

N° d'ordre :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE & POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR & DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE DJILLALI LIABES
FACULTE DES SCIENCES
SIDI BELABBES

THESE ***DE DOCTORAT***

Présentée par
KAHAL Aida

Spécialité : Sciences Biologiques
Option : Régulations endocriniennes et métaboliques

Intitulé

**Contribution à l'étude des effets des perturbateurs
endocriniens environnementaux: cas des anabolisants
androgéniques**

Soutenue le : 10.02.2021

Devant le jury composé de :

Président : Mme Bendahmane Malika Professeur à UDL de Sidi Bel Abbés

Examineurs : Mme Harir Noria Professeur à UDL de Sidi Bel Abbés

Mr Boualgua Ahmed Professeur à Université d'Oran 1

Mr Sahraoui Tewfik Professeur à Université d'Oran 1

Directeur de thèse : Mme Allem Rachida Professeur à UHBC de Chlef

Co-Directeur de thèse : Mme Zahzeh Touria .. Professeur à UDL de Sidi Bel Abbés

Année universitaire : 2020/2021

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE & POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR & DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE DJILLALI LIABES
FACULTE DES SCIENCES
SIDI BELABBES

THESE

DE DOCTORAT EN

SCIENCES

Présentée par
KAHAL Aida

Spécialité : Sciences Biologiques
Option : Régulations endocriniennes et métaboliques

Intitulé

**Contribution à l'étude des effets des perturbateurs
endocriniens environnementaux: cas des anabolisants
androgéniques**

Soutenue le : 10.02.2021

Devant le jury composé de :

Président : Mme Bendahmane Malika Professeur à UDL de Sidi Bel Abbés

Examineurs : Mme Harir Noria Professeur à UDL de Sidi Bel Abbés

Mr Boualgua Ahmed Professeur à Université d'Oran 1

Mr Sahraoui Tewfik Professeur à Université d'Oran 1

Directeur de thèse : Mme Allem Rachida Professeur à UHBC de Chlef

Co-Directeur de thèse : Mme Zahzeh Touria .. Professeur à UDL de Sidi Bel Abbés

Année universitaire : 2020/2021

Remerciements

Je remercie tout d'abord **ALLAH** de m'avoir donné la force et le courage d'affronter toutes les difficultés.

Ce Mémoire nous donne enfin, l'occasion d'exprimer nos remerciements à plusieurs personnes sans l'appui desquels, il n'aurait pu se concrétiser.

- ✓ Nos plus vifs remerciements s'adressent au **Pr Rachida ALLEM** pour avoir accepté l'encadrement scientifique de cette thèse malgré ses multiples occupations. Qu'elle soit remerciée pour la confiance qu'elle nous a accordée, son soutien, ses incessants conseils et encouragements et son attention à ce que nous disposions de bonnes conditions de travail. Elle a su nous inculquer la démarche logique et progressive de la recherche scientifique, avec un esprit d'ingéniosité permanent et nous soutenir dans les moments de doute.
- ✓ Nos plus vifs remerciements s'adressent ainsi au **Pr Touria ZAHZEH** pour avoir accepté le Co-encadrement scientifique de cette thèse et pour sa disponibilité. Nous avons bénéficié de son aide précieuse, de sa constante bienveillance à notre égard, de ses nombreuses qualités humaines et de nombreux conseils qui ont été pour nous un permanent appui motivant. Permettez-moi, Madame de vous exprimer toute ma gratitude, mon estime et mon admiration pour vos qualités professionnelles et humaines.
- ✓ A **Mme Malika BENDAHMANE**, Professeur à l'université de Sidi Bel Abbes, qui nous fait l'immense honneur de présider ce jury et d'en diriger les débats.
- ✓ A **Mme Noria HARIR**, Professeur à l'université de Sidi Bel Abbes, qui a eu l'amabilité d'examiner cette thèse en participant au jury. Qu'elle soit vivement remerciée pour toutes les critiques constructives qu'elle ne manquera pas d'apporter afin de parfaire ce travail.
- ✓ A **Mr Tewfik SAHRAOUI**, Professeur à l'université d'Oran 1. Qu'il soit remercié d'avoir aimablement accepté de participer à ce jury afin de

contribuer à l'analyse critique du mémoire présenté. Qu'il trouve ici l'expression de notre profond respect et de notre considération.

- ✓ A **Mr Ahmed BOUALGA**, Professeur à l'université d'Oran 1. Qu'il soit également remercié d'avoir aimablement accepté de participer à ce jury et nous fait l'honneur d'apporter un regard critique à cette thèse. Qu'il trouve ici l'expression de notre profond respect et de notre considération.
- ✓ Nous remercions aussi tout le personnel du Laboratoire de Bio-ressources Naturelles Locales à l'université de Chlef en particulier le **Pr AICHOUNI**, qui sans lui ce travail n'aurait jamais pu commencer, pour sa modestie et son aide permanente, qu'il trouve ici notre pleine gratitude et notre sincère reconnaissance.
- ✓ Au **Dr Saida SADAAT (née OULMANE)**, directrice du laboratoire Sadaat d'Anapathologie Cellulaire à Chlef, Nous la remercions pour son aide dans la réalisation des coupes histologiques et la lecture professionnelle des lames. Elle a eu l'amabilité d'accepter d'examiner le travail. Qu'elle trouve ici notre pleine gratitude et notre sincère reconnaissance.

A toutes les personnes qui ont participé à la réalisation de ce travail :

- ✓ Le Professeur **R. BABA-AHMED**, Chef service du laboratoire d'Anatomie et de Cytologie Pathologique à l'hôpital de Bâb El Oued (Hôpital Maillot), à Alger,
- ✓ Le Docteur **FELLAGUE** (Directrice du laboratoire Dr Fellague d'Anapathologie Cellulaire à Chlef),
- ✓ Le Docteur **TORKIA** (Directeur du laboratoire Dr Torkia d'Anapathologie Cellulaire à Chlef),

Enfin, cette liste n'est pas exhaustive. Que tous ceux avec lesquels nous avons interagi lors de ce travail, sans toutefois les avoir cité, sachent que leur contribution a été grandement appréciée.

Dédicaces

Ce modeste travail n'est que le fruit d'un acharnement et d'une volonté qui grandissaient de plus en plus. Ce but tant espéré n'a pu se réaliser sans la présence de tous ceux qui m'ont aidée, soutenue et encouragée dans les moments les plus difficiles ; pour ces raisons je dédie ce mémoire :

A mes chers parents qui m'ont apporté de l'aide et m'ont toujours poussé vers l'avant. Pour tous leurs sacrifices, leurs inquiétudes, je leur serai toujours reconnaissante, qu'ALLAH les garde.

A mes enfants : Islam, Soumia et Abderrahman

Au père de mes adorables enfants : Mohamed

A mes très chers Sœurs

A ma directrice de thèse Mme Allem R. et ma co-directrice Mme Zahzeh T., ainsi qu'à mon enseignant des années de la graduation et mon encadreur de mémoire de DES en Biologie Mr Taherti qui a toujours été l'exemple durant mes études et mes enseignements et grâce à qui l'endocrinologie est devenue un de mes soucis scientifiques les plus élémentaires.

A mes amies

A tous mes enseignants depuis l'école primaire jusqu'à l'université

A tous je vous dédie ce travail

LISTE DES PUBLICATIONS INTERNATIONALES

1. **Aida KAHAL, Rachida ALLEM, 2018.** Reversible effects of anabolic steroid abuse on cyto-architectures of the heart, kidneys and testis in adult male mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 106,917–922.
ISSN: 0753-3322
URL: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.07.038>
2. **Aida KAHAL, Rachida ALLEM, Touria ZAHZEH, Sana KORICHE, Amina KOURI, Asma DOUANI, Hadjira KASSOUL, Adda ABABOU, 2020.** Evolutions in Cardiac and Gonadal Ultra-Structure during a "Cycle" of Androgenic Anabolic Abuse in Adult Male Mice. *Steroids*, 155:108571.
ISSN: 0039-128X
URL: <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2019.108571>
3. **Aida KAHAL, Rachida ALLEM, Touria ZAHZEH, Saida OULMANE, Zahra TAFROUKHTE, 2020.** Abuse of androgenic anabolic drugs with “Cycling” induces hepatic steatosis in Adult Male Mice. *Steroids*, 155:108574.
ISSN: 0039-128X
URL: <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2019.108574>

Résumé

L'abus en anabolisants androgènes entraîne de graves altérations histopathologiques. Notre objectif est l'étude des effets négatifs de l'abus en Deca-Durabolin en particulier sur les structures du cœur, des reins, des testicules et du foie. L'étude a été réalisée sur 40 souris mâles adultes divisés en cinq groupes de huit traités par le Deca-Durabolin (décanoate de nandrolone) à 30 g / kg de poids corporel, une fois par semaine pendant un mois pour le groupe I (GI); deux mois (GII); trois mois (GIII); trois mois suivis par six semaines d'arrêt du traitement (GIV) et un groupe contrôle (C). Des paramètres morphométriques ont été suivis au cours du traitement en plus d'un dosage sanguin des transaminases hépatiques. Des examens histologiques morphométriques ont été effectués pour déterminer l'évolution des dommages histopathologiques dans les tissus cardiaques, rénaux, testiculaires et hépatiques. Les résultats ont montré que les animaux traités supportaient très bien la substance administrée. L'augmentation de la force musculaire et l'absence d'agressivité étaient les notes les plus remarquables dans les groupes traités à long terme. De plus, les gains des poids corporel et cardiaque augmentent avec la durée du traitement et même davantage après l'arrêt du traitement. Notre étude a montré aussi d'importants changements dégénératifs et une désorganisation de la structure histologique du cœur, des reins et des testicules chez les animaux du GIII. Les lésions s'aggravent dans le cœur et les reins six semaines après l'arrêt du traitement ; elles se réparent d'une façon incomplète dans les testicules. Dans le foie, notre étude a montré une augmentation des taux plasmatiques d'enzymes hépatiques (ALAT et ASAT) accompagnée de modifications dégénératives importantes du tissu hépatique avec l'évolution d'une péliose après deux mois de traitement. Ces dommages s'aggravent six semaines après l'arrêt du traitement par le développement d'une stéatose microvésiculaire périportale et une thrombose avec une organisation fibro-hyaline bien évoluées qui indiquent l'augmentation de la détresse hépatique.

En conclusion, ces résultats confirment que l'utilisation des SAAs pour le dopage est associée à de nombreux effets délétères irréversibles sur les tissus cardiaques, rénaux, gonadiques et hépatiques.

***Mots clés :** anabolisant androgénique, dopage, cœur, rein, testicule, foie, cyto-architecture.*

المساهمة في دراسة آثار العوامل المحيطة للاضطرابات الهرمونية: حالة العقارات المنشطة الأندروجينية

ملخص

يؤدي تعاطي الأستروجينات إلى تغيرات نسيجية خطيرة . هدفنا هو دراسة الآثار السلبية لإساءة استخدام ديكا دورابولين (Durabolin Deca) ولا سيما على هياكل القلب ، الكلى ، الخصيتين و الكبد . أجريت دراستنا على 40 فار من الذكور البالغين ، تم تقسيم هذه الحيوانات إلى خمس مجموعات من ثمان حيوانات على النحو التالي: تعاطي Deca Durabolin (ناندرولون ديكانوات) 30 غ / كغ من وزن الجسم ، مرة واحدة في الأسبوع لمدة شهر واحد للمجموعة (GI) I ؛ شهرين (GII) ؛ ثلاثة أشهر (GIII) ؛ ثلاثة أشهر تليها ستة أسابيع من وقف العلاج (GIV) ومجموعة مراقبة (C) . تم اتباع المعلومات المورفومترية أثناء العلاج بالإضافة إلى فحص لترانسامينات الكبد (أو إنزيمات الكبد) في الدم ، تم إجراء فحوصات مورفومترية نسيجية لتحديد مسار الأضرار النسيجية في أنسجة القلب ، الكلى ، الخصية و الكبد . أظهرت النتائج أن الحيوانات المعالجة قد تقبلت المادة العلاجية جيدًا . كانت الزيادة في قوة العضلات ونقص العدوان أبرز الملاحظات في المجموعات المعالجة على المدى الطويل . بالإضافة إلى ذلك ، تزايد وزن الجسم والقلب مع زيادة فترة العلاج وحتى بعد توقف العلاج . أظهرت دراستنا كذلك تغييرات كبيرة وفقدان تنظيم التركيب النسيجي للقلب والكلى والخصيتين في حيوانات GIII . تصبح هذه الأضرار أسوأ في القلب والكلى بعد ستة أسابيع من التوقف عن العلاج ، وفي الوقت نفسه ، تقوم بإصلاح نفسها بشكل غير كامل في الخصيتين . في الكبد ، أظهرت دراستنا زيادة في مستويات إنزيمات الكبد (ALT و AST) في الدم مصحوبة بتغييرات كبيرة في أنسجة الكبد مع تطور بيليوس (Pélioise) بعد شهرين من العلاج . يزداد هذا الضرر سوءًا بعد ستة أسابيع من التوقف عن العلاج و ينتهي بتطور تراكم دهني (Stéatose) و تجلط مع تنظيم ليفي متطور ، وهو ما يشير إلى الزيادة في معاناة الكبد .

في الختام ، تؤكد هذه النتائج أن استخدام عوامل البناء الأندروجينية كمنشط يرتبط بالعديد من الآثار الضارة غير القابلة للتصحيح على أنسجة القلب ، الكلى ، الغدد التناسلية و الكبد .

الكلمات المفتاحية: عوامل البناء الأندروجينية ، المنشطات ، القلب ، الكلى ، الخصية ، الكبد ، الأنسجة .

Contribution to the study of the effects of environmental endocrine disruptors: the case of androgenic anabolics

Abstract

Abuse of anabolic androgens leads to serious histopathological changes. Our aim is to study the negative effects of abuse of Deca-Durabolin, in particular on the structures of the heart, kidneys, testicles and liver. The study was performed on 40 male adult mice. Animals were divided into five groups of eight animals each as follows: treated by Deca-Durabolin (nandrolone decanoate) at 30g/kg of BW, weekly during one month for the group I (GI); two months (GII); three months (GIII); three months followed by six weeks of treatment discontinuation (GIV) and Control (C). Morphometric parameters were followed during treatment in addition to a blood test for liver transaminases. Histometric morphometric examinations were carried out to determine the course of histopathological damage in the cardiac, renal, testicular and hepatic tissues. Results showed that the treated animals supported very well the administrated substance. The increase in muscle strength and the absence of aggression were the most noticeable traits in longer-term treated groups. In addition, the gains in body and heart weights increase with duration of treatment and even more after stopping treatment. Our study showed important degenerative changes and disorganization of the histological structure of heart, kidney and testis in the animals of GIII. These damages worsen again 6 weeks after stopping treatment in heart and kidney, and repairs incompletely in the testis. In the liver, our study showed as well an increase in plasma levels of liver enzymes (ALT and AST) accompanied by significant degenerative changes in liver tissue with the evolution of peliosis after two months of treatment. This damage worsens six weeks after stopping treatment and ends with the development of periportal microvesicular steatosis and thrombosis with a well-developed fibro-hyaline organization which indicating increased liver distress.

In conclusion, these results confirmed that the use of AAS for doping is associated with a lot of irreversible deleterious effects on the cardiac, nephritic, gonadic and hepatic tissues.

Keywords: androgenic drugs, doping, heart, kidney, testis, liver, cyto-architecture.

Liste des Abréviations

- 5-HT** : 5-hydroxytryptamine
ADN : Acide désoxyribonucléique
AF-1: Activating function 1
AFP: Alpha-Fœtoprotéine
ALAT : Alanine AminoTransférase
AMA : Agence Mondiale Antidopage
ANOVA: Analysis of variance
AOH : Angio-œdème héréditaire
ARE: Androgen Response Element
ASAT : Aspartate Amino-Transférase
CIO : Comité international olympique
CMV : Compléments ou aliments minéraux et vitaminé
CPK : Créatine Phospho-Kinase
D : Dermique
DBD : Domaine de liaison à l'ADN (DNA Binding Domain)
DHEA : Déhydroépiandrostérone
DHEA-S: Dehydroepiandrosterone Sulfate
DHT : Dihydrotestostérone
DMO : Densité Minérale Osseuse
E2 : 17 β -œstradiol
ER α : Récepteur alpha-œstrogéniques
ER β : Récepteur bêta--œstrogéniques
ESM : Erreur Standard à la Moyenne
FSH: Hormone Folliculo-Stimulante
GABA: Gamma Amino Butyric Acid
GH: Hormone de croissance
GHB: Gamma Hydroxy-Butyric acid
GnRH : Gonadotrophine-Releasing Hormone
HBP : Hypertrophie Bénigne de la Prostate
hCG : Gonadotrophine Chorionique Humaine
HDL : Cholestérol de Haute densité lipoprotéique
HE : Hématoxyline-Eosine
HPT : Testiculaire pituitaire hypothalamique
HR : Hinge Region (région charnière)
IGF-1 : Insuline likegrowth factor1

IM : Intra-Musculaire

Inj : Injection

JO : Olympiques

kDa : kilo Dalton

LBD : Domaine de liaison au ligand (Ligand Binding Domain)

LDH : Lactate Déshydrogénase

LDL : Low Density Lipoprotein (cholestérol de faible densité lipoprotéique)

LH : luteinising hormone (Hormone lutéinisante)

M : Mois

mn : Minute

Moy : Moyenne

n : Nombre

NLS : Signal de localisation nucléaire

nM : Nano mole

P : Probabilité

PM : Poids Moléculaire

PO : Pris oralement

PSA : Antigène spécifique à la prostate

RA : Récepteur des androgènes

RN : Récepteurs nucléaires

SAA : Stéroïde Anabolisant Androgénique

SHBG : Sex hormone binding globulin

SNC : Système nerveux central

T : Testostérone

TeBG : Testosterone Binding-Globulin

VIH : Virus d'immunodéficience humain

LISTE DES TABLEAUX

Tableau		Page
I	Analogues de testostérone approuvés aux États-Unis	9
II	Risques et bénéfices potentiels du traitement androgène	11
III	Les trois principales classes de stéroïdes anabolisants androgènes	15
IV	Comparaison des activités myotrophes et androgéniques des stéroïdes anabolisants	16
V	Composition de l'alimentation fournie aux souris	49
VI	Poids corporel moyen (en g) chez les souris soumises au traitement et ceux du groupe contrôle	62
VII	Poids moyen du cœur (en g) chez les souris soumises au traitement et ceux du groupe contrôle	62
VIII	Poids moyen des gonades (en g) chez les souris soumises au traitement et ceux du groupe contrôle	62
IX	Taux plasmatique moyen en enzymes hépatiques (ALAT et ASAT) chez les souris des groupes soumis au traitement et du groupe contrôle (en U/L).....	79

LISTE DES FIGURES

Figure		Page
1	Voies de transformation de la testostérone et leur point d'impact	6
2	Activités tissulaires et fonctionnelles spécifiques de la testostérone et de ses principaux métabolites	6
3	Structure de la testostérone et modifications structurales des anneaux A et B de ce stéroïde qui augmentent l'activité anabolique	14
4	Domaines structuraux et fonctionnels de la protéine du récepteur aux androgènes	24
5	Mécanisme d'action de la testostérone	27
6	Mécanisme d'action de la Nandrolone	28
7	Effets indésirables dus aux SAA pouvant affecter de nombreux organes et appareils	37
8	Mus musculus	48
9	Cages d'élevages des souris dans le laboratoire	49
10	Aliment fourni aux souris	50
11	Injection du traitement par voie intramusculaire	51
12	Pesage des souris avant le sacrifice	52
13	Sacrifice, prélèvement des organes, pesage et fixation dans le formol à 10%	52
14	Spectrophotomètre	54

15	Morphométrie du tissu cardiaque et testiculaire à l'aide du programme « ImageJ », ainsi qu'une représentation de la Camera Digital appropriée « Mode-5C, China » connectée au microscope et à l'ordinateur	58
16	Poids corporels (a.), cœur (b.) et gonades (c.) moyens chez les souris des groupes expérimentaux et témoin (en g)	63
17	Coupes histologiques dans les muscles cardiaques des souris mâles des groupes C, GIII et GVI (coloration H & E, × 100 et × 400)	66
18	Coupes histologiques dans les reins des souris mâles des groupes GIII et GVI (coloration H & E, × 400)	68
19	Coupes histologiques dans les gonades des souris mâles des groupes GIII et GVI (coloration H & E, × 400)	70
20	Photomicrographie dans les cœurs de l'ensemble des groupes de souris traitées par une surdose en androgène comparées au groupe témoin (H&E, x 200 et x 800)	72
21	Evolutions moyennes de quelques paramètres histologiques morphométriques dans le cœur de l'ensemble des groupes de souris traitées par une surdose en androgène comparées au groupe témoin	74
22	Photomicrographie dans les testicules de l'ensemble des groupes de souris traitées par une surdose en androgène comparées au groupe témoin (H&E, x200, x800 et x 2000)	76
23	Evolutions moyennes de quelques paramètres histologiques morphométriques dans les testicules de l'ensemble des groupes de souris traitées par une surdose en androgène comparées au groupe témoin	78
24	Taux plasmatiques moyens d'ALAT et d'ASAT chez les souris des groupes expérimentaux et du groupe témoin (en U/L)	79
25	Coupes histologiques hépatiques chez des souris mâles des groupes C, GI, GII et GIII (coloration H & E, × 100, × 400 et × 1000)	80
26	Photomacrographie du foie des souris mâles du groupe GVI	81
27	Coupes histologiques hépatiques chez des souris mâles du groupe GVI (coloration H & E, × 100, × 400 et × 1000)	81

TABLE DES MATIERES

Page

REMERCIEMENTS

DEDICACES

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

INTRODUCTION

1

PARTIE 1 :

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

4

I. STEROÏDES ANDROGENIQUES ANABOLISANTS.....	5
1. Définition	5
2. Administration	7
2.1. A des fins thérapeutiques	7
2.2. A des fins du dopage	11
2.3. A des fins contraceptives	12
3. Molécules d'anabolisants androgéniques.....	13
II. UTILISATION A DES FINS DE DOPAGE.....	17
1. Historique.....	17
2. Données statistiques.....	18
3. Méthodes d'utilisation.....	21
III. MECANISMES D'ACTION.....	23
1. Mécanisme général	23
2. Mécanismes particuliers	29
2.1. Action Anti-Glucocorticoïdes	29
2.2. Dans le système hématologique	29
2.3. Dans le muscle squelettique.....	29
2.4. Dans le système cardiovasculaire.....	30
2.5. Dans le foie.....	32
2.6. Stress oxydatif, effets génotoxiques et carcinogénèse.....	33
2.7. Dans le cerveau.....	34
IV. EFFETS INDESIRABLES.....	36
1. Effets généraux.....	36
2. Effets spéciaux.....	36
2.1. Paramètres métaboliques	37
2.2. Reproduction.....	40
2.3. Fonction cardiovasculaire.....	41
2.4. Foie	42

2.5. Tumeurs.....	43
2.6. Cerveau, psychisme et comportement	43
2.7. Autres	45
PARTIE 2 :	PARTIE EXPERIMENTALE
	46
I. MATERIEL ET METHODES	47
1. MATERIEL ANIMAL	48
1.1. Classification.....	48
1.2. Descriptions	48
1.3. Conditions d'ébergement.....	49
1.3.1. Cages	49
1.3.2. Nourriture.....	49
2. EXPERIMENTATION ANIMALE	50
2.1. Traitement.....	50
2.2. Sacrifice.....	51
3. TECHNIQUES DES DOSAGES SANGUINS	53
3.1. Dosage des ALAT.....	53
3.2. Dosage des ASAT	54
4. TECHNIQUE HISTOLOGIQUE	55
4.1. Fixation.....	55
4.2. Inclusion dans la paraffine	55
4.2.1. Déshydratation	55
4.2.2. Eclaircissement.....	56
4.2.3. Imprégnation des pièces par la paraffine	56
4.3. Confection des blocs.....	56
4.4. Confection des coupes	56
4.5. Etalement des coupes	56
4.6. Coloration.....	57
4.7. Montage et observation au microscope photonique.....	57
5. ANALYSE MORPHOMETRIQUE	57
6. ANALYSE STATISTIQUE DES RESULTATS	58
II. RESULTATS	60
1. EVOLUTION DES PARAMETRES BIOMETRIQUES.....	62
2. OBSERVATIONS MICROSCOPIQUES DES ORGANES	65
2.1. Observation microscopique du cœur.....	65
2.2. Observation microscopique des reins	67
2.3. Observation microscopique des testicules	69
3. ASPECT MICROSCOPIQUE MORPHOMETRIQUE DES ORGANES.....	71
3.1. Aspect microscopique morphométrique évolutif du cœur.....	71

3.2. Aspect microscopique morphométrique évolutif des testicules	75
4. OBSERVATIONS DES PARAMETRES HEPATIQUES.....	79
4.1. Evolutions des taux plasmatiques en enzymes hépatiques	79
4.2. Observations macro- et microscopiques du foie	79
III. DISCUSSION	83
1. Effets généraux de l'abus en anabolisant androgénique et réversibilité	84
2. Effets sur le muscle cardiaque.....	86
3. Effets sur les reins	88
4. Effets sur les testicules.....	89
5. Effets sur le foie	92
CONCLUSION	96
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	99
PUBLICATIONS	
ANNEXES	

INTRODUCTION

Les stéroïdes anabolisants androgènes (SAA) représentent un groupe de dérivés synthétiques de la testostérone créés pour maximiser les effets anaboliques et minimiser ceux qui sont androgènes (Kicman et Gower, 2003 ; Hoffman et *al.*, 2009 ; Foletto et *al.*, 2015 ; Frati et *al.*, 2015). L'utilisation thérapeutique des SAA est limitée. Les indications les plus importantes sont le dysfonctionnement endocrinien de l'axe gonadotrope et du testicule, des perturbations du développement musculaire, l'ostéoporose et plusieurs formes d'anémie, le carcinome du sein et l'œdème angioneurotique héréditaire (Hartgens et Kuipers, 2004).

Ces médicaments ont été révélés par les athlètes et les jeunes pour leurs effets spéciaux dans la construction musculaire et l'amélioration de la performance. Leur utilisation a considérablement augmenté et les individus prennent souvent des doses 10 à 100 fois supérieures à la dose thérapeutique (Hassan et *al.*, 2009 ; Frankenfeld et *al.*, 2014). Cet abus peut entraîner divers effets indésirables liés à la dose, à la fréquence et aux modes d'utilisation, notamment les troubles cardiovasculaires, l'hépatite aiguë et la jaunisse, l'hypertension et une forte augmentation de l'agressivité (Ahmed Bin Bisher, 2009).

Ces médicaments peuvent entraîner un dysfonctionnement de la reproduction, la stérilité masculine et des troubles du comportement sous la forme de stimulation sexuelle excessive (Ahmed Bin Bisher, 2009 ; Jannatifar et *al.*, 2015). Ainsi, les altérations induites par l'abus des SAA affectent les systèmes hépatique, cardiovasculaire, reproducteur, musculo-squelettique, endocrinien, rénal, immunologique, hématologique et nerveux (Vieira et *al.*, 2008; Rosca et *al.*, 2016; Mohammed et *al.*, 2017 ; Patanè F. G. et *al.*, 2020) et peuvent être fatales. Les cas graves signalés incluent des suicides, des infarctus aigus du myocarde, des néphropathies au stade terminal, des cas de péliose hépatique, de coma hépatique, d'adénome hépatocellulaire et des lymphomes liés à des athlètes prenant les SAA (Biagher et Boyer, 1974; Pärssinen et *al.*, 2000; Socas et *al.*, 2005; Barbosa Neto et *al.*, 2018).

Par conséquent, les stéroïdes anabolisants sont connus en tant que substances d'effets multiples avec des propriétés à la fois bénéfiques et néfastes et sont listés en tant que substances de perturbation endocrinienne car ils restent en grande partie les composés les plus bioactifs qui exercent leurs actions par différents mécanismes généraux (Cristina et *al.*, 2014).

Malgré les risques, certains facteurs sont responsables de la persistance du phénomène du dopage en androgènes, notamment l'idée que les effets indésirables de ces médicaments sont réversibles, de plus, ils peuvent être traités médicalement après les compétitions sportives.

Le «Cycling» est une méthode largement employée par les athlètes dans la prise des SAA. Il consiste à utiliser ces médicaments pendant une période déterminée, généralement entre 6 et 12 semaines, à arrêter l'administration au cours de la même période, puis à répéter le cycle (Hartgens et Kuipers, 2004; Graham et *al.*, 2008). Ce modèle d'administration repose sur la probable réversibilité des effets indésirables de l'abus en SAA au cours de cette période de repos.

En fait, ces idées ne sont pas prouvées et manquent visiblement d'étude, quelques études ont rapporté que cet abus peut souvent provoquer des effets indésirables graves irréversibles tels que les troubles cardiaques (Pesola, 1988 ; Urhausen et *al.*, 2004 ; Marocolo et *al.*, 2018) et la détérioration de la qualité du sperme (Karbaly-Doust et *al.*, 2007).

En examinant la littérature, il a été constaté que certains dommages histologiques cardiovasculaires, rénaux, hépatiques et gonadiques induits par l'abus de SAA ont été bien étudiés et documentés (Cristina et *al.*, 2014 ; Ahmed, 2015 ; Jannatifar et *al.*, 2015 ; Mohammed et *al.*, 2017). Il y'a très peu d'études disponibles sur la réversibilité des modifications histopathologiques induites par l'abus de ces médicaments.

Dans ce contexte, le principal objectif ciblé dans ce travail est d'explorer les effets négatifs des fortes doses administrées de la Deca-Durabolin sur les structures du cœur, des reins, des testicules et du foie. Pour atteindre cet objectif, il nous a semblé nécessaire de procéder expérimentalement à la détermination chez les souris mâles adultes des dommages histopathologiques cardiaques, rénaux, gonadiques et hépatiques induits par l'administration répétée d'une dose de Deca-Durabolin (nandrolone décanoate) estimée d'être 10 fois supra-médicale (30 g / kg de poids corporel, chaque semaine) pendant une période de traitement de trois mois et d'étudier la réversibilité des effets indésirables après 6 semaines d'arrêt du traitement .

PARTIE 1 :

SYNTHESE

BIBLIOGRAPHIQUE

I. STEROÏDES ANDROGENIQUES ANABOLISANTS

1. DEFINITION

Les stéroïdes androgéniques anabolisants (SAA) sont un groupe de composés synthétiques dont la structure chimique est similaire à la testostérone naturelle, ils sont produits dans le but de maximiser les effets anaboliques et de minimiser ceux qui sont androgéniques de l'hormone naturelle (Evans, 2004 ; Hoffman *et al.*, 2009; Foletto *et al.*, 2015 ; Frati *et al.*, 2015).

En effet, un androgène est une hormone stéroïdienne capable d'induire la différenciation et la maturation des organes reproducteurs masculins, de stimuler les caractères sexuels secondaires pour aboutir à un phénotype masculin normal et d'entraîner les modifications comportementales nécessaires au rôle de l'homme dans la reproduction (Tostain *et al.*, 2004). La testostérone, hormone mâle sécrétée par le testicule, est l'androgène majeur qui exerce une action via trois voies métaboliques différentes : directe, particulièrement dans le muscle strié sans métabolisme tissulaire, ou par l'intermédiaire de sa bioconversion en un androgène plus puissant, la dihydrotestostérone (DHT), dans les tissus cibles tels que les organes génitaux externes du fœtus, les follicules pileux à la puberté, la prostate, les vésicules séminales et la peau du pubis par la 5 α -réductase, ou en un œstrogène puissant, l'œstradiol (E2), par l'aromatase principalement dans le tissu adipeux, l'os et le cerveau (Basaria *et al.*, 2001; Smeets et Legros, 2004 ; Tostain *et al.*, 2004).

La testostérone et ses métabolites actifs gardent des actions hormonales puissantes totalement différentes qui renforcent et diversifient ses effets biologiques (figures 1 et 2). Par ailleurs, la testostérone non utilisée au niveau tissulaire est métabolisée par oxydation et conjugaison au niveau hépatique en catabolites excrétés par voie rénale (Smeets et Legros, 2004).

Dans l'organisme, la testostérone est synthétisée par les cellules de Leydig, cellule interstitielle des testicules, qui sont principalement sous le contrôle des gonadotrophines, hypophysaires. Environ 95% de la testostérone circulante provient directement des sécrétions testiculaires (Tostain *et al.*, 2004 ; Graham *et al.*, 2008). Le reste provient de la conversion périphérique des androgènes dites inactifs (ou précurseurs stéroïdiens) tels que la déhydroépiandrostérone (DHEA) et sa forme sulfatée (DHEA-S), ainsi que l'androsténédione, d'origine surtout surrénalienne (Labrie *et al.*, 1990 ; Smeets et Legros, 2004 ; Tostain *et al.*,

2004), dans divers tissus et en particulier dans les cellules de la prostate, le foie, la peau, l'os et le cerveau (Tostain et *al.*, 2004). Les précurseurs peuvent être transformés en androgènes actifs et exercer leur action à l'intérieur de la cellule même qui les a produits (Labrie et *al.*, 1990).

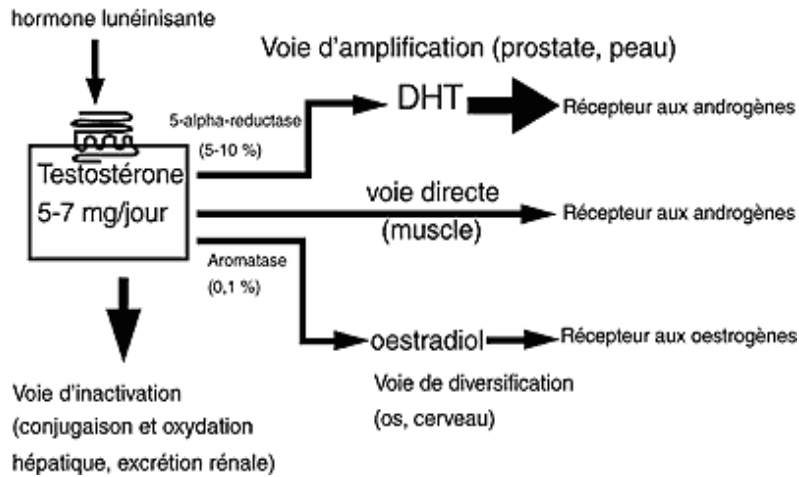


Fig.1 : Différentes voies de transformation de la testostérone et leur point d'impact (Smeets et Legros, 2004).

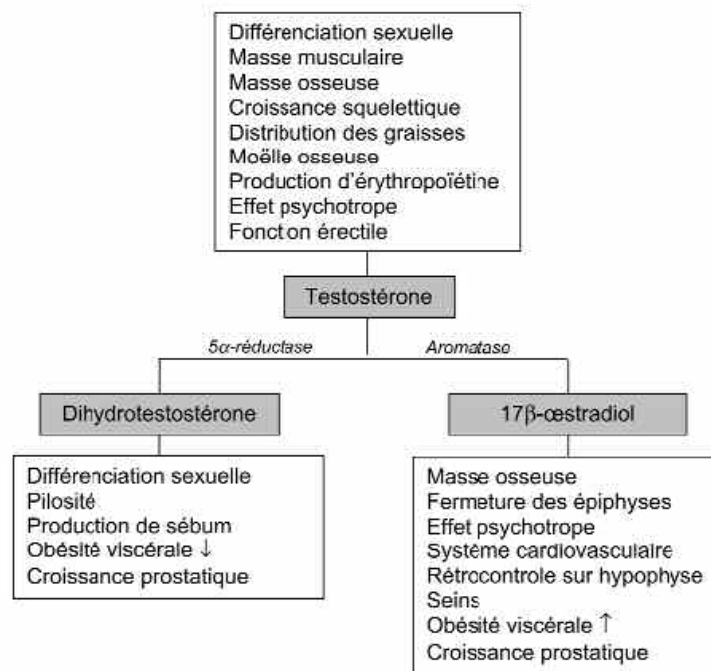


Fig. 2: Activités tissulaires et fonctionnelles spécifiques de la testostérone et de ses principaux métabolites (Tostain et *al.*, 2004).

Les fonctions corporelles sous contrôle direct de la testostérone peuvent être classées en deux grandes catégories: androgènes et anaboliques. Les actions androgènes comprennent principalement le développement des caractéristiques masculines, à savoir une augmentation de la force, de l'approfondissement de la voix et de la croissance des poils typiques de

l'homme. L'action anabolique est constructive ou musculaire, elle affecte le métabolisme des protéines en stimulant la synthèse des protéines et en inhibant leur dégradation (Hartgens et Kuipers, 2004 ; Hall et Hall, 2005 ; Graham et *al.*, 2008).

Les hommes adultes en bonne santé produisent entre 2,5 et 11 mg de testostérone par jour, avec des concentrations plasmatiques comprises entre 300 et 1 000 ng/dl (Basaria et *al.*, 2001). Dans le plasma, la testostérone circule sous 3 formes : 2% sous forme libre, seule forme utilisable directement par les tissus, 45-75% sont liés à la protéine de transport des stéroïdes sexuels appelée TeBG (testosterone binding-globulin) ou SHBG (sex hormone binding globulin) et 30 à 55% sous forme liée à l'albumine. La testostérone liée à la SHBG, à l'inverse de la fraction liée à l'albumine, se dissocie difficilement et n'est pas disponible pour l'utilisation tissulaire. La testostérone biodisponible représente la somme de la testostérone libre et de la testostérone liée à l'albumine, soit 40 à 50% de la testostérone totale. Les protéines de liaison servent de réserve de stéroïdes qui, autrement, seraient rapidement métabolisés par le foie (Tostain et *al.*, 2004).

Chez les femmes, la testostérone est sécrétée par les ovaires et les glandes surrénales. Environ 50% de la testostérone sécrétée (0,25 mg / j) est synthétisé de manière extra-glandulaire, où l'androsténédione produite par les glandes surrénales est convertie en testostérone. Les concentrations plasmatiques varient de 15 à 65 ng/dl. La majorité de la testostérone produite chez les femmes est converti en E2 (17 β -œstradiol) dans les adipocytes par l'enzyme aromatasase (Basaria et *al.*, 2001).

2. ADMINISTRATION

2.1.A des fins thérapeutiques

Les SAA sont utilisés dans la pratique clinique depuis les années 1940 dans le traitement des maladies débilitantes chroniques, des traumatismes, des brûlures, de la chirurgie et de la radiothérapie. Les effets sur les paramètres hématologiques ont été reconnus dès 1942 et, avant que la transplantation de moelle osseuse et l'utilisation d'érythropoïétine synthétique ne soient courantes, les SAA étaient souvent utilisés pour traiter divers types d'anémies. Noréthandrolone et méthandrosténolone (Dianabol) est également disponible sur le marché dans les années 1950. Les effets psychoactifs du SAA ont élargi son utilisation pour traiter la dépression et la mélancolie (Basaria et *al.*, 2001).

Actuellement, l'utilisation thérapeutique du SAA est limitée et peut varier d'un stéroïde à l'autre. Les indications les plus importantes sont le dysfonctionnement endocrinien des testicules et de l'axe hypothalamus-hypophyso-gonadique (c'est-à-dire l'hypogonadisme masculin et le retard de croissance) (Hartgens et Kuipers, 2004 ; Foletto *et al.*, 2015 ; Frati *et al.*, 2015 ; Elliott *et al.*, 2017), le traitement substitutif à l'andropause (Rossi et Tostain, 2004 ; Tostain et Rossi, 2004), la micropénis néonatale (Foletto *et al.*, 2015), le déficit androgénique partiel chez les hommes (Foletto *et al.*, 2015 ; Huo *et al.*, 2016). De plus, les SAA sont utilisés pour traiter les perturbations de l'équilibre de l'azote et du développement musculaire (Woerdeman et de Ronde, 2011), ainsi que plusieurs autres maladies non endocriniennes, y compris l'œdème angioneurotique héréditaire et le cancer du sein (Hartgens et Kuipers, 2004), l'ostéoporose et plusieurs formes d'anémie (Hartgens et Kuipers, 2004 ; Foletto *et al.*, 2015), la fonte musculaire, la maladie alcoolique du foie, les brûlures graves et le rétablissement postopératoire (Woerdeman et de Ronde, 2011), le syndrome de dépérissement dû au VIH (Sardar *et al.*, 2010), la leucémie et l'insuffisance rénale (Basaria *et al.*, 2001).

Les recherches rapportent que les SAA portent une option de traitement pour les patients atteints de maladies pulmonaires souffrant d'affaiblissement musculaire (Creutzberg *et al.*, 2003 ; Sharma *et al.*, 2008 ; Svartberg, 2010 ; Velema *et al.*, 2012). Il est rapporté, par ailleurs, que les perfusions intra-coronariennes de testostérone induisent une vasodilatation coronaire et augmentent le débit sanguin coronaire. La supplémentation en testostérone à plus long terme a eu une incidence favorable sur les signes d'ischémie myocardique chez les hommes présentant un faible taux de testostérone dans le plasma et une maladie coronarienne (Rosano *et al.*, 1999 ; Webb *et al.*, 1999 ; Thompson *et al.*, 2002 ; Webb *et al.*, 2008). Dans les études à court terme, il a été démontré que la thérapie de remplacement de la testostérone protégeait les hommes de l'ischémie induite par l'exercice et modifiait les facteurs de risque cardiovasculaires tels que la résistance à l'insuline, la masse grasse et les profils lipidiques (Mathur *et al.*, 2009). Des études rapportent que l'administration de testostérone chez les hommes hypogonadiques pourrait avoir des effets bénéfiques sur le bilan lipidique et la réduction du risque des maladies cardiovasculaires (Meriggiola *et al.*, 1995 ; Uyanik *et al.*, 1997 ; Tyagi *et al.*, 1999 ; Monroe et Dobs, 2013). Dans ce porté, les données semblent être contradictoires (Abd Alamir *et al.*, 2016 ; Yeap *et al.*, 2019).

Le tableau I donne les applications cliniques de quelques anabolisants androgéniques commercialisés aux Etats-Unis.

Tableau I : Analogues de testostérone (Basaria et al., 2001)

Nom générique	Nom commercial	Voie	Indications	Doses
T propionate	Testex	IM	Traitement de remplacement	10–25 mg 2–3 × / semaine
T énanthate	Delatestryl, Everone, Durathate	IM	Traitement de remplacement	50 à 400 mg toutes les 2 à 4 semaines
T cypionate	Virilon im, Depotest, Andro-Cyp	IM	Traitement de remplacement	50 à 400 mg q 2 à 4 semaines
T patches	Androderm, Testoderm TTS	D	Traitement de remplacement	5 mg / jour
T Gel	Androgel	D	Traitement de remplacement	5 g / jour
Nandrolone décanoate	Deca-Durabolin	IM	Anémie associée à une insuffisance rénale	50–200 mg / semaine
Nandrolone, phénpropionate	Durabolin	IM	Anémie associée à une insuffisance rénale	50–200 mg / semaine
Méthyltestostérone	Testred, Android, Virilon	PO	Traitement deremplacement ; endométriose	10–50 mg / j 800 mg / j initialement
Danazol	Danocrine	PO	AOH	400–600 mg / j initialement
Fluoxymesterone	Halotestin	PO	Traitement de remplacement	5 à 20 mg / j
Méthandrosténolone	Methandienone	PO	Divers	
Oxandrolone	Anavar, Oxandrin	PO	Perte de poids	5-10 mg / j
Oxymétholone	Anadrol	PO	Anémie	1-5 mg / kg · j
Stanozolol	Winstrol	PO	AOH :prévention et attaques	6 mg / j

T, testostérone ; AOH, angio-œdème héréditaire; IM, intramusculaire ; D, dermique ; PO, pris oralement.

Le décanoate de nandrolone, l'androgène majeure utilisé dans le traitement ainsi que dans le dopage (Cristina et *al.*, 2014 ; Foletto et *al.*, 2015; Mohammed et *al.*, 2017 ; Patanè F. G. et *al.*, 2020), est une substance aux multiples facettes ayant des propriétés bénéfiques et néfastes (Dobs, 1998 ; Strawford et *al.*, 1999 ; Abrams, 2001). En thérapie, elle est employée sur le poids et la masse maigre chez les hommes et les femmes infectés par le VIH (Batterham et Garsia, 2001 ; Mulligan et *al.*, 2005 ; Gold et *al.*, 2006 ; Saha et *al.*, 2009), en cas d'ostéoporose post-ménopausique, traiter l'anémie associée à l'insuffisance rénale chronique, ainsi que pour traiter le cancer de la prostate et l'hyperplasie bénigne de la prostate, cela est due au fait que le décanoate de nandrolone ne se convertit pas en dihydrotestostérone ; l'androgène le plus puissant (Cristina et *al.*, 2014), qui signifie une activité androgénique faible, mais anabolique plus forte.

En raison des effets secondaires possibles associés au traitement par les SAA, plusieurs précautions doivent être prises avant de les administrer. La possibilité d'une altération de la fonction hépatique, en particulier avec les stéroïdes anabolisants 17α -alkylés, justifie des tests de la fonction hépatique en série. D'autre part, la nature androgénique de tous les stéroïdes anabolisants nécessite que les taux de PSA soient testés chez l'homme avant le début du traitement. En outre, les lipides sériques doivent être vérifiés, car le traitement par les SAA peut être préjudiciable aux patients à risque élevé de complications cardiovasculaires, en particulier ceux présentant de faibles taux de HDL sériques (Basaria et *al.*, 2001).

Budoff et *al.* (2017) ; chez les hommes âgés présentant un hypogonadisme symptomatique, le traitement par gel de testostérone pendant 1 an par rapport au placebo a été associé à une augmentation significativement plus importante du volume de la plaque coronarienne non calcifiée. D'autres auteurs rapportent un risque accru de l'érythrocytose pour ce même traitement (Ponce et *al.*, 2018).

Le tableau II rapporte quelques risques prouvés par des études cliniques sur des personnes administrant les anabolisants androgéniques pour des raisons thérapeutiques.

Tableau II : Risques potentiels du traitement androgénique (Tostain et Rossi, 2004).

Bénéfices	Risques
Maintien des caractères sexuels secondaires	Gynécomastie ↓ volume testiculaire ↓ production de sperme Suppression spermatogénèse
Amélioration de la composition corporelle ↑ masse musculaire et force ↓ graisse corporelle & viscérale ↑ DMO, ↓ fractures ? ↑ épaisseur cutanée, pilosité ↑ capacités fonctionnelles ↑ hémocrite – hémoglobine	↑ poids, rétention hydrique ↓ HDL, ↑ LDL ↑ risque prostatique (HBP symptomatique, cancer occulte) Acné, peau grasse Polyglobulie, hyperviscosité
Amélioration des fonctions supérieures ↑ libido, sexualité ↑ bien être, énergie ↓ irritabilité, dépression ↑ fonctions cognitives ↑ qualité du sommeil	Apnées du sommeil
↓ Risque cardio-vasculaire	↑ Risque cardio-vasculaire

DMO, Densité Minérale Osseuse ; HBP, Hypertrophie Bénigne de la Prostate.

2.2.A des fins du dopage

Malgré certains usages thérapeutiques des SAA, les athlètes, en particulier les culturistes, sont souvent victimes d'abus en tenant compte des importants effets anaboliques de ces médicaments. Les stéroïdes anabolisants sont essentiellement utilisés par les sportifs pour accroître la masse musculaire et la matrice osseuse, mais aussi pour augmenter l'agressivité et réduire le temps de récupération entre les efforts. En parallèle, leur utilisation dans le but d'augmenter les performances comporte aussi de nombreux effets secondaires : irritabilité de l'individu, atrophies des organes génitaux (testicules, ovaires), développement de cancers hormono-dépendants (cancer du sein, des testicules ou de la prostate), etc. (Guezennec, 2001 ; Colomb et al., 2004 ; Bresson et al., 2006 ; Duclos, 2007).

L'utilisation de ces produits par les athlètes à des fins de dopage, en recherchant surtout les effets anabolisants, a considérablement augmenté et les individus prennent souvent des doses 10 à 100 fois supérieures à la dose thérapeutique (Mowszowicz, 1995 ; Karbalay-Doust et al., 2007 ; Hassan et al., 2009 ; Frankenfeld et al., 2014). En plus, il est donné que les SAA sont les composés les plus consommés par les sportifs à des fins de dopage (Hartgens et Kuipers, 2004 ; Karbalay-Doust et al., 2007 ; Kicman 2008). Le décanoate de nandrolone est l'un des dérivés les plus utilisés de la testostérone, principalement en raison de son fort effet anabolique (Cristina et al., 2014 ; Foletto et al., 2015 ; Mohammed et al., 2017).

2.3.A des fins contraceptives

Un troisième type d'utilisation devrait permettre d'apprécier les doses intermédiaires ; il s'agit de la contraception masculine (Mowszowicz, 1995 ; Hartgens et Kuipers, 2004 ; Foletto et *al.*, 2015). Il faut noter que cette méthode de contraception est encore expérimentale et non fiable vu ses effets secondaires (Hartgens et Kuipers, 2004 ; Roth et Amory, 2016).

La mise au point d'un contraceptif hormonal masculin toléré, efficace et réversible constituerait un sujet de recherche depuis quelque temps jusqu'à l'heure actuelle (Christin-Maitre et *al.*, 1995 ; Wyns, 2004 ; Huyghe et *al.*, 2007 ; Soufir, 2017). L'utilisation des androgènes comme moyen de contraception cause une suppression de la spermatogenèse, celle-là est associée à une prise de poids et à la suppression du taux sérique de HDL (Anawalt et Amory, 2001 ; Anawalt et *al.*, 2005 ; Roth et Amory, 2016). Les données actuelles suggèrent que la contraception hormonale masculine peut raisonnablement être considérée comme sûre en termes de risque cardiovasculaire (Zitzmann, 2018).

Une étude expérimentale est menée chez l'homme par Sukcharoen et *al.*, (1996), elle a évalué l'innocuité et l'efficacité d'androgène en tant que méthode de contrôle de la fertilité (une injection intramusculaire hebdomadaire de 200 mg de l'énanthate de testostérone pendant quelques mois), le traitement a prouvé son efficacité sur la suppression de la spermatogenèse (oligospermie sévère) et une augmentation significative du poids corporel, de l'hémoglobine et de l'hématocrite, ainsi qu'une diminution du volume testiculaire, de l'urée plasmatique, de l'hormone lutéinisante (LH) et de l'hormone folliculo-stimulante (FSH). Dans cette étude, les taux plasmatiques de LH et de FSH ont retrouvé leurs niveaux initiaux après la cessation du traitement. Le traitement présente l'avantage de supprimer simultanément les gonadotrophines et la fonction testiculaire, ce qui en fait un contraceptif masculin hormonal idéal.

Des études ont précisé les effets du traitement par l'énanthate de testostérone administré pendant six mois. Elles ont montré une baisse permanente de la LH et de la FSH plasmatique en 8 à 15 jours. La diminution du nombre de spermatozoïdes s'effectuait plus lentement ; elle n'atteignait des valeurs pouvant assurer une efficacité théoriquement contraceptive (moins de 5 millions de spermatozoïdes/ml) qu'après trois mois. À l'arrêt du traitement, la FSH, la LH puis la production spermatique revenaient aux valeurs de départ. Ces produits ont toutefois l'inconvénient de provoquer, après chaque injection, un pic de testostérone qui n'est pas physiologique. En effet, normalement, le niveau de testostérone sanguin est relativement stable ; il se produit le matin une augmentation modérée de la testostérone qui s'atténue

progressivement jusqu'au lendemain. Cette variation est faible avec une amplitude de 20-25%. L'injection d'androgènes induit un profil sanguin tout à fait différent, ainsi, un à deux jours après une injection d'androgènes, il est observé une augmentation de la testostérone sanguine de 200 % qui décroît en dix jours (Soufir, 2012).

Handelsman et *al.* (1996) ont testé l'efficacité des doses différentes pour ce même androgène (éнанthate de testostérone) sur la contraception masculine ; la possibilité de minimiser la dose pour plus d'efficacité et moins d'effets secondaires, ainsi que la possibilité de joindre le traitement en androgènes par un deuxième traitement à base de la progestérone pour soutenir l'effet suppresseur de la testostérone sur l'activité de l'axe gonadotrope, sont rapportées dans cette étude. Ainsi, l'addition des progestatifs a nettement augmenté l'étendue. Les doses testées n'ont pas d'effets indésirables graves au cours de l'étude. Les taux plasmatiques de testostérone totale et libre sont restés dans la plage eugonadique à tout moment avec chaque traitement. Cette étude est menée sur des volontaires d'hommes et, donc, ces résultats ont fourni une base pour l'utilisation des traitements de combinaison progestatif / androgène pour la contraception hormonale masculine.

A l'heure actuelle, un ensemble d'études portant sur les schémas à base d'androgènes et de progestatifs ont porté leurs fruits, le manque d'études à long terme a empêché la mise au point d'un produit commercialisable (Khourdaji et *al.*, 2018 ; Gava et Meriggiola, 2019).

3. Molécules d'anabolisants androgéniques

Les avantages cliniques d'un agent anabolisant pur ont été reconnus il y a de nombreuses années et un certain nombre de groupes et de sociétés de médicaments ont entrepris de modifier la molécule de testostérone en vue de maximiser l'effet anabolique et de minimiser l'activité androgène. L'étendue de la dissociation diffère selon la modification, mais il n'y a pas de SAA qui a un effet anabolique sans effet androgène (Kicman, 2008 ; Graham et *al.*, 2008). Certaines des modifications structurelles de la testostérone pour dissocier l'anabolisant des effets androgéniques sont illustrées à la figure 3.

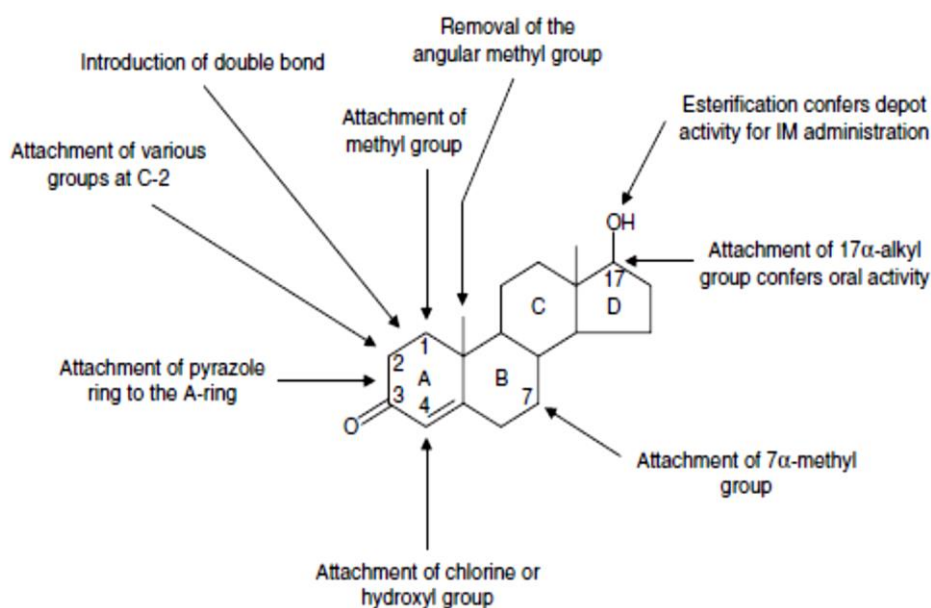


Fig. 3 : Structure de la testostérone et modifications structurales des anneaux A et B de ce stéroïde qui augmentent l'activité anabolique (Graham *et al.*, 2008).

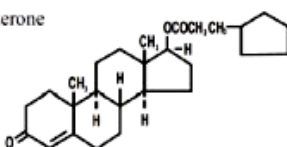
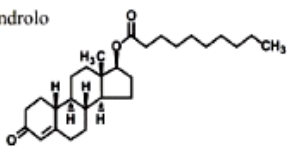
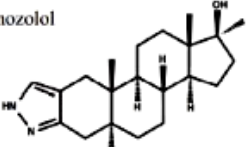
Un stéroïde synthétique peut différer de la testostérone androgénique naturelle par des modifications de sa structure fondamentale. Ces modifications comprennent l'ajout d'éthyle, de méthyle, d'hydroxyle ou de benzyle sur un ou plusieurs sites le long de la structure stéroïdienne synthétique (Graham *et al.*, 2008). Beaucoup d'entre eux sont modifiés pour tenter de détourner le test de dépistage couramment utilisé dans le domaine du sport (Kicman, 2008).

Plusieurs modifications chimiques de la testostérone ont été développées. La variété de ces modifications a conduit à plus de 100 dérivés formulés avec différents modes d'action (Hall Hall, 2005 ; Oberlander *et al.*, 2012 ; Salerno *et al.*, 2018). En analysant leur structure chimique, leur demi-vie métabolique et leurs effets physiologiques, trois classes des SAA peuvent être identifiées, les molécules les plus couramment utilisées sont présentées dans le tableau III.

Trois modifications majeures peuvent être distinguées qui ont un potentiel thérapeutique. Tout d'abord, alkylation en position 17- α avec un groupe méthyle ou éthyle. L'alkylation était importante pour créer des composés actifs par voie orale car elle implique une dégradation plus lente du médicament par le foie. Grâce à l'estérification de la testostérone et de la nortestostérone à la position 17- β , il a été possible d'administrer ces substances par voie parentérale et l'efficacité a pu être prolongée. Enfin, des modifications de la structure en anneau de la testostérone ont été appliquées aux agents oraux et parentéraux et

ont augmenté l'activité de ces substances (Mowszowicz, 1995 ; Hartgens et Kuipers, 2004 ; Kicman, 2008 ; Graham *et al.*, 2008 ; Frati *et al.*, 2015 ; Salerno *et al.*, 2018).

Tableau III: Les trois principales classes de stéroïdes anabolisants androgènes (Pomara *et al.*, 2015)

AAS Class	I C-17 Esterification	II 19-Nortestosterone	III C-17 Alkylation
Substitution	Long-chain ester	No methyl group at C-19; may also have C-17 esters	Alkyl moiety at C-17
Examples	<ul style="list-style-type: none"> • Testosterone cypionate • Testosterone propionate • Methenolone 	<ul style="list-style-type: none"> • Nandrolone decanoate • Trenbolone 	<ul style="list-style-type: none"> • Stanozolol • 17α-Methyltestosterone • Methandrostenolone • Oxymetholone
Structure	Testosterone 	Nandrolone 	Stanozolol 

Un grand nombre de ces stéroïdes ont été retirés de la liste des produits licenciés dans de nombreux pays mais ils restent disponibles sous forme de préparations pharmaceutiques dans d'autres. La boldenone et la trenbolone sont limitées à des fins vétérinaires dans certains pays, mais il est néanmoins connu que les compétiteurs sportifs et les culturistes administrent ces stéroïdes anabolisants (Kicman, 2008).

Il faut signaler qu'il existe des préparations non pharmaceutiques annoncées sur le marché pour la musculation telles que les suspensions injectables de testostérone à base d'eau (Mowszowicz, 1995 ; Kicman, 2008) et peuvent présenter un risque particulier pour la santé, car le contenu peut ne pas avoir été préparé dans des conditions stériles (Kicman, 2008).

Les formulations transdermiques sont invariablement à base de testostérone, légitimement conçues pour un traitement substitutif et comprennent le «patch» et les gels hydro-alcooliques à appliquer quotidiennement. Les autres préparations de testostérone à action brève comprennent celles qui sont conçues pour être administrées par voie sublinguale ou buccale. De telles formulations à action brève sont particulièrement préoccupantes dans le sport, car la source exogène de testostérone est rapidement éliminée après l'arrêt du traitement (Graham, 2008 ; Kicman, 2008).

Les modifications structurelles apportées à la testostérone par les chimistes ont été conçues pour renforcer l'effet anabolique des protéines par rapport à l'effet androgène mais, malheureusement, les effets anaboliques ne peuvent pas être totalement dissociés des effets androgènes, bien que certains stéroïdes synthétiques présentent une dissociation remarquable sur la base de l'indice myotrophe-androgène (tableau IV). Le calcul de cet indice est basé sur l'évaluation de la croissance d'un muscle squelettique particulier appelé levator ani (le muscle élévateur de l'anus ou muscle releveur de l'anus) par rapport à celui d'un tissu cible aux androgènes, généralement la prostate ou la vésicule séminale (Kicman, 2008).

Tableau IV : Comparaison des activités myotrophes et androgéniques des stéroïdes anabolisants (Kicman, 2008).

Stéroïde	Activité		Valeur d'index
	Myotrophique	Androgène	
Chlorométhyle	0,5	0,10–0,15	3-5
Methandienone	0,60	0,20	3
Acétate de méthénolone	0,86	0,12	7
Nandrolone décanoate	3,29 à 4,92	0,41–0,31	12,1 à 10,6
Norbolethone	3,44	0,15–0,17	20
Norethandrolone	0,77 à 1,0	0,06–0,38	2–16
Oxandrolone	3,22	0,24	13
Oxymesterone	1,34	0,42–0,61	2.2–3.2
Oxymétholone	3,20	0,45	7.1
Stanozolol	2,0 à 3,7	0,33-0,52	6-10.6
Testostérone	0,36	0,28–0,50	0,7–1,3

En effet, dans le sport, il y a généralement trois raisons pour lesquelles de nouveaux dérivés de testostérone sont synthétisés. Le premier est d'améliorer la puissance. La seconde consiste à augmenter les caractéristiques anaboliques du médicament tout en réduisant ses effets secondaires androgéniques. Pour certains, la troisième raison est de créer des SAA difficiles à détecter par des tests sanguins ou urinaires. Chaque modification touche non seulement le profil androgénique / anabolique du médicament, mais également son profil d'effets secondaires (Hall et Hall, 2005 ; Kicman, 2008).

II. UTILISATION A DES FINS DE DOPAGE

1. HISTORIQUE

L'utilisation des androgènes comme moyen de dopage est très ancienne. Déjà, dans l'Antiquité, les discoboles absorbaient de grandes quantités de testicules de mouton pour augmenter leur taux de testostérone avant les jeux (Duclos, 2011 ; Duclos 2012). Depuis les Jeux antiques, la science a progressé et les techniques de dopage ont évolué.

Après l'isolement et la caractérisation de la testostérone en 1935, de nombreux dérivés ont été synthétisés, dont les propriétés diffèrent de celles de la testostérone (El Osta1 *et al.*, 2016). Les premiers stéroïdes anabolisants synthétiques ont été la méthyltestostérone, la mestanolone et le méthandriol (Bizec *et al.*, 2001). Au début des années 50, l'attention a commencé à porter sur l'utilisation potentielle d'hormones dans le sport (Le Bizec *et al.*, 2001 ; Gower *et al.*, 2008), alléguant que des haltérophiles soviétiques utilisaient la testostérone pour augmenter leur force (Gower *et al.*, 2008).

Au cours des années 1960, de nombreux analogues chimiques de la testostérone autorisés sous licence pharmaceutique ont été commercialisés, ces analogues étant conçus pour améliorer l'effet anabolique à des fins cliniques. En 1968, l'utilisation de stéroïdes anabolisants était monnaie courante; par exemple, il est estimé à cette époque qu'un tiers de l'équipe américaine d'athlétisme avait utilisé des stéroïdes. En 1967, le Comité international olympique (CIO) a rétabli une commission médicale qui a interdit la pratique du dopage dans le sport et mis en place un pro-dépistage de la drogue en 1968 (Gower *et al.*, 2008).

En ce qui concerne le contrôle du dopage dans le sport humain, la commission médicale du CIO a introduit les stéroïdes anabolisants en tant que classe interdite en 1974 (Le Bizec *et al.*, 2001 ; Kicman, 2008) avec une première campagne de contrôle lors des Jeux Olympiques (JO) de Montréal en 1976, alors que, pour la testostérone, les premiers contrôles ont été opérés en 1984 aux JO de Los Angeles (Le Bizec *et al.*, 2001). Le nom de cette classe interdite de stéroïdes anabolisants a été modifié pour devenir un agent anabolique dans les années 1990 afin d'intégrer des tests hors compétition des autres substances qui sont également considérées comme ayant une activité anabolique (Kicman, 2008). Les pratiques utilisant les stéroïdes comme stimulants de croissance musculaire ne se sont pas limitées aux sportifs. En effet, les courses de chevaux et les animaux de rente sont également touchés par ces procédés. À de rares exceptions près, les mêmes stéroïdes sont utilisés et le contrôle de

leur utilisation illégale est organisé autour d'un réseau de laboratoires. Dans le cadre sportif, le CIO pilote ce réseau et donne un agrément à chacune des structures analytiques en fonction des résultats qu'elle obtient aux analyses circulaires organisées à intervalles réguliers (Le Bizec *et al.*, 2001).

En 1999, l'Agence mondiale antidopage (AMA) a été créée en tant que fondation à l'initiative du CIO avec le soutien et la participation d'organisations intergouvernementales, de gouvernements, d'autorités publiques et d'autres organismes publics et privés de lutte contre le dopage dans le sport humain (Kicman, 2008). En effet, les SAA sont des molécules interdites par l'AMA et classés en tant que substances interdites hors et en compétition dans la catégorie « S1-Agents Anabolisants » (annexe IV).

L'abus de stéroïdes a progressé depuis l'administration de stéroïdes alkylés actifs par voie orale, par exemple dianabol (méthandiénone), à des préparations parentérales de nandrolone (19-nortestostérone) et est par la suite revenu à l'hormone naturelle testostérone (Gower *et al.*, 2008).

2. DONNEES STATISTIQUES

En sport, les athlètes utilisent les SAA pour augmenter leurs performances physiques et les culturistes les utilisent pour améliorer leur taille et leur apparence esthétique. La prévalence de l'utilisation des SAA est considérable et s'est infiltrée dans tous les aspects de la société.

L'utilisation des SAA dans le sport humain continue à générer la plus grande proportion d'échantillons positifs détectés en compétition et hors compétition par les laboratoires accrédités par l'AMA (Gower *et al.*, 2008 ; Kicman, 2008). Une augmentation des contrôles hors compétition permet de lutter contre les tricheurs qui utilisent des préparations à action brève et qui mettent fin à l'administration avant la compétition en prévision des contrôles (Graham *et al.*, 2008).

D'après les études statistiques menées sur la diffusion des produits dopants androgéniques à travers le monde, Sagoe, *et al.* (2014) rapportent que la majorité des utilisateurs des SAA ont commencé à les utiliser avant l'âge de 30 ans. La participation à un sport (en particulier les sports de force), une image corporelle négative et des troubles psychologiques tels que la dépression ont précédé le début de l'utilisation du SAA pour la plupart des utilisateurs. Les sources du premier SAA étaient principalement les réseaux

sociaux immédiats des utilisateurs et le marché illicite. L'amélioration de la performance sportive, de l'apparence et de la force musculaire étaient les principaux objectifs de l'initiation à l'utilisation du SAA.

L'étude de Tahtamouni *et al.* (2008) conduite en Jordanie, a montré l'ampleur de l'abus de stéroïdes androgènes chez les étudiants universitaires (503 étudiants) et les athlètes (154 carrossiers), ainsi que les facteurs de risque associés à cet abus. Cette enquête rapporte que 4,2% des étudiants et 26% des athlètes étaient des utilisateurs des SAA, l'âge moyen des utilisateurs dans les deux groupes était respectivement de 19,9 et 28,1 ans. Près du tiers des étudiants ont commencé à abuser du SAA avant l'âge de 15 ans, tandis que plus de la moitié des athlètes ont commencé entre 15 et 18 ans. Les principales raisons d'utiliser le SAA ont été découvertes comme contribuant à l'amélioration des performances sportives et de l'apparence physique.

Au Koweït, 200 personnes (86,5% d'hommes et 13,5% de femmes) dans 6 gymnases ont été recrutés pour étudier la prévalence de l'utilisation des SAA. Parmi eux, 35% ont déclaré avoir utilisé des SAA. En limitant l'échantillon aux hommes koweïtiens âgés de 18 à 30 ans, la prévalence est passée à 59,1%. Le jeune âge, le tabagisme et l'importance primordiale accordée au tonus musculaire sont tous des prédicateurs importants de l'utilisation du SAA (Khullar *et al.*, 2016).

Dans une étude réalisée sur 363 sportifs masculins dans le Royaume d'Arabie saoudite, 24,50% étaient des utilisateurs d'AAS. La testostérone était le type le plus couramment utilisé, suivie par la méthandrostérolone, puis le stanozolol. Les principales sources d'obtention des SAA étaient les achats en ligne et les entraîneurs. En outre, plus de 80% des utilisateurs et non-utilisateurs des SAA n'avaient pas une connaissance suffisante des effets indésirables de ces produits (Al Bishi et Afify, 2017). Une autre étude est réalisée en Arabie Saoudite par Althobiti *et al.*, (2018), elle est rapportée sur 4860 participants de gymnase de sexe masculin ; 9,8% utilisaient des SAA et étaient plus susceptibles d'avoir des habitudes à risque, telles que le tabagisme et l'abus d'hormone de croissance. Ces utilisateurs étaient moins au courant des complications potentielles du SAA, les entraîneurs de gymnastique étant la source prédominante de substances androgéniques.

Dans un échantillon de 510 culturistes et 52 gymnastes, au Brésil, un questionnaire structuré contenant une sélection de questions sur les variables socio-économiques et de formation sur l'utilisation du SAA a été donné. Les réponses à ce questionnaire ont indiqué

une prévalence de l'utilisation des SAA de 20,6%. Majoritairement, ce sont des hommes jeunes. Les produits fréquemment utilisés sont Deca-Durabolin, Winstrol et Sustanon (Nogueira et al., 2014).

En Iran, 906 culturistes masculins de 103 clubs de musculation ont été choisis au hasard pour participer à une étude statistique. 16,6% ont été des utilisateurs des SAA (Angoorani et Halabchi, 2015). Dans une autre étude réalisé par Khan et al., (2018) à l'Inde, rapportée sur 214 athlètes hommes et femmes, la prévalence de l'utilisation des SAA était de 7,1%.

Des études ont révélé que, en plus des athlètes d'élite, des sportifs amateurs et de loisirs ont de plus en plus recours à des drogues améliorant la performance (Codella et al., 2019). Par ailleurs, une attention a été accordée à la prévalence de prise de ces produits par les adolescents athlètes ou non athlètes (Anderson et al., 1997 ; Kindlundh et al., 2001 ; Laure et Binsinger, 2007 ; Audy et al., 2014 ; Nicholls, et al., 2017 ; Mudrak et al., 2018).

Des études indiquent que 3 à 12% des adolescents admettent avoir utilisé un SAA à un moment de leur vie ; une étude méta-analytique internationale à grande échelle a montré qu'environ 3% à 6,5% des garçons et 1% à 2% des filles avaient déclaré avoir déjà utilisé des stéroïdes anabolisants (Yesalis et Bahrke, 2000). En Allemagne, 2319 adolescents de 16 écoles ont été interrogés. 15,1% ont indiqué avoir utilisé des substances interdites inscrites sur la liste de l'AMA dont les anabolisants androgéniques constituent 0,7% des cas. Les non athlètes ont été les plus concernés par le dopage par une fréquence qui dépasse trois fois plus l'utilisation de ces produits par les athlètes de compétition (Wanjek et al., 2007).

Une étude récente portée sur 1035 adolescents (de toutes les régions de la République tchèque participant à des sports de compétition) a montré que 17,6% ont pris des produits dopants ; parmi les quels figurent les SAA (Mudrak et al., 2018).

En Pologne, 1175 étudiants, des deux sexes, fréquentant différents types d'écoles ont répondu à un questionnaire anonyme. Les résultats suggèrent que la plupart des adolescents, en particulier ceux des écoles primaires, ne connaissent rien ou presque du SAA et des conséquences de leur utilisation sur la santé. En outre, 9,38% de sexe masculin et 2,08% de sexe féminin ont abusé du SAA ou en avaient abusé à un moment de leur vie. Pour la plupart des utilisateurs, la principale raison d'utiliser les SAA est esthétique. Plus de la moitié des utilisateurs avaient présenté certains effets secondaires du SAA: acné, perte de cheveux, troubles sexuels, irritabilité, approfondissement de la voix, dépression, etc. (Sas-Nowosielski,

2006). Il semble que les adolescents utilisateurs présentent un risque élevé d'effets secondaires liés aux stéroïdes anabolisants (Anderson et al., 1997 ; Maravelias et al., 2005).

3. METHODES D'UTILISATION

Les SAA sont utilisés dans le sport par des personnes qui ont acquis une connaissance de la demi-vie de médicaments spécifiques ainsi que des dosages et des cycles nécessaires pour éviter toute détection. Inversement, ils sont utilisés par les amateurs ou culturistes à des doses extrêmes dans l'intention de gagner de la masse et de la taille musculaires, sans égard aux conséquences (Graham et al., 2008 ; Hoffman et al., 2009 ; Palmié et al., 2013).

Les auteurs rapportent des méthodes non trouvées scientifiquement sur l'utilisation des anabolisants androgéniques par les dopants (Hartgens et Kuipers, 2004 ; Graham et al., 2008; Prouteau, 2008), ces méthodes sont les suivantes:

- ✓ Empilement (*Stacking*) : utiliser plus d'un médicament en même temps. Les individus utilisent fréquemment plusieurs stéroïdes anabolisants simultanément, en mélangeant des types oral et / ou injectable, en utilisant parfois des médicaments tels que des stimulants ou des analgésiques. La raison de l'empilement est une croyance non prouvée scientifiquement que différents médicaments ont un effet synergique sur la taille des muscles.
- ✓ Effilage (*Tapering*) : diminution progressive de la consommation.
- ✓ Mise en plateau (*Plateauing*) : lorsqu'un médicament devient inefficace à un niveau particulier, un autre médicament est pris.
- ✓ Cyclisme (*Cycling*) : utilisez différents médicaments pendant une période déterminée, généralement entre 6 et 12 semaines, arrêtez l'administration pendant la même période, puis répétez le cycle.
- ✓ Mise en pyramide (*Piramiding*) : optimiser le dosage dans un laps de temps déterminé, puis minimiser le médicament dans le même laps de temps.

Les utilisateurs de la récréation développent généralement des régimes en multi-drogues compliqués (en utilisant des préparations orales et intramusculaires) dont la dose augmente progressivement jusqu'à atteindre environs 100 fois les niveaux physiologiques. Cette pratique est appelée l'empilement. Il n'est pas rare que les utilisateurs prennent plusieurs formes de SAA (cinq médicaments différents en moyenne) à partir de plusieurs classes de stéroïdes. La base physiologique perçue de la superposition est de maximiser la liaison des

récepteurs du SAA et activer plusieurs sites récepteurs de stéroïdes (Payne et *al.*, 2004 ; Graham et *al.*, 2008).

D'après des auteurs, les empileurs prendront des doses supraphysiologiques d'anabolisants stéroïdes pendant 4 à 18 semaines, suivies par une période de repos sans médicament allant de 1 à 12 mois. Le repos a pour but de minimiser les effets secondaires, de favoriser la récupération de divers systèmes hormonaux et d'éviter toute détection en cas de compétition ; cela est appelé « Cycling ». Certains abuseurs tenteront de réduire le nombre de SAA à la fin d'un cycle d'empilement pour réduire les effets secondaires du sevrage (Kicman et Gower, 2003 ; Hartgens et Kuipers, 2004).

En raison de la nature complexe de ces schémas d'empilement, de nombreux utilisateurs en sport professionnel ont un entraîneur qui aide à coordonner le calendrier et les médicaments administrés. L'entraîneur et / ou le toxicomane peut modifier les stéroïdes anabolisants utilisés au cours du cycle d'empilement et éviter la dépendance si la performance est perçue comme atteignant un plateau (Graham et *al.*, 2008).

Pour ceux qui utilisent des stéroïdes pour améliorer l'état physique, l'utilisation d'autres médicaments pour améliorer les effets du SAA ou réduire ses effets secondaires est courante. Parmi les médicaments fréquemment consommés en complément, il y'a l'hormone de croissance (GH), qui agit en synergie avec le SAA ; les diurétiques pour prévenir la rétention d'eau et améliorer l'aspect visuel des muscles (effet ondulé) (Hall et Hall, 2005 ; Frati et *al.*, 2015) ; la gonadotrophine chorionique humaine (hCG) pour bloquer les effets secondaires des stéroïdes anabolisants sur les testicules; et des anti-œstrogènes tels que le tamoxifène pour bloquer la gynécomastie ; certains consommateurs des SAA prennent des antibiotiques et des médicaments anti-acnéiques pour aider à prévenir l'acné provoquée par la testostérone, qui touche souvent le visage, le cou et le torse (Hall et Hall, 2005), en plus de l'insuline et le GHB (Frati et *al.*, 2015).

III. MECANISMES D'ACTION

1. MECANISME GENERAL

Les stéroïdes sont des composés qui passent à travers les membranes cellulaires et se lient aux récepteurs cytoplasmiques en formant un nouveau complexe qui se lie à l'ADN. Une fois lié à l'ADN, le complexe récepteur stéroïde démarre la production de protéines et d'autres structures cellulaires (Hall et Hall, 2005). La testostérone est à la fois une hormone active et une prohormone pour la formation d'un androgène plus actif ; le dihydrotestostérone (DHT) (Graham et al., 2008 ; Cristina et al., 2014).

La testostérone et la DHT se lient à un récepteur nucléaire, le complexe ligand-récepteur agissant comme facteur promoteur de la transcription de séquences d'ADN régulatrices de nombreux gènes (Smeets et Legros, 2004). Les preuves génétiques indiquent que ces deux androgènes fonctionnent via un récepteur intracellulaire commun, le récepteur aux androgènes (RA), qui est une protéine intracellulaire dépendante du ligand qui module l'expression des gènes et agit sur les actions biologiques des androgènes physiologiques de manière spécifique aux cellules (Blanchard et Robaire, 1997 ; Graham et al., 2008).

La DHT, le dérivé de la testostérone réduit en 5α , se forme dans de nombreux tissus cibles des androgènes où elle se lie au RA. Elle se lie au RA plus étroitement que la testostérone, principalement en raison de la stabilisation du complexe RA et, à de faibles concentrations, est aussi efficace que la testostérone à des concentrations élevées pour améliorer la transcription d'un élément de la réponse. Cela indique clairement que certains effets de la DHT résultent de l'amplification du signal de testostérone (Blanchard et Robaire, 1997 ; Graham et al., 2008).

Le récepteur à l'androgène (figure 4) est codé sur le chromosome X et est une protéine cytosolique de 120 kDa (Hall et Hall, 2005). Ce récepteur intracellulaire est situé non seulement dans les cellules des organes reproducteurs, mais également dans les os, les muscles, le cerveau, le foie, les cellules rénales et les adipocytes (Salerno et al., 2018). Pratiquement, ce récepteur a été identifié dans presque tous les tissus mais la sensibilité tissulaire aux androgènes va dépendre de la densité tissulaire de ces récepteurs, de leur polymorphisme, de leur rétrocontrôle intracellulaire via une série de mécanismes co-régulateurs et selon également la densité tissulaire en enzymes catalyseurs des androgènes (Smeets et Legros, 2004).

A propos des anabolisants androgéniques, malgré le grand nombre de réponses provoquées par différents composés des SAA, tous les SAA se lient directement à un seul RA identifié (Hall et Hall, 2005).

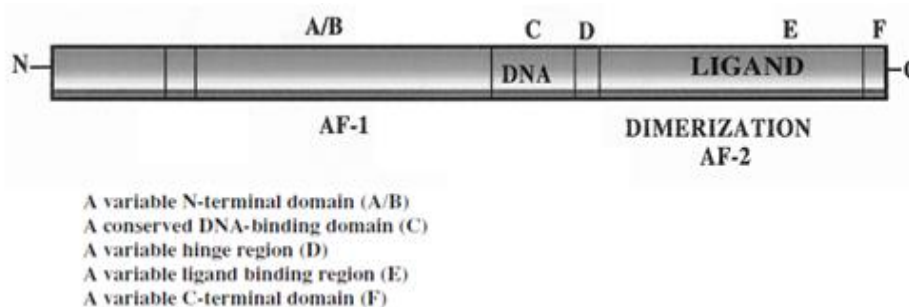


Fig. 4 : Domaines structuraux et fonctionnels de la protéine du récepteur aux androgènes. Le RA se traduit par une protéine d'environ 918 acides aminés. La variation de la longueur du RA est due aux polymorphismes de longueur d'un tractus poly-glutamine et poly-glycine dans l'extrémité NH_2 . Les RA, comme les autres membres de la superfamille des récepteurs nucléaires, peuvent être subdivisés en quatre domaines fonctionnels: le domaine de transactivation NH_2 -terminal (ou domaine A / B), le domaine de liaison à l'ADN (domaine DBD ou C), la région charnière (ou Domaine D), le domaine de liaison au ligand (domaine LBD ou E) et le domaine terminal C (ou domaine F) (Kang et al., 2003).

Dans la voie génomique classique, l'action des androgènes passe par de nombreuses étapes. Le RA non lié, situé dans le cytoplasme, est maintenu dans un état conformationnel favorable à la liaison avec un androgène par les protéines de choc thermique. Seule la fraction libre de la testostérone entre dans la cellule cible des androgènes par diffusion. Elle se lie alors au récepteur directement ou après sa transformation irréversible par la 5α -réductase en son métabolite plus actif, la DHT. La liaison hormone-RA conduit à la dissociation des protéines du choc thermique, suivie d'une phosphorylation et d'un changement de configuration allostérique du récepteur qui se combine à un autre pour former un dimère. Celui-ci est alors stabilisé dans le noyau et se fixe par ses domaines de liaison à des séquences spécifiques de l'ADN (les éléments de réponse aux androgènes ou ARE). L'homo-dimère rassemble des molécules additionnelles suivantes : des co-facteurs type co-activateurs qui interagissent principalement avec la région AF-1, des facteurs de transcription et l'ARN polymérase II. Cet ensemble multimoléculaire active ou supprime spécifiquement la transcription de gènes spécifiques androgéno-régulés à des endroits précis de la chromatine. La translation des ARNm sur les ribosomes cytoplasmiques dirige la synthèse des protéines responsables des modifications cellulaires androgéno-induites, sur la fonction, la croissance ou la différenciation (Poujol et Sultan, 2000 ; Kang et al., 2003 ; Tostain et al., 2004 ; McGrath et al., 2008 ; Lonergan et Tindall, 2011).

Des auteurs rapportent que si le domaine de liaison à l'ADN et le domaine de liaison au ligand ont une très forte homologie, il n'en est pas de même pour le domaine NH2 terminal. En fonction de ses variations, il est observé des différences dans l'activité de transcription, avec un effet modulateur sur la transcription au niveau des gènes androgéno-dépendants, probablement par une affinité différentielle des protéines co-activatrices. Ces différences participent à la variabilité de l'expression du RA suivant les tissus. De plus, une différence raciale a été rapportée pour cette partie du RA ce qui pourrait rendre compte des différences observées dans l'incidence du cancer de prostate, mais aussi dans certains aspects physiques comme la densité et la pousse de la barbe (Tostain et *al.*, 2004).

Si la voie des activations génomiques décrites plus haut contrôle l'expression des gènes et la synthèse de novo des protéines, elle le fait avec un temps de latence certain entre son activation et la réalisation effective du produit. Elle contrôle également les programmes cellulaires à moyen et long terme, ainsi que l'organisation et les réseaux cellulaires pour des fonctions complexes. Une voie alternative d'activation cellulaire non génomique existe et s'exerce au travers d'interactions beaucoup plus rapides (secondes ou minutes) que l'activation du RA (30-60mn) qui nécessite le transfert dans le noyau et la transcription. Ces voies non génomiques interviennent sur l'activation ou la répression de molécules présentes dans la cellule (phosphorylation/déphosphorylation, méthylation/déméthylation et acétylation/déacétylation). L'activation rapide de cette voie vers son produit effectif permet une adaptation cellulaire au microenvironnement et une modulation des programmes cellulaires à long terme (Tostain et *al.*, 2004 ; McGrath et *al.*, 2008).

Les SAA miment l'effet physiologique de la testostérone en induisant des altérations de l'expression des séquences d'ADN. Il est rapporté que les SAA exercent leurs actions selon plusieurs mécanismes différents: (i) ils modulent l'expression des récepteurs aux androgènes en conséquence du métabolisme intracellulaire; (ii) ils affectent directement le récepteur des androgènes et donc les interactions ultérieures avec les co-activateurs et l'activité de transcription; (iii) ils interfèrent avec l'expression des récepteurs des glucocorticoïdes, provoquant un effet anti-catabolique; et (iv) ils agissent sur le SNC, entraînant des changements de comportement, en suivant les voies génomiques et non génomiques (Salerno et *al.*, 2018).

En ce qui concerne les interactions avec les récepteurs intracellulaires des stéroïdes, plusieurs voies peuvent être distinguées. Premièrement, la liaison avec une forte affinité aux

récepteurs des androgènes, ces stéroïdes sont donc reconnus comme des androgènes puissants (par exemple : la 19-nortestostérone et la méténolone). Plusieurs composés sont caractérisés par une liaison avec une faible affinité pour le RA, ce sont des substances androgènes faibles (par exemple : stanozolol et fluoxymestérone). Troisièmement, certains SAA (par exemple : l'oxymétholone) ne se lient pas du tout au récepteur des androgènes ; ces stéroïdes sont supposés agir après la biotransformation en composés plus actifs ou via d'autres mécanismes d'action. En outre, il a été établi pour le SAA que d'autres mécanismes pourraient également être impliqués (Hartgens et Kuipers, 2004). Par ailleurs, il est rapporté que la plupart des médicaments androgènes sont disponibles sous forme d'esters pour une action de dépôt prolongée (Strahm *et al.*, 2014).

D'une façon générale, les auteurs rapportent que le mécanisme d'action du SAA peut différer d'un composé à l'autre en raison des variations dans les molécules de stéroïde. Ces variations sont responsables de différences dans la spécificité de la liaison aux protéines du récepteur ou des interactions avec diverses enzymes métabolisant les stéroïdes (Hall et Hall, 2005 ; Hartgens et Kuipers, 2004).

Ainsi, il a été reconnu que l'enzyme 5 α -réductase joue un rôle important dans le mécanisme d'action des SAA (figure 5). Cette enzyme convertit le SAA en composé plus actif, le DHT, après diffusion dans les cellules de tissu cible. Les principaux systèmes organiques à forte activité de la 5 α -réductase sont les glandes sexuelles accessoires du mâle, la peau, la prostate, les poumons, le cerveau, les adipocytes et les os. Par conséquent, ces organes possèdent une grande affinité pour les composés androgènes plutôt que pour les composés anaboliques. Inversement, il existe des organes (par exemple le cœur et les muscles squelettiques) qui possèdent une faible activité de la 5 α -réductase et exercent une réponse plus forte aux substances anaboliques. Une autre enzyme, l'aromatase, semble jouer un rôle limité dans des circonstances normales. Cette enzyme est responsable de la conversion du SAA en hormones sexuelles féminines, telles que l'œstradiol et l'estrone. Les hormones sexuelles féminines se lient aux récepteurs des œstrogènes et forment des complexes œstrogènes-récepteurs. Ces complexes exercent leurs effets sur le tissu adipeux, les cellules de Leydig et de Sertoli et sur certains noyaux du système nerveux central (Hartgens et Kuipers, 2004 ; Kicman, 2008). Ce mécanisme ne sera probablement activé que lorsque le système de récepteur d'androgènes est saturé par les androgènes et les stéroïdes anabolisants en circulation (Hartgens et Kuipers, 2004).

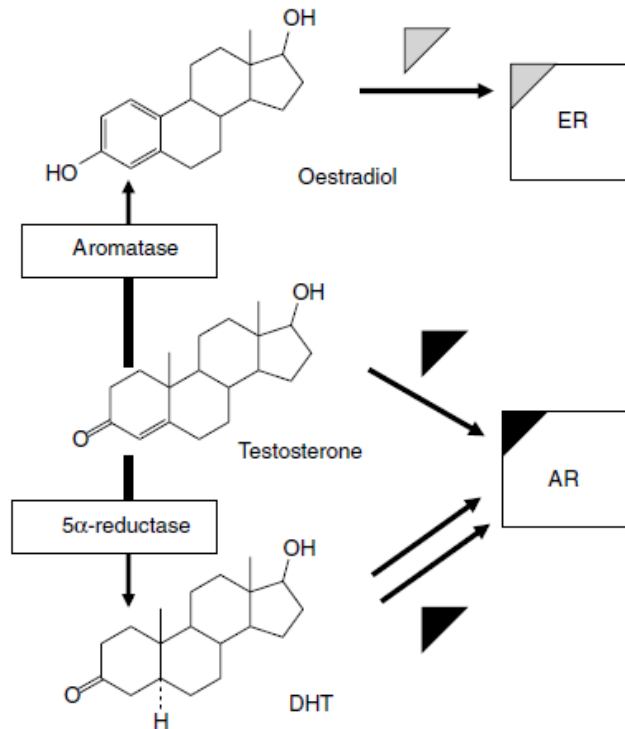


Fig.5: Mécanisme d'action de la testostérone. La testostérone peut se lier directement au récepteur des androgènes (AR). Dans les tissus cibles où des enzymes intracellulaires sont présentes, l'action de la testostérone est médiée par le métabolisme. La testostérone est convertie de manière irréversible par l'enzyme 5 α -réductase en 5 α -dihydrotestostérone (DHT), qui se lie avec une plus grande affinité au récepteur des androgènes (AR), ou par l'aromatase en estradiol, qui se lie au récepteur des œstrogènes (ER) (Kicman, 2008).

La modulation des effets des androgènes peut également se produire au niveau moléculaire en raison de différences dans la distribution des co-régulateurs des récepteurs des androgènes dans divers tissus, ces co-régulateurs étant des protéines qui affectent l'activité transcriptionnelle du récepteur des androgènes. Il s'agit d'un domaine en développement et l'importance comparative d'un grand nombre de ces co-régulateurs reste à établir pour tout type de cellule, sans parler de leur importance relative *in vivo* dans l'examen des différences tissulaires dans l'action des androgènes (Heinlein et Chang, 2002 ; Kang *et al.*, 2003).

Une base possible pour augmenter le rapport myotrophe / androgène peut être en exploitant la différence fondamentale entre les concentrations de 5 α -réductase dans le muscle squelettique et le tissu androgène. Un moyen d'augmenter la dissociation anabolique-androgène est d'administrer un stéroïde qui possède une plus grande affinité de liaison pour le récepteur des androgènes, mais qui, lors de la réduction en un métabolite 5 α , a une moindre affinité (Kicman A. T., 2008). Parmi les stéroïdes anabolisants, la 19-nortestostérone (nandrolone) a été l'un des premiers synthétisés, le plus utilisé pour le dopage (Cristina *et al.*,

2014 ; Foletto et *al.*, 2015; Mohammed et *al.*, 2017; Shalabyet Bahey, 2018) et le mieux étudié (Vieira et *al.*, 2008 ; Gadallah et *al.*, 2017; Mohammed et *al.*, 2017 ; Patanè F. G. et *al.*, 2020). Bien que la DHT ait une plus grande affinité de liaison pour le récepteur aux androgènes que la testostérone stéroïde mère, en revanche, la forme 5 α -réduite de la 19-nortestostérone réduite, la 5 α -dihydro-19-nortestostérone, a une affinité de liaison inférieure à celle de la stéroïde mère 19-nortestostérone (figure 6).

Ainsi, dans les tissus androgènes, la testostérone est convertie en un métabolite plus puissant, alors que la 19-nortestostérone est convertie en un métabolite moins puissant. Comme la réduction de 5 α se produit facilement dans les tissus androgènes mais est négligeable dans les muscles squelettiques, cela explique pourquoi la 19-nortestostérone présente un rapport myotrophe / androgène plus élevé par rapport à la testostérone (Toth et Zakar, 1982^(a, b) ; Toth et Zakar T., 1986 ; Toth, 2009).

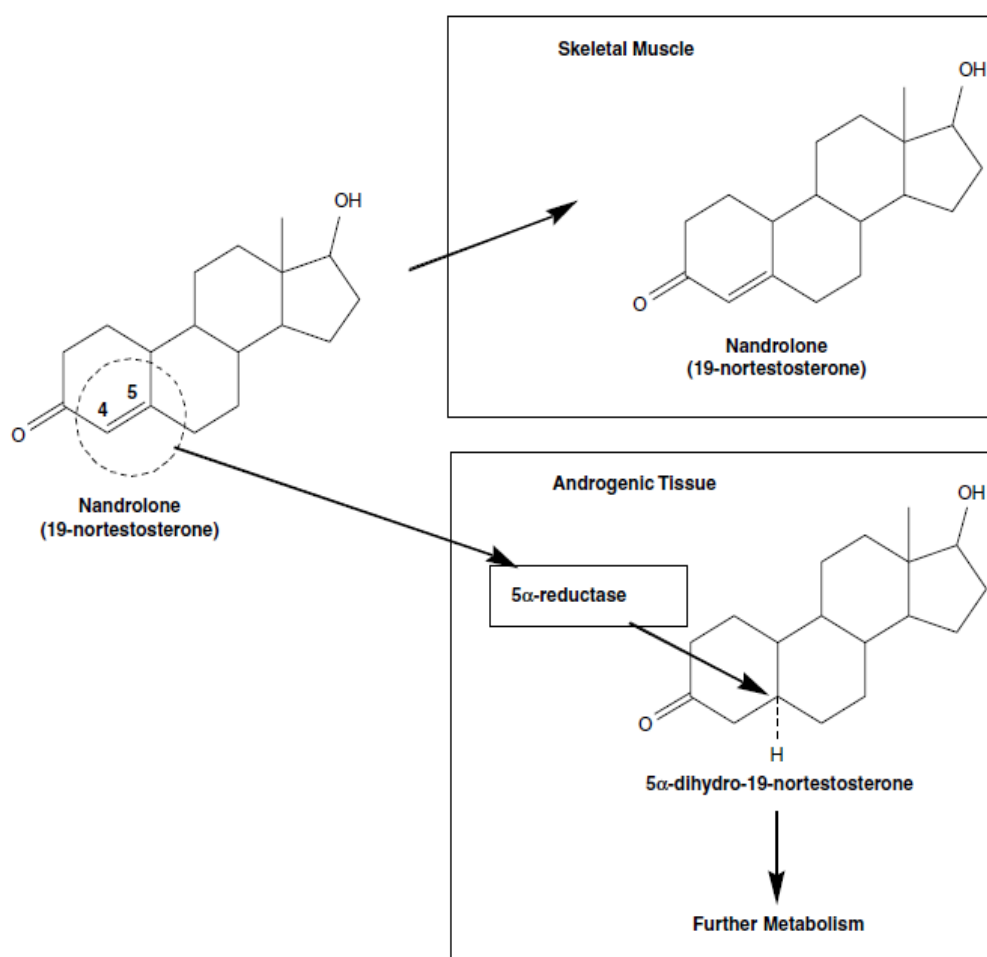


Fig. 6 : Mécanisme d'action de la Nandrolone. Dans les tissus androgènes, la nandrolone (19-nortestostérone) est facilement convertie par l'enzyme 5 α -réductase en 5 α -dihydro-19-nortestostérone, c'est-à-dire que la double liaison entre C4 et C5 est réduite. Ce métabolite se lie avec une affinité plus faible au récepteur des androgènes par rapport au stéroïde parent (Kicman, 2008).

Il convient de noter qu'avec des modifications structurales de la testostérone, les effets anaboliques des androgènes peuvent être améliorés, mais ils ne peuvent toutefois pas être totalement dissociés de leurs effets androgènes. Par conséquent, l'administration chronique de ces médicaments, même ceux ayant un très haut indice myotropho-androgène, tel que la nandrolone (19-nortestostérone), provoquera l'hirsutisme et, à long terme, la virilisation des femmes et des enfants (Kicman, 2008).

2. MECANISMES PARTICULIERS

2.1. Action Anti-Glucocorticoïdes

Les glucocorticoïdes sont des substances aux propriétés cataboliques qui seront libérées dans le sang à la suite d'un stress physique ou mental. Certaines preuves démontrent que les androgènes peuvent antagoniser les effets des glucocorticoïdes en se liant au récepteur des glucocorticoïdes ou en diminuant son expression (Frankenfeld *et al.*, 2014). Les SAA, en se liant aux récepteurs des glucocorticoïdes, sont capables de contrecarrer la dégradation des protéines par les glucocorticoïdes. Cet antagonisme compétitif peut également jouer un rôle dans le traitement de l'ostéoporose par la réduction de la dégradation osseuse et la stimulation de la formation osseuse. En outre, il a été prouvé que les SAA stimulent la prolifération et la différenciation des cellules ostéoblastiques et ont la capacité de lutter contre la dégradation des os. Il est également constaté que la testostérone corrigeait l'équilibre du calcium et la formation osseuse en jouant un rôle dans la réduction de la résorption osseuse (Hartgens et Kuipers, 2004).

2.2. Dans le système hématologique

Il est considéré que les SAA influencent le système hématologique via deux voies principales. Premièrement, ils stimulent l'érythropoïèse et la synthèse de l'érythropoïétine directement par le rein. Deuxièmement, il a été démontré que les effets des androgènes favorisent la différenciation des cellules souches érythropoïétiques (Hartgens et Kuipers, 2004).

2.3. Dans le muscle squelettique

Les recherches menées dans ce sens ont permis de mieux comprendre le mécanisme d'action du SAA sur les muscles. L'augmentation de la masse musculaire induite par le SAA peut être attribuée à l'hypertrophie musculaire et à la formation de nouvelles fibres musculaires à partir des cellules satellites (Bhasin. *et al.*, 2003). Les chercheurs ont mis

l'hypothèse que le processus fondamental de la croissance des fibres musculaires semblait être l'incorporation des cellules satellites dans des fibres préexistantes afin de favoriser la croissance des fibres musculaires pour maintenir un rapport noyau au cytoplasme constant. Les chercheurs ont également observé que l'hypertrophie musculaire induite par l'administration de testostérone exogène était associée à une augmentation du nombre de cellules satellites (Hartgens et Kuipers, 2004)

De plus, Bhasin *et al.* (2003) rapportent que la testostérone favorise l'engagement des cellules souches pluripotentes dans la lignée myogénique et inhibe leur différenciation dans la lignée adipogénique. L'hypothèse selon laquelle le site principal de l'action des androgènes est la cellule souche pluripotente fournit une explication unificatrice des effets réciproques observés de la testostérone sur la masse musculaire et adipeuse.

Dans une autre étude, des hommes âgés traités à différentes doses de testostérone ont montré une augmentation dose-dépendante de la section transversale des fibres musculaires de types I et II, ainsi qu'une augmentation du nombre de cellules satellites (Frankenfeld *et al.*, 2014).

Sur le plan moléculaire, il a été démontré que les androgènes sont nécessaires à la production locale d'IGF-I dans le muscle squelettique, quels que soient les taux systémiques d'IGF-I et le taux de production de GH ; la perfusion intraveineuse d'IGF-I stimule la synthèse des protéines du muscle squelettique. Ceci est corroboré par l'observation selon laquelle l'induction de l'hypogonadisme chez les jeunes hommes normaux entraîne une réduction des niveaux d'ARNm d'IGF-I dans le muscle squelettique. En effet, lorsque les hommes âgés hypogonadiques sont traités par la testostérone, il se produit une augmentation des niveaux d'ARNm d'IGF-I dans des échantillons de biopsie musculaire. Ces rapports montrent que l'interaction entre la testostérone et l'IGF-I est également importante pour le processus anabolique dans le muscle (Basaria *et al.*, 2001).

2.4. Dans le système cardiovasculaire

A l'état naturelle, les études épidémiologiques associent systématiquement des concentrations circulantes plus élevées (mais dans les limites de la normale) d'androgènes endogènes à un risque plus faible d'événements cardiovasculaires et de mortalité, mais aux effets des androgènes exogènes même sous forme de traitement à la testostérone visant à maintenir les concentrations physiologiques en androgènes circulants sur le système

cardiovasculaire reste incertain (Yeap, 2010 ; Armeni et Lambrinouadaki, 2017 ; Shores, 2018 ; Yeap et *al.*, 2019).

En effet, chez les hommes âgés, les concentrations plus faibles de testostérone sont associées à une incidence plus élevée d'événements cardiovasculaires, cependant, une étude a rapporté une augmentation de l'athérome coronarien chez des hommes âgés recevant un traitement à la testostérone sur une période de 12 mois (Yeap et *al.*, 2019).

Des auteurs ont classé les effets du SAA sur le système cardiovasculaire en quatre groupes d'activités: athérogènes, thrombotiques, vasospasme de l'artère coronaire et lésions myocardiques directes (Hartgens et Kuipers, 2004 ; Frati et *al.*, 2015). Bien que hypothétiques, ils fournissent des modèles intéressants pour expliquer les effets indésirables induits par le SAA sur ce système. Plusieurs autres hypothèses ont été émises, notamment celles en rapport avec le taux des globules rouges, le volume sanguin et la myotoxicité de la catécholamine associée à la fibrillation ventriculaire en raison de nécrose du myocarde et modifications dégénératives des neurones sympathiques intramyocardiaques (Hartgens et Kuipers, 2004).

Les SAA peuvent fortement inhiber la recapture des catécholamines dans le tissu extraneuronal, ce qui entraîne une augmentation des concentrations de catécholamines au niveau des sites récepteurs. Bien que le transporteur neuronal de catécholamine soit normalement responsable de la recapture de noradrénaline, il a également été prouvé qu'il était responsable de la libération non exocytotique de noradrénaline par les terminaisons nerveuses sympathiques au cours de l'ischémie. Une libération accrue de noradrénaline a été impliquée dans l'arythmie induite par l'ischémie (Frati et *al.*, 2015).

En effet, les récepteurs aux androgènes sont exprimés presque partout, et se retrouvent non seulement dans les cellules du muscle squelettique, mais également sur les myocytes cardiaques. Plusieurs sources de données impliquent des voies androgènes endogènes dans le développement de l'hypertrophie cardiaque, notamment la démonstration de l'expression augmentée de la 5 α réductase, de l'aromatase et des récepteurs aux androgènes dans les cœurs hypertrophiques de l'homme et de la souris (Liu et *al.*, 2003 ; Payne et *al.*, 2004). En relation, la cardiomyopathie, connue d'être plus fréquente chez le sexe mâle (McNamara et *al.*, 2011) peut impliquer l'effet des hormones sexuelles, particulièrement les androgènes, selon des études récentes (Akdis et *al.*, 2017 ; Halliday et *al.*, 2018 ; Balla et *al.*, 2019 ;

Kessler *et al.*, 2019 ; Wang *et al.*, 2019). Elle peut être développée à partir d'une hypertrophie du ventricule gauche suite à une longue durée de l'abus en SAA (Ha *et al.*, 2018).

2.5. Dans le foie

Le foie est un organe essentiel dans la régulation de l'homéostasie énergétique. Chez les hommes, la testostérone agit via les récepteurs aux androgènes pour augmenter l'expression des récepteurs de l'insuline et la synthèse du glycogène, diminuer l'absorption du glucose et la lipogenèse et favoriser le stockage du cholestérol dans le foie. Chez les femmes, l'œstradiol régule le métabolisme du foie via les récepteurs aux œstrogènes en diminuant la lipogenèse, la gluconéogenèse et l'absorption des acides gras, tout en améliorant la lipolyse, la sécrétion de cholestérol et le catabolisme du glucose. Ces concepts intégrés suggèrent que les récepteurs des hormones sexuelles pourraient être impliqués dans la prévention contre la stéatose hépatique qui se caractérise par une accumulation massive de graisse dans le foie (Shen et Shi, 2015).

Cependant, De Maria *et al.* (2002) ont indiqué que l'utilisation de stéroïdes androgènes est associée à un risque accru de développer des néoplasmes hépatiques, y compris le carcinome hépatocellulaire. En fait, des récepteurs spécifiquement activés par la testostérone et le carcinome hépatocellulaire ont été identifiés sur le cytoplasme et le noyau de l'hépatocyte. Ces récepteurs sont présents dans le tissu hépatique normal de mammifères mâles et femelles, mais leur expression et leur activation sont accrues dans le tissu tumoral chez les personnes atteintes du carcinome hépatocellulaire. De plus, il est signalé que l'expression et l'activation des mêmes récepteurs sont fortement accrues dans les tissus hépatiques des rongeurs mâles et femelles au cours d'une carcinogenèse hépatique induite chimiquement. La présence de récepteurs aux androgènes a également été associée à un risque accru de récurrence tumorale et à une réduction de la survie après ablation hépatique pour le carcinome hépatocellulaire.

En fait, la castration ou l'utilisation d'un traitement anti-androgène protège les rongeurs mâles du développement tumoral. Ainsi que les femelles recevant de la testostérone ont une susceptibilité au développement tumoral similaire à celle des mâles intacts, l'utilisation de médicaments anti-androgènes permet d'inverser facilement cette susceptibilité (De Maria *et al.*, 2002).

2.6. Stress oxydatif, effets génotoxiques et carcinogénèse

Des études animales et « *in vitro* » ont démontré que des doses supraphysiologiques de SAA augmentent l'expression des protéines de stress oxydant ainsi que des médiateurs inflammatoires et pro-apoptotiques, d'autre part, quelques études ont été consacrées à l'effet spécifique du SAA sur la cancérogénicité (Salerno *et al.*, 2018). Ces derniers ont analysé la cancérogénicité médiée par les SAA, particulièrement sur la tumeur des cellules de Leydig, ils constatent que la cancérogénicité induite par le SAA peut affecter la transcription d'ADN par deux voies ; il peut agir directement via le récepteur aux androgènes au moyen de la dihydrotestostérone (DHT) produite par l'action de la 5 α -réductase ; et il peut également agir sur le récepteur des œstrogènes au moyen d'œstradiol produit par l'aromatase CYP19.

Frankenfeld *et al.*, (2014) indiquent que le stress oxydatif est lié à la physiopathologie de la plupart des altérations impliquées dans la fibrose, la prolifération cellulaire, la tumorigénèse ; ils ont démontré que l'administration régulière du nandrolone (10 mg / kg de poids corporel une fois par semaine pendant 8 semaines) est capable de perturber l'équilibre redox cellulaire dans le foie, le cœur et les reins en entraînant un état de stress oxydant chez les rats Wistar adultes mâles. En relation, des études rapportent que l'ADN est une cible privilégiée pour les radicaux libres, ces derniers peuvent entraîner des mutations au sein de l'ADN et conduire à des altérations du message génétique impliquées dans le déclenchement du cancer et le vieillissement (Halenget *al.*, 2007).

L'étude de Do Carmo *et al.*, (2012) a montré une augmentation dose-dépendante de la fréquence des lésions d'ADN dans les leucocytes, les cellules du foie, de la moelle osseuse, du cerveau et du testicule, à trois doses testées (1,0, 2,5 et 5,0 mg / kg de poids corporel, injections uniques) du nandrolone chez des souris albinos suisses adultes mâles.

L'analyse des effets des androgènes sur les fonctions cellulaires permet de conclure qu'une combinaison de facteurs génétiques et épigénétiques est la cause de la toxicité, de la mutagénicité, de la génotoxicité et de la cancérogénicité des hormones sexuelles. En tenant compte des facteurs génétiques, les dérivés synthétiques de la testostérone peuvent être métabolisés en 17 β -œstradiol dans les tissus adipeux, cérébraux et testiculaires. Le 17 β -œstradiol (E2) joue un rôle important dans le cancer du sein dépendant d'œstrogènes et est décrit comme un médiateur potentiellement mutagène et carcinogène (Salerno *et al.*, 2018).

Les androgènes peuvent induire la formation de micronoyaux chez les culturistes (Torres-Bugarín et al., 2007 ; Souza et al., 2017) et les animaux (do Carmo et al., 2012) exposés à des doses élevées en SAA. Les micronoyaux sont strictement liés à plusieurs stress mutagènes et se forment à la suite de lésions chromosomiques. Ce sont des particules de chromatine dérivées de fragments chromosomiques acentriques, qui ne sont pas incorporés dans le noyau fille après la mitose. Divers facteurs influencent la formation de micronoyaux, tels que ; âge, sexe, constitution génétique, agents physiques et chimiques. L'exposition à la nandrolone à fortes doses a été prouvée sur l'un de ces agents, ce qui provoque des lésions importantes de l'ADN dans le sang, le foie, la moelle osseuse, les cellules du cerveau et du testicule chez les animaux de laboratoire exposés (Salerno et al., 2018).

2.7. Dans le cerveau

Il semble que les SAA partagent des sites d'action cérébraux et des systèmes de neurotransmetteurs communs avec d'autres drogues. Le surdosage en SAA produit des symptômes ressemblant à un surdosage en opioïdes, ainsi il modifie l'activité du système opioïde endogène (Wood, 2008). Il est rapporté que l'axe corticotrope et la β -endorphine peuvent jouer un rôle clé dans le développement de la dépendance aux SAA. Dans une expérimentation conduite sur l'humain, il est démontré que les utilisateurs des SAA en cycle présentaient des taux élevés de la β -endorphine et bas du cortisol en période de traitement. Inversement, à l'arrêt de traitement, ces utilisateurs avaient les niveaux les plus élevés de cortisol et les plus bas de la β -endorphine (Hildebrandt et al., 2014).

La nature de l'association entre l'abus des SAA et les changements d'humeur, y compris la dépression, est encore à l'étude. Matrisciano et al. (2010) avaient utilisé des rats adultes mâles comme modèle animale injectés pendant 4 semaines avec du nandrolone ou du stanozolol à des doses journalières (5 mg / kg, sous-cutané). Le traitement réduit les niveaux de facteur neurotrophique dérivé du cerveau dans l'hippocampe et le cortex préfrontal, réduit l'expression des récepteurs de glucocorticoïdes de faible affinité dans l'hippocampe et augmente les taux plasmatiques de corticostérone basale du matin au matin. Tous ces changements ont été liés à la physiopathologie du trouble dépressif majeur. Les preuves selon lesquelles des doses supraphysiologiques de SAA induisent des modifications indiquant un état dépressif chez le rat normal, font craindre que son utilisation chez l'homme puisse provoquer une dépression, indépendamment de l'exposition au stress ou à d'autres facteurs de risque.

Selon les auteurs, les SAA exercent leurs effets pharmacologiques sur le SNC de deux manières distinctes: directement, en modulant leurs propres récepteurs intracellulaires; et indirectement, en influençant le site de liaison situé sur le récepteur du neurotransmetteur ou en provoquant la libération de neuropeptides. Ces mécanismes sont affectés par l'expression des récepteurs GABA inhibiteurs (Masonis et McCarthy, 1995 ; Henderson, 2007 ; Oberlander et *al.*, 2012 ; Bertozzi et *al.* 2018) et des récepteurs 5-HT(ou la sérotonine) (Kindlundh et *al.*, 2003 ; Ambar et Chiavegatto, 2009 ; Schwartzer et *al.*, 2009 ; Bertozzi et *al.* 2018) qui, entre autres, sont abondamment exprimés dans les zones du cerveau associées à la dépression, au stress, à la colère et au comportement sexuel.

La plupart des SAA se lient aux récepteurs des androgènes et peuvent également être aromatisés en métabolites oestrogéniques, lesquels sont à leur tour capables d'interagir avec le récepteur alpha-oestrogéniques (ER α) et bêta-oestrogéniques (ER β) (Pomara et *al.*, 2015 ; Bertozzi et *al.* 2018).

Les structures cérébrales impliquées dans les dommages induits par les SAA comprennent l'hypothalamus, les noyaux gris centraux, l'amygdale et l'hippocampe. Ils permettent la configuration du réseau d'intégration sous-neurotransmetteur / neuropeptide sous-jacent, ce qui contribue de manière substantielle au comportement anxieux et agressif (Bertozzi et *al.* 2018).

Les régions du cerveau impliquées dans l'apparition de l'anxiété et de l'agressivité associées à l'abus de SAA semblent avoir une expression riche de récepteurs de stéroïdes et d'enzymes impliquées dans la synthèse et le métabolisme des stéroïdes (Pomara et *al.*, 2015 ; Bertozzi et *al.* 2018).

IV. EFFETS INDESIRABLES

1. EFFETS GENERAUX

Les effets indésirables auto-déclarés chez les athlètes utilisant les SAA, rapportés chez les sujets de sexe masculin participant à des études de recherches, comprenaient une stimulation sexuelle accrue, une acné, une pilosité accrue, une augmentation du comportement agressif, rétention hydrique, tension artérielle élevée, insomnie, augmentation de l'irritabilité, états d'humeur dépressifs, perte des cheveux et apparition de gynécomastie (Hartgens et Kuipers, 2004 ; Hall et Hall, 2005 ; Büttner et Thieme, 2010).

Les recherches sur les effets des SAA chez les femmes sont rares ; l'administration de SAA induira une masculinisation chez les femmes. Le développement de l'acné, les modifications de la libido et les altérations de la voix étaient les effets indésirables les plus prononcés au cours des premières semaines d'utilisation du SAA. L'administration à long terme des SAA peut entraîner une croissance accrue des poils du visage, une perte des cheveux de la tête, des altérations de la croissance des poils pubiens, une augmentation de l'agressivité, la rétention hydrique et un élargissement du clitoris. Enfin, les adolescents peuvent être prédisposés à la fermeture précoce des plaques de croissance osseuse, ce qui entraîne un arrêt prématuré de la croissance en longueur (Hartgens et Kuipers, 2004).

2. EFFETS SPECIAUX

L'utilisation chronique de SAA peut causer diverses altérations pathologiques liées à la dose, à la fréquence et aux modes d'utilisation. Étant donné que de nombreux organes et appareils sont la cible des SAA, plusieurs effets indésirables peuvent toucher les systèmes : hépatique, cardiovasculaire, reproducteur, musculo-squelettique, endocrinien, rénal, immunologique et hématologique, ainsi que certains effets psychologiques (Büttner et Thieme, 2010 ; Nieschlag et Vorona, 2015) (figure 7). Des rapports de cas mentionnent des suicides, des infarctus aigus du myocarde, des comas hépatiques et des lymphomes liés à la prise des SAA par des sportifs (Pärssinen et *al.*, 2000).

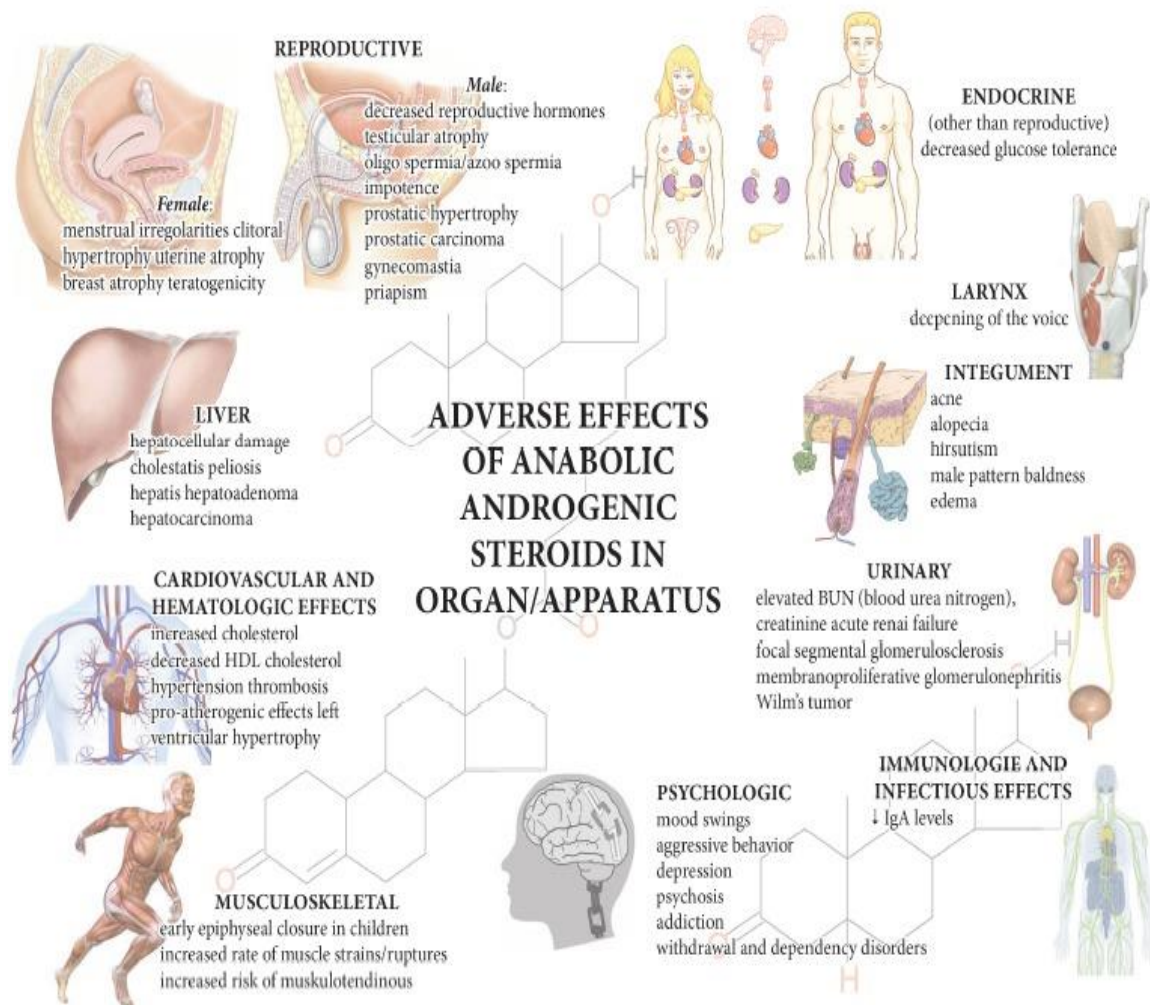


Fig. 7 : Effets indésirables dus aux SAA pouvant affecter de nombreux organes et appareils (Fрати et al., 2015).

2.1. Paramètres métaboliques

Pour la dose médicale, Francomano et al. (2014) rapportent par une étude expérimentale que, chez les hommes obèses hypogonadiques d'âge moyen, le traitement par la testostérone (undecanoate) pour une période d'un an améliorerait les paramètres métaboliques ; la tolérance au glucose, le cholestérol total et la masse grasse. Seule la diminution de la masse grasse qui se maintient après 5 mois d'arrêt du traitement.

Le syndrome métabolique est souvent associé à un hypogonadisme masculin (Francomano et al. 2014 ; Pivonello R. et al., 2019 ; Corona et al., 2020), mais le rôle de la thérapie de remplacement par la testostérone dans le syndrome métabolique n'a pas été complètement clarifié. Corona et al. (2020) rapportent que le traitement de remplacement par la testostérone semble améliorer la régulation métabolique, ainsi que l'obésité centrale.

En relation, les différents modèles de répartition de la graisse corporelle entre les hommes (obésité androïde ou centrale) et les femmes (gynoïde) confirment l'importance des stéroïdes sexuels sur le métabolisme du tissu adipeux (Foletto et al., 2015). En expérimentation animale, le traitement par la testostérone réduit considérablement l'obésité viscérale induite par l'hypogonadisme chez le lapin mâle adulte et améliore partiellement le profil métabolique (Filippi et al., 2009).

Cependant, de nombreuses études portant sur l'administration de SAA à des doses thérapeutiques et supra-thérapeutiques ont démontré de manière constante l'altération des lipides plasmatiques de manière défavorable. Ces effets peuvent varier considérablement en fonction du schéma posologique, des types de SAA utilisés et de la voie d'administration (Kenny et al., 2002 ; Andreato et al., 2013 ; Aversa et Morgentaler, 2015 ; Basaria et al., 2015). Les taux sériques totaux de cholestérol et de triglycérides ne semblent pas être affectés par l'abus de SAA. Il a été démontré que plusieurs SAA suppriment les taux sériques du HDL cholestérol. Les taux de LDL augmenteront et suivront le schéma de suppression du HDL cholestérol (Hartgens et Kuipers, 2004). Chez des sujets humains, Karila et al., (1996) indiquent que l'administration des SAA augmente l'ubiquinone et le dolichol sériques et, ainsi, suggère que les SAA ont une influence sur les sous-produits de la voie du mévalonate.

Il est bien clair que l'effet de fortes doses de stéroïdes anabolisants-androgènes sur le métabolisme du glucose reste controversé. Bien qu'il existe quelques études sur les effets de la testostérone sur le métabolisme du glucose, les effets des doses supraphysiologiques de stéroïdes anabolisants-androgènes sur le métabolisme du glucose sont rares.

Il est connu que les femmes atteintes du syndrome des ovaires polykystiques et de l'hyperandrogénie peuvent présenter une hyperinsulinémie légère d'intolérance au glucose. Curieusement, chez les hommes, une concentration sérique basse de testostérone est associée à un risque accru de diabète sucré (Frankenfeld et al., 2014).

Les culturistes, qui auto-administrent des stéroïdes anabolisants-androgènes, ont une tolérance au glucose diminuée et une résistance à l'insuline accrue (Frankenfeld et al., 2014). Ainsi, une dérégulation du métabolisme du glucose associée à une résistance à l'insuline et à une altération de la fonction thyroïdienne ont été observées à l'issue de la prise de ces produits (Hartgens et Kuipers, 2004).

Foletto *et al.* (2015) rapportent qu'un traitement en nandrolone décanoate (0,5mg/kg/sem., pendant 4 semaines) entraîne une diminution des taux plasmatiques de glucose et de cholestérol total chez le rat adulte mâle.

La glycémie à jeun diminue de manière importante chez des rats adultes mâles traités au déca durabolin à raison de 10 mg/kg de poids vif pendant 8 semaines. Chez ces animaux, les données indiquent que le SAA utilisé à forte dose exerce des effets sur différents points de régulation du métabolisme du glucose en entraînant une inhibition de la gluconéogenèse, une diminution des hormones thyroïdiennes (T_3 total et T_4 libre), une augmentation de l'insulinémie à jeun et une diminution de l'absorption du glucose dans les muscles squelettiques en réponse à l'insuline (Frankenfeld *et al.*, 2014). Dans cette étude, les chercheurs proposent un effet direct des SAA sur les cellules beta pancréatiques en stimulant la sécrétion de l'insuline.

D'autre part, la créatinine, l'azote urinaire et l'acide urique sont augmentés dans le sang chez les utilisateurs abusifs de SAA (Frankenfeld *et al.*, 2014). L'augmentation des taux plasmatiques des transaminases hépatiques (ALAT et ASAT) est une complication courante dû à l'abus des SAA ; démontrée chez l'homme et en expérimentation animale (Vieira *et al.*, 2008 ; Andreato *et al.*, 2013 ; El-Halwagy *et al.*, 2016 ; Mohammed *et al.*, 2017).

Dans un rapport des cas, un culturiste prenant ces produits (par voies orale et parentérale en surdose de façon cyclique durant 15 ans) présente des légers dommages de la fonction hépatique avec augmentation des valeurs sanguines en ALAT, ASAT, phosphatase alcaline, bilirubine totale et bilirubine directe, ainsi que des dommages musculaires avec augmentation de CPK. Les tests de coagulation et les taux sériques d'alfa-fœtoprotéine (AFP) sont normaux et les FSH et LH sont indétectables dans le sang. Chez un second cas de culturiste abuseur d'SAA (par voies orale et parentérale en surdose de façon cyclique depuis 6 mois), les données analytiques reflétaient une insuffisance rénale aiguë avec augmentation des valeurs plasmatiques en urée et créatinine, des lésions musculaires avec myoglobinurie et augmentation des valeurs plasmatiques en CPK, ALAT, ASAT et LDH, une alcalose métabolique, une hypokaliémie et une hypernatrémie (Socas *et al.*, 2005).

Socas *et al.* (2005) expliquent les données analytiques du deuxième cas par le fait que les SAA induisent une rétention hydrique avec hypernatrémie. L'excès de Na^+ dans le sang entraîne une augmentation du taux d'excrétion de K^+ et de H^+ , ce qui provoque une alcalose métabolique et une hypokaliémie et, de manière constante, une diminution de la fréquence

respiratoire avec une acidose respiratoire compensatoire. Cette hypokaliémie marquée favorise les dommages musculaires et le rhabdomyolyse. En outre, les fortes doses de SAA auto-administrées ont probablement favorisé l'agressivité et d'autres changements d'attitude qui pourraient expliquer l'excès d'entraînement, malgré la faiblesse musculaire due à l'hypokaliémie. Cette situation a entraîné de multiples ruptures des fibres musculaires (augmentation des valeurs sériques de CPK, ASAT, ALAT, LDH et élévation des taux sanguins de myoglobine et de myoglobinurie). L'augmentation de l'excrétion rénale de la myoglobine, suivie de la formation de cylindres dans le néphron et / ou d'une toxicité directe pour les cellules tubulaires, a entraîné une insuffisance rénale aiguë.

En outre, Pärssinen *et al.* (2000) ont examiné l'effet des doses supraphysiologiques de stéroïdes anabolisants androgènes sur le métabolisme du collagène, ils ont rapporté des modifications du métabolisme du collagène des muscles, des os et des tendons avec une augmentation de la synthèse du collagène de type I.

2.2. Reproduction

Les études rapportent que la majorité des utilisateurs de SAA à des fins de dopage manifestent un hypogonadisme avec une atrophie testiculaire et baisse de fertilité (Hildebrandt *et al.*, 2014 ; Jannatifar *et al.*, 2015 ; El Osta1 *et al.* 2016 ; Christou *et al.*, 2017). La survenue de gynécomastie chez les athlètes masculins à la suite d'un abus de SAA est un autre effet indésirable (Christou *et al.*, 2017). Outre la douleur qui peut accompagner la gynécomastie, les implications esthétiques peuvent être importantes pour les culturistes. Le développement de la gynécomastie est associé à la conversion périphérique du SAA en œstrogènes en raison des quantités énormes de SAA exogène administrées (Hartgens et Kuipers, 2004).

L'étude des effets cytotoxiques du décanoate de nandrolone sur le foie, les cellules gonadotropes, somatotropes et corticotropes hypophysaires en relation avec la structure et la fonction de la prostate chez les rats Wistar mâles traités par Deca-durabolin (nandrolone décanoate) administré par voie intramusculaire tous les trois jours pendant trois mois à raison de 8mg/kg a révélé des altérations histopathologiques du foie et de la prostate associées à une diminution de la sécrétion d'hormones par les cellules hypophysaires mentionnées (Gadallah *et al.*, 2017).

Chez les femmes, des irrégularités menstruelles (Hartgens et Kuipers 2004 ; Christou et *al.*, 2017) et une réduction du volume des seins se produisent généralement à l'issue de la prise de ces produits (Hartgens et Kuipers 2004). Les SAA peuvent être aussi impliqués dans le développement du cancer du sein (Salerno et *al.*, 2018).

De plus, Oberlander et *al.* (2012) rapportent que les effets secondaires indésirables de l'utilisation du SAA incluent des changements dans les comportements reproductifs et sexuels. Spécifiquement, le SAA, en fonction du type de composé administré, peut retarder ou accélérer l'apparition de la puberté, conduire à une cyclicité de l'œstrus irrégulier, à une diminution des comportements sexuels des mâles et des femelles et accélérer la sénescence de la reproduction.

En expérimentation animale, Saddick, (2018) rapporte qu'une injection intramusculaire de nandrolone de décanoate à raison de 7 mg / kg de poids corporel tous les trois jours ; pendant deux semaines, augmente le poids du corps, des ovaires et de l'utérus et des modifications biochimiques, histopathologique et morphologique liées aux aspects de la reproduction féminine. Cela comporte des modifications histopathologiques délétères de l'utérus, des ovaires et la diminution de l'hormone lutéinisante.

L'augmentation du poids de l'utérus à l'issue de l'abus en anabolisants androgéniques est rapporté chez un cas de femme décédée suite à des complications cardiaques (Thiblin et *al.*, 2009).

2.3.Fonction cardiovasculaire

Des études précliniques ont montré que l'exposition aux SAA à des doses supraphysiologiques pouvait entraîner une dyslipidémie, stimuler l'hypertrophie des cardiomyocytes, altérer la fonction artérielle coronaire, réduire la sensibilité des récepteurs β -adrénergiques cardiaques, potentialiser le stress oxydatif cardiaque, abaisser les seuils arythmiques et induire l'apoptose des myocytes (Baggish et *al.*, 2017). La littérature rapporte 19 cas mortels de sportifs utilisateurs des SAA entre les années 1990 et 2012 et l'autopsie excluait les causes extracardiaques de la mort. Dans de nombreux cas, une hypertrophie ventriculaire gauche fréquemment associée à une fibrose et à un myocytolyse est identifiée (Fratiet *al.*, 2015).

En effet, au cours des dernières années, l'abus de SAA a été associé à la survenue d'événements cardiovasculaires graves chez de jeunes athlètes en bonne santé, notamment le développement de la cardiomyopathie, la fibrillation auriculaire, les accidents cérébro-vasculaires, la stimulation myocardique, les troubles de l'hémostase, la thrombose ventriculaire, l'embolie systémique et l'insuffisance cardiaque aiguë (Stolt *et al.*, 1999 ; Hartgens et Kuipers, 2004 ; Frati *et al.*, 2015). Les SAA peuvent induire une hypertrophie ventriculaire gauche, une hypertension, une obstruction diastolique altérée, une arythmie, une érythrocytose, une thrombose, une altération du profil lipoprotéique, des anomalies du contrôle des réflexes cardio-vasculaires (Frati *et al.*, 2015).

Par rapport aux non-utilisateurs, une augmentation de la masse ventriculaire gauche, de l'épaisseur du septum interventriculaire et du diamètre diastolique final du ventricule gauche est souvent observée chez les utilisateurs des SAA (Salke *et al.*, 1985 ; De Piccoli *et al.*, 1991 ; Karila *et al.*, 2003 ; Liu *et al.*, 2003 ; Payne *et al.*, 2004). Les études menées sur les abuseurs des SAA rapportent que l'utilisation prolongée de ces produits est associée à un dysfonctionnement ventriculaire gauche avec une diminution de la fonction diastolique et un taux de remplissage diastolique tardif (Baggish *et al.*, 2010).

Ainsi, les auteurs ont classé les effets du SAA sur le système cardiovasculaire en quatre groupes d'activités: lésions vasospastiques, athérogènes, thrombotiques et lésions myocardiques directes (Hartgens et Kuipers, 2004 ; Frati *et al.*, 2015).

Plusieurs rapports ont également associé l'abus de SAA à la mort cardiaque subite chez des jeunes athlètes des deux sexes (Luke *et al.*, 1990 ; . Ferenchick, 1991; Kennedy et Lawrence, 1993; Dickerman *et al.*, 1996; Hausmann *et al.*, 1998; Fineschi *et al.*, 2001 ; Di Paolo *et al.*, 2007 ; Fineschi *et al.*, 2007 ; Thiblin *et al.*, 2009 ; Montisci *et al.*, 2012).

2.4.Foie

Parmi les effets secondaires de l'abus de stéroïdes anabolisants-androgènes sont ceux sur le foie, y compris des altérations structurelles et fonctionnelles telles que l'ictère cholestatique, l'hépatite péliale, l'hyperplasie hépatocellulaire et l'adénome hépatocellulaire (Frankenfeld *et al.*, 2014). Selon les études, il est vraisemblable que les SAA peuvent induire de graves troubles du foie, tels que des modifications subcellulaires des hépatocytes, une altération de la fonction d'excrétion, une cholestase, une péliose hépatique, ainsi que des carcinomes chez l'homme (Hartgens et Kuipers, 2004).

En relation, des rapports de cas signalent l'incidence des cholestases hépatiques (Sanchez-Osorio et al., 2008), des pélioses cholestatiques (Fineschi et al., 2007), des pélioses (Hausmann et al., 1998) et des stéatoses (Montisci et al., 2012) ; liées à la consommation des SAA. Des cas de jaunisse, de cholestase, des lésions du foie et des signes de toxicité hépatiques sont signalés chez des sujets prenant des anabolisants androgéniques oraux (de Andrade Thais et al., 2018 ; Vargas et al., 2018).

Par ailleurs, des auteurs ont constaté que l'apparition d'une maladie du foie induite par les SAA dépend de l'état du foie avant le début de l'administration du médicament (Hartgens et Kuipers, 2004).

2.5.Tumeurs

La tumeur hépatique, est considérée comme une complications grave liée à l'abus en anabolisants androgéniques (Creagh et al., 1988 ; Socas et al., 2005). De plus, les utilisateurs des SAA ont un risque élevé de développer la tumeur de Wilm qui n'est pas fréquente chez les adultes (Frankenfeld et al., 2014), les tumeurs des cellules de Leydig (Salerno et al., 2018), le carcinome des cellules rénales et le carcinome de prostate (Hartgens et Kuipers 2004). Cependant, même à des doses thérapeutiques, Aversa A. et Morgentaler A. (2015) rapportent des préoccupations concernant le risque du cancer de la prostate, ainsi que la surveillance pendant le traitement soit obligatoire.

De façon similaire, Creagh et al., (1988) rapportent un cas de décès d'un culturiste par une hémorragie hépatique associée à une tumeur dans le même organe, l'hémorragie persistait malgré la chirurgie ; la tumeur du foie est due à un dopage par de fortes doses en anabolisants androgéniques pendant une période de 3 ans. La tumeur et l'hémorragie hépatiques figurent parmi d'autres complications graves telles que l'hypertrophie du cœur avec l'épaississement net de la paroi du ventricule gauche, ainsi que l'atrophie testiculaire observée chez le même sujet.

2.6.Cerveau, psychisme et comportement

L'histoire du lien entre la testostérone et les comportements sociaux a débuté en 1849, lorsque le physiologiste et anatomiste allemand Berthold constate la régression des caractères sexuels secondaires et des comportements sexuel et agressif à la suite de la castration et leur réapparition après la greffe de testicules chez le jeune coq (Mhaouty-Kodja et Raskin, 2010). Chez l'animal, en particulier chez les rongeurs, les données expérimentales démontrent le rôle

des androgènes dans le développement de l'agressivité physique et sociale (Le Greves *et al.*, 1997 ; Harrison *et al.*, 2000 ; De Leon *et al.*, 2002 ; Fischer *et al.*, 2007). Les androgènes augmentent également les phases d'activité par rapport aux phases de sommeil (Dib, 1998). Ainsi, les effets des SAA, en conjonction avec les neurostimulateurs, peuvent expliquer la forte prévalence des SAA chez les athlètes à tous les niveaux.

Les effets neuropsychiatriques et comportementaux résultant de l'abus de SAA sont décrits dans la littérature (Carrillo *et al.*, 2009 ; Costine *et al.*, 2010 ; Melloni et Ricci, 2010 ; Schwartzer et Melloni, 2010). Chez les rongeurs, l'administration à long terme de certains SAA induit des modifications comportementales et neurochimiques, qui peuvent ressembler aux modifications comportementales similaires observées chez les utilisateurs abusifs de SAA (Kindlundh *et al.* 2003 ; Rossbach *et al.*, 2007 ; Birgner *et al.*, 2008 ; Pomara *et al.*, 2015).

Ainsi, il est rapporté que les SAA peuvent avoir des effets profonds sur l'état mental et le comportement. Les caractéristiques psychiatriques les plus importantes étaient les présentations maniaques définies par l'irritabilité, l'agressivité, l'euphorie, les croyances grandioses, l'hyperactivité et les comportements téméraires ou dangereux. Les personnes prenant des doses élevées pendant des périodes prolongées peuvent subir à l'arrêt de prise de ces produits l'apparition de symptômes dépressifs, de fatigue, de troubles de la concentration et même du suicide. Il a été noté que les effets d'arrêt de traitement peuvent contribuer à un syndrome de dépendance (Hall et Hall, 2005 ; Hartgens et Kuipers, 2004). Ce phénomène de dépendance a connu un groupe d'études (Johansson *et al.*, 2000 ; Wood, 2008 ; Nyberg et Hallberg, 2012 ; Hildebrandt *et al.*, 2014).

De plus en plus de preuves suggèrent qu'en plus des effets psychiatriques et comportementaux, l'utilisation non médicale du SAA comporte un potentiel neurodégénératif. Il est rapporté que la mémoire visio-spatiale des utilisateurs de SAA à long terme est nettement pire que celle des non-utilisateurs, ainsi que des études ont montré que les rats traités avec des doses supraphysiologiques de SAA présentaient des déficits de mémoire spatiale. Les études animales récentes ont montré la récurrence des effets neurotoxiques du SAA, allant du déséquilibre neurotrophique à une susceptibilité neuronale accrue aux stimuli apoptotiques (Pomara *et al.*, 2015). De façon étonnante, Kaufman *et al.*, (2019) rapportent que l'utilisation de stéroïdes anabolisants androgènes à des doses supraphysiologiques est associée à des anomalies physiologiques, cognitives et cérébrales similaires à celles observées chez les personnes à risque de développer la maladie d'Alzheimer et ses démences associées.

Parallèlement, des chercheurs ont soupçonné des conséquences de l'utilisation du SAA sur les caractéristiques structurelles du cerveau. Ainsi, dans le but d'étudier l'association entre l'exposition à long terme aux SAA et la morphométrie cérébrale, y compris les volumes neuro-anatomiques sous-corticaux et l'épaisseur corticale, Bjornebekk et *al.* (2017) ont mesuré ces paramètres chez un grand nombre des athlètes consommateurs des SAA comparés aux non consommateurs. Le résultat de cette étude rapporte que le groupe des consommateurs avait un cortex plus mince dans des régions étendues et des volumes neuro-anatomiques significativement plus petits, y compris la substance grise totale, le cortex cérébral et le putamen.

2.7. Autres

Il a été prouvé que l'utilisation abusive de SAA pouvait perturber d'autres systèmes dans le corps ; des effets profonds ont été constatés sur la peau par un élargissement des glandes sébacées, une augmentation de la production sébacée et une élévation du taux des lipides à la surface de la peau. Une modification du métabolisme du collagène des tissus mous peuvent être observées. Il est inévitable que des effets secondaires dramatiques puissent survenir chez certaines personnes en raison des quantités énormes de substances administrées. Plusieurs études ont rapporté que les SAA affectent le système musculo-squelettique en provoquant des fractures de l'os et une rhabdomyolyse. Des altérations de la prostate et de la vessie, de même que des maladies très rares telles que le syndrome de l'apnée du sommeil (maladie de Pickwick), ont également été attribuées à ces stéroïdes (Hartgens et Kuipers, 2004).

PARTIE 2 :

PARTIE EXPERIMENTALE

MATERIEL
ET
METHODES

1. MATÉRIEL ANIMAL

1.1. Classification

La systématique de la souris « *Mus musculus* » est représentée ci-dessous (Véron, 2002).

Règne :	Animalia
Embranchement :	Chordata
Sous-embr. :	Vertebrata
Classe :	Mammalia
Cohorte :	Euarchontoglires
Ordre :	Rodentia
Sous-ordre :	Myomorpha
Famille	Muridae
Sous-famille :	Murinae
Genre :	<i>Mus</i>
Sous-genre :	<i>Mus</i>
Espèce :	<i>Mus musculus</i>



Fig. 8: *Mus musculus*

1.2. Description

Tout comme le rat, la souris (figure 8) est un animal grégaire qui à l'état naturel vit en famille. Les souris vivent dans des nids et, à l'état naturel, la famille peut partager un habitat plus complexe avec des zones très spécifiques : nid, stockage de nourriture et d'alimentation. Les souris pèsent environ 20 à 40 grammes et mesurent de 14,5 à 18,5 cm (queue de longueur de 7-9 cm) avec une espérance de vie de 18 mois à 3 ans. Leur fertilité est de 7 à 12 mois et elles sont fertiles au bout de 50 jours, la gestation dure 19 à 21 jours avec un sevrage entre 21 à 28 jours (Brayton *et al.*, 2001).

1.3. Conditions d'hébergement

Les animaux sont placés dans un Laboratoire de Recherche Bioressources Naturelles Locales, Université Hassiba Benbouali de Chlef UHBC, pendant toute la période d'étude. Ils sont soumis aux mêmes conditions de nourriture, de lumière et de température (22 C°).

1.3.1. Cages

La cage est en plastique transparente (polyéthylène) pour mieux observer les animaux en cas de problème (problème de comportement, mort d'un rongeur, ...etc.). Elle est surmontée d'une grille métallique ayant un réceptacle à biberon d'eau (d'une contenance d'environ 250ml). La cage mesure : 430x270x150 mm, elle permet d'avoir 5 souris selon la législation qui impose une surface minimale par espèce/poids. Nous avons mis un réceptacle métallique pour la nourriture. Nous nettoyons les cages et changeons le copeau trois fois par semaine (figure 9).



Fig. 9 : Cages d'élevage des souris dans le laboratoire.

1.3.2. Nourriture

L'alimentation est formée de granules (figure 10) dont la composition est la suivante (tableau V).

Tableau V: Composition de l'alimentation fournie aux souris.

	Soja	Son	CMV	Phosphate	Calcaire	Mais
Pourcentage	25%	7,5%	1%	1%	1,3%	64,2%

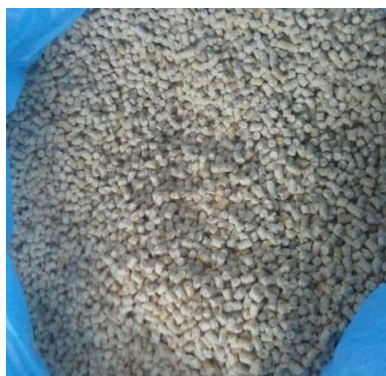


Fig. 10 : Aliment fourni aux souris

2. EXPERIMENTATION ANIMALE

Nous avons travaillé sur 50 souris adultes mâles (*Mus musculus*) provenant de l'institut Pasteur d'Alger dont 40 sont utilisées dans la présente étude. L'ensemble des animaux expérimentés sont âgés de 2 mois au début de l'expérimentation, pesant entre 25 et 40g. L'expérimentation s'est étalée entre le 17/ 01/2016 et le 16/ 05/2016 (date du dernier sacrifice).

2.1. Traitement

Après une période d'adaptation (d'environ 15 jours pour l'ensemble des animaux), nous avons procédé à l'expérimentation animale en partageant les animaux en 5 groupes portant les nomenclatures suivantes

- Groupe témoins : non traité (n=8).
- Groupe GI : traité à la Déca-durabolin, 50mg (0,02ml, IM) à raison d'une injection par semaine pendant un mois, (n= 8).
- Groupe GII : traité à la Déca-durabolin, 50mg (0,02ml, IM) à raison d'une injection par semaine pendant deux mois, (n= 8).
- Groupe GIII : traité à la Déca-durabolin, 50mg (0,02ml, IM) à raison d'une injection par semaine pendant trois mois (n= 8).
- Groupe GIV : traité à la Déca-durabolin, 50mg (0,02ml, IM) à raison d'une injection par semaine pendant trois mois suivi par un arrêt de traitement pendant six semaines (un mois et demi), (n= 8).

La substance de traitement est une substance pharmaceutique de nature androgénique ; solution injectable dont l'ampoule comporte 1 ml de solution huileuse contient 50mg de

décanoate de nandrolone (la solution active est : décanoate de nandrolone ou ester de 19-nortestostérone à 50mg/ml), les excipients sont : alcool benzylique à 0,1ml/ml et huile d'arachide pour compléter le volume, le produit commercialisé sous le nom de : DECA-DURABOLIN à 50mg (voir annexe III) est prescrit pour des raisons médicales.

Notre protocole d'injection pour nos souris pesant en moyenne 35g est le suivant (figure 11) : nos animaux traités à la Déca-durabolin.50mg (0,02ml/sem., IM) reçoivent 1mg/animal/sem., équivalant à 28,57mg/kg de l'animal/sem. (Soit proche de 30mg/kg/animal/sem.). Cela correspond à une quantité 10 fois plus importante que la quantité médicale maximale prescrite à l'homme.

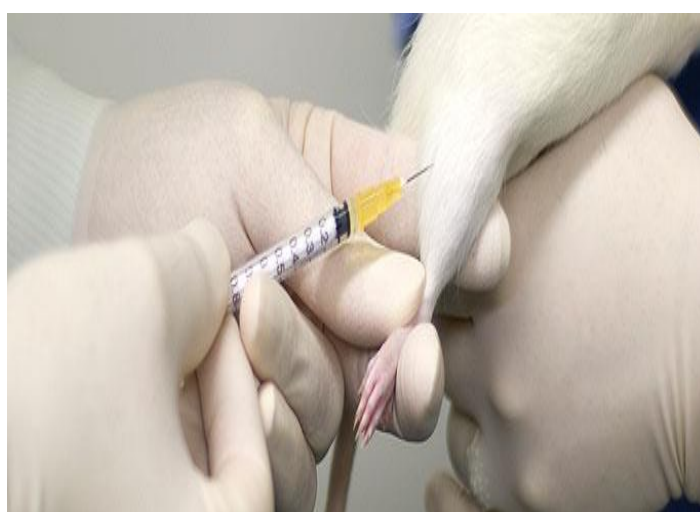


Fig. 11: Injection du traitement par voie intramusculaire

2.2. Sacrifice

A la fin du traitement (une semaine après la dernière injection pour les groupes : GI, GII et GIII ; et six semaines après pour le GIV), les souris sont pesées (figure 12) puis sacrifiées par décapitation entre 9h et 12h du matin. Le sang est recueilli dans des tubes à héparine, centrifugé et le plasma obtenu est mis directement en congélation (à -20°C).



Fig. 12 : Pesage des souris avant le sacrifice

Les organes (testicules, foie, reins, cœur) sont rapidement prélevés, débarrassés du tissu adipeux, pesés séparément et fixés dans le formol à 10%. La fixation permet d'éviter la dégradation des cellules et la conservation de la forme des tissus et des cellules en assurant l'immobilisation des constituants cellulaire ou tissulaires dans un état aussi proche que possible de l'état vivant (figure 13).



Fig. 13 : Sacrifice, prélèvement des organes, pesage et fixation dans le formol à 10%.

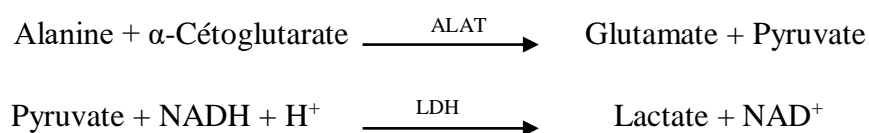
3. TECHNIQUES DES DOSAGES SANGUINS

Les dosages des paramètres sériques, ALAT et ASAT, sont faits par des méthodes enzymatiques colorimétriques réalisés au niveau du Laboratoire de Recherche Bio-ressources Naturelles à l'Université de Chlef. Les dosages biochimiques ont été réalisés en utilisant des kits SPINREACT.

3.1. Dosage des ALAT :

- **Principe :**

La méthode est enzymatique colorimétrique. L'alanine aminotransférase (ALAT) initialement appelée transaminase glutamique pyruvique (GPT) catalyse le transfert réversible d'un groupe amonique d'alanine vers l'alpha-cétoglutarate pour la formation de glutamate et de pyruvate. Le pyruvate produit est réduit en lactate en présence de lactate déshydrogénase (LDH) et NADH :



La vitesse de réduction de la concentration en NADH est déterminée photométriquement, et elle est proportionnelle à la concentration catalytique d'ALAT dans l'échantillon.

- **Procédure de dosage :**

1. Régler le spectrophotomètre sur la longueur d'onde de 340 nm et le régler sur le zéro en fonction de l'air (figure 14).
2. Pipetter dans une cuvette 1ml du réactif de dosage avec 100µl de l'échantillon plasmatique
3. Mélanger et incuber pendant 1 minute.
4. Lire l'absorbance (A) initiale de l'échantillon, mettre en route le chronomètre et lire l'absorbance à chaque minute pendant 3 minutes.
5. Calculer la moyenne de l'augmentation d'absorption par minute ($\Delta A/\text{min}$).

$$\Delta A/\text{min} \times 1750 = \text{U/L d'ALAT}$$

U : Unité internationale

L : Litre

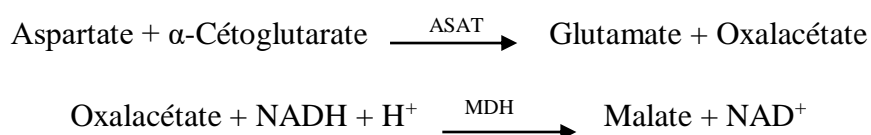


Fig.14:Spectrophotomètre

3.2.Dosage des ASAT :

- **Principe :**

La méthode est enzymatique colorimétrique. L'aspartate aminotransférase (ASAT), initialement appelée transaminase glutamate oxaloacétique (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe amine de l'aspartate vers l'alpha-cétoglutarate pour la formation de glutamate et d'oxalacétate. L'oxalacétate produit est réduit en malate en présence de déshydrogénase (MDH) et NADH :



La vitesse de réduction de la concentration en NADH est déterminée photométriquement, et elle est proportionnelle à la concentration catalytique d'ASAT dans l'échantillon.

- **Procédure de dosage :**

1. Régler le spectrophotomètre sur la longueur d'onde de 340 nm et le régler sur le zéro en fonction de l'air.
2. Pipetter dans une cuvette 1ml du réactif de dosage avec 100µl de l'échantillon plasmatique
3. Mélanger et incuber pendant 1 minute.
4. Lire l'absorbance (A) initiale de l'échantillon et mettre en route le chronomètre et lire l'absorbance à chaque minute pendant 3 minutes.
5. Calculer la moyenne de l'augmentation d'absorption par minute ($\Delta A/\text{min}$).

$\Delta A/\text{min} \times 1750 = \text{U/L de ASAT.}$

U : Unité internationale

L : Litre

4. TECHNIQUE HISTOLOGIQUE

Cette étude a concerné plusieurs organes (cœur, reins, testicules et foie) avec 120 échantillons au total. Elle s'est déroulée dans trois laboratoires privés d'Ana-Pathologie Cellulaire de à Chlef et dans le laboratoire d'Anatomie et de Cytologie Pathologique de l'hôpital de Bâb El Oued à Alger.

La technique s'est déroulée selon les étapes suivantes : l'étude macroscopique, la fixation, la déshydratation, l'inclusion, la coupe au microtome, la coloration hématoxyline-éosine, le montage et l'étude microscopique (annexe II).

La confection des coupes histologiques permet l'observation des tissus au microscope photonique après une coloration à l'éosine hématoxyline. Elle comporte plusieurs étapes.

4.1. Fixation

La fixation permet d'immobiliser et de conserver les structures cellulaires et tissulaires dans un état aussi proche que possible du vivant. Les organes, fraîchement récoltés, sont plongés dans un volume de fixateur (formol à 10%) bien supérieur à celui de l'organe. C'est une étape importante dans la réalisation des techniques de préparation des échantillons histologiques ; la fixation se pratique par immersion des organes dans des flacons fermés et soigneusement étiquetés (numéro d'identification de l'animal, lot expérimental et nom de l'organe fixé).

4.2. Inclusion dans la paraffine

L'inclusion consiste à enfermer l'organe dans une cassette en plastique rempli de paraffine. On obtient alors un bloc de consistance homogène que l'on débitera au microtome. Elle nécessite plusieurs étapes :

4.2.1- Déshydratation : L'inclusion dans la paraffine nécessite au préalable la déshydratation des pièces histologiques. L'organe fixé est successivement plongé dans des

tubes de Borel contenant cinq bains d'éthanol de degrés croissants : 70° (1 bain), 96° (2 bains), 100° (2 bains) pendant 30 min pour chaque bain.

4.2.2- Eclaircissement : il s'effectue par un solvant de la paraffine (le butanol ou le xylène) et permet l'élimination complète des traces d'alcool. La durée du premier bain est de 24h, le second bain est de durée illimitée.

4.2.3- Imprégnation des pièces par la paraffine : Cette étape consiste à éliminer le solvant de la paraffine et à le remplacer par la paraffine. Les organes sont plongés dans trois bains successifs maintenus dans l'étuve ou à l'aide de l'automate à 60°C :

- Le premier bain constitué de solvant-paraffine (v/v) dure une heure.
- Le deuxième bain constitué de paraffine pure dure une nuit.
- Le troisième bain constitué de paraffine pure dure 4 heures.

4.3- Confection des blocs

Dans cette étape, des moules métalliques et des cassettes en plastique sur lesquelles sont portées toutes les indications de la pièce traitée ont été utilisés; la paraffine fondue est versée dans les moules légèrement préchauffés (45°C). La pièce à inclure est orientée et disposée dans la paraffine ; on dépose ensuite la cassette correspondante sur le moule. Le bloc n'est démoulé qu'après refroidissement total sur une plaque refroidie au congélateur ou sur l'automate puis il est conservé à +4°C jusqu'à la confection des coupes.

4.4- Confection des coupes

Après fixation du bloc sur le microtome (généralement *Leica*), le rabotage est effectué en ajustant l'échelle à 20 µm ; lorsque la pièce apparaît dans le plan de coupe, l'échelle est ramenée à 5 µm afin d'obtenir des coupes sériées fines sous forme de rubans.

4.5- Etalement des coupes

Les rubans obtenus sont déposés avec précaution sur 1 mL d'eau distillée étalé sur des lames nettoyées à l'alcool, et disposés sur une plaque chauffante réglée à 40°C ; la paraffine ramollit brusquement. L'excédent d'eau est retiré à l'aide de papier absorbant puis les lames sont séchées à l'étuve à 40°C pendant 1h. L'identification de l'organe est préalablement gravée sur la lame correspondante, soit à l'aide d'un diamant (lames ordinaires) soit au crayon ou marqueur.

4.6- Coloration

Avant toute coloration, les coupes sont débarrassées de la paraffine et réhydratées. Le toluène pur (ou le xylène) est utilisé pour le déparaffinage (2 bains de 5 min) ; 3 bains d'éthanol de degrés décroissants (100°, 90° et 70°) de 5 min chacun permettent la réhydratation des coupes. La coloration a pour but d'établir le contraste naturel des coupes et de rendre plus évident les différents constituants cellulaires et tissulaires. La coloration à l'hématoxyline et à l'éosine est une coloration bichromatique qui se compose d'un colorant nucléaire (l'hématoxyline) et d'un colorant cytoplasmique (l'éosine).

L'hématoxyline est un colorant cationique (ou basique) qui a une affinité pour les éléments cellulaires chargés négativement (anioniques ou acides) dits basophiles. Il colore notamment les noyaux en bleu/violet en se fixant sur les acides nucléiques. Au contraire, l'éosine est un colorant anionique (ou acide) qui a une affinité pour les éléments cellulaires chargés positivement (cationiques ou basiques) dits éosinophiles. Il colore le cytoplasme en rose et les autres éléments cellulaires basiques en rose/rouge plus ou moins vifs selon leur acidophilie

4.7- Montage et observation au microscope photonique

Une fois colorées, les lames sont déshydratées dans des bains d'éthanol de concentration croissante (70°, 96° et 100°) et enfin dans 2 bains de toluène pur (ou xylène). Le montage est l'opération qui consiste à fixer une lamelle de verre sur l'échantillon histologique à l'aide d'une substance appropriée. Il s'agit de l'Eukitt qui permet l'adhérence entre la lame et la lamelle, une légère pression sur la lamelle permettant de chasser les bulles d'air. Les lames sont ensuite séchées sur papier absorbant, nettoyées au toluène (ou xylène) et enfin observées au microscope photonique à différents grossissements.

5. ANALYSE MORPHOMETRIQUE

Dans le but d'avoir une lecture numérique des données histologiques, les photos des coupes histologiques visualisées à l'aide du microscope sont prises en employant une caméra appropriée (Digital Camera, Mode-5C, China) connecté aux deux appareils ; le microscope et l'ordinateur. Les photos sont prises et enregistrées sur ordinateur grâce à un programme nommé Ulead Vidéo Studio 7. Les images histologiques stockées sont ensuite soumises à un traitement numérique à l'aide d'un programme de mesure de l'image (ImageJ). Cette étude a concerné les deux organes : le cœur et les testicules (figure 15) et s'est déroulée dans le

laboratoire de Biologie Animale au Département de Biologie à l'Université Hassiba Ben Bouali de Chlef.

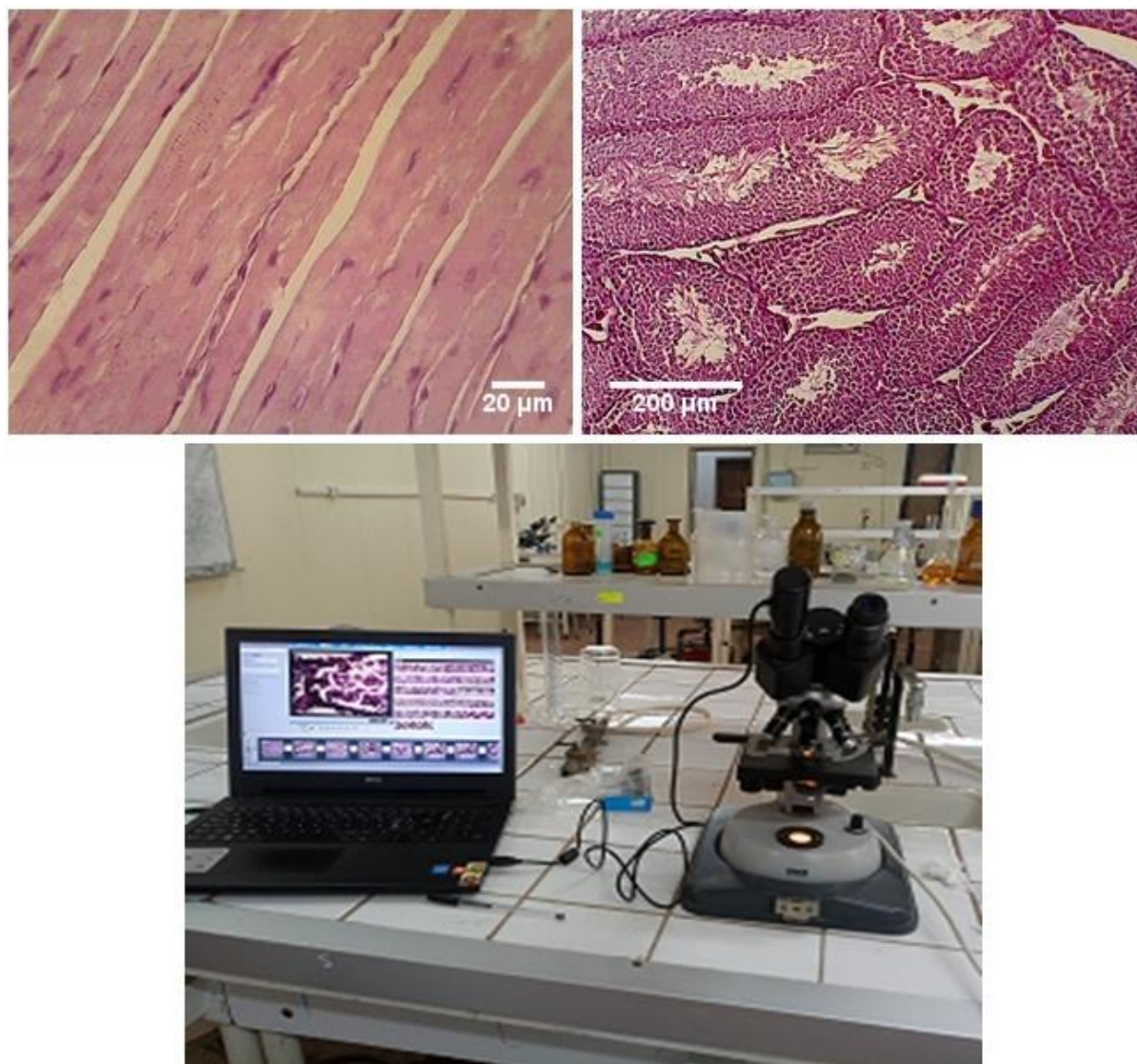


Fig. 15 : Morphométrie du tissu cardiaque et testiculaire à l'aide du programme « ImageJ », ainsi qu'une représentation de la Camera Digital appropriée « Mode-5C, China » connectée au microscope et à l'ordinateur.

6. ANALYSE STATISTIQUE DES RESULTATS

Les résultats numériques expérimentaux sont exprimés sous forme de moyennes arithmétiques, accompagnées de l'erreur standard à la moyenne (Moy \pm ESM).

Pour estimer les différences entre les variables quantitatives, la comparaison des moyennes se fait à l'aide des tests "Student t" et ANOVA effectués sur les programmes Excel et EXLSTAT.

La différence entre deux moyennes comparées est statistiquement significative si la probabilité "p", lue en fonction du nombre de degrés de liberté (degré de liberté = $n_1+n_2 -2$) est égale ou inférieur à 5%.

Si $p > 0,05$: la différence n'est pas significative (ns).

Si $0,01 < p \leq 0,05$: elle est significative (a).

Si $0,001 < p < 0,01$: elle est très significative (b).

Si $p < 0,001$: elle est hautement significative (c).

Si $p < 0,0001$: elle est très hautement significative (d).

RESULTATS

Les résultats rapportés dans ce travail portent sur l'effet d'un traitement en androgène (Déca Durabolin, nandrolone décanoate) pris en surdose 10 fois supra-thérapeutique (30 mg/kg/IM, par semaine) pendant une période de 3 mois suivi par une période d'arrêt de traitement de 6 semaines chez la souris mâle adulte « *Mus musculus* ».

Nos résultats sont présentés en quatre parties : la première partie concerne l'évolution des paramètres biométriques, à savoir : les poids corporel, cardiaque et gonadique, sous l'effet du traitement ; la deuxième partie est rapportée sur les observations microscopiques obtenues suite à l'étude histologique des organes suivants : cœur, reins et testicules ; pour les groupes : C, GIII et GIV, seulement) ; la troisième partie rapporte plus de détails sur l'aspect microscopique morphométrique évolutif du cœur et des testicules et concerne l'ensemble des groupes pour ces deux organes ; la quatrième partie porte l'évolution des paramètres hépatiques, à savoir : les transaminases hépatiques et la cyto-architecture du foie, sous l'effet du traitement pour l'ensemble des groupes.

De façon générale, les animaux traités supportaient très bien la substance administrée. L'augmentation de la force musculaire et l'absence d'agressivité étaient les caractères les plus remarquables dans les groupes traités à long terme. L'appétit et le comportement normal étaient présents dans toutes les situations.

1. EVOLUTION DES PARAMETRES BIOMETRIQUES

Les tableaux VI, VII et VIII, ainsi que la figure 16 présentent l'évolution des poids corporel, cardiaque et gonadique dans les groupes étudiés avant et après chaque administration.

Tableau VI: Poids corporel moyen (en g) chez les souris soumises au traitement et ceux du groupe contrôle

Groupes	Moyen de poids corporel ± Déviation standard (g)	Gain de poids [%]
C	34,65 ± 1,83	-
GI	32,29 ± 1,65	-6,82
GII	31,69 ± 1,00	-1,86
GIII	40,48 ± 1,13	+27,73
GIV	45,85 ± 0,61	+13,28

Tableau VII : Poids moyen du cœur (en g) chez les souris soumises au traitement et ceux du groupe contrôle

Groupe	Moyen du poids cardiaque ± Déviation standard (g)	Gain de poids [%]
C	0,20 ± 0,01	-
GI	0,20 ± 0,01	+1,89
GII	0,21 ± 0,01	+3,09
GIII	0,23 ± 0,01	+7,78
GIV	0,25 ± 0,01	+8,89

Tableau VIII : Poids moyen des gonades (en g) chez les souris soumises au traitement et ceux du groupe contrôle

Groupes	Moyen du poids gonadique ± Déviation standard (g)	Gain de poids [%]
C	0,11 ± 0,00	-
GI	0,08 ± 0,00	-27,47
GII	0,07 ± 0,00	-9,67
GIII	0,07 ± 0,00	-7,02
GIV	0,09 ± 0,01	+28,30

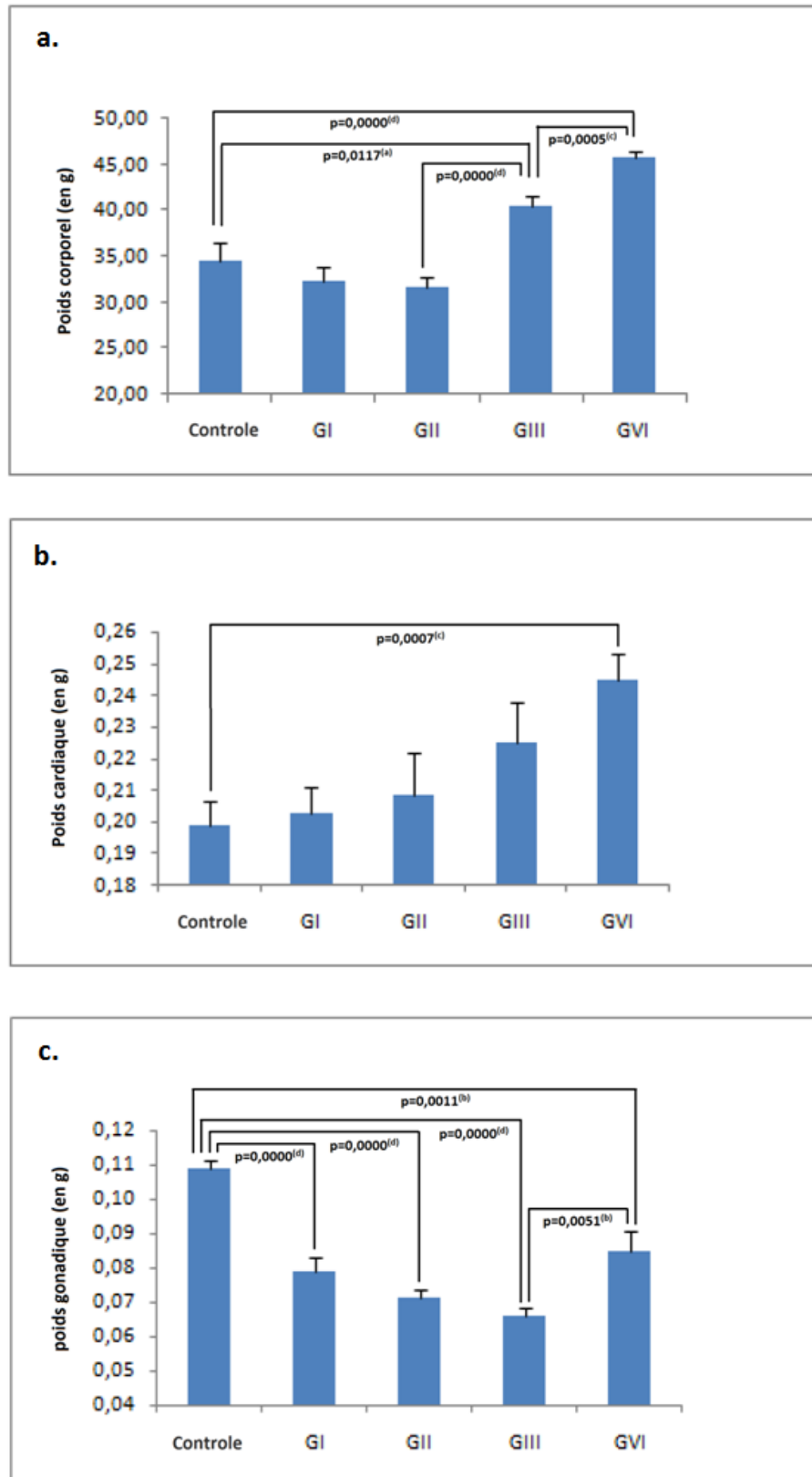


Fig.16 : Poids corporels (a.), cœur (b.) et gonades(c.) moyens chez les souris des groupes expérimentaux et témoin (en g). (a), la différence est significative; (b), très significatif; (c), hautement significatif; (c), très hautement significatif.

Il convient de noter que les animaux, du début à la fin de l'expérience (5 mois pour le groupe GIV), se comportent très bien ; aucun signe d'inconfort, plein d'énergie et de motivation avec une force remarquable acquise sous l'effet du traitement. De façon remarquable, l'agressivité et la dominance entre les individus résidants la même cage (5 souris/cage) sont des caractères qui diminuent avec la durée de traitement, elles s'absentent totalement chez les groupes GIII et GIV, cela est accompagné par l'augmentation des performances physiques bien senties en tenant les animaux.

Selon la figure 16 et les tableaux (VI, VII et VIII), nos résultats rapportent une perte de poids corporel durant les deux premiers mois du traitement suivi d'un gain très accéléré au cours du 3^{ème} mois, cela a permis au groupe traité en anabolisant androgénique pendant trois mois de rattraper la perte enregistrée durant les deux premiers mois de traitement et de gagner un poids supplémentaire qui lui a permis de dépasser le poids moyen du groupe témoin. L'arrêt de traitement n'a pas désorienté l'augmentation accélérée du poids corporel.

Contrairement à l'évolution du poids corporel observé chez les souris soumis au traitement en androgène, le profil d'évolution du poids du cœur semble être différent ; le gain est croissant durant toute la période de traitement et même après l'arrêt du traitement. De même, l'évolution du poids des testicules suit un schéma différent par une diminution progressive sous l'effet du traitement et un rétablissement non complet 6 semaine après le retrait du traitement en androgènes.

2. OBSERVATIONS MICROSCOPIQUES DES ORGANES

Les principaux changements histologiques suite à l'administration de la nortestostérone décanoate pour des durées différentes, observés chez les souris mâles, sont représentés dans les figures 17, 18 et 19. Des modifications histologiques importantes sont identifiées aux niveaux du cœur (figure 17), des reins (figure 18) et des testicules (figure 19) dans les groupes C, GIII et GIV, accompagnant les modifications du poids du cœur et des gonades dans tous les groupes d'animaux, décrits précédemment.

2.1.Observation microscopique du cœur

La figure 17 présente les modifications du muscle cardiaque (coloration H & E, $\times 100$ et $\times 400$) dans le cas du groupe témoin, GIII et GIV. Dans le groupe témoin, les fibres coupées longitudinalement et transversalement du septum cardiaque de souris et des spécimens de la paroi ventriculaire gauche colorés avec une coloration H &E ont révélé des myofibres cardiaques avec un motif ramifié; les noyaux des myocytes cardiaques contenant un sarcoplasme acidophile à gros noyaux ovales. Dans le groupe GIII, des dilacérations et des ruptures massives des fibres musculaires dues à l'activité du nandrolone décanoate ont été décelées dans les échantillons de muscle cardiaque. Ces observations sont plus accentuées dans le GIV. De même, il existe des raréfactions des fibres musculaires et des congestions vasculaires dans les groupes GIII et GIV.

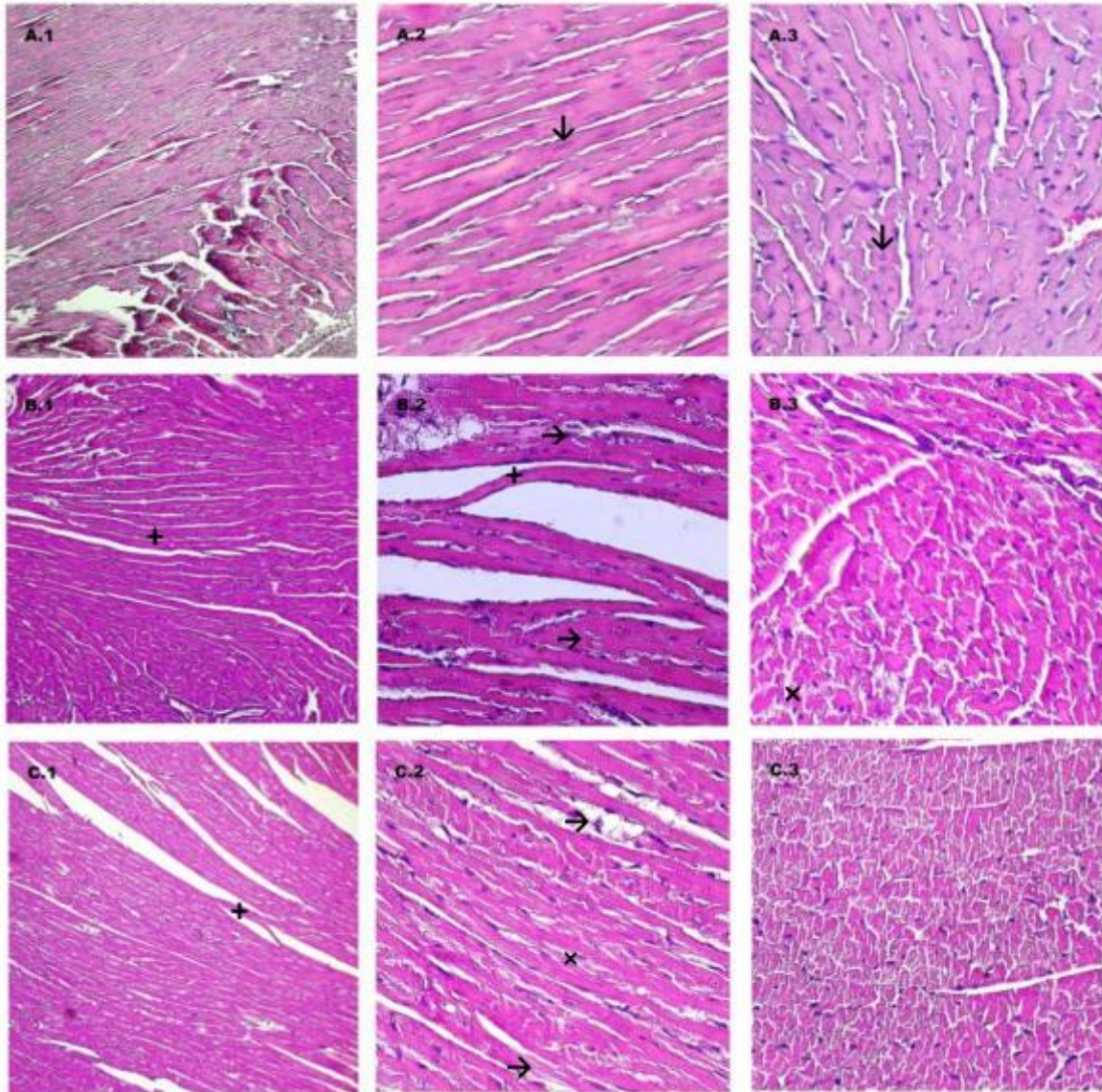


Fig. 17 : Coupes histologiques dans les muscles cardiaques des souris mâles des groupes C, GIII et GIV (coloration H & E, $\times 100$ et $\times 400$). (A) Une photomicrographie d'une section longitudinale de fibres dans le septum (A.1, 100; A.2, $\times 400$) et d'une section transversale dans la paroi ventriculaire gauche (A.3, $\times 400$) d'un muscle cardiaque chez les souris du groupe contrôle présentant le motif normal des myofibrilles étant formé de fibres musculaires cardiaques ramifiées avec de gros noyaux ovales et situés au centre (\downarrow). (B) Une microphotographie de sections longitudinales (B.1, $\times 100$; B.2, $\times 400$) et transversales (B.3, $\times 400$) de fibres dans la paroi ventriculaire gauche du muscle cardiaque de souris adultes 3 mois après l'injection intramusculaire des androgènes présentant des fibres allongées (+) avec destruction du sarcolemme (\times), dilacérations et ruptures des fibres musculaires (\rightarrow). (C) Photomicrographie d'une section longitudinale de fibres dans le septum (C.1, $\times 100$; C.2, $\times 400$) et d'une section transversale dans la paroi ventriculaire gauche (B.3, $\times 400$) du muscle cardiaque de souris adulte 6 semaines après l'arrêt de l'injection intramusculaire d'androgènes présentant des fibres plus allongées(+) avec plus de destructions du sarcolemme (\times), plus de dilacérations et de ruptures massives des fibres musculaires (\rightarrow).

2.2.Observation microscopique des reins

La figure 18 présente les modifications histologiques observées dans le rein (coloration H & E et $\times 400$) chez les groupes GIII et GIV. Dans le groupe témoin, nous avons noté la forme normale du glomérule néphrétique à l'intérieur de l'espace urinaire, la forme régulière des tubules contournés proximaux et distaux, il n'y a aucune présence de modifications anormales.

Trois mois après injection intramusculaire d'androgènes, nous avons observé une atrophie et une fragmentation glomérulaire, une rupture des parois tubulaires, une dégénérescence granuleuse de l'épithélium de revêtement des tubules contournés proximaux et une hémorragie sanguine entre les tubules. L'épaississement de la lame basale dans les tubes contournés distaux, beaucoup de cylindres hyalins, certaines zones de nécrose, un cytoplasme éosinophile des cellules ont été aussi observés. Des congestions vasculaires ont été découvertes dans des échantillons de reins de GIII.

Au bout de six semaines, après l'arrêt de l'injection intramusculaire d'androgènes, nous avons trouvé plusieurs altérations histopathologiques et la perte de structure dans les échantillons de reins de GIV, une raréfaction glomérulaire avec des formes hétérogènes, plus d'atrophie glomérulaire, une rupture plus importante des parois tubulaires, une dégénérescence granuleuse de l'épithélium tapissant les tubules contournés proximaux et une hémorragie sanguine, de grandes zones de nécrose et de nombreux cylindres hyalins volumineux.

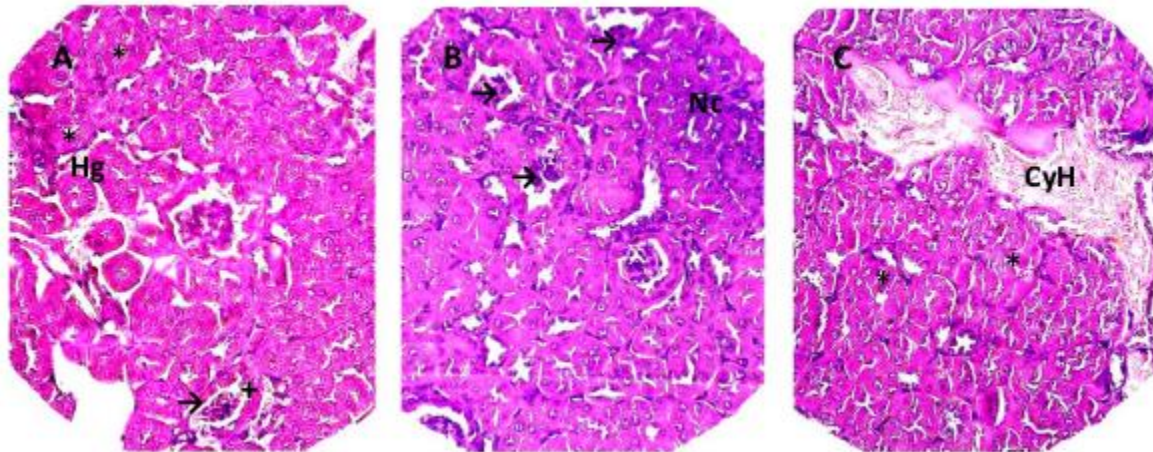


Fig. 18 : Coupes histologiques dans les reins des souris mâles des groupes GIII et GIV (coloration H & E, $\times 400$). Une microphotographie d'une coupe longitudinale du rein dans le groupe GIII, trois mois après l'injection intramusculaire d'androgènes, montrant une atrophie et une déformation glomérulaires (\rightarrow), une rupture de la capsule de Bowman (+), une rupture des parois tubulaires, une dégénérescence granuleuse de l'épithélium de revêtement des tubules contournés proximaux (*) et une hémorragie sanguine entre tubules (H) (A) (coloration H & E; $\times 400$). Photomicrographie d'une coupe longitudinale du rein dans le groupe GIV, 6 semaines après l'arrêt de l'injection intramusculaire d'androgène, montrant plus d'altérations histopathologiques, d'atrophie glomérulaire (\rightarrow), de déformations et de ruptures, ainsi que de nombreuses grandes zones de nécrose au centre du parenchyme cortical (Nc) (B), plus de rupture des parois tubulaires et de dégénérescence granuleuse de l'épithélium de revêtement des tubules contournés proximaux et de nombreux cylindres hyalins volumineux (CyH) à contours irréguliers (C) (coloration H & E; $\times 400$).

2.3. Observation microscopique des testicules

Dans la figure 19, des coupes testiculaires de souris des groupes GIII et GIV traitées par la nandrolone décanoate ont montré d'importants changements dégénératifs et une désorganisation de la structure histologique des tubules séminifères, nécrose, congestion vasculaire, noyaux pycnotiques de cellules spermatogoniales nécrosées, spermatozoïdes coagulés morts et réduction du diamètre de la lumière des tubules séminifères. Une amélioration de l'état structural des tubes séminifères a été notée 6 semaines après l'arrêt du traitement par les androgènes mais la récupération n'est pas complète.

Tous ces résultats confirment l'importante activité délétère en tant que perturbateur endocrinien pour l'androgène du nandrolone décanoate (nortestostérone) sur les tissus cibles. Les changements importants dans l'histo-architecture de ces organes cibles que nous avons constatés avec une dose de traitement 10 fois supra-médicale seulement et même après l'arrêt de l'administration, sont suivis avec certitude par une altération de la fonctionnalité due à ce puissant ester de testostérone.

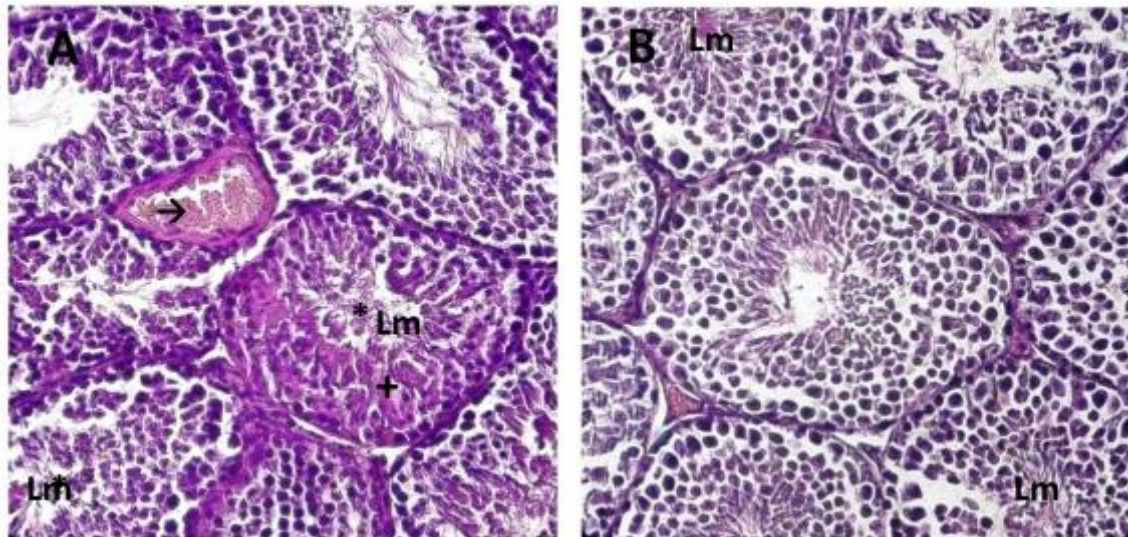


Fig.19 : Coupes histologiques dans les gonades des souris mâles des groupes GIII et GIV (coloration H & E, $\times 400$). Micrographie d'une coupe transversale du testicule dans le groupe GIII, trois mois après l'injection intramusculaire d'androgènes, montrant une congestion vasculaire (\rightarrow), des noyaux pycnotiques de cellules spermatogoniales nécrosées (+), des spermatides mortes coagulées (*) et une réduction du diamètre de la lumière des tubes séminifères (Lm) (A). Des mêmes phénomènes sont observés dans le groupe GIV, mais bien dans une moindre mesure (B).

3. ASPECT MICROSCOPIQUE MORPHOMETRIQUE DES ORGANES

Les changements histologiques importants identifiés dans le cœur et les testicules chez les groupes C, GI, GII, GIII et GIV sont représentés dans les figures 20 et 22, respectivement, accompagnés des mesures morphométriques de multiples paramètres histologiques dans tous les groupes d'animaux comme présenté dans les figure 21 et 23.

3.1. Aspect microscopique morphométrique évolutif du cœur

Dans la figure 20, la lecture générale des lames histologiques révèle des lésions cellulaires, les fibres perdent complètement leur intégrité tissulaire et leur cytoplasme est fortement endommagé, le tissu porte une vasocongestion, des vasodilations, des hémorragies, un œdème, un aspect inflammatoire et un phénomène de caryolyse. La situation s'aggrave avec la durée du traitement, persiste et semble plus prononcée après l'arrêt du traitement.

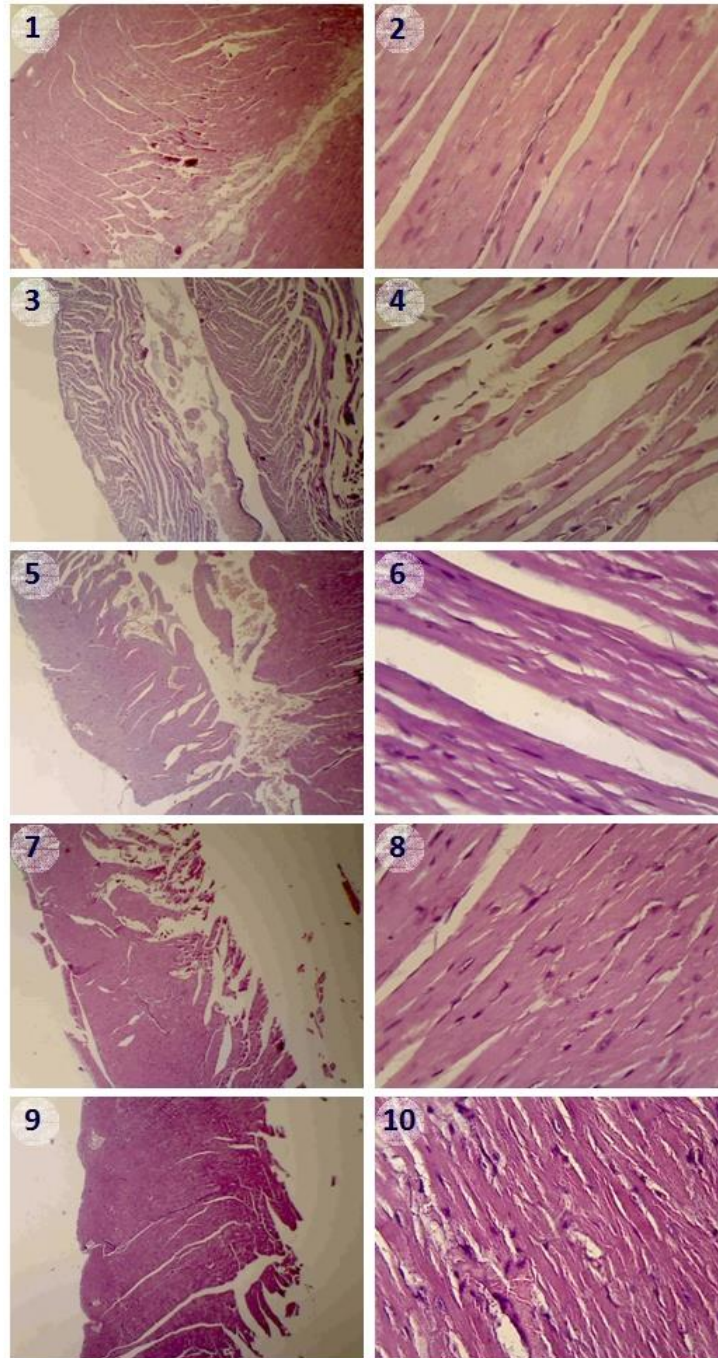


Fig.20 : Photomicrographie dans les cœurs de l'ensemble des groupes de souris traitées par une surdose en androgène comparées au groupe témoin (H&E, x 200 et x 800). 1, coupe histologique dans le cœur d'un animal du groupe témoin (non traité) démontre une structure d'architecture régulière de la paroi du ventricule gauche ainsi que du septum inter-ventriculaire (H&E, x 80) ; 2, l'architecture est conservée dans l'arrangement des fibres musculaires chez le même groupe (H&E, x 800) ; 3,coupe histologique dans le cœur d'un animal du GI traité 1 mois en surdose d'anabolisant androgénique démontre une apparence des fibres musculaires éloignées (H&E, x 80) ; 4, ce phénomène est bien visible en grossissement plus fort en plus des noyaux d'aspects basophiles (noyaux denses) signalant la morts des cellules (H&E, x 800) ; 5, coupe histologique dans le cœur d'un animal du GII traité 2 mois en surdose d'anabolisant androgénique démontre que les fibres musculaires sont toujours détachées (H&E, x 80) ; 6, les fibres sont isolées, d'arrangement irrégulière et d'un cytoplasme abimé, les noyaux sont basophiles (H&E, x 800). 7, coupe histologique dans le cœur d'un animal du GIII traité pendant 3 mois en surdose d'anabolisant androgénique démontre la dégénérescence de la paroi du ventricule gauche avec un aspect de fibres musculaires visiblement détachées (H&E, x 80) ; 8, le noyau des fibres semble être d'aspect basophile et l'espace inter-fibrillaire et rempli de cellules à noyaux ovales et aplatis de petites tailles (cellules endothéliales et fibroblastes) que constitue un phénomène de cicatrisation du tissu (H&E, x 800) ; 9, coupe histologique dans le cœur d'un animal du GIV traité pendant 3 mois en surdose d'anabolisant androgénique suivis d'arrêt de traitement de 6 semaines démontre un aspect dégénératif des fibres (H&E, x 80) ; 10, avec une perte totale de l'architecture des fibres musculaires, des noyaux basophiles et un cytoplasme abimé (H&E, x 800).

Dans la figure 21, l'étude morphométrique rapporte une diminution de l'épaisseur des fibres musculaires accompagnée d'une augmentation de la taille de leurs noyaux avec la durée du traitement aux androgènes ; elle se poursuit de la même manière après l'arrêt du traitement. L'évolution croissante de la taille des noyaux des fibres musculaires en fonction de la durée de traitement indique une sensibilité de l'activité nucléaire à la stimulation hormonale par l'anabolisant androgène, mais on distingue bien la présence d'un phénomène de caryolyse qui marque surtout les fibres cardiaques des groupes GIII et GIV (traités avec l'anabolisant androgène pendant 3 mois et pendant 3 mois suivis de 6 semaines d'interruption de traitement, respectivement). En décantant les évolutions moyennes des nombres des noyaux composants des cellules du tissu cardiaque, il semble qu'il y a un phénomène de lésion pour toutes les cellules du tissu un mois après le début de traitement ; les fibroblastes et les cellules endothéliales sont renouvelables après le 2ème mois de traitement, mais les cardiocytes (fibres musculaires) continuent leur phénomène de lésion même après l'arrêt du traitement; et donc elles ne sont pas récupérables.

D'après notre étude menée sur le cœur de souris soumises à un traitement avec un anabolisant androgène largement utilisé comme moyen de dopage par les sportifs, les résultats histopathologiques sur cet organe sont graves et irréversibles.

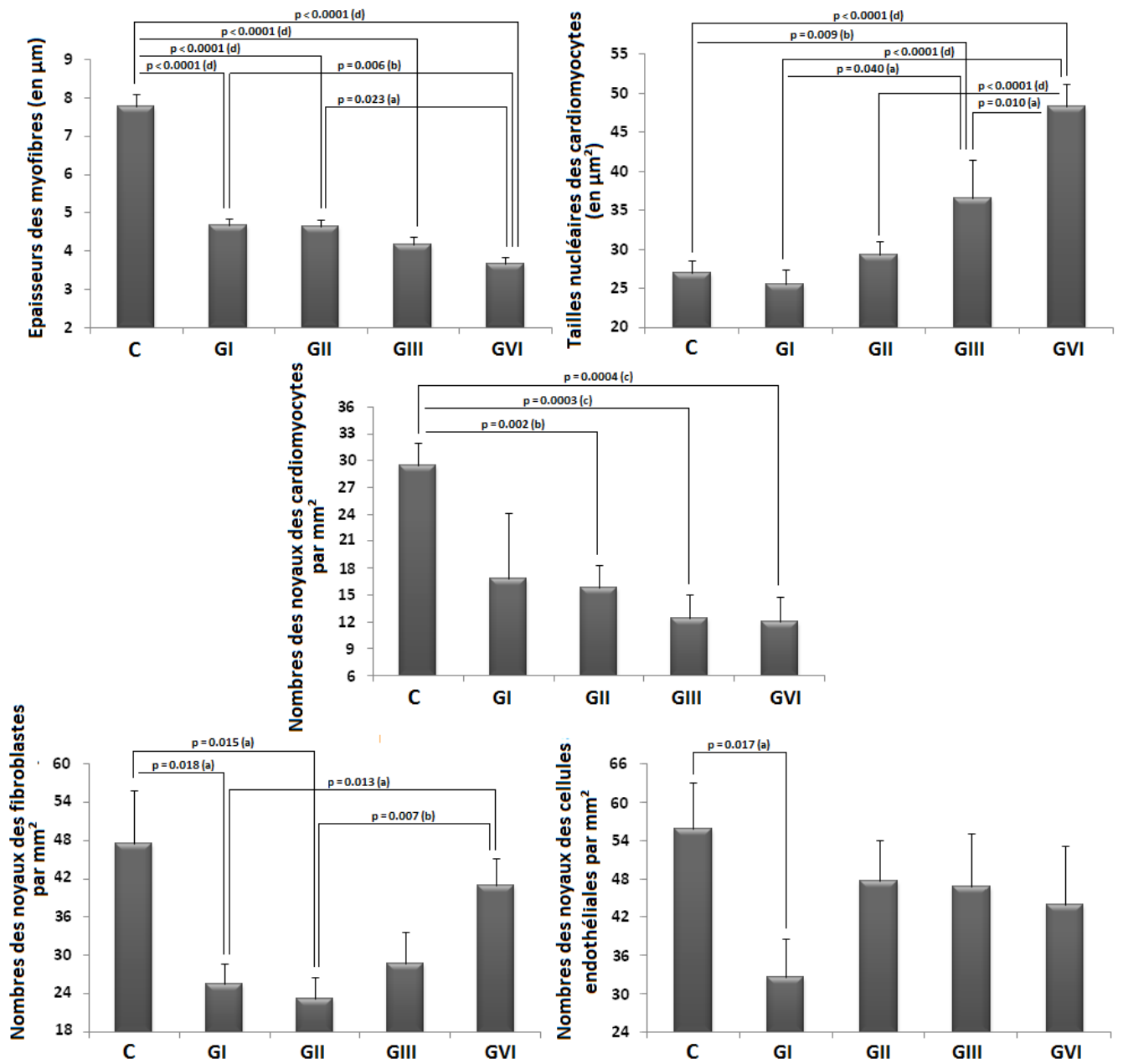


Fig. 21 : Evolutions moyennes de quelques paramètres histologiques morphométriques dans le cœur de l'ensemble des groupes de souris traitées par une surdose en androgène comparées au groupe témoin. (a), la différence est significative; (b), très significatif; (c), hautement significatif; (d), très hautement significatif.

3.2. Aspect microscopique morphométrique évolutif des testicules

Dans la figure 22, la lecture générale des modifications structurales des testicules sous l'effet du traitement en androgène montre des détériorations histopathologiques importantes : atrophie et déformations des tubes séminifères, détérioration de la gamétogenèse et disparition de la lumière tubaire, dégénérescence de la lignée des cellules gamétogènes, vasocongestion, vasodilations, inflammations et hémorragies. L'état structural s'aggrave avec la durée du traitement. L'arrêt du traitement pendant 6 semaines induit une réparation incomplète du tissu.

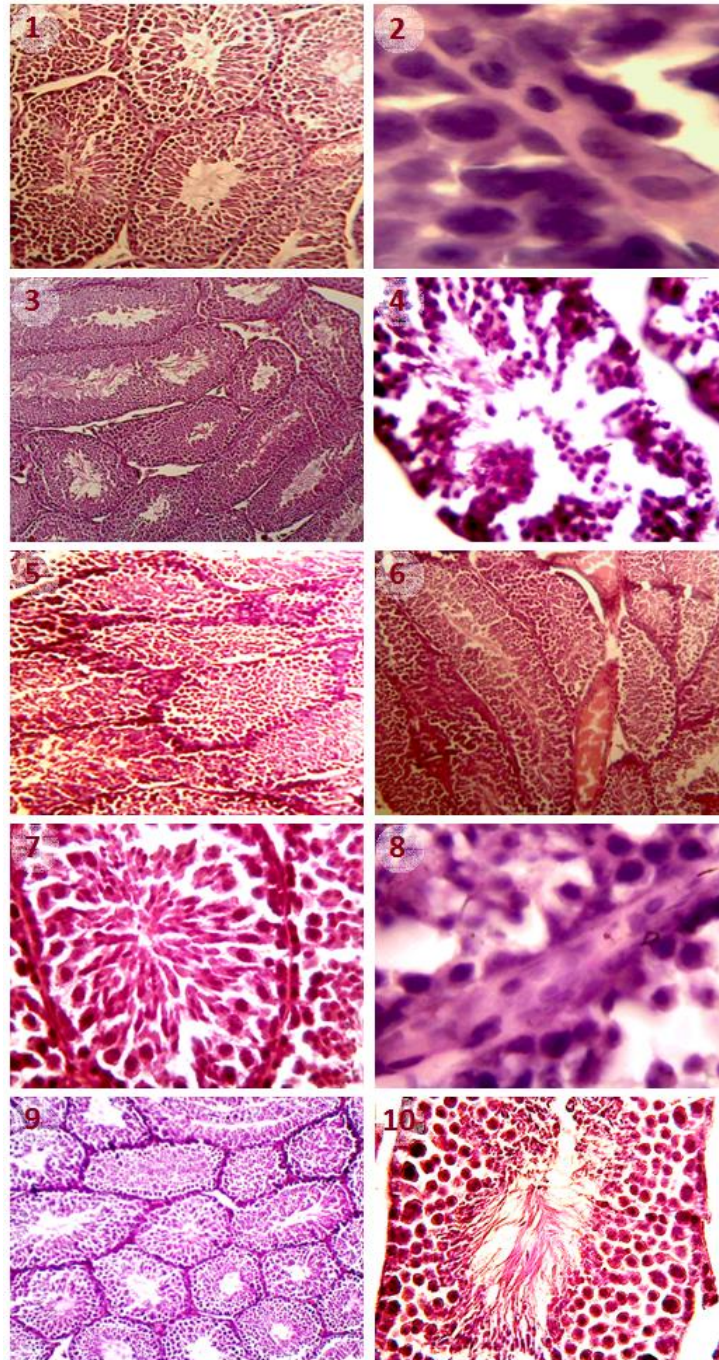


Fig.22 : Photomicrographie dans les testicules de l'ensemble des groupes de souris traitées par une surdose en androgène comparées au groupe témoin (H&E, x200, x800 et x 2000). 1, coupe histologique dans le testicule d'un animal du groupe témoin (non traité) démontre une architecture régulière avec des tubes séminifères de formes rond ou ovoïde en fonction de leur orientation, présentant une lumière centrale bordée de cellules de la lignée gamétogène (H&E, ×200) ; 2, la taille et la forme des noyaux des cellules de Leydig (au milieu) et des spermatogonies (noyaux plus volumineuses et dense à gauche) semble être régulières le même groupe (H&E, ×2000) ; 3, coupe histologique dans le testicule d'un animal du groupe GI traité 1 mois par l'anabolisant androgénique démontre une atrophie des tubes séminifères (H&E, ×200) ; 4, un mal arrangement des cellules de la lignée gamétogène avec moins de spermatozoïdes produits (H&E, ×800) ; 5, coupe histologique dans le testicule d'un animal du groupe GII traité 2 mois par l'anabolisant androgénique démontre des zones de déformation des tubes séminifères, une lumière absente dans quelques tube et remplis par des amas de cellules indifférenciés dans des autres (H&E, ×200) ; 6, coupe histologique dans le testicule d'un animal du groupe GIII traité 3 mois par l'anabolisant androgénique démontre que les phénomènes observés chez le groupe GII sont maintenus en plus d'une vasocongestion sévère et des vasodilatations ; signes d'inflammations importantes, la lumière est disparue dans la majorité des tubes séminifères (H&E, ×200) ; 7, on observe bien les dommages structurel des tubes séminifères marqués par les lésions des cellules de la lignée gamétogène, la lésion est plus prononcée au niveau centrale en touchant beaucoup plus les spermatides et les spermatocytes secondaires (H&E, ×800) ; 8, atrophie des noyaux des cellules de Leydig (au milieu) et des spermatogonies (noyaux opaques) chez le même groupe (H&E ×2000) ; 9, coupe histologique dans le testicule d'un animal du groupe GIV traité 3 mois par l'anabolisant androgénique suivis par 6 semaines d'arrêt de traitement démontre que la plus part des tubes séminifères présentent une lumière centrale bordée par les cellules spermatogénèse, quelques tubes séminifères sans lumières sont toujours observés (H&E, ×200), 10, la gamétogénèse est rétablie avec une structure régulière de tube séminifère (H&E, ×800).

Dans la figure 23, l'examen morphométrique du tissu testiculaire montre que le diamètre des tubules séminifères, l'espace de leurs lumières, le nombre de spermatozoïdes produits par le tube séminifère et la taille des noyaux des cellules de Leydig diminuent progressivement avec la durée de l'abus en SAA. Cette diminution est accompagnée par l'indifférenciation des cellules de la lignée gamétogène et d'un aspect de cytolysse dans les tubes séminifères. Cet effet ne peut être récupéré que partiellement 6 semaines après l'arrêt du traitement.

Ainsi, l'effet délétère des stéroïdes anabolisants androgènes pris en surdose sur la structure et la fonction testiculaire n'est pas complètement réparable à la fin d'un cycle d'administration.

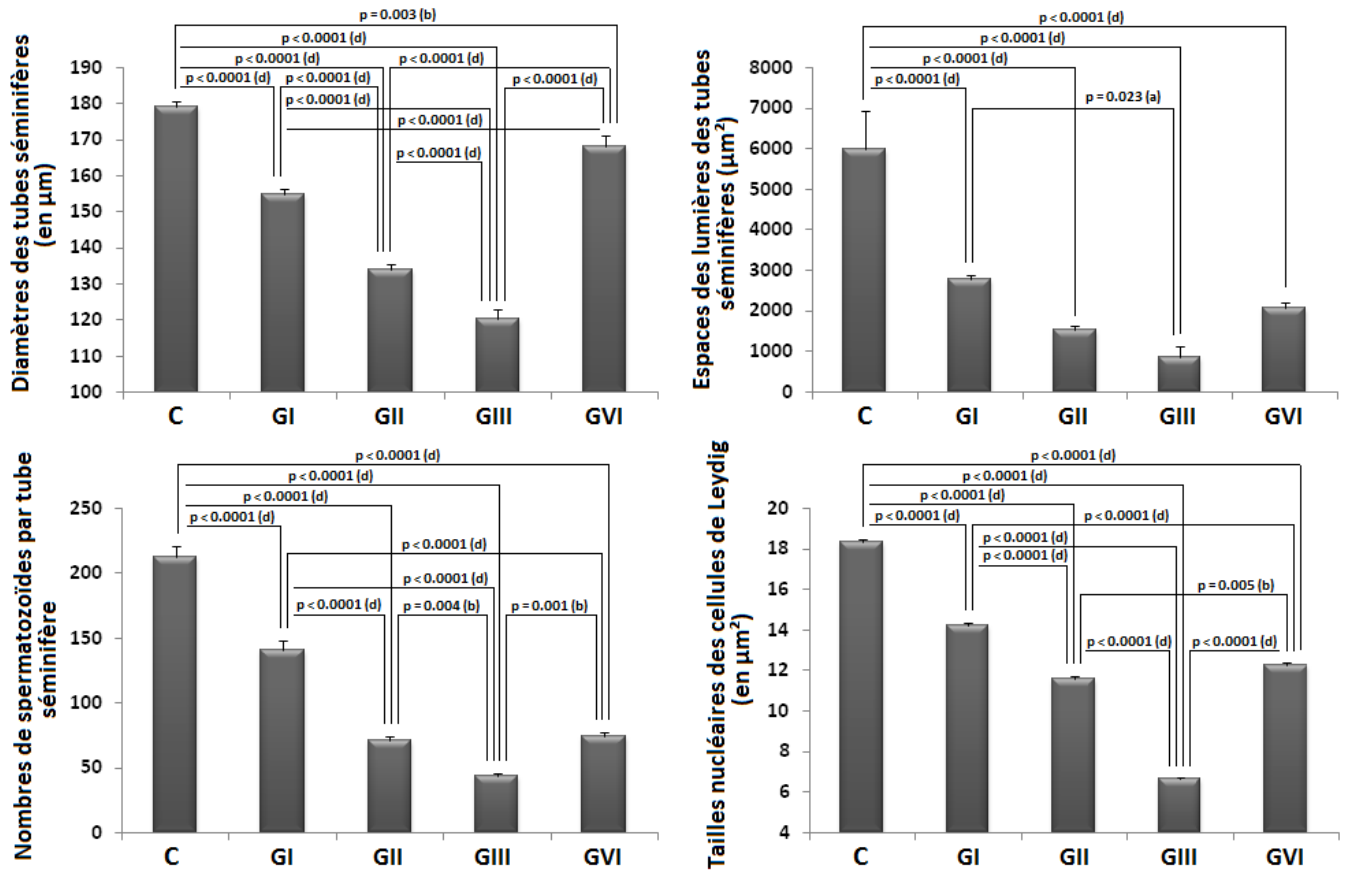


Fig.23 : Evolutions moyennes de quelques paramètres histologiques morphométriques dans les testicules de l'ensemble des groupes de souris traitées par une surdose en androgène comparées au groupe témoin. (a), la différence est significative; (b), très significatif; (c), hautement significatif; (d), très hautement significatif.

4. OBSERVATIONS DES PARAMETRES HEPATIQUES

4.1. EVOLUTIONS DES TAUX PLASMATIQUES EN ENZYMES HEPATIQUES

Le tableau IX et la figure 24 présentent le taux plasmatique moyen des enzymes hépatiques ALAT et ASAT, chez les groupes d'animaux étudiés avant et après chaque administration.

Tableau IX : Taux plasmatique moyen en enzymes hépatiques (ALAT et ASAT) chez les souris des groupes soumis au traitement et du groupe contrôle (en U/L)

Groupes	Moyen de taux plasmatique ± déviation standard de l'ALAT (U/L)	Difference [%]	Moyen de taux plasmatiques ± déviation standard de l'ASAT (U/L)	Difference [%]
C	11,89 ± 5,71	-	32,08 ± 8,00	-
GI	71,00 ± 26,89	+497,37	41,56 ± 13,25	+29,55
GII	76,31 ± 20,13	+7,48	67,33 ± 22,26	+61,99
GIII	126,84 ± 20,81	+66,22	65,44 ± 21,16	-2,80
GIV	16,41 ± 2,93	-87,07	22,06 ± 8,39	-66,30

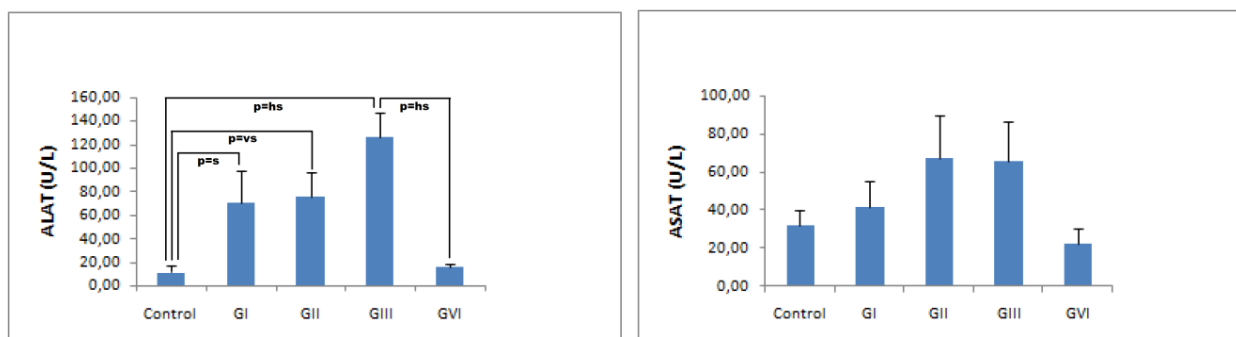


Fig.24 : Taux plasmatiques moyens d'ALAT et d'ASAT chez les souris des groupes expérimentaux et du groupe témoin (en U/L). La différence est non significative à $p > 0,05$; significative (s) à $p \leq 0,05$; très significative (vs) à $p < 0,01$; hautement significative (hs) à $p < 0,001$; très hautement significative (vhs) à $p < 0,0001$.

4.2. OBSERVATIONS MACRO- ET MICROSCOPIQUES DU FOIE

Les changements histologiques importants identifiés dans le foie chez les groupes C, GI, GII, GIII sont représentés dans les figures 25, suivis d'une description de l'aspect macroscopique et microscopique dans le foie des souris du groupe GIV comme représentée dans les figures 26 et 27, respectivement.

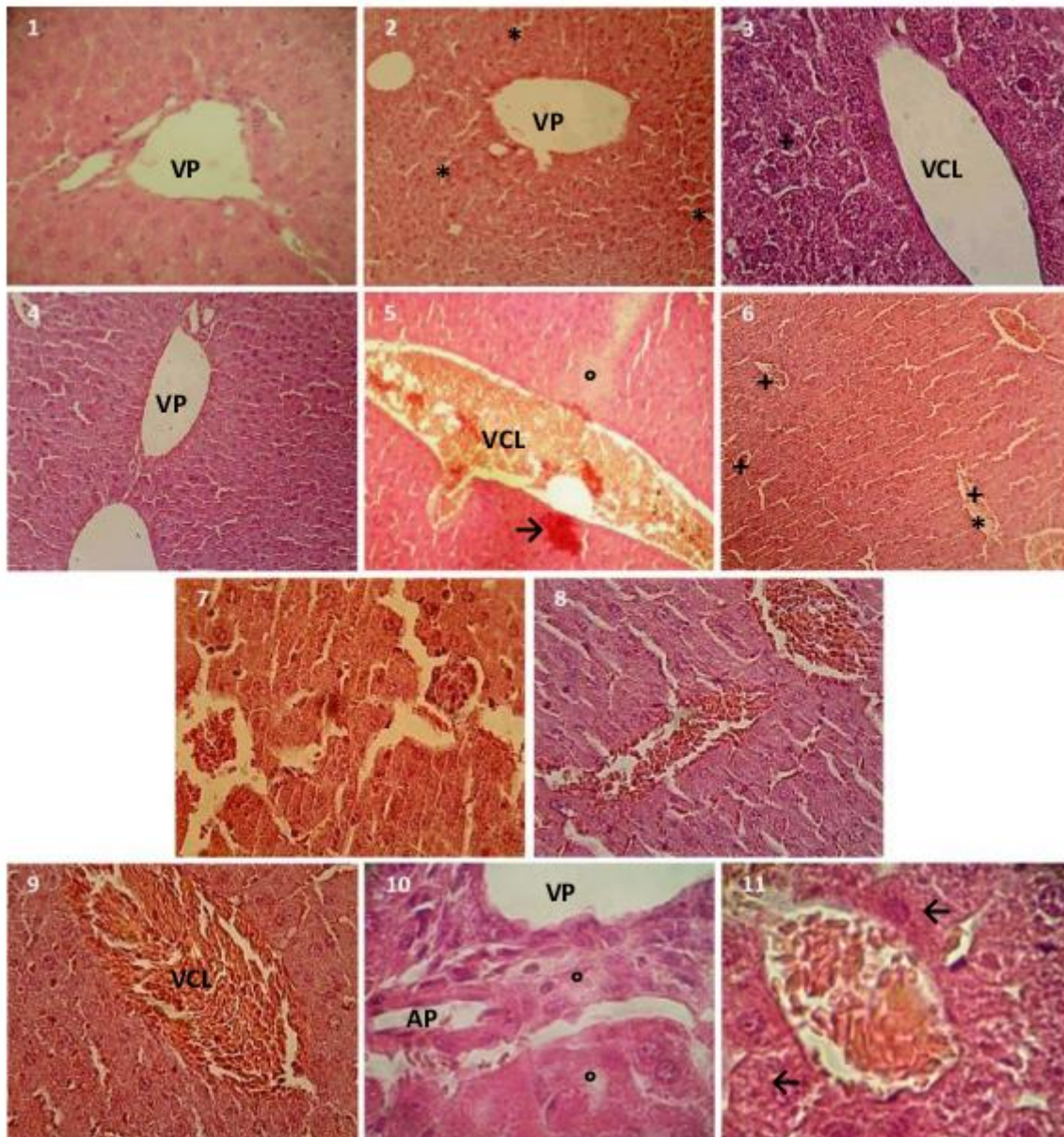


Fig. 25 : Coupes histologiques hépatiques chez des souris mâles des groupes C, GI, GII et GIII (coloration H & E, $\times 100$, $\times 400$ et $\times 1000$). Une photomicrographie d'une coupe transversale du foie dans le groupe C montrant une structure conservée du parenchyme hépatique; sinusoides non dilatés et espace portal avec lumière veineuse, lumière artérielle et canal biliaire de tailles normales (1, $\times 400$). Photomicrographie d'une coupe transversale du foie dans le groupe GI, 1 mois après l'injection intramusculaire d'androgènes montrant une dilatation des sinusoides (*), espace portal élargi avec dilatation de la veine porte sans aspect inflammatoire (2, $\times 100$), une veine centrale dilatée, les hépatocytes (+) sont de taille plus élevée et leur cytoplasme est hétérogène semble avoir des organites intracellulaires distincts (3, $\times 400$). Une microphotographie d'une coupe transversale du foie dans le groupe GII, 2 mois après l'injection intramusculaire d'androgène montrant une dilatation des sinusoides, un espace portal élargi avec une dilatation de la veine porte et du canal biliaire (4, $\times 100$), une veine centrale congestionnée et trop dilatée avec extravasation des globules rouges (→) et œdème (°) (5, $\times 400$), vasocongestion, sang laqué (+), hyalinisation (*) et noyaux pycnotiques (6, $\times 400$); plus clairement visible (7 et 8, $\times 400$). Photomicrographie d'une coupe transversale du foie dans le groupe GIII trois mois après l'injection intramusculaire d'androgènes montrant une veine centrale congestionnée trop dilatée ainsi que des noyaux pycnotiques (9, $\times 400$), une veine porte et une artère porte dilatées, un infiltrat inflammatoire et un œdème (10, $\times 1000$), vasocongestion et sang laqué, hypertrophie d'hépatocytes (←) à cytoplasme hétérogène comprenant des organites intracellulaires remarquables (11, $\times 400$).

Avec : VCL, veine centro-lobaire ; VP, veine porte ; AP, artère port ; CB, canal biliaire ; VL, micro-vésicules lipidiques.

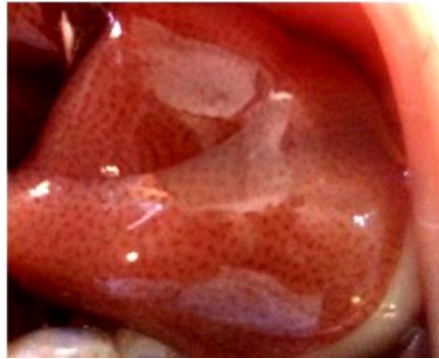


Fig. 26 : Photomicrographie du foie des souris mâles du groupe GIV. Tous les animaux traités avec des androgènes pendant 3 mois, puis arrêtant le traitement pendant 6 semaines, ont un foie visiblement tacheté.

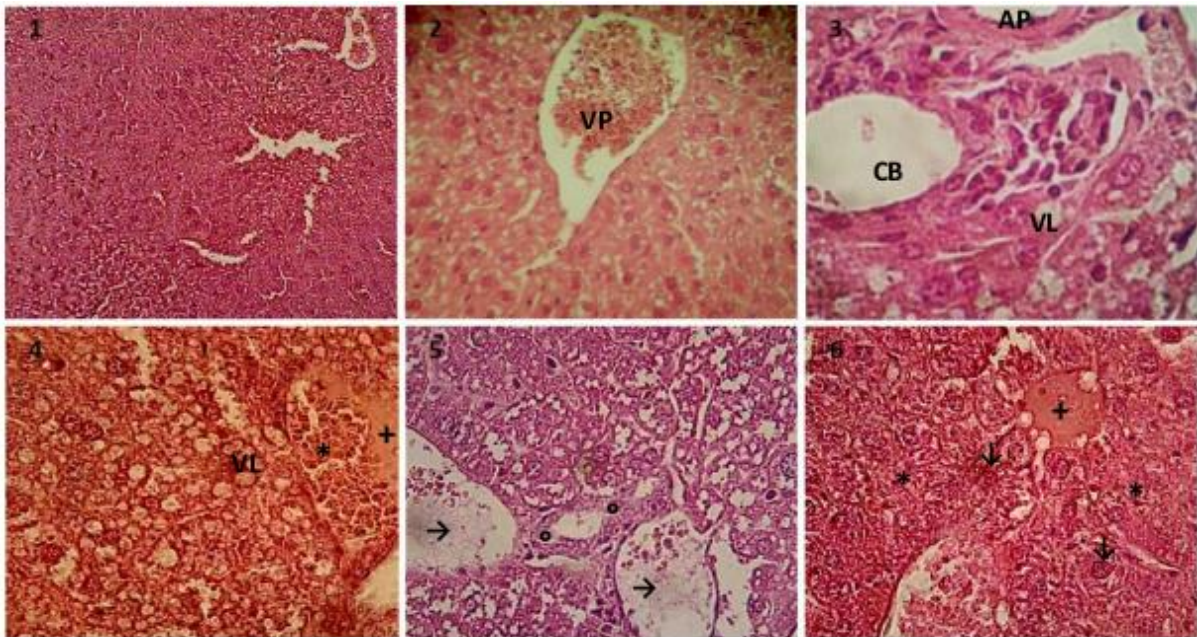


Fig. 27 : Coupes histologiques hépatiques chez des souris mâles du groupe GIV (coloration H & E, $\times 100$, $\times 400$ et $\times 1000$). Une microphotographie d'une coupe transversale du foie dans le groupe IV ; 3 mois après l'injection intramusculaire d'androgène, suivie de six semaines d'arrêt de traitement, montrant une détérioration de l'architecture du parenchyme hépatique (1, $\times 100$), une stéatose microvésiculaire (surcharge lipidique) périportale (dans le périphérique de l'espace port) (2, $\times 400$), canal biliaire dilaté et infiltrat inflammatoire (3, $\times 1000$), perte de structure, vasocongestion (*) et hyalinisation vasculaire (+) (4, $\times 400$), apparition fibreuse (\rightarrow) des lumières vasculaires, œdème (°) et infiltrat inflammatoire (5, $\times 400$), hyalinisation (+), noyaux pycnotiques (\downarrow) et zones de dégénérescences cellulaires (6, $\times 400$).

Avec : VCL, veine centro-lobaire ; VP, veine porte ; AP, artère port ; CB, canal biliaire ; VL, micro-vésicules lipidiques.

Les résultats présentés dans le tableau IX et les figures 24 et 25 démontrent une détérioration de la fonction et de la structure du foie depuis le premier mois d'administration de la nandrolone décanoate. Ces détériorations s'aggravent vers le deuxième et le troisième mois de traitement avec l'augmentation des taux plasmatiques moyens des transaminases hépatiques (ALAT et ASAT) accompagnée par des signes de péliose, d'inflammation, d'hémorragie, d'hypertrophie et de dégénérescence cellulaire dans le tissu hépatique.

De manière remarquable, l'arrêt du traitement pendant 6 semaines est accompagné de l'apparition d'un aspect hépatique tacheté (Figure 26). Cette apparence est clairement visible chez tous les animaux du groupe GIV. Bien que les dosages plasmatiques d'ALAT et d'ASAT montrent une diminution de leurs taux moyens jusqu'à arriver à des niveaux similaires aux valeurs de contrôle (Tableau IX et Figure 24), l'histologie hépatique révèle bien une stéatose microvésicule périportale (Figure 27). La stéatose est associée à une perte totale de structure dans différentes zones accompagnée d'une hyalinisation vasculaire fréquente et une structure fibreuse dans la lumière des vaisseaux, une thrombose avec une organisation fibro-hyaline ("hyalinisation" par organisation fibreuse de plaquettes), une hypertrophie cellulaire, des zones de dégénérescence et des inflammations. Ces résultats montrent que le repos de 6 semaines n'a pas servi pour la récupération structurelle du tissu hépatique ; plutôt le foie se trouve dans un état de souffrance après l'arrêt de traitement.

DISCUSSION

1. Effets généraux

Dans la présente étude, des doses supraphysiologiques de SAA ont été utilisées à titre expérimental pour évaluer les différents changements histologiques du muscle cardiaque, des reins, des testicules et du foie chez les souris mâles adultes. Des modifications structurelles des organes d'animaux ont été constatées ; l'utilisation régulière des doses supraphysiologiques de SAA est destructrice.

Dans notre étude, ces modifications persistent dans tous les organes et s'aggravent encore dans le cœur, les reins et le foie six semaines après l'arrêt du traitement. Il convient de noter que les animaux pendant toute la durée de l'expérience (quatre mois et demi pour le groupe GIV), se comportent très bien, aucun signe d'inconfort, plein d'énergie et de motivation avec une force remarquable malgré leur état pathologique, et c'est peut-être la même situation chez les personnes abuseurs des SAA.

De plus, les résultats de cette étude n'ont pas montré de comportement agressif chez les souris après l'administration de SAA. Cependant, l'étude d'Hassan *et al.* (2009) chez le rat, ainsi que celles de Kindlundh *et al.* (2001) et de Hildebrandt *et al.* (2014) chez l'homme, ont montré un comportement agressif après l'administration de SAA, suggérant que celui-ci pourrait avoir des effets sur le système nerveux central et pouvant induire un comportement anormal.

Notre étude a montré une perte de poids corporel durant les deux premiers mois du traitement suivi d'un gain très accéléré au cours du troisième mois, cela a permis au groupe traité en anabolisant androgénique pendant trois mois de rattraper la perte enregistrée durant les deux premiers mois de traitement et de gagner un poids supplémentaire qui lui a permis de dépasser le poids moyen du groupe témoin. L'arrêt de traitement n'a pas désorienté l'augmentation accélérée du poids corporel.

L'évolution du poids corporel chez les souris mâle adultes traitées par une surdose en androgène a été constatée. Le début de traitement est accompagné par une diminution du poids corporel qui peut être attribué à l'effet lipolytique des androgènes.

L'effet lipolytique de la testostérone est bien décrit et dépend de la dose administrée. Ainsi, il est rapporté que l'administration supraphysiologique de Déca Durabolin (10 mg/kg/semaine pendant 4 semaines) à des rats Wistar induit une augmentation du poids

corporel accompagnée d'une réduction du tissu adipeux viscéral et sous-cutané (Andreato et al., 2013).

Conformément à ces données, Foletto et al., (2015) rapportent qu'un traitement en nandrolone décanoate (0,5mg/kg/semaine pendant 4 semaines) chez le rat adulte mâle entraîne une diminution significative du diamètre des adipocytes et de la quantité de tissu adipeux stocké ainsi qu'une diminution des taux plasmatiques de glucose et de cholestérol total dans l'organisme.

Frankenfeld et al. (2014) rapportent que l'administration supraphysiologique de Déca Durabolin (10 mg/kg/semaine pendant 2 mois) entraîne une diminution importante de la masse grasse sous-cutanée et intramusculaire accompagnée par une augmentation de la masse de protéines et de la teneur en eau chez le rat mâle adulte. Ces dernières variables qui sont liées positivement à l'administration des SAA peuvent être à l'origine de l'augmentation du poids corporel observé chez les souris au troisième mois de traitement après l'épuisement de la masse grasse. L'augmentation de la teneur en eau pourrait s'expliquer par l'augmentation de la masse protéique entraînant une augmentation de la masse musculaire (Frankenfeld et al., 2014). Une augmentation du poids corporel peut également être attribuée au repositionnement de liquides et de sodium dans le corps (Jannatifar et al., 2015).

Des rapports de cas indiquent une hypernatrémie et une augmentation de la rétention hydrique décrites chez des sujets abuseurs des SAA (Socas et al., 2005). Cependant, les chercheurs ne peuvent pas faire la distinction entre l'eau extracellulaire et l'eau intracellulaire.

L'arrêt de traitement est encore accompagné par une augmentation importante du poids corporel, ceci peut être expliqué par une absence brusque des androgènes ; administré à forte dose, il peut induire une nouvelle accumulation de la masse grasse et, cette fois, de façon plus intense. Par ailleurs, c'est un phénomène très observé chez les anciens sportifs ou les anciens abuseurs des SAA vu le changement brusque de l'état métabolique. Foletto et al. (2015) mentionnent que l'interruption du traitement par les androgènes peut entraîner une augmentation des réserves de tissu adipeux.

Chez les souris soumises au traitement androgénique, la force musculaire persiste après l'arrêt de traitement, cela est visible d'après les mouvements de l'animal dans sa cage et d'après la musculature et la forte résistance.

Contrairement à la forme d'évolution du poids corporel observé chez les souris soumises au traitement en androgène, le profil d'évolution du poids du cœur semble être différent ; le gain est croissant durant toute la période de traitement et même après l'arrêt du traitement. De même, l'évolution du poids des testicules suit un schéma différent par une diminution progressive sous l'effet du traitement et un rétablissement non complet six semaines après le retrait du traitement en androgène. En effet, les données expérimentales obtenues sur des animaux sont bien corrélées avec celles de sujets humains.

Chez les athlètes utilisant des stéroïdes anabolisants androgènes illicites, une hypertrophie du muscle squelettique et une hypertrophie cardiaque pathologique ont été rapportées (Marsh *et al.*, 1998 ; Hartung *et al.*, 2001), ainsi qu'une atrophie testiculaire (Naraghi *et al.*, 2010 ; Hildebrandt *et al.*, 2014 ; Ahmed, 2015 ; Christou *et al.*, 2017).

2. Effets sur le muscle cardiaque

Les modifications structurelles du cœur chez les animaux à qui nous avons administré régulièrement des doses supraphysiologiques de SAA sont caractérisées par le développement d'un aspect inflammatoire au cours du deuxième et troisième mois de traitement. Dans notre étude, ces changements se sont aggravés six semaines après l'arrêt du traitement. Notre étude a montré une élongation, de graves dilacérations et des ruptures des fibres du muscle cardiaque avec une évidente congestion vasculaire qui persiste après l'arrêt du traitement.

Notre étude histopathologique du cœur des souris soumises à un traitement en anabolisant androgène montrent des lésions du tissu cardiaque graves et irréversibles. Il est probable que cela pourrait être la cause de certaines maladies cardiaques mortelles.

La littérature rapporte 19 cas mortels d'utilisateurs sportifs de SAA entre 1990 et 2012 et l'autopsie exclut les causes de décès extra-cardiaques. Dans de nombreux cas, une hypertrophie ventriculaire gauche fréquemment associée à une fibrose et à une myocytolyse est identifiée (Frati *et al.*, 2015).

La physiopathologie des effets cardiovasculaires indésirables liés à l'utilisation des SAA peut être attribuée au fait que des récepteurs d'androgènes sont présents dans les cardiomyocytes, ce qui conduit à une hypertrophie (Marsh *et al.*, 1998).

Les données bioptiques chez les athlètes ont montré qu'une augmentation focale de la teneur en collagène du myocarde peut survenir pendant le mécanisme de réparation des

dommages du myocarde (D'Andrea *et al.*, 2007). De plus, Carre (2008) démontre que les SAA consommés chez les athlètes provoquent une désorganisation myofibrillaire avec une fibrose et des zones de nécrose dans le cœur.

Des études *in vivo*, sur des modèles animaux détectent des modifications structurelles du myocarde et une hypertrophie cardiaque dues à un surdosage de SAA (Pesola *et al.*, 1988). Inversement, Woodimiss *et al.* (2000) ont rapporté que le décanoate de nandrolone provoque un remodelage du ventricule gauche chez les rats mâles sans lésion du muscle cardiaque, cela pourrait être attribué à la plus petite dose utilisée.

Ces résultats concordent avec ceux obtenus par d'autres études (Hassan *et al.*, 2009; Buttner, 2010). Hassan *et al.* (2009) rapportent que l'administration de sustanon chez des rats albinos mâles (avec une injection intramusculaire de 10 mg / kg une fois par semaine pendant 8 semaines) a provoqué une dégénérescence ischémique sévère des fibres du muscle cardiaque et des infiltrations inflammatoires évidentes.

D'autre part, les effets hémodynamiques de six semaines de traitement en décanoate de nandrolone (dose totale de 30 mg / kg) et leur réversibilité ont été étudiés chez le rat mâle par Pesola (1988) ; il a noté une réduction de l'efficacité de pompage du cœur six semaines après la fin du traitement. Cela concorde avec nos résultats rapportés sur l'irréversibilité de l'effet destructif des SAA sur le tissu cardiaque. Nos résultats peuvent également expliquer la non récupération immédiate de la normalité de la physiologie cardiaque autonome après son altération par un traitement prolongé chez le rat à la Deca Durabolin (traitement interrompu pendant six semaines après une injection intramusculaire de 10 mg / kg une fois par semaine pendant huit semaines) (Marocolo *et al.*, 2018).

Chez l'humain, Urhausen *et al.* (2004) ont noté que plusieurs années après la fin de l'abus de stéroïdes anabolisants, les athlètes présentaient encore une légère hypertrophie concentrique du ventricule gauche. D'Andrea *et al.* (2007) ont noté que plusieurs années après une mauvaise utilisation chronique des SAA, les utilisateurs présentaient une altération subclinique de la fonction myocardique systolique et diastolique associée à la posologie et à la durée d'utilisation des SAA.

D'autre part, l'évolution croissante de la taille des noyaux de fibres musculaires sous l'effet de la durée de traitement, démontrée dans notre étude, indique une sensibilité de l'activité nucléaire à la stimulation androgène, mais nous avons bien décrit précédemment la

présence d'un phénomène de caryolyse qui marque en particulier les fibres cardiaques des groupes GIII et GIV (traités par anabolisant androgène pendant 3 mois et pendant 3 mois suivis de six semaines d'interruption de traitement, respectivement). Ainsi, l'hyperstimulation nucléaire par l'hormone peut aboutir à une génotoxicité conduisant à la lyse de noyaux.

Selon les modifications du nombre de noyaux constituant le tissu cardiaque, il semble qu'il existe des lésions des cellules du tissu un mois après le début du traitement, les fibroblastes et les cellules endothéliales sont renouvelables à partir du deuxième mois de traitement, mais les lésions des cardiomyocytes persistent même après l'arrêt du traitement et donc ils ne sont pas récupérables.

3. Effets sur les reins

Nos résultats ont montré des dommages néphrétiques induits par l'abus en stéroïdes anabolisants. Des modifications histologiques anormales sont apparues sous la forme de déformation et d'atrophie des glomérules, de vacuolisation de la paroi épithéliale des tubules rénaux, de la rupture des parois tubulaires, d'hémorragie sanguine et de congestion des vaisseaux sanguins rénaux. Ces dommages persistent et s'aggravent encore après l'arrêt du traitement.

Nos résultats concordent avec ceux rapportés par l'étude d'Ahmed Bin Bisher (2009) portée sur le cobaye traité avec une dose de 30 mg / kg pendant six semaines et celle de Hasso (2009) sur des lapins mâles recevant 6 mg / kg de poids corporel par semaine pendant deux mois. De plus, les résultats actuels semblent correspondre à ceux de Mohammed *et al.* (2017) qui ont rapporté des modifications histologiques des reins chez les rats albinos mâles qui ont subi un traitement au décanoate de nandrolone à deux doses de 7,93 mg / kg de poids corporel et de 11,9 mg / kg de poids corporel par semaine pendant huit semaines.

Par conséquent, un abus prolongé de la part des athlètes de fortes doses d'androgènes anabolisants peut entraîner une destruction importante du tissu rénal et peut entraîner des troubles rénaux graves tels que des insuffisances rénales tardives. Les résultats de notre étude histopathologique actuelles concordent avec ceux de Hartung *et al.*(2001) qui ont montré de graves altérations néphrétiques chez les culturistes ayant abusé de fortes doses des SAA, la biopsie rénale a révélé une néphrosclérose avec des lésions prononcées.

Des recherches rapportent que le poids des reins est plus élevé chez les animaux traités avec des stéroïdes anabolisants et une augmentation du volume du cortex rénal a été observée chez des souris traitées avec du décanoate de nandrolone (Foletto *et al.*, 2015).

Les androgènes jouent un rôle important dans la croissance des cellules épithéliales tubulaires rénales, l'hypertrophie et la production d'érythropoïétine. Ils peuvent être des déterminants importants des différences de pression artérielle propres au sexe qui peuvent être médiées par les récepteurs rénaux des androgènes (Quinkler *et al.*, 2005). De plus, l'hypertension artérielle rapportée chez le rat mâle peut s'expliquer par la modulation androgénique du système rénine-angiotensine (Zeier *et al.*, 1998^(a) ; Rosca *et al.*, 2016).

L'étude de Ji *et al.* (2005) montre que la présence d'androgènes contribue à l'insuffisance rénale progressive induite par l'hypertension artérielle rénale chez le rat. En outre, l'étude de Zeier *et al.* (1998)^(b) montre que la testostérone amplifie la croissance compensatoire de néphrons résiduels et une telle hypertrophie du néphron peut préparer le milieu pour la progression accélérée de la maladie rénale dans l'organisme exposé aux hormones sexuelles mâles.

Les androgènes semblent être nuisibles pour les glomérules et ils peuvent exercer leurs effets aux niveaux de la fonction et de la structure glomérulaires (Zeier *et al.* 1998^(a)). D'autre part, Cho *et al.* (2015) rapportent que les androgènes et leurs récepteurs sont des facteurs majeurs contribuant aux maladies associées aux hommes, suggérant qu'ils pourraient être impliqués dans le développement et la progression du carcinome rénal ; il a été découvert pour la première fois qu'une forte expression des récepteurs aux androgènes était corrélée à un mauvais pronostic chez les patients atteints d'un carcinome des cellules rénales, l'hormonothérapie a donc été évaluée dans le cadre d'essais cliniques sur des patients dans un premier temps.

4. Effets sur les testicules

Dans la présente étude, l'administration du nandrolone décanoate à des souris mâle a entraîné une réduction du poids des testicules et des dommages histologiques. La récupération n'est pas complète après six semaines d'arrêt du traitement.

Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par certaines recherches conduites sur le rat (Naraghi *et al.*, 2010 ; Hildebrandt *et al.*, 2014 ; Ahmed, 2015 ; Jannatifar *et al.*, 2015), en plus d'une diminution de la concentration de testostérone observée par Jannatifar *et*

al.(2015). Ainsi, en revenant à la littérature, Jannatifar *et al.* (2015) ont montré que la prise des SAA en surdose (Nandrolone Décanoate) provoque une apoptose progressive des cellules de la spermatogenèse chez le rat blanc; il en résulte une diminution des spermatogonies de types A et B, en nombre de spermatocytes primaires et de spermatides. Les études de Naraghi *et al.* (2010) vont dans le même sens.

L'étude de Mutalip *et al.* (2013) a observé les effets de la testostérone, de nandrolone et de stanozolol pendant le début de la puberté sur l'histologie testiculaire de rat. Il y avait une diminution du poids testiculaire dans tous les groupes expérimentaux, à l'exception du groupe traité par nandrolone à 2,5 mg / kg / semaine. L'histologie testiculaire de rats traités a montré de légers changements dans l'uniformité des arrangements des tubules séminifères.

Les chercheurs expliquent que l'effet délétère de nandrolone décanoate sur le testicule peut être attribué à la rétroaction négative exercée par les androgènes sur l'axe hypothalamo-hypophysaire et à leur effet suppressif local sur le testicule. En effet, les SAA étant dérivés de la testostérone, ils exercent des effets importants sur les hormones sexuelles et le système reproducteur. Ils peuvent supprimer l'activité de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique par rétroaction négative. Par conséquent, l'administration exogène de SAA perturbera la production endogène de la testostérone et des gonadotrophines hypophysaires : l'hormone lutéinisante (LH) et l'hormone stimulante folliculaire (FSH). Chez les mâles, la suppression de la production des gonadotrophines induit une atrophie testiculaire et une réduction de la production quantitative et qualitative du sperme (Naraghi *et al.*, 2010 ; Hildebrandt *et al.*, 2014 ; Ahmed, 2015 ; Jannatifar *et al.*, 2015 ; Christou *et al.*, 2017).

En effet, en raison de la diminution des taux de FSH, la croissance et le développement des cellules de Sertoli restent insuffisants. Sachant que la gamétogenèse dépend du support des cellules de Sertoli, lorsqu'elles sont inactives, la prolifération et la différenciation des cellules de la lignée gamétogène sont inhibées et ces cellules meurent par apoptose (Jannatifar *et al.*, 2015).

Il est bien démontré que l'administration de SAA entraîne une diminution de la testostérone endogène et que l'absence de testostérone provoque une perturbation de la spermatogenèse, des aneuploïdies et des modifications ultra-structurelles du spermatozoïde, de l'immaturité, de la nécrose et de l'apoptose (Hoffman *et al.*, 2009). Pendant ce temps, le risque d'infertilité est élevé.

Ainsi, les études rapportent que la majorité des utilisateurs de SAA manifestent un hypogonadisme associé à des taux de gonadotrophine et de testostérone toujours bas. Après l'arrêt des SAA, les taux sériques de gonadotrophines reviennent progressivement aux valeurs initiales en 13 à 24 semaines, alors que les taux sériques de testostérone restent inférieurs à ceux de la valeur initiale. Les taux sériques de testostérone restent très faibles 16 semaines après l'arrêt du traitement. En outre, l'abus de SAA entraîne des modifications structurelles et fonctionnelles du sperme (Christou *et al.*, 2017).

Selon El Osta1 *et al.* (2016), la quantité des spermatozoïdes a tendance à se normaliser spontanément dans les 4 à 12 mois suivant la fin de l'abus de stéroïdes anabolisants. Cependant, l'effet négatif sur la qualité du sperme peut persister pendant de longues périodes. Le simple fait de cesser d'utiliser les SAA peut entraîner la reprise de la fertilité chez une certaine proportion d'utilisateurs de sexe masculin.

Nos résultats démontrent une diminution de la taille des noyaux des cellules de Leydig, ceci peut être dû à la diminution des niveaux de LH qui entraîne une diminution de sa fonctionnalité et donc de sa taille. Ces modifications sont partiellement réversibles après l'arrêt du traitement. Les résultats de notre étude coïncident avec ceux rapportés par certains auteurs (Naraghi *et al.*, 2010 ; Jannatifar *et al.*, 2015). En effet, Jannatifar *et al.* (2015) mentionne une diminution significative de la taille et du nombre de cellules de Leydig chez les rats traités par les SAA. Des études montrent que le temps de récupération est très variable et influencé par l'agent anabolique, la dose, la durée de l'abus et l'âge au moment de l'utilisation (Hartgens et Kuiper, 2004; Kanayama *et al.*, 2010; El Osta *et al.*, 2016).

Par ailleurs, pour s'opposer au rétrocontrôle négatif exercé par les anabolisants androgéniques sur l'axe gonadotrope, les sportifs tentent d'éviter la détérioration de la spermatogenèse induite en combinant des doses de gonadotrophine chorionique humaine (hCG) et / ou d'anti-œstrogènes avec leur abus des SAA. Cependant, des études conduites sur les abuseurs rapportent que l'abus concomitant de l'hCG et de dose supraphysiologique des SAA entraînent une altération de la qualité du sperme bien que la spermatogenèse soit maintenue (Karila *et al.*, 2004).

En outre, l'expérimentation animale rapporte que, dans le testicule, le nandrolone décanoate induit des perturbations dans les activités des enzymes stéroïdogènes clés ; la 3 β -HSD et la 17 β -HSD, la toxicité testiculaire et les lésions de l'ADN en raison de ses effets sur les antioxydants, inflammatoires et apoptotiques (Ahmed, 2015).

5. Effets sur le foie

Dans la présente étude, les modifications structurelles du foie des animaux soumis régulièrement à des doses supraphysiologiques de SAA sont caractérisées par le développement d'une péliose avec un aspect inflammatoire au cours du deuxième et troisième mois de traitement.

Dans notre étude, ces modifications s'aggravent encore six semaines après l'arrêt du traitement par une stéatose microvésiculaire périportale bien distinguée et une perte de la structure du foie. Ainsi, nos résultats démontrent des dommages du foie induits par le décanoate de nandrolone, qui est un produit administré par voie parentérale et il est considéré comme moins toxique pour le foie que les anabolisants androgènes pris par la voie orale (Socas et al., 2005; El-Halwagy et al., 2016). Ces dommages ne sont pas réparables et expliquent les altérations hépatiques chez les sujets qui prennent les anabolisants androgéniques avec «Cycling» ; décrit dans certains rapports de cas (Socas et al., 2005).

L'administration chronique de fortes doses d'anabolisants (Methandienone : 18mg/kg/sem., 3 mois, voie orale) chez le rat albinos mâle adulte entraîne des lésions graves du tissu hépatique et des modifications remarquables des biomarqueurs hépatiques avec une augmentation d'ALAT, d'ASAT, des protéines totales et de l'albumine. L'arrêt de traitement pendant un mois n'a pas permis le rétablissement hépatique (El-Halwagy et al., 2016).

En outre, Socas et al. (2005) rapportent deux cas de culturistes masculins adultes ayant développé un adénome hépatocellulaire à la suite d'un abus en SAA. Le premier est un culturiste qui a pris des SAA à fortes doses au cours de 15 ans. Durant cette période, un nombre de SAA ont été auto-administrés par cycles de huit semaines avec une période d'interruption de deux semaines entre les cycles. Les SAA pris ont été administrés par la voie orale (stanozolol et oxymétholone) et parentérale (décanoate de nandrolone, énanthate de testostérone et énanthate de méthénolone). Le deuxième culturiste avait commencé le dopage par les SAA six mois avant l'apparition des symptômes. Les SAA ont également été administrés par les cycles de huit semaines, avec une période de pause de deux semaines entre les cycles. Chaque semaine, le culturiste auto-administre le SAA par les voies orale (stanozolol et oxymétholone) et parentérale (décanoate de nandrolone, phénylpropionate de testostérone et boldénone). Les doses et la fréquence d'auto-administration varient dans chaque cycle dans les deux cas.

Les auteurs rapportent que la toxicité et les altérations hépatiques sont induites par les SAA oraux et presque exclusivement par les anabolisants androgéniques alkyl-17 α (Socas et al., 2005; El-Halwagy et al., 2016). Mais il semble que les SAA pris oralement ne sont pas les seuls incriminés. Les SAA pris par la voie parentérale sont également impliqués dans ces modifications comme le cas de nandrolone décanoate (Vieira et al., 2008; Cristina et al., 2014; Gadallah et al., 2017; Mohammed et al., 2017), qui est le principal androgène administré à des fins de dopage (Cristina et al., 2014; Foletto et al., 2015; Mohammed et al., 2017; Shalaby et Bahey, 2018).

De façon similaire, Creagh et al., (1988) rapportent un cas de décès d'un culturiste par une hémorragie hépatique associée à une tumeur dans le même organe, l'hémorragie persistait malgré la chirurgie et la tumeur du foie est dûe au dopage par de fortes doses en anabolisants androgéniques pendant une période de trois ans. La tumeur et l'hémorragie hépatiques figurent parmi d'autres complications graves telles que l'hypertrophie du cœur avec l'épaississement net de la paroi du ventricule gauche, ainsi que l'atrophie testiculaire observée chez la même personne.

Nos résultats concernant les effets délétères de l'administration d'anabolisants androgènes sur la fonction et la structure du foie sont en accord avec ceux des autres études. Mohammed et al. (2017) ont signalé que les rats albinos mâles traités au nandrolone décanoate, à une dose de 7,93 mg / kg et de 11,9 mg / kg pendant huit semaines, présentent une augmentation du poids corporel, des poids hépatique et rénal, des enzymes hépatiques, de bilirubine, d'urée et de créatinine plasmatiques en fonction de la dose de traitement, ainsi que des modifications histopathologiques au niveau du foie et des reins. Chez les rats traités par la plus faible dose, les modifications histologiques au niveau du foie étaient une congestion de la veine centrale et des sinusoides hépatiques avec une cholangite accompagnée d'une apparition de nouveaux canalicules biliaires formées. La dose la plus élevée a induit l'épaississement de la capsule hépatique et la nécrose des hépatocytes sous-capsulaires, une cholangite, la congestion sévère de la veine centrale et des sinusoides hépatiques, une dégénérescence hydrique des hépatocytes et une fibrose hépatique périportale.

En outre, une autre étude rapporte que l'administration de nandrolone décanoate à trois doses différentes ; clinique, intermédiaire et supra-pharmacologique (0,7- 5,3 et 7,5 mg / kg de poids corporel, respectivement) pendant 5 semaines, provoque l'augmentation des taux sériques des enzymes hépatiques (ALAT, ASAT et ALP) et la diminution des protéines

totales, de la bilirubine, du cholestérol total et des triglycérides chez le rat adulte mâle. Le nombre de cellules de Kupffer a augmenté dans le parenchyme hépatique et le contenu en collagène a augmenté dans la paroi de la veine lobulaire centrale ainsi que dans le parenchyme hépatique et l'espace portal ce qui suggère que l'administration subchronique de nandrolone décanoate conduit à une fibrose hépatique (Vieira *et al.*, 2008).

L'effet inducteur des SAA sur le développement de la péliose hépatique rapporté par notre étude est retrouvé, dans d'autres travaux, chez l'homme (Biagher et Boyer, 1974 ; Hausmann *et al.*, 1998) et chez l'animal (El-Halwagy *et al.*, 2016).

Dans notre étude, des grains cytoplasmiques sont visibles dès le début de traitement et la stéatose hépatique est apparue chez les souris après l'arrêt de traitement. Cristina *et al.* (2014) ont signalé que les images cyto-histologiques du foie de rats adultes traités par le nandrolone décanoate (à 7,5 mg / kg de poids corporel, quotidiennement pendant 10 jours consécutifs) révélaient la dystrophie granulaire du foie; dystrophie hydroprotidique et stéatose caractérisées par l'entrée et le stockage de protéines sériques dans les mitochondries, provoquant un gonflement des mitochondries (méga-mitochondries). Les hépatocytes présentaient dans cette étude une hypertrophie avec un cytoplasme pâle en raison de la stéatose micro et macro-vésiculaire consécutive à l'activité de perturbateur endocrinien rapporté à la substance androgénique d'abus.

Dans notre étude, c'est l'arrêt du traitement qui a induit le développement d'une stéatose hépatique microvésiculaire chez la souris mâle adulte. En examinant la littérature, la stéatose hépatique est caractérisée par une accumulation massive de graisse dans le foie et est donc fortement liée à plusieurs caractéristiques du syndrome métabolique, notamment l'hyperlipidémie et la résistance à l'insuline. Elle est associée à un déséquilibre entre la production de glucose et le catabolisme, la formation et la dégradation des lipides, ainsi que la synthèse et la sécrétion de cholestérol (Shen et Shi, 2015).

Nikolaenko *al.* (2014) ont étudié les effets de la testostérone sur la pathogenèse de la stéatose hépatique chez des rats nourris avec un régime alimentaire riche en graisses. Ils rapportent que la testostérone peut jouer un rôle protecteur contre le développement de la stéatose hépatique. Certains auteurs ont montré que, chez les hommes, la testostérone agit via les récepteurs aux androgènes pour réduire l'absorption du glucose et la lipogenèse, augmenter l'expression des récepteurs de l'insuline et la synthèse du glycogène et favoriser le stockage du cholestérol dans le foie (Shen et Shi, 2015).

En relation, il est admis que l'administration de SAA à forte dose inhibe la fonction gonadique par le rétrocontrôle négatif exercé sur l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique par ces produits (Naraghi et *al.*, 2010; Ahmed, 2015; Jannatifar et *al.*, 2015): Cette fonction n'est pas rétablie immédiatement après l'arrêt du traitement (Karbaly-Doust et *al.*, 2007). Pendant ce temps, l'organisme se trouve en privation de la testostérone qui peut favoriser le développement d'une stéatose hépatique.

Il est important de noter que la stéatose hépatique figure parmi les facteurs de risque conduisant au développement du cancer du foie (Caldwell et *al.*, 2004; Chávez-Tapia et *al.*, 2009; Issa et Alkhouri, 2017).

D'autre part, il a été démontré que des doses supraphysiologiques de décanoate de nandrolone induisent des lésions génétiques dans plusieurs organes (Do Carmo et *al.*, 2012 ; Pozzi et *al.*, 2013), et sont capables de perturber l'équilibre redox des organes en menant à de nombreuses maladies liées au stress oxydatif (Cerretani et *al.*, 2013 ; Frankenfeld et *al.*, 2014; Salerno et *al.*, 2018). Ainsi, l'étude de Do Carmo et *al.* (2012) a montré une augmentation dose-dépendante de la fréquence des dommages de l'ADN de plusieurs organes avec trois doses uniques testées (1,0- 2,5 et 5,0 mg / kg de poids corporel) de décanoate de nandrolone chez des souris adultes albinos suisses mâles.

Frankenfeld et *al.* (2014) indiquent que le stress oxydatif est lié à la physiopathologie de la plupart de ces altérations, il est impliqué notamment dans la fibrose, la prolifération cellulaire et la tumorigenèse. Les mêmes auteurs ont démontré que le décanoate de nandrolone administré de façon chronique (10 mg / kg de poids corporel une fois par semaine pendant 8 semaines) est capable de perturber l'équilibre redox cellulaire en conduisant à un état de stress oxydatif chez les rats Wistar adultes mâles.

CONCLUSION

Dans la présente étude, des doses supraphysiologiques de SAA ont été utilisées à titre expérimental pour évaluer les différents changements histologiques du muscle cardiaque, des reins, des testicules et du foie, ainsi que leur réversibilité, chez les souris mâles adultes.

Nos résultats rapportent que la prise d'un seul anabolisant androgénique, le Deca-Durabolin qui est le premier anabolisant employé à des fins de dopage, par une simple dose 10 fois supra-médicale pendant une période de 3 mois est capable d'induire de nombreux effets délétères irréversibles sur les tissus cardiaque, rénal, gonadique et hépatique.

De plus, ces effets s'aggravent six semaines après l'arrêt du traitement pour le cœur, les reins et le foie, et se rétablissent de façon non complète pour les gonades. Par conséquent, la cessation périodique de l'abus par les anabolisants androgéniques, qui constitue un protocole de «Cycling» pour les sportifs toxicomanes et un moyen pour réparer les effets secondaires des SAA, ne suffit pas pour éviter les complications liées à la prise de ces médicaments en surdose et conduit à la détérioration histopathologique grave qui augmente la détresse de l'organisme.

Il convient de noter que les animaux se comportent très bien du début à la fin de l'expérience; aucun signe d'inconfort, plein d'énergie et de motivation avec une force remarquable malgré leur état pathologique.

En effet, dans la pratique courante, les dommages peuvent être plus graves car la dose utilisée dans notre expérimentation est la dose minimale utilisée pour le dopage. En outre, le nandrolone décanoate est administré seul pendant un cycle, alors que les toxicomanes prennent un mélange de produits anabolisants androgènes (et d'autres produits complémentaires) à des doses beaucoup plus élevées; modifiables au cours de cycles répétés,

D'après les résultats histopathologiques, l'abus en SAA peut entraîner des lésions histologiques des organes et des complications graves telles que la défaillance tardive et la mort.

Le contrôle officiel et médical ainsi que les restrictions de ces médicaments devraient être renforcés pour empêcher les abuseurs de s'en procurer. Ces résultats confirment l'importante activité délétère d'androgènes en tant que perturbateur endocrinien sur les tissus cibles lors de l'administration d'une dose excessive.

En perspectives, il est souhaitable de continuer nos travaux de recherche :

- En testant l'effet des doses plus élevées en anabolisants androgéniques, pris de façon mixte,
- En testant plusieurs cycles successifs,
- Analyser d'autres protocoles de dopage par les SAA (*Stacking, Piramiding, Plateauing, Tapering*),
- Il serait aussi utile d'examiner l'effet du dopage en androgènes chez la femme et l'adolescent.

REFERENCES

1. **Abd Alamir M., Ellenberg S. S., Swerdloff R. S., Wenger N. K., Mohler E. R., Lewis C. E., Barrett-Conner E., Nakanishi R., Darabian S., Alani A., Matsumoto S., Nezarat N., Snyder P. J., Budoff M. J., 2016.** The Cardiovascular Trial of the Testosterone Trials: rationale, design, and baseline data of a clinical trial using computed tomographic imaging to assess the progression of coronary atherosclerosis. *Coron Artery Dis.*, 27(2):95-103.
2. **Abrams D., 2001.** Use of androgens in patients who have HIV/AIDS: what we know about the effect of androgens on wasting and lipodystrophy. *AIDS Read.*, 11(3):149-156.
3. **Ahmed Bin Bisher A. S., 2009.** Histopathological Evidences of the Nephritic Pathological Alterations Induced by the Anabolic Androgenic Drug (Sustanon) in Male Guinea Pigs (*Cavia porcellus*). *Journal of Biological Sciences*, 9(6):514-523.
4. **Ahmed M. A. E., 2015.** Amelioration of nandrolone decanoate-induced testicular and sperm toxicity in rats by taurine: effects on steroidogenesis, redox and inflammatory cascades, and intrinsic apoptotic pathway. *Toxicol Appl Pharmacol*, 282(3):285-296.
5. **Akdis D., Saguner A. M., Shah K., Wei C., Medeiros-Domingo A., von Eckardstein A., Lüscher A. F., Brunckhorst C., Chen H. S. V., Duru F., 2017.** Sex hormones affect outcome in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia: from a stem cell derived cardiomyocyte-based model to clinical biomarkers of disease outcome. *Eur Heart J.*, 38(19):1498-1508.
6. **Al Bishi K. A., Afify A., 2017.** Prevalence and awareness of Anabolic Androgenic Steroids (AAS) among gymnasts in the western province of Riyadh, Saudi Arabia. *Electronic Physician*, 9(12) :6050-6057.
7. **Althobiti S. D., Alqurashi N. M., Alotaibi A. S., Alharthi T. F., Alswat K. A., 2018.** prevalence, Attitude, Knowledge, and Practice of Anabolic Androgenic Steroid (AAS) Use Among Gym Participants. *Mater Sociomed.*, 30(1): 49-52.
8. **Ambar G., Chiavegatto S., 2009.** Anabolic-androgenic steroid treatment induces behavioral disinhibition and downregulation of serotonin receptor messenger RNA in the prefrontal cortex and amygdale of male mice. *Genes Brain Behav* 8(2):161–173.
9. **Anawalt B. D., Amory J. K., 2001.** Male hormonal contraceptives. *Expert Opin Pharmacother.*, 2(9):1389-1398.
10. **Anawalt B. D., Amory J. K., Herbst K. L., Coviello A. D., Page S. T., Bremner W. J., Matsumoto A. M., 2005.** Intramuscular testosterone enanthate plus very low dosage oral levonorgestrel suppresses spermatogenesis without causing weight gain in normal young men: a randomized clinical trial. *J Androl.*, 26(3):405-413.
11. **Anderson S. J., Bolduc S. P., Coryllos E., Griesemer B., McLain L., Rowland T. W, Risser W. L., 1997.** Adolescents and anabolic steroids: a subject review. *Pediatrics*, 99:904-908.

12. **Andreato L. V., Esteves J. V. D. C., Almeida F. N., Ribeiro T. A. S., Barrena H. C., Peres S. B., de Moraes S. M. F., 2013.** Use of the anabolic steroid nandrolone decanoate associated to strength training in Wistar rats. *Maringá*, 35(2):283-291.
13. **Angoorani H., Halabchi F., 2015.** The Misuse of Anabolic-Androgenic Steroids among Iranian Recreational Male Body-Builders and Their Related Psycho-Socio-Demographic factors. *Iran J Public Health*, 44(12):1662-1669.
14. **Arevalo M. A., Azcoitia I., Garcia-Segura L. M., 2015.** The neuroprotective actions of oestradiol and oestrogen receptors. *Nat Rev Neurosci*, 16(1):17-29.
15. **Armeni E., Lambrinoudaki I., 2017.** Androgens and cardiovascular disease in women and men. *Maturitas*, 104:54-72.
16. **Audy M. H., Piché G., Aimé A., 2014.** Le phénomène du dopage sportif chez les athlètes adolescents : une synthèse des caractéristiques associées et des stratégies préventives. *Revue de psychoéducation*, 43(1) :101-119.
17. **Baggish A. L., Weiner R. B., Kanayama G., Hudson J. I., Lu M. T., Hoffmann U., Pope H. G., 2017.** Cardiovascular toxicity of illicit anabolic-androgenic steroid use. *Circulation*, 135:1991-2002
18. **Baggish A. L., Weiner R. B., Kanayama G., Hudson J. I., Picard M. H., Hutter A. M. Jr., Pope H. G. Jr., 2010.** Long-term anabolic-androgenic steroid use is associated with left ventricular dysfunction. *Circ Heart Fail*, 3(4):472-476.
19. **Balla C., Vitali F., Brieda A., Gualandi F., Ferlini A., Bertini M., Ferrari R., 2019.** Predictors of cardiac arrhythmic events in non coronary artery disease patients. *BMC Cardiovasc Disord.*, 19: 104.
20. **Barbosa Neto O., da Mota G. R., De Sordi C. C., Resende E. A. M. R., Resende L. A. P. R., Vieira da Silva M. A., Marocolo M., Côrtes R. S., de Oliveira L. F., Dias da Silva V. J., 2018.** Long-term anabolic steroids in male bodybuilders induce cardiovascular structural and autonomic abnormalities. *Clin Auton Res*, 28(2):231-244.
21. **Basaria S., Harman S. M., Travison T. G., Hodis H., Tsitouras P., Budoff M., Pencina K. M., Vita J., Dzekov C., Mazer N. A., Coviello A. D., Knapp P. E., Hally K., Pinjic E., Yan M., Storer T. W., Bhasin S., 2015.** Effects of Testosterone Administration for 3 Years on Subclinical Atherosclerosis Progression in Older Men With Low or Low-Normal Testosterone Levels: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*, 314(6):570-581.
22. **Basaria S., Wahlstrom J. T., Dobs A. S., 2001.** Anabolic-Androgenic Steroid Therapy in the Treatment of Chronic Diseases. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 86(11):5108-5117.
23. **Batterham M. J. et Garsia R., 2001.** Une comparaison de l'acétate de mégestrol, du décanoate de nandrolone et du conseil alimentaire pour la perte de poids associée au VIH. *Int J Androl.*, 24(4):232-240.

24. **Belelli D., Lambert J. J., 2005.** Neurosteroids: Endogenous regulators of the GABA (A) receptor. *Nat Rev Neurosci*, 6(7):565-575.
25. **Bertozi G., Sessa F., Albano G. D., Sani G., Maglietta F., Roshan M. H. K., LiVolti G., Bernardini R., Avola R., Pomara C., Salerno M., 2018.** The Role of Anabolic Androgenic Steroids in Disruption of the Physiological Function in Discrete Areas of the Central Nervous System. *Mol Neurobiol*, 55:5548-5556.
26. **Bhasin S., Taylor W. E., Singh R., Artaza J., Sinha-Hikim I., Jasuja R., Choi H., Gonzalez-Cadavid N. F., 2003.** The Mechanisms of Androgen Effects on Body Composition: Mesenchymal Pluripotent Cell as the Target of Androgen Action. *Journals of Gerontology: Medical Sciences*, 58A(12): 1103-1110.
27. **Biagher S. A., Boyer J. L., 1974.** Peliosis Hepatis Associated with Androgenic-Anabolic Steroid Therapy: A Severe Form of Hepatic Injury. *Ann Intern Med.*, 81(5):610-618.
28. **Bielecki B., Mattern C., Ghomari A. M., Javaid S., Smietanka K., Ghanem C. A., Mhaouty-Kodja S., Ghandour M. S., Baulieu E. E., Franklin R. J. M., Schumacher M., Traiffort E., 2016.** Unexpected central role of the androgen receptor in the spontaneous regeneration of myelin. *PNAS*, 113(51):14829-14834.
29. **Birgner C., Kindlundh-Hogberg A. M., Orelund L., Alsio J., Lindblom J., Schioth H. B., Bergstrom L., 2008.** Reduced activity of monoamine oxidase in the rat brain following repeated nandrolone decanoate administration. *Brain Res*, 1219:103-110.
30. **Bjornebekk A., Walhovd K. B., Jorstad M. L., Due-Tønnessen P., Hullstein I. R., Fjell A. M., 2017.** Imagerie cérébrale structurelle d'utilisateurs de stéroïdes anabolisants-androgènes et d'haltérophiles à long terme. *Biol Psychiatry.*, 82(4):294-302.
31. **Blanchard Y., Robaire B., 1997.** Le mode d'action des androgènes et la 5 α -réductase. *Médecine/sciences*, 13:467-73.
32. **Boon W. C., Chow J. D., Simpson E. R., 2010.** The multiple roles of estrogens and the enzyme aromatase. *Prog Brain Res*, 181:209-232.
33. **Brayton C, Danneman P, Suckow MA, 2001.** The Laboratory Mouse. *1st ed. Washington, DC: CRC Press, 168p.*
34. **Bresson M., Vincent V., Villain M., Kintz P., 2006.** Stéroïdes anabolisants : usage thérapeutique ou usage détourné ?. *Ann Toxicol Anal.* 2006; 18(1): 65-75.
35. **Budoff M. J., Ellenberg S. S., Lewis C. E., Mohler E. R., Wenger N. K., Bhasin S., Barrett-Connor E., Swerdloff R. S., Stephens-Shields A, Cauley J. A., 2017.** Testosterone Treatment and Coronary Artery Plaque Volume in Older Men With Low Testosterone. *JAMA*, 317(7):708-716.
36. **Büttner A. et Thieme D., 2010.** Effets secondaires des stéroïdes anabolisants androgènes: résultats pathologiques et relations structure-activité. *Handb Exp Pharmacol.*, 195: 459-484.

37. **Caldwell S. H., Crespo D. M., Kang H. S., Al-Osaimi A. M., 2004.** Obesity and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*, 127(5 Suppl 1):S97-103.
38. **Carrillo M., Ricci L. A., Melloni R. H., 2009.** Adolescent anabolic androgenic steroids reorganize the glutamatergic neural circuitry in the hypothalamus. *Brain Res*, 1249:118-127.
39. **Cerretani D., Neri M., Cantatore S., Ciallella C., Riezzo I., Turillazzi E., Fineschi V., 2013.** Looking for organ damages due to anabolic androgenic steroids (AAS): is oxidative stress the culprit?. *Mini-Reviews in Organic Chemistry*, 10(4):393-399.
40. **Chávez-Tapia N. C., Méndez-Sánchez N., Uribe M., 2009.** Role of nonalcoholic fatty liver disease in hepatocellular carcinoma. *Ann Hepatol.*, 8 Suppl 1:S34-39.
41. **Cho J., Izumi K., Huang C. K., 2015.** Androgen and androgen receptor in kidney cancer. *Nephrol Open J*, 1(2):e7-e8.
42. **Christin-Maitre S., Guérin J. F., Bouchard P., 1995.** La contraception masculine. *médecine/sciences*, 11:579-590.
43. **Christou M. A., Christou P. A., Markozannes G., Tsatsoulis A., Mastorakos G., Tigas S., 2017.** Effects of Anabolic Androgenic Steroids on the Reproductive System of Athletes and Recreational Users: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sports Medicine*, 47(9):1869-1883.
44. **Codella R., Glad B., Luzil L., La Torre A., 2019.** An Italian Campaign to Promote Anti-doping Culture in High-School Students. *Frontiers in Psychology*, 10:534.
45. **Colomb F., Laroche V., Laroche O., Benizri E. J., 2004.** Dopage aux androgènes dans le milieu sportif. Evaluation du risque médical. À propos du patient qui pratique le bodybuilding. *Andrologie*, 14(2):221-223.
46. **Corona G., Rastrelli G., Morelli A., Sarchielli E., Cipriani S., Vignozzi L., Maggi M., 2020.** Treatment of Functional Hypogonadism Besides Pharmacological Substitution. *World J Mens Health*, 38(3):256-270.
47. **Costine B. A., Oberlander J. G., Davis M. C., Penatti C. A., Porter D. M., Leaton R. N., Henderson L.P., 2010.** Chronic anabolic androgenic steroid exposure alters corticotropin releasing factor expression and anxiety like behaviors in the female mouse. *Psychoneuroendocrinology*, 35(10):1473-1485.
48. **Creagh T. M., Rubin A., Evans D. J., 1988.** Hepatic tumours induced by anabolic steroids in an athlete. *J Clin Pathol.*, 41(4):441-443.
49. **Creutzberg E. C., Wouters E. F., Mostert R., Weling-Scheepers C. A., Schols A. M., 2003.** Efficacy of nutritional supplementation therapy in depleted patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Nutrition*, 19(2):120-127.
50. **Cristina R. T., Hanganu F., Brezovan D., Dumitrescu E., Muselin F., Chiurciu V., Stancu A. C., Pentea M. C., Motoc A. G. M., 2014.** Cytoarchitecture of steroid dependent target

- tissues after testosterone administration compared to nandrolone decanoate in castrated rats in the aim of Hershberger bio test. *Rom J Morphol Embryol*, 55(3):1143-1148.
51. **D'Andrea A., Caso P., Salerno G., Scarafile R., De Corato G., Mita C., Di Salvo G., Severino S., Cuomo S., Liccardo B., Esposito N., Calabro R., 2007.** Left ventricular early myocardial dysfunction after chronic misuse of anabolic androgenic steroids: a Doppler myocardial and strain imaging analysis. *Br J Sports Med*, 41:149-155.
 52. **de Andrade Thais G., Arce V. K., Nunes B. B., Gouvêa C. A. C., Luciana A., Cathalá E. E. B., 2018.** Hepatotoxicity Associated with Nutritional Supplements Containing Anabolic Steroids. *Ann Clin Case Rep*, 3: 1495
 53. **De Leon K. R., Grimes J. M., Melloni R. H., 2002.** Repeated anabolic androgenic steroid treatment during adolescence increases vasopressin V(1A) receptor binding in Syrian hamsters: correlation with offensive aggression. *Horm Behav*, 42(2):182-191.
 54. **De Maria N., Manno M., Villa E., 2002.** Sex hormones and liver cancer. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 193:59-63.
 55. **De Piccoli B., Giada F., Benettin A., Sartori F., Piccolo E., 1991.** Anabolic steroid use in body builders: an echocardiographic study of left ventricle morphology and function. *Int J Sports Med.*, 12(4):408-412.
 56. **Di Paolo M., Agozzino M., Toni C., Luciani A. B., Molendini L., Scaglione M., Inzani F., Pasotti M., Buzzi F., Arbustini E., 2007.** Sudden anabolic steroid abuse-related death in athletes. *Int. J. Cardiol.*, 114(1):114-117.
 57. **Dib A., 1998-** Hormones sexuelles et troubles psychiques. *La Lettre du Gynécologue*, 234:20-26.
 58. **Dickerman R. D., McConathy W. J., Schaller F., Zachariah N. Y., 1996.** Cardiovascular complications and anabolic steroids. *Eur. Heart J.*, 17(12):1912.
 59. **Do Carmo C. A., Gonçalves Á. L., Salvadori D. M., Maistro E. L., 2012.** Nandrolone androgenic hormone presents genotoxic effects in different cells of mice. *J Appl Toxicol.*, 32(10):810-4.
 60. **Dobs A. S., 1998.** Androgen therapy in AIDS wasting. *Baillieres Clin Endocrinol Metab.*, 12(3):379-390.
 61. **Duclos M., 2007.** Usage et abus de stéroïdes anabolisants et de glucocorticoïdes dans le sport. *Annales d'Endocrinologie*, 68(4) :308-314.
 62. **Duclos M., 2011.** Dopage par les stéroïdes anabolisants. *Correspondances en Métabolismes Hormones Diabètes et Nutrition*, 15(9-10):331-334.
 63. **Duclos M., 2012.** Le dopage et ses conséquences en termes de santé individuelle et de santé publique. *Les Tribunes de la santé*, 2(35):57-65.
 64. **El Osta1 R., Almont T., Diligent C., Hubert N., Eschwège P., Hubert J., 2016.** Anabolic steroids abuse and male infertility. *Basic and Clinical Andrology*, 26(2):1-8.

65. **El-Halwagy M. E. A., Abd-Alrahman S. H., Mahmoud R. H., Khalifa F. K., Darwish N. S., Attia A. A., Mohamed A. S., 2016.** Impact of chronic androgenic steroid exposure on liver toxicity. *Int J Clin Exp Pathol*, 9(2):2652-2659.
66. **Elliott J., Kelly S. E., Millar A. C., Peterson J., Chen L., Johnston A., Kotb A., Skidmore B., Bai Z., Mamdani M., Wells G. A., 2017.** Testosterone therapy in hypogonadal men: a systematic review and network meta-analysis. *BMJ Open*, 7(11):e015284.
67. **Evans N. A., 2004.** Current concepts in anabolic-androgenic steroids. *Am J Sports Med.*, 32(2):534-542.
68. **Ferenchick G. S., 1991.** Anabolic/androgenic steroid abuse and thrombosis: is there a connection? *Med. Hypotheses*, 35(1):27-31.
69. **Filippi S., Vignozzi L., Morelli A., Chavalmane A. K., Sarchielli E., Fibbi B., Saad F., Sandner P., Ruggiano P., Vannelli G. B., Mannucci E., Maggi M., 2009.** Testosterone partially ameliorates metabolic profile and erectile responsiveness to PDE5 inhibitors in an animal model of male metabolic syndrome. *J Sex Med.*, 6(12):3274-3288.
70. **Fineschi V., Baroldi G., Monciotti F., Paglicci R. L., Turillazzi E., 2001.** Anabolic steroid abuse and cardiac sudden death: a pathologic study. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 125(2):253-255.
71. **Fineschi V., Riezzo I., Centini F., Silingardi E., Licata M., Beduschi G., Karch S. B., 2007.** Sudden cardiac death during anabolic steroid abuse: morphologic and toxicologic findings in two fatal cases of bodybuilders. *Int. J. Legal. Med.*, 121(1):48-53.
72. **Fischer S. G., Ricci L. A., Melloni R. H., 2007.** Repeated anabolic/ androgenic steroid exposure during adolescence alters phosphateactivated glutaminase and glutamate receptor 1 (GluR1) subunit immunoreactivity in Hamster brain: correlation with offensive aggression. *Behav Brain Res*, 180(1):77-85.
73. **Foletto M. P., Ferrari F., Peres S. B., Moraes S. M. F., Segatelli T. M., Costa C. E., 2015.** Effects of anabolic steroid treatment associated with physical training in adipose tissue of male Wistar rats. *Acta Scientiarum*, 37(1):19-24.
74. **Francomano D., Lenzi A., Aversa A., 2014.** Effects of Five-Year Treatment with Testosterone Undecanoate on Metabolic and Hormonal Parameters in Ageing Men with Metabolic Syndrome. *Int J Endocrinol.*, 2014:527470.
75. **Frankenfeld S. P., Oliveira L. P., Ortenzi V. H., Rego-Monteiro I. C. C., Chaves E. A., Ferreira A. C., Leitao A. C., Carvalho D. P., Fortunato R. S., 2014.** The Anabolic Androgenic Steroid Nandrolone Decanoate Disrupts Redox Homeostasis in Liver, Heart and Kidney of Male Wistar Rats. *PLOS ONE*, 9(9):e102699.
76. **Fрати P., Busardò F. P., Cipolloni L., De Dominicis E., Fineschi V., 2015.** Anabolic Androgenic Steroid (AAS) Related Deaths: Autoptic, Histopathological and Toxicological Findings. *Current Neuropharmacology*, 13:146-159.

77. **Gadallah A. A., El-Ghawet H. A., Sabry D. A., 2017.** Deca Durabolin (Nandrolone Decanoate) Impair Structure and Function of Liver, Prostate and Pituitary of Male Wistar Rats. *J Pharmacol Rep*, 2(3):137-142.
78. **Gava G. et Meriggiola M. C., 2019.** Update on male hormonal contraception. *Ther Adv Endocrinol Metab*, 10:1-9.
79. **Gold J., Batterham M. J., Rekers H., Harms M. K., Geurts T. B., Helmyr P. M., Silva de Mendonça J., Falleiros Carvalho L. H., Panos G., Pinchera A., Aiuti F., Lee C., Horban A., Gatell J., Phanuphak P., Prasithsirikul W., Gazzard B., Bloch M., Danner S. A., 2006.** Effects of nandrolone decanoate compared with placebo or testosterone on HIV-associated wasting. *HIV Med.*, 7(3):146-55.
80. **Gower D. B., Houghton E., Kicman A. T., 2008.** Anabolic steroids: metabolism, doping and detection in human and equestrian sports. In: *Makin H. L. J., Gower D. B.- Steroid Analysis. 2^{ème} Ed., Springer: Dordrecht*, 468p.
81. **Graham M. R., Davies B., Grace F. M., Kicman A., Baker J. S., 2008.** Anabolic steroid use: patterns of use and detection of doping. *Sports Med*, 38(6):505-525.
82. **Guezennec Ch. Y., 2001.** Le dopage : efficacité, conséquences, prévention. *Annal d'Endocrinologie*, 62(1):33-41.
83. **Ha E. T., Weinrauch M. L., Brensilver J., 2018.** Non-ischemic Cardiomyopathy Secondary to Left Ventricular Hypertrophy due to Long-term Anabolic-androgenic Steroid Use in a Former Olympic Athlete. *Cureus*, 10(9):e3313.
84. **Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O., Charlier C., Chapelle J.P., 2007.** Le stress oxydant. *Rev Med Liege*, 62 (10):628-638.
85. **Hall R. C. W., Hall R. C. W., 2005.** Abuse of Supraphysiologic Doses of Anabolic Steroids. *Southern Medical Journal*, 98(5):550-555.
86. **Halliday B. P., Gulati A., Ali A., Newsome S., Lota A., Tayal U., Vassiliou V. S., Arzanauskaite M., Izgi C., Krishnathasan K., Singhal A., Chiew K., Gregson J., Frenneaux M. P., Cook S. A., Pennell D. J., Collins P., Cleland J. G. F., Prasad S. K., 2018.** Sex- and age-based differences in the natural history and outcome of dilated cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail*, 20(10):1392-1400.
87. **Handelsman D. J., 1995.** Hormonal male contraception: progress and prospects for the 21st century. *Aust NZJ Med.*, 25 (6): 808-816.
88. **Handelsman D. J., Conway A. J., Howe C. J., Turner L., Mackey M. A., 1996.** Establishing the minimum effective dose and additive effects of depot progestin in suppression of human spermatogenesis by a testosterone depot. *J Clin Endocrinol Metab.*, 81(11):4113-4121.

89. **Harrison R. J., Connor D. F., Nowak C., Nash K., Melloni R. H., 2000.** Chronic anabolic-androgenic steroid treatment during adolescence increases anterior hypothalamic vasopressin and aggression in intact hamsters. *Psychoneuroendocrinology*, 25(4):317-338.
90. **Hartgens F., Kuipers H., 2004.** Effects of Androgenic-Anabolic Steroids in Athletes. *Sports Med*, 34(8):513-554.
91. **Hartung R., Gerth J., Fünfstück R., Gröne H. J., Stein G., 2001.** End-stage renal disease in a bodybuilder: a multifactorial process or simply doping?. *Nephrol Dial Transplant*, 16(1):163-165.
92. **Hassan N. A., Salem M. F., Sayed M. A. E. L., 2009.** Doping and effects of anabolic androgenic steroids on the heart: histological, ultrastructural, and echocardiographic assessment in strength athletes. *Human & Experimental Toxicology*, 28:273-283.
93. **Hasso R. A., 2009.** Histological toxic effect of Nandrolone Decanoate on the kidney of male rabbits. *MJBU*, 27(1):19-22.
94. **Hausmann R., Hammer S., Betz P., 1998.** Performance enhancing drugs (doping agents) and sudden death--a case report and review of the literature. *Int. J. Legal Med.*, 111(5):261-264.
95. **Heinlein C. A., Chang C., 2002.** Androgen receptor (AR) coregulators: an overview. *Endocrine Rev.*, 23(2):175-200.
96. **Henderson L. P., 2007.** Steroid modulation of GABA_A receptor mediated transmission in the hypothalamus: effects on reproductive function. *Neuropharmacology*, 52(7):1439-1453.
97. **Hildebrandt T., Shope S, Varangis E., Klein D., Pfaff D. W., Yehuda R., 2014.** Exercise reinforcement, stress, and β -endorphins: An initial examination of exercise in anabolic-androgenic steroid dependence. *Drug and Alcohol Dependence*, 139:86-92.
98. **Hoffman J. R., Kraemer W. J., Bhasin S., Storer T., Ratamess N. A., Haff G. G., Willoughby D. S., Rogol A. D., 2009.** Position stand on androgen and human growth hormone use. *J Strength Cond Res*, 23(5):S1-S59.
99. **Huo S., Scialli A. R., McGarvey S., Hill E., Tügertimur B., Hogenmiller A., Hirsch A. I., Fugh-Berman A., 2016.** Traitement des hommes pour «faible taux de testostérone». *PLoS One*, 11(9):e0162480.
100. **Huyghe E., Nohra J., Vezzosi D., Bennet A., Caron P., Mieuxset R., Bujan L., Plante P., 2007.** Contraceptions masculines non déférentielles : revue de la littérature. *Prog Urol*, 17 :156-164.
101. **Issa D., Alkhoury N., 2017.** Nonalcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma: new insights on presentation and natural history. *Hepatobiliary Surg Nutr.*, 6(6): 401-403.
102. **Jannatifar R., Shokri S., Farrokhi A., Nejatbakhsh R., 2015.** Effect of supraphysiological dose of Nandrolone Decanoate on the testis and testosterone concentration in mature and immature male rats: A time course study. *Int J Reprod BioMed*, 13(12):779-786.

- ^{103.} **Ji H., Menini S., Mok K., Zheng W., Pesce C., Kim J., Mulrone S., Sandberg K., 2005.** Gonadal steroid regulation of renal injury in renal wrap hypertension. *Am J Physiol Renal Physiol*, 288:513-520.
- ^{104.} **Johansson P., Hallberg M., Kindlundh A., Nyberg F., 2000.** The effect on opioid peptides in the rat brain, after chronic treatment with the anabolic androgenic steroid, nandrolone decanoate. *Brain Res Bull*, 15; 51(5):413-418.
- ^{105.} **Kanayama G., Hudson J. I., Pope H. G. Jr., 2010.** Illicit anabolic-androgenic steroid use. *Horm Behav.*, 58(1):111-121.
- ^{106.} **Kang H. Y., Tsai M. Y., Chang C., Huang K. E., 2003.** Mechanisms and clinical relevance of androgens and androgen receptor actions. *Chang Gung Med J.*, 26(6):388-402.
- ^{107.} **Karbalay-Doust S., Noorafshan A., Ardekani F. M., Mirkhani H., 2007.** The reversibility of sperm quality after discontinuing nandrolone decanoate in adult male rats. *Asian J Androl*, 9(2):235-239.
- ^{108.} **Karila T., Hovatta O., Seppälä T., 2004.** Concomitant abuse of anabolic androgenic steroids and human chorionic gonadotrophin impairs spermatogenesis in power athletes. *Int J Sports Med*, 25 (4): 257-263.
- ^{109.} **Karila T., Karjalainen J., Mäntysaari M., Viitasalo M., Seppälä T., 2003.** Anabolic androgenic steroids produce dose dependent increase in left ventricular mass in power athletes, and this effect is potentiated by concomitant use of growth hormone. *Int J Sports Med*, 24: 1-7.
- ^{110.} **Karila T., Laaksonen R., Jokelainen K., Himberg J. J., Seppälä T., 1996.** The effects of anabolic androgenic steroids on serum ubiquinone and dolichol levels among steroid abusers. *Metabolism*, 45: 844-847.
- ^{111.} **Kaufman M. J., Kanayama G., Hudson J. I., Pope H. G. Jr., 2019.** Supraphysiologic-dose anabolic-androgenic steroid use: A risk factor for dementia?. *Neurosci Biobehav Rev*, 100:180-207.
- ^{112.} **Kennedy M. C., Lawrence C., 1993.** Anabolic steroid abuse and cardiac death. *Med. J. Aust.*, 158(5):346-348.
- ^{113.} **Kenny A. M., Prestwood K. M., Gruman C. A., Fabregas G., Biskup B., Mansoor G., 2002.** Effects of transdermal testosterone on lipids and vascular reactivity in older men with low bioavailable testosterone levels. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.*, 57(7):M460-5.
- ^{114.} **Kessler E. L., Rivaud M. R., Vos M. A., van Veen T. A. B., 2019.** Sex-specific influence on cardiac structural remodeling and therapy in cardiovascular disease. *Biol Sex Differ*, 10: 7.
- ^{115.} **Khan K., Wani R. T., Rasool N., 2018.** Prevalence of ‘health supplement’ use and androgenic anabolic abuse among athletes in Jammu and Kashmir. *Int. J. Adv. Res.*, 6(11):70-74.

116. **Khourdaji I., Zillioux J., Eisenfrats K., Foley D., Smith R., 2018.** The future of male contraception: a fertile ground. *Transl Androl Urol*, 7(Suppl 2):S220-S235.
117. **Khullar N., Scull N. C., Deeny M., Hamdan E., 2016.** Prevalence and Predictors of Anabolic-Androgenic Steroid Use among Gym Users in Kuwait: A Preliminary Study. *International Journal of Men s Health*, 15(2):144-156.
118. **Kicman A. T., 2008.** Pharmacology of anabolic steroids. *British Journal of Pharmacology*, 154 :502-521.
119. **Kicman A. T., Gower D. B., 2003.** Anabolic steroids in sport : biochemical, clinical and analytical perspectives. *Ann Clin Biochem*, 40: 321-356
120. **Kindlundh A. M., Hagekull B., Isacson D. G., Nyberg F., 2001.** Adolescent use of anabolic androgenic steroids and relations to self-reports of social, personality and health aspects. *The European Journal of Public Health*, 11(3):322-328.
121. **Kindlundh A. M., Lindblom J., Bergstrom L., Nyberg F., 2003.** The anabolic-androgenic steroid nandrolone induces alterations in the density of serotonergic 5HT1B and 5HT2 receptors in the male rat brain. *Neuroscience*, 119(1):113-120.
122. **Labrie F., Belanger A., Dupont A., Pelletier G., Luuthe V., Simard J., Cusan L., Labrie C., Lachance Y., Poulin R., 1990.** Synthèse périphérique des androgènes chez l'homme. *médecine/sciences*, 6:261-267.
123. **Laure P., Binsinger C., 2007.** Doping prevalence among preadolescent athletes: a 4-year follow-up. *British journal of sports medicine*, 41(10):660-663.
124. **Le Bizec B., F. Bryand F., André F., 2001.** Hormones stéroïdes et dopage. *Act. Méd. Int.-Métabolismes - Hormones - Nutrition*, 2:53-60.
125. **Le Greves P., HuangW., Johansson P., Thornwall M., Zhou Q., Nyberg F., 1997.** Effects of an anabolic-androgenic steroid on the regulation of the NMDA receptor NR1, NR2A and NR2B subunit mRNAs in brain regions of the male rat. *Neurosci Lett*, 226(1):61-64.
126. **Liu P. Y., Death A. K., Handelsman D. J., 2003.** Androgens and cardiovascular disease. *Endocr Rev*, 24:313-340.
127. **Lonergan P. E., Tindall D. J., 2011.** Androgen receptor signaling in prostate cancer development and progression. *J Carcinog.*, 10(1):20-32.
128. **Luke J. L., Farb, A., Virmani R., Sample R. H., 1990.** Sudden cardiac death during exercise in a weight lifter using anabolic androgenic steroids: pathological and toxicological findings. *J. Forensic Sci.*, 35(6):1441-1447.
129. **Lund T. D., Hinds L. R., Handa R. J., 2006.** The androgen 5alpha-dihydrotestosterone and its metabolite 5alpha-androstan-3beta, 17beta-diol inhibit the hypothalamo-pituitary-adrenal response to stress by acting through estrogen receptor beta-expressing neurons in the hypothalamus. *J Neurosci*, 26(5):1448-1456.

- ¹³⁰. **Maravelias C., Dona A., Stefanidou M., Spiliopoulou C., 2005.** Adverse effects of anabolic steroids in athletes: a constant threat. *Toxicology letters*, 158(3):167-175.
- ¹³¹. **Marocolo M., Silva-Neto J. A., Barbosa Neto O., 2018.** Acute interruption of treatment with nandrolone decanoate is not sufficient to reverse cardiac autonomic dysfunction and ventricular repolarization disturbances in rats. *Steroids*, 132:12-17.
- ¹³². **Marsh J. D., Lehmann M. H., Ritchie R. H., Gwathmey J. K., Green G. E., Schiebinger R. J., 1998.** Androgen Receptors Mediate Hypertrophy in Cardiac Myocytes. *American Heart Association*, 98:256-261.
- ¹³³. **Masonis A. E., McCarthy M. P., 1995.** Direct effects of the anabolic/ androgenic steroids, stanozolol and 17 alpha-methyltestosterone, on benzodiazepine binding to the gamma-aminobutyric acid(a) receptor. *Neurosci Lett*, 189(1):35-38.
- ¹³⁴. **Mathur A., Malkin C., Saeed B., Muthusamy R., Jones T. H., Channer K., 2009.** Long-term benefits of testosterone replacement therapy on angina threshold and atheroma in men. *European Journal of Endocrinology*, 161:443-449.
- ¹³⁵. **Matrisciano F., Modafferi A. M., Togna G. I., Barone Y., Pinna G., Nicoletti F., Scaccianoce S., 2010.** Repeated anabolic androgenic steroid treatment causes antidepressant-reversible alterations of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, BDNF levels and behavior. *Neuropharmacology*, 58(7):1078-1084.
- ¹³⁶. **McGrath K-CY, McRobb L. S., Heather A. K., 2008.** Androgen therapy and atherosclerotic cardiovascular disease. *Vasc Health Risk Manag.*, 4 (1):11-21.
- ¹³⁷. **McNamara D. M., Starling R. C., Cooper L. T., Boehmer J. P., Mather P. J., Janosko K. M., Gorcsan J., Kip K. E., Dec G. W., 2011.** Clinical and demographic predictors of outcomes in recent onset dilated cardiomyopathy: results of the IMAC (Intervention in Myocarditis and Acute Cardiomyopathy)- 2 study. *J Am Coll Cardiol*, 58:1112-1118.
- ¹³⁸. **Melloni R. H., Ricci L. A., 2010.** Adolescent exposure to anabolic/ androgenic steroids and the neurobiology of offensive aggression: a hypothalamic neural model based on findings in pubertal Syrian hamsters. *Horm Behav*, 58(1):177-191.
- ¹³⁹. **Meriggiola M. C., Marcovina S., Paulsen C. A., Bremner W. J., 1995.** Testosterone enanthate at a dose of 200 mg/week decreases HDL-cholesterol levels in healthy men. *Int J Androl.*, 18(5):237-242.
- ¹⁴⁰. **Mhaouty-Kodja S., Raskin K., 2010.** Androgènes et comportements sociaux : de la gonade au cerveau. *Correspondances en Métabolismes Hormones Diabète et Nutrition*, 14(4):108-113.
- ¹⁴¹. **Mohammed A. R., Al-Galad G. M., Abd-Elgayd A. A., Mwaheb M. A., Elhanbuli H. M., 2017.** Effect of Nandrolone Decanoate (Anabolic Steroid) on the Liver and Kidney of Male Albino Rats and the Role of Antioxidant (Antox-Silymarin) as Adjuvant Therapy. *J Drug Metab Toxicol*, 8(1):224.

- ¹⁴² **Monroe A. K., Dobs A. S., 2013.** The effect of androgens on lipids. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.*, 20(2):132-139.
- ¹⁴³ **Montisci M., El Mazloum R., Cecchetto G., Terranova C., Ferrara S. D., Thiene G., Basso C., 2012.** Anabolic androgenic steroids abuse and cardiac death in athletes: morphological and toxicological findings in four fatal cases. *Forensic Sci. Int.*, 217(1-3):e13-8.
- ¹⁴⁴ **Mowszowicz I., 1995.** Effets secondaires des androgènes. *Andrologie*, 5(3):340-346.
- ¹⁴⁵ **Mudrak J., Slepicka1 P., Slepickova I., 2018.** Sport motivation and doping in adolescent athletes. *PLoS one*, 13(10):e0205222.
- ¹⁴⁶ **Mulligan K., Zackin R., Clark R. A., Alston-Smith B., Liu T., Sattler F. R., Delters T. B., Currier J. S., 2005.** Effect of nandrolone decanoate therapy on weight and lean body mass in HIV-infected women with weight loss: a randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial. *Arch Intern Med.*, 165(5):578-85.
- ¹⁴⁷ **Mutalip S. S. M., Singh G. K. S., Shah A. M., Mohamad M., Mani V., Hussin S. N., 2013.** Histological changes in testes of rats treated with testosterone, nandrolone, and stanozolol. *Iran J Reprod Med*, 11(8):653-658.
- ¹⁴⁸ **Naraghi M. A., Abolhasani F., Kashani I., Anarkooli I. J., Hemadi M., Azami A., Barbarestani M., Aitken A., Shokri S., 2010.** The effects of swimming exercise and supraphysiological doses of nandrolone decanoate on the testis in adult male rats: a transmission electron microscope study. *Folia Morphol.*, 69(3):138-146.
- ¹⁴⁹ **Nicholls A. R., Cope E., Bailey R., Koenen K., Dumon D., Theodorou N. C., Chanal B., Laurent D. S., Müller D., Andrés M. P., Kristensen A. H., Thompson M. A., Baumann W., Laurent J.-F., 2017.** Children's First Experience of Taking Anabolic-Androgenic Steroids can Occur before Their 10th Birthday: A Systematic Review Identifying 9 Factors That Predicted Doping among Young People. *Front Psychol*, 8: 1015.
- ¹⁵⁰ **Nieschlag E. et Vorona E., 2015.** Doping with anabolic androgenic steroids (AAS): Adverse effects on non-reproductive organs and functions. *Rev Endocr Metab Disord.*, 16(3):199-211.
- ¹⁵¹ **Nikolaenko L., Jia Y., Wang C., Diaz-Arjonilla M., Yee J. K., French S. W., Liu P. Y., Laurel S., Chong C., Lee K., Lue Y., Lee W. N. P., Swerdloff R. S., 2014.** Testosterone Replacement Ameliorates Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Castrated Male Rats. *Endocrinology*, 155:417-428.
- ¹⁵² **Nogueira F. R. S., Brito A. F., Oliveira C. V. C., Vieira T. I., Gouveia R. L. B., 2014.** Anabolic-Androgenic Steroid Use Among Brazilian Bodybuilders. *Subst Use Misuse*, 49(9):1138-1145.

- ^{153.} **Nyberg F., Hallberg M., 2012.** Interactions between opioids and anabolic androgenic steroids: implications for the development of addictive behaviour. *Int Rev Neurobiol.*, 102:189-206.
- ^{154.} **Oberlander J. G., Porter D. M., Penatti C. A., Henderson L. P., 2012.** Anabolic androgenic steroid abuse: multiple mechanisms of regulation of GABAergic synapses in neuroendocrine control regions of the rodent forebrain. *J Neuroendocrinol*, 24(1):202-214.
- ^{155.} **Palmié N., Peyrière H., Eiden C., Condemine-Piron C., 2013.** Misuse of Anabolic Products in Sport: a Retrospective Study of Phone Calls at the *Écoute Dopage* Anti-doping Hot-line. *Thérapie*, 68(1):27-29.
- ^{156.} **Pärssinen M., Karila T., Kovanen V., Seppälä T., 2000.** The effect of supraphysiological doses of anabolic androgenic steroids on collagen metabolism. *Int J Sport Med*, 21: 406-411.
- ^{157.} **Pärssinen M., Kujala U., Vartiainen E., Sarna S., Seppälä T., 2000.** Increased Premature Mortality of Competitive Powerlifters Suspected to Have Used Anabolic Agents. *Int J Sports Med*, 21:225-227.
- ^{158.} **Patanè F. G., Liberto A., Maglitto A. N. M., Malandrino P., Esposito M., Amico F., Cocimano G., Rosi G. L., Condorelli D., Nunno N. D., Montana A., 2020.** Nandrolone Decanoate: Use, Abuse and Side Effects. *Medicina*, 56,606.
- ^{159.} **Payne J. R., Kotwinski P. J., Montgomery H. E., 2004.** Cardiac effects of anabolic steroids. *Heart*, 90(5):473-475.
- ^{160.} **Pesola M. K., 1988.** Reversibility of the haemodynamic effects of anabolic steroids in rats. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, 58(1-2):125-131.
- ^{161.} **Pivonello R., Menafrà D., Riccio E., Garifalos F., Mazzella M., de Angelis C., Colao A., 2019.** Metabolic Disorders and Male Hypogonadotropic Hypogonadism. *Front Endocrinol*, 10:345.
- ^{162.} **Pomara C., Neri M., Bello S., Fiore C., Riezzo I., Turillazzi E., 2015.** Neurotoxicity by Synthetic Androgen Steroids: Oxidative Stress, Apoptosis, and Neuropathology: A Review. *Current Neuropharmacology*, 13:132-145.
- ^{163.} **Ponce O. J. Spencer-Bonilla G., Alvarez-Villalobos N., Serrano V., Singh-Ospina N., Rodriguez-Gutierrez R., Salcido-Montenegro A., Benkhadra R., Prokop L. J., Bhasin S., Brito J. P., 2018.** The efficacy and adverse events of testosterone replacement therapy in hypogonadal men: A systematic review and meta-analysis of randomized, placebo-controlled trials. *J Clin Endocrinol Metab.*, 103(5):1745-1754.
- ^{164.} **Poujol N., Sultan C., 2000.** Action moléculaire des androgènes et relation structure-fonction du récepteur des androgènes. *médecine/sciences*, 16:793-802.

165. **Pozzi R., Fernandes K. R., de Moura C. F., Ferrari R. A., Fernandes K. P., Renno A. C., Ribeiro D. A., 2013.** Nandrolone decanoate induces genetic damage in multiple organs of rats. *Arch Environ Contam Toxicol.*, 64(3):514-518.
166. **Prouteau S., 2008.** Abus de stéroides anabolisants androgéniques et physiopathologie. *Annales Médico-Psychologiques*, 166 :838–842.
167. **Quinkler M., Bujalska I. J., Kaur K., Onyimba C. U., Buhner S., Allolio B., Hughes S. V., Hewison M., Stewart P. M., 2005.** Androgen receptor-mediated regulation of the alpha-subunit of the epithelial sodium channel in human kidney. *Hypertension*, 46(4):787-798.
168. **Rosano G. M., Leonardo F., Pagnotta P., Pelliccia F., Panina G., Cerquetani E., della Monica P. L., Bonfigli B., Volpe M., Chierchia S. L., 1999.** Acute anti-ischemic effect of testosterone in men with coronary artery disease. *Circulation*, 99(13):1666-1670.
169. **Rosca A. E., Stoian I., Badiu C., Gaman L., Popescu B. O., Iosif L., Mirica R., Tivig I. C., Stancu C. S., Căruntu C., Voiculescu S. E., Zăgrean L., 2016.** Impact of chronic administration of anabolic androgenic steroids and taurine on blood pressure in rats. *Braz J Med Biol Res*, 49(6):e5116.
170. **Rosbach U. L., Steensland P., Nyberg F., Le Greves P., 2007.** Nandrolone-induced hippocampal phosphorylation of NMDA receptor subunits and ERKs. *Biochem Biophys Res Commun*, 357(4):1028-1033.
171. **Rossi D. et Tostain J., 2004.** Déficit androgénique lié à l'âge : synthèse diagnostique. *Prog Urol*, 14:809-830.
172. **Roth M. Y. et Amory J. K., 2016.** Beyond the Condom: Frontiers in Male Contraception. *Semin Reprod Med.*, 34(3):183-190.
173. **Saddick S. Y., 2018.** The impact of nandrolone decanoate administration on ovarian and uterine tissues in rat: Luteinizing hormone profile, histopathological and morphometric assessment. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25:507-512.
174. **Sagoe D., Andreassen C. S., Pallesen S., 2014.** The aetiology and trajectory of anabolic androgenic steroid use initiation: a systematic review and synthesis of qualitative research. *Substance Abuse Treatment, Prevention, and Policy*, 9:27
175. **Saha B., Rajadhyaksha G. C., Ray S. K., 2009.** Beneficial effects of nandrolone decanoate in wasting associated with HIV. *J Indian Med Assoc.*, 107(5):295-299.
176. **Salerno M., Cascio O., Bertozzi G., Sessa F., Messina A., Monda V., Cipolloni L., Biondi A., Daniele A., Pomara C., 2018.** Anabolic androgenic steroids and carcinogenicity focusing on Leydig cell: a literature review. *Oncotarget*, 9(27):19415-19426.
177. **Salke R. C., Rowland T. W., Burke E. J., 1985.** Left ventricular size and function in body builders using anabolic steroids. *Med Sci Sports Exerc.*, 17(6):701-704.

178. **Sanchez-Osorio M., Duarte-Rojo A., Martinez-Benitez B., Torre A., Uribe M., 2008.** Anabolic androgenic steroids and liver injury. *Liver Int.*, 28(2):278-82.
179. **Sardar P., Jha A., Roy D., Majumdar U., Guha P., Roy S., Banerjee R., Banerjee A. K., Bandyopadhyay D., 2010.** Effets thérapeutiques de la nandrolone et de la testostérone chez des patients adultes atteints du VIH et atteints du syndrome de dépérissement du sida (AWS): essai randomisé, à double insu et contrôlé par placebo. *HIV Clinical Trials*, 11(4):220-229.
180. **Sas-Nowosielski K., 2006.** The abuse of anabolic-androgenic steroids by Polish school-aged adolescents. *Biology of Sport*, 23(3):225-235.
181. **Schwartz J. J., Melloni R. H., 2010.** Dopamine activity in the lateral anterior hypothalamus modulates AAS-induced aggression through D2 but not D5 receptors. *Behav Neurosci*, 124(5):645-655.
182. **Schwartz J. J., Ricci L. A., Melloni R. H., 2009.** Adolescent anabolic-androgenic steroid exposure alters lateral anterior hypothalamic serotonin-2A receptors in aggressive male hamsters. *Behav Brain Res*, 199(2):257-262.
183. **Shalaby A. M., Bahey N. G., 2018.** Reversal of the hepatic damage induced by the supraphysiological dose of nandrolone decanoate after its withdrawal in the adult male rat. *Tissue Cell.*, 53:44-52.
184. **Sharma S., Arneja A., McLean L., Duerksen D., Leslie W., Sciberras D., Lertzman M., 2008.** Anabolic steroids in COPD: a review and preliminary results of a randomized trial. *Chron Respir Dis.*, 5(3):169-176.
185. **Shen M., Shi H., 2015.** Sex Hormones and Their Receptors Regulate Liver Energy Homeostasis. *International Journal of Endocrinology*, ID 294278, 12 pages.
186. **Shores M. M., 2018.** Testosterone treatment and cardiovascular events in prescription database studies. *Asian J Androl.*, 20(2):138-144.
187. **Smeets L., Legros J.-J., 2004.** Cœur et androgènes. *Ann. Endocrinol.*, 65(2):163-170.
188. **Socas L., Zumbado M., Pérez-Luzardo O., Ramos A., Pérez C., Hernández J. R., Boada L. D., 2005.** 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*, 39:e27.
189. **Solimini R., Rotolo M. C., Mastrobattista L., Mortali C., Minutillo A., Pichini S., Pacifici R., Palmi I., 2017.** Hepatotoxicity associated with illicit use of anabolic androgenic steroids in doping. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.*, 21(1) :7-16.
190. **Soufir J. C., 2012.** Contraception hormonale masculine par les androgènes seuls. Acquis et perspectives. *Andrologie*, 22:131-135.
191. **Soufir J. C., 2017.** Hormonal, chemical and thermal inhibition of spermatogenesis: contribution of French teams to international data with the aim of developing male contraception in France. *Basic Clin Androl.*, 27(3): 16p.

- ^{192.} **Souza L. D., da Cruz L. A., Cerqueira E. M., Meireles J., 2017.** Micronucleus as biomarkers of cancer risk in anabolic androgenic steroids users. *Hum Exp Toxicol.*, 36:302-310.
- ^{193.} **Stolt A., Karila T., Viitasalo M., Mäntysaari M., Kujala U., Karjalainen J., 1999.** QT interval and QT dispersion in endurance athletes and in power athletes using large doses of anabolic steroids. *Am J Cardiol*, 84: 364-366.
- ^{194.} **Strahm E., Rane A., Ekström L., 2014.** PDE7B is involved in nandrolone decanoate hydrolysis in liver cytosol and its transcription is up-regulated by androgens in HepG2. *Front Pharmacol.*, 5, Article 132.
- ^{195.} **Strawford A., Barbieri T., Neese R., Van Loan M., Christiansen M., Hoh R., Sathyan G., Skowronski R., King J., Hellerstein M., 1999.** Effects of nandrolone decanoate therapy in borderline hypogonadal men with HIV-associated weight loss. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol.*, 20(2):137-146.
- ^{196.} **Sukcharoen N., Aribarg A., Kriangsinyos R., Chanprasit Y., Ngeamvijawat J., 1996.** Contraceptive efficacy and adverse effects of testosterone enanthate in Thai men. *J Med Assoc Thai.*, 79(12):767-773.
- ^{197.} **Svartberg J., 2010.** Androgens and chronic obstructive pulmonary disease. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.*, 17(3):257-261.
- ^{198.} **Tahtamouni L. H., Mustafa N. H., Alfaouri A. A., Hassan I. M., Abdalla M. Y., Yasin S. R., 2008.** Prevalence and risk factors for anabolic-androgenic steroid abuse among Jordanian collegiate students and athletes. *European Journal of Public Health*, 18(6):661-665.
- ^{199.} **Thiblin I., Mobini-Far H., Frisk M., 2009.** Sudden unexpected death in a female fitness athlete, with a possible connection to the use of anabolic androgenic steroids (AAS) and ephedrine. *Forensic Sci. Int.*, 184(1-3):e7-11.
- ^{200.} **Thompson P. D., Ahlberg A. W., Moyna N. M., Duncan B., Ferraro-Borgida M., White C. M., McGill C. C., Heller G. V., 2002.** Effect of intravenous testosterone on myocardial ischemia in men with coronary artery disease. *Am Heart J.*, 143(2):249-256.
- ^{201.} **Torres-Bugarín O., Covarrubias-Bugarín R., Zamora-Perez A. L., Torres-Mendoza B. M. G., García-Ulloa M., Martínez-Sandoval F. G., 2007.** Anabolic androgenic steroids induce micronuclei in buccal mucosa cells of bodybuilders. *British Journal of Sports Medicine*, 41:592-596.
- ^{202.} **Tostain J. et Rossi D., 2004.** Les traitements androgènes dans le déficit androgéniques lié à l'âge. *Prog Urol*, 14:831-850.
- ^{203.} **Tostain J., Rossi D., Martin P.M., 2004.** Physiologie des androgènes chez l'homme adulte. *Progrès en Urologie*, 14:639-660.
- ^{204.} **Toth M., 2009.** Myoanabolic steroids and selective androgen receptor modulators: mechanism of action and perspectives. *Orv Hetil.*, 150(45):2051-2059.

205. **Toth M., Zakar T., 1982 (a).** Different binding of testosterone, 19-nortestosterone and their 5 alpha-reduced derivatives to the androgen receptor of the rat seminal vesicle: a step toward the understanding of the anabolic action of nortestosterone. *Endokrinologie*, 80(2):163-172.
206. **Toth M., Zakar T., 1982 (b).** Relative binding affinities of testosterone, 19-nortestosterone and their 5-alpha-reduced derivatives to the androgen receptor and to other androgen-binding proteins: a suggested role of 5- alpha-reductive steroid-metabolism in the dissociation of myotropic and androgenic activities of 19- nortestosterone. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 17(6):653-660.
207. **Toth M., Zakar T., 1986.** Classification of anabolic steroids using the method of competitive metabolism. *Exp Clin Endocrinol.*, 87(2):125-132.
208. **Tyagi A., Rajalakshmi M., Jeyaraj D. A., Sharma R. S., Bajaj J. S., 1999.** Effects of long-term use of testosterone enanthate. II. Effects on lipids, high and low density lipoprotein cholesterol and liver function parameters. *Int J Androl.*, 22(6):347-355.
209. **Urhausen A., Albers T., Kindermann W., 2004.** Are the cardiac effects of anabolic steroid abuse in strength athletes reversible?. *Heart*, 90:496-501.
210. **Uyanik B. S., Ari Z., Gümüs B., Yiğitoğlu M. R., Arslan T., 1997.** Beneficial effects of testosterone undecanoate on the lipoprotein profiles in healthy elderly men. A placebo controlled study. *Jpn Heart J.*, 38(1):73-82.
211. **van de Wijngaart D. J., Dubbink H. J., van Royen M. E., Trapman J., Jenster G., 2012.** Androgen receptor coregulators: Recruitment via the coactivator binding groove. *Mol Cell Endocrinol*, 352(1-2):57-69.
212. **Vargas K. E. A., Guaraná T. A., Biccás B. N., Agolia L. V., Carvalho A. C. G., Gismondi R., Esberard E. B. C., 2018.** Hepatotoxicity Associated with Methylstenbolone and Stanozolol Abuse. *Med J Clin Trials Case Stud*, 2(9):000176.
213. **Velema M. S., Kwa B. H., de Ronde W., 2012.** Should androgenic anabolic steroids be considered in the treatment regime of selected chronic obstructive pulmonary disease patients?. *Curr Opin Pulm Med.*, 18(2):118-124.
214. **Véron G., 2002.** Organisation et classification du monde animal. *3eme édition de Dunod, France, 145p.*
215. **Vieira R. P., França R. F., Damaceno-Rodrigues N. R., Dolhnikoff M., Caldini E. G., Carvalho C. R. F., Ribeiro W., 2008.** Dose-Dependent Hepatic Response to Subchronic Administration of Nandrolone Decanoate. *Med Sci Sports Exerc*, 40 (5):842-847.
216. **Wang W., James C. A., Calkins H., 2019.** Diagnostic and therapeutic strategies for arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy patient. *Europace*, 21(1): 9–21.
217. **Wanjek B., Rosendahl J., Strauss B., Gabriel H. H., 2007.** Doping, drugs and drug abuse among adolescents in the State of Thuringia (Germany): prevalence, knowledge and attitudes. *Int J Sports Med*, 28(4):346-353.

218. **Webb C. M., Elkington A. G., Kraidly M. M., Keenan N., Pennell D. J., Collins P., 2008.** Effects of Oral Testosterone Treatment on Myocardial Perfusion and Vascular Function in Men With Low Plasma Testosterone and Coronary Heart Disease. *Am J Cardiol.*, 101(5): 618-624.
219. **Webb C. M., Adamson D. L., de Zeigler D., Collins P., 1999.** Effect of acute testosterone on myocardial ischemia in men with coronary artery disease. *Am J Cardiol.*, 83(3):437-439, A9.
220. **Woerdeman J. et de Ronde W., 2011.** Therapeutic effects of anabolic androgenic steroids on chronic diseases associated with muscle wasting. *Expert Opin Investig Drugs.*, 20(1):87-97.
221. **Wood R. I., 2008.** Anabolic-androgenic steroid dependence? Insights from animals and humans. *Front Neuroendocrinol.*, 29(4):490-506.
222. **Woodiwiss A. J. Trifunovic B. Philippides M. Norton G. R., 2000.** Effects of an androgenic steroid on exercise- induced cardiac remodeling in rats. *Journal of Applied Physiology*, 88(2):409-415.
223. **Wyns C., 2004.** La contraception masculine. *Andrologie*, 14(3):275-290.
224. **Yeap B. B., 2010.** Androgens and cardiovascular disease. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.*, 17(3):269-276.
225. **Yeap B. B., Dwivedi G., Chih H. J., Reid C., 2019.** Androgens and Cardiovascular Disease in Men. *Endotext-2000*.
226. **Yesalis C. E., Bahrke M. S., 2000.** Doping among adolescent athletes. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 14(1):25-35.
227. **Zeier M., Gafter U., Ritz E., 1998 (a).** Renal function and renal disease in males or females- vive la petite difference. *Nephrol Dial Transplant*, 13: 2195-2198.
228. **Zeier M., Schönherr R., Amann K., Ritz E., 1998 (b).** Effects of testosterone on glomerular growth after uninephrectomy. *Nephrol Dial Transplant*, 13(9):2234-2240.
229. **Zitzmann M., 2018-** Would male hormonal contraceptives affect cardiovascular risk?. *Asian Journal of Andrology*, 20:1-4.

PUBLICATIONS



Reversible effects of anabolic steroid abuse on cyto-architectures of the heart, kidneys and testis in adult male mice

Aida Kahal*, Rachida Allem

Laboratory of Natural Bioresources, Faculty of Science, Department of Biology, University of Hassiba Ben Bouali, BP 151, 02000, Chlef, Algeria



ARTICLE INFO

Keywords:

Anabolic drugs
Doping
Heart
Kidney
Testis
Cyto-architecture

ABSTRACT

The importance of the present study comes from the lack of sufficient information about the reversibility of the histopathological alterations which may result from anabolic androgenic drugs abuse after some times of stop treatment, as it is one of the prior studies which explored the negative effects of Deca-Durabolin abuse in particular on the hearts, kidneys and testis structures. For this aim, study was performed on 40 male adult mice. Animals were divided into five groups of 8 animals each as follows: treated by Deca-Durabolin (nandrolone decanoate) at 30 g/kg of BW, weekly during one month (GI); two months (GII); three months (GIII); three months followed by six weeks of treatment discontinuation (GIV) and Control (C). Cytohistological exam was performed to determine histopathological damage in heart, kidney and testis tissues. Results showed that the treated animals supported very well the administrated substance. The increase in muscle strength and the absence of aggression were the most noticeable traits in longer-term treated groups. In addition, the gains in body and heart weights increase with duration of treatment and even more after stopping treatment. Our study showed important degenerative changes and disorganization of the histological structure of heart, kidney and testis in the animals of GIII. These damages worsen again 6 weeks after stopping treatment in heart and kidney, and repairs incompletely in the testis. In conclusion, these results confirmed that the use of AAS is associated with a lot of deleterious effects on the cardiac, nephritic and gonadic tissues which cannot be reversible.

1. Introduction

Anabolic androgenic steroids (AASs) represent a group of synthetic derivatives of testosterone created to maximize anabolic effects and minimize the androgenic ones [1]. The therapeutic use of AAS is limited. The most important indications are endocrine dysfunction of the gonadotropic axis and of the testis, disturbances of muscular development, osteoporosis, and several forms of anaemia, breast carcinoma and hereditary angioneurotic oedema [2].

These drugs such as Deca-Durabolin were revealed by athletes and youths for their muscle building and performance enhancing special effects. Their usage has greatly increased and individuals frequently take doses between 10 and 100 fold higher than the therapeutic dose [3,4]. This abuse can cause various adverse effects related to dose, frequency and patterns of use that include cardiovascular disorders, sudden cardiac death, acute hepatitis and jaundice, hypertension, and high increase in the aggressiveness [5]. These drugs can lead to reproductive dysfunction, male infertility and behavioural disorders in

the form of sexual over-stimulation [5,6]. It is important to mention that abusing anabolic androgenic drugs is a dangerous fact as according to previous clinical studies and cases reports [1,7–10]. Some factors are responsible for the continuation of this risky phenomenon that included the idea that the adverse effects of these drugs are reversible; furthermore, it can be medically treated after the sport competitions. In fact, this belief is absolutely not correct. Number of previous studies proved that this abuse can cause in frequent cases irreversible serious adverse effects such as the cardiac disorders [11–13] and sperm quality deterioration [14].

By reviewing the literature, it was noticed that the cardiovascular, renal, hepatic and gonadic histological damages induced by abusing SAA have been well studied and documented by some authors [3,5,6,15–19]. While in contrary, no studies are available about the reversibility of the histopathological alterations induced by abusing these drugs.

Therefore, the importance of the present study comes from the lack of sufficient information about the reversibility of the histopathological

Abbreviation: AAS, anabolic androgenic steroid

* Corresponding author at: Department of Biology, Faculty of Nature and Life Sciences, Hassiba Benbouali University of Chlef, Mohamed Sella City, Jdiouia, 48360 Relizan, Algeria.

E-mail address: a.kahal@univ-chlef.dz (A. Kahal).

<https://doi.org/10.1016/j.bioph.2018.07.038>

Received 3 June 2018; Received in revised form 7 July 2018; Accepted 7 July 2018

0753-3322/ © 2018 Published by Elsevier Masson SAS.

alterations which may result from anabolic androgenic drugs abuse after some times of stop treatment, as it is one of the prior studies which explored the negative effects of Deca-Durabolin abuse in particular on the hearts, kidneys and testis structures. The aim of the current study on male adult mice were to investigate the potential cardiac, nephritic and gonadic histopathological damages induced by repeated administration of one doses of Deca-Durabolin (30 g/kg of BW, weekly) for a treatment period of three months and to investigate the reversibility of adverse effects after 6 weeks of stop treatment.

2. Materials and methods

2.1. Lab animals

Study was performed on 40 male adult mice (*Mus musculus*) reported from the Institute Pasteur of Alger, Algeria. Animals have two months at the beginning of the experiment with body weight between 25 and 40 g, they were divided into five groups as follows: treated by nandrolone decanoate during one month (GI); during two months (GII); during three months (GIII); during three months followed by six weeks of treatment discontinuation (GIV) and Control (C). Prior the study, the animals were acclimatized for fifteen days, being maintained in standard cages at controlled temperature and humidity. For this purpose, animals were housed in groups of four mice in polyethylene cages with 430 × 270 × 150 mm (L × w × h) dimensions, as bedding wood shaving being used. The environmental temperature was maintained at 20 ± 20 C and relative humidity of 25 ± 10%. Non-sterile granules diet and water were offered ad libitum.

2.2. Androgens administration

The commercial 19-nortestosterone ester used in experiment was nandrolone decanoate (Deca-Durabolin), purchased from Organon pharmaceutical company (N.V. Organon, Kloosterstraat 6, Oss – Pays-Bas). Androgen doses administration begun at the mice’s age of two months. The animals were injected weekly at 30 mg per 1 kg of animal body weight following the administration protocol presented in Table 1.

2.3. Organs and tissue collecting

In seven days after the last administration, animals were weighed then sacrificed by decapitation. After ampling and fresh wet target organ weight registration the histological sections were accomplished.

2.4. Cytohistological exam

For cytohistological investigations, the heart, kidney and testis were fixed in formaldehyde 4%, after which they were washed, dehydrated and included in paraffin. Paraffin blocks containing tissue fragments were sectioned on microtome, resulting in 5-µm thick sections, after which they were mounted on glass slides. Sections were stained using

Table 1

Protocol of androgen administration in mice.

Group	Subjects No.	Administered substance	Dose	Time/administration way
GI	8	Deca-Durabolin (Organon pharmaceutical company, Kloosterstraat 6, Oss – Pays-Bas)	30 mg/kg body weight	Weekly, for 4 weeks/i.m.
GII	8	Deca-Durabolin (Organon pharmaceutical company, Kloosterstraat 6, Oss – Pays-Bas)	30 mg/kg body weight	Weekly, for 8 weeks/i.m.
GIII	8	Deca-Durabolin (Organon pharmaceutical company, Kloosterstraat 6, Oss – Pays-Bas)	30 mg/kg body weight	Weekly, for 12 weeks/i.m.
GIV	8	Deca-Durabolin (Organon pharmaceutical company, Kloosterstraat 6, Oss – Pays-Bas)	30 mg/kg body weight	Weekly, for 12 weeks/i.m. followed by 6 weeks of treatment discontinuation
C	8	Without treatment	–	–

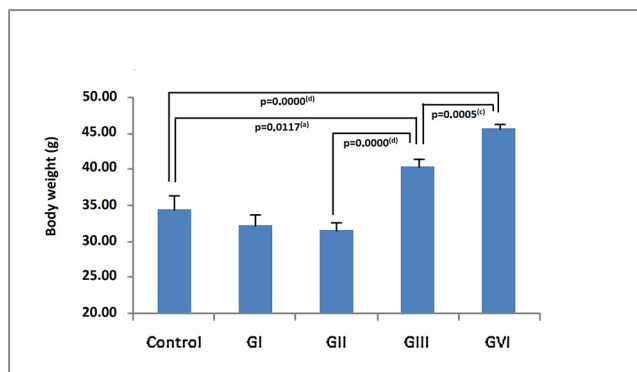


Fig. 1. Body weight of mice from experimental and control group (g). (a), the difference is significant; (b), very significant; (c), highly significant; (c), very highly significant.

the Hematoxylin–Eosin (HE) method. Microscopy was performed to determine and monitor histopathological damage in heart, kidney and testis tissues.

3. Results

3.1. Clinical observations

The treated animals supported very well the administrated substance. The increase in muscle strength and the absence of aggression were the most noticeable traits in longer-term treated groups. The appetite and normal behaviour was present in all situations and weight gain was ascertained treated groups. In Fig. 1 is presented the weight evolution in the studied groups before and after each administration.

3.2. Cytohistological observations

The main changes following administration of nortestosterone decanoate, in different durations, observed in male mice are represented in Figs. 2–6. Important histological changes identified by us were present in heart (Fig. 3), kidney (Fig. 4), and testis (Fig. 6) from C, GIII and GIV groups, accompanied by the modification on heart and gonadic weight in all groups of animals as presented in Figs. 2 and 5, respectively.

In Fig. 3 are presented the modifications for heart muscle (H&E stain, × 100 and × 400) that we have ascertained only in the case of control group, GIII and GIV. In control group, longitudinally and transversal cut fibers of mice’s septum and left ventricular wall specimens stained with H&E stain were found to be formed of the cardiac myofibers with its branched pattern; the nuclei of the cardiac myocytes contained acidophilic sarcoplasm with large nuclei oval. In GIII group, massive dilacerations and ruptures of muscular fibers, due to nandrolone decanoate activity, were found in heart muscle samples, which were more accentuated in the GIV and can impair the organ’s function.

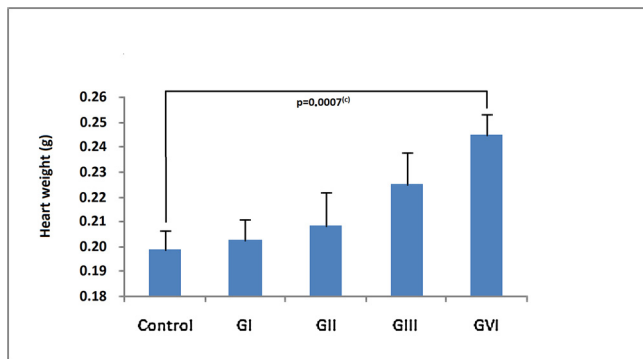


Fig. 2. Heart weight of mice from experimental and control groups (g). (a), the difference is significant; (b), very significant; (c), highly significant; (c), very highly significant.

Similarly, there are muscular fibers rarefactions and vascular congestions in GIII and GIV groups.

In Fig. 4 are presented some modifications for kidney (H&E stain, and $\times 400$) that we have ascertained only in the case of GIII and GIV groups. In control group, we notice the normal shape of the nephritic glomerulus inside the urinary space, the regular shape of the proximal convoluted tubules and distal convoluted tubules, there is no presence of any abnormal alterations. Three months after intramuscular injection of androgen, we observed glomerular atrophy and fragmentation, tubular walls rupture, vacuolar degeneration of the lining epithelium of the proximal convoluted tubules and blood hemorrhage between the tubules, basal lamina thickening in distal convoluted tubules and tubes with only the basal lamina, a lot of hyaline cylinders, some areas of necrosis, Eosinophilic cell's cytoplasm which sign of chronicity and vascular congestion were found in kidney samples of GIII. In the end of six weeks after intramuscular injection stop of androgen, we found more histopathological alterations and loss of structure in kidney

samples of GIV, glomerular rarefaction with heterogeneous forms, more glomerular atrophy, more tubular walls rupture, vacuolar degeneration of the lining epithelium of the proximal convoluted tubules and blood hemorrhage, large areas of necrosis and many voluminous hyaline cylinders.

In the Fig. 5 we noted a very highly significant reduction of testicular weight since 3 months of androgen administration, after stopping treatment the gonadic weight increases but remains very significantly lower compared to the control group.

Testicular sections of nandrolone decanoate-treated mice of GIII and GVI groups, which are represented by photomicrographs in Fig. 6, showed important degenerative changes and disorganization of the histological structure of seminiferous tubules; necrosis, vascular congestion, pyknotic nuclei of necrotized spermatogonial cells, clotted dead spermatids, and reduction in the diameter of seminiferous tubules light. An improvement in the structural state of the seminiferous tubes is noted 6 weeks after stopping the androgen treatment, but recovery is not complete.

All these findings are confirming the important deleterious activity as endocrine disruptor on the target tissues for androgen of nandrolone decanoate (nortestosterone). The important changes in histo-architecture of these target organs that we have ascertained, only with a 10-fold supra-medical dose of the treatment and even after discontinuation of administration, are followed with certainty by functionality impairment due to this more powerful and newer testosterone ester.

4. Discussion

In the current study, supraphysiological doses of AAS were experimentally used to evaluate different histological changes in the cardiac muscle, kidney and testis of adult male mice. So, the possible structural changes in these organs of animals that regularly use supraphysiological doses of AAS are assessed. In our study, these changes persist in all organs and worsen again in heart and kidney after stopping treatment.

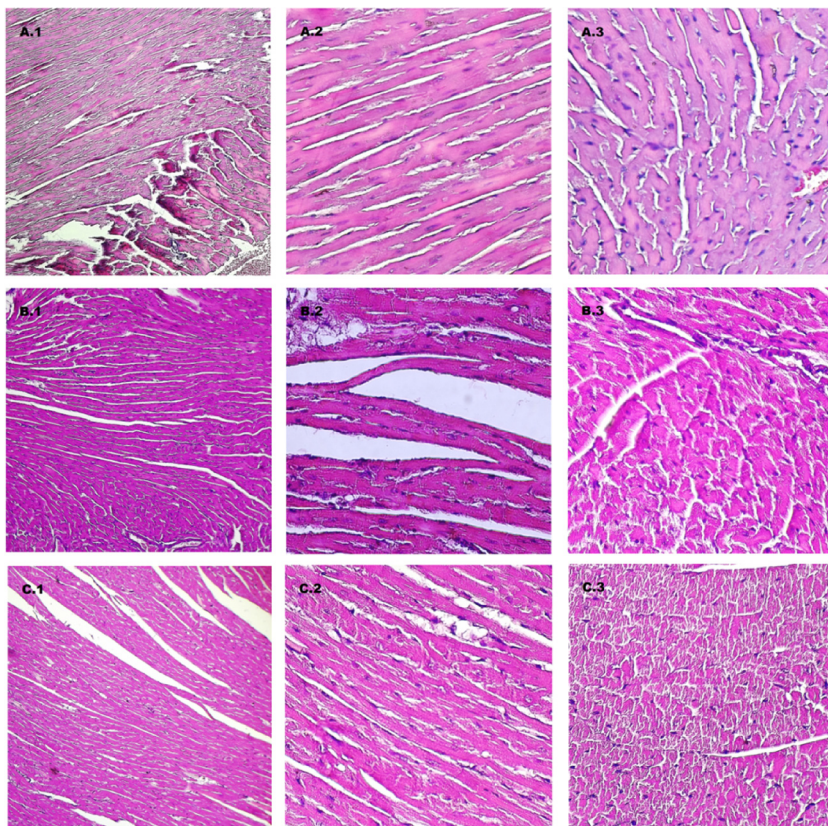


Fig. 3. Heart muscle histological sections in male mice from C, GIII and GVI groups (H&E stain, $\times 100$ and $\times 400$). (A) A photomicrograph of a longitudinal section of fibers in the septum (A.1, 100; A.2, $\times 400$) and transversal section in the left ventricular wall (A.3, $\times 400$) of a control adult mice cardiac muscle showing the normal pattern of myofibers being formed of branched cardiac muscle fibers with large, oval and centrally located nuclei. (B) A photomicrograph of a longitudinal (B.1, $\times 100$; B.2, $\times 400$) and transversal (B.3, $\times 400$) sections of fibers in the left ventricular wall of the adult mice cardiac muscle 3 months after intramuscular injection of androgen showing elongated fibers with destructions of the sarcolemmal membrane with dilacerations and ruptures of muscular fibers. (C) A photomicrograph of a longitudinal section of fibers in the septum (C.1, $\times 100$; C.2, $\times 400$) and transversal section in the left ventricular wall (B3, $\times 400$) of the adult mice cardiac muscle 6 weeks after intramuscular injection stop of androgen showing more elongated fibers with more destructions of the sarcolemmal membrane and massive dilacerations and ruptures of muscular fibers.

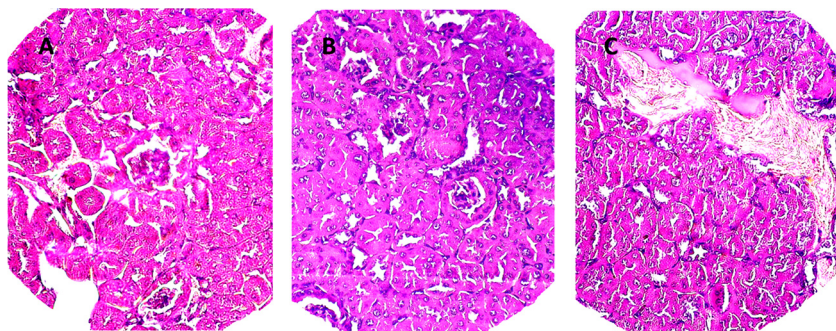


Fig. 4. Kidney histological sections in male mice from GIII and GVI groups (H&E stain, ×400). A photomicrograph of a longitudinal section of kidney in GIII group 3 months after intramuscular injection of androgen showing glomerular atrophy and deformation, rupture of the bowman's capsule, tubular walls rupture, vacuolar degeneration of the lining epithelium of the proximal convoluted tubules and blood hemorrhage between the tubules (A) (H&E stains ; ×400). A photomicrograph of a longitudinal section of kidney in GVI group 6 weeks after intramuscular injection stop of androgen showing more histopathological alterations, more glomerular atrophy, deformation and rupture, and many large areas of necrosis in the center of cortical parenchyma (B), more tubular walls rupture and vacuolar degeneration of the lining epithelium of the proximal convoluted tubules and many voluminous hyaline cylinders with an irregular countours (C) (H&E stains ; ×400).

lium of the proximal convoluted tubules and many voluminous hyaline cylinders with an irregular countours (C) (H&E stains ; ×400).

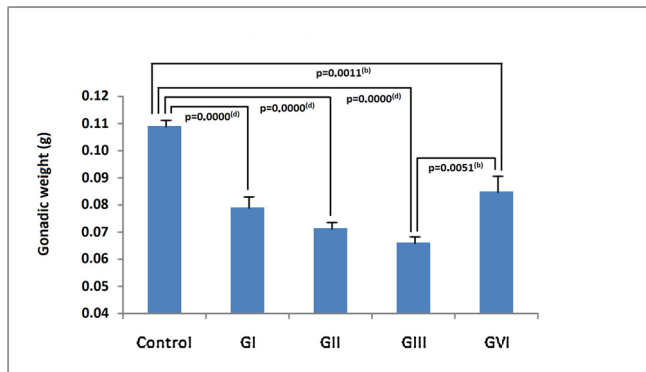


Fig. 5. Gonadic weight of mice from experimental and control groups (g). (a), the difference is significant; (b), very significant; (c), highly significant; (c), very highly significant.

Additionally, the results of this study showed not aggressive behaviour in rats following AAS administration. However, study of Hassan NA et al. [3] in rats and that of Hildebrandt T et al. [20] in human showed aggressive behaviour following AAS administration suggesting that AAS might have some effects on central nervous system, which could induce abnormal behaviour. Our study showed increase gains in body and heart weights with duration of treatment and even more after stopping treatment. Experimental data obtained from animals correlate well with data from human subjects. In athletes using illicit anabolic androgenic steroids, skeletal muscle hypertrophy and pathological cardiac hypertrophy have been reported [7,21]. An increase in body weight may also be ascribed to the reposition of fluids and sodium in the body [6].

This study showed elongation, severe dilacerations and ruptures of the cardiac muscle fibers with obvious vascular congestion witch persist after stopping treatment. It is likely that this could be the cause of some heart diseases in AAS users. This result coincides with that showed by Hassan NA et al. who stated that AAS sustanon in male albinos rats

(with intramuscular injection of 10 mg/kg once a week for 8 weeks) induced severe ischemic degeneration of the cardiac muscle fibers and obvious inflammatory infiltrations [3]. Moreover, the haemodynamic effects of 6 weeks nandrolone decanoate treatment (total dose of 30 mg/kg) and their reversibility were studied in male rats by Pesola MK, he notice a reduction of the pumping efficiency of the heart six weeks after the cessation of treatment [11]. Our results may also explain the non-immediate recovery of the normality of autonomic cardiac physiology after it is altered by a long-term treatment with decarabolin (interrupted treatment during 6 weeks after intramuscular injection of 10 mg/kg once a week for 8 weeks) in rats [12]. In Human, Urhausen A et al. noted that several years after discontinuation of anabolic steroid abuse, strength athletes still demonstrated a slight concentric left ventricular hypertrophy [13]. In the other hand, D'Andrea A et al. noted that several years after chronic misuse of AAS, users show a subclinical impairment of both systolic and diastolic myocardial function associated with dosage and duration of AAS use [9].

The pathophysiology of adverse cardiovascular effects of AAS use can be attributed to the fact that androgen receptors are present in cardiomyocytes for both sexes from multiple species in a context that permits androgens to modulate the heart phenotype and produce hypertrophy [21].

Although, the adverse effects of anabolic androgenic drugs abuse on the kidneys are insufficient. In addition, no study is done on their reversibility. The present results provided strong evidence about the potential nephritic damages which can be induced by anabolic steroids abuse, these abnormal histological changes appeared in the form of deformation and atrophy of glomeruli, vacuolation of epithelial lining renal tubules, tubular walls rupture, blood hemorrhage and congestion of renal blood vessel; these damages persist and worsen again after stopping treatment. Overall, comparing to the previous studies which were performed on some anabolic androgenic drugs, it seem that our results support the previous studies of Ahmed Bin Bisher AS [5] which was ported on guinea pig treated with 30 mg/kg dose for 6 weeks, and Hasso RA [16] ported on male rabbits received 6 mg/kg BW weekly for

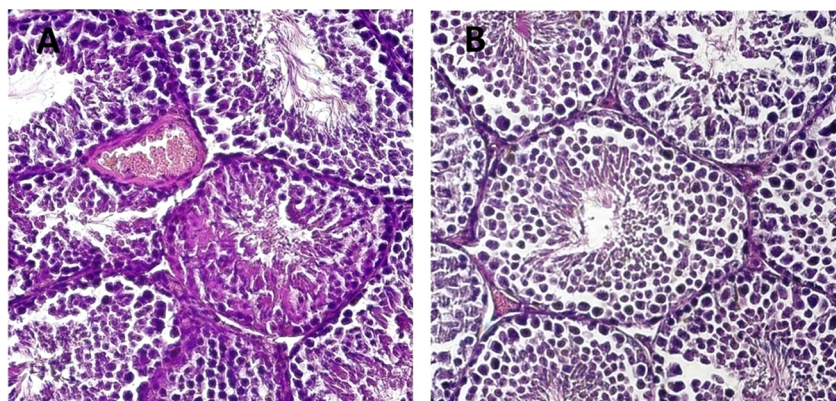


Fig. 6. Gonadic histological sections in male mice from GIII and GVI groups (H&E stain, ×400). A photomicrograph of a transversal section of testis in GIII group 3 months after intramuscular injection of androgen showing vascular congestion, pyknotic nuclei of necrotized spermatogonial cells, clotted dead spermatids, and reduction in the diameter of seminiferous tubules light (A). The same phenomena are observed in the GVI group but in a much lesser degree (B).

2 months duration. Furthermore, the present results seem to match with those of Mohammed AR et al. that marked histological changes of kidneys in the male albino rats resulted from the treatment with nandrolone decanoate at two doses of 7,93 mg/kg BW and 11,9 mg/kg BW per week for 8 weeks [19].

Therefore, it can be concluded from these grave observed damages that abusing high doses of the anabolic androgenic drug for long periods by athletes can cause wide destruction of renal tissue and may lead to produce severe renal disorders such as renal failure in tardy stages. So, the current histopathological findings support the observations of Hartung R et al. study which documented severe nephritic alterations in bodybuilder who abused high doses of AAS, renal biopsy in this study revealed nephrosclerosis with pronounced lesions [7].

The mechanism of action is unfortunately still unknown. Androgens are known to play an important role in renal tubular epithelial cell growth, hypertrophy, and erythropoietin production, and may be important determinants of sex-specific differences in blood pressure, that can be mediated by renal androgen receptors [22]. Moreover, higher blood pressure reported in male rats can be explained by androgen modulation of the rennin-angiotensin system [23,24]. The study of Ji H et al. show that presence of androgens contribute to progressive renal disease induced by renal wrap hypertension in rats [25]. In addition, the study of Zeier M et al. documents that testosterone amplifies the compensatory growth of residual nephrons and such nephron hypertrophy may set the stage for accelerated progression of renal disease in the organism exposed to male sexual hormones [26]. Several risk factors for the development of glomerulosclerosis were investigated in rat models, androgens appear to be deleterious to progressive glomerular injury, and they may exert their effects both on the levels of glomerular function and structure [23]. In the other hand, Cho J et al. reports that androgen and androgen receptor are major factors contributing to malegender-associated-diseases suggesting that they might be involved in renal cell carcinoma development and progression. It was first disclosed that high androgen receptor expression is correlated with poor prognosis for renal cell carcinoma patients; so, hormonal therapy had been evaluated in clinical trials for patients in early decades [27].

In the present study, administration of nandrolone decanoate to mice induced testicular weight reduction and histological damage. Recovery is not complete after 6 weeks of stopping the androgen treatment. Our results on the effect of androgen treatment are parallels to those ported by some research conducted on rats [6,18,20,28], in addition to a decrease of testosterone concentration noted by Jannatifar et al. [6]. They explain that the deleterious effect of nandrolone decanoate on testis may be attributed to the negative feedback exerted by androgens on the hypothalamic–pituitary axis and their local suppressive effect on the testis.

Generally, it's demonstrated that suprphysiological doses of nandrolone decanoate induces genetic damage in multiple organs [29,30], and are able to disrupt redox balance in organs that can lead to many diseases linked to oxidative stress [4,31]. In testis, nandrolone decanoate induced perturbations in activities of the key steroidogenic enzymes; 3 β -HSD, and 17 β -HSD, testicular toxicity and DNA damage by virtue of its antioxidant, inflammatory and apoptotic effects [18].

5. Conclusion

Our results confirmed that the use of AAS for a period of 3 months by only a 10 times supra-medical dose is associated with a lot of deleterious effects on the cardiac, renal and gonadic tissues in male which cannot be reversible. Moreover, these effects worsen again 6 weeks after stopping treatment. It can be concluded from the present histopathological results that abusing AAS for long periods by athletes can induce serious histological damages in organs which may lead to severe complications such as failure in late stages. So, physicians should take these damages in mind seriously as a predictable and potential complication in heart, kidney and testis resulting from abusing these drugs.

At the same time, the official and medical control and restrictions on these drugs should be increased to prevent the abusers from obtaining these drugs. All these findings are confirming the important deleterious activity as endocrine disruptor on the target tissues for over dose of androgens administration.

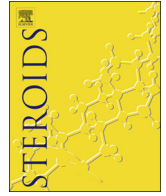
Acknowledgment

This paper is supported by the local natural bio-resources laboratory, Faculty of Nature and Life Sciences, Hassiba Benbouali University of Chlef.

References

- [1] P. Frati, F.P. Busardò, L. Cipolloni, E. De Dominicis, V. Fineschi, Anabolic androgenic steroid (AAS) related deaths: autptic, histopathological and toxicological findings, *Curr. Neuropharmacol.* 13 (2015) 146–159.
- [2] F. Hartgens, H. Kuipers, Effects of androgenic-anabolic steroids in athletes, *Sports Med.* 34 (8) (2004) 513–554.
- [3] N.A. Hassan, M.F. Salem, Mael Sayed, Doping and effects of anabolic androgenic steroids on the heart: histological, ultrastructural, and echocardiographic assessment in strength athletes, *Hum. Exp. Toxicol.* 28 (2009) 273–283.
- [4] S.P. Frankenfeld, L.P. Oliveira, V.H. Ortenzi, I.C.C. Rego-Monteiro, E.A. Chaves, A.C. Ferreira, A.C. Leitao, D.P. Carvalho, R.S. Fortunato, The anabolic androgenic steroid nandrolone decanoate disrupts redox homeostasis in liver, heart and kidney of male wistar rats, *PLoS One* 9 (9) (2014) e102699.
- [5] A.S. Ahmed Bin Bisher, Histopathological evidences of the nephritic pathological alterations induced by the anabolic androgenic drug (Sustanon) in male Guinea pigs (*Cavia porcellus*), *J. Biol. Sci.* 9 (6) (2009) 514–523.
- [6] R. Jannatifar, S. Shokri, A. Farrokhi, R. Nejatbakhsh, Effect of suprphysiological dose of Nandrolone Decanoate on the testis and testosterone concentration in mature and immature male rats: a time course study, *Int. J. Reprod. Biomed.* 13 (12) (2015) 779–786.
- [7] R. Hartung, J. Gerth, R. Fünfstück, H.J. Gröne, G. Stein, End-stage renal disease in a bodybuilder: a multifactorial process or simply doping? *Nephrol. Dial. Transplant.* 16 (1) (2001) 163–165.
- [8] L. Socas, M. Zumbado, O. Pérez-Luzardo, A. Ramos, C. Pérez, J.R. Hernández, L.D. Boada, 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.* 39 (2005) e27.
- [9] A. D'Andrea, P. Caso, G. Salerno, R. Scarafilo, G. De Corato, C. Mita, G. Di Salvo, S. Severino, S. Cuomo, B. Liccardo, N. Esposito, R. Calabro, Left ventricular early myocardial dysfunction after chronic misuse of anabolic androgenic steroids: a Doppler myocardial and strain imaging analysis, *Br. J. Sports Med.* 41 (2007) 149–155.
- [10] O. Barbosa Neto, G.R. da Mota, C.C. De Sordi, E.A.M.R. Resende, L.A.P.R. Resende, M.A. Vieira da Silva, M. Marocolo, R.S. Côrtes, L.F. de Oliveira, V.J. Dias da Silva, Long-term anabolic steroids in male bodybuilders induce cardiovascular structural and autonomic abnormalities, *Clin. Auton. Res.* 28 (2) (2018) 231–244.
- [11] M.K. Pesola, Reversibility of the haemodynamic effects of anabolic steroids in rats, *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.* 58 (1-2) (1988) 125–131.
- [12] M. Marocolo, J.A. Silva-Neto, O. Barbosa Neto, Acute interruption of treatment with nandrolone decanoate is not sufficient to reverse cardiac autonomic dysfunction and ventricular repolarization disturbances in rats, *Steroids* 132 (2018) 12–17.
- [13] A. Urhausen, T. Albers, W. Kindermann, Are the cardiac effects of anabolic steroid abuse in strength athletes reversible? *Heart* 90 (2004) 496–501.
- [14] S. Karbalay-Doust, A. Noorafshan, F.M. Ardekani, H. Mirkhani, The reversibility of sperm quality after discontinuing nandrolone decanoate in adult male rats, *Asian J. Androl.* 9 (2) (2007) 235–239.
- [15] R.P. Vieira, R.F. França, N.R. Damaceno-Rodrigues, M. Dolhnikoff, E.G. Caldini, C.R.F. Carvalho, W. Ribeiro, Dose-dependent hepatic response to subchronic administration of nandrolone decanoate, *Med. Sci. Sports Exerc.* 40 (5) (2008) 842–847.
- [16] R.A. Hasso, Hitological toxic effect of Nandrolone Decanoate on the kidney of male rabbits, *MJBU* 27 (1) (2009) 19–22.
- [17] R.T. Cristina, F. Hanganu, D. Brezovan, E. Dumitrescu, F. Muselin, V. Chirciu, A.C. Stancu, M.C. Pentea, A.G.M. Motoc, Cytoarchitecture of steroid dependent target tissues after testosterone administration compared to nandrolone decanoate in castrated rats in the aim of Hershberger bio test, *Rom. J. Morphol. Embryol.* 55 (3) (2014) 1143–1148.
- [18] M.A.E. Ahmed, Amelioration of nandrolone decanoate-induced testicular and sperm toxicity in rats by taurine: effects on steroidogenesis, redox and inflammatory cascades, and intrinsic apoptotic pathway, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 282 (3) (2015) 285–296.
- [19] A.R. Mohammed, G.M. Al-Galad, A.A. Abd-Elgayd, M.A. Mwaheb, H.M. Elhanbuli, Effect of nandrolone decanoate (anabolic steroid) on the liver and kidney of male albino rats and the role of antioxidant (Antox-Silymarin) as adjuvant therapy, *J. Drug Metab. Toxicol.* 8 (1) (2017) 224.
- [20] T. Hildebrandt, S. Shope, E. Varangis, D. Klein, D.W. Pfaff, R. Yehuda, Exercise reinforcement, stress, and β -endorphins: an initial examination of exercise in anabolic-androgenic steroid dependence, *Drug Alcohol Depend.* 139 (2014) 86–92.

- [21] J.D. Marsh, M.H. Lehmann, R.H. Ritchie, J.K. Gwathmey, G.E. Green, R.J. Schiebinger, Androgen receptors mediate hypertrophy in cardiac myocytes, *Am. Heart Assoc.* 98 (1998) 256–261.
- [22] M. Quinkler, I.J. Bujalska, K. Kaur, C.U. Onyimba, S. Buhner, B. Allolio, S.V. Hughes, M. Hewison, P.M. Stewart, Androgen receptor-mediated regulation of the alpha-subunit of the epithelial sodium channel in human kidney, *Hypertension* 46 (4) (2005) 787–798.
- [23] M. Zeier, U. Gafter, E. Ritz, Renal function and renal disease in males or females—live la petite difference, *Nephrol. Dial. Transplant.* 13 (1998) 2195–2198.
- [24] A.E. Rosca, I. Stoian, C. Badiu, L. Gaman, B.O. Popescu, L. Iosif, R. Mirica, I.C. Tivig, C.S. Stancu, C. Căruntu, S.E. Voiculescu, L. Zăgrean, Impact of chronic administration of anabolic androgenic steroids and taurine on blood pressure in rats, *Braz. J. Med. Biol. Res.* 49 (6) (2016) e5116.
- [25] H. Ji, S. Menini, K. Mok, W. Zheng, C. Pesce, J. Kim, S. Mulroney, K. Sandberg, Gonadal steroid regulation of renal injury in renal wrap hypertension, *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 288 (2005) 513–520.
- [26] M. Zeier, R. Schönherr, K. Amann, E. Ritz, Effects of testosterone on glomerular growth after uninephrectomy, *Nephrol. Dial. Transplant.* 13 (9) (1998) 2234–2240.
- [27] J. Cho, K. Izumi, C.K. Huang, Androgen and androgen receptor in kidney cancer, *Nephrol. Open J.* 1 (2) (2015) e7–e8.
- [28] M.A. Naraghi, F. Abolhasani, I. Kashani, I.J. Anarkooli, M. Hemadi, A. Azami, M. Barbarestani, A. Aitken, S. Shokri, The effects of swimming exercise and supraphysiological doses of nandrolone decanoate on the testis in adult male rats: a transmission electron microscope study, *Folia Morphol.* 69 (3) (2010) 138–146.
- [29] R. Pozzi, K.R. Fernandes, C.F. de Moura, R.A. Ferrari, K.P. Fernandes, A.C. Renno, D.A. Ribeiro, Nandrolone decanoate induces genetic damage in multiple organs of rats, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 64 (3) (2013) 514–518.
- [30] C.A. do Carmo, Á.L. Gonçalves, D.M. Salvadori, E.L. Maistro, Nandrolone androgenic hormone presents genotoxic effects in different cells of mice, *J. Appl. Toxicol.* 32 (10) (2012) 810–814.
- [31] D. Cerretani, M. Neri, S. Cantatore, C. Giallalla, I. Riezzo, E. Turillazzi, V. Fineschi, Looking for organ damages due to anabolic androgenic steroids (AAS): is oxidative stress the culprit? *Mini-Rev. Org. Chem.* 10 (4) (2013) 393–399.



Evolutions in cardiac and gonadal ultra-structure during a “cycle” of androgenic anabolic abuse in adult male mice

Aida Kahal^{a,*}, Rachida Allem^a, Touria Zahzeh^b, Sana Koriche^c, Amina Kouri^c, Asma Douani^c, Hadjira Kassoul^c, Adda Ababou^c

^a Laboratory of Natural Bioresources, Faculty of Science of Nature and Life, Department of Biology, University of Hassiba Ben Bouali, BP 151, 02000 Chlef, Algeria

^b Laboratory of Molecular Microbiology, Proteomics and Health, Department of Biology, University of Djillali Liabes Sidi Bel Abbès, Algeria

^c Faculty of Science of Nature and Life, Department of Biology, University of Hassiba Ben Bouali, Chlef, Algeria



ARTICLE INFO

Keywords:

Androgenic drugs
Doping
Cycling
Heart
Testis
Ultra-structure

ABSTRACT

Background: The importance of the present study comes from the lack of sufficient information about the reversibility of the potential histopathological alterations which may result from anabolic androgenic drugs abuse by “Cycling” protocol. So, the aim of this study is to explore the negative effects of Deca-Durabolin abuse in cardiac and gonadal ultra-structures during an administration cycle.

Methods: For our purpose, study was performed on 40 male adult mice. Animals were divided into five groups of 8 animals each treated weekly by Deca-Durabolin (nandrolone decanoate) at 30 g/kg of BW during one month (GI); during two months (GII); during three months (GIII); during three months followed by six weeks of treatment discontinuation (GIV) and Control (C). Cytohistological examinations to determine the histopathological damage properties of the heart and tests were performed.

Results: Our results showed that the animals supported very well the administrated substance. Our study showed important degenerative changes in cardiac and gonadal tissues after one month of androgen abuse. These damages increases with the duration of treatment with well marked cell lesions, and worsen again 6 weeks after stopping treatment in cardiac tissue, whereas the gonadal tissue does not recover completely during this period.

Conclusion: These results ported that the use of AAS with “Cycling” may lead to irreversibly destroy the heart tissue. Either, “Cycling” does not ensure the complete recovery of fertility in AAS abusers.

1. Introduction

Anabolic-androgenic steroid (AAS) compounds were developed as synthetic analogs of testosterone produced to minimize androgenic effects and maximize the anabolic ones [1–3]. They are prescribed for the treatment of primary or secondary hypogonadism, short stature [1,3], HIV wasting syndrome, severe burns [3], refractory anemia, hereditary angioedema, breast cancer, starvation states and osteoporosis [1]. On the other hand, AAS ranks among the most widely abused drugs used by athletes to improve athletic ability or muscle mass compounds [1,2,4]. For this purpose, the doses of these compounds used by athletes are in excess 10 to 100 fold of therapeutic doses [4–7], and nandrolone decanoate is the major androgen administered for doping purposes [6–11].

Abuse of AAS can cause various pathological changes related to

dose, frequency and use patterns. These alterations affect the hepatic, cardiovascular, reproductive, musculoskeletal, endocrine, renal, immunological, hematological and nervous systems [6–8,10,12–23], and can be even fatal. Reported cases include suicides, acute myocardial infarction, end-stage renal disease, peliosis hepatis, hepatic coma, hepatocellular adenoma and lymphoma related to athletes taking AAS [1,3,5,24–30]. Therefore, anabolic steroids are known as multifaceted substance with both beneficial and harmful properties, and listed as reference substances in terms of endocrine disruption for the reason that they largely remain the most bioactive compounds that exert their actions by different general mechanisms [8].

The “Cycling” is a widely used method by athletes in the AAS consumption, it consists of using those drugs for a specified period, usually between 6 and 12 weeks, stop the administration during the same period, then repeat the cycle [1,31]. This model of administration

Abbreviations: AAS, anabolic androgenic steroid; BW, body weight; IM, intra-muscular injection; ST, seminiferous tubules

* Corresponding author at: Department of Biology, Faculty of Nature and Life Sciences, Hassiba Benbouali University of Chlef, Mohamed Sella City, Jdiouia, 48360 Relizan, Algeria.

E-mail address: a.kahal@univ-chlef.dz (A. Kahal).

<https://doi.org/10.1016/j.steroids.2019.108571>

Received 14 October 2019; Accepted 27 December 2019

Available online 31 December 2019

0039-128X/ © 2019 Published by Elsevier Inc.

is based on the idea that the adverse effects of AAS abuse are revertible during this period, although this is not proven. Studies conducted in this direction are few and prove absolutely the opposite of this idea, noting here the irreversibility of adverse effects such as the cardiac disorders [32–34], functional alterations and histopathological damage of liver [35], sperm quality deterioration [4] and histological damage of heart and kidney [23]. It's admitted that the AAS administration with high dose inhibits gonadal function by the negative retro-control exerts on the hypothalamic-pituitary-gonadal axis by these products [16,20,21]. The gonadal function is not restored immediately after the treatment cessation [4,23].

Indeed, the effect of AAS on heart and testis has attracted attention given its importance. But the evolutionary aspect of cardiac and testicular architecture during a cycle of androgenic anabolic abuse is not reported by the literature. In addition, it should be noted that the protocols of animal experiments conducted on the adverse effects of SAA, as well as those conducted on their reversibility, do not always resemble the way in which these drugs are taken by athletes; the doses administered to the animal are often under the dose of doping, and the frequency is sometimes far from real in human practice. This remark is even mentioned by some authors [1].

So, to have targeted effects and minimize undesirable ones among athletes, ways of taking these products are very complicated and not studied. Knowing that the dose and frequency of taking AAS largely influences the development of their undesirable effects, as well as the reversibility of these effects, the purpose of this study is to apply the manner of taking these products by the abusers in the most simple administration: deca-dorabolin (nandrolone decanoate) taken in dose estimated to be 10 times supra-medical (30 mg/kg of BW /IM per week, for 3 months) well stopped treatment for 6 weeks; what constitutes a cycle of use frequently used by the abuser (president described in this document) and follow the evolution of cardiac and gonadal cyto-architecture under these conditions.

2. Materials and methods

2.1. Lab animals

40 healthy adult male mice (*Mus musculus*) reported from the Institut Pasteur of Alger, (Algeria) having 45 days with body weight between 25 and 40 g, were housed in groups of four mice in polyethylene cages with 430 × 270 × 150 mm (L × w × h) dimensions, as bedding wood shaving being used. The environmental temperature was maintained at 20 ± 20C and relative humidity of 25 ± 10%. They were fed *ad libitum* with a standard laboratory diet and had free access to water. Animals were left for two weeks before commencement of the study to be acclimatized to lab conditions. Compliance with the legal and ethical requirements for the humane treatment of animals described in this study is well confirmed and approved by the Department of Biology, Faculty of Nature and Life Sciences, Hassiba Benbouali University of Chlef.

2.2. Androgens administration

The commercial 19-nortestosterone ester used in experiment was nandrolone decanoate (Deca-Durabolin), purchased from Organon pharmaceutical company (N.V. Organon, Kloosterstraat 6, Oss – Pays-Bas). Androgen doses administration begun at the mice's age of two months. The animals were injected weekly at 30 mg per 1 kg of animal body weight. For our purpose, animals were divided into five groups as follows: treated by nandrolone decanoate during one month (GI, N = 8); during two months (GII, N = 8); during three months (GIII, N = 8); during three months followed by six weeks of stop treatment (GIV, N = 8) and Control (C, N = 8).

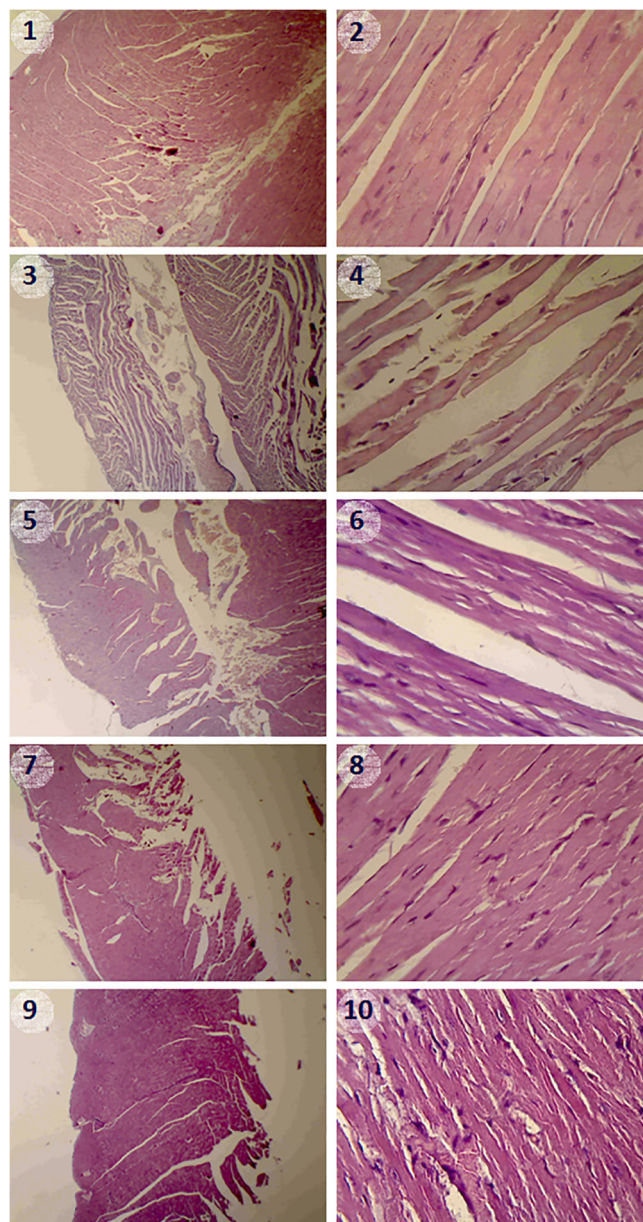


Fig. 1. Photomicrography in the hearts of the androgen overdose-treated mice compared to the control group (H&E stain, ×200 and ×800). 1, histological section in the heart of an animal from the control group (untreated) showing a regular architecture structure of the left ventricular wall as well as the inter-ventricular septum (H&E, ×80); 2, the architecture is preserved in the arrangement of muscle fibers in the same group (H&E, ×800); 3, histological section in the heart of a treated GI animal since 1 month in overdose of androgenic anabolic showing an appearance of distant muscle fibers (H&E, ×80); 4, this phenomenon is clearly visible in higher magnification in addition to basophilic nuclei (dense nuclei) signalling cell death (H & E, ×800); 5, histological section in the heart of a treated GII since animal 2 months in overdose of androgenic anabolic showing that muscle fibers are still detached (H&E, ×80); 6, the fibers are isolated, with irregular arrangement and a damaged cytoplasm, the nuclei are basophilic (H&E, ×800). 7, histological section in the heart of a GIII animal treated for 3 months in androgenic anabolic overdose showing degeneration of the left ventricular wall with an appearance of visibly detached muscle fibers (H&E, ×80); 8, the fiber's nuclei appears to be of basophilic appearance and the inter-fibrillar space is filled with small cells with oval and flattened nuclei (endothelial cells and fibroblasts) that constitute a tissue healing phenomenon (H&E, ×800); 9, histological section in the heart of a GVI animal treated for 3 months in an androgenic anabolic overdose followed by a 6-week treatment discontinuation showing a degenerative aspect of the fibers (H&E, ×80); 10, with a total loss of muscle fiber architecture, basophilic nuclei and damaged cytoplasm (H & E, ×800).

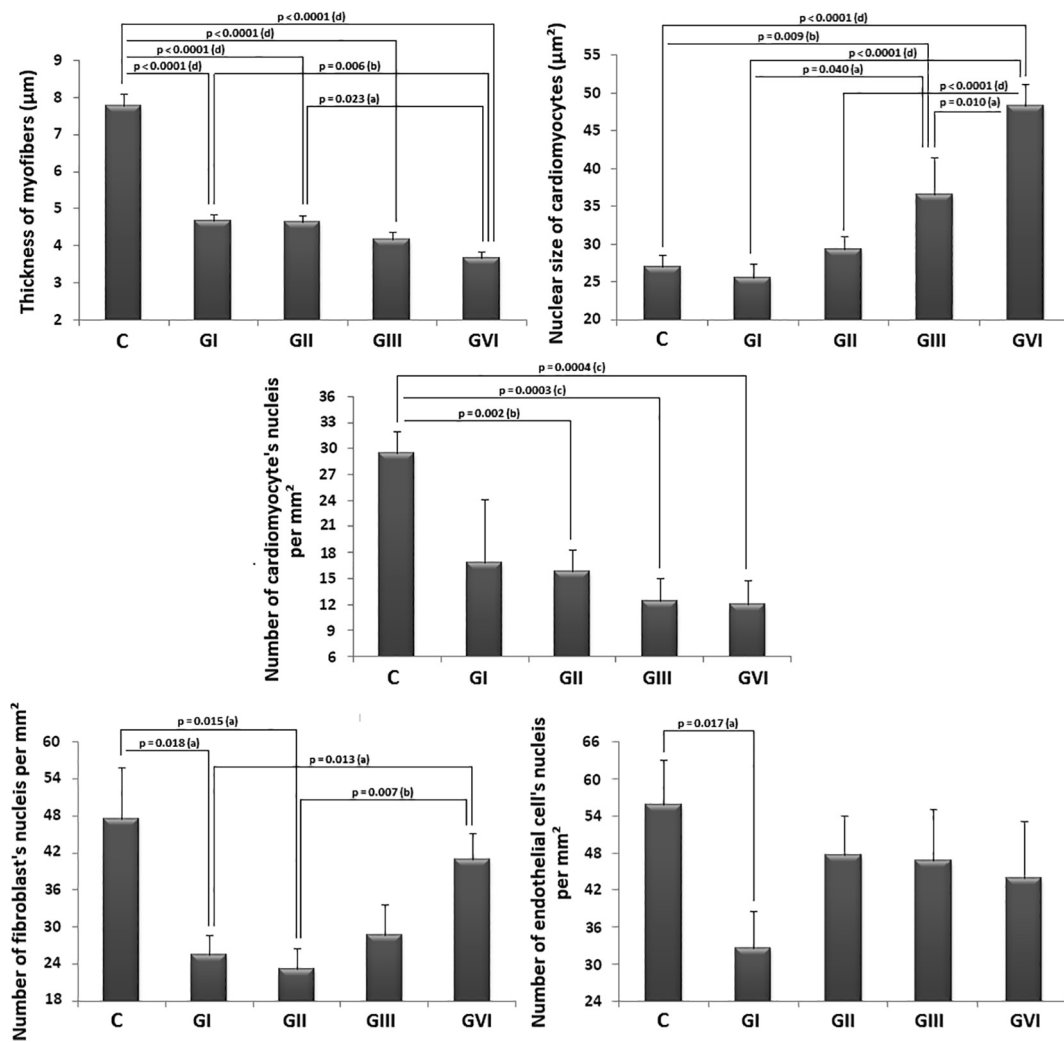


Fig. 2. Mean morphometric evolutions of some histological parameters in the hearts of the mice treated with an androgen overdose compared to the control group. (a), the difference is significant; (b), very significant; (c), highly significant; (c), very highly significant.

2.3. Sampling

At the end of the treatment periods, the animals in each group were weighed then sacrificed (seven days after the last administration in GI, GII, and GIII groups) by decapitation. The target organs for histopathological examination were obtained. After ampling and fresh wet organ weight registration the histological sections were accomplished.

2.4. Cytohistological exam

For cytohistological investigations, cardiac and gonadal samples were fixed in formaldehyde 4%, after which they were washed, dehydrated and included in paraffin. Paraffin blocks containing tissue fragments were sectioned on microtome, resulting in 5-µm thick sections, after which they were mounted on glass slides. Sections were stained using the Hematoxylin-Eosin method. Microscopy was performed to determine and monitor histopathological damage in cardiac and gonadal tissues. The morphometric measurements are taken after capturing of the photos by appropriate camera (Digital Camera, Mode-5C, China). The photomicrographs are recorded on a microcomputer and processed by the “Image J” program.

2.5. Statistical analysis

To estimate the differences in quantitative variables, the

comparison of the averages is done using the “Student t” and ANOVA tests carried out on excel and EXLSTAT programs. All data were expressed as mean ± S.D. at P value < 0.05 significant

3. Results

Important histological changes identified by us were present in heart and tests from C, GI, GII, GIII and GIV group in Figs. 1 and 3, respectively, accompanied by means morphometric measures multiple histological parameters in all groups of animals as presented in Figs. 2 and 4.

In Fig. 1, the general reading of the histological blades reveals cellular lesions, the fibers lose completely their tissue integrity and their cytoplasm is strongly damaged, the tissue carries vasocongestion, vasodilations, hemorrhages, edema, an inflammatory aspect and a karyolysis phenomenon. The situation worsens with the duration of treatment, persists even after stopping treatment and seems to be more pronounced.

In Fig. 2, the morphometric study reports a decrease in the thickness of the muscle fibers accompanied by an increase in the size of their nuclei with the duration of treatment with androgen, it continues in the same way after the cessation of treatment. The increasing evolution of the size of the nuclei of the muscle fibers according to the duration of treatment indicates a sensitivity of the nuclear activity to the hormonal stimulation by the androgenic anabolic, but it is well distinguished the

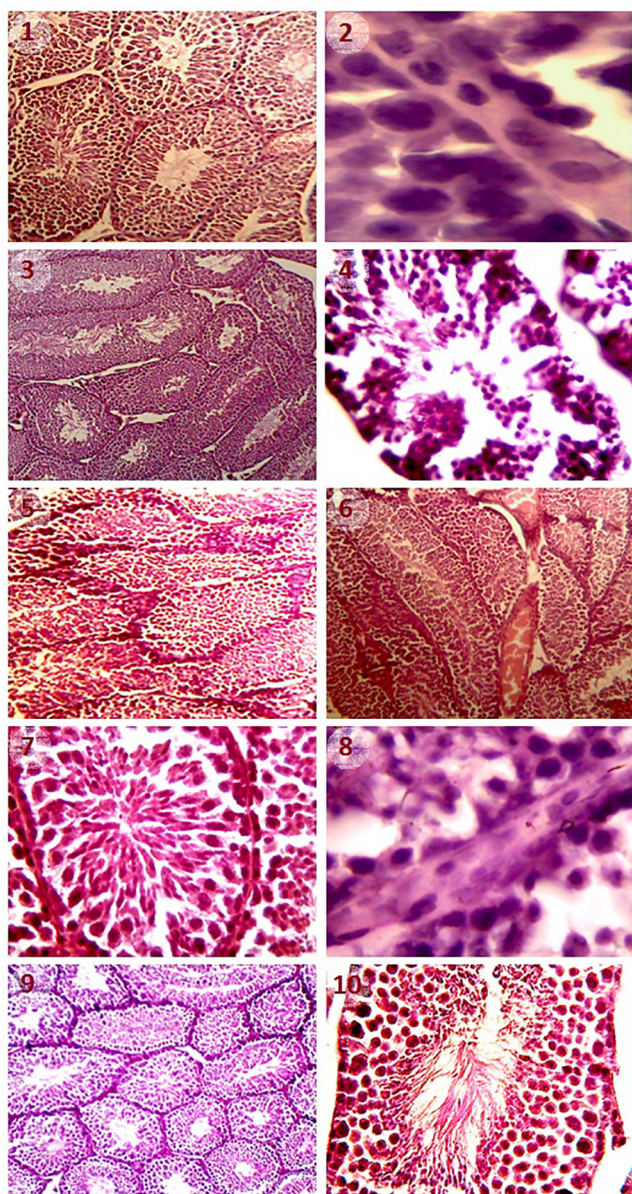


Fig. 3. Photomicrography in the testes of androgen overdose-treated mice compared to the control group (H&E, $\times 200$, $\times 800$ and $\times 2000$). **1**, histological section in the testicle of an animal from the control group (untreated) showing a regular architecture with seminiferous tubules of round or ovoid forms depending on their orientation, presenting a central lumen lined with cells of the gametogenic lineage (H&E, $\times 200$); **2**, the size and shape of the Leydig cell nuclei (in the middle) and spermatogonia (larger and denser nucleus on the left) appear to be regular in the same group (H&E, $\times 2000$); **3**, histological section in the testicle of a GI group animal treated 1 month with androgenic anabolic showing seminiferous tubules atrophy (H&E, $\times 200$); **4**, poorly arranged cells of the gametogenic lineage with fewer spermatozoa produced (H&E, $\times 800$); **5**, histological section in the testicle of a group GII animal treated 2 months with androgenic anabolic showing deformation zones of the seminiferous tubules, a light absent in some tubule and filled by clusters of undifferentiated cells in another (H&E, $\times 200$); **6**, histological section in the testicle of a group GIII animal treated 3 months with androgenic anabolic showing that the phenomena observed in the group GII are maintained in addition to a severe vasocongestion and vasodilation; signs of severe inflammation, lumen space disappeared in the majority of seminiferous tubules (H&E, $\times 200$); **7**, structural damage of the seminiferous tubules marked by the lesions of the cells of the gametogenic lineage, the lesion is more pronounced at the central level by affecting much more spermatids and secondary spermatocytes (H&E, $\times 800$); **8**, atrophy of Leydig cell nuclei (in the middle) and spermatogonia (opaque nuclei) in the same group (H&E, $\times 2000$); **9**, histological section in the testicle of a GVI group animal treated 3 months with androgenic anabolic followed by

6 weeks of treatment discontinuation showing that most of the seminiferous tubules have a central lumen lined by spermatogenic cells, some seminiferous tubules without lumen space are always observed (H&E, $\times 200$), **10**, re-established gametogenesis with a regular seminiferous tubule structure in the same group (H&E, $\times 800$).

presence of a phenomenon of karyolysis that especially marks the cardiac fibers of the G3 and G4 groups (treated with the androgenic anabolic for 3 months and then 3 months followed by 6 weeks of treatment interruption, respectively). Decanting the average evolutions of the numbers of the component nuclei of the cells of the cardiac tissue, it seems that there is a phenomenon of lesion for all the cells of the tissue 1 month after the start of treatment, the fibroblasts and the endothelial cells are renewable after the 2nd month of treatment, but cardiocytes (muscle fibers) continue their lesion phenomenon even after stopping treatment; and therefore they are not recoverable.

From our study conducted on the heart of mice subjected to treatment with an androgenic anabolic widely used as a means of doping by athletes, the histopathological results on this organ are serious and irreversible.

In Fig. 3, the general reading of the structural modifications of the testes under the effect of the androgen treatment shows significant histopathological deteriorations: atrophy and deformations of the seminiferous tubules, deterioration of the gametogenesis and disappearance of the tubal lumen, degenerations of the gametogenic cell line, vasocongestion, vasodilations, inflammations and hemorrhages. The structural state worsens with the duration of treatment. Stopping treatment for 6 weeks induces a non-complete repair of the tissue.

In Fig. 4, Morphometric examination of the testicular tissue demonstrates that the diameter of the seminiferous tubules, the space of their lumens, and the number of spermatozoa produced per seminiferous tube and the nuclei size of Leydig cells progressively diminish with the duration of the abuse. SAA, this decrease is accompanied by the undifferentiation of the cells of the gametogenic lineage and an aspect of cytolysis in the seminiferous tubules. This effect can only be partially recovered 6 weeks after stopping treatment.

Thus, the deleterious effect of androgenic anabolic steroids overdosed on testicular structure and function is not completely repairable in the end of one administration cycle.

4. Discussion

In the current study, supra-therapeutic doses of AAS were experimentally used to evaluate different histological changes in heart and tests of adult male mice. So, the structural changes in heart and tests of animals that regularly use suprathreshold doses of AAS are characterized by the development of an inflammatory aspect in the second and third months of treatment. In our study, these changes worsen again 6 weeks after stopping treatment with.

It should be noted here that our animals, from the beginning of the experiment to the end (5 months for the GIV group) behave very well; no sign of discomfort, full of energy and motivation with remarkable strength despite their pathological state, and it is perhaps the same situation among the abusers.

So, from our study on the heart of mice subjected to treatment with an androgenic anabolic widely used as a means of doping by athletes, the histopathological results on this organ are serious and irreversible. Our result corroborates the results obtained by other studies [5,36,37]. In relation, the literature reports 19 fatal cases of sports users of AAS between the years 1990 and 2012 and the autopsy excluded the extracardiac causes of death. In many cases, left ventricular hypertrophy frequently associated with fibrosis and myocytolysis is identified [3]. Bioptic data in athletes have shown that a focal increase in collagen content of the myocardium can occur during the mechanism of repair against myocardial damage [28]. In vivo, studies in animal models

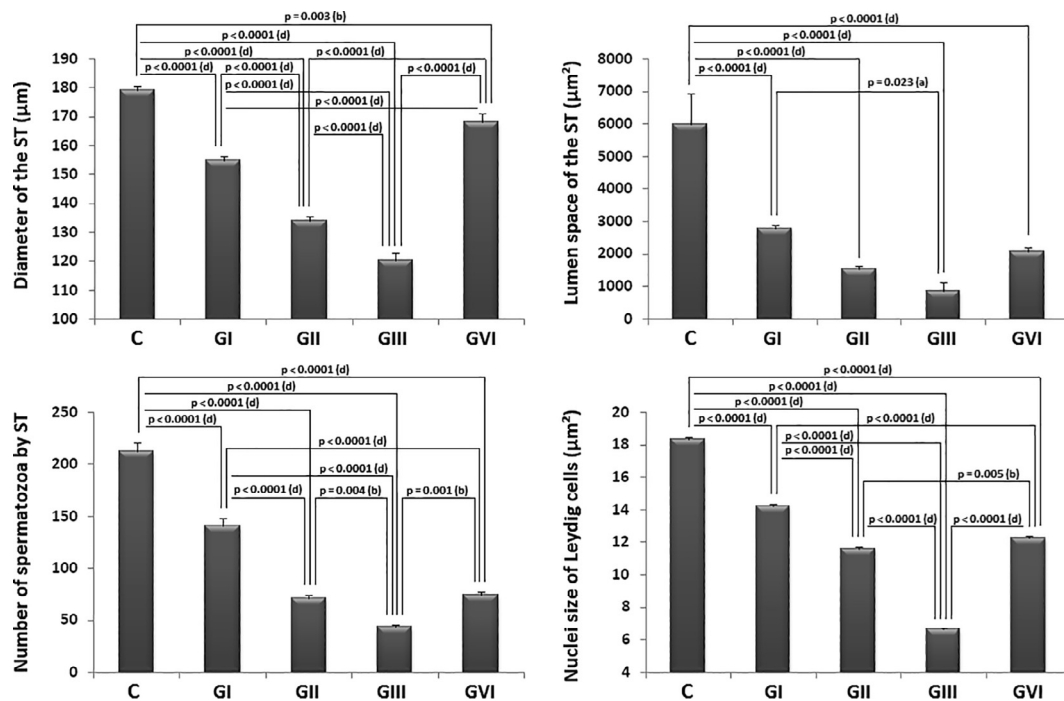


Fig. 4. Mean morphometric evolutions of some histological parameters in the testis of the mice treated with an androgen overdose compared to the control group. (a), the difference is significant; (b), very significant; (c), highly significant; (c), very highly significant.

detect structural changes in the myocardium and cardiac hypertrophy due to overdose of AAS [32]. Conversely, Woodimiss AJ et al. (2000) reported that nandrolone decanoate causes left ventricular remodeling in male rats without cardiac muscle injury, which could be attributed to the smallest dose they used [38].

In the other hand, the increasing evolution of the size of the muscle fiber nuclei under the effect of the duration of treatment, demonstrated in our study, indicates a sensitivity of the nuclear activity to the androgenic stimulation, but, it is well previously described the presence of a karyolysis phenomenon that especially marks the heart fibers GIII and GIV groups (treated with androgenic anabolic for 3 months and then 3 months followed by 6 weeks of treatment interruption, respectively). Thus, the phenomenon of nuclear hyperstimulation by the hormone for certain fibrillar nuclei can be replaced by genotoxicity leading to the lysis of nuclei in others. According to these changes in the number of nuclei constituting the heart tissue, it seems that there is a lesion phenomenon for all the cells of the tissue 1 month after the start of treatment, the fibroblasts and the endothelial cells are renewable after the 2nd month of treatment, but cardiomyocytes continue their lesion phenomenon even after stopping treatment; and therefore they are not recoverable. It should be noted here that the literature does not report similar studies to compare our results.

In the present study, supra-physiological doses of SAA were experimentally used to evaluate different histological changes of testis in adult male mice. Thus, by returning to the literature, the results of our study are similar to the results reported by some authors; Jannatifar R et al. (2015) showed that overdose AAS cause progressive apoptosis of epithelial spermatogenesis cells in white rats; thus, there was a decrease in spermatogonia types A and B, in numbers primary spermatocytes and spermatids [21]. The facts of Naraghi MA et al. (2010) go in the same direction [16].

In fact, at supra-physiological doses, these synthetic hormones exert a strong negative feedback on the hypothalamic-pituitary-gonadal axis that reduces the levels of LH and FSH and leads to a reduction of testosterone. Due to the decrease in FSH levels, growth and development of Sertoli cells remain insufficient. Knowing that gametogenesis depends on the support of Sertoli cells, when they are inactive, the

proliferation and differentiation of cells of the gametogenic lineage are inhibited and these cells die by apoptosis [21]. On the other hand, it is shown that the administration of AAS causes a decrease in endogenous testosterone and the absence of testosterone causes a disturbance of spermatogenesis, aneuploidies and ultra-structural changes in spermatozoa, immaturity, necrosis and apoptosis [39]. Meanwhile, the risk of infertility is high.

Our results demonstrate a decrease in the size of the nuclei of the Leydig cells, this may be due to the decrease in LH levels that leads to a decrease in its functionality and thus its size. These changes are partially reversible after the cessation of treatment. The results of our study corroborate what is reported by certain authors [16,21]. Indeed, Jannatifar R. et al. (2015) mentions a significant decrease in the size and number of Leydig cells in rats treated with AAS [21]. Studies show that recovery time is highly variable and influenced by anabolic agent, dose, duration of abuse and age at use [1,40,41].

On the other hand, it's demonstrated that supraphysiological doses of nandrolone decanoate induces genetic damage in multiple organs [17,19], and are able to disrupt redox balance in organs that can lead to many diseases linked to oxidative stress [7,18,42]. So, the study of do Carmo CA et al. (2012) showed dose-related increase in the frequency of DNA damage multiple organs at three single tested doses (1.0, 2.5 and 5.0 mg/kg BW) of nandrolone decanoate in adult male Swiss albino mice [17]. Frankenfeld SP et al. (2014)^(b) indicate that oxidative stress is linked to the pathophysiology of most of these alterations, being involved in fibrosis, cellular proliferation, tumorigenesis, amongst others. The same authors demonstrated that chronically administered nandrolone decanoate (10 mg/kg of body weight once a week for 8 weeks) is able to disrupt the cellular redox balance leading to an oxidative stress stat in Wistar adult male rats [7].

5. Conclusion

Our results reports that the use of AAS in male for a period of 3 months by only a 10 times supra-therapeutic dose is associated with a lot of deleterious effects on heart and testis with loss of the ultra-structure which cannot be reversible, especially in heart. Moreover,

these effects worsen again 6 weeks after stopping treatment in cardiac tissue. Therefore, the periodical cessation of treatment which constitutes a “Cycling” protocol for abusers leads to the increase of cardiac distress. Indeed, in common practice, heart and gonadal damage may be more serious because the dose used in our experimentation is the minimum used for doping. In addition, nandrolone decanoate is administered alone for one cycle, while the abusers take a mixture of anabolic androgenic products (and other complementary products) with much higher doses; modifiable during repeated cycles, which means that the risk is higher. It can be concluded from the present histopathological results that abusing AAS for long periods by athletes can induce serious histological damages which may lead to severe complications such as cardiac diseases and decreased fertility. So, physicians should take these damages in mind seriously as a predictable and potential complication cardiac function and fertility resulting from abusing these drugs. At the same time, the official and medical control and restrictions on these drugs should be increased to prevent the abusers from obtaining these drugs. All these findings are confirming the important deleterious activity as endocrine disruptor on the target tissues for over dose of androgens administration.

Acknowledgements

We would like to acknowledge the technical assistance of all students on the animal work presented in this study.

Conflict of interest statement

The authors declare that they have no competing interests.

Role of the funding source

This work has not been financed; the only funding is that of the main author by his simple means.

Ethical approval

This study was approved by the Department of Biology, Faculty of Nature and Life Sciences, Hassiba Benbouali University of Chlef.

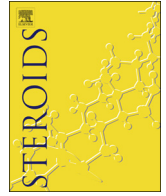
Informed consent

The authors agree to publish this work in this journal.

References

- Hartgens, H. Kuipers, Effects of androgenic-anabolic steroids in athletes, *Sports Med.* 34 (8) (2004) 513–554.
- A.T. Kicman, Pharmacology of anabolic steroids, *Br. J. Pharmacol.* 154 (2008) 502–521.
- P. Frati, F.P. Busardò, L. Cipolloni, E. De Dominicis, V. Fineschi, Anabolic androgenic steroid (AAS) related deaths: autoptical, histopathological and toxicological findings, *Curr. Neuropharmacol.* 13 (2015) 146–159.
- S. Karbalay-Doust, A. Noorafshan, F.M. Ardekani, H. Mirkhani, The reversibility of sperm quality after discontinuing nandrolone decanoate in adult male rats, *Asian J. Androl.* 9 (2) (2007) 235–239.
- N.A. Hassan, M.F. Salem, M.A.E.L. Sayed, Doping and effects of anabolic androgenic steroids on the heart: histological, ultrastructural, and echocardiographic assessment in strength athletes, *Hum. Exp. Toxicol.* 28 (2009) 273–283.
- S.P. Frankenfeld, L.P. Oliveira, D.L. Ignacio, R.G. Coelho, M.N. Mattos, A.C.F. Ferreira, D.P. Carvalho, R.S. Fortunato, Nandrolone decanoate inhibits gluconeogenesis and decreases fasting glucose in Wistar male rats, *J. Endocrinol.* 220 (2) (2014) 143–153.
- S.P. Frankenfeld, L.P. Oliveira, V.H. Ortenzi, I.C.C. Rego-Monteiro, E.A. Chaves, A.C. Ferreira, A.C. Leita, D.P. Carvalho, R.S. Fortunato, The anabolic androgenic steroid nandrolone decanoate disrupts redox homeostasis in liver, heart and kidney of male Wistar rats, *PLoS ONE* 9 (9) (2014) e102699.
- R.T. Cristina, F. Hanganu, D. Brezovan, E. Dumitrescu, F. Muselin, V. Chiurciu, A.C. Stancu, M.C. Pentea, A.G.M. Motoc, Cytoarchitecture of steroid dependent target tissues after testosterone administration compared to nandrolone decanoate in castrated rats in the aim of Hershberger bio test, *Rom. J. Morphol. Embryol.* 55 (3) (2014) 1143–1148.
- M.P. Poletto, F. Ferrari, S.B. Peres, S.M.F. Moraes, T.M. Segatelli, C.E.M. Costa, Effects of anabolic steroid treatment associated with physical training in adipose tissue of male Wistar rats, *Acta Scientiarum. Health Sci.* 37 (1) (2015) 19–24.
- A.R. Mohammed, G.M. Al-Galad, A.A. Abd-Elgayd, M.A. Mwaheb, H.M. Elhanbuli, Effect of nandrolone decanoate (anabolic steroid) on the liver and kidney of male albino rats and the role of antioxidant (antox-silymarin) as adjuvant therapy, *J. Drug Metab. Toxicol.* 8 (1) (2017) 224.
- A.M. Shalaby, N.G. Bahey, Reversal of the hepatic damage induced by the supra-physiological dose of nandrolone decanoate after its withdrawal in the adult male rat, *Tissue Cell* 53 (2018) 44–52.
- J.D. Marsh, M.H. Lehmann, R.H. Ritchie, J.K. Gwathmey, G.E. Green, R.J. Schiebinger, Androgen receptors mediate hypertrophy in cardiac myocytes, *Am. Heart Assoc.* 98 (1998) 256–261.
- R.P. Vieira, R.F. França, N.R. Damaceno-Rodrigues, M. Dolnikoff, E.G. Caldini, C.R.F. Carvalho, W. Ribeiro, Dose-dependent hepatic response to subchronic administration of nandrolone decanoate, *Med. Sci. Sports Exercise* 40 (5) (2008) 842–847.
- A.S. Ahmed Bin Bisher, Histopathological evidences of the nephritic pathological alterations induced by the anabolic androgenic drug (Sustanon) in male guinea pigs (*Cavia porcellus*), *J. Biol. Sci.* 9 (6) (2009) 514–523.
- R.A. Hasso, Histological toxic effect of Nandrolone Decanoate on the kidney of male rabbits, *MJBU* 27 (1) (2009) 19–22.
- M.A. Naraghi, F. Abolhasani, I. Kashani, L.J. Anarkooli, M. Hemadi, A. Azami, M. Barbarestani, A. Aitken, S. Shokri, The effects of swimming exercise and supra-physiological doses of nandrolone decanoate on the testis in adult male rats: a transmission electron microscope study, *Folia Morphol.* 69 (3) (2010) 138–146.
- C.A. do Carmo, Á.L. Gonçalves, D.M. Salvadori, E.L. Maistro, Nandrolone androgenic hormone presents genotoxic effects in different cells of mice, *J. Appl. Toxicol.* 32 (10) (2012) 810–814.
- D. Cerretani, M. Neri, S. Cantatore, C. Ciallella, I. Riezzi, E. Turillazzi, V. Fineschi, Looking for organ damages due to anabolic androgenic steroids (AAS): is oxidative stress the culprit? *Mini-Rev. Org. Chem.* 10 (4) (2013) 393–399.
- R. Pozzi, K.R. Fernandes, C.F. de Moura, R.A. Ferrari, K.P. Fernandes, A.C. Renno, D.A. Ribeiro, Nandrolone decanoate induces genetic damage in multiple organs of rats, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 64 (3) (2013) 514–518.
- M.A.E. Ahmed, Amelioration of nandrolone decanoate-induced testicular and sperm toxicity in rats by taurine: effects on steroidogenesis, redox and inflammatory cascades, and intrinsic apoptotic pathway, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 282 (3) (2015) 285–296.
- R. Jannatifar, S. Shokri, A. Farrokhi, R. Nejatbaksh, Effect of supra-physiological dose of Nandrolone Decanoate on the testis and testosterone concentration in mature and immature male rats: a time course study, *Int. J. Reprod. BioMed.* 13 (12) (2015) 779–786.
- A.E. Rosca, I. Stoian, C. Badiu, L. Gaman, B.O. Popescu, L. Isosif, R. Mirica, I.C. Tivig, C.S. Stancu, C. Căruntu, S.E. Voiculescu, L. Zăgrean, Impact of chronic administration of anabolic androgenic steroids and taurine on blood pressure in rats, *Braz. J. Med. Biol. Res.* 49 (6) (2016) e5116.
- A. Kahal, R. Allem, Reversible effects of anabolic steroid abuse on cyto-architectures of the heat, kidneys and testis in adult male mice, *Biomed. Pharmacother.* 106 (2018) 917–922.
- S.A. Biagher, J.L. Boyer, Peliosis hepatis associated with androgenic-anabolic steroid therapy: a severe form of hepatic injury, *Ann. Intern. Med.* 81 (5) (1974) 610–618.
- M. Pärssinen, U. Kujala, E. Vartiainen, S. Sarna, T. Seppälä, Increased premature mortality of competitive powerlifters suspected to have used anabolic agents, *Int. J. Sports Med.* 21 (2000) 225–227.
- R. Hartung, J. Gerth, R. Fünfstick, H.J. Gröne, G. Stein, End-stage renal disease in a bodybuilder: a multifactorial process or simply doping? *Nephrol. Dial. Transplant.* 16 (1) (2001) 163–165.
- L. Socas, M. Zumbado, O. Pérez-Luzardo, A. Ramos, C. Pérez, J.R. Hernández, L.D. Boada, 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.* 39 (2005) e27.
- A. D’Andrea, P. Caso, G. Salerno, R. Scarafilo, G. De Corato, C. Mita, G. Di Salvo, S. Severino, S. Cuomo, B. Liccardo, N. Esposito, R. Calabro, Left ventricular early myocardial dysfunction after chronic misuse of anabolic androgenic steroids: a Doppler myocardial and strain imaging analysis, *Br. J. Sports Med.* 41 (2007) 149–155.
- T. Hildebrandt, S. Shope, E. Varangis, D. Klein, D.W. Pfaff, R. Yehuda, Exercise reinforcement, stress, and β -endorphins: an initial examination of exercise in anabolic-androgenic steroid dependence, *Drug Alcohol Depend.* 139 (2014) 86–92.
- O. Barbosa Neto, G.R. da Mota, C.C. De Sordi, E.A.M.R. Resende, L.A.P.R. Resende, M.A. Vieira da Silva, M. Marocolo, R.S. Côrtes, L.F. de Oliveira, V.J. Dias da Silva, Long-term anabolic steroids in male bodybuilders induce cardiovascular structural and autonomic abnormalities, *Clin. Auton. Res.* 28 (2) (2018) 231–244.
- M.R. Graham, B. Davies, F.M. Grace, A. Kicman, J.S. Baker, Anabolic steroid use: patterns of use and detection of doping, *Sports Med.* 38 (6) (2008) 505–525.
- Maija K. Pesola, Reversibility of the haemodynamic effects of anabolic steroids in rats, *Europ. J. Appl. Physiol.* 58 (1–2) (1988) 125–131, <https://doi.org/10.1007/BF00636615>.
- A. Urhausen, T. Albers, W. Kindermann, Are the cardiac effects of anabolic steroid abuse in strength athletes reversible? *Heart* 90 (2004) 496–501.
- M. Marocolo, J.A. Silva-Neto, Neto O. Barbosa, Acute interruption of treatment with nandrolone decanoate is not sufficient to reverse cardiac autonomic dysfunction and ventricular repolarization disturbances in rats, *Steroids* 132 (2018) 12–17.

- [35] M.E.A. El-Halwagy, S.H. Abd-Alrahman, R.H. Mahmoud, F.K. Khalifa, N.S. Darwish, A.A. Attia, A.S. Mohamed, Impact of chronic androgenic steroid exposure on liver toxicity, *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 9 (2) (2016) 2652–2659.
- [36] A. Büttner, D. Thieme, Side effects of anabolic androgenic steroids: pathological findings and structure-activity relationships, *Handb. Exp. Pharmacol.* 195 (2010) 459–484.
- [37] E. Nieschlag, E. Vorona, Doping with anabolic androgenic steroids (AAS): adverse effects on non-reproductive organs and functions, *Rev. Endocr. Metab. Disord.* 16 (3) (2015) 199–211.
- [38] A.J. Woodiwiss, B. Trifunovic, M. Philippides, G.R. Norton, Effects of an androgenic steroid on exercise-induced cardiac remodeling in rats, *J. Appl. Physiol.* 88 (2) (2000) 409–415.
- [39] J.R. Hoffman, W.J. Kraemer, S. Bhasin, T. Storer, N.A. Ratamess, G.G. Haff, D.S. Willoughby, A.D. Rogol, Position stand on androgen and human growth hormone use, *J. Strength Cond. Res.* 23 (5) (2009) S1–S59.
- [40] G. Kanayama, J.I. Hudson, H.G. Pope Jr., Illicit anabolic-androgenic steroid use, *Horm. Behav.* 58 (1) (2010) 111–121.
- [41] R. El Osta, T. Almont, C. Diligent, N. Hubert, P. Eschwège, J. Hubert, Anabolic steroids abuse and male infertility, *Basic Clin. Androl.* 26 (2) (2016) 1–8.
- [42] M. Salerno, O. Cascio, G. Bertozzi, F. Sessa, A. Messina, V. Monda, L. Cipolloni, A. Biondi, A. Daniele, C. Pomara, Anabolic androgenic steroids and carcinogenicity focusing on Leydig cell: a literature review, *Oncotarget* 9 (27) (2018) 19415–19426.



Abuse of androgenic anabolic drugs with “Cycling” induces hepatic steatosis in adult male mice

Aida Kahal^{a,*}, Rachida Allem^a, Touria Zahzeh^b, Saida Oulmane^c, Zahra Tafroukhte^d

^a Laboratory of Natural Bioresources, Faculty of Science, Department of Biology, University of Hassiba Ben Bouali, BP 151, 02000 Chlef, Algeria

^b Laboratory of Molecular Microbiology, Proteomics and Health, Department of Biology, University of Djillali Liabes Sidi Bel Abbès, Algeria

^c Sadat Laboratory of Pathological Anatomy and Cytology, Chlef, Algeria

^d Faculty of Science, Department of Biology, University of Hassiba Ben Bouali, Chlef, Algeria

ARTICLE INFO

Keywords:

Androgenic drugs
Doping
Cycling
Liver
Cyto-architecture

ABSTRACT

Background: The importance of the present study comes from the lack of sufficient information about the reversibility of the potential hepatic histopathological alterations which may result from anabolic androgenic drugs abuse by “Cycling” protocol. So, the aim of this study is to explore the negative effects of Deca-Durabolin abuse in hepatic function and structure during an administration cycle.

Methods: For our purpose, study was performed on 40 male adult mice. Animals were divided into five groups of 8 animals each treated weekly by Deca-Durabolin (nandrolone decanoate) at 30 g/kg of BW during one month (GI); during two months (GII); during three months (GIII); during three months followed by six weeks of treatment discontinuation (GIV) and Control (C). Plasma assay of liver enzymes (ALT and AST) and cytohistological examination to determine the histopathological damage properties of the liver were performed.

Results: Our results showed that the animals supported very well the administrated substance. Our study showed an increase in plasma levels of liver enzymes (ALT and AST) with the duration of treatment accompanied by important degenerative changes in hepatic tissue with peliosis evolution after two months of treatment. These damages worsen again 6 weeks after stopping treatment and ended by the development of hepatic steatosis with increases hepatic distress.

Conclusion: These results ported that the use of AAS with “Cycling” may lead to the development of hepatic steatosis before progressing to more serious pathological liver situations in AAS abusers.

1. Introduction

Anabolic-androgenic steroid (AAS) compounds were developed as synthetic analogs of testosterone produced to minimize androgenic effects and maximize the anabolic ones [1–3]. They are prescribed for the treatment of primary or secondary hypogonadism, short stature [1,3], HIV wasting syndrome, severe burns [3], refractory anemia, hereditary angioedema, breast cancer, starvation states and osteoporosis [1]. On the other hand, AAS ranks among the most widely abused drugs used by athletes to improve athletic ability or muscle mass compounds [1,2,4]. For this purpose, the doses of these compounds used by athletes are in excess 10- to 100-fold of therapeutic doses [4–7].

Abuse of AAS can cause various pathological changes related to dose, frequency and use patterns. These alterations affect the hepatic, cardiovascular, reproductive, musculoskeletal, endocrine, renal, immunological, hematological and nervous systems [6–21], and can be

even fatal. Reported cases include suicides, acute myocardial infarction, end-stage renal disease, peliosis hepatitis, hepatic coma, hepatocellular adenoma and lymphoma related to athletes taking AAS [1,3,5,22–28]. Therefore, anabolic steroids are known as multifaceted substance with both beneficial and harmful properties, and listed as reference substances in terms of endocrine disruption for the reason that they largely remain the most bioactive compounds that exert their actions by different general mechanisms [16].

The “Cycling” is a widely used method by athletes in the AAS consumption, it consists of using those drugs for a specified period, usually between 6 and 12 weeks, stop the administration during the same period, then repeat the cycle [1,29]. This model of administration is based on the idea that the adverse effects of AAS abuse are revertible during this period, although this is not proven. Studies conducted in this direction are few and prove absolutely the opposite of this idea, noting here the irreversibility of adverse effects such as the cardiac

Abbreviations: AAS, anabolic androgenic steroid; IM, intra-muscular injection; BW, body weight

* Corresponding author at: Mohamed Sella City, Jdiouia, 48360 Relizan, Algeria.

E-mail address: a.kahal@univ-chlef.dz (A. Kahal).

<https://doi.org/10.1016/j.steroids.2019.108574>

Received 10 September 2019; Accepted 27 December 2019

Available online 31 December 2019

0039-128X/ © 2019 Published by Elsevier Inc.

disorders [30–32], sperm quality deterioration [4] and histological damage of heart and kidney [21]. The reversibility of hepatic alterations due to AAS has only two recent studies available to our knowledge. The first is conducted on male albinos rats treated orally with anabol (supra-therapeutic daily dose of 18 mg/kg of body weight) for 3 months, and report that functional alterations and histopathological damage of liver are not completely reversible after one month of recovery [33]. However, Shalaby AM and Bahey NG (2018) ported that hepatotoxic effects including hepatic damage induced by the supra-physiological dose of nandrolone decanoate (10 mg/kg/IM/weekly, taken for four weeks) are reversible four weeks after its withdrawal in the adult male rat [34].

It should be noted that the protocols of animal experiments conducted on the adverse effects of SAA, as well as those conducted on their reversibility, do not always resemble the way in which these drugs are taken by athletes; the doses administered to the animal are often under the dose of doping, and the frequency is sometimes far from real in human practice. This remark is even mentioned by some authors [1].

In relation, the effect of AAS on the liver has attracted attention given its importance. Studies in human and in animals report that hepatic structure and function are severely altered by AAS abuse [9,16,25,33,35–37]. Socas L et al., (2005) report two very different cases of adult male bodybuilders who developed hepatocellular adenomas following AAS abuse. The first had two large liver lesions. The second had acute renal failure and mild hepatomegaly with several very close hyperechogenic nodules in liver concordant with adenomas. In both cases, oral and parenteral SAA were taken by cycling at very high doses [25]. Authors report that hepatic toxicity and alterations are induced by oral SAA, and almost exclusively by 17 α -alkylated AAS [25,33]. But it seems that SAA taken orally are not the only incriminated. AAS taken by parenterally are also involved in these alterations as nandrolone decanoate [9,16,20,36] which is the major androgen administered for doping purposes [6,7,16,20,34,38].

To have targeted effects and minimize undesirable ones among athletes, ways of taking these products are very complicated and not studied. Knowing that the dose and frequency of taking AAS largely influences the development of their undesirable effects, as well as the reversibility of these effects, the purpose of this study is to apply the manner of taking these products by the abusers in the most simple administration: deca-dorabolin (nandrolone decanoate) taken in dose estimated to be 10 times supra-medical (30 mg / kg of BW /IM per week, for 3 months) well stopped treatment for 6 weeks; what constitutes a cycle of use frequently used by the abuser (president described in this document) and follow the evolution of hepatotoxicity and hepatic cyto-architecture under these conditions.

2. Materials and methods

2.1. Lab animals

40 healthy adult male mice (*Mus musculus*) reported from the Institut Pasteur of Alger, (Algeria) having 45 days with body weight between 25 and 40 g, were housed in groups of four mice in polyethylene cages with 430 × 270 × 150 mm (L × w × h) dimensions, as bedding wood shaving being used. The environmental temperature was maintained at 20 ± 20C and relative humidity of 25 ± 10%. They were fed *ad libitum* with a standard laboratory diet and had free access to water. Animals were left for two weeks before commencement of the study to be acclimatized to lab conditions. Compliance with the legal and ethical requirements for the humane treatment of animals described in this study is well confirmed and approved by the Department of Biology, Faculty of Nature and Life Sciences, Hassiba Benbouali University of Chlef.

2.2. Androgens administration

The commercial 19-nortestosterone ester used in experiment was nandrolone decanoate (Deca-Durabolin), purchased from Organon pharmaceutical company (N.V. Organon, Kloosterstraat 6, Oss – Pays-Bas). Androgen doses administration begun at the mice's age of two months. The animals were injected weekly at 30 mg per 1 kg of animal body weight. For our purpose, animals were divided into five groups as follows: treated by nandrolone decanoate during one month (GI, N = 8); during two months (GII, N = 8); during three months (GIII, N = 8); during three months followed by six weeks of stop treatment (GIV, N = 8) and Control (C, N = 8).

2.3. Sampling

At the end of the treatment periods, the animals in each group were weighed then sacrificed (seven days after the last administration in GI, GII, and GIII groups) by decapitation. Blood samples obtained were centrifuged. Plasma was separated and stored at (–20 °C) for biochemical examination. The target organs for histopathological examination were obtained. After sampling and fresh wet organ weight registration the histological sections were accomplished.

2.4. Biochemical assays

Plasma levels of Aspartate and Alanine transaminases (AST and ALT) were determined by commercial spectrophotometric kits (SPIN-REACT, Espagne).

2.5. Cytohistological exam

For cytohistological investigations, hepatic samples were fixed in formaldehyde 4%, after which they were washed, dehydrated and included in paraffin. Paraffin blocks containing tissue fragments were sectioned on microtome, resulting in 5- μ m thick sections, after which they were mounted on glass slides. Sections were stained using the Hematoxylin–Eosin method. Microscopy was performed to determine and monitor histopathological damage in liver tissue.

2.6. Statistical analysis

To estimate the differences in quantitative variables, the comparison of the averages is done using the “Student” *t* test carried out on excel. All data were expressed as mean ± S.D. at *P* value < 0.05 significant

3. Results

3.1. Biochemical results

The treated animals supported very well the administrated substance and the increase in muscle strength is the most noticeable trait in longer-term treated groups. In Table 1 and Fig. 1 is presented the average rate of ALT and AST plasmatic evolution in the studied groups before and after each administration.

3.2. Macroscopic and cytohistological observations

Important histological changes identified by us were present in livers from C, GI, GII, GIII groups in Fig. 2, and from GIV group in Fig. 4, accompanied by the modification macroscopic of liver from GIV group as presented in Fig. 3.

Our results shown in Table 1 and Figs. 1 and 2 demonstrate deterioration in liver function and structure since the first month of nandrolone decanoate administration. these deteriorations worsen towards the second and third months of treatment with the increase in mean

Table 1
Average rate of plasmatic ALT and AST in mice from experimental and control group (U/L).

Group	Mean ± standard deviation of ALT rate (U/L)	Difference [%]	Mean ± standard deviation of AST rate (U/L)	Difference [%]
C	11,89 ± 5,71	–	32,08 ± 8,00	–
GI	71,00 ± 26,89	+497,37	41,56 ± 13,25	+29,55
GII	76,31 ± 20,13	+7,48	67,33 ± 22,26	+61,99
GIII	126,84 ± 20,81	+66,22	65,44 ± 21,16	–2,80
GIV	16,41 ± 2,93	–87,07	22,06 ± 8,39	–66,30

plasma levels of liver transaminases (ALT and AST) accompanied by signs of peliosis, inflammation, hemorrhage, hypertrophy and cellular degeneration in the liver tissue.

Remarkably, stopping treatment for 6 weeks is accompanied by a spotted liver appearance (Fig. 3). This appearance is clearly visible in all the animals of the GIV group. Although the plasma ALT and AST assay show a decrease in levels that are similar to the control values (Table 1 and Fig. 1), liver histology reveals well-distinguished periportal microvesicular steatosis (Fig. 4). Steatosis is associated with a total loss of structure in different areas accompanied by a frequent vascular hyalinization and fibrous structures in the lumen of vessels; which reflects a thrombosis with a fibro-hyaline organization (“hyalinization” by fibrous organization of platelets), cellular hypertrophy, degeneration zones and inflammations. This result shows that the 6-week rest did not serve liver recovery. For against, the liver is in a suffering state.

4. Discussion

In the current study, supra-therapeutic doses of AAS were experimentally used to evaluate functional and different histological changes in liver of adult male mice. So, the structural changes in liver of animals that regularly use supraphysiological doses of AAS are characterized by the development of peliosis with an inflammatory aspect in the second and third months of treatment. In our study, these changes worsen again 6 weeks after stopping treatment with a distinguished periportal microvesicular steatosis and loss of liver structure. So, our results demonstrate liver damage induced by nandrolone decanoate, which is a parenterally administered product and is considered less toxic to the liver compared to androgenic anabolic taken orally [25,33]. These damages are not repairable and explain the hepatic alterations in the subjects who take the androgenic anabolic with “Cycling” described in some case reports [25]. Indeed, in common practice, liver damage may be more serious because the dose used in our experimentation is the minimum used for doping. In addition, nandrolone decanoate is administered alone for one cycle, while the abusers take a mixture of anabolic androgenic products (and other complementary products) with much higher doses; modifiable during repeated cycles, which means that the risk is higher.

The work done by this study comes to supplement the results reported previously [21] on the reversible effects of androgen abuse on cardiac, kidney and gonadal histopathology by the same experimental protocol, and shows the gravity of the abuse of these products. It should

be noted here that our animals, from the beginning of the experiment to the end (5 months for the GIV group) behave very well; no sign of discomfort, full of energy and motivation with remarkable strength despite their pathological state, and it is perhaps the same situation among the abusers.

Our findings regarding the deleterious effects of anabolic androgen administration on liver function and structure are in agreement with those of the other studies. Mohammed AR et al. (2017) ported that male albino rats treated by nandrolone decanoate at a dose of 7.93 mg/kg and 11.9 mg/kg for 8 weeks show an increase in body weight, hepatic and renal weights, liver enzymes (ALT and AST), plasma bilirubin, urea and creatinine, depending on the dose of treatment, in addition to histopathological changes in the liver and kidneys. In rats treated with low dose, histological changes in the liver were congestion in central vein and hepatic sinusoids, and cholangitis with appearance of newly formed bile ductules. The high dose induced thickening of hepatic capsule and necrosis of subcapsular hepatocytes, cholangitis, severe congestion of central vein and hepatic sinusoids, hydropic degeneration of hepatocytes and hepatic periportal fibrosis [20]. In another study, nandrolone decanoate administration at three different doses; clinical, intermediate, and suprapharmacological dose (0.7, 5.3 and 7.5 mg/kg of body weight, respectively) for 5 weeks, showed an increase in serum levels of liver enzymes (ALT, AST and ALP), a decrease in total proteins, bilirubin, total cholesterol and triglycerides. The number of Kupffer cells was increased in the liver parenchyma, and the content of collagen was increased in the central lobular vein wall, the hepatic parenchyma, and the portal space, suggesting that subchronic administration of nandrolone decanoate lead to incipient fibrosis [9]. The inducing effect of AAS on the peliosis development in the liver is reported in humans [22] and animals [33]. Notably, Cristina RT et al., (2014) ported that the cytohistological images in livers of adults male rats injected by nandrolone decanoate (at 7.5 mg/kg BW, daily for 10 consecutive days) revealed the liver’s granular dystrophy; hydroprotidic dystrophy and steatosis characterized by the entry and storage of serum proteins in mitochondria, causing the mitochondria swelling (mega-mitochondria). Hepatocytes presented a pale cytoplasm and larger than normal (revealing the hypertrophy) due to micro- and macrovesicular steatosis as a following of the endocrine disruptor activity. Also, was observed the thickened of the intima tunic of the central vein [16].

However, in our study, discontinuation of treatment induced the development of hepatic microvesicular steatosis in male adult mice. By reviewing the literature, Hepatic steatosis is characterized by massive fat accumulation in the liver and thus is strongly related to several

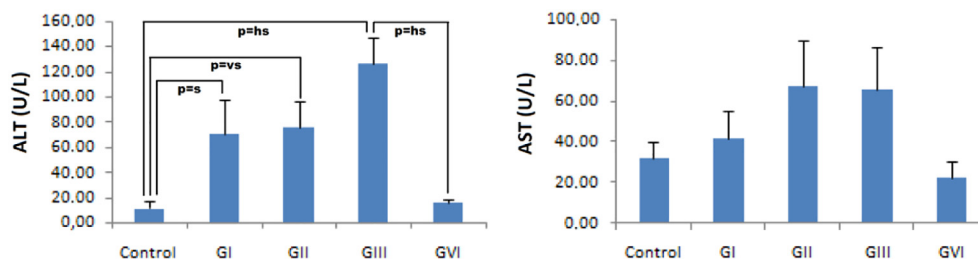


Fig. 1. Average rate of plasmatic ALT and AST in mice from experimental and control group (U/L). The difference is not significant at $p > 0,05$; significant (s) at $p \leq 0,05$; very significant (vs) at $p < 0,01$; highly significant (hs) at $p < 0,001$; very highly significant (vhs) at $p < 0,0001$.

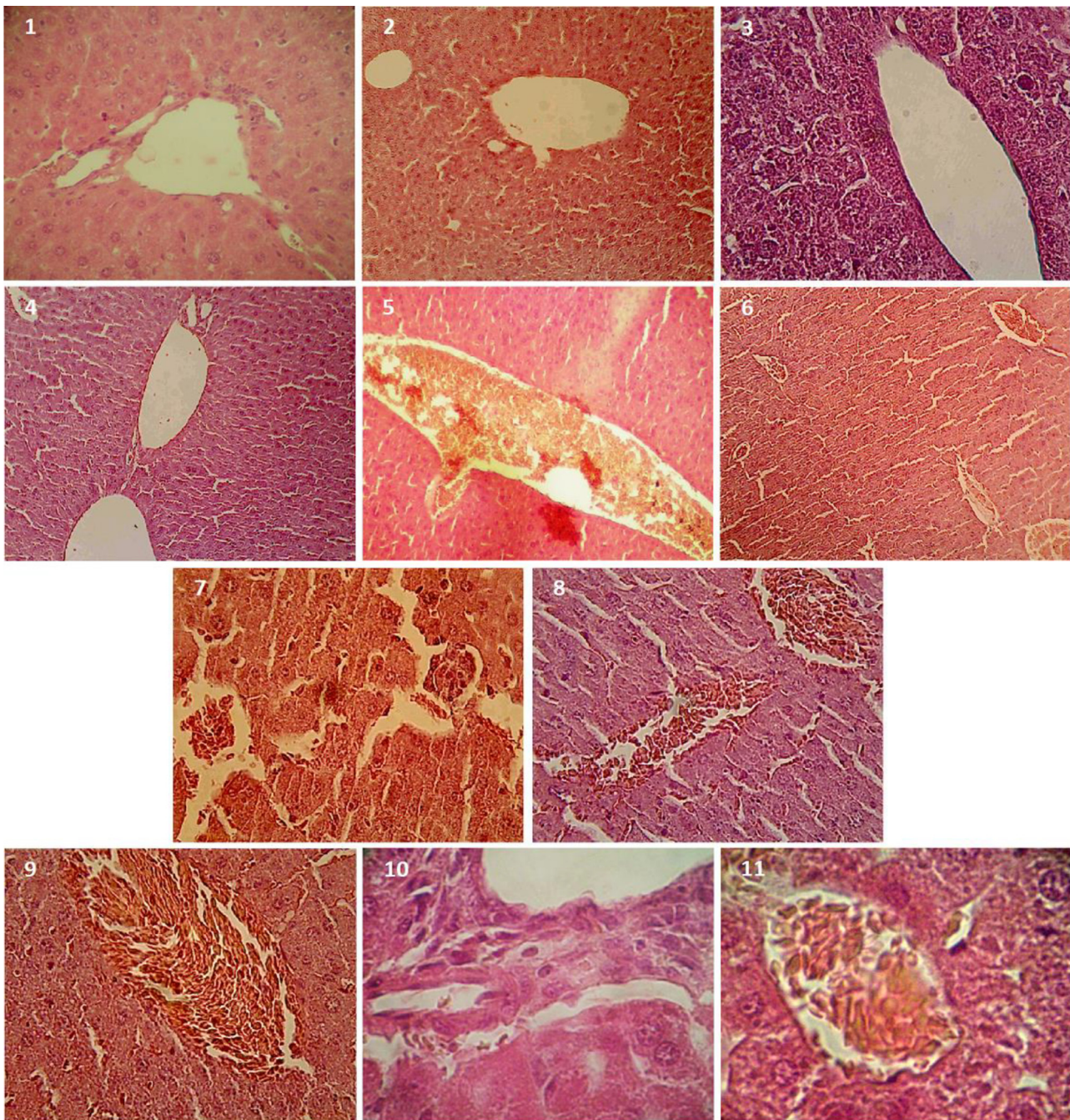


Fig. 2. Hepatic histological sections in male mice from C, GI, GII and GIII groups (H&E stain, $\times 100$, $\times 400$ and $\times 1000$). A photomicrograph of a transversal section of liver in C group showing a preserved hepatic parenchyma structure; slightly dilated sinusoids and normal-sized portal spaces with venous lumen, arterial lumen, and biliary canal (1, $\times 400$). A photomicrograph of a transversal section of liver in GI group 1 month after intramuscular injection of androgen showing a dilation of the sinusoids, expanded portal space with dilation of the portal vein without inflammatory aspect (2, $\times 100$), a dilated central vein, hepatocytes are outsized and their cytoplasm is heterogeneous seems to have distinct intracellular organelles (3, $\times 400$). A photomicrograph of a transversal section of liver in GII group 2 months after intramuscular injection of androgen showing a dilation of the sinusoids, expanded portal space with dilation of the portal vein and biliary canal (4, $\times 100$), a congested central vein too dilated with extravasation of red blood cells and edema (5, $\times 400$) vasocongestion, blood lakes, hyalinization and pyknotic nuclei (6, $\times 400$); more clearly visible (7 and 8, $\times 400$). A photomicrograph of a transversal section of liver in GIII group 3 month after intramuscular injection of androgen showing a congested central vein too dilated and pyknotic nuclei (9, $\times 400$), a dilated portal vein and portal artery, inflammatory infiltrate and edema (10, $\times 1000$), vasocongestion and blood lake, hypertrophy of hepatocytes with a heterogeneous cytoplasm including remarkable intracellular organelles (11, $\times 400$).

features of metabolic syndrome, including hyperlipidemi and insulin resistance. It's associated with imbalance between glucose production and catabolism, lipid formation and breakdown, and cholesterol synthesis and secretion. In males, testosterone works via androgen receptors to decrease glucose uptake and lipogenesis, increase insulin receptor expression and glycogen synthesis, and promote cholesterol

storage in the liver [39]. In accordance, Foletto MP et al. (2015) ported that intramuscular injections of nandrolone decanoate (0.5 mg/kg/week) during four weeks caused a decrease on diameter of adipocytes and in the amount of adipose tissue stored, as well as decreased the plasma levels of glucose and total cholesterol in adult male rats [38]. It is important to note here that hepatic steatosis is one of the risk factors

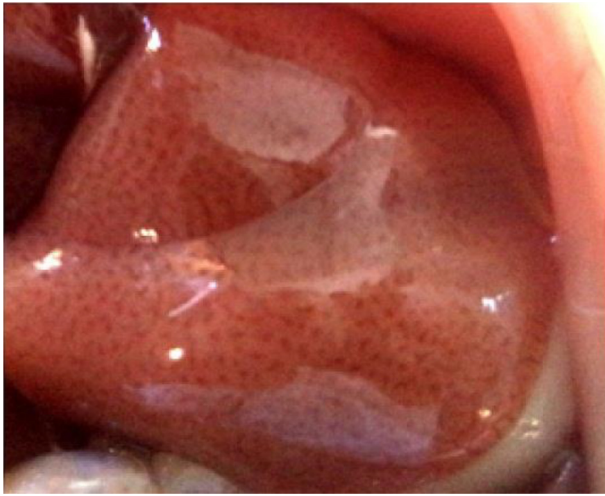


Fig. 3. Photomicrograph of liver in male mice from GVI group. All the animals treated with androgens for 3 months, and then stopped the treatment for 6 weeks, have a visibly spotted liver.

leading to the development of liver cancer [40–42].

In addition, it's admitted that the AAS administration with high dose inhibits gonadal function by the negative retro-control exerts on the hypothalamic-pituitary-gonadal axis by these products [12,17,18]. The gonadal function is not restored immediately after the treatment cessation [4,21], which signifies that the testosterone production remains low at this time. We think that, until the testes recover and begin to manufacture testosterone in an amount sufficient for metabolic functions, the plasma level of androgens decreases and the liver is deprived of androgenic signal, which results in the increase of the lipogenesis and fat accumulation in this organ. According to our proposal, some authors mention the possibility that the interruption of the

androgen treatment may lead to an increase of the adipose tissue stores [38].

On the other hand, it's demonstrated that supraphysiological doses of nandrolone decanoate induces genetic damage in multiple organs [13,15], and are able to disrupt redox balance in organs that can lead to many diseases linked to oxidative stress [7,14,43]. So, the study of do Carmo CA et al. (2012) showed dose-related increase in the frequency of DNA damage in liver cells and other organs at three single tested doses (1.0, 2.5 and 5.0 mg/kg BW) of nandrolone decanoate in adult male Swiss albino mice [13]. Frankenfeld SP et al. (2014) indicate that oxidative stress is linked to the pathophysiology of most of these alterations, being involved in fibrosis, cellular proliferation, tumorigenesis, amongst others. The same authors demonstrated that chronically administered nandrolone decanoate (10 mg/kg of body weight once a week for 8 weeks) is able to disrupt the cellular redox balance in liver, heart and kidney, leading to an oxidative stress stat in Wistar adult male rats [7].

5. Conclusion

Our results reports that the use of AAS for a period of 3 months by only a 10 times supra-therapeutic dose is associated with a lot of deleterious effects on liver with peliosis and hepatic inflammations in male which cannot be reversible. Moreover, these effects worsen again 6 weeks after stopping treatment. Therefore, the periodical cessation of treatment which constitutes a "Cycling" protocol for abusers leads to the development of hepatic steatosis and increases hepatic distress. It can be concluded from the present histopathological results that abusing AAS by "Cycling" for long periods by athletes can induce serious histological damages in liver which may lead to the development of hepatic steatosis before progressing to more serious pathological liver situations such as hepatic carcinoma. So, physicians should take these damages in mind seriously as a predictable and potential complication in liver resulting from abusing these drugs. At the same time, the control and restrictions on these drugs should be increased to

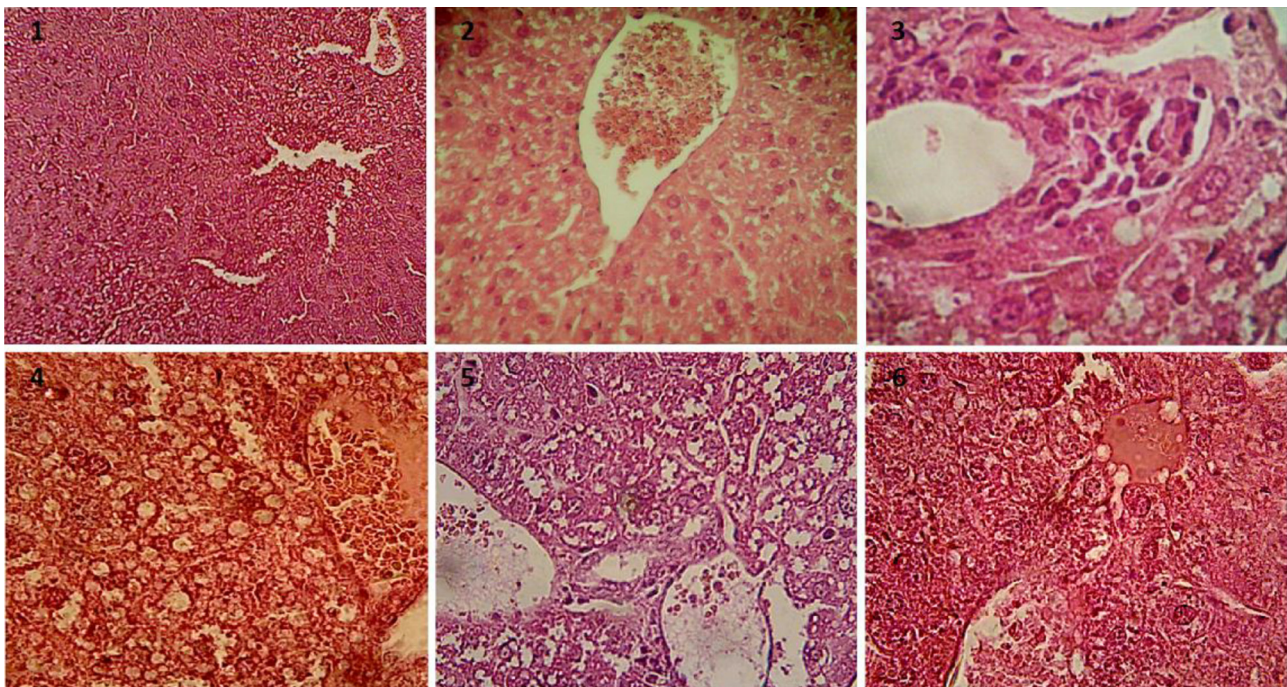


Fig. 4. Hepatic histological sections in male mice from GVI group (H&E stain, $\times 100$, $\times 400$ and $\times 1000$). A photomicrograph of a transversal section of liver in GIV group 3 months after intramuscular injection of androgen followed by six weeks of treatment discontinuation showing deteriorated liver parenchyma architecture (1, $\times 100$), microvesicular steatosis (lipid overload) periportal (in the peripheral of the portal space) (2, $\times 400$), a dilated biliary canal and inflammatory infiltrate (3, $\times 1000$), loss of structure, vasocongestion and vascular hyalinization (4, $\times 400$), fibrous appearance of vascular lumens, edema and inflammatory infiltrate (5, $\times 400$), hyalinization, pyknotic nuclei and areas of cellular degeneration (6, $\times 400$).

prevent the abusers from obtaining these drugs. All these findings are confirming the important deleterious activity as endocrine disruptor on liver for over dose of androgens administration.

Acknowledgements

We would like to acknowledge the technical assistance of all students on the animal work presented in this study.

Conflict of interest statement

The authors declare that they have no competing interests.

Role of the funding source

This work has not been financed; the only funding is that of the main author by his simple means.

Ethical approval

This study was approved by the Department of Biology, Faculty of Nature and Life Sciences, Hassiba Benbouali University of Chlef.

Informed consent

The authors agree to publish this work in this journal.

References

- [1] F. Hartgens, H. Kuipers, Effects of androgenic-anabolic steroids in athletes, *Sports Med.* 34 (8) (2004) 513–554.
- [2] A.T. Kicman, Pharmacology of anabolic steroids, *Br. J. Pharmacol.* 154 (2008) 502–521.
- [3] P. Frati, F.P. Busardò, L. Cipolloni, E. De Dominicis, V. Fineschi, Anabolic androgenic steroid (AAS) related deaths: autptic, histopathological and toxicological findings, *Curr. Neuropharmacol.* 13 (2015) 146–159.
- [4] S. Karbalay-Doust, A. Noorafshan, F.M. Ardekani, H. Mirkhani, The reversibility of sperm quality after discontinuing nandrolone decanoate in adult male rats, *Asian J. Androl.* 9 (2) (2007) 235–239.
- [5] N.A. Hassan, M.F. Salem, M.A.E.L. Sayed, Doping and effects of anabolic androgenic steroids on the heart: histological, ultrastructural, and echocardiographic assessment in strength athletes, *Hum. Exp. Toxicol.* 28 (2009) 273–283.
- [6] S.P. Frankenfeld, L.P. Oliveira, D.L. Ignacio, et al., Nandrolone decanoate inhibits gluconeogenesis and decreases fasting glucose in Wistar male rats, *J. Endocrinol.* 220 (2) (2014) 143–153.
- [7] S.P. Frankenfeld, L.P. Oliveira, V.H. Ortenzi, et al., The anabolic androgenic steroid nandrolone decanoate disrupts redox homeostasis in liver, heart and kidney of male wistar rats, *PLoS ONE* 9 (9) (2014) e102699.
- [8] J.D. Marsh, M.H. Lehmann, R.H. Ritchie, J.K. Gwathmey, G.E. Green, R.J. Schiebinger, Androgen receptors mediate hypertrophy in cardiac myocytes, *Am. Heart Assoc.* 98 (1998) 256–261.
- [9] R.P. Vieira, R.F. França, N.R. Damaceno-Rodrigues, et al., Dose-dependent hepatic response to subchronic administration of nandrolone decanoate, *Med. Sci. Sports Exerc.* 40 (5) (2008) 842–847.
- [10] A.S. Ahmed Bin Bisher, Histopathological evidences of the nephritic pathological alterations induced by the anabolic androgenic drug (Sustanon) in male guinea pigs (*Cavia porcellus*), *Journal of Biological Sciences* 9 (6) (2009) 514–523.
- [11] R.A. Hasso, Histological toxic effect of nandrolone decanoate on the kidney of male rabbits, *MJBU* 27 (1) (2009) 19–22.
- [12] M.A. Naraghi, F. Abolhasani, I. Kashani, et al., The effects of swimming exercise and supraphysiological doses of nandrolone decanoate on the testis in adult male rats: a transmission electron microscope study, *Folia Morphol.* 69 (3) (2010) 138–146.
- [13] C.A. do Carmo, Á.L. Gonçalves, D.M. Salvadori, E.L. Maistro, Nandrolone androgenic hormone presents genotoxic effects in different cells of mice, *J. Appl. Toxicol.* 32 (10) (2012) 810–814.
- [14] D. Cerretani, M. Neri, S. Cantatore, et al., Looking for organ damages due to anabolic androgenic steroids (AAS): is oxidative stress the culprit? *Mini-Rev. Org. Chem.* 10 (4) (2013) 393–399.
- [15] R. Pozzi, K.R. Fernandes, C.F. de Moura, et al., Nandrolone decanoate induces genetic damage in multiple organs of rats, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 64 (3) (2013) 514–518.
- [16] R.T. Cristina, F. Hanganu, D. Brezovan, et al., Cytoarchitecture of steroid dependent target tissues after testosterone administration compared to nandrolone decanoate in castrated rats in the aim of Hershberger bio test, *Rom. J. Morphol. Embryol.* 55 (3) (2014) 1143–1148.
- [17] M.A.E. Ahmed, Amelioration of nandrolone decanoate-induced testicular and sperm toxicity in rats by taurine: effects on steroidogenesis, redox and inflammatory cascades, and intrinsic apoptotic pathway, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 282 (3) (2015) 285–296.
- [18] R. Jannatifar, S. Shokri, A. Farrokhi, R. Nejatbaksh, Effect of supraphysiological dose of Nandrolone Decanoate on the testis and testosterone concentration in mature and immature male rats: a time course study, *Int J Reprod BioMed* 13 (12) (2015) 779–786.
- [19] A.E. Rosca, I. Stoian, C. Badiu, et al., Impact of chronic administration of anabolic androgenic steroids and taurine on blood pressure in rats, *Braz. J. Med. Biol. Res.* 49 (6) (2016) e5116.
- [20] A.R. Mohammed, G.M. Al-Galad, A.A. Abd-Elgayd, M.A. Mwaheb, H.M. Elhanbuli, Effect of nandrolone decanoate (anabolic steroid) on the liver and kidney of male albino rats and the role of antioxidant (antox-silymarin) as adjuvant therapy, *J. Drug Metab. Toxicol.* 8 (1) (2017) 224.
- [21] A. Kahal, R. Allem, Reversible effects of anabolic steroid abuse on cyto-architectures of the heat, kidneys and testis in adult male mice, *Biomed. Pharmacother.* 106 (2018) 917–922.
- [22] S.A. Biagher, J.L. Boyer, Peliosis hepatis associated with androgenic-anabolic steroid therapy: a severe form of hepatic injury, *Ann. Intern. Med.* 81 (5) (1974) 610–618.
- [23] M. Pärssinen, U. Kujala, E. Vartiainen, S. Sarna, T. Seppälä, Increased premature mortality of competitive powerlifters suspected to have used anabolic agents, *Int. J. Sports Med.* 21 (2000) 225–227.
- [24] R. Hartung, J. Gerth, R. Fünfstick, H.J. Gröne, G. Stein, End-stage renal disease in a bodybuilder: a multifactorial process or simply doping? *Nephrol. Dial. Transplant.* 16 (1) (2001) 163–165.
- [25] L. Socas, M. Zumbado, O. Pérez-Luzardo, 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.* 39 (2005) e27.
- [26] A. D'Andrea, P. Caso, G. Salerno, et al., Left ventricular early myocardial dysfunction after chronic misuse of anabolic androgenic steroids: a Doppler myocardial and strain imaging analysis, *Br. J. Sports Med.* 41 (2007) 149–155.
- [27] T. Hildebrandt, S. Shope, E. Varangis, D. Klein, D.W. Pfaff, R. Yehuda, Exercise reinforcement, stress, and β -endorphins: an initial examination of exercise in anabolic-androgenic steroid dependence, *Drug Alcohol Depend.* 139 (2014) 86–92.
- [28] O. Barbosa Neto, G.R. da Mota, C.C. De Sordi, et al., Long-term anabolic steroids in male bodybuilders induce cardiovascular structural and autonomic abnormalities, *Clin. Auton. Res.* 28 (2) (2018) 231–244.
- [29] M.R. Graham, B. Davies, F.M. Grace, A. Kicman, J.S. Baker, Anabolic steroid use: patterns of use and detection of doping, *Sports Med.* 38 (6) (2008) 505–525.
- [30] M.K. Pesola, Reversibility of the haemodynamic effects of anabolic steroids in rats, *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.* 58 (1–2) (1988) 125–131.
- [31] A. Urhausen, T. Albers, W. Kindermann, Are the cardiac effects of anabolic steroid abuse in strength athletes reversible? *Heart* 90 (2004) 496–501.
- [32] M. Marocolo, J.A. Silva-Neto, Neto O. Barbosa, Acute interruption of treatment with nandrolone decanoate is not sufficient to reverse cardiac autonomic dysfunction and ventricular repolarization disturbances in rats, *Steroids* 132 (2018) 12–17.
- [33] M.E.A. El-Halwagy, S.H. Abd-Alrahman, R.H. Mahmoud, et al., Impact of chronic androgenic steroid exposure on liver toxicity, *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 9 (2) (2016) 2652–2659.
- [34] A.M. Shalaby, N.G. Bahey, Reversal of the hepatic damage induced by the supra-physiological dose of nandrolone decanoate after its withdrawal in the adult male rat, *Tissue Cell* 53 (2018) 44–52.
- [35] M. Sanchez-Osorio, A. Duarte-Rojo, B. Martinez-Benitez, A. Torre, M. Uribe, Anabolic androgenic steroids and liver injury, *Liver Int.* 28 (2) (2008) 278–282.
- [36] A.A. Gadallah, H.A. El-Ghawet, D.A. Sabry, Deca durabolin (Nandrolone Decanoate) impair structure and function of liver, prostate and pituitary of male wistar rats, *J. Pharmacol. Rep.* 2 (3) (2017) 137–142.
- [37] R. Solimini, M.C. Rotolo, L. Mastrobattista, et al., Hepatotoxicity associated with illicit use of anabolic androgenic steroids in doping, *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 21 (1) (2017) 7–16.
- [38] M.P. Foletto, F. Ferrari, S.B. Peres, S.M.F. Moraes, T.M. Segatelli, C.E.M. Costa, Effects of anabolic steroid treatment associated with physical training in adipose tissue of male Wistar rats, *Acta Scientiarum. Health Sci.* 37 (1) (2015) 19–24.
- [39] M. Shen, Shi H. Sex, Hormones and their receptors regulate liver energy homeostasis, *Int. J. Endocrinol.* ID 294278, 12 (2015) pages.
- [40] S.H. Caldwell, D.M. Crespo, H.S. Kang, A.M. Al-Osaimi, Obesity and hepatocellular carcinoma, *Gastroenterology* 127 (5 Suppl 1) (2004) S97–S103.
- [41] N.C. Chávez-Tapia, N. Méndez-Sánchez, M. Uribe, Role of nonalcoholic fatty liver disease in hepatocellular carcinoma, *Ann. Hepatol.* 8 (Suppl 1) (2009) S34–S39.
- [42] D. Issa, N. Alkhouri, Nonalcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma: new insights on presentation and natural history, *Hepatobiliary Surg Nutr.* 6 (6) (2017) 401–403.
- [43] M. Salerno, O. Cascio, G. Bertozzi, et al., Anabolic androgenic steroids and carcinogenicity focusing on Leydig cell: a literature review, *Oncotarget* 9 (27) (2018) 19415–19426.

ANNEXES

ANNEXE I :

Les tableaux des valeurs individuelles et des tests statistiques

1. Poids corporel (en g)

	A 1	A 2	A 3	A 4	A 5	A 6	A 7	A 8	Moy	Ecat T	ESM	gain (%)	P
T	32,30	40,00	34,00	37,20	33,10	24,90	36,30	39,40	34,65	4,84	1,83	-	
GI	23,00	33,00	37,00	31,20	33,30	34,40	36,00	30,40	32,29	4,36	1,65	-6,82	0,3222
GII	30,00	35,50	32,20	35,00	30,00	32,70	30,10	28,00	31,69	2,64	1,00	-1,86	0,7439
GIII	46,00	41,00	39,40	41,00	41,50	39,00	35,30	40,60	40,48	2,98	1,13	27,73	0,0000
GVI	45,60	45,00	46,20	46,60	49,00	45,00	43,40	46,00	45,85	1,61	0,61	13,28	0,0005

2. Poids cardiaque (en g)

	A 1	A 2	A 3	A 4	A 5	A 6	A 7	A 8	Moy	Ecat T	ESM	gain (%)	P
T	0,19	0,22	0,24	0,20	0,18	0,18	0,19	0,19	0,20	0,02	0,01	-	
GI	0,25	0,19	0,21	0,18	0,19	0,20	0,21	0,19	0,20	0,02	0,01	1,89	0,7317
GII	0,15	0,24	0,21	0,20	0,23	0,20	0,18	0,26	0,21	0,03	0,01	3,09	0,6738
GIII	0,22	0,21	0,23	0,23	0,20	0,22	0,19	0,30	0,23	0,03	0,01	7,78	0,3568
GVI	0,25	0,24	0,25	0,25	0,26	0,28	0,21	0,22	0,25	0,02	0,01	8,89	0,1792

3. Poids gonadique (en g)

	A 1	A 2	A 3	A 4	A 5	A 6	A 7	A 8	Moy	Ecat T	ESM	gain (%)	P
T	0,11	0,1	0,11	0,11	0,11	0,1	0,11	0,12	0,11	0,01	0,00	-	
GI	0,061	0,08	0,09	0,08	0,07	0,07	0,09	0,09	0,08	0,01	0,00	-27,47	0,0000
GII	0,08	0,06	0,07	0,08	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,01	0,00	-9,67	0,1129
GIII	0,06	0,07	0,07	0,07	0,07	0,06	0,06	0,07	0,07	0,01	0,00	-7,02	0,1080
GVI	0,09	0,09	0,08	0,09	0,09	0,06	0,07	0,11	0,09	0,02	0,01	28,30	0,0051

4. Taux plasmatiques des ALAT (en UI/l)

	A 1	A 2	A 3	A 4	A 5	A 6	A 7	A 8	Moy	Ecat T	ESM	gain (%)	P
T	3,50	5,83	4,08		17,5	13,125	2,63	1,75	6,92	6,01	2,27	-	
GI	105,00	8,75	5,83	4,08	157,5	75,83		140,00	71,00	65,86	26,89	926,51	<u>0,0248</u>
GII	183,75	81,67	49,00		70,00	30,62	105,00	81,67	85,96	49,40	18,67	21,07	0,6394
GIII	113,75		105,00	198,33	143,50	137,67	144,08	161,88	143,46	30,95	11,70	66,89	<u>0,0228</u>
GVI	20,13	23,33	23,92	24,50	9,63	12,25	14,00		18,25	6,18	2,33	-87,28	<u>0,0000</u>

5. Taux plasmatiques des ASAT (en UI/l)

	A 1	A 2	A 3	A 4	A 5	A 6	A 7	A 8	Moy	Ecat T	ESM	gain (%)	P
T		8,75	23,33		23,33	58,33	46,67	32,08	32,08	17,88	8,00	-	
GI	11,67	56,875	37,92	23,33	26,25	93,33			41,56	29,63	13,25	29,55	0,5174
GII			148,75	35,00	40,83	17,50	105,00	56,88	67,33	49,78	22,26	61,99	0,3015
GIII	166,25	40,83	14,58	14,58	78,75	126,88	61,25	20,42	65,44	55,98	21,16	-2,80	0,9491
GVI	3,50	10,50	53,08	35,00	8,75	55,13	3,50	7,00	22,06	22,20	8,39	-66,30	0,0609

6. Epaisseurs des myofibres cardiaques (en μm)

	Témoins	GI	GII	GIII	GIV
A1	6,9079375	4,6671825	5,8519925	5,8519925	5,8519925
	7,87626	4,6671825	4,8326525		
	9,406265	6,1467625	4,1447625		
	9,406265	6,1786475	5,087325		
	6,6003925	5,9235075	3,1788875		
	6,0686325	3,7984425	4,495625		
	4,451705		5,065205		
	5,0262625		5,69643		
A2	7,53008				
	6,20132	5,5919925	3,1788875	5,40307	4,70313
	8,7699925	3,9434725	4,264925	4,70313	3,4983825
	6,3798125	4,88465	3,0893225	3,90772	2,6490725
	6,3754125	5,2609275		4,0349475	3,8205475
	8,94116	4,2186025		2,6806725	3,746355
	11,09326	5,885475			3,9434725
	10,5803925	5,0262625			4,2385175
A3	10,0664775				
	6,6385575	3,8205475			5,40307
	4,6918525	3,52237			3,746355
	5,4496275	4,2186025			3,52237
A4	5,2609275	5,885475			3,791045
		6,3754125			
	6,6385575	6,2194	5,9235075	3,8571075	
	5,51109	6,1467625	3,4983825	2,8432825	
	12,3686475	4,264925	4,1919025		
	12,5108075	4,9757475			
	9,7693	3,7984425			
A5	9,2406725				
	9,7693				
		3,8278875	5,7308225		2,010505
		5,5919925	5,020675		2,892225
		3,701125	5,6320075		4,137985
		3,88611	4,2715025		3,6089675
			3,1164625		2,6490725
A6			4,356095		3,39247
					3,5855575
		4,76244	6,1513275	3,080225	2,5629
		4,42641	4,6005475	5,885475	2,93079
		3,325615	4,0349475	5,2341825	
		3,0893225	4,02101	4,356095	
		3,3508425	3,7087025	4,5576375	
A7		3,90752		5,298145	
		3,5855575			
	7,82262	5,7650075	3,4499025	3,746355	3,4499025
	9,897755	5,2341825	4,0349475	2,51871	2,010505
	7,2062575	3,88611	3,1788875	3,52237	2,701535
	8,0194175	3,791045	5,4700175	3,39247	2,763175
	8,5594175	5,21807		4,451705	3,90772
	8,6247575	3,554105		3,187705	
	6,2194	3,8571075			
A8		3,317165			
		5,2341825			
		3,3001975			
	9,2163375	6,6343275	7,2062575	5,7308225	3,9434725
	6,7351075	4,99826	3,6167375	4,055765	5,41345
	6,29567	6,8712675	6,5061575	3,5619925	3,52237
	5,17488	4,264925	4,99826	4,0902225	2,85314
			5,966005	3,685925	4,2715025
				4,738805	5,5769125
				4,2715025	4,349645
				2,5629	
				4,137985	
				4,2186025	
Moyenne	7,77698942	4,68336599	4,63444353	4,17214935	3,67687778
Écart Type	2,08522235	1,04863299	1,09546288	0,95847077	0,94837019
ESM	0,33390281	0,1482991	0,18787033	0,18797158	0,1580617
Dif en %		-39,78	-1,04	-9,98	-11,87

7. Tailles des noyaux des cardiomyocytes (en μm^2)

	Témoins	G1	GII	GIII	GIV
A1	33,252	16,626	34,565	28,002	52,503
	20,121	21,001	28,439	24,939	50,316
	12,251		38,502	28,002	50,316
	31,939			55,566	42,444
	9,626			40,69	
	24,939			60,816	
A2	38,502		21,439	46,815	55,566
	37,19		34,127	41,565	49,878
	36,752		30,189	30,189	44,628
			21,439		44,19
			21,876		44,19
					39,377
A3					35,444
	30,627		35,002	68,692	
	32,377		29,314	59,504	
	25,377		25,377	51,628	
	22,314		22,314	21,001	
				15,751	
A4	21,876		28,877	51,191	
	37,19		23,189	44,19	
	27,127		19,689	24,064	
	17,064				
	11,376				
A5			38,94		47,253
			38,502		45,94
			37,19		30,627
			29,314		
A6		29,314		26,252	
		20,126		24,502	
		37,19		22,751	
		21,439		22,314	
				22,314	
				20,564	
				12,688	
				30,189	
A7				17,939	
	23,189		31,939		67,397
	39,815		23,626		67,817
	25,377				52,066
	17,501				
A8	36,315				
	25,377	32,815		62,129	
	35,002	33,252		54,253	
	33,69	25,814		50,753	
	21,439	28,439			
	15,313				
moy	26,9483333	25,5753636	29,2309048	36,5259655	48,23247059
Ecartyp	8,78357364	7,22228986	6,40879768	16,3889016	9,901636127
ESM	1,69039953	1,86478722	1,85006053	4,94143975	2,985455622

8. Nombre des noyaux des cardiomyocytes par mm^2

	Témoins	G1	G2	G3	G4
A1	27	3	12	12	18
A2	33	3	27	21	24
A3	33	9	15	15	3
A4	33	6	15	3	12
A5		6	12	21	12
A6		21	21	6	12
A7	33	36	9	9	12
A8	18	51		12	3

moy	29,5	16,875	15,8571429	12,375	12
Ecartyp	6,12372436	17,8520707	8,00780869	6,50137348	6,98978847
ESM	2,5	7,28807735	3,26917421	2,65417461	2,85356919

9. Nombre des noyaux des fibroblastes s par mm²

	Témoins	G1	G2	G3	G4
A1	45	42	21	45	21
A2	60	18	33	36	54
A3	36	33	39	9	42
A4	72	21	18	42	51
A5		24	21		45
A6		12	15	18	36
A7	57	24	15	27	51
A8	15	30		24	27
moy	47,5	25,5	23,1428571	28,7142857	40,875
Ecartyp	20,2064346	9,35032467	9,28131764	13,0602997	11,9933017
ESM	8,24924239	3,30583899	3,50800833	4,9363293	4,24027248

10.. Nombre des noyaux des cellules endothéliales par mm² :

	Temoin	G1	G2	G3	G4
A1		36	39	24	27
A2	42	42	78	60	45
A3	60	21	51	33	42
A4	69	18	45	39	93
A5		36	45		39
A6		18	39	69	30
A7	36	33	36	69	36
A8	72	57		33	39
moy	34,875	32,625	41,625	40,875	43,875
Ecartyp	30,2347955	13,4582688	21,4205342	23,9966516	20,7187803
ESM	13,5214116	6,01872079	9,57955412	10,7316288	9,26572023

11. Diamètre des tubes séminifères (en µm) :

	Témoïn	G1	G2	G3	G4
A1	179,6163	144,80608	127,87008	105,55633	165,8089
	190,30659	146,66314	130,2925	129,58644	171,63891
	189,52659	154,55191	139,36298	129,54372	146,70135
	190,40455	159,29111	146,57519	114,82679	182,12452
	179,67355	188,03661	124,1218	113,87664	191,066
	169,90439	156,06045	136,32256	102,4884	173,81205
	190,00925	162,81389	132,3536	164,49126	152,95729
	178,95423	180,39645	124,23258	121,24125	160,50458
	182,25514	143,81342	142,36235	117,28215	194,82123
	179,14867	145,96236	168,32258	114,57473	167,07258
A1	190,53327	154,87258	136,32256	129,72388	152,2398
	190,66688	149,28321	125,43801	109,77701	147,64909

	190,52935	159,11235	124,5882	125,875	193,25863
	164,74538	161,25324	134,44743	122,66099	181,86555
	162,23854	142,57125	141,20488	159,88956	180,06533
	190,30659	159,58369	131,01363	111,785	193,0042
	173,76543	163,58325	133,64253	103,69684	172,58364
	193,12948	149,54875	123,62999	108,74254	194,78365
	177,96481	149,58358	135,24234	102,35231	196,87999
	188,83927	160,03258	137,85365	139,99789	180,68678
	165,08524	160,00358	142,202	119,33933	165,98661
A1	178,17093	149,85325	121,31916	109,64077	199,372236
	176,25532	145,25785	148,81465	133,05845	148,08314
	192,78628	153,69258	125,08524	146,51462	158,04411
	163,54157	164,21415	143,09991	106,94237	186,34546
	165,08524	142,56451	135,69358	109,32139	143,02569
	193,38497	142,56451	138,79258	114,57895	158,96657
	196,74313	156,42154	128,96238	161,32188	155,10778
	162,51899	144,23365	138,8125	116,94235	167,50574
A1	173,99051	152,68954	133,67328	120,36324	149,49402
	152,53404	164,50145	138,77806	125,55663	141,62365
	169,78389	145,67154	133,22188	102,42612	162,17385
	167,466814	149,58358	131,37086	114,82679	179,13258
	179,14873	160,03128	126,101	122,46849	143,21485
	168,03873	150,02897	121,37881	113,4844	155,78125
	173,15281	156,24397	135,28835	128,00124	164,87325
	193,78369	160,25874	133,42176	110,62215	173,02154
A1	181,66364	152,64187	132,58654	101,58248	184,58258
	169,52368	149,47258	124,8302	113,15128	142,58235
	186,13402	162,47321	131,7024	113,15128	153,69254
	Moy	179,032762	154,855556	134,008365	120,281574
Ecat type	11,3285182	9,69042602	8,87137122	15,8458803	17,5745863
ESM	1,79119601	1,53219089	1,40268695	2,50545367	2,77878608

12. Espace de la lumière des tubes séminifères (en μm^2) :

	Témoin	G1	G2	G3	G4
A1	4424,274	2984,135	1985,41	1904,118	3325,206
	6202,385	2822,15	2555,158	1008,062	1694
	5040,312	3710,23	0	245,015	1806,112
	4578,284	1778,11	2527,157	144,09	3542,22
	5362,332	3290,356	805,05	1015,063	434,27
	6041,375	2912,181	1058,128	0	2296,142
	4326,268	4025,369	1162,072	1127	2730,169
	4242,263	3724,231	1778,11	0	1974,122
	6580,408	3627,255	1478,154	1207,083	329,02
A2	4424,274	2792,111	1988,123	0	3276,203
	6216,385	2003,125	1985,41	1004,118	1106,069
	6153,382	3023,229	2555,158	1008,062	3255,206
	4907,304	1953,123	0	245,015	1794
	5306,329	2786,173	2527,157	144,09	1806,112
	6289,489	2058,128	805,05	1015,063	3252,22
	4437,213	2268,141	1058,128	0	634,27
	4963,308	1999,068	1162,072	11003,257	2296,142
	5978,371	2016,125	1778,11	1236,425	2730,169
A3	4808,236	3304,205	1478,154	1207,083	1975,122
	4263,24	2541,158	1988,123	0	1929,02
	5600,347	2384,135	1885,41	910,056	3276,203
	4787,235	2922,15	1955,158	868,056	2106,069
	4403,273	3528,23	0	0	2219,138
	4263,264	1758,475	2527,157	1692,241	1928,089
	5216,385	3256,356	805,05	0	2306,069
	4133,382	2968,181	1058,128	0	1255,206
	4927,304	3936,369	1162,072	0	1794
A4	5306,329	3236,231	1778,11	924,057	1806,112
	4289,489	3695,255	1478,154	0	3252,22
	4637,213	2968,111	1988,123	0	534,27
	5263,308	2025,125	1985,41	987,061	2296,142
	4878,371	3055,759	2555,158	1155,072	1930,169
A4	4638,236	1963,123	0	0	1975,122
	42563,24	2458,123	2327,157	0	1929,02
	5600,347	2125,128	925,05	777,048	3006,203

	4523,235	2785,141	1058,128	1008,076	2206,069
	4453,233	2139,068	1123,072	917,013	1819,138
	4547,264	2366,125	1878,11	0	1923,089
	5635,235	3254,205	1423,154	217,013	2506,155
	4936,253	2531,158	2088,123	1064,066	1127,07
MOYENE	5978,70938	2774,37628	1516,8862	850,832575	2084,53368
Ecat type	5971,5005	644,106209	746,422403	1739,17617	821,760309
ESM	944,177132	101,842134	118,019744	274,987898	129,931713

13. Nombre de spermatozoïdes par tube séminifère :

	Témoin	G1	G2	G3	G4
A1	192	120	69	67	68
	200	146	65	62	67
	252	189	54	42	68
	240	187	59	49	58
	244	200	68	48	64
	216	165	59	55	52
	257	98	57	47	59
	287	89	51	49	58
	268	154	45	43	60
A2	345	204	65	41	59
	216	175	68	52	101
	176	147	90	35	61
	184	175	88	44	57
	240	208	86	28	99
	228	120	98	32	59
	180	164	74	46	78
	253	214	92	51	71
	196	175	98	56	68
A3	181	158	80	36	76
	167	112	58	39	87
	251	113	87	36	98
	195	107	87	45	89
	247	115	64	32	93
	89	80	72	44	82
	96	78	68	24	72
	186	120	59	49	89
	169	107	78	38	85
A4	254	205	74	0	99
	174	98	0	0	87
	196	81	0	0	0
	298	102	81	54	91
	187	141	72	54	97
	206	124	87	62	70
	264	105	68	27	59
	265	214	90	49	97
	169	98	85	50	98
MOYENE	189	154	108	81	98
	154	116	90	60	77
	287	187	75	56	66
	102	98	67	58	60
	212,5	141,075	70,9	43,525	74,425
	54,575753	42,2285524	21,7889645	16,947865	19,5996958
	8,62918423	6,6769204	3,44513779	2,67969274	3,09898401
	Ecat type	42,2285524	21,7889645	16,947865	19,5996958
	ESM	6,6769204	3,44513779	2,67969274	3,09898401

14. Taille des noyaux des cellules de Leydig (en μ^2) :

	Témoin	G1	G2	G3	G4
A1	19,754	14,148	12,452	6,619	10,698
	17,711	13,145	13,547	6,651	13,265
	17,487	14,325	12,784	8,262	12,147
	18,365	13,158	11,761	6,541	11,145
	19,369	14,158	11,547	7,145	13,365
	17,254	15,578	12,548	6,685	12,159
	18,365	15,874	11,487	7,365	13,851
	17,357	14,487	12,154	5,451	12,587
	18,368	15,145	10,154	6,142	13,698

	17,365	14,458	11,654	6,311	12,254
A2	17,365	12,948	12,652	5,874	11,254
	18,324	14,154	11,201	6,654	11,547
	19,388	13,658	12,654	7,415	12,365
	19,748	14,987	11,695	6,398	13,658
	19,365	13,947	10,655	7,971	11,154
	17,657	14,784	11,456	6,324	12,154
	18,548	14,587	10,12	5,698	11,154
	19,568	13,598	12,136	7,157	12,154
	18,254	14,889	11,651	6,458	11,154
	17,324	13,254	10,158	6,493	12,587
A3	18,377	13,958	12,698	5,148	12,147
	17,669	14,587	11,369	6,985	12,548
	17,684	13,699	11,478	6,914	12,789
	18,698	12,658	11,325	7,142	12,698
	19,325	12,963	10,329	6,268	11,658
	18,3655	14,365	10,698	6,985	11,658
	17,365	13,874	12,658	6,929	12,658
	18,889	13,658	11,298	5,875	12,658
	17,321	12,578	11,369	6,369	11,624
	17,857	15,458	12,698	7,258	12,157
A4	18,997	14,698	10,325	7,147	12,158
	18,147	14,698	11,698	6,987	11,157
	19,365	14,636	11,657	6,651	12,698
	17,248	13,658	12,369	7,352	12,654
	18,698	13,698	11,458	5,362	11,125
	17,154	14,695	10,698	5,951	12,157
	18,745	15,875	11,698	6,843	11,158
	18,599	14,214	12,367	7,321	13,365
	19,784	14,547	11,587	6,324	12,989
	17,368	14,369	10,368	6,326	13,587
MOYENE	18,3147875	14,2042	11,615275	6,643775	12,249825
Ecat type	0,83829041	0,81917079	0,85540514	0,6654457	0,84046425
ESM	0,13254535	0,12952227	0,13525143	0,1052162	0,13288907

ANNEXE II :

ILLUSTRATIONS DU MATERIEL HISTOLOGIQUE

LABORATOIRE DE DR SADAT



Figure : Déshydratation et inclusion dans la paraffine par l'automate « Leica » et confection des blocs pour les 120 échantillons (des coupes histologiques sont réalisées pour quelques organes dans ce même laboratoire)

LABORATOIRE DE DR FELLAGUE

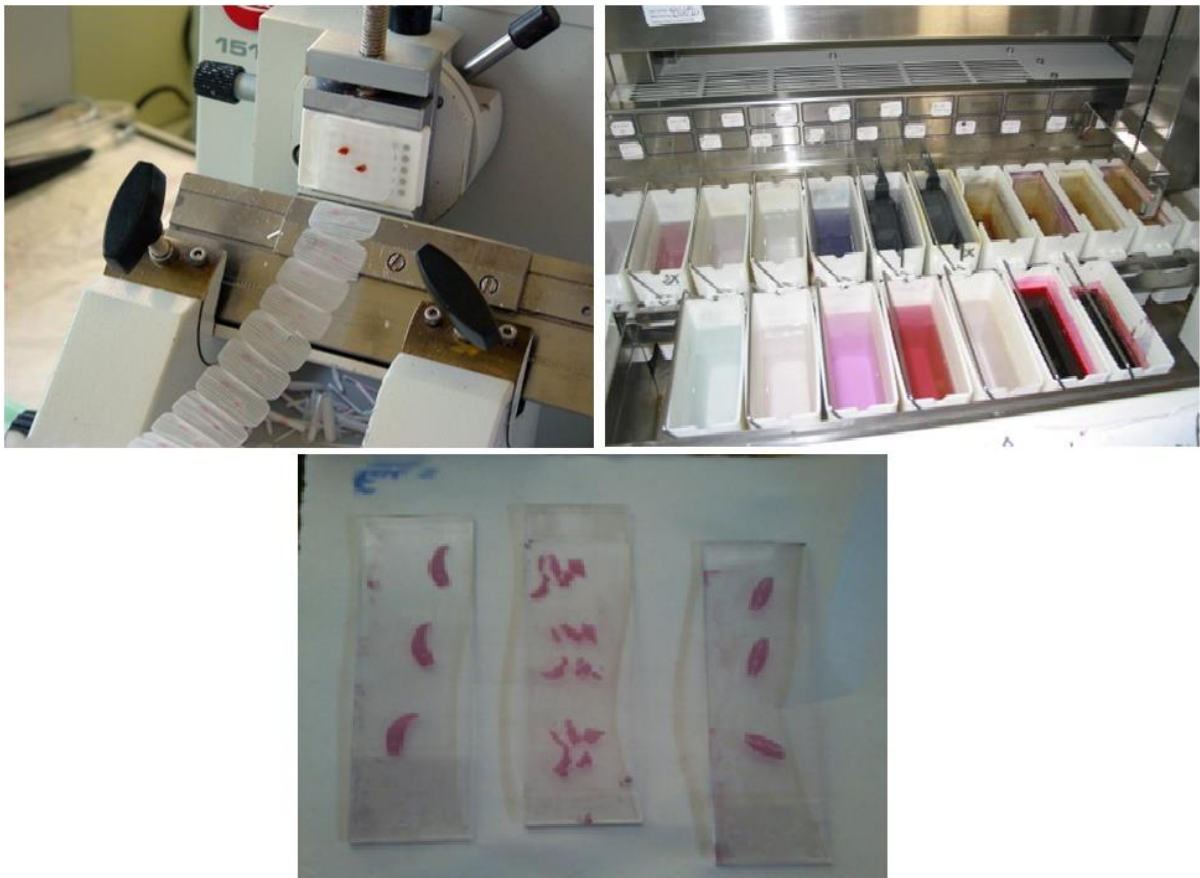


Figure : Coupes et colorations en Hématoxyline Eosine de quelques échantillons du foie

LABORATOIRE DE DR TORKIA

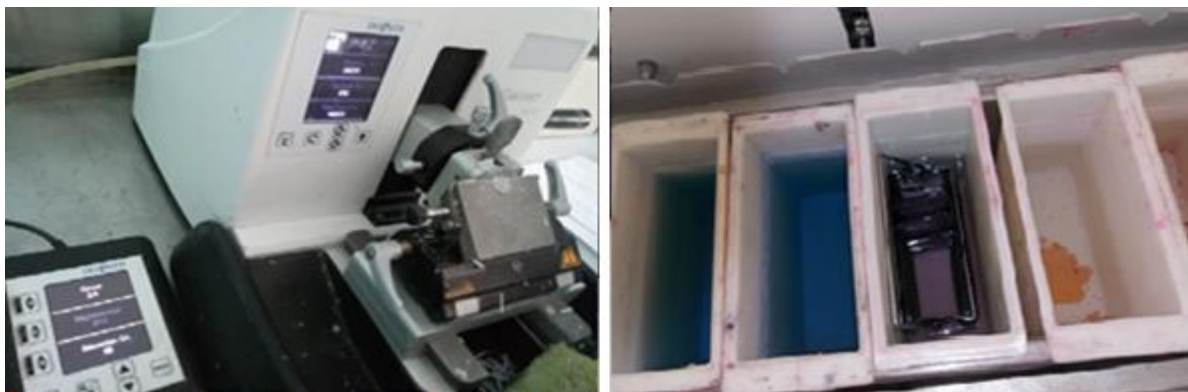


Figure : Coupes et colorations en Hématoxyline Eosine de quelques échantillons du testicule

LABORATOIRE DE L'HOPITAL DE BAB ELOUED



Figure : Coupes, colorations en Hématoxyline Eosine et lecture microscopique pour l'ensemble des échantillons du cœur

ANNEXE III :

PRODUIT ANDROGENIQUE ADMINISTRE A NOS SOURIS



Deca Durabolin 50mg/ml (solution injectable)

ANNEXE IV :

LISTE DES AGENTS ANABOLISANTS ANDROGENIQUES INTERDITS PAR L'AMA (JANVIER 2020)



Le texte officiel de la Liste des interdictions sera tenu à jour par l'AMA et publié en anglais et en français.
Le texte anglais fera office de texte de référence entre les deux versions.
Cette liste entrera en vigueur le 1^{er} janvier 2020.

SUBSTANCES ET MÉTHODES INTERDITES EN PERMANENCE

(EN ET HORS COMPÉTITION)

EN CONFORMITÉ AVEC L'ARTICLE 4.2.2 DU CODE MONDIAL ANTIDOPAGE, TOUTES LES SUBSTANCES INTERDITES DOIVENT ÊTRE CONSIDÉRÉES COMME DES « SUBSTANCES SPÉCIFIÉES » SAUF LES SUBSTANCES DANS LES CLASSES S1, S2, S4.4, S4.5, S6.A, ET LES MÉTHODES INTERDITES M1, M2 ET M3.

SUBSTANCES INTERDITES

S0 SUBSTANCES NON APPROUVÉES

Toute substance pharmacologique non incluse dans une section de la Liste ci-dessous et qui n'est pas actuellement approuvée pour une utilisation thérapeutique chez l'Homme par une autorité gouvernementale réglementaire de la santé [par ex. médicaments en développement préclinique ou clinique ou médicaments discontinués, médicaments à façon, substances approuvées seulement pour usage vétérinaire] est interdite en permanence.

S1 AGENTS ANABOLISANTS

Les agents anabolisants sont interdits.

1. STÉROÏDES ANABOLISANTS ANDROGÈNES (SAA)

lorsqu'ils sont administrés de manière exogène, y compris, mais sans s'y limiter:

1-Androstènediol [5 α -androst-1-ène-3 β ,17 β -diol];
1-Androstènedione [5 α -androst-1-ène-3,17-dione];
1-Androstérone [3 α -hydroxy-5 α -androst-1-ène-17-one];
1-Épiandrostérone [3 β -hydroxy-5 α -androst-ène-17-one];
1-Testostérone [17 β -hydroxy-5 α -androst-1-ène-3-one];
4-Androstènediol [androst-4-ène-3 β ,17 β -diol];
4-Hydroxytestostérone [4,17 β -dihydroxyandrost-4-ène-3-one];
5-Androstènedione [androst-5-ène-3,17-dione];
7 α -hydroxy-DHEA;
7 β -hydroxy-DHEA;
7-Keto-DHEA;
19-Norandrostènediol [estr-4-ène-3,17-diol];
19-Norandrostènedione [estr-4-ène-3,17-dione];
Androstanolone [5 α -dihydrotestostérone, 17 β -hydroxy-5 α -androst-3-one];
Androstènediol [androst-5-ène-3 β ,17 β -diol];
Androstènedione [androst-4-ène-3,17-dione];
Bolastérone;
Boldénone;
Boldione [androsta-1,4-diène-3,17-dione];
Calustérone;
Clostébol;

Danazol [[1,2]oxazolo[4',5':2,3]prégna-4-ène-20-yn-17 α -ol];
Déhydrochlorméthyltestostérone [4-chloro-17 β -hydroxy-17 α -méthylandrosta-1,4-diène-3-one];
Désoxyméthyltestostérone [17 α -méthyl-5 α -androst-2-ène-17 β -ol et 17 α -méthyl-5 α -androst-3-ène-17 β -ol];
Drostanolone;
Épiandrostérone [3 β -hydroxy-5 α -androstane-17-one];
Épi-dihydrotestostérone [17 β -hydroxy-5 β -androstane-3-one];
Épitéstostérone;
Éthylestréol [19-norprégna-4-ène-17 α -ol];
Fluoxymestérone;
Formébolone;
Furazabol [17 α -méthyl[[1,2,5]oxadiazolo[3',4':2,3]-5 α -androstane-17 β -ol];
Gestrinone;
Mestanolone;
Mestérolone;
Métandiénone [17 β -hydroxy-17 α -méthylandrosta-1,4-diène-3-one];
Métérolone;
Méthandriol;
Méthastérone [17 β -hydroxy-2 α ,17 α -diméthyl-5 α -androstane-3-one];
Méthyl-1-testostérone [17 β -hydroxy-17 α -méthyl-5 α -androst-1-ène-3-one];
Méthylclostébol;
Méthylidiénonolone [17 β -hydroxy-17 α -méthylestra-4,9-diène-3-one];
Méthylnortestostérone [17 β -hydroxy-17 α -méthylestr-4-en-3-one];
Méthyltestostérone;
Métribolone [méthyltriénonolone, 17 β -hydroxy-17 α -méthylestra-4,9,11-triène-3-one];
Mibolérone;
Nandrolone [19-nortestostérone];
Norbolénone;
Norclostébol [4-chloro-17 β -ol-est-4-en-3-one];
Noréthandrolone;
Oxabolone;
Oxandrolone;
Oxymestérone;

Oxymétholone;

Prastérone [déhydroépiandrostérone, DHEA,

3 β -hydroxyandrost-5-ène-17-one];

Prostanozol [17 β -[[tétrahydropyrane-2-yl]oxy]-1'H-pyrazolo[3,4:2,3]-5 α -androstane];

Quinbolone;

Stanozolol;

Stenbolone;

Testostérone;

Tétrahydrogestrinone [17-hydroxy-18 α -homo-19-nor-17 α -préna-4,9,11-triène-3-one];

Trenbolone [17 β -hydroxyestr-4,9,11-triène-3-one];

et autres substances possédant une structure chimique similaire ou un [des] effet[s] biologique[s] similaire[s].

2. AUTRES AGENTS ANABOLISANTS

Incluant sans s'y limiter :

Clenbutérol, modulateurs sélectifs des récepteurs aux androgènes [SARMs par ex. andarine, LGD-4033 [ligandrol], enobosarm [ostarine] et RAD140], tibolone, zéranol et zilpatérol.

S2 HORMONES PEPTIDIQUES, FACTEURS DE CROISSANCE, SUBSTANCES APPARENTÉES ET MIMÉTIQUES

Les substances qui suivent, et les autres substances possédant une structure chimique similaire ou un [des] effet[s] biologique[s] similaire[s], sont interdites :

1. Érythropoïétines [EPO] et agents affectant l'érythropoïèse, incluant sans s'y limiter :

1.1 Agonistes du récepteur de l'érythropoïétine, par ex.

Darbépoétine [dEPO];

Érythropoïétines [EPO];

Dérivés d'EPO [par ex. EPO-Fc, méthoxy polyéthylène glycol-époétine bêta [CERA]];

Agents mimétiques de l'EPO et leurs dérivés par ex.

CNTO-530 et péginasatide.

1.2 Agents activateurs du facteur inductible par l'hypoxie [HIF] par ex.

Cobalt;

Daprodustat [GSK1278863];

Molidustat [BAY 85-3934];

Roxadustat [FG-4592];

Vadadustat [AKB-6548];

Xénon.

1.3 Inhibiteurs de GATA, par ex.

K-11706.

1.4 Inhibiteurs de la signalisation du facteur transformateur de croissance- β [TGF β], par ex.

Luspatercept;

Sotatercept.

1.5 Agonistes du récepteur de réparation innée, par ex.

Asialb-EPO;

EPO carbamylée [CEPO].

الملخص : يؤدي تعاطي الأستروجينات إلى تغيرات نسيجية خطيرة . هدفا هو دراسة الآثار السلبية لإساءة استخدام ديكا دورابولين (Deca Durabolin) ولا سيما على هياكل القلب ، الكلى ، الخصيتين و الكبد . أجريت دراستنا على 40 فار من الذكور البالغين ، تم تقسيم هذه الحيوانات إلى خمس مجموعات من ثمان حيوانات على النحو التالي: تعاطي Deca Durabolin (ناندرولون ديكانوات) 30 غ / كغ من وزن الجسم ، مرة واحدة في الأسبوع لمدة شهر واحد للمجموعة I (GI)؛ شهرين (GII) ؛ ثلاثة أشهر (GIII) ؛ ثلثة أشهر تليها ستة أسابيع من وقف العلاج (GIV) ومجموعة مراقبة (C). تم اتباع المعلومات المورفومترية أثناء العلاج بالإضافة إلى فحص لترانسامينات الكبد (أو إنزيمات الكبد) في الدم ، تم إجراء فحوصات مورفومترية نسيجية لتحديد مسار الأضرار النسيجية في أنسجة القلب ، الكلى ، الخصية و الكبد . أظهرت النتائج أن الحيوانات المعالجة قد تقبلت المادة العلاجية جيدا. كانت الزيادة في قوة العضلات ونقص العدوان أبرز الملاحظات في المجموعات المعالجة على المدى الطويل. بالإضافة إلى ذلك، تزايد وزن الجسم والقلب مع زيادة فترة العلاج وحتى بعد توقف العلاج. أظهرت دراستنا كذلك تغييرات كبيرة وفقدان تنظيم التركيب النسيجي للقلب والكلى والخصيتين في حيوانات GIII. تصبح هذه الأضرار أسوأ في القلب والكلى بعد ستة أسابيع من التوقف عن العلاج، وفي الوقت نفسه ، تقوم بإصلاح نفسها بشكل غير كامل في الخصيتين. في الكبد، أظهرت دراستنا زيادة في مستويات إنزيمات الكبد (ALT وAST) في الدم مصحوبة بتغييرات كبيرة في أنسجة الكبد مع تطور بيليوس (Pélioise) بعد شهرين من العلاج. يزداد هذا الضرر سوءا بعد ستة أسابيع من التوقف عن العلاج و ينتهي بتطور تراكم دهني (Stéatose) و تجلط مع تنظيم ليفي متطور، وهو ما يشير إلى الزيادة في معاناة الكبد. في الختام ، تؤكد هذه النتائج أن استخدام عوامل البناء الأندروجينية كمنشط يرتبط بالعديد من الآثار الضارة غير القابلة للتصحيح على أنسجة القلب، الكلى، الغدد التناسلية و الكبد.

الكلمات المفتاحية: عوامل البناء الأندروجينية ، المنشطات ، القلب ، الكلى ، الخصية ، الكبد ، الأنسجة.

Résumé : L'abus en anabolisants androgènes entraîne de graves altérations histopathologiques. Notre objectif est l'étude des effets négatifs de l'abus en Deca-Durabolin en particulier sur les structures du cœur, des reins, des testicules et du foie. L'étude a été réalisée sur 40 souris mâles adultes divisés en cinq groupes de huit traités par le Deca-Durabolin (décanoate de nandrolone) à 30 g / kg de poids corporel, une fois par semaine pendant un mois pour le groupe I (GI); deux mois (GII); trois mois (GIII); trois mois suivis par six semaines d'arrêt du traitement (GIV) et un groupe contrôle (C). Des paramètres morphométriques ont été suivis au cours du traitement en plus d'un dosage sanguin des transaminases hépatiques. Des examens histologiques morphométriques ont été effectués pour déterminer l'évolution des dommages histopathologiques dans les tissus cardiaques, rénaux, testiculaires et hépatiques. Les résultats ont montré que les animaux traités supportaient très bien la substance administrée. L'augmentation de la force musculaire et l'absence d'agressivité étaient les notes les plus remarquables dans les groupes traités à long terme. De plus, les gains des poids corporel et cardiaque augmentent avec la durée du traitement et même davantage après l'arrêt du traitement. Notre étude a montré aussi d'importants changements dégénératifs et une désorganisation de la structure histologique du cœur, des reins et des testicules chez les animaux du GIII. Les lésions s'aggravent dans le cœur et les reins six semaines après l'arrêt du traitement ; elles se réparent d'une façon incomplète dans les testicules. Dans le foie, notre étude a montré une augmentation des taux plasmatiques d'enzymes hépatiques (ALAT et ASAT) accompagnée de modifications dégénératives importantes du tissu hépatique avec l'évolution d'une pélioise après deux mois de traitement. Ces dommages s'aggravent six semaines après l'arrêt du traitement par le développement d'une stéatose microvésiculaire périportale et une thrombose avec une organisation fibro-hyaline bien évoluées qui indiquent l'augmentation de la détresse hépatique. En conclusion, ces résultats confirment que l'utilisation des SAAs pour le dopage est associée à de nombreux effets délétères irréversibles sur les tissus cardiaques, rénaux, gonadiques et hépatiques.

Mots clés : anabolisant androgénique, dopage, cœur, rein, testicule, foie, cyto-architecture.

Abstract : Abuse of anabolic androgens leads to serious histopathological changes. Our aim is to study the negative effects of abuse of Deca-Durabolin, in particular on the structures of the heart, kidneys, testicles and liver. The study was performed on 40 male adult mice. Animals were divided into five groups of eight animals each as follows: treated by Deca-Durabolin (nandrolone decanoate) at 30g/kg of BW, weekly during one month for the group I (GI); two months (GII); three months (GIII); three months followed by six weeks of treatment discontinuation (GIV) and Control (C). Morphometric parameters were followed during treatment in addition to a blood test for liver transaminases. Histometric morphometric examinations were carried out to determine the course of histopathological damage in the cardiac, renal, testicular and hepatic tissues. Results showed that the treated animals supported very well the administrated substance. The increase in muscle strength and the absence of aggression were the most noticeable traits in longer-term treated groups. In addition, the gains in body and heart weights increase with duration of treatment and even more after stopping treatment. Our study showed important degenerative changes and disorganization of the histological structure of heart, kidney and testis in the animals of GIII. These damages worsen again 6 weeks after stopping treatment in heart and kidney, and repairs incompletely in the testis. In the liver, our study showed as well an increase in plasma levels of liver enzymes (ALT and AST) accompanied by significant degenerative changes in liver tissue with the evolution of peliosis after two months of treatment. This damage worsens six weeks after stopping treatment and ends with the development of periportal microvesicular steatosis and thrombosis with a well-developed fibro-hyaline organization which indicating increased liver distress. In conclusion, these results confirmed that the use of AAS for doping is associated with a lot of irreversible deleterious effects on the cardiac, nephritic, gonadic and hepatic tissues.

Keywords: androgenic drugs, doping, heart, kidney, testis, liver, cyto-architecture.