

ESTUDOS SOBRE A LEITURA DE ERITRÓCITOS MICRONUCLEADOS EM CAMUNDONGOS TRATADOS COM ANABOLIZANTES¹

STUDIES ABOUT MICRONUCLEATED ERITROCYTES IN MICE TREATED WITH ANABOLIZANTES

Juida de Deus Palma-Contar^{**}
Simone Busko Valim^{**}
Valéria Sena de Castro^{***}
Viviane Aparecida Sardeti^{****}
Terezinha Aparecida Guedes^{*****}

RESUMO

Os anabolizantes são substâncias utilizadas para aumento rápido da massa muscular. Na população usuária estão diferentes segmentos sociais, inclusive aqueles candidatos às competições esportivas que necessitam de resultados urgentes. A bibliografia e a própria bula dos medicamentos registram efeitos no sistema hematopoiético. Diante desses fatos e da linha de pesquisa desenvolvida pelo laboratório de Psicobiologia, nos dispusemos a analisar duas destas substâncias, Cobamamida e Ubidecarenona. Nesta análise, foi feita também a leitura microscópica de células eritrocitárias da medula óssea de camundongo, onde se registrou a presença de Micronúcleos (MN) em Eritrócitos Policromáticos (EP) e Eritrócitos Normocromáticos (EN). A avaliação estatística entre os grupos controle e tratados foi realizada, inicialmente, pela análise de variância seguida dos testes "t" de Student e "T" de Tukey. O efeito indicador de mutagenicidade no estudo das substâncias se apresentou nas administrações, isoladas ou associadas das mesmas. Logo, cuidados especiais devem ser tomados diante dos resultados obtidos.

Palavras-chave: camundongos, medula óssea, cobamamida, ubidecarenona, micronúcleos.

INTRODUÇÃO

No organismo dos mamíferos, os elementos figurativos do sangue são produzidos em centros especializados e fazem parte dos tecidos hematopoiéticos. Um dos seus constituintes, os eritrócitos, desenvolvem-se a partir de células precursoras, passando por uma série de transformações citológicas profundas. Os

principais órgãos hematopoiéticos pós-natais são a medula óssea, baço, os linfonodos e o timo. No adulto, os eritrócitos se formam, principalmente, na medula óssea (Guyton, 1988; Guyton e Hall, 1997).

Existem opiniões divergentes com respeito à origem das células hematopoiéticas mais jovens. Estes pontos

1 Pesquisa financiada pela Universidade Estadual de Maringá, pela Caixa Econômica Federal e pela Coordenadora. Apresentado na 50ª reunião Anual da SBPC, 1999.

* Professora Adjunta do Departamento de Biologia Celular e Genética da Universidade Estadual de Maringá.

** Departamento de Biologia Celular e Genética da Universidade Estadual de Maringá

*** Departamento de Educação Física da Universidade Estadual de Maringá.

**** Departamento de Estatística da Universidade Estadual de Maringá.

de vista deram origem às teorias monofilética e polifilética da hematopoiese. A teoria monofilética afirma que o precursor mais jovem reconhecível, denominado hematocitoblasto, é capaz de se diferenciar em qualquer tipo de elemento figurado, ou seja, célula-fonte multipotencial. A teoria polifilética reconhece uma célula diferente para cada elemento figurado, isto é, uma célula-fonte para eritrócito, outra para granulócito, outra para linfócito e outra para monócito. Esta teoria reconhece dois tipos celulares precursores: um leucócito primitivo capaz de produzir granulócito, linfócito e monócito; uma célula endotelial que reveste um sinusóide colapsado capaz de produzir eritrócitos. Estas teorias foram descritas há quase cinquenta anos, mas experimentos realizados nas últimas décadas indicam, fortemente, a existência de uma célula-fonte hematopoiética, totipotente (Junqueira e Carneiro, 1999).

A formação de eritrócitos requer a ocorrência de profundas alterações progressivas no núcleo e no citoplasma da célula precursora. O núcleo torna-se menor e cada vez mais heterocromático. A seguir, torna-se acentuadamente polarizado na célula e é expelido, dando origem ao eritrócito anucleado. O citoplasma, rico em polirribossomos, sintetiza e acumula hemoglobina (Junqueira; Carneiro, 1999).

A eritropoiese é regulada pela eritropoetina, um hormônio glicoprotéico produzido pela interação de precursores sintetizados nos rins. A eritropoetina induz as células sensíveis a ela a se diferenciarem em eritroblastos. Os eritroblastos basófilos são as primeiras células da linhagem eritrocítica reconhecíveis que, por possuírem pouca hemoglobina, coram-se intensamente pelos corantes básicos. Por outro lado, células em estádios mais avançados com abundante hemoglobina coram-se, intensamente, pelos corantes ácidos, ou seja, eritroblastos mais jovens são chamados eritroblastos basófilos, enquanto que os eritroblastos mais maduros são denominados eritroblastos ortocromáticos ou normocromáticos. Nos estádios intermediários entre basófilos e

ortocromáticos, a cor do citoplasma representa uma combinação da coloração dos corantes ácidos e básicos e, por conseqüência, as células são denominadas de eritrócitos policromatófilos (Heddle et al., 1991).

A perda do núcleo converte o eritroblasto em eritrócito (Stich, 1987; Mavourin et al., 1990). A expulsão do núcleo ocorre no final da maturação eritroblástica, próxima ao estágio ortocromático. O núcleo pode ser expulso num estágio mais precoce, resultando em eritrócitos normocromáticos ou policromáticos.

Os anabolizantes, alvo desta pesquisa, foram substâncias desenvolvidas na década de 50 bastante utilizadas para aumento rápido de peso ou de massa muscular. Pessoas inescrupulosas, que não possuem conhecimento a respeito deste grupo de drogas, podem ser induzidas pelos aparentes bons resultados. Candidatos a competições, que necessitam destes efeitos e urgentes, podem tornar-se usuários. São drogas que apresentam ação hormonal ou não. Têm como efeito, principalmente, a diminuição de catabolismo protéico e interferem no metabolismo do cálcio (Ca^{2+}). Em doses altas aumentam, então, o metabolismo basal, o número de hemácias e a capacidade respiratória. Estas alterações também provocam uma redução da taxa de gordura corporal, redução do HDL (*High Density Lipoproteine*) e aumento do LDL (*Low Density Lipoproteine*). Os indivíduos que as consomem ganham força, potência e maior tolerância temporal ao exercício físico (Guimarães Neto, 1997).

A indicação médica destas substâncias, quando necessária, é sempre precedida de uma criteriosa avaliação. Podem ter possibilidades terapêuticas alternativas, mas deve ser considerado um profundo balanço entre os efeitos benéficos e os colaterais que elas possam produzir. Em geral, do ponto de vista médico, são prescritas no caso de doenças crônicas debilitantes (Gilman; Goodman; Gilman, 1992).

Estes produtos nunca deveriam ser utilizados, a não ser por estrita indicação

médica, pois seus efeitos colaterais são muitos. Entre eles destacam-se os seguintes: virilização em mulheres, inibição de espermatorréia, suspensão da menstruação e alteração definitiva do processo de crescimento por fechamento precoce das cartilagens epifisárias. Estes e outros efeitos, igualmente graves, são motivos para que o Comitê Olímpico Internacional (COI) tenha abolido e considerado falta grave o uso de anabolizantes por parte de atletas. O anabolizante é a droga mais encontrada nos exames *anti-doping* realizados por este Comitê. Os efeitos adquiridos pelos usuários são transitórios, havendo perda de massa muscular novamente, assim que suspensa a utilização (Oga, 1996).

Pesquisas recentes mostram que 7% dos estudantes norte-americanos já foram ou são usuários de anabolizantes, e que 9% dos que frequentam academias os consomem regularmente. No Brasil, o uso entre a população jovem tem crescido (Muniz et al., 1997).

A bibliografia acima referida e a própria bula dos medicamentos, por nós pesquisadas, registram efeitos no sistema hematopoiético. Diante dessa indicação e à linha de pesquisa de nosso laboratório, nos dispusemos a analisar duas substâncias e seus efeitos em células eritrocitárias da medula óssea em camundongos. Este modelo animal está bem estabelecido para esta pesquisa (Adler, 1984; Rabello-Gay, 1991).

A Ubidecarenona é o princípio ativo contido na fórmula farmacêutica em comprimidos, cujo emprego é na deficiência da co-enzima Q10. O laboratório fabricante desta co-enzima (um estimulante não-esteróide) afirma que ela participa, ativamente, do processo mitocondrial. Esta organela é responsável pela respiração celular e também está relacionada com Adenosina Trifosfato (ATP). A concentração plasmática máxima da Ubidecarenona é alcançada dentro de 10h e 90% desta concentração permanece em estado de equilíbrio até 4 dias, após administração, segundo os fabricantes.

A Cobamamida, também na fórmula farmacêutica contida em comprimidos, é uma co-enzima da vitamina B12 que interfere nos processos metabólicos da síntese protéica. Estimula também o anabolismo celular, havendo aumento do balanço nitrogenado, o que favorece a utilização de glicídeos e lipídeos. Possui efeitos também no sistema hematopoiético e no Sistema Nervoso Central (SNC), de acordo com a bula do respectivo medicamento.

As substâncias Ubidecarenona e Cobamamida são consideradas anabolizantes não-hormonais. Mas na linha investigatória, o abuso destas substâncias, o qual chamamos de abuso de medicamentos, levantou a nossa hipótese de pesquisá-los no âmbito celular, particularmente quanto ao núcleo de células jovens, isto é, o núcleo de células de medula óssea de mamíferos (MacGregor *et al.*, 1987).

Incluimos nesta pesquisa, como controle positivo para as comparações obtidas em animais experimentais e animais controles, uma substância universalmente aceita nesta área de pesquisa, a Ciclofosfamida, capaz de originar efeitos clastogênicos nas células do sistema hematopoiético do modelo animal utilizado.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais: Foram utilizados 40 camundongos, fêmeas, da raça Swiss, albinos, com 52 dias de idade e peso médio de 30g, criados no Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá.

Estes animais foram pesados e registrados em livro protocolo. Passaram por aclimação no Biotério de Experimentação do Departamento de Biologia Celular e Genética, por uma semana, mantidos em temperatura média de 22° C, com períodos alternados de luz e escuro de 12 horas. Foram divididos em 4 grupos de 5 animais cada, em caixa plástica forrada com cepilho e contendo tampa gradeada. A alimentação sólida pelotizada e água *ad libitum* foram oferecidas durante o período experimental, exceto no dia em que foram sacrificados. Neste dia,

permaneceram privados de alimento sólido por 6 horas, no mínimo. Os animais receberam marcação nas regiões corpóreas da cabeça, rabo, lado esquerdo, lado direito e dorso, para identificação individual.

Via de administração: Foi usada a via oral (v.o.), utilizando-se seringas de vidro e agulha adequada (gavagem). Os tratamentos duraram 7 dias e foram realizados no período vespertino. O volume administrado correspondeu ao peso do animal, em gramas, no dia da administração, isto é, 0,1ml/10g de peso corporal.

Drogas e diluições: As substâncias utilizadas foram a Cobamamida e a Ubidecarenona, na forma de comprimidos, na concentração de 5mg e 10mg, respectivamente. Foram triturados 10 comprimidos de cada droga em 10ml de água destilada. Esta suspensão foi administrada no volume de 0,1ml/10g de peso corporal do animal. A substância considerada como controle positivo foi o Genoxal®, adquirido na Asta Médica, na diluição de 200mg em 10ml de água destilada, e administrada no mesmo volume das demais, isto é, 0,1ml/10g. É amplamente aceita na bibliografia universal para esta finalidade, formação de MN em células eritrocitárias de medula óssea de camundongos. (MacGregor, 1987; Rabello-Gay, 1991; Ribeiro, 1991). Consideramos como controle negativo, nas mesmas condições experimentais, a água destilada.

Desenvolvimento do experimento: Os animais foram sacrificados por deslocamento cervical após 24 horas da última dose. O par de fêmur de cada animal foi retirado, limpo e seccionadas as epífises proximais. As medulas ósseas foram lavadas com soro fetal bovino. Centrifugou-se o material e retirou-se o sobrenadante. Homogeneizado o restante, fez-se um esfregaço em lâmina de vidro com o botão de células ressuspenso. Após a secagem, as lâminas foram coradas com Leishman, fixadas com Xilol e montadas com Entelan.

A observação das lâminas foi feita com objetiva de imersão em microscópio ocular com teste cego. De cada grupo, foram registradas, pelo menos 2.000 células de Eritrócitos Policromáticos (EP), bem como de Eritrócitos Normocromáticos (EN). Calculou-se o

respectivo percentual de Micronúcleos (MN), visualizado neste montante (Rabello-Gay, 1991; Ribeiro, 1991; Palma-Contar *et al.*, 1999).

Análise estatística: Os resultados obtidos em cada grupo de tratamento foram analisados através dos seguintes testes estatísticos:

Análise de Variância Anova, seguida do teste de Student e teste T de Tukey para detectar diferença entre os grupos (Nick, 1971; Mood; Graybil, 1974; Bussab e Mourettin, 1990; Soares; Farias; Cesar, 1991).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos com a contagem de Micronúcleos nos diferentes tratamentos estão expressos por frequência, quando da análise das lâminas com Eritrócitos Policromáticos (EP) e Eritrócitos Normocromáticos (EN). Estes resultados estão registrados nas tabelas a seguir. O efeito indicador da mutagenicidade, pela avaliação estatística, no estudo das substâncias propostas, variou quando a administração foi isolada ou associada.

Os tratamentos contidos na Tabela 1 mostraram a avaliação do percentual de MN em 8.499 células policromáticas. Verifica-se que, com exceção dos animais pertencentes ao grupo Controle Negativo, os grupos tratados com Cobamamida e Ubidecarenona alcançaram um percentual acima de 3% de MN. Considerando-se apenas o grupo tratado com Ubidecarenona, a contagem de MN atingiu mais do que o dobro do valor obtido no grupo tratado com Cobamamida. A análise nas Tabelas 2 e 3 confirma pela variância e pela comparação dois a dois para os Eritrócitos Policromáticos.

Na contagem de células mais amadurecidas, denominadas Eritrócitos Normocromáticos (Tabela 4), verifica-se que em 8.299 células, considerando os mesmos tratamentos, isto é, onde as drogas foram administradas isoladamente, registramos que a Cobamamida e a Ubidecarenona tiveram percentuais aproximadamente iguais para estas células. E apresentaram-se diferentes do tratamento com água, isto é, sempre superior. As Tabelas 5 e 6 analisam a variância do percentual de MN calculada na leitura de EN e posterior comparação entre os grupos.

Em ambas as análises, isto é, a porcentagem de MN em EP e EN, o grupo identificado por controle

positivo que recebeu Ciclofosfamida, ficaram comprovados os efeitos clastogênicos desta substância neste teste, registrando percentual superior a 14%. Resultados frequentemente registrados na bibliografia da área de toxicologia (Goetz; Sram; Dohnalova, 1975; Adler; Kliesch, 1990; Vanprys, 1992; Vivagni; Norppa, 1995).

Tabela 1 - Resultado da contagem de Micronúcleos (MN) em Eritrócitos Policromáticos (EP) da medula óssea de camundongos fêmeas, após tratamento simples com anabolizantes, na dose de 500mg/Kg, via oral.

Tratamentos	EP	MN	%	Média (%)	Desvio Padrão(%)
CN	2076	53	2,90	3,23	3,220
CP	2189	313	14,29	19,94	19,625
Cobam.	2192	69	3,14	4,17	2,758
Ubid.	2042	163	7,98	8,37	6,389
Σ	8499				
n	4				
X	2124,75				
σ	77,1897				

> 2000 células contadas por grupo

Legenda: CN = Controle Negativo; CP = Controle Positivo; Cobam. = Cobamamida; Ubid. = Ubidecarenona; MN = Micronúcleos; EP = Eritrócitos Policromáticos.

Tabela 2 - Variância do percentual de Micronúcleo (MN) calculada na leitura dos Eritrócitos Policromáticos (EP), contido na tabela anterior.

Fonte	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	3	0,1520	0,050	5,76	0,0023
Erro	39	0,3432	0,009		
Total	42	0,4953			

Coefficiente de correlação = 0,3070

F_{3,39;5%} = 2,84; GL = Graus de Liberdade; SQ = Soma de Quadrados; QM = Quadrado Médio

Legenda: MN = Micronúcleos; EP = Eritrócitos Policromático.

Tabela 3 - Comparação dos tratamentos, dois a dois, considerando-se as diferenças entre as médias do percentual de MN em EP, utilizando-se medula óssea de camundongos fêmeas tratadas com anabolizantes.

Comparações de grupos de tratamentos	Diferença entre médias	Limites de confiança		
		Teste "t" de Student (α = 0,05)	Teste de Tukey (α = 0,1)	Teste de Tukey (α = 0,05)
CN e CP	0,1671***	0,078 a 0,255	0,063 a 0,270	0,050 a 0,284
CN e Cobam.	0,0093	-0,094 a 0,075	-0,090 a 0,109	-0,103 a 0,122
CN e Ubid.	0,0514	-0,126 a 0,023	-0,036 a 0,139	-0,048 a 0,151
CP e Cobam.	0,1577***	0,655 a 0,249	0,049 a 0,265	0,035 a 0,280
CP e Ubid.	0,1156***	0,032 a 0,198	0,018 a 0,213	0,005 a 0,225
Cobam. e Ubid.	-0,0420	-0,122 a 0,037	-0,135 a 0,051	-0,148 a 0,064

*** Significativo para os testes

"t" de Student: α = 0,05; t_{tab} = 2,02; gl = 39

T de Tukey: α = 0,1; q = 3,351; α = 0,05; q = 3,795

Legenda: MN = Micronúcleos; EP = Eritrócitos Policromáticos; CN = Controle Negativo; CP = Controle Positivo; Cobam. = Cobamamida; Ubid. = Ubidecarenona.

Tabela 4 - Resultado da contagem de Micronúcleos (MN) em Eritrócitos Normocromáticos (EN) de medula óssea, após tratamento simples com anabolizantes em camundongos fêmeas, na dose de 500mg/kg, via oral.

Tratamentos	EN	MN	%	Média (%)	Desvio Padrão (%)
CN	2003	42	2,09	2,13	1,321
CP	2254	380	16,85	17,44	7,071
Cobam.	2009	116	5,77	5,42	3,324
Ubid.	2033	112	5,50	5,61	2,254
Σ	8299				
n	4				
X	2074,75				
σ	120,20				

> 2000 células contadas por grupo

Legenda: CN = Controle Negativo; CP = Controle Positivo; Cobam. = Cobamamida; Ubid. = Ubidecarenona; MN = Micronúcleos; EN = Eritrócitos Normocromáticos.

Tabela 5 - Variância do percentual de Micronúcleo (MN) calculada na leitura dos Eritrócitos Normocromáticos (EN) contidos na Tabela 04.

Fonte	GL	SQ	QM	F	P
Modelo	3	0,1520	0,051	32,99	0,0001
Erro	48	0,0737	0,001		
Total	51	0,2258			

Coefficiente de correlação = 0,6734;

F_{3,48;5%} = 2,84; GL = Graus de Liberdade; SQ = Soma de Quadrados;

QM = Quadrado Médio

Legenda: MN = Micronúcleos; EN = Eritrócitos Normocromáticos.

Tabela 6 - Comparação dos tratamentos, dois a dois, considerando-se as diferenças entre as médias do percentual de MN em EN, utilizando-se medula óssea de camundongos fêmeas tratadas com anabolizantes.

Comparações de grupos de tratamento	Diferenças entre médias	Limites de confiança		
		Teste "t" de Student (α = 0,05)	Teste de Tukey (α = 0,1)	Teste de Tukey (α = 0,05)
CN e CP	0,153***	0,119 a 0,186	0,113 a 0,192	0,108 a 0,197
CN e Cobam.	0,032***	0,001 a 0,064	-0,004 a 0,070	-0,009 a 0,074
CN e Ubid.	0,120***	0,003 a 0,065	-0,001 a 0,070	-0,006 a 0,075
CP e Cobam.	0,034***	0,088 a 0,151	0,083 a 0,157	0,078 a 0,162
CP e Ubid.	0,118***	0,087 a 0,149	0,082 a 0,154	0,077 a 0,159
Cobam. e Ubid.	0,001	-0,030 a 0,026	-0,031 a 0,035	-0,036 a 0,040

*** Significativo para os testes.

"t" de Student: α = 0,05; t_{tab} = 2,01; gl. = 48

T de Tukey: α = 0,1; q = 3,330; α = 0,05; q = 3,764

Legenda: MN = Micronúcleo; EN = Eritrócitos Normocromáticos; CN = Controle Negativo; CP = Controle Positivo; Cobam. = Cobamamida; Ubid. = Ubidecarenona.

A Ubidecarenona, encontrando-se em concentração plasmática máxima dentro de 10h, se mantém em estado de equilíbrio em 90% dela por até 4 dias após a administração. Foi este entendimento de sua farmacocinética que justificou os testes nos animais feitos após 24h. Deve-se isto ao alto peso molecular da substância e na absorção lenta.

O Laboratório fornecedor desta co-enzima, através da sua bula informativa, registra como “essencial na geração de energia celular”, advertindo que podem ocorrer reações adversas imprevisíveis e ainda não descritas ou conhecidas.

Quanto à Cobamamida, que foi o outro anabolizante alvo destes estudos, o próprio Laboratório produtor adverte influência no sistema hematopoiético. Perguntamos então se as células eritrocitárias da medula óssea estariam comprometidas após o tratamento estabelecido.

Consideramos que não só o aspecto biológico precisa ser estudado, mas o moral também, quando relacionamos o uso de drogas com o objetivo de melhorar a performance no esporte, manter uma atitude mental positiva e fazer o melhor que puder, conseqüentemente levando em conta o orçamento e o senso crítico (Guimarães Neto, 1997; Lacayo, 2000).

O uso de substâncias para melhorar o rendimento esportivo e a resistência às tarefas do cotidiano remonta da antiguidade:

- . no ano 2700 a.c., na China do imperador Shen Yung, usava-se um chá de folhas de Efedra, da qual posteriormente veio se extrair o estimulante **efedrina**;
- . por ocasião das Olimpíadas da Antiga Grécia, atletas costumavam ingerir testículos de boi a fim de aumentarem o tamanho e a potência de seus músculos;
- . índios da região da América Central e América do Sul mascavam e ainda mascam folhas de **coca**, a fim de aumentarem a resistência à fadiga e à fome, além de outras ervas com diferentes propriedades.

O primeiro **doping esportivo** ocorreu no século XIX, quando se ingeriu **bolinhas de cocaína**, efedrina e estricnina (esta última letal quando ingerida em doses elevadas); durante a Segunda Guerra Mundial, várias pesquisas foram feitas na área da medicina e farmacologia, principalmente com o hormônio **testosterona** e seus derivados, com o objetivo de se aumentar a força, resistência e agressividade dos soldados nos campos de batalha, recuperar ou manter a **vida** dos prisioneiros nos campos de concentração, quando se encontravam desnutridos e hipocinéticos. Hitler percebe a

força concentrada no marketing da **vitória**. Não bastava competir, o importante era vencer. A partir daí, tomaram impulso todos os métodos ilegais, entre eles o *doping*. Entende-se hoje que *doping* é uma lista de substâncias proibidas pelo Comitê Olímpico Internacional (COI). Essa lista é modificada constantemente. Existem ainda substâncias que só são consideradas *doping* a partir de determinada quantidade, por exemplo a testosterona e a cafeína. Qualquer substância farmacológica que melhore a *performance* atlética tende a ser incluída (Guedes, 1997).

Muitas são as formas de administração. No entanto, a mais usada no esporte é a oral, através de comprimidos ou cápsulas gelatinosas, absorvidos e processados em aproximadamente 24 horas, sendo seus efeitos metabólicos básicos:

- . aumento da síntese protéica;
- . diminuição da utilização de carboidratos (poupador de glicogênio);
- . maior mobilização de lipídios para produção de energia (efeito emagrecedor).

Uma campanha de orientação a respeito do *doping* provavelmente deve ser mais efetiva do que qualquer tentativa, pura e simples, de proibição. “Vale lembrar que tudo o que é proibido é mais gostoso e, logicamente, lucrativo”.

A função daqueles que possuem conhecimento nessa área deve ser alertar o possível usuário quanto à questão do custo/benefício, ou seja, até quanto vale arriscar a saúde a fim de melhorar o desempenho atlético?!. Caso o atleta decida correr os riscos, é função do *expert* orientá-lo a tirar o máximo de benefícios (uso do *doping*) com as mínimas dosagens possíveis (Guedes, 1997; Lacayo, 2000).

Os efeitos adversos dos anabolizantes parecem estar diretamente ligados às altas dosagens. Os profissionais da área são unânimes em recomendar a procura de um bom profissional especializado. Os fatores determinantes do sucesso atlético em todas as modalidades esportivas são: características genéticas favoráveis; motivação psicológica para árduos treinamentos (o que alguns autores consideram também uma característica genética); técnicas adequadas de preparação física e boa nutrição. Na maioria das vezes, as drogas

anabolizantes apenas compensam um erro freqüente de treinamento, que é o volume excessivo, e por isto ganharam a reputação de serem indispensáveis. A grande massa muscular apresentada pelos atletas do culturismo é um efeito da ginástica com pesos e não de drogas milagrosas, e só atinge alto nível em pessoas com constituição genética adequada. A divulgação do falso conceito de que as drogas podem induzir rapidamente grande aumento de massa muscular é provavelmente o maior incentivo para o seu uso (Santarem, 1995; Lima, 1999).

CONCLUSÃO

O presente estudo, através de uma experimentação de duas drogas consideradas anabolizantes não-hormonais, a Ubidecarenona e

a Cobamamida, registrou não só uma indicação de mutagenicidade em células eritrocitárias de medula óssea de camundongo, modelo animal bem estabelecido, como também os resultados nos advertem de que o uso de dois anabolizantes não-esteróides podem desencadear em mamíferos um processo mutagênico, merecendo atenção especial da área de estudos.

Esta mutagenicidade, considerada como efeito toxicológico no âmbito celular, diante do protocolo utilizado nas experimentações, originou resultados preliminares que sugerem um encaminhamento de estudos. Então concluímos que conseqüências poderão advir não só de forma imediata, mas também posteriormente. Logo, indicamos necessidade de continuidade de outras comprovações investigatórias.

STUDIES ABOUT MICRONUCLEATED ERITROCYTES IN MICE TREATED WITH ANABOLIZANTES

ABSTRACT

Drugs as cobamamid and ubidecarenone have been used by different sportsmen as a treatment to gain fast muscular mass. Literature shows modulation of haematopoietic toxicity associated with these drugs. An evaluation of the results obtained in an *in vivo* study to assess the effectiveness of cobamamid and ubidecarenone administered to normal mice is discussed in this paper. The sample was compared with controls that received distilled water or cyclophosphamide. The haematopoietic toxicity was evaluated by MN(micronucleus) test in bone marrow cells. Statistical analysis with ANOVA and paired Student "t" and Tuckey "T" tests were used to determine the significance of MN polychromatic erythrocytis (PE) and normochromatic erythrocytes (NE) in different groups. Both isolated and associated drug administration revealed mutagenesis index effect as may be seen in the data table and those results require special caution for further studies.

Key words: mice, bone marrow, cobamamid, ubidecarenone, micronucleus.

REFERÊNCIAS

- ADLER, D.; KLIESCH, U. Comparison of single and multiple treatment Regimens in the mouse bone marrow micronucleus assay for hidroquinone (HD) and cytophosphamide (CP). *Mutation Research*, n. 234, p. 115-123, 1990.
- ADLER, I. D. Cytogenetic Teste in Mammals. In: VENITT, S.; PARRY, J. M. (Ed.). *Mutagenicity Testing. A practical approach*. Oxford: Orl.Press, 1984.
- BUSSAB, W. O.; MOURETTIN, P. A. *Métodos quantitativos: estatística básica*. 4. ed. São Paulo: Atual, 1990.
- GILMAN, A. G.; GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. *As bases farmacológicas da terapêutica*. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992.
- GOETZ, P.; SRAM, R. J; DOHNALOVA, J. Relationship Between Experimental Results in Mammals and Man. Cytogenetic Analysis of Bone Marrow Injury Induced by a Single Dose of cyclophosphamide. *Mutation Research*, n. 31, p. 247-254, 1975.

GUEDES JÚNIOR, D. P. *Personal training na musculação*. Rio de Janeiro: Nei Pereira, 1997.

GUIMARÃES NETO, W. M. *Musculação: anabolismo total: (treinamento, nutrição, esteróides anabólicos, outros ergogênicos)*. São Paulo: Phorte, 1997.

GUYTON, A. C. *Fisiologia humana*. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988.

GUYTON, A. C.; HALL, S. E. *Tratado de fisiologia médica*. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.

HEDDLE, J. A.; CIMINO, M.; HAYASHI, M.; ROMAGNA, F.; SHELBY, M. D.; TUCKER, J. D.; VANPRAYS, P.; MACGREGOR, J. T. Micronuclei as na Index of Cytogenetic Damage: Past, Present and Future. *Env. Molecular Mutagenesis*, v. 18, p. 277-291, 1991.

JUNQUEIRA, L. C; CARNEIRO, J. *Histologia básica*. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

LACAYO, Richard. Are You Main Enough? *Time*, n. 32-40, April 2000.

- LIMA, F. V. Nada substitui o treinamento. **Ciência Hoje**, v. 26, n. 153, p. 8-12, 1999.
- MACGREGOR, J. T.; HEDDLE, J. A.; HITE, M.; MARGOLIN, B. H.; RAMEL, C.; SALAMONE, M. F. RAYMOND, R. T.; WILD, D. Guidelines for the conduct of micronucleous assays in mammalian bone marrow erythrocytes. **Mutation Research**, n. 189, p. 103 – 112, 1987.
- MAVOURIN, K. H.; BLAKEY, D. H.; CIMINO, M. C.; SALAMONE, M. F.; HEDLE, J. A. The in vivo micronucleus assay in mammalian bone marrow and peripheral blood. A report of de U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. **Mutation Research**, n. 239, p. 29-80, 1990.
- MOOD, A. M.; GRAYBIL, F. A **Introduction to the theory of statistics**. São Paulo: McGraw-Hill, 1974.
- MUNIZ, M.; AFONSO, R.; COSTA, V. R. Musculatura de risco. **Ciência Hoje**, n. 18-23, set. 1997.
- NICK, E. **Fundamentos de estatística para as ciências do comportamento**. 3. ed. Rio de Janeiro: Renes, 1971.
- OGA, S. **Fundamentos da toxicologia**. São Paulo: Atheneu, 1996.
- PALMA-CONTAR, J. de D.; SANTOS, L. O.; VALIM, S. B.; GUEDES, T. A. Estudo da associação Li_2CO_3 e adoçante não-calórico, $\text{C}_7\text{H}_5\text{NO}_3\text{S}$, em células de medula óssea de camundongos. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 21, n. 2, p. 403-408, 1999.
- RABELLO-GAY, M. Nazareth. Teste do micronúcleo em medula óssea *In*: RABELLO-GAY, M. Nazareth, RODRIGUES, M. Amélia La Regina, MONTELEONE-NETO (Ed.). **Mutagenese, Teratogenese E Carcinogenese: métodos e critérios de avaliação**. Ribeirão Preto: SBG/RBG, 1991, p. 83-90.
- RIBEIRO, L. R. Teste do micronúcleo em células esfoliadas. *In* : RABELLO-GAY, M. Nazareth; RODRIGUES, Amélia La Regina; MONTELEONE-NETO, Roque (Ed.). **Mutagenese teratogenese e carcinogenese: métodos e critérios de avaliação**. Ribeirão Preto: SBG/RBG, 1991, p. 246.
- SANTAREM, J. M. **Musculação: princípios atualizados: fisiologia, treinamento, nutrição**. São Paulo: Fitness, 1995.
- SOARES, J. F.; FARIAS, A. A.; CESAR, C. C. **Introdução à estatística**. Rio de Janeiro: Livro Técnico e Científicos, 1991.
- STICH, H. F. Micronucleated Exfoliated Cells as Indicators for Genotoxic Damage and as Markers in Chemoprevention Trials. **Journal of Nutrition, Growth and Cancer**, n. 4, p. 9-18, 1987.
- VANPRAYS, P.; DEKNUDT, G.; VERMEIREN, F; SYSMANS, M.; MARSBOOM, R. Sampling times in micronucleus testing. **Mutation Research**, n. 282, p. 191–196, 1992.
- VIVAGNI, F.; NORPPA, H. Comparison of separated erythrocyte preparations and manual smears of bone marrow in showing micronucleus induction by clastogenese and aneuploidogens in mouse. **Mutagenesis**, v. 10, n. 4, p. 365-369, 1995.

Recebido em 28/3 /00
Revisado em 25/06/00
Aceito em 01/09/00

Endereço para correspondência: Rua Jangada, 190, Zona 7. Maringá, Paraná, Brasil – CEP 87020-180. Telefone 0 xx 44 224-77-1. Juida@teracom.com.br