et al.*, 2009). A biotransformação da testosterona, convertendo-a em estradiol ou dihidrotestosterona, também contribui para seus efeitos neuroprotetores (Bethea *et al.*, 2016; Celec *et al.*, 2015; Pedersen; Brownrout; Saldanha, 2018; Yang *et al.*, 2019). Portanto, um possível sinergismo entre testosterona, estradiol e dihidrotestosterona pode explicar o efeito neuroprotetor observado no sistema dopaminérgico (Turan *et al.*, 2019).

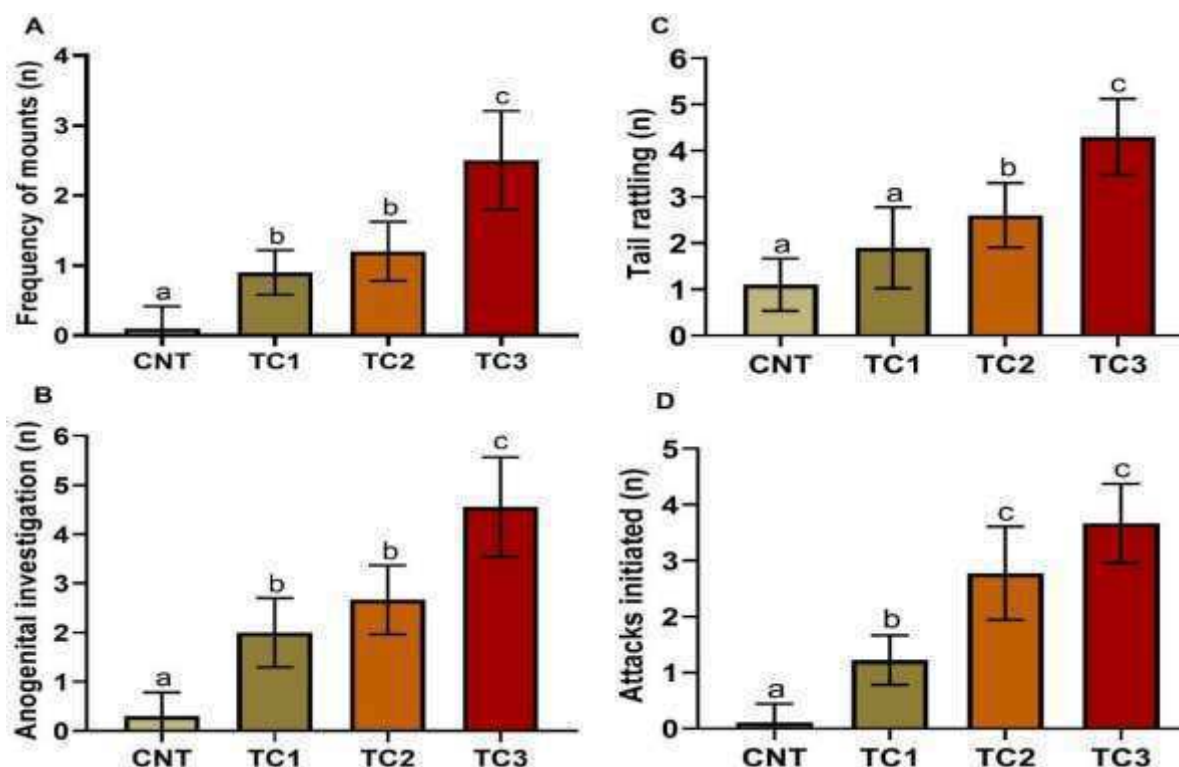
No estudo de Kalinine (2011), foi observado que ratas fêmeas não exibiram diferenças comportamentais significativas entre os grupos tratados com doses subcrônicas de testosterona (0,05; 0,1 e 0,2 mg/kg), indicando que tais doses não afetam a organização cerebral nem a locomoção. Contudo, tratamentos crônicos

com testosterona não mostraram diferenças significativas em variáveis como distância percorrida, velocidade média e tempo no centro do aparato, em comparação ao grupo controle.

Estudos recentes sugerem que pequenas doses de testosterona podem elevar a ansiedade, enquanto doses maiores podem reduzir esse efeito. A administração de  $17\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona demonstrou reduzir comportamentos sociais medrosos e evasivos (Alemany, 2022; Ruiz-García; Roco; Bullejos, 2021). A testosterona está associada ao aumento da atividade do ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) e da serotonina, ambos implicados no transtorno de ansiedade.

A Figura 8 apresenta a resposta comportamental em relação à agressão e comportamento sexual em camundongos fêmeas tratados com  $17\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona. Todos os grupos tratados com  $17\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona exibiram um aumento significativo no comportamento sexual e nas respostas agressivas em comparação com o grupo controle ( $P < 0,05$ ). Observou-se que a frequência de montas, a investigação anogenital, o barulho de cauda e o início de ataques foram mais frequentes no grupo TC3, que recebeu a maior dose de testosterona, em comparação com os grupos TC1 e TC2 ( $P < 0,05$ ).

Figura 8 - Comportamento agressivo e sexual em camundongos fêmeas tratados com  $17\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona.



Fonte: Do autor.

Legenda: Os dados são expressos como média e desvio padrão da média para as respostas sexuais (painéis A e B) e agressivas (painéis C e D) observadas em camundongos fêmeas, tanto no grupo controle não tratado quanto nos grupos tratados com  $17\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona. Os grupos experimentais incluem CNT (controle não tratado), TC1 (5 mg/kg de  $17\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona), TC2 (10 mg/kg de  $17\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona) e TC3 (20 mg/kg de  $17\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona). Grupos com letras diferentes (a, b, c, d) apresentam diferenças estatisticamente significativas ( $P < 0,05$ ), enquanto grupos com letras comuns não diferem significativamente ( $P > 0,05$ ).

A agressividade em roedores, incluindo estudos com relação ao sistema reprodutor feminino, pode ser avaliada pela observação da quantidade e qualidade dos atos agressivos. Pesquisas anteriores têm mostrado que a administração de esteroides androgênicos, como a testosterona, pode influenciar esses comportamentos. Em roedores, a agressividade tem sido associada ao impacto de hormônios sobre o sistema reprodutor, incluindo o ovário e o útero (Clark; Henderson, 2003; McGinnis, 2004).

Breuer *et al.*, (2001) conduziram um estudo em ratos Long-Evans, administrando propionato de testosterona, decanoato de nandrolona e estanozolol na dose de 5 mg/kg, cinco vezes por semana, durante 12 semanas. Os resultados

demonstraram um aumento significativo no comportamento agressivo dos animais tratados em comparação com o grupo controle. Esse aumento pode estar relacionado ao efeito dos esteroides sobre o sistema endócrino, que inclui o ovário, e como isso pode refletir em comportamentos agressivos. A testosterona, ao modular o sistema reprodutivo, pode alterar o equilíbrio hormonal e influenciar comportamentos associados à agressividade.

McGinnis (2004) investigou a interação entre o propionato de testosterona e a provocação física (puxada da cauda) em roedores, revelando um aumento da agressividade apenas sob condições de provocação. Este efeito pode ser mediado por alterações hormonais que impactam o funcionamento do sistema reprodutivo, particularmente o ovário, que é crucial para a regulação dos níveis hormonais. Na ausência de provocação, não houve diferença na agressividade entre os animais tratados e o grupo controle, sugerindo que a interação entre hormônios e estímulos externos pode ser um fator determinante para a expressão da agressividade.

Estudos demonstram que os efeitos da testosterona sobre o comportamento sexual agressivo são complexos e podem variar dependendo do tipo de andrógeno, da dose administrada, da duração do tratamento e das características do animal, como idade e sexo (Clark; Henderson, 2003). No sistema reprodutivo feminino, a testosterona pode alterar a função do ovário e a produção de hormônios sexuais, influenciando assim o comportamento agressivo.

Em humanos, o uso indiscriminado de esteroides anabolizantes androgênicos (EAA) tem sido associado a comportamentos agressivos e violência não provocada. Estudos indicam que o uso crônico desses esteroides pode aumentar a agressividade, especialmente a verbal, e está correlacionado ao aumento de homicídios cometidos por adolescentes (Brooks; Reddon, 1996; McGinnis, 2004). Esses efeitos podem ser explicados pelo impacto dos esteroides sobre o sistema endócrino, incluindo o sistema reprodutivo e a regulação hormonal.

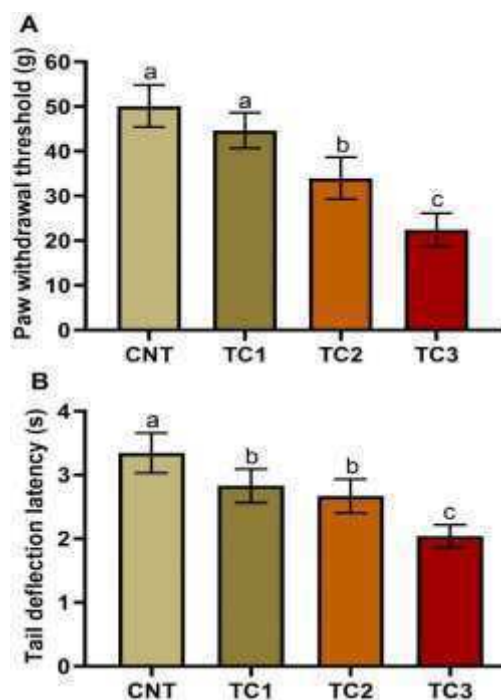
Wingfield (1990) relacionou níveis elevados de testosterona com comportamentos agressivos e associou esses comportamentos à reprodução, incluindo a defesa de território e proteção de fêmeas. No entanto, Giammanco (2005) demonstrou que em algumas espécies, como lêmures e camundongos, a testosterona sozinha não é suficiente para explicar a agressão, sugerindo que outros andrógenos podem intermediar esse comportamento. Em humanos, a relação entre testosterona e agressividade é mais clara em adultos do que em crianças, refletindo

a complexidade da interação entre hormônios e comportamento.

Estudos da década de 1990 (Archer, 1996; Harris *et al.*, 1996; Mazur; Booth, 1998) mostraram que a agressividade, a dominância e o comportamento pró-social estão correlacionados com níveis de andrógenos circulantes. A pesquisa realizada por Rohden (2011) confirmou que a testosterona pode também promover comportamentos afetuosos e sociáveis, influenciando a atividade neurológica, como a produção de ocitocina, o "hormônio do amor". Esses achados sugerem que, dependendo do contexto, a testosterona pode promover tanto comportamentos agressivos quanto sutis e afetuosos.

A Figura 9 ilustra os marcadores de sensibilidade nociceptiva em camundongos tratados com esteroides anabolizantes. Os dados mostram que os grupos tratados com  $17\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona apresentaram um aumento significativo na sensibilidade mecânica e térmica, evidenciado por uma redução nos limiares de percepção, em comparação com os animais do grupo controle ( $P < 0,05$ ). Além disso, os limiares mecânico e térmico foram particularmente reduzidos nos animais do grupo TC3 em comparação aos grupos TC1 e TC2 ( $P < 0,05$ ), indicando uma resposta dose-dependente à administração do esteroide.

Figura 9 - Respostas nociceptivas mecânicas (A) e térmicas (B) em camundongos fêmeas não tratados e tratados com diferentes doses de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona.



Fonte: Do autor.

Legenda: Os grupos experimentais são: CNT = Controle não tratado; TC1 = 5 mg/kg de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona; TC2 = 10 mg/kg de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona; TC3 = 20 mg/kg de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona. Os dados são expressos como média  $\pm$  desvio padrão da média. As letras diferentes (a, b, c, d) indicam diferenças estatísticas significativas ( $P < 0,05$ ) entre os grupos, enquanto letras comuns indicam ausência de diferença estatística ( $P > 0,05$ ).

A interpretação objetiva da dor é um aspecto crucial na pesquisa sobre mecanismos de dor. No contexto do sistema reprodutor feminino, as variações hormonais podem impactar significativamente a percepção da dor e suas manifestações clínicas. O teste de formalina, que quantifica a intensidade da dor com base em parâmetros comportamentais, é amplamente utilizado para essa finalidade (Coderre *et al.*, 1993; Dubuisson; Dennis, 1997). No entanto, quando se considera a complexidade do sistema reprodutor feminino, incluindo os ovários e o útero, as alterações hormonais específicas podem influenciar a intensidade e a qualidade da dor experimentada pelas mulheres.

A testosterona, um hormônio comumente associado aos homens, desempenha um papel significativo na modulação da dor também no sistema reprodutor feminino. Estudos indicam que a testosterona pode atuar através de mecanismos endógenos de analgesia, promovendo a liberação de substâncias semelhantes à morfina, que ajudam a atenuar a dor (Favaro-Moreira *et al.*, 2015). No contexto do ciclo menstrual, a variabilidade hormonal, especialmente os níveis de estrogênio e progesterona, tem um impacto notável na percepção da dor. Durante o ciclo menstrual, especialmente no início da ovulação e menstruação, as mulheres podem experimentar variações significativas na gravidade dos sintomas dolorosos devido às flutuações hormonais (Leresche, 2000). A menor concentração de testosterona nas mulheres, em comparação com os homens, aliada às flutuações nos níveis de estrogênio e progesterona, pode contribuir para essas variações na percepção da dor.

A presença de estrogênio e progesterona no sistema reprodutor feminino pode influenciar a gravidade da dor. Por exemplo, baixos níveis de estrogênio ou uma rápida queda desses níveis estão associados a um aumento nos sintomas dolorosos, como dores de cabeça e enxaquecas. O uso de contraceptivos orais combinados tem mostrado aliviar esses sintomas ao estabilizar os níveis hormonais (Martin *et al.*, 2005). Durante a puberdade, as mulheres possuem níveis de testosterona significativamente mais baixos em comparação com os homens, o que pode oferecer uma proteção relativa contra certas condições dolorosas, como a dor nas articulações temporomandibulares (Fischer; Clemente; Tambeli, 2007).

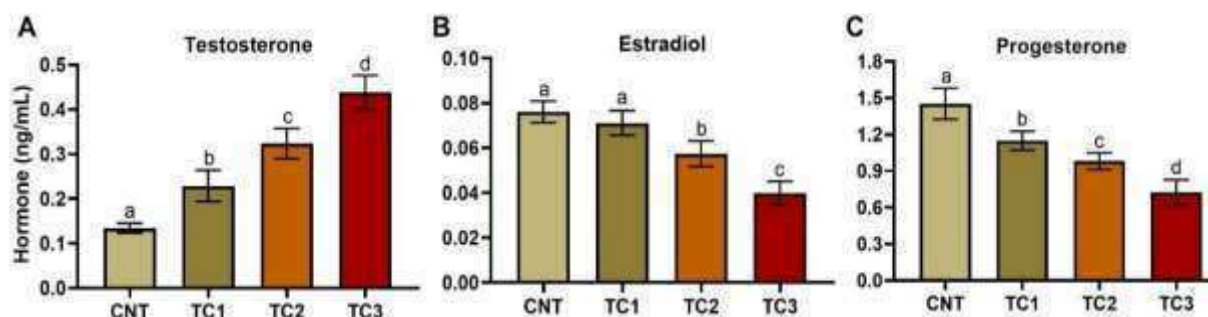
Além disso, estudos como o de Aloisi e Bonifazi (2006) demonstram que mulheres com artrite reumatoide e baixos níveis de testosterona podem apresentar sintomas de dor mais intensos e uma maior prevalência de lesões no pescoço e ombro. A administração de andrógenos, como a testosterona, pode aliviar esses sintomas dolorosos. No entanto, a complexidade dos efeitos da testosterona, devido à sua metabolização em estradiol pela aromatase e às variações hormonais entre os sexos, sugere que mais pesquisas são necessárias para entender completamente esses efeitos. A consideração dessas diferenças hormonais pode ser crucial para o desenvolvimento de tratamentos farmacológicos mais eficazes e personalizados para a dor.

A teoria das duas células/duas gonadotrofinas sugere que os andrógenos desempenham um papel vital na esteroidogênese adequada no sistema reprodutor

feminino, atuando como substrato para a atividade aromatase nas células da granulosa dos ovários, onde são convertidos em estrogênios. Além disso, os andrógenos podem exercer efeitos diretos na regulação da função folicular. Receptores androgênicos, identificados em estudos imuno-histoquímicos no ovário humano, são regulados durante o desenvolvimento dos folículos ovarianos, com uma redução progressiva à medida que os folículos amadurecem (Hillier *et al.*, 1997; Horie *et al.*, 1992; Suzuki *et al.*, 1994).

Os dados apresentados na Figura 10 demonstram as alterações nos níveis circulantes de hormônios sexuais em camundongos tratados com 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona. O tratamento resultou em distúrbios significativos nos níveis hormonais, com um aumento na testosterona e uma diminuição na progesterona e estradiol, evidenciando um impacto dependente da dose. Esses resultados sublinham a influência dos esteroides anabolizantes nos níveis hormonais e destacam a necessidade de considerar essas variações hormonais ao investigar a modulação da dor no sistema reprodutor feminino. As observações são fundamentais para o desenvolvimento de abordagens terapêuticas mais eficazes, alinhadas às necessidades específicas de cada paciente.

Figura 10 - Alterações nos Níveis Circulantes de Hormônios Sexuais em Camundongos Fêmeas Tratadas com 17 $\beta$ -Ciclopentilpropionato de Testosterona.



Fonte: Do autor.

Legenda: Níveis circulantes de testosterona (A), estradiol (B) e progesterona (C) em camundongos fêmeas não tratados e tratados com testosterona 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato (TC). Grupos: CNT= Controle não tratado; TC1= 5 mg/kg de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona; TC2 = 10 mg/kg de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona; TC3 = 20 mg/kg de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona. Os dados são expressos como média e desvio padrão da média. Grupos com letras diferentes (a, b, c, d) apresentam diferença estatística ( $P < 0,05$ ) e grupos com qualquer letra em comum não diferem estatisticamente ( $P > 0,05$ ).

Os hormônios, sintetizados pelas glândulas endócrinas, desempenham um papel crucial na regulação das funções corporais essenciais, como crescimento, reprodução e metabolismo. No contexto feminino, o ciclo hormonal mensal, inerente à menstruação, pode provocar variações de humor e desconfortos, como cólicas menstruais, evidenciando a complexidade e a importância do equilíbrio hormonal (Shen *et al.*, 2022). No entanto, a desregulação hormonal pode levar a sintomas adversos significativos, como acne e crescimento excessivo de pelos faciais, que são frequentemente associados a distúrbios androgênicos (Vautrin *et al.*, 2016).

A testosterona, produzida pelos ovários e glândulas endócrinas, é essencial para a saúde feminina e exerce funções importantes no sistema reprodutivo. Contudo, níveis excessivos de testosterona podem provocar consequências adversas, incluindo alterações hormonais que afetam negativamente a saúde e o bem-estar da mulher (Shen *et al.*, 2022; Vautrin *et al.*, 2016).

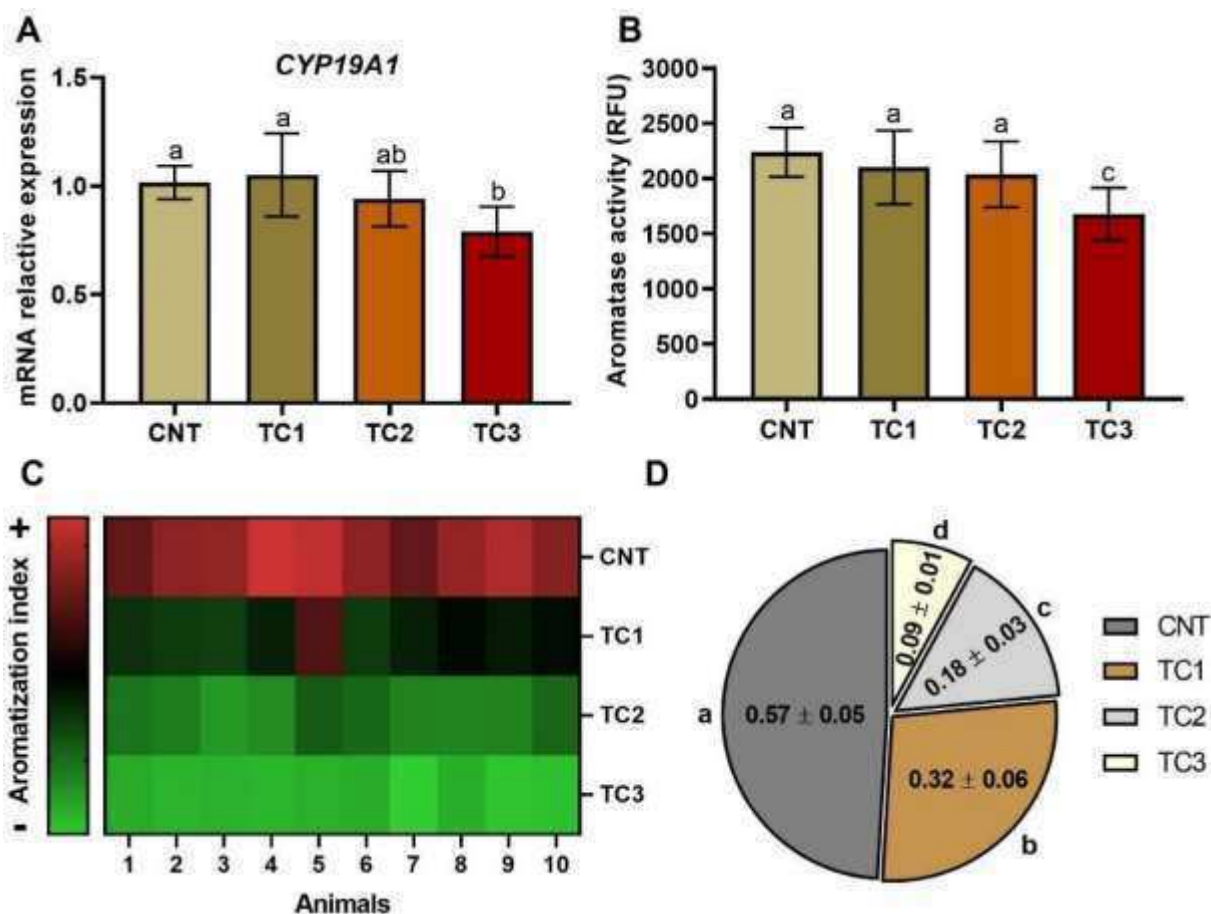
Além disso, a desregulação dos hormônios estrogênio e progesterona é associada a uma série de distúrbios fisiológicos e psicológicos. Alterações nos níveis desses hormônios podem resultar em distúrbios do sono, fadiga, ondas de calor e ganho de peso. Essas flutuações também são conhecidas por aumentar a ansiedade, irritabilidade e o risco de transtornos depressivos. A redução dos níveis

de estrogênio está diretamente relacionada à diminuição da serotonina, neurotransmissor crucial para a regulação do humor, evidenciando a importância do equilíbrio hormonal para a saúde mental (Maclean; Hayashi, 2022).

Portanto, o equilíbrio hormonal é fundamental para manter funções fisiológicas saudáveis, como sono reparador, aumento de energia, regulação da temperatura corporal e saúde da pele e cabelo, além de prevenir o acúmulo excessivo de gordura (Maclean; Hayashi, 2022). A suplementação com testosterona pode influenciar significativamente esses processos, alterando os níveis hormonais e afetando a regulação fisiológica do organismo, com potenciais consequências para a saúde da mulher.

A Figura 11 apresenta a expressão do gene CYP19A1 e a atividade da aromatase em camundongos tratados com diferentes doses de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona. Os dados indicam que tanto a expressão do gene CYP19A1 quanto a atividade da aromatase foram significativamente reduzidas apenas nos animais tratados com a dose mais alta de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona, em comparação com os camundongos não tratados ( $P < 0,05$ ). Não houve diferenças significativas nos parâmetros observados nos grupos TC1 e TC2 em relação ao grupo controle ( $P > 0,05$ ). A taxa de aromatização aumentou nos camundongos não tratados e reduziu de forma dependente da dose nos grupos TC1, TC2 e, especialmente, no grupo TC3, que apresentou a menor taxa de aromatização em comparação com os demais grupos ( $P < 0,05$ ). Esses achados sublinham a influência dose-dependente da testosterona na regulação da aromatização, destacando a importância de uma abordagem cuidadosa na suplementação hormonal para evitar distúrbios associados.

Figura 11 - Expressão do gene CYP19a1 (A), atividade da aromatase (B) e índice de aromatização (C e D) no ovário de camundongos fêmeas não tratados e tratados com testosterona 17β-ciclopentilpropionato (TC).



Fonte: Do autor.

Legenda: Gene: CYP19a1= citocromo P450 família 19 subfamília A membro 1. Grupos: CNT= controle não tratado; TC1= 5 mg/kg de 17β- ciclopentilpropionato de testosterona; TC2 = 10 mg/kg de 17β-ciclopentilpropionato de testosterona; TC3 = 20 mg/kg de 17β-ciclopentilpropionato de testosterona. Os dados são expressos como média e desvio padrão da média. Grupos com letras diferentes (a, b, c, d) apresentam diferença estatística ( $P < 0,05$ ) e grupos com qualquer letra em comum não diferem estatisticamente ( $P > 0,05$ ).

A aromatase, uma enzima fundamental da família do citocromo P-450, codificada pelo gene CYP19, desempenha um papel crucial na regulação dos níveis de estrogênios no organismo. Esta enzima catalisa a conversão de androstenediona em estrona e de testosterona em estradiol, sendo, portanto, um regulador essencial da biossíntese estrogênica (Leal *et al.*, 2019; Reinert; Gonçalves; Bines, 2018). A aromatização da androstenediona ocorre através de três reações consecutivas de oxidação, resultando na formação de estrona com um anel aromático. Este processo é vital para a expressão de comportamentos sexuais, respostas neuroendócrinas e

desenvolvimento em diversas espécies (Dias, 2009). A função da aromatase vai além da simples conversão de andrógenos em estrogênios; ela é um elemento crucial para o equilíbrio hormonal, que afeta diretamente a fisiologia reprodutiva e a saúde geral.

Durante a fase embrionária, a via metabólica dos estrogênios inicia-se nas células esteroidogênicas, onde o colesterol é convertido em hormônios sexuais precursores. Este colesterol é captado por receptores de lipoproteínas na membrana plasmática e transportado para as mitocôndrias, onde é reduzido pela enzima aromatase produzida pelo gene termo-sensível P-450. Este processo não só é vital para a diferenciação sexual embrionária, mas também para a formação das gônadas femininas em vertebrados, evidenciando a importância crítica da aromatase na definição do desenvolvimento sexual (Yao; Capel, 2005).

A aplicação clínica dos inibidores de aromatase é predominantemente em mulheres pós-menopáusicas ou, em alguns casos, naquelas que passaram por extração ovariana durante a pré-menopausa (Conde *et al.*, 2006). Esta estratégia terapêutica é respaldada pela evidência de que o aumento nos níveis do promotor de transcrição da aromatase, especificamente o gene CYP19II, associado ao aumento do fator esteroidogênico, pode contribuir para a feminização de indivíduos com altos níveis de  $17\beta$ -estradiol (Straume *et al.*, 2012).

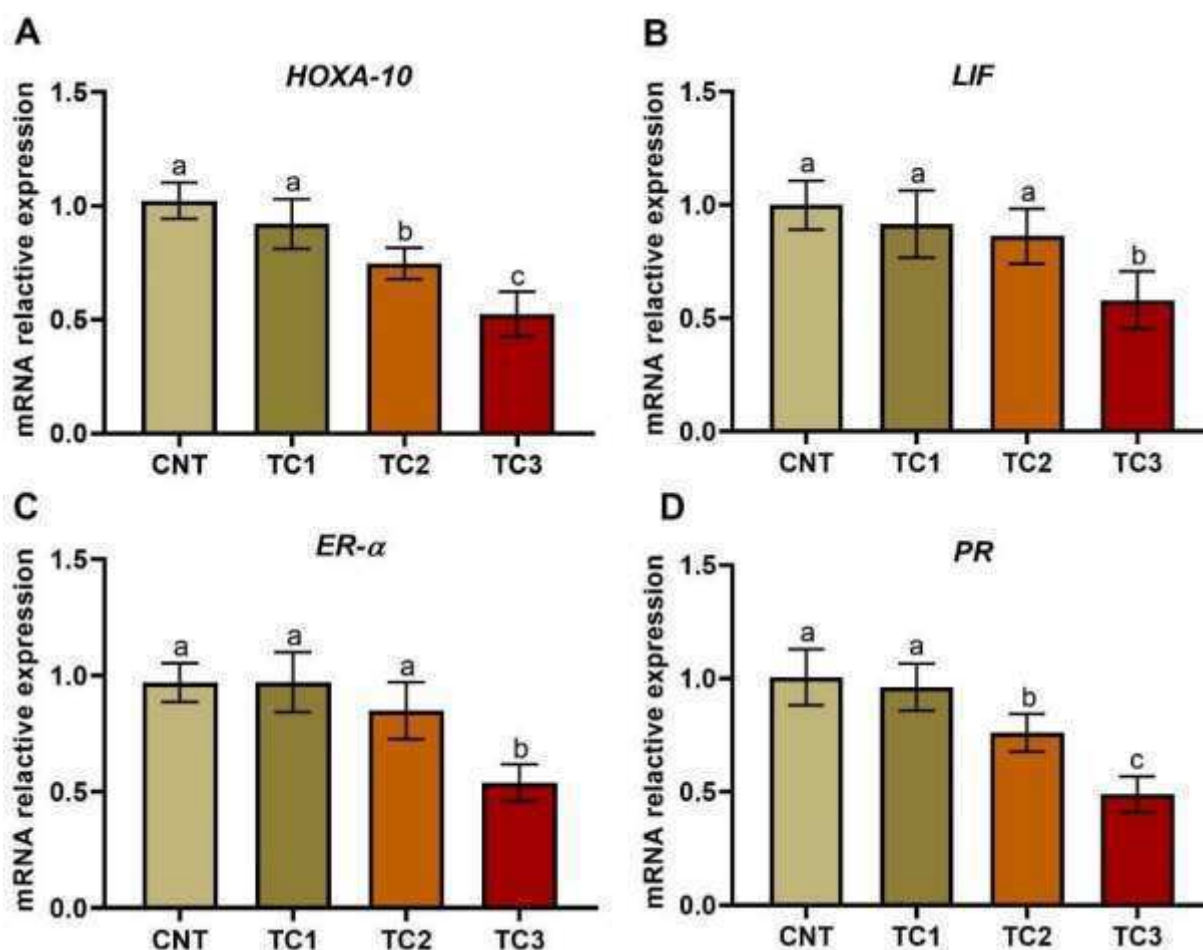
Além disso, a enzima citocromo P450, uma proteína biologicamente ativa, é responsável por uma ampla gama de funções biológicas, incluindo a conversão de andrógenos em estrógenos, e exerce um impacto significativo na morfologia testicular, na espermatogênese, na fertilidade e no comportamento sexual dos mamíferos (Simpson *et al.*, 1994). O trabalho de Soto (2012) sublinha a importância da testosterona na regulação da dinâmica dos fluidos testiculares, o que inclui o fluxo sanguíneo, a vasomotricidade e a produção de fluidos nos túbulos seminíferos. A testosterona é essencial para a manutenção da função testicular normal, e a deficiência deste hormônio resulta em uma redução significativa na secreção de proteínas e fluidos durante as fases VI-VIII dos túbulos seminíferos (Sharpe *et al.*, 1994).

A Figura 12 ilustra a expressão dos genes envolvidos no desenvolvimento endometrial e na receptividade uterina ao embrião. A análise revelou que a expressão de todos os genes investigados foi comparável entre animais não tratados e no grupo TC1 ( $P > 0,05$ ). No entanto, a expressão dos genes HOXA-10 e PR foi

negativamente regulada nos grupos TC2 e TC3 em comparação com os controles não tratados ( $P > 0,05$ ). A redução mais pronunciada na expressão dos genes HOXA-10, PR, LIF e ER- $\alpha$  foi observada nos animais do grupo TC3, evidenciando uma resposta reduzida à aromatização em comparação com os demais grupos ( $P < 0,05$ ). Estes resultados destacam o impacto potencialmente perturbador da suplementação de testosterona sobre a expressão gênica relevante para a função endometrial e a receptividade uterina, implicando uma necessidade urgente de pesquisas adicionais para compreender as consequências a longo prazo dessa intervenção hormonal.

Demonstra-se, portanto, a importância da aromatase na regulação do sistema endócrino e sua influência sobre o desenvolvimento e funcionamento dos sistemas reprodutivos. A compreensão detalhada dessas dinâmicas hormonais não só é essencial para o desenvolvimento de terapias mais eficazes, mas também para o manejo adequado de condições associadas à disfunção hormonal. A influência da aromatase e a importância dos andrógenos e estrogênios no contexto do sistema reprodutivo feminino sublinha a necessidade de um enfoque metódico na pesquisa e no tratamento das disfunções hormonais para melhorar a saúde e o bem-estar das mulheres.

Figura 12 - Expressão gênica no útero de camundongos fêmeas não tratados e tratados com 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato (TC) de testosterona.



Fonte: Do autor.

Legenda: Genes: HOXA-10= proteína Homeobox abdominal B10, LIF= fator inibidor de leucemia, ER- $\alpha$ = receptor de estrogênio alfa, PR= receptor de progesterona. Grupos: CNT= Controle não tratado; TC1= 5 mg/kg de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona; TC2 = 10 mg/kg de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona; TC3 = 20 mg/kg de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona. Os dados são expressos como média e desvio padrão da média. Grupos com letras diferentes (a, b, c, d) apresentam diferença estatística ( $P < 0,05$ ) e grupos com qualquer letra em comum não diferem estatisticamente ( $P > 0,05$ ).

Os receptores de estradiol (ER) e progesterona (PR) desempenham papéis críticos no ciclo reprodutivo feminino, com padrões de expressão que variam significativamente durante o estro, diestro e início da gestação. A expressão gênica e proteica dos genes ER e PR não é homogênea dentro dos tecidos uterinos, como o endométrio e o miométrio, e também apresenta diferenças notáveis entre os tipos celulares que os compõem, incluindo o epitélio luminal, o epitélio glandular e o estroma (Aupperle *et al.*, 2000; Hartt *et al.*, 2005; Watson *et al.*, 1992). Tais

variações são fundamentais para compreender a complexa regulação hormonal e sua influência na reprodução.

Estudos realizados em diversas espécies demonstram que durante o estro, o gene E2 promove a expressão dos próprios receptores e dos receptores de progesterona no endométrio (Geisert *et al.*, 1993; Martin *et al.*, 2008; Okumu *et al.*, 2010; Ott *et al.*, 1993; Spencer; Bazer, 2002). Este processo é essencial para a preparação do útero para uma possível gravidez. Em contraste, no diestro, a elevação da concentração do gene P4 resulta em uma redução na quantidade de receptores de estradiol. A contínua exposição à progesterona também causa uma supressão dos próprios receptores de P4 a partir da fase intermediária até o final do diestro. Tal redução dos PR pode facilitar a reativação da síntese de ER, preparando o útero para um novo estro (Hartt *et al.*, 2005). No entanto, o mecanismo exato pelo qual a progesterona suprime a expressão dos receptores de estradiol e progesterona ainda não é completamente compreendido (Spencer; Bazer, 2002).

A importância da alteração na expressão gênica e proteica dos ER e PR é ainda mais evidenciada na manutenção da gestação. No início da gestação, os níveis de ambos os receptores no endométrio são relativamente baixos (Hartt *et al.*, 2005). Esse período é crítico para o estabelecimento da gestação, e a redução dos PR no endométrio pode representar uma resposta adaptativa à sinalização do embrião. A supressão dos receptores de progesterona é um pré-requisito para a produção de proteínas secretórias e para o adequado transporte de nutrientes essenciais para o desenvolvimento do conceito (Bazer *et al.*, 2009). Além disso, a administração de progestinas exógenas no início da gestação acelera a supressão dos PR (Willmann *et al.*, 2011a), reforçando a hipótese de que a regulação dos PR é vital para a receptividade uterina necessária para o desenvolvimento embrionário e a subsequente implantação (Bazer *et al.*, 2009; Okumu *et al.*, 2010; Spencer; Bazer, 2002; Willmann *et al.*, 2011b).

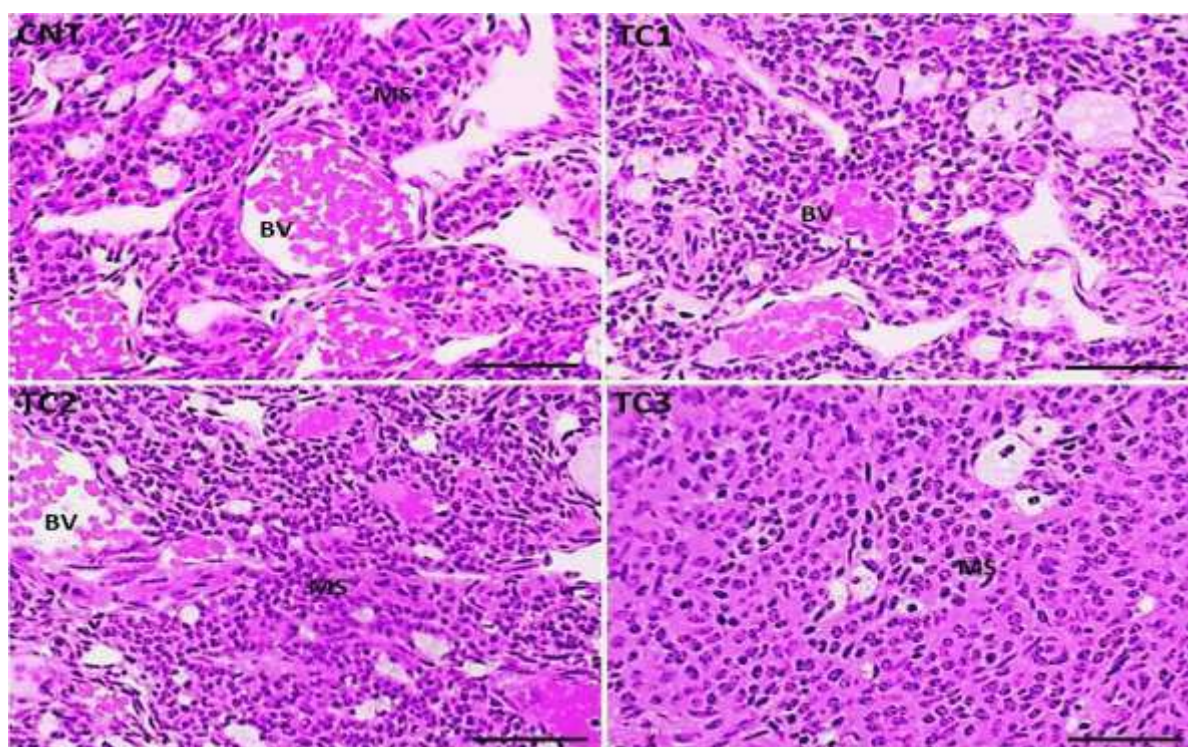
Os achados de Zanatta e Serafini (2014) revelam que o gene HOXA10 é expresso no estroma de LES de ERS durante a fase secretora. Tanto ER- $\alpha$  quanto ER- $\beta$  foram detectados em glândulas e estroma de LES e TMLP de ERS em ambas as fases do ciclo. A expressão de PR-AB e PR-B também foi observada em glândulas e estroma de LES de ERS durante ambas as fases do ciclo. A correlação direta entre HOXA10 e PR-AB/PR-B na ERS sugere um papel potencial do HOXA10 na regulação da expressão de PRs. No entanto, a ausência de correlação

significativa entre ER- $\alpha$  e ER- $\beta$  com HOXA10 e PRs em diferentes fases do ciclo ressalta a complexidade da regulação hormonal. O fato de HOXA10 ser expresso fora de seu eixo espacial típico na ERS sugere que este gene pode ter um papel crucial na definição de uma identidade "de novo" na EPF, apoiando a hipótese de uma origem embrionária para essa condição. A progesterona pode ativar o gene HOXA10 e regular sua ação, possivelmente mediada por PR-B, enquanto a ação mitogênica do estradiol na ERS é mediada por ER- $\alpha$  e ER- $\beta$  (Zanatta; Serafini, 2014).

Durante o desenvolvimento neonatal, os andrógenos produzidos nos testículos fetais são essenciais para a masculinização do trato reprodutivo e da genitália. Os receptores de andrógenos (AR), que pertencem à superfamília dos receptores de esteroides, são fundamentais para mediar a ação dos andrógenos e atuam principalmente como fatores de transcrição que regulam a expressão dos genes-alvo (Hughes, 2001; Sultan; Paris; Terouanne, 2001). Esta regulação é particularmente crítica na fase adulta, uma vez que a ação dos andrógenos nos túbulos seminíferos é essencial para o estabelecimento da fertilidade e para uma espermatogênese normal (Hill; Anway; Zirkin, 2004; Sharpe, 1994; Sharpe, 2005).

A Figura 13 ilustra as diferenças na estrutura da medula ovariana conforme observado por exame microscópico. Em animais não tratados, a medula ovariana apresenta uma organização bem definida, com septos de tecido conjuntivo e uma rede vascular difusa. Em contraste, os animais tratados com 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona demonstraram uma expansão estromal dependente da dose, com obliteração recíproca do leito vascular medular. A presença de células espumosas na medula ovariana dos animais tratados, sem uma resposta claramente dependente da dose, sugere uma resposta adaptativa complexa à administração de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona. Esses achados destacam a importância das interações hormonais na regulação da estrutura e função ovariana, oferecendo uma visão mais profunda dos mecanismos endócrinos envolvidos.

Figura 13 - Fotomicrografias da Medula Ovariana em Camundongos Fêmeas: Efeitos do Tratamento com 17 $\beta$ -Ciclopentilpropionato de Testosterona.



Fonte: Do autor.

Legenda: Fotomicrografias representativas da medula ovariana em camundongos fêmeas não tratados e tratados com diferentes doses de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona (TC). As amostras foram coradas com azul de toluidina e fucsina básica. Barra de escala = 60  $\mu$ m. Grupos experimentais: CNT = Controle não tratado; TC1 = 5 mg/kg de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona; TC2 = 10 mg/kg de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona; TC3 = 20 mg/kg de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona. As imagens mostram a estrutura do estroma medular (EM) e os vasos sanguíneos (BV).

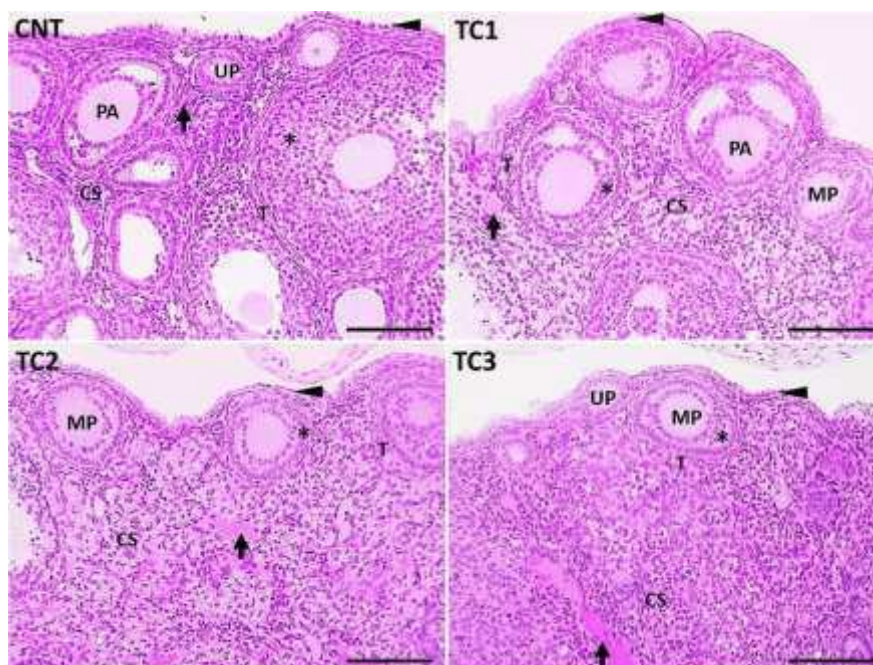
Estudos demonstram que os efeitos da testosterona sobre o útero são relativamente modestos, apesar da associação observada com condições como a síndrome dos ovários policísticos e o câncer endometrial. Em experimentos *in vitro*, constatou-se que os androgênios podem inibir a atividade das células endometriais, resultando em atrofia do órgão (Grimstad *et al.*, 2019).

Pesquisas adicionais indicam que a atividade endometrial é afetada durante o uso de testosterona, com uma predominância de padrões proliferativos no endométrio conforme revelado por exames histopatológicos. Quando comparados a quatro estudos anteriores, foram identificadas alterações uterinas, incluindo pólipos, hiperplasia sem atipia e carcinoma endometrial. No entanto, esses estudos também observaram que o uso de testosterona não elevou o risco de câncer endometrial,

recomendando o monitoramento cuidadoso do endométrio, especialmente em casos de sangramento anormal (Grynberg *et al.*, 2010; Khalifa *et al.*, 2018; Loverro *et al.*, 2016; Perrone *et al.*, 2009).

A análise microscópica apresentada na Figura 14 revela que os animais não tratados apresentaram um córtex ovariano com epitélio germinativo bem definido e folículos ovarianos em vários estágios de desenvolvimento, intercalados por estroma ovariano escasso. Folículos grandes, tanto pré-antrais quanto antrais, com teca folicular claramente delineada, foram frequentemente observados nos animais não tratados. Em contraste, os animais tratados com  $17\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona demonstraram uma presença mais pronunciada de folículos ovarianos em estágios iniciais de desenvolvimento. Essa característica foi particularmente evidente nos grupos TC2 e TC3, onde folículos primordiais (PF), folículos em desenvolvimento (UPF) e folículos maduros (MPF) foram observados predominantemente rodeados por áreas extensas de estroma cortical.

Figura 14 - Fotomicrografias representativas do córtex ovariano em camundongos fêmeas tratados e não tratados com 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona.



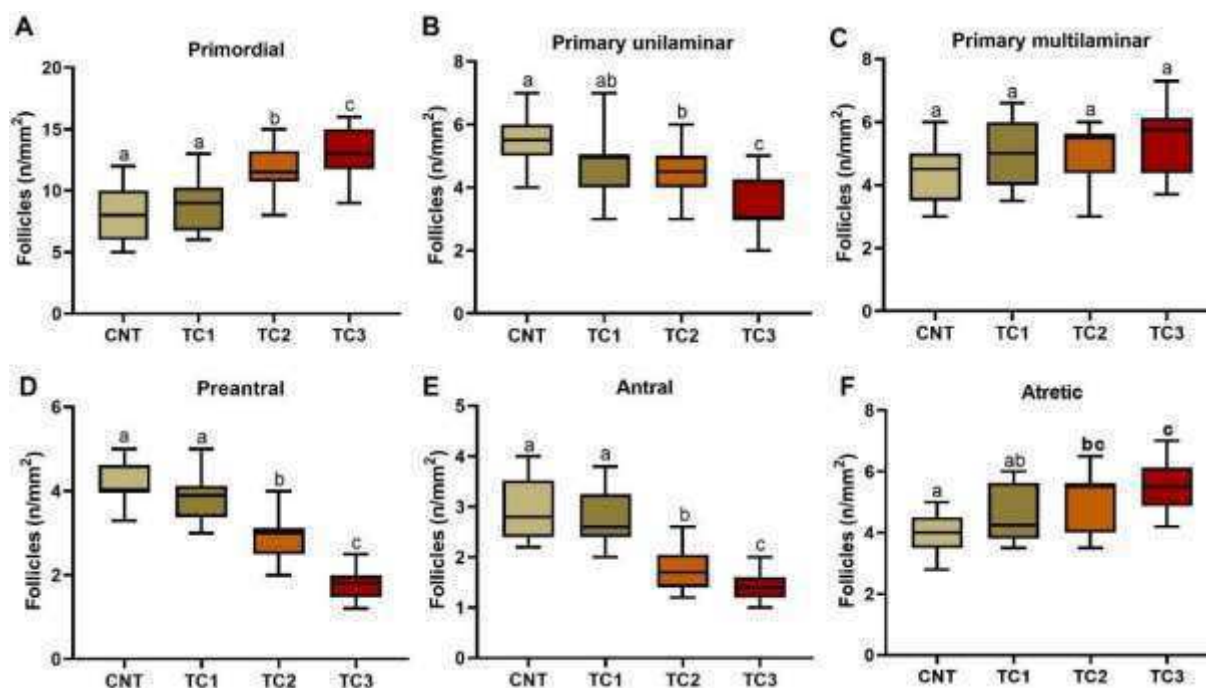
Fonte: Do autor.

Legenda: Fotomicrografias do córtex ovariano de camundongos fêmeas, com coloração em azul de toluidina e fucsina básica (barra de escala = 60  $\mu$ m). As imagens mostram grupos de controle (CNT) não tratados e grupos tratados com diferentes doses de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona (TC1: 5 mg/kg, TC2: 10 mg/kg, TC3: 20 mg/kg). Observam-se folículos primários unilaminares (UP) e multilaminares (MP), estroma cortical (CS), teca folicular (T), células da granulosa (marcadas com asterisco), epitélio germinativo (ponta de seta) e vasos sanguíneos (indicados pela seta).

A administração de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona resultou em uma alteração significativa na distribuição dos folículos ovarianos (Figura 15).

Nos grupos tratados com TC2 e TC3, observou-se uma maior frequência de folículos primordiais, enquanto a quantidade de folículos primários unilaminares, pré-antrais e antrais foi significativamente reduzida em comparação com os camundongos não tratados e o grupo TC1 ( $P < 0,05$ ). A distribuição de folículos primários multilaminares, no entanto, foi semelhante entre todos os grupos ( $P > 0,05$ ). Além disso, folículos atresícos foram predominantemente encontrados no grupo TC3, em comparação com os animais não tratados e o grupo TC1 ( $P < 0,05$ ).

Figura 15 - Distribuição de folículos ovarianos em diferentes estágios evolutivos em camundongos fêmeas não tratados e tratados com testosterona 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato (TC).

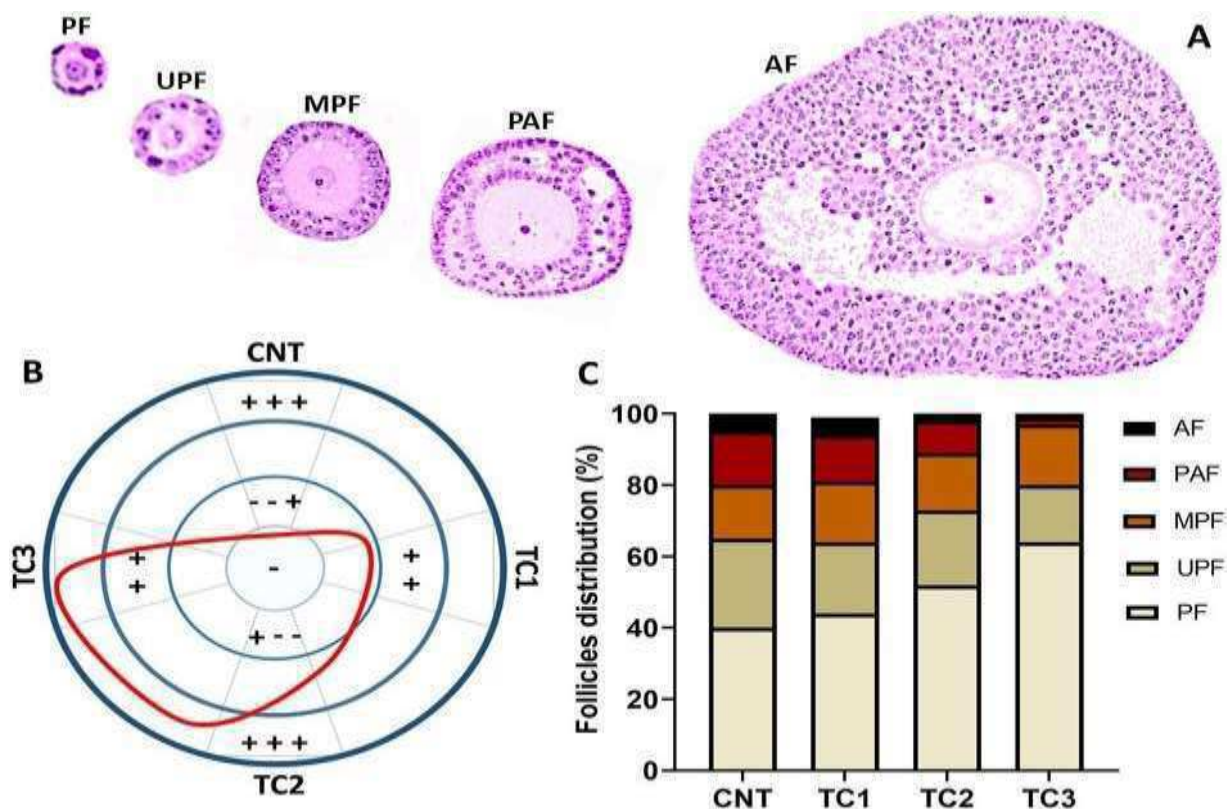


Fonte: Do autor.

Legendas: Gene: CYP19a1= citocromo P450 família 19 subfamília A membro 1. Grupos: CNT= controle não tratado; TC1= 5 mg/kg de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona; TC2 = 10 mg/kg de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona; TC3 = 20 mg/kg de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona. Os dados são expressos como mediana e intervalo interquartil. Grupos com letras diferentes (a, b, c, d) apresentam diferença estatística ( $P < 0,05$ ) e grupos com qualquer letra em comum não diferem estatisticamente ( $P > 0,05$ ).

Ao analisar a proporção de folículos em diferentes estágios de maturação, conforme a caracterização morfológica demonstrada na Figura 16, os resultados revelaram que o compartimento cortical dos camundongos tratados com 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona apresentou uma ocupação predominantemente maior por folículos imaturos. Esses folículos eram de menor tamanho e compostos, em sua maioria, por folículos primordiais. Além disso, observou-se uma redução acentuada na proporção de folículos pré-antrais, especialmente no grupo TC3. Esses achados foram corroborados pela avaliação histopatológica global, a qual evidenciou um amplo remodelamento microestrutural ovariano nos animais tratados com esteroides, afetando tanto o córtex quanto a medula ovariana.

Figura 16 - Fotomicrografias representativas de folículos ovarianos em diferentes estágios evolutivos (A), pontuação histopatológica baseada em diagrama de campo (B) e distribuição de folículos ovarianos (C) em camundongos fêmeas não tratados e tratados com testosterona 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato (TC).



Fonte: Do autor.

Legenda: Grupos: CNT= Controle não tratado; TC1= 5 mg/kg de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona; TC2 = 10 mg/kg de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona; TC3 = 20 mg/kg de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona. FP= Folículo Primordial; UPF= folículo primário unilaminar; MPF= Folículo primário multilaminar; PAF= Folículo pré-antral; AF= Folículo antral.

A Tabela 2 mostra os resultados microestruturais quantitativos obtidos a partir da análise do córtex e da medula do ovário. A espessura da granulosa e o volume folicular foram semelhantes em todos os grupos considerando os estágios foliculares PF e UPF ( $P > 0,05$ ). Além desses parâmetros foliculares para os estágios foliculares de MPF, PAF e AF, a distribuição de células estromais e vasos sanguíneos na medula do ovário foi reduzida em TC2 e TC3 em comparação aos animais não tratados ( $P < 0,05$ ). Essas respostas foliculares (limitadas aos estágios PAF e AF) e medulares também foram observadas nos animais TC3 em comparação com os animais TC1 ( $P < 0,05$ ).

Tabela 2 - Parâmetros microestruturais quantitativos de folículos ovarianos em diferentes estágios evolutivos, distribuição de células estromais e vasos sanguíneos na medula ovariana em camundongos fêmeas não tratados e tratados com testosterona 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato (TC).

	CNT	TC1	TC2	TC3
<b>Córtex ovariano</b>				
<b>PF</b>				
Espessura da granulosa ( $\mu\text{m}$ )	5.65 $\pm$ 0.32	5.11 $\pm$ 0.29	5.47 $\pm$ 0.22	5.33 $\pm$ 0.27
Volume folicular ( $\mu\text{m}^3 \times 10^5$ )	0.06 $\pm$ 0.01	0.05 $\pm$ 0.01	0.05 $\pm$ 0.01	0.06 $\pm$ 0.01
<b>UPF</b>				
Espessura da granulosa ( $\mu\text{m}$ )	9.85 $\pm$ 1.18	10.15 $\pm$ 1.07	9.77 $\pm$ 1.11	9.64 $\pm$ 1.15
Volume folicular ( $\mu\text{m}^3 \times 10^5$ )	0.51 $\pm$ 0.15	0.55 $\pm$ 0.13	0.49 $\pm$ 0.13	0.47 $\pm$ 0.11
<b>MPF</b>				
Espessura da granulosa ( $\mu\text{m}$ )	27.02 $\pm$ 3.01	23.09 $\pm$ 4.15	20.25 $\pm$ 3.33 <sup>a</sup>	20.11 $\pm$ 3.21 <sup>a</sup>
Volume folicular ( $\mu\text{m}^3 \times 10^5$ )	4.36 $\pm$ 0.50	3.97 $\pm$ 0.47	3.11 $\pm$ 0.49 <sup>a</sup>	2.72 $\pm$ 0.41 <sup>b</sup>
<b>PAF</b>				
Espessura da granulosa ( $\mu\text{m}$ )	60.15 $\pm$ 5.17	57.25 $\pm$ 5.33	45.11 $\pm$ 4.69 <sup>a</sup>	40.01 $\pm$ 4.52 <sup>b</sup>
Volume folicular ( $\mu\text{m}^3 \times 10^5$ )	86.31 $\pm$ 6.22	81.55 $\pm$ 5.96	62.47 $\pm$ 6.81 <sup>a</sup>	59.83 $\pm$ 7.13 <sup>b</sup>
<b>AF</b>				
Espessura da granulosa ( $\mu\text{m}$ )	99.72 $\pm$ 6.04	95.88 $\pm$ 6.35	84.11 $\pm$ 5.28 <sup>a</sup>	80.21 $\pm$ 6.11 <sup>b</sup>
Volume folicular ( $\mu\text{m}^3 \times 10^5$ )	240.58 $\pm$ 20.16	227.25 $\pm$ 19.13	191.09 $\pm$ 20.21 <sup>a</sup>	188.16 $\pm$ 20.74 <sup>b</sup>
<b>Medula do ovário</b>				
QA Células estromais (n/mm <sup>2</sup> )	513.2 $\pm$ 85.5	848.4 $\pm$ 80.1 <sup>a</sup>	1109.0 $\pm$ 102.6 <sup>b</sup>	1682.2 $\pm$ 119.8 <sup>c</sup>
Vv veias de sangue (%)	40.28 $\pm$ 5.79	28.71 $\pm$ 6.05 <sup>a</sup>	17.35 $\pm$ 5.23 <sup>b</sup>	6.07 $\pm$ 2.71 <sup>c</sup>

Fonte: Do autor.

Legenda: Grupos: CNT= Controle não tratado; TC1= 5 mg/kg de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona; TC1 = 10 mg/kg de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona; TC1 = 20 mg/kg de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona. Parâmetros analisados: FP= Folículo Primordial; UPF= folículo primário unilaminar; MPF= Folículo primário multilaminar; PAF= Folículo pré-antral; AF= Folículo antral; QA= Densidade numérica; Vv = densidade de volume. Dados expressos em média e desvio padrão. As letras (a, b, c) indicam diferença estatística (P<0,05) em relação a (a) CNT, (b) CNT e TC1; (c) CNT, TC1 e TC2.

A análise microscópica (Figura 17) revelou diferenças significativas na estrutura do oviduto entre os grupos de camundongos tratados e não tratados com 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona. Nos animais não tratados, observou-se uma arquitetura de oviduto caracterizada por pregas mucosas longas e frequentemente ramificadas, que delimitavam um lúmen tubular estreito. Essa conformação estrutural é típica de um oviduto funcional, otimizado para processos fisiológicos normais, como o transporte de gametas. Em contraste, os camundongos tratados com testosterona apresentaram alterações estruturais marcantes, incluindo encurtamento das pregas mucosas, com ramificações reduzidas ou ausentes,

aumento considerável do espaço luminal e adelgaçamento da parede tubular. Essas modificações indicam um impacto adverso do tratamento hormonal sobre a integridade do oviduto, sugerindo uma possível interferência na função reprodutiva. O aumento do espaço luminal e a redução da complexidade das pregas mucosas podem comprometer o ambiente necessário para a fertilização e transporte do embrião, corroborando a hipótese de que o uso de androgênios pode ter consequências negativas na função reprodutiva feminina.

Tabela 3 - Parâmetros microestruturais quantitativos do oviduto em camundongos fêmeas não tratados e tratados com testosterona 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato (TC).

	CNT	TC1	TC2	TC3
<b>Oviduto</b>				
Espessura da parede ( $\mu$ m)	65.83 $\pm$ 9.11	64.29 $\pm$ 10.81	62.22 $\pm$ 10.27	60.35 $\pm$ 10.55
Altura das dobras mucosas ( $\mu$ m)	374.49 $\pm$ 41.02	251.25 $\pm$ 33.12 <sup>a</sup>	136.58 $\pm$ 30.99 <sup>b</sup>	100.17 $\pm$ 27.45 <sup>b</sup>
Largura das dobras mucosas ( $\mu$ m)	57.12 $\pm$ 10.27	55.29 $\pm$ 9.38	55.61 $\pm$ 8.05	53.09 $\pm$ 8.77
Altura do epitélio ( $\mu$ m)	8.73 $\pm$ 0.70	8.41 $\pm$ 0.61	6.88 $\pm$ 0.61 <sup>b</sup>	6.65 $\pm$ 0.52 <sup>b</sup>
Relação área do lúmen/área da parede	0.12 $\pm$ 0.02	0.15 $\pm$ 0.02	0.23 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	0.30 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>

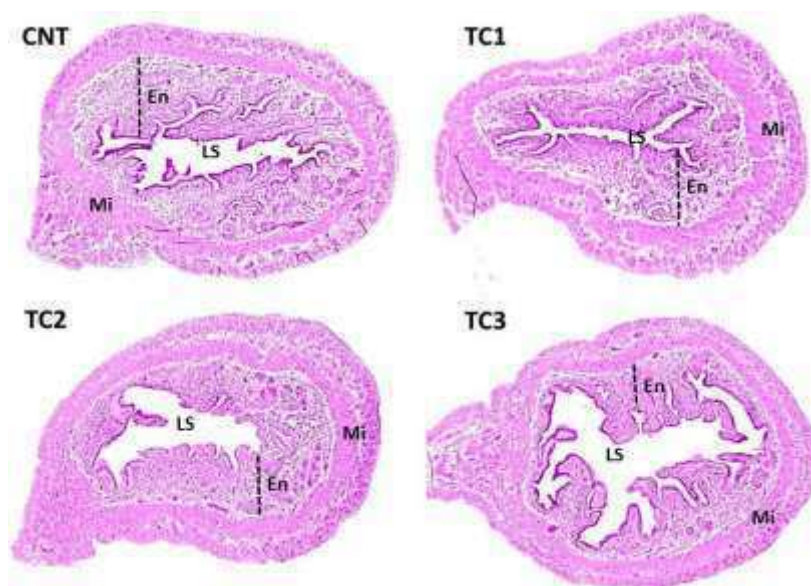
Fonte: Do autor.

Legenda: Grupos: CNT= Controle não tratado; TC1= 5 mg/kg de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona; TC1 = 10 mg/kg de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona; TC1 = 20 mg/kg de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona. Dados expressos em média e desvio padrão. As letras (a, b, c) indicam diferença estatística (P<0,05) em comparação com (a) CNT e (b) CNT e TC1.

Conforme ilustrado na Figura 18, a análise microscópica revelou uma estrutura bem definida do endométrio e miométrio em todos os grupos experimentais. No estrato endometrial, observou-se um epitélio de revestimento claro e uma lâmina própria com espessura variável, além de uma distribuição glandular difusa, características de um útero funcionalmente ativo. Contudo, nos camundongos tratados com 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona, foram identificadas alterações morfológicas significativas, incluindo encurtamento das pregas mucosas, com ramificações diminuídas ou ausentes, expansão do espaço luminal e adelgaçamento da parede tubular. Tais modificações, associadas ao aumento da cavidade uterina, foram particularmente evidentes nos grupos TC2 e TC3.

Além disso, no miométrio, observou-se feixes de músculo liso eosinofílicos bem organizados, envolvidos por tecido conjuntivo. No entanto, nos animais do grupo TC3, o adelgaçamento pronunciado da parede uterina sugere um impacto mais acentuado do tratamento com testosterona. Essas alterações estruturais indicam um remodelamento uterino potencialmente prejudicial, que pode comprometer a função reprodutiva, reforçando a necessidade de cautela no uso de androgênios, dada sua capacidade de alterar a microestrutura dos órgãos reprodutivos femininos.

Figura 17 - Alterações histológicas no útero de camundongos tratados com  $17\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona



Fonte: Do autor.

Legenda: Fotomicrografias representativas do útero de camundongos fêmeas não tratados (CNT) e tratados com diferentes doses de  $17\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona (TC1: 5 mg/kg; TC2: 10 mg/kg; TC3: 20 mg/kg), utilizando coloração com azul de toluidina e fucsina básica (barra de escala = 300  $\mu$ m). Observe-se o espaço luminal (LS), endométrio (En) e miométrio (Mi), destacando alterações estruturais nos grupos tratados, com aumento do espaço luminal e alterações na espessura do endométrio e miométrio em função da dose administrada.

A análise morfológica quantitativa também confirmou que o tratamento com  $17\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona induziu uma evidente remodelação microestrutural uterina (Tabela 4). Conseqüentemente, a espessura da parede uterina e do endométrio, a altura do epitélio e a relação área do lúmen/área da parede foram reduzidas em camundongos tratados com testosterona  $17\beta$ -

ciclopentilpropionato (TC), especialmente em animais TC2 e TC3 em comparação com camundongos não tratados ( $P < 0,05$ ).

Tabela 4 - Parâmetros microestruturais quantitativos uterinos em camundongos fêmeas não tratados e tratados com 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato (TC) de testosterona.

	CNT	TC1	TC2	TC3
<b>Útero</b>				
Espessura da parede ( $\mu\text{m}$ )	92.36 $\pm$ 5.18	89.15 $\pm$ 9.44	80.36 $\pm$ 6.01 <sup>a</sup>	60.11 $\pm$ 7.29 <sup>c</sup>
Espessura do endométrio ( $\mu\text{m}$ )	62.08 $\pm$ 5.16	48.57 $\pm$ 8.32 <sup>a</sup>	44.15 $\pm$ 5.97 <sup>a</sup>	29.34 $\pm$ 6.72 <sup>c</sup>
Espessura do miométrio ( $\mu\text{m}$ )	30.28 $\pm$ 5.14	40.58 $\pm$ 7.19	36.21 $\pm$ 5.93	30.77 $\pm$ 6.15
Altura do epitélio ( $\mu\text{m}$ )	9.08 $\pm$ 0.65	8.84 $\pm$ 0.75	7.28 $\pm$ 0.53 <sup>b</sup>	7.05 $\pm$ 0.46 <sup>b</sup>
Relação área do lumen/área da parede	0.03 $\pm$ 0.01	0.04 $\pm$ 0.02	0.10 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	0.27 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>

Fonte: Do autor.

Legenda: Grupos: CNT= Controle não tratado; TC1= 5 mg/kg de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona; TC1 = 10 mg/kg de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona; TC1 = 20 mg/kg de 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona. Dados expressos em média e desvio padrão. As letras (a, b, c) indicam diferença estatística ( $P < 0,05$ ) em comparação com (a) CNT, (b) CNT e TC1 e (c) CNT, TC1 e TC2.

As análises apresentadas nas Figuras 13 a 18 e nas Tabelas 2 a 4 sugerem que a hipótese de que a testosterona poderia melhorar a resposta ovariana baseia-se em evidências provenientes de estudos prévios em modelos animais. Esses estudos indicam que os andrógenos desempenham um papel fundamental no desenvolvimento folicular, particularmente nas fases iniciais do ciclo ovariano. Um dos mecanismos envolvidos parece ser o aumento da concentração intraovariana de andrógenos, que promove a expressão dos receptores de FSH nas células da granulosa, ampliando assim a sensibilidade dos ovários ao FSH.

Paralelamente, achados clínicos em mulheres com níveis elevados de andrógenos, como aquelas com síndrome dos ovários policísticos ou usuárias de hormônios masculinos exógenos, demonstraram que a exposição a esses hormônios pode resultar em um aumento no número de folículos em desenvolvimento (Ubaldi *et al.*, 2016). Essa observação reforça a relevância do papel dos andrógenos na modulação da função ovariana.

Estudos clínicos subsequentes investigaram essa relação e, em 2015, uma meta-análise publicada pela Biblioteca Cochrane (Nagels *et al.*, 2015) revelou que o uso de testosterona em pacientes com baixa resposta ovariana resultou em um aumento significativo nas taxas de nascidos-vivos. De forma complementar, uma nova meta-análise em 2019 evidenciou que o uso de testosterona melhorou não apenas o número de óvulos maduros e embriões, mas também as taxas de gravidez clínica e nascidos-vivos. No entanto, devido à heterogeneidade dos estudos, ainda não há um consenso definitivo. Contudo, acredita-se que a administração de testosterona antes do ciclo de fertilização pode ser benéfica em pacientes com dificuldades de fertilização (Moro *et al.*, 2019).

Embora haja poucos estudos sobre o impacto dos esteroides anabolizantes androgênicos (EAA) na reprodução feminina, a literatura aponta que, em murinos fêmeas, o tratamento com diferentes EAA resulta na supressão da ciclicidade estral (Bento-Silva *et al.*, 2010; Bond; Smit; De Ronde, 2022; Clark *et al.*, 1998), atrofia ovariana, intensa atresia folicular com formação de estruturas císticas e redução ou ausência de corpos lúteos (Barbonetti; D'andrea; Francavilla, 2020; Bond; Smit; De Ronde, 2022; García-Arnés; García-Casares, 2022). Esses achados também indicam uma diminuição no peso da gônada (Bento-Silva *et al.*, 2010; Bond; Smit; De Ronde, 2022; Clark *et al.*, 1998). No útero, a administração de esteroides anabólicos induz alterações histopatológicas e morfométricas, incluindo aumento do peso uterino (García-Arnés; García-Casares, 2022).

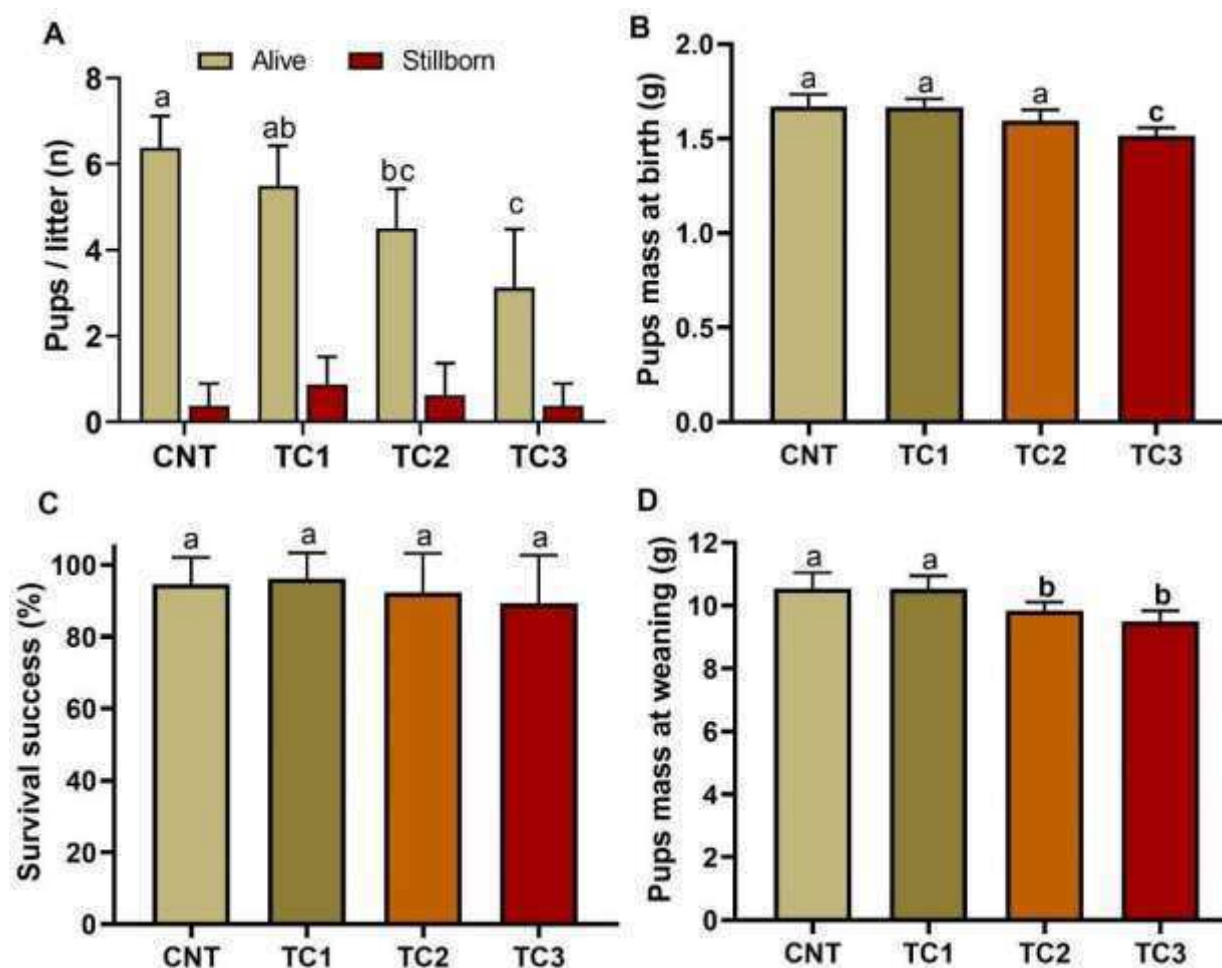
Esses resultados são de extrema importância, considerando o papel da testosterona no desenvolvimento do sistema reprodutor feminino. Segundo Wilson *et al.*, (1981), tanto embriões masculinos quanto femininos se desenvolvem de maneira idêntica nas primeiras fases da gestação. A formação de um fenótipo feminino ocorre quando a gônada indiferenciada se desenvolve em um ovário ou na ausência de uma gônada. No entanto, a diferenciação masculina requer a presença de um testículo funcional, cuja secreção de substância inibidora mülleriana e testosterona é crucial para o desenvolvimento masculino. Estudos de mutações genéticas que interferem na ação androgênica indicam que a testosterona é a responsável pela virilização do sistema de ductos de Wolff, enquanto seu metabólito, a diidrotestosterona, induz o desenvolvimento da próstata e da genitália externa masculina.

Os mecanismos moleculares pelos quais a testosterona e a diidrotestosterona atuam envolvem a ligação a um receptor de alta afinidade, responsável pelo transporte dessas hormonas para o núcleo das células-alvo. Quando esse receptor está ausente ou alterado, as ações hormonais são comprometidas, resultando em anomalias no desenvolvimento das estruturas genitais internas e externas (Wilson *et al.*, 1981).

Dessa forma, conforme argumentado por Cabrera e Rogol (2013), a testosterona desempenha um papel fundamental no desenvolvimento sexual masculino tanto no útero quanto na puberdade. Sua exposição pode resultar em virilização de fetos femininos, precocidade contrassexual em meninas e precocidade isossexual em meninos, enfatizando a complexidade e a relevância dos efeitos androgênicos no desenvolvimento reprodutivo humano.

Conforme mostrado na Figura 19, o ensaio de sucesso reprodutivo revelou uma redução dependente da dose no nascimento de filhotes após o primeiro acasalamento de camundongos fêmeas previamente expostos a 17 $\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona quando emparelhados com machos saudáveis não tratados. A redução no número de filhotes e na massa dos filhotes ao desmame foi preponderante em TC2 e TC3 em comparação aos animais não tratados ( $P < 0,05$ ). Embora o sucesso de sobrevivência tenha sido semelhante em todos os grupos ( $P > 0,05$ ), a massa dos filhotes ao nascer foi reduzida nos animais TC3 em comparação aos outros grupos ( $P < 0,05$ ).

Figura 18 - Avaliação do Desempenho Reprodutivo em Camundongos Fêmeas Tratados com  $17\beta$ -Ciclopentilpropionato de Testosterona: Número de Filhotes, Massa dos Filhotes e Taxa de Sobrevivência



Fonte: Do autor.

Legenda: Representação gráfica do número de filhotes, massa dos filhotes e sucesso de sobrevivência em camundongos fêmeas não tratados (CNT) e tratados com diferentes doses de  $17\beta$ -ciclopentilpropionato de testosterona (TC). Os grupos avaliados foram: CNT (controle não tratado), TC1 (5 mg/kg), TC2 (10 mg/kg) e TC3 (20 mg/kg). O gene *CYP19a1*, relacionado à aromatase, foi monitorado como marcador genético. Os dados são apresentados como mediana e intervalo interquartil, com diferenças estatísticas indicadas por letras distintas ( $P < 0,05$ ). Grupos com letras em comum não apresentam diferenças estatísticas significativas ( $P > 0,05$ ).

Estudo realizado por Barbonetti, D'Andrea e Francavilla (2020) demonstra que a ação dos esteroides sobre o desenvolvimento embrionário variou conforme o período de administração materna e o protocolo utilizado. A pesquisa revelou que o tratamento materno pré-gestacional suprimiu significativamente a capacidade reprodutiva das fêmeas, um efeito preocupante, que deve ser analisado à luz do comportamento sexual dos animais androgenizados. É possível que as fêmeas não

tenham copulado devido à ausência de comportamentos que induzissem a monta pelos machos intactos, como apontam Barbonetti, D'Andrea e Francavilla (2020), corroborados por Bond, Smit e De Ronde (2022) e García-Arnés e García-Casares (2022). Embora a copulação e ovulação possam ter ocorrido, as alterações na morfologia uterina parecem suficientes para explicar a supressão da capacidade reprodutiva, especialmente em virtude de falhas no processo de implantação embrionária.

Os efeitos adversos dos esteroides anabolizantes androgênicos (EAA) na reprodução são atribuídos à sua capacidade de alterar o eixo hipotálamo-hipófise-gônadas, elevando os níveis de andrógenos circulantes e inibindo, assim, a liberação de hormônios luteinizantes (LH) e folículo-estimulantes (FSH). Essa inibição leva à redução da síntese de estrogênio e progesterona, impedindo o crescimento folicular, a ovulação e causando irregularidades no ciclo reprodutivo (Barbonetti; D'andrea; Francavilla, 2020; Bond; Smit; De Ronde, 2022; García-Arnés; García-Casares, 2022). Estudos realizados com decanoato de nandrolona em ratas evidenciam danos morfológicos uterinos dependentes da dosagem (Shoskes; Wilson; Spinner, 2016) e aumentos no peso do útero (Bond; Smit; De Ronde, 2022), além de aciclicidade estral, atrofia ovariana, diminuição dos folículos saudáveis e aumento de folículos atrésicos, comprometendo a função reprodutiva e levando à redução de LH, FSH, estrógeno e progesterona (Barbonetti; D'andrea; Francavilla, 2020).

No estudo de Graceli et al. (2010), o peso corpóreo das ratas tratadas com esteroides foi significativamente maior ( $p < 0,05$ ) em comparação ao grupo controle, embora o peso uterino não tenha sido afetado pelos tratamentos androgênicos. Todavia, o peso ovariano foi reduzido de forma significativa ( $p < 0,05$ ) nas ratas tratadas com testosterona e decanoato de nandrolona em comparação ao grupo controle. Enquanto as fêmeas do grupo controle mantiveram um ciclo estral regular, as fêmeas androgenizadas exibiram aciclicidade estral, caracterizada pela persistência da fase de diestro (Barbonetti; D'andrea; Francavilla, 2020).

A análise histológica do útero indicou que o endométrio foi amplamente afetado pelos esteroides, enquanto o miométrio e perimétrio mantiveram padrões morfológicos similares aos das fêmeas não androgenizadas (Graceli *et al.*, 2010). No grupo controle, o epitélio luminal apresentou um aspecto retilíneo e poucas figuras mitóticas, enquanto nos grupos tratados com decanoato de nandrolona ou

testosterona, o epitélio assumiu um formato papilífero, com sinais de secreção na cavidade uterina. As alterações estruturais no estroma e a presença de áreas hemorrágicas sugerem uma resposta inflamatória exacerbada, possivelmente induzida pelos altos níveis de esteroides circulantes, como evidenciado por Graceli et al. (2010).

Os resultados de Graceli *et al.*, (2010) também revelaram uma redução significativa na espessura do epitélio luminal nas porções proximais do útero em ratas tratadas com testosterona ou decanoato de nandrolona. No entanto, a espessura do miométrio foi significativamente maior ( $p < 0,05$ ) nas porções proximal, medial e distal das ratas tratadas simultaneamente com ambos os esteroides, o que indica um impacto sinérgico dos dois compostos no útero. O perimétrio, por outro lado, não apresentou alterações significativas, exceto nas ratas que receberam a combinação dos hormônios, nas quais foi observada uma espessura aumentada nas porções medial e distal do útero.

No que concerne ao desempenho reprodutivo, nenhuma das ratas androgenizadas apresentou prenhez durante o período experimental pré-gestacional. Embora o tratamento com testosterona ou decanoato de nandrolona não tenha impactado o tamanho da ninhada ( $p > 0,05$ ), o peso fetal foi significativamente menor ( $p < 0,05$ ) no grupo tratado com decanoato de nandrolona, sugerindo efeitos prejudiciais no desenvolvimento embrionário (Barbonetti; D'andrea; Francavilla, 2020; Bond; Smit; De Ronde, 2022).

Adicionalmente, a literatura aponta que os esteroides sexuais desempenham um papel central na regulação do sistema imunológico no trato reprodutivo feminino (Watson; Gametchu, 2001). De acordo com Jones *et al.*, (2004), há uma variação cíclica na infiltração de células imunes no útero, a qual é regulada pelos níveis plasmáticos de estrogênio e progesterona. Hotchkiss *et al.*, (2007) corroboram essa evidência, indicando que o edema endometrial e a intensa secreção luminal observados nas ratas androgenizadas podem estar associados aos altos níveis de hormônios esteroides, especialmente progesterona.

Medeiros, Maitelli e Nince (2007) também destacaram a modulação da resposta imune pelos hormônios sexuais, observando que, enquanto os estrogênios geralmente estimulam a resposta imunológica, os androgênios e a progesterona atuam de forma oposta. Estudos indicam que, em doses baixas, os estrogênios têm um efeito estimulador sobre o sistema imune, mas em doses elevadas, apresentam

um efeito supressor. Além disso, receptores de estrogênio foram identificados em subpopulações específicas de linfócitos, influenciando a função celular e reduzindo a produção de fatores imunorreguladores (Grossman; Rossele; Mendenhall, 1994).

Há evidências de que, após a menopausa, o hipoestrogenismo contribui para alterações no sistema imune das mulheres (Basedovsky; Del Rey, 1996). A interação entre os sistemas imune e endócrino é notória, com ambos os sistemas expressando receptores para hormônios e citocinas, e mediadores endócrinos desempenhando papel na modulação das respostas imunes (Medeiros; Maitelli; Nince, 2007). Em experimentos com modelos animais, foi observado que estradiol e testosterona diminuem a produção de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1, IL-6 e TNF- $\alpha$ , sugerindo um efeito imunossupressor (Miller, 1996).

Por fim, Luchetti *et al.*, (2004) afirmaram que a testosterona não afeta diretamente as células imunossupressoras, enquanto Grossman (1994) indicou que androgênios, como estrogênios, podem suprimir a linfopoiese B através de receptores específicos. Em monócitos humanos, a testosterona tem sido associada à estimulação da síntese de IL-6, sem impactar a produção de TNF- $\alpha$  (Jain *et al.*, 2004).

Diante do exposto, fica evidente que a utilização de esteroides como a testosterona em experimentos animais induz uma ampla gama de distúrbios reprodutivos, imunológicos e comportamentais. Embora muito progresso tenha sido feito na compreensão dos mecanismos de ação dos esteroides, ainda há lacunas que precisam ser preenchidas por meio de estudos mais aprofundados.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de esteroides anabolizantes androgênicos (EAA), especificamente o 17 $\beta$ -Ciclopentilpropionato de Testosterona, demonstrou ter efeitos adversos significativos e dose-dependentes em diversos sistemas biológicos. A pesquisa evidenciou que o consumo deste EAA provoca uma série de distúrbios comportamentais e fisiológicos em camundongos, cuja manifestação varia conforme a dosagem administrada. Este fenômeno é particularmente importante para entender como doses elevadas e prolongadas podem exacerbar os efeitos negativos, fornecendo uma visão crítica sobre os riscos associados ao uso não regulamentado destes compostos.

Primeiramente, os distúrbios comportamentais observados, como agressividade e alterações no padrão de atividade, refletem o impacto direto do 17 $\beta$ -Ciclopentilpropionato de Testosterona no sistema neuroendócrino. O desequilíbrio hormonal induzido pelo EAA interfere na regulação emocional e no comportamento dos animais, evidenciando como doses excessivas podem causar modificações comportamentais adversas. Esses achados ressaltam a importância de monitorar cuidadosamente os efeitos psicológicos e comportamentais relacionados ao uso de esteroides anabolizantes.

Além dos impactos comportamentais, os efeitos sobre os sistemas reprodutivos e hormonais são igualmente preocupantes. O estudo demonstrou que o 17 $\beta$ -Ciclopentilpropionato de Testosterona induz alterações significativas nos órgãos reprodutivos, incluindo ovários e útero, com efeitos negativos visíveis tanto em doses baixas quanto altas. A alteração na função ovariana e uterina compromete a saúde reprodutiva dos camundongos, o que pode ter implicações diretas para a fertilidade e a integridade do sistema reprodutivo. Esta relação dose-dependente reforça a necessidade de uma abordagem cautelosa em relação ao uso de esteroides, especialmente em contextos de manipulação hormonal.

A evidência de distúrbios ovarianos e uterinos, além dos efeitos comportamentais, destaca a gravidade das consequências do uso de esteroides anabolizantes, especialmente quando administrados em doses elevadas. A pesquisa sublinha que, mesmo a dosagens terapêuticas, os riscos de efeitos adversos não podem ser ignorados, e que os impactos podem variar de irreversíveis a reversíveis. Estes resultados sublinham a importância de regulamentação e supervisão no uso

de esteroides, considerando o potencial de danos prolongados e significativos para a saúde dos indivíduos.

Por fim, a abordagem dose-dependente utilizada na pesquisa proporciona uma compreensão detalhada dos riscos associados ao uso de 17 $\beta$ -Ciclopentilpropionato de Testosterona, enfatizando a necessidade de estratégias preventivas e educacionais. A identificação e a compreensão dos efeitos adversos relacionados ao uso de esteroides anabolizantes são essenciais para proteger a saúde dos usuários e prevenir os danos associados. Medidas regulatórias e conscientização pública são cruciais para mitigar os riscos e garantir uma abordagem segura e informada no uso de substâncias hormonais.

## REFERÊNCIAS

ACUÑA, M. C. **Implantes hormonais e terapia de reposição hormonal na menopausa: Uma revisão de literatura**. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) - apresentado ao curso de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco como requisito para aprovação do TCC. 2019.

ALBANO, G. D.; AMICO, F.; COCIMANO, G.; *et al.* Adverse Effects of Anabolic-Androgenic Steroids: A Literature Review. **Healthcare**. v. 19, n. 9, p. 97. 2021.

ALEMANY, M. The Roles of Androgens in Humans: Biology, Metabolic Regulation and Health. **Int J Mol Sci**. v. 8, n. 23, p. 11952. 2022.

ALOISI, A. M.; BONIFAZI, M. Sex hormones, central nervous system and pain. **Horm Behav**. v. 50, n. 1, p. 1-7. 2006.

ANAWALT, B. D. Diagnosis and Management of Anabolic Androgenic Steroid Use. **J Clin Endocrinol Metab**. v. 1, n. 104, p. 2490-2500. 2019.

ARAÚJO, J. C. R.; *et al.* Principais biomarcadores de lesão renal em usuários de anabolizantes: uma revisão integrativa de literatura. **Res Soc Develop**. v. 11, n. 9, p. e53011932108. 2022.

ARCHER, J. Sex differences in social behavior: Are the social role and evolutionary explanations compatible? **Americ Psychol**. v. 51, n. 9, p. 909- 917. 1996.

ARMSTRONG, J. M.; *et al.* Impact of anabolic androgenic steroids on sexual function. **Translat Androl Urol**. v. 7, n. 3, p. 483-489. 2018.

AUPPERLE, H.; *et al.* Cyclical endometrial steroid hormone receptor expression and proliferation intensity in the mare. **Equin Veter J**. v. 32, n. 3, p. 228-232. 2000.

Baerwald, A. R.; Adams, G. P.; Pierson, R. A. Ovarian antral folliculogenesis during the human menstrual cycle: a review. **Hum Reprod Update**. v. 18, n. 1, p. 73-91. 2012.

BANNON, A. W.; MALMBERG, A, B. Models of nociception: hot-plate, tail-flick, and formalin tests in rodents. **Curr Protoc Neurosci**. c. 8, u. 8,9. 2007.

BARBONETTI, A.; D'ANDREA, S.; FRANCAVILLA, S. Testosterone replacement therapy. **Andrology**. v. 8, n. 6, p. 1551-1566. 2020.

BARRETO-ESTRADA, J. L.; PARRILLA-CARRERO, J.; JORGE, J.C. Exposure to an anabolic steroid changes female mice's sexual responses according to sex partner. **J Sex Med**. v. 4, n. 4, p. 878-85. 2007.

BASEDOVSKY, H. O.; DEL REY, A. Immune-neuro-endocrine interactions: facts and hypotheses. **Endocr Rev**. v. 17, n. 1, p. 64-102. 1996.

BAYER. **DIANE®** **35**. Disponível em: <https://pharma.bayer.com.br/pt/produtos/produtos-bulas/visualiza-produto.php?codigo=diane-35>. Acesso em: 19 maio 2023.

BAZER, F. W.; *et al.* Comparative aspects of implantation. **Reproduction**. v. 138, n. 2, p. 195-209, 2009.

BENTO-SILVA, M. T.; *et al.* Effects of administering testosterone undecanoate in rats subjected to physical exercise: effects on the estrous cycle, motor behavior and morphology of the liver and kidney. **Braz J Pharm Sci**. v. 46, p. 79-89. 2010.

BETHEA, C. L. *et al.* Protective actions of ovarian hormones in the serotonin system of macaques. **Front Neuroendocrinol**. v. 30, n. 2, p. 212-238. 2009.

BIENENFELD, A.; AZARCHI, S.; LO SICCO, K.; MARCHBEIN, S.; SHAPIRO, J.; NAGLER, A. R. Androgens in women: Androgen-mediated skin disease and patient evaluation. **J Am Acad Dermatol**. v. 80, n. 6, p. 1497-1506. 2019.

BING, O.; HEILIG, M.; KAKOULIDIS, P.; SUNDBLAD, C.; WIKLUND, L.; ERIKSSON, E. High doses of testosterone increase anticonflict behavior in rat. **Eur Neuropsych**. v. 8, n. 4, p. 321-323, 1998.

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

BOND, P.; SMIT, D. L.; DE RONDE, W. Anabolic-androgenic steroids: How do they work and what are the risks? **Front Endocrinol (Lausanne)**. v. 19, n. 13, p. 1059473. 2022.

BREUR, M. E.; MCGINNIS, M. Y.; LUMIA, A. R.; POSSODENTE, B. P. Aggression in male rats receiving anabolic androgenic steroids: effects of social and environmental provocation. **Horm Behav.** v. 40, n. 3, p. 409-418. 2001.

BRONSON, F. H. Effects of prolonged exposure to anabolic steroids on the behavior of male and female mice. **Pharmacol Biochem Behav.** v. 53, n. 2, p. 329-34. 1996b.

BRONSON, F. H.; NGUYEN, K.Q.; DE LA ROSA, J. Effect of anabolic steroids on behavior and physiological characteristics of female mice. **Physiol Behav.** v. 59, n. 1, p. 49-55. 1996a.

BROOKS, J. H.; REDDON, J. R. Serum testosterone in violent and nonviolent young offenders. **J Clin Psychol.** v. 52, n. 4, p. 475-483. 1996.

CABRERA, S. M.; ROGOL, A. D. Testosterone exposure in childhood: discerning pathology from physiology. **Ex Op Drug Saf.** v. 12, n. 3, p. 375-388. 2013.

CAMPORTEZ, J. P. **Sistema reprodutor feminino.** Departamento de Fisiologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 2021. Disponível em: [https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/5353042/mod\\_resource/content/1/Sistema%20Reprodutor%20Feminino.pdf](https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/5353042/mod_resource/content/1/Sistema%20Reprodutor%20Feminino.pdf). Acesso em: 18 set. 2024.

CARVALHO, R. L. C.; FARIAS, T. B. C. **Uso de Esteroides Anabolizantes Androgênicos e Suas Repercussões Cardiovasculares.** rc [Internet]. v. 2, n. 3, p. 137-54. 2022.

CASTILHO, B. V.; RUELA, L. P.; GRASSELLI, L. M.; *et al.* Esteroides anabolizantes androgênicos: conscientização sobre uso indiscriminado, utilização na terapêutica e relação risco-benefício. **Vittalle**, v. 33, n. 3, p. 89-95. 2022.

ÇATAKOĞLU, A. B.; KENDIRCI, M. Testosterone replacement therapy and cardiovascular events. **Turk Kardiyol Dern Ars.** v. 45, n. 7, p. 664-672. 2017.

CELEC, P.; OSTATNÍKOVÁ, D.; HODOSY, J. On the effects of testosterone on brain behavioral functions. **Front Neurosci.** v. 9, n. 12. 2015.

CHEN, X.; JI, Z. L.; CHEN, T. Z. Therapeutic target database. **Nucleic Acides Res.** v. 1, n. 30, p. 412-415. 2002.

CHRISTOU, G. A.; CHRISTOU, M. A.; ŽIBERNA, L.; CHRISTOU, K. A. Indirect clinical markers for the detection of anabolic steroid abuse beyond the conventional doping control in athletes. **Eur J Sport Sci**. v. 19, n. 9, p. 1276-1286. 2019.

CISNEIROS, M. G. R.; *et al.* O uso de anabolizantes e suas consequências: revisão de literatura. **Brazil J Heal Rev**. v. 4, n. 6, p. 27986-27997. 2021.

CLARK, A. M.; THORNLEY, B.; TOMLINSON, L.; GALLETLEY, C.; NORMAN, R. J. Weight loss in obese infertile women results in improvement in reproductive outcome for all forms of fertility treatment. **Hum Reprod**. v. 13, n. 6, p. 1502-1505, 1998.

CLARK, A. S.; FAST, A. S. Comparison of the effects of 17 alpha- methyltestosterone, methandrostenolone, and nandrolone decanoate on the sexual behavior of castrated male rats. **Behav Neurosci**. v. 110, n. 6, p. 1478- 86. 1996.

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

CODERRE, T. J. *et al.* Contribution of central neuroplasticity to pathological pain: review of clinical and experimental evidence. **Pain**. v. 52, p. 259-285, 1993.

CONDE, D. M. *et al.* Qualidade de vida de mulheres com câncer de mama. **Rev Brasil Ginecol Obstet**. v. 28, n. 3, p. 195-204. 2006.

COLVIN, C. W.; ABDULLATIF, H. Anatomy of female puberty: The clinical relevance of developmental changes in the reproductive system. **Clin Anat**. v. 26, n. 1, p. 115-29. 2013.

SOARES JÚNIOR, J. M.; MARANHÃO, T. M. O. recommendations for the use of testosterone in male transgender. **Rev Bras Ginecol Obstet** v. 40, n. 5, p. 275-280. 2018.

CUNHA, L. F. B. *et al.* Uso progressivo de anabolizantes: abordando efeitos desejados e malefícios causados a jovens e atletas. **Temas em Saúde**. v. 17, p. 249-259. 2017.

CUNHA, T. S.; CUNHA, N. S.; MOURE, M. J. C. S.; *et al.* Esteroides anabólicos androgênicos e sua relação com a prática desportiva. **Rev Brasil Ciênci Farmac**. v. 40, n. 2, p. 165-179. 2004.

CUNNINGHAM, J.; LOCATELLI, F.; RODRIGUEZ, M. Secondary hyperparathyroidism: pathogenesis, disease progression, and therapeutic. **Options. Clin J Am Soc Nephrol.** v. 6, n. 4, p. 913-21. 2011.

CUSSEN, L.; MCDONNELL, T.; BENNETT, G.; THOMPSON, C. J.; SHERLOCK, M.; O'REILLY, M. W. Approach to androgen excess in women: Clinical and biochemical insights. **Clin Endocrinol.** v. 97, n. 2, p. 174-186. 2022.

DE SOUZA SILVA, M. A.; MATTERN, C.; TOPIC, B.; BUDDENBERG, T. E.; HUSTON, J. P. Dopaminergic and serotonergic activity in neostriatum and nucleus accumbens enhanced by intranasal administration of testosterone. **Eur Neuropsychopharmacol.** v. 19, p. 53-63, 2009.

DIAGRAMA DO CICLO OVARIANO. 2024. Disponível em: <[Sistema Reprodutor Feminino | Atlas da Saúde \(atlasdasaude.pt\)](#)>. Acesso em: 24 set. 2024.

DIAS, A. M. A. **Inibidores da Aromatase e Cancro da Mama: Avaliação biológica de novas moléculas esteroides.** 2009. 72f. Dissertação (Mestrado em Toxicologia Analítica Clínica e Forense) - Universidade do Porto.

DINIZ, G.; MUNIZ, B. V. Uso de esteroides anabolizantes e os efeitos psicológicos. **Rev Cient Elet Aplic FAIT.** v. 2, p. 1-14. 2020.

DUBUISSON, D.; DENNIS, S. G. The formalin test: a quantitative study of analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. **Pain.** v. 4, p. 161-174. 1977.

ESCOBAR-MORREALE, H. F. Polycystic ovary syndrome: Definition, aetiology, diagnosis and treatment. **Nat. Rev. Endocrinol.** v. 14, p. 270-284. 2018.

FAVARO-MOREIRA, N. C.; *et al.* Gonadal hormones modulate the responsiveness to local beta-blocker-induced antinociception in the temporomandibular joint of male and female rats. **Eur J Pain,** v. 19, n. 6, p. 772-780. 2015.

JUHASZ, A. Health-related toxicity of emerging per- and polyfluoroalkyl substances: Comparison to legacy PFOS and PFOA. **Environ Res.** v. 212, p. 113431. 2022.

FELGUEIRAS, G. O. **Esteroides Androgênicos Anabolizantes e Infertilidade Masculina.** Artigo de revisão bibliográfica. Dissertação de candidatura ao grau de

Mestre em Medicina, submetida ao Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar - Universidade do Porto, 2022.

FELIZARDO, A. A.; CALDAS, I. S.; MENDONÇA, A. A. S.; *et al.* Impact of *Trypanosoma cruzi* infection on nitric oxide synthase and arginase expression and activity in young and elderly mice. **Free Radic Biol Med.** v. 129, p. 227-236. 2018.

FERREIRA, T. Z. **Mecanismo de Ação dos Hormônios.** Seminário apresentado à disciplina Bioquímica do Tecido Animal, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2013.

FINK, J.; SCHOENFELD, B. J.; NAKAZATO, K. The role of hormones in muscle hypertrophy. **Phys Sportsmed.** v. 46, n. 1, p. 129-134. 2018.

FISCHER, L.; CLEMENTE, J. T.; TAMBELLI, C. H. The protective role of testosterone in the development of temporomandibular joint pain. **Pain.** v. 8, n. 5, p. 437-442. 2007.

FRAGKAKI, A. G.; ANGELIS, Y. S.; KOUPPARIS, M.; *et al.* Structural characteristics of anabolic androgenic steroids contributing to binding to the androgen receptor and to their anabolic and androgenic activities. Applied modifications in the steroidal structure. **Steroids.** v. 74, n. 2, p. 172-97. 2009.

FREITAS, D. F. *et al.* Análise da percepção dos praticantes de atividade física sobre os efeitos colaterais originados pelo uso de esteroides anabolizantes nas academias do município de Ilícinea-MG. **Rev Univ Vale do Rio Verde.** v. 16, n. 2, p. 1-9. 2018.

GARCÍA-ARNÉS, J. A.; GARCÍA-CASARES, N. Doping and sports endocrinology: anabolic-androgenic steroids. **Rev Clin Esp.** v. 222, n. 10, p. 612-620. 2022.

GIAMMANCO, M. *et al.* Testosterone and aggressiveness. **Med Sci Monit.** v. 11, n. 4, p. RA136-45, 2005.

GOLDMAN, A. L.; POPE, H. G.; BHASIN, S. The Health Threat Posed by the Hidden Epidemic of Anabolic Steroid Use and Body Image Disorders Among Young Men. **J Clin Endocrinol Metab.** v. 1; n. 104, p. 1069-1074. 2019.

GOLDMAN, J. M.; MURR, A. S.; COOPER, R. L. The rodent estrous cycle: characterization of vaginal cytology and its utility in toxicological studies. **Birth**

**Defects Res B Dev Reprod Toxicol.** v. 80, n. 2, p. 84-97. 2007.

GONÇALVES, R. V.; SANTOS, J. D. B.; SILVA, N. S.; *et al.* Trans-fatty acids aggravate anabolic steroid-induced metabolic disturbances and differential gene expression in muscle, pancreas and adipose tissue. **Life Sci.** v. 232, p. 116603. 2019.

GRACELI J. B. *et al.* Uso crônico de decanoato de nandrolona como fator de risco para hipertensão arterial pulmonar em ratos Wistar. **Rev Bras Med Esporte.** v. 16, n. 1. 2010.

GRIFFIN, J.; EMERY, B. R.; HUANG, I.; PETERSON, C. M.; CARRELL, D. T. Comparative analysis of follicle morphology and oocyte diameter in four mammalian species (mouse, hamster, pig, and human). **J Exp Clin Assist Reprod.** v. 3, p. 2. 2006.

GRIMSTAD, F. W.; FOWLER, K. G.; NEW, E. P.; *et al.* Patologia uterina em transgêneros masculinos em uso de testosterona: estudo retroativo multicêntrico de séries de casos. **Amer J Obst Gynecol.** v. 220, n. 3, p. e1-7. 2019.

GROSSMAN, C. J.; ROSSELE, G. A.; MENDENHALL, C. L. Sex steroid regulation of autoimmunity. **J Steroid Biochem Mol Biol.** v. 40, n. 4-6, p. 649- 59. 1994.

GRYNBERG, M.; FANCHIN, R.; DUBOST, G.; *et al.* Histology of the genital tract and breast tissue after long-term testosterone administration in a female-to-male transsexual population. **Reprod Biomed Online.** v. 20, n. 4, p. 553-8. 2010.

HARRIS, J. *et al.* Salivary testosterone and self-report aggressive and pro-social personality characteristics in men and women. **Agres Behav.** v. 22, p. 321-331. 1996.

HARTT, L. S.; CARLING, S. J.; JOYCE, M. M.; JOHNSON, G. A.; VANDERWALL, D. K.; OTT, T. L. Temporal and spatial associations of oestrogen receptor alpha and progesterone receptor in the endometrium of cyclic and early pregnant mares. **Reproduction.** v. 130, p. 241-250, 2005.

HATAKA, Y. *et al.* Androgen rapidly increases dendritic thorns of CA3 neurons in male rat hippocampus. **Biochem Biophys Res Commun.** v. 381, p. 728-732. 2009.

HEMBREE, W. C.; COHEN-KETTENIS, P. T.; GOOREN, L.; HANNEMA, S. E.; MEYER, W. J.; MURAD, M. H. Endocrine Treatment of Gender- Dysphoric/Gender-

Incongruent Persons: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. **J. Clinical Endocrinol Metabol.** v. 102, n. 11, p. 3869-3903. 2017.

HILL, C. M.; ANWAY, M. D.; ZIRKIN, B. R. Intratesticular androgen levels, androgen receptor localization, and androgen receptor expression in adult rat Sertoli cells. **Biol Reprod.** v. 71, p. 1348-1358. 2004.

HILLIER, S. G.; TETSUKA, M.; FRASER, H. M. Location and developmental regulation of androgen receptor in primate ovary. **Hum Reprod.** v. 12, p. 107 -111. 1997.

HOBERMAN, J. **Testosterone Dreams: Rejuvenation, Aphrodisia, Doping.** University of California Press: Berkeley and Los Angeles, California, USA. p.134. 2005.

HOFFMAN, J. R.; RATAMESS, N. A. Medical issues associated with anabolic steroid use: are they exaggerated? **J Sports Sci Med.** v. 5, n. 2, p. 182-93. 2006.

HORIE, K.; TAKAKURA, K.; FUJIWARA, H. Immunohistochemical localization of androgen receptor in the human ovary throughout the menstrual cycle in relation to oestrogen and progesterone receptor expression. **Hum Reprod.** v. 7, n. 2, p. 184-190. 1992.

HORWITZ, H.; ANDERSEN, J. T.; DALHOFF, K. P. Health consequences of androgenic anabolic steroid use. **J Internal Medicine.** v. 285, p. 333-340. 2019.

HOTCHKISS, A. K.; FURR, J.; MAKYNEN, E. A.; ANKLEY, G. T.; GRAY, L. E. JR. In utero exposure to the environmental androgen trenbolone masculinizes female Sprague-Dawley rats. **Toxicol Lett.** v. 174, n. 1-3, p. 31-41. 2007.

HUFFMAND, L., HENDRICKS, S. E. Prenatally injected testosterone propionate and sexual behavior of female rats. **Physiology & Behavior,** v. 26, n. 5, p.773-778. 1981.

HUGHES, I. A. Minireview: sex differentiation. **Endocrinology.** v. 142, p. 3281- 3287, 2001.

IDE, V.; VANDERSCHUEREN, D.; ANTONIO, L. Treatment of men with central hypogonadism: alternatives for testosterone replacement. **Therapy. Int J Mol Sci.** v. 22, n. 1, p. 21, 2020.

IMPERLINI, E.; MANCINI, A.; ALFIERI, A.; et al. Molecular effects of supraphysiological doses of doping agents on health. **Mol Biosyst.** v. 11, n. 6, p. 1494-506. 2015.

IRWIG, M. S. Testosterone therapy for transgender men. **Lancet. Diabetes & Endocrinol.** v. 5, n. 4, p. 301-311. 2017.

JAIN, S. K.; KANNAN, K.; PROUTY, L.; JAIN, S. K. Progesterone, but not 17 $\beta$ -estradiol, increases TNF- $\alpha$  secretion in U937 monocytes. **Cytokine.** v. 26, n. 3, p. 102-5. 2004.

JOHNSON, M. L.; DAY, A. E.; HO, C. C. WALKER, D.; FRANCIS, R.; KUHN, C.M. Androgen decreases dopamine neurone survival in rat midbrain. **J neuroendocrinol.** v. 22, p. 238-247. 2010.

JONES, R. L.; *et al.* Identification of chemokines important for leukocyte recruitment to the human endometrium at the times of embryo implantation and menstruation. **J Clin Endocrinol Metab.** v. 89, n. 12, p. 6155-67. 2004.

JONES, I. A.; *et al.* Anabolic steroids and tendons: A review of their mechanical, structural, and biologic effects. **J Orthop Resear.** v. 36, n. 11, p. 2830-2841, 2018.

KADI, F. Cellular and molecular mechanisms responsible for the action of testosterone on human skeletal muscle. A basis for illegal performance enhancement. **Br J Pharmacol.** v. 154, n. 3, p. 522-8. 2008.

KALIAPPAN, S.; SIMONE, D. A.; BANIK, R. K. Nonlinear Inverted-U Shaped Relationship Between Aging and Epidermal Innervation in the Rat Plantar Hind Paw: A Laser Scanning Confocal Microscopy Study. **J Pain.** v. 19, n. 9, p. 1015- 1023. 2018.

KALININE, E. **Efeitos do decanoato de nandrolona na homeostasia glutamatérgica e no comportamento agressivo.** Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas como requisito para obtenção do título de doutor da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2014.

KANAKIS, G. A.; NORDKAP, L.; BANG, A. K.; *et al.* EAA clinical practice guidelines-gynecomastia evaluation and management. **Andrology.** v. 7, n. 6, p. 778-793, 2019.

KHALIFA, M. A.; TOYAMA, A.; KLEIN, M. E.; SANTIAGO, V. Histologic features of hysterectomy specimens from female-male transgender individuals. **Int J Gynecol Pathol.** v. 38, n. 6, p. 520-527. 2018.

KHAN, S. A.; *et al.* Follicle-stimulating hormone amplifies insulin-like growth factor I-mediated activation of AKT/protein kinase B signaling in immature rat Sertoli cells. **Endocrinol.** v. 143, n. 6, p. 2259-67. 2002.

KICMAN, A. T. Pharmacology of anabolic steroids. **Br J Pharmacol.** v. 154, n. 3, p. 502-21. 2008.

KIPP, J. L.; KILEN, S.M.; WOODRUFF, T., MAYO, K. E. Activin regulates estrogen receptor gene expression in the mouse ovary. **J Biol Chem.** v. 282, n. 50, p. 36755-65. 2007.

KUMARENDRAN, B. *et al.* Polycystic ovary syndrome, androgen excess, and the risk of nonalcoholic fatty liver disease in women: A longitudinal study based on a United Kingdom primary care database. **PLoS Med.** v. 15, p. e1002542. 2018.

LAMBADJIEVA, N. D. Influence of testosterone on some behavioral reactions of male immature rats. **Methods Find Exp Clin Pharmacol.** v. 20, n. 8, p. 673-7. 1998.

LEAL, M. F. *et al.* Early enrichment of ESR1 mutations and the impact on gene expression in presurgical primary breast cancer treated with aromatase inhibitors. **Clin Cancer Res.** v. 25, n. 24, p. 7485-7496. 2019.

JUEBNER, M. Death after misuse of anabolic substances (clenbuterol, stanozolol and metandienone). **Forensic Sci Int.** v. 303, p. 109925. 2019.

LERESCHE, L. **Epidemiologic perspectives on sex differences in pain.** In: Fillingim RB (ed). Sex, Gender and Pain. Progress in Pain Research and Management Seattle:IASP Press, 2000. pp. 233-249.

LEVI, M.; KAPLAN-KRAICER, R.; SHALGI, R. Regulation of division in mammalian oocytes: implications for polar body formation. **Mol Hum Reprod.** v. 17, n. 5, p. 328-34. 2011.

LIAO, B.; QI, X.; YUN, C.; QIAO, J. Effects of androgen excess-related metabolic disturbances on granulosa cell function and follicular development. **Front**

**Endocrinol.** v. 14, n. 13, p. 815968. 2022.

LIZ, C. M.; SACILOTO, P. W.; DOMINSKI, F. H.; VILARINO, G. T. Fatores associados à dismorfia muscular em praticantes de treinamento de força em academias: revisão sistemática. **R Bras Ci Mov.** v. 26, n. 1, p. 200-212. 2018.

LLEWELLYN, W. **Anabolics.** Molecular Nutrition Llc. pp. 212-216. 2019.

LORENZ, V.; PACINI, G.; LUQUE, E. H.; VARAYOUD, J.; MILESI, M. M. Perinatal exposure to glyphosate or a glyphosate-based formulation disrupts hormonal and uterine milieu during the receptive state in rats. **Food Chem Toxicol.** v. 143, p. 111560, 2020.

LOVERRO, G.; RESTA, L.; DELLINO, M.; *et al.* Uterine and ovarian changes during testosterone administration in young female-to-male transsexuals. **Taiwan J Obstet Gynecol.** v. 55, n. 5, p. 686-91. 2016.

LUCHETTI, C. G.; SOLANO, M. E.; SANDER, V.; *et al.* Effects of dehydroepiandrosterone on ovarian cystogenesis and immune function. **J Reprod Immunol.** v. 64, n. 1-2, p. 59-74. 2004.

LUO, S. X.; HUANG, E. J. Dopaminergic neurons and brain reward pathways: From neurogenesis to circuit assembly. **American J Pathol.** v. 186, n. 3, p. 478- 488, 2016.

MACLEAN, J. A.; HAYASHI, K. Progesterone Actions and Resistance in Gynecological Disorders. **Cells.** v. 13, n. 11, s. 4, p. 647. 2022.

MARTIN, I. Avaliação ultrassonográfica, perfil hormonal e **imunoistoquímica de estrógeno e progesterona durante o ciclo estral em vacas Nelore(Bos taurus indicus)**. 2005. 140 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2005.

MARTINEZ-SANCHIS, S.; AMEDO, M. T.; SALVADOR, A.; MOYA-ALBIOL, L.; GONZALEZ-BONO, E. Effects of chronic administration with high doses of testosterone propionate on behavioral and physiological parameters in mice differing basal aggressiveness. **Agg Behav.** v. 29, p. 173-189. 2003.

MARTINS, C. M.; CARIJÓ, F. H.; DE ALMEIDA, M. C.; *et al.* Efeitos psicológicos do abuso de anabolizantes. **Cien Cogn.** v. 50. 2022.

MAZUR, A.; BOOTH, A. Testosterone and dominance in men. **Behav Brain Sci.** v. 21, n. 3, p. 353-397. 1998.

MCGINNIS, M. Y. Anabolic androgenic steroids and aggression studies using animal models. **Ann N Y Acad Sci.** v. 1036, p. 399-415. 2004.

MEDEIROS, S. F.; MAITELLI, A.; NINCE, A. P. B. Efeitos da terapia hormonal na menopausa sobre o sistema imune. **Rev Bras Ginecol Obstet.** v. 29, n. 11. 2007.

MENG, L.; COLEMAN, V.; ZHAO, Y.; et al. Pseudo-starvation driven energy expenditure negatively affects ovarian follicle development. **Int J Mol Sci.** v. 22, n. 7, p. 3557. 2021.

MERINO, E.; BORREGO, U. F. J.; MARTÍNEZ, A. M.; BORREGO, H. J.; PÉREZ, D. B. M. P. Kidney damage due to the use of anabolic androgenic steroids and practice of bodybuilding. **Nefrologia.** v. 38, n. 1, p. 101-103. 2018.

MILLER, R. A. The aging immune system: primer and prospectus. **Sci.** v. 273, n. 5271, p. 70-4. 1996.

MILLER, W. L. Molecular biology of steroid hormone synthesis. **Endocr Rev.** v. 9, n. 3, p. 295-318. 1988.

MONTIE, J. E.; PIENTA, K. J. Review of the role of androgenic hormones in the epidemiology of benign prostatic hyperplasia and prostate cancer. **Urology.** v. 43, n. 6, p. 892-9. 1994.

MORO, A. Q. Infertility among women with Graves's disease or **Hashimoto's thyroiditis**. Dissertação. Universidade estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas, 2019.

NAGELS, H. E. et al. Androgens (dehydroepiandrosterone or testosterone) for women undergoing assisted reproduction. **Cochrane Database Syst Rev.** v. 26, n. 11. 2015.

NANKIN, H. R. Hormone kinetics after intramuscular testosterone cypionate. **Fertility and Sterility.** v. 47, n. 6, p. 1004-9. 1987.

NASCIMENTO, K. S. Neurotransmissor serotoninérgico em relação a doenças

psíquicas e seus fatores nutricionais: uma revisão sistemática. **Res Soc Develop.**; v. 11, n. 2, p. e56011226168. 2022.

NGUYEN, T-V.; V.; YAO, M.; PIKE, C. J. Androgens activate mitogen-activated protein kinase signaling: role in neuroprotection. **J Neurochem.** v. 94, n. 6, p. 1639-51. 2005.

NIESCHLAG, E.; BEHRE, H. M.; NIESCHLAG, S. **Testosterone: Action, Deficiency, Substitution.** Cambridge University Press. pp. 315. 2012.

NOVAES, R. D.; MOURO, V. G. S.; GONÇALVES, R. V.; *et al.* Aluminum: A potentially toxic metal with dose-dependent effects on cardiac bioaccumulation, mineral distribution, DNA oxidation and microstructural remodeling. **Environ Pollut.** v. 242, n. Pt A, p. 814-826. 2018.

NUNES, A. C. C. A.; *et al.* Efeitos indiscriminado do uso de esteroides anabólicos androgênico no sistema cardiovascular. **Braz J Develop.** v. 6, n. 12, p. 101229-101240, 2020.

CROWE, M. A. expression and localization of progesterone and oestrogen receptors in the bovine uterus. **Reproduction.** v. 140, p. 143-153, 2010.

ONAOAPO, O. J.; *et al.* exogenous testosterone, aging, and changes in behavioral response of gonadally intact male mice. **Sleep Science.** 2016.

OTT, T. L.; MIRANDO, M. A.; STEVENS, C.; HARNEY, J. P.; OGLE, T. F.; BAZER, F. W. Changes in progesterone and oestrogen receptor mRNA and protein during maternal recognition of pregnancy and luteolysis in ewes. **J Mol Endocrinol.** v. 10, p. 171-183, 1993.

PASK, A. The reproductive system. **Adv Exp Med Biol.** v. 886, p. 1-12. 2016.

PAYNE, A. H.; HARDY, M. P. **The leydig cell in health and disease.** Springer Science & Business Media. pp. 423. 2007.

PEDERSEN, T.; PETERS, H. Proposal for a classification of oocytes and follicles in the mouse ovary. **J Reprod Fertil.** v. 17, n. 3, p. 555-7. 1968.

PENATTI, C. A.; PORTER, D. M.; HENDERSON, L. P. Chronic exposure to anabolic

androgenic steroids alters neuronal function in the mammalian forebrain via androgen receptor- and estrogen receptor-mediated mechanisms. **J Neurosci**. v. 29, n. 40, p. 12484-96. 2009.

PERRONE, A. M.; *et al.* Effect of long-term testosterone administration on the endometrium of female-to-male (FtM) transsexuals. **J Sex Med**. v. 6, n. 11, p. 3193-200. 2009.

PERRY, P. J.; LUND, B. C.; DENINGER, M. J.; KUTSCHER, E. C.; SCHNEIDER, J. Anabolic steroid use in weightlifters and bodybuilders: an internet survey of drug utilization. **Clin J Sport Med**. v. 15, n. 5, p. 326-30. 2005.

PFIZER. Depo-Testosterone; testosterone cypionate injection, US (PDF), 2018. Disponível em: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2018/085635s040lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2018/085635s040lbl.pdf). Acesso em: 15 set 24.

U.S. Food and Drug Administration. Disponível em: <https://labeling.pfizer.com/ShowLabeling.aspx?id=548>. Acesso em: 10 mai 23.

PURVES-TYSON, T. D.; HANDELSMAN, D. J.; DOUBLE, K. L.; OWENS, S. J.; DESAI, R.; WEICKERT, C. S. Testosterone induces molecular changes in dopamine signaling pathway molecules in the adolescent male rat nigrostriatal pathway. **PLOS one**, v. 9, n. 3, p. e91151. 2014.

RAMOS, A. Animal models of anxiety: do I need multiple tests? **Tren Pharmacol Sci**. v. 29, n. 10, p. 493-498. 2002.

RUIZ-GARCÍA, A.; ROCO, Á. S.; BULLEJOS, M. Sex differentiation in amphibians: effect of temperature and its influence on sex reversal. **Sex Dev**. v. 15, n. 1-3, p. 157-167. 2021.

REINERT, T.; GONÇALVES, R.; BINES, J. Implications of ESR1 mutations in hormone receptor-positive breast cancer. **Curr Treat Options Oncol**. v. 17, n. 19, s. 5, p. 24. 2018.

ROHDEN, F. O homem é mesmo a sua testosterona": promoção da andropausa e representações sobre sexualidade e envelhecimento no cenário brasileiro. **Horiz antropol**. v. 17, n. 35, 2011.

RYAN, K. J.; PETRO, Z.; KAISER, J. Steroid formation by isolated and recombined ovarian granulosa and thecal cells. **J Clin Endocrinol Metab.** v. 28, p. 355-358. 1968.

SALAS-RAMIREZ, K. Y.; MONTALTO, P. R.; SISK, C. L. Anabolic steroids have long-lasting effects on male social behaviors. **Behav Brain Res.** v. 2, n. 208, s. 2, p. 328-35. 2010.

SAMPAIO, J. V. Saúde do Homem: Testosterona e Masculinidades. **Rev Psicol Saúde**, v. 13, n. 1, p. 173-186, 2021.

SANTORO, N.; BRAUNSTEIN, G. D.; BUTTS, C. L.; MARTIN, K. A.; MCDERMOTT, M.; PINKERTON, J. V. Compounded bioidentical hormones in endocrinology practice: an endocrine society scientific statement. **J. Clinical Endocrinol Metabol.** v. 101, n. 4, p. 1318-43. 2016.

SANTOS, J. D. B.; MENDONÇA, A. A. S.; SOUSA, R. C.; *et al.* Food-drug interaction: Anabolic steroids aggravate hepatic lipotoxicity and nonalcoholic fatty liver disease induced by trans fatty acids. **Food Chem Toxicol.** v. 116, n. Pt B, p. 360-368. 2018.

SCHULTZ, C., *et al.* Hormônio antimülleriano como marcador de fertilidade em fêmeas suínas. **Rev Bras Reprod Anim.** v. 45, n. 3, p. 118-123. 2021.

SCUDAMORE, C. L. **A practical guide to the histology of the mouse.** John Wiley & Sons Ed., 2014; 88-97.

SEQUETTO, P. L.; OLIVEIRA, T. T.; SOARES, I. A.; *et al.* The flavonoid chrysin attenuates colorectal pathological remodeling reducing the number and severity of pre-neoplastic lesions in rats exposed to the carcinogen 1,2- dimethylhydrazine. **Cell Tissue Res.** v. 352, n. 2, p. 327-39. 2013.

SHABSIGH, R. Testosterone therapy in erectile dysfunction and hypogonadism. **J. Sex. Med.** v. 2, p. 785-792. 2005.

SHARMA, C. R.; BALASINOR, N. H.; DODDAMANI, L. S. High, not low-dose of stanozolol (Anabolic - androgenic steroid) impedes embryo implantation by attenuating endometrial receptivity in the mouse, *Mus musculus*. **Steroids.** v. 165, p. 108752. 2021.

SHARPE R. M. **Sertoli cell endocrinology and signal transduction: androgen regulation.** In; Griswold, m.; Skinner, M. eds. Sertoli cell biology. San Diego: Academic Press. p. 199-216, 2005.

SHARPE, R. M.; **Regulation of spermatogenesis.** In: Knobil, E.; Neill, J. D. eds. The physiology of reproduction. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Raven Press. p. 1363-1433, 1994.

SHEN, X.; *et al.* Synonymous mutations in representative yeast genes are mostly strongly non-neutral. **Nature.** v. 606, p, 725-731. 2022).

SHOSKES, J. J.; WILSON, M. K.; SPINNER, M. L. Pharmacology of testosterone replacement therapy preparations. **Transl Androl Urol.** v. 5, n. 6, p. 834-843. 2016.

SILVA, E. N.; MARTINS, T. V. F.; MIYAUCHI-TAVARES, T. M.; *et al.* Amoxicillin-induced gut dysbiosis influences estrous cycle in mice and cytokine expression in the ovary and the caecum. **Am J Reprod Immunol.** v. 84, n. 1, p. e13247. 2020.

SIMPSON, E. R.; MAHENDROOF, M. S.; MEANS, G. D.; *et al.* Aromatase Cytochrome P450, The Enzyme Responsible For Estrogen Biosynthesis. **Endocr Rev.** v. 15, n. 3, p. 342-355. 1994.

SOCAS, L.; ZUMBADO, M.; PÉREZ-LUZARDO, O.; *et al.* Hepatocellular adenomas associated with anabolic androgenic steroid abuse in bodybuilders: a report of two cases and a review of the literature. **Br J Sports Med.** v. 39, n. 5, p. e27. 2005.

SOTO, B. E. C. F. **Efecto de un inhibidor de la aromatasa sobre la espermatogénesis, la conducta sexual y la fertilidad de la rata macho adulta.** [Tese] Distrito Federal- México, 2012.

SOUZA, D. S.; *et al.* Os riscos associados pelo uso não orientado de anabolizantes hormonais. **Res Soc Develop.** v. 10, n. 14, p. e551101422552. 2021.

SPENCER, T. E.; BAZER, F. W. Biology of progesterone action during pregnancy recognition and maintenance of pregnancy. **Front Biosci.** v. 1, n. 7 p. d1879-98. 2002.

STRAUME, A. H.; LØVÅS, K.; MILETIC, H.; GRAVDAL, K.; LØNNING, P. E.;

KNAPPSKOG, S. Elevated levels of the steroidogenic factor 1 are associated with over-expression of CYP19 in an oestrogen-producing testicular Leydig cell tumour. **Eur J Endocrinol**. v. 166, p. 41-49. 2012.

SULTAN, C.; PARIS, F.; TEROUANNE, B. Disorders linked to insufficient androgen action in male children. **Hum Reprod Update**. v. 7, p. 314-322. 2001.

TURAN, R., YILMAZ, E. T., GOKTAS, A. T.; *et al.* Serum testosterone levels and colonic diverticula. **East J Med Sci**. v. 4, n. 1, p. 29-32. 2019.

YAKARISIK, M. Serum testosterone levels and Colonic Diverticula: Low Testosterone in Diverticular disease. **East J Med Sci**. v. 4, n. 1, p. 29-32. 2019.

UBALDI, F.M.; CAPALBO, A.; VAIARELLI, A.; *et al.* Follicular versus luteal phase ovarian stimulation during the same menstrual cycle (DuoStim) in a reduced ovarian reserve population results in a similar euploid blastocyst formation rate: new insight in ovarian reserve exploitation. **Fertil Steril**. v. 05, n. 6, p. 1488- 1495.e1. 2016.

VENÂNCIO, D. P.; NOBREGA, A. C. L.; FIKS, M. M. T. Avaliação Descritiva sobre o Uso de Esteroides Anabolizantes e seu Efeito sobre as Variáveis Bioquímicas e Neuroendócrinas em Indivíduos que Praticam Exercício Resistido. **Rev Brasil Med Esport**. v. 16, n. 3, p. 191-195. 2010.

WANG, C. *et al.* Investigation, treatment and monitoring of late-onset hypogonadism in males: ISA, ISSAM, EUA, EAA, and ASA recommendations. **Eur J Endocrinol**. v. 159, n. 5, p. 507514. 2008.

WATSON, E. D.; SKOLNIK, S. B.; ZANECOSKY, H. Z. Progesterone and estrogen receptor distribution in the endometrium of the mare. **Theriogen**. v. 38, p. 575580, 1992.

WHITAKER, D. L.; GEYER-KIM, G.; KIM, E. D. Anabolic steroid misuse and male infertility: management and strategies to improve patient awareness. **Expert Rev Endocrinol Metab**. v. 16, n. 3, p. 109-122. 2021.

WILLMANN, C.; BUDIK, S.; WALTER, I.; AURICH, C. Influences of treatment of early pregnant mares with the progestin altrenogest on embryonic development and gene

expression in the endometrium and conceptus. **Theriogenol.** v. 76, p.61-73, 2011a.

WILLMANN, C.; SCHULER, G.; HOFFMANN, B.; PARVIZI, N.; AURICH, C. Effects of age and altrenogest treatment on conceptus development and secretion of LH, progesterone and eCG in earlypregnant mares. **Theriogenol.** v. 75, p. 421- 8. 2011b.

WILSON, J. D.; GRIFFIN, J. E.; LESHIN, M.; GEORGE, F. W. Role of gonadal hormones in development of the sexual phenotypes. **Human Genetics.** v. 58, p. 78-84. 1981.

WINGFIELD, J. C.; *et al.* The "Challenge Hypothesis": Theoretical Implications for Patterns of Testosterone Secretion, Mating Systems, and Breeding Strategies. *Am Natural.* v. 136, n. 6, p. 829-846. 1990.

YANG, X.; GILMAN-SACHS, A.; KWAK-KIM, J. Ovarian and endometrial immunity during the ovarian cycle. **J Reprod Immunol.** v. 133, p. 7-14. 2019.

YAO, H. H.; WHORISKEY, W.; CAPEL, B. Desert Hedghog/Patched 1 signaling specifies fetal Leydig cell fate in testis organogenesis. **Genes Dev.** n. 16, p. 1433-40. 2005.

YATES, W. R.; PERRY, P. J.; MACINDOE, J.; HOLMAN, T.; ELLINGROD, V. Psychosexual effects of three doses of testosterone cycling in normal men. **Biol Psychiatry.** v. 45, n. 3, p. 254-60. 1999.

ZANATTA, A. Expressão proteica do gene HOXA10 e dos receptores de estrogênio e progesterona no epitélio, estroma e tecido muscular liso perilesional de endometriose e do reto-sigmoide. 2013. Tese de Doutorado em Obstetrícia e Ginecologia - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. 2013.