

Administração de femproporex em ratas exercitadas: efeitos fisiológicos e implicações do uso desta substância na obesidade

Veridiana Mota Moreira*^a, Luiz Delmar da Costa Lima^b,
Dayse das Neves Moreira^c, Guilherme da Silva Caleffi^d,
Renato Souza e Silva^e, Clarice Yoshiko Sibuya^f

^{a,b}Avenida das Rosas s/n, Bairro Sol Nascente, Quirinópolis, GO, Brasil, UEG, E-mail: veridiana.moreira@ueg.br

^{c,d}Centro de Ciências Agrárias, Campus II, Areia, PB, Brasil, UFP, E-mail: daysemoreira@cca.ufpb.br

^eRua Quatro de Março, 432, Centro, Taubaté, SP, UNITAU, E-mail: renatomedsport@hotmail.com

^fAvenida 24 A, 1515, Rio Claro, SP, Brasil, UNESP, E-mail: clarice@rc.unesp.br

Recebido em 12 08 2013, Aceito para publicação em 23 08 2013, Disponível online dia 29 09 2013.

Resumo

Este trabalho teve por objetivo analisar os efeitos do treinamento físico de natação e da utilização de femproporex sobre parâmetros somáticos e bioquímicos de ratas jovens. Aleatoriamente, os animais foram divididos em 4 grupos experimentais sendo eles grupo controle, grupo controle treinado, grupo treinado medicado e grupo medicado mantidos em gaiolas apropriadas sob condições controladas de umidade, temperatura, ciclo claro/escuro (12h/12h), tendo livre acesso a água e ração própria para roedores durante todo o experimento. As ratas medicadas receberam por sonda gástrica (1mL/100 g peso corporal) solução fisiológica acrescida de duas ampolas de femproporex enquanto que as controles receberam apenas a solução fisiológica. As ratas treinadas foram submetidas a 5 semanas de natação, 5 dias por semana e 1 hora por dia, em tanques coletivos medindo 61 cm de largura e 68 cm de comprimento. Ao final do período experimental foram submetidas aos seguintes procedimentos experimentais: determinação dos teores séricos de glicose, colesterol total (CT) e proteínas totais (PT), e, determinação da massa das adrenais, da gordura perirenal e do peso corporal. Os resultados foram expressos em média±desvio padrão e analisados pelo teste t de Student para amostras independentes. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. Os resultados demonstraram que houve um aumento na carga estressora imposta pela medicação quando a massa das adrenais de ratas medicadas foi significativamente maior que a das congêneres controles. No que diz respeito ao teor de proteínas totais, o treinamento pelo qual as ratas foram submetidas parece ter produzido efeito contrário, evidenciado pelo menor teor deste substrato na corrente sanguínea quando comparadas ao grupo controle. O óbito de animais no período experimental pode justificar, pelo menos em parte, as discrepâncias nos resultados de um modo geral. O tempo de treinamento a que foram expostas pode não ter sido suficiente para promoção de adaptações somáticas e bioquímicas. Desta forma, mais estudos são necessários para se elucidar os efeitos isolados e associados do exercício físico e do femproporex sobre o metabolismo e sobre a composição corporal de ratas jovens e a extrapolação destes para com a espécie humana.

Palavras-chave: ratas, anfetamina, exercício físico, natação.

Abstract

This study aimed to analyze the effects of physical training in swimming and the use of fenproporex on somatic and biochemical parameters in young rats. Randomly, the animals were divided into four experimental groups (Control Group, Trained Control, Trained Medicated Group and Medicated Group) and kept in polyethylene cages under controlled conditions of humidity, temperature, light/dark cycle (12h/12h), with free access to water and food for rodents itself throughout the experiment. The rats medicated received by gavage (1mL/100 g body weight) saline plus two ampoules fenproporex while controls received only saline. The rats trained were subjected to 5 weeks of swimming, 5 days per week and 1 hour per day on the collective tanks measuring 61 cm wide and 68 cm long. At the end of the experiment were subjected to the following experimental procedures: determining the levels of serum glucose, total cholesterol (TC) and total protein (TP), and determination of the mass of the adrenals, the kidney fat and weight body. Results were expressed as mean \pm SD and analyzed by Student's t test for independent samples. The level of significance was set at $p < 0.05$. The results showed that there was an increase in the load of stress imposed by the drug when the mass of the adrenal glands of rats medicated was significantly greater than that of matched controls. With regard to the protein content, the training for which the rats were submitted seems to have produced the opposite effect, evidenced by lower levels of this substrate in the bloodstream compared to the control group. The death of animals in the experimental period can be justified, at least in part, the discrepancies in the results in general. The training time at which they were exposed may not have been sufficient to promote somatic and biochemical adaptations. Thus, more studies are needed to elucidate the effects of isolated and associated exercise and fenproporex on the metabolism and the body composition of young rats and extrapolation of these towards the human species.

Keywords: rats, amphetamine, exercise, swimming.

Introdução

O tratamento da obesidade fundamenta-se nas intervenções para modificação do estilo de vida, na orientação dietoterápica, no aumento da atividade física e em mudanças comportamentais. No entanto, o percentual de pacientes que não obtêm resultados satisfatórios com medidas conservadoras é alto. Tendo em vista que a obesidade e o sobrepeso cronicamente acarretam complicações e alta mortalidade, quando não há perda de peso com a adoção das medidas não farmacológicas, o uso de medicamentos deve ser considerado ^(1, 2).

A obesidade é uma enfermidade crônica ⁽¹⁻⁵⁾. O tratamento medicamentoso não cura a mesma, mas pode controlar a doença e diminuir as comorbidades. O uso de medicamentos no tratamento da obesidade e sobrepeso está indicado quando houver falha do tratamento não farmacológico em pacientes com IMC igual ou superior a 30 kg/m², IMC igual ou superior a 25 kg/m² associado a outros fatores de risco, como a hipertensão arterial, diabetes tipo 2, hiperlipidemia, apneia do sono, osteoartrose, gota, entre outras, com circunferência abdominal maior ou igual a 102 cm (homens) e 88 cm (mulheres) ^(1, 3, 6).

Não existe droga totalmente eficaz e segura. Os medicamentos catecolaminérgicos estão no mercado há 40 anos e foram lançados no mercado em uma época na qual períodos de avaliação tão longos não eram exigidos. Na prática clínica, entretanto, têm se mostrados seguros e eficazes, quando bem indicados. Não há evidências científicas da eficácia e segurança do uso de formulações magistrais para o tratamento da obesidade e sobrepeso ^(1, 2).

No Brasil, atualmente, há cinco medicamentos registrados para o tratamento da obesidade: anfepramona (dietilpropiona), femproporex, mazindol, sibutramina e orlistate ^(1, 2, 4). O femproporex é um anorexígeno de ação catecolaminérgica, que atua nos centros da fome e saciedade no hipotálamo sendo utilizado na terapêutica da obesidade desde a década de 70 ^(1, 3, 7). Existem poucos estudos controlados publicados sobre o seu uso, com variações das doses utilizadas e dos critérios de avaliação da perda de peso ^(1, 4). Aproximadamente 30% do femproporex administrado é convertido em anfetamina e facilmente identificado na urina mesmo após 4-5 dias ⁽⁷⁾.

O femproporex tem efeitos colaterais que podem ser tolerados, tais como inquietude, nervosismo, irritabilidade, insônia, agressividade, psicose, transtorno obsessivo-compulsivo, transtorno de ansiedade generalizada e pânico ^(1, 3, 7) podendo ser indicado em adultos sem doença cardiovascular ou doenças psiquiátricas associadas. É contraindicado em pacientes com distúrbios psiquiátricos, pacientes com hipertensão arterial não controlada, história de doença cardiovascular, incluindo doença arterial coronariana (DAC), acidente vascular encefálico (AVE), arritmias cardíacas e insuficiência cardíaca congestiva ⁽¹⁾.

O tratamento farmacológico da obesidade e do sobrepeso, em qualquer faixa etária, deve ser feito por médicos com larga experiência no manejo da doença e com conhecimento dos mecanismos e efeitos adversos dos medicamentos. Para sucesso no respectivo tratamento, independente do medicamento escolhido, é imprescindível a manutenção das medidas não farmacológicas, com a orientação dietoterápica, incentivo a prática de atividade física e às mudanças no estilo de vida^(1-4, 6).

A literatura dispõe de uma série de procedimentos validados com protocolos de exercício utilizando animais de laboratório, especificamente ratos, para promover adaptações fisiológicas ao estresse, quer sejam aeróbias, anaeróbias ou neuromusculares^(5, 8, 9). Exercícios de alta intensidade resultam em maiores incrementos na atividade de biomarcadores hormonais que respondem ao esforço como ACTH, cortisol e catecolaminas⁽⁸⁾. Períodos prolongados de atividade elevada de glicocorticóides podem desencadear respostas indesejáveis ao organismo, como resistência à insulina, supressão do sistema imunológico e do eixo hipotálamo-hipófiseadrenal, bem como o aumento na incidência de doenças cardiovasculares^(8, 10, 11).

Levando-se em consideração os pressupostos supracitados, este trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos do treinamento físico de natação e da utilização de femproporex sobre parâmetros somáticos e bioquímicos de ratas jovens.

Materiais e Métodos

O experimento foi realizado de acordo com a legislação brasileira sobre o uso científico de animais (lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008). Aleatoriamente, os animais foram divididos em 4 grupos experimentais (Grupo Controle= GC; Controle Treinado= CT; Treinado Medicado= TM e Grupo Medicado= GM) e mantidos em gaiolas de polietileno medindo 37,0 x 31,0 x 16,0 cm (máximo de 5 animais por gaiola), no biotério do Laboratório de Biodinâmica do Curso de Educação Física da UNESP-Rio Claro SP, sob condições controladas de umidade, temperatura, ciclo claro/escuro (12h/12h), tendo livre acesso a água e ração própria para roedores durante todo o experimento.

Os grupos TM e GM receberam por sonda gástrica (1mL/100 g peso corporal) solução fisiológica (NaCl 0,9%) acrescida de duas ampolas de femproporex enquanto

que as controles (GC e CT) receberam apenas a solução fisiológica. Os grupos CT e TM foram submetidas a 5 semanas de natação, 5 dias por semana e 1 hora por dia, em tanques coletivos medindo 61 cm de largura e 68 cm de comprimento. Após uma etapa de adaptação ao meio líquido sem carga adicional as mesmas nadaram com a utilização de contrapesos de chumbo presos ao tronco através de um elástico, equivalentes a 5% do peso corpóreo. A água foi mantida em profundidade de 41 cm, em temperatura ajustada a $32^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$.

Ao final do período experimental foram submetidas aos seguintes procedimentos experimentais: determinação por método colorimétrico dos teores séricos de glicose, CT e PT, e, determinação da massa das adrenais, da gordura perirenal e do peso corporal⁽¹²⁾. Os resultados foram expressos em média e desvio padrão e analisados pelo teste t de Student para amostras independentes. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. As análises estatísticas foram feitas utilizando-se o programa "SPSS *Statistics* 20.0.0".

Resultados

Os dados apresentados na Tabela 1 demonstraram que, neste estudo, houve um aumento na carga estressora imposta pela medicação quando a massa das adrenais das ratas medicadas foi significativamente maior que a das congêneres controles.

Tabela 1- Parâmetros somáticos dos animais ao final do experimento em repouso.

	GC	GT	TM	GM
Massa adrenais (mg)	28±5 (n=4)	32±7 (n=9)	38±6 (n=5)	35±4* (n=9)
Gordura perirenal (g)	1,99±1,1 (n=4)	1,7±0,62 (n=9)	1,19±0,59 (n=5)	2,38±1,17 (n=9)
Peso corporal (g)	284,7±26,1 (n=4)	304,8±30,7 (n=9)	287,5±25,8 (n=5)	275,6±34,6 (n=9)

*Indica diferença estatística significativa ($p < 0,05$) em relação ao grupo controle (GC).

Não houve diferença estatística significativa no peso corporal e no peso da gordura perirenal ao final de 5 semanas de exposição ao femproporex e ao protocolo de natação.

O treinamento pelo qual as ratas foram submetidas parece ter produzido efeito contrário nas concentrações séricas de proteínas totais (PT) evidenciado na Tabela 2, pelo menor teor deste substrato quando comparadas ao grupo controle.

Tabela 2 – Concentração dos parâmetros bioquímicos dos animais ao final do experimento em repouso.

	GC	GT	TM	GM
Proteínas Totais (g/L)	5,19±0,23 (n=4)	4,77±0,17* (n=9)	4,73±0,1 (n=5)	4,91±0,28 (n=9)
Glicose (mg/100 mL)	133,3±27,6 (n=4)	131,5±24,6 (n=9)	141,3±20,5 (n=5)	136,7±26,2 (n=9)
Colesterol Total (mg/dL)	103±11 (n=4)	111±25 (n=9)	111±26 (n=5)	93±8 (n=9)

*Indica diferença estatística significativa ($p < 0,05$) em relação ao grupo controle (GC).

Discussão

A hiperfagia por estresse é um conceito utilizado para episódios de ingestão de alimentos não relacionada com a sensação de fome, mas sim com um mal estar psicológico por aborrecimentos, angústia ou dificuldade para solução de problemas^(7, 13). Cerca de 60% de pessoas expostas ao estresse psicológico, imaturidade, traços de personalidade bipolar, transtorno de ansiedade generalizada, insônia entre outros padecem de hiperfagia⁽⁷⁾. O estresse crônico, em conjunto com altas concentrações de glicocorticóides geralmente diminui o ganho de peso corporal em ratos. O contrário é evidenciado nos seres humanos estressados ou deprimidos onde episódios repetidos de estresse induzem ao aumento da ingestão alimentar⁽¹⁴⁾.

Os corticosteróides estimulam comportamentos que são mediados por vias dopaminérgicas de "recompensa" aumentando a ingestão alimentar e a palatibilidade em ratos^(15, 16). Na ausência de corticosteroides em ratos adrenalectomizados tais efeitos são normalizados quando se oferece soluções de sacarose via oral⁽¹⁵⁾. Quando a alimentação é mantida constante e pareada com grupo controle, a perda de peso é a mesma no grupo que recebeu o princípio ativo e no grupo que não recebeu ou que recebeu placebo. Esse tipo de estudo foi um dos primeiros estudos realizados, com anfetamina em animais^(6, 17-19).

Neste experimento a ingestão alimentar não foi verificada nem foi quantificada a produção hormonal, no entanto, a exposição ao estresse (exercício/femproporex) não levou a redução significativa do peso corporal nas ratas como evidenciado no estudo de Dallman⁽¹⁴⁾. A não restrição alimentar em nenhum dos grupos estudados pode explicar, pelo menos em parte, a manutenção do peso corporal encontrada⁽¹⁷⁾.

Parece provável que o ACTH elevado, provocado por uma tensão contínua e a adrenalectomia unilateral tem contribuído para o crescimento das glândulas supra-renais (hipertrofia celular seguida por hiperplasia)^(20, 21). Embora neste experimento não se tenha dosado o ACTH nem feito adrenalectomia, as ratas não exercitadas, mas que receberam diariamente o femproporex apresentaram hipertrofia das supra-renais evidenciado pelo peso desta glândula significativamente maior quando comparadas às ratas não medicadas. Não foi encontrada diferença estatística entre os grupos no que diz respeito ao peso da gordura perirenal.

Os valores de parâmetros fisiológicos dos animais de experimentação são determinados em países com longa tradição na manutenção de biotérios⁽²²⁾. Entretanto, ações metabólicas periféricas de alguns fármacos anorexígenos parecem não ser tão bem compreendidas como, por exemplo, o efeito inibitório da anfetamina sobre a lipólise, o qual tem sido encontrado em ratos, muito embora o comportamento do receptor adrenérgico no tecido adiposo seja bem diferente quando comparado à espécie humana⁽²³⁾.

Após sete dias de tratamento com femproporex ratas jovens apresentaram visível redução no ganho de peso (cerca de 50%) para três doses testadas (4, 8 e 16 mg/Kg). Os níveis de ferro livre, CT e creatinina estavam aumentados (cerca de 27%, 40% e 45%,

respectivamente)⁽²⁴⁾. Em modelo experimental para o desenvolvimento da obesidade, camundongos e ratos foram tratados com anfetamina (4 mg/Kg) via oral durante 12 dias levando a uma redução estatisticamente significativa da ingestão alimentar e do peso corporal. Não houve modificações nas concentrações séricas dos lipídios totais, TAGs e CT nos ratos⁽²⁵⁾, o que vai ao encontro dos achados desta pesquisa quando não identificou diferenças nos valores bioquímicos referentes ao perfil lipídico entre os grupos de estudo. Cabe ressaltar que no estudo de Dumeur et al.⁽²⁵⁾ o modelo experimental consistia no desenvolvimento da obesidade, diferente do protocolo desta pesquisa.

No músculo esquelético, a corticosterona age diretamente promovendo a degradação protéica, principalmente nos músculos brancos ricos em fibras glicolíticas. Essa rápida mobilização de aminoácidos a partir das reservas musculares torna-os disponíveis tanto como fonte energética quanto para a síntese de outros compostos. Isso, embora útil na preservação da homeostase, implica prejuízo da função muscular. Dessa forma, o exercício agudo/crônico em modelos animais pode ocasionar altos níveis de estresse nos mesmos, podendo interferir nos resultados esperados do treinamento. Tal situação mostra a relevância da identificação do nível de estresse do animal durante o exercício^(8, 26) e vai ao encontro dos achados deste experimento que evidenciou uma diminuição nos níveis séricos de proteínas totais nos animais submetidos ao treinamento físico de natação quando comparados aos congêneres sedentários. Não houve diferença estatística nas concentrações séricas de glicose entre os grupos experimentais.

Cabe ressaltar que resultados só podem ser generalizados em determinadas condições específicas de estudo, com a mesma linhagem de ratos, idade e dieta, assim como a metodologia, que poderiam interferir nos resultados^(22, 27).

Conclusões

A partir do modelo experimental proposto foi possível evidenciar que ratas medicadas com femproporex apresentam maior peso das glândulas supra-renais quando comparadas às não medicadas e que ratas exercitadas apresentaram uma diminuição na concentração de proteínas totais séricas quando comparadas ao grupo controle.

Mais estudos com um número maior de sujeitos são necessários para se elucidar as possíveis discrepâncias encontradas nos parâmetros fisiológicos avaliados.

Referências

- (1) ABESO-SBEM. Atualização das Diretrizes para o Tratamento Farmacológico da Obesidade e do Sobrepeso. ABESO 76. 2010:1-15.
- (2) Lima MP, Larrosa CRR. Uma breve discussão sobre a regulamentação dos anorexígenos no Brasil. Goiânia: IFAR/PUC-GO; 2013. p. 1-16.
- (3) Coutinho W. Consenso latino-americano de obesidade. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia. 1999;43:21-67.
- (4) Faggiani FT. O uso de drogas com efeito indutor do ganho de peso afeta a perda ponderal de pacientes obesos? [Trabalho de Conclusão de Curso]. Porto Alegre: UFRGS; 2011.
- (5) Geremias TA. Efeitos do β -Hidroxi- β -Metilbutirato (HMB) sobre a lipólise e metabolismo da glicose em tecido adiposo de ratos. [Dissertação]. Curitiba: UFPR; 2013.
- (6) Mancini MC, Halpern A. Tratamento medicamentoso atual. Einstein. 2006 (Suppl 1):S53-S65.
- (7) Fragoso WV. Fenproporex en el tratamiento de la obesidad y la hiperfagia por estrés. Revista Latinoamericana de Psiquiatria. 2012;11(2):46-51.
- (8) Martín G, Antón S. Tratamiento farmacológico de la obesidad. del Sistema Nacional de Salud. 2002;26(5):117-27.
- (9) Pitanga FJG. Epidemiologia, atividade física e saúde. Rev Bras Ciên e Mov. 2002;10(3):49-54.
- (10) Contarteze RVL, Machado FB, Gobatto CA, Mello MAR. Biomarcadores de estresse em ratos exercitados por natação em intensidades igual e superior à máxima fase estável de lactato. Revista Brasileira de Medicina do Esporte. 2007;13:169-74.
- (11) Ferreira ACD. Suplementos alimentares: adequabilidade à legislação e efeitos metabólicos em ratos [Dissertação]. João Pessoa: UFPB; 2010.

- (12) Inder WJ, Hellemans J, Swanney MP, Prickett TC, Donald RA. Prolonged exercise increases peripheral plasma ACTH, CRH, and AVP in male athletes. *Journal of applied physiology*. 1998 Sep;85(3):835-41.
- (13) Smilios I, Pilianidis T, Karamouzis M, Tokmakidis SP. Hormonal responses after various resistance exercise protocols. *Physical Fitness and Performance*. 2003;35(4):644-54.
- (14) Nogueira DM, Strufaldi B, Hirata MH, Abdalla DSP, Hirata RDC. *Métodos de Bioquímica Clínica-técnica e interpretação*. São Paulo: Pancast; 1990.
- (15) Dallman MF. Stress-induced obesity and the emotional nervous system. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*. 2010 Mar;21(3):159-65.
- (16) Dallman MF, Pecoraro N, Akana SF, La Fleur SE, Gomez F, Houshyar H, et al. Chronic stress and obesity: a new view of "comfort food". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2003 Sep 30;100(20):11696-701.
- (17) Dallman MF, Pecoraro NC, La Fleur SE, Warne JP, Ginsberg AB, Akana SF, et al. Glucocorticoids, chronic stress, and obesity. *Progress in brain research*. 2006;153:75-105.
- (18) Dallman MF, Warne JP, Foster MT, Pecoraro NC. Glucocorticoids and insulin both modulate caloric intake through actions on the brain. *The Journal of physiology*. 2007 Sep 1;583(Pt 2):431-6.
- (19) Harris SC, Ivy AC, Searle LM. The mechanism of amphetamine-induced loss of weight. *JAMA*. 1947;134:468-75.
- (20) Mancini MC, Halpern A. Tratamento Farmacológico da Obesidade. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*. 2002;46:497-512.21.
- (21) Mancini MC, Halpern A. Pharmacological treatment of obesity. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*. 2006;50:377-89.
- (22) Akana SF, Shinsako J, Dallman MF. Drug-induced adrenal hypertrophy provides evidence for reset in the adrenocortical system. *Endocrinology*. 1983 Dec;113(6):2232-7.
- (23) Dallman MF. Control of adrenocortical growth in vivo. *Endocrine research*. 1984;10(3-4):213-42.

- (24) Araújo Dantas J, Ambiel CR, Cuman RKN, Baroni S, Bersani-Amado CA. Valores de referência de alguns parâmetros fisiológicos de ratos do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá, Estado do Paraná. *Acta Sci Health Sci.* 2006;28(2):165-70.
- (25) Dubost M, Escousse A, Mounie J, Truchot R. Peripheral effects of the amphetamine-type anorectic drugs: inhibition of catecholamine-induced lipolysis, respiration, glucose utilization in the adipose tissue of man and rat. *Proceedings of the BPS. University of Dijon: Laboratory of Medical Pharmacology;* 1976. p. 436-7.
- (26) Pires AS, Fonseca JC. Administração de cloridrato de femproporex por sete dias em ratas wistar promove redução no potencial antioxidante total do plasma além de significativa alteração em parâmetros bioquímicos avaliados. Livro de resumos do Salão de Iniciação Científica UFRGS: Porto Alegre, RS. 2010.
- (27) Dumeur G, Hüe B, Lwoff JM, Mouries MA, Tremblay D. Activity of anorectic drugs (amphetamine), amfepramone and UP 507-04 on two models of obesity in animals. *Proceedings of the BPS. Research Department, UPSA Laboratories.*1976. p. 436-7.