

# AVALIAÇÃO DOS EFEITOS PROMOVIDOS PELA SIBUTRAMINA, ASSOCIADA OU NÃO À NICOTINA, NOS TECIDOS REPRODUTIVOS DE RATAS ALBINAS

## ASSESSMENT OF THE EFFECTS PROMOTED BY SIBUTRAMINE, ASSOCIATED OR NOT TO NICOTINE, IN REPRODUCTIVE TISSUES OF ALBINO FEMALE RATS

Isabel Cristina Cherici CAMARGO<sup>1</sup>; Juliana Grizante Segantin GONÇALVES<sup>2</sup>

1. Professora, Doutora, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual Paulista – UNESP, Assis, SP, Brasil. camargo@assis.unesp.br; 2. Aluna do curso de graduação em Engenharia Biotecnológica, Departamento de Ciências Biológicas – UNESP, Assis, SP, Brasil.

**RESUMO:** A sibutramina é recomendada clinicamente para o tratamento da obesidade, mas há mulheres que têm feito o uso do fármaco para manutenção do peso corpóreo. Muitas vezes este uso ocorre concomitantemente ao hábito do tabagismo, sendo a nicotina o principal composto tóxico no cigarro. O objetivo do estudo foi avaliar os efeitos colaterais promovidos pela sibutramina, associada ou não à nicotina, no tecido reprodutivo de ratas adultas. Fêmeas da linhagem Wistar (n=30) foram distribuídas nos grupos: a) Controle A (0,3 mL de água destilada; oral); b) Sibutramina (15 mg/kg de peso corpóreo; oral); c) Controle B (0,3 mL de solução fisiológica; intraperitoneal); d) Nicotina (4,0 mg/kg de peso corpóreo; intraperitoneal); e) Sibutramina + Nicotina. Os tratamentos foram realizados durante 30 dias consecutivos (única dose diária). O ciclo estral das ratas manteve-se regular durante o período experimental. A administração de sibutramina associada ou não à nicotina afetou a foliculogênese e luteogênese. Houve alterações significativas ( $p < 0,05$ ) na espessura das camadas teciduais uterina, em função de cada tratamento. Concluiu-se que a administração isolada de sibutramina ou nicotina promoveu efeitos deletérios nos tecidos reprodutivos de ratas e estes efeitos foram potencializados pela associação dos fármacos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Sibutramina. Nicotina. Histomorfometria. Ovários. Útero. Ratas.

### INTRODUÇÃO

A obesidade, uma doença metabólica, tem sido uma grande preocupação para órgãos de saúde pública (GLANDT; RAZ, 2011), já que acarreta vários prejuízos ao organismo, tais como: dificuldades respiratórias, problemas dermatológicos, distúrbios no sistema locomotor, dislipidemias, doenças cardiovasculares, diabetes tipo II e certos tipos de câncer (MONTEIRO et al., 1999; RAJALA et al., 2003; HEAL et al., 2009; LI; CHEUNG, 2011).

O tratamento farmacológico da obesidade tem resultado no desenvolvimento de novos produtos, e o reconhecimento da mesma como doença epidêmica, fez com que emergisse a necessidade de melhora na eficácia do tratamento (MANCINI et al., 2002).

A sibutramina é um agente antiobesidade, disponível nas doses de 5, 10 e 15 mg/dia (BRAY; RYAN, 2007), eficaz na manutenção de peso de pacientes obesos (ALI, 2003; BINSALEH, 2011). Este fármaco atua sobre o sistema nervoso central como um inibidor na recaptção de noradrenalina e serotonina (NISOLI; CARRUDA, 2000; CHOI et al., 2011), e exerce seus efeitos *in vivo* através de seus metabólitos ativos: aminas primárias e secundárias, com longa meia-vida (NISOLI;

CARRUDA, 2000). A sibutramina apresenta sua comercialização proibida em vários países da Europa desde 2009 e no Brasil o produto apresenta sua venda extremamente controlada pela Agência de Vigilância Sanitária, devido aos inúmeros casos de efeitos colaterais em pacientes com problemas cardiovasculares.

O tratamento clínico para a obesidade tem sido indicado para indivíduos com Índice de Massa Corpórea (IMC) maior que  $30 \text{ kg/m}^2$ , ou quando há doenças associadas ao excesso de peso com IMC superior a  $25 \text{ kg/m}^2$ . No entanto, a sociedade moderna tem valorizado expressivamente o culto ao corpo perfeito e isto faz com que muitas pessoas de ambos os sexos, com IMC adequado, façam uso não terapêutico da sibutramina para manutenção do peso corporal. Embora clinicamente o fármaco tenha apresentado eficácia comprovada como agente anorexígeno, são escassos os relatos na literatura científica a respeito dos efeitos colaterais que o fármaco possa acarretar nos aspectos reprodutivos de humanos e modelos animais. Nos machos, há registros de ejaculação anormal em ratos tratados com sibutramina (NOJIMOTO et al., 2009). Em estudo realizado por BELLENTANI et al. (2011), houve uma redução na reserva de gametas na cauda do epidídimo e aceleração no trânsito dos

espermatozoides nesta região, devido ao efeito simpatomimético do fármaco.

Na avaliação dos efeitos da sibutramina em fêmeas de camundongos durante o período pré-gestacional e gestacional de desenvolvimento embrionário, houve relatos de ausência de toxicidade reprodutiva nas matrizes e produtos da gestação (HU et al., 2004). Estudos recentes demonstraram que o tratamento com sibutramina em ratas obesas promoveu aumento na perda pós-implantação (FRANCIA-FARJE et al., 2010) e em ratas não obesas houve alteração na estrutura morfológica dos ovários e útero (KIDO; CAMARGO, 2010). Segundo vários autores (EINARSON et al., 2004; KADIOGLU et al., 2004; De SANTIS et al., 2006), faz-se necessária uma maior investigação a respeito dos efeitos da sibutramina na reprodução devido aos relatos de casos de uso do fármaco durante a gestação humana e incidência de abortos espontâneos. Da mesma forma, MULLA et al. (2010) descreveram que são requeridos mais estudos para melhor compreensão da patogênese e patofisiologia da sibutramina relacionada ao interesse da segurança dos animais de laboratório.

Outra substância de uso abusivo e indiscriminado na sociedade moderna é a nicotina, composto tóxico mais abundante do tabaco, que altera a homeostase dos diferentes sistemas orgânicos. A prática do tabagismo é a principal causa de óbitos relacionados às doenças crônicas, tais como: cardiopatias, câncer e doenças pulmonares (UTAGAWA et al., 2007). A nicotina produz efeitos adversos sobre a reprodução feminina, incluindo redução na fertilidade (CESTA et al., 2009), aumento na atresia folicular ovariana (MOHAMMADGHASEMI et al., 2012), aumento no índice de apoptose nas células da granulosa folicular (BORDEL et al., 2006), promove o início precoce da menopausa (VIDAL et al., 2006) e causa prejuízos fetais (UTAGAWA et al., 2007; ROGERS, 2008).

Considerando-se que na sociedade atual é comum o uso não terapêutico de sibutramina por mulheres que não estejam com sobrepeso e que, muitas vezes estas mulheres são fumantes, justificasse a importância de se avaliar neste estudo os efeitos da interação da sibutramina e nicotina, na reprodução de modelo animal fêmea.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas ratas albinas (*Rattus norvegicus*) da linhagem Wistar, com aproximadamente 12 semanas de idade e peso médio de 250 gramas, as quais foram alojadas no

biotério da Faculdade de Ciências e Letras de Assis-UNESP, em sala com temperatura controlada ( $22^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ). As fêmeas foram mantidas em caixas no interior de um gabinete para biotério (Insight Ltda.), com sistema próprio de exaustão de ar e luminosidade (ciclo claro/escuro de 12 horas) e receberam ração comercial e água de torneira *ad libitum*.

O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA, sob Registro nº 26/2010.

Foram delineados cinco grupos experimentais, com seis ratas distribuídas casualmente em cada um dos grupos: I) Grupo Controle A (0,3 mL de água destilada, via oral - gavage), II) Grupo Sibutramina (15 mg/kg de peso corpóreo do fármaco diluído em 0,3 mL de água destilada, via oral), III) Grupo Controle B (0,3 mL de solução fisiológica 0,9%, via intraperitoneal), IV) Grupo Nicotina (4,0 mg/kg de peso corpóreo do fármaco diluído em 0,3 mL de solução salina, via intraperitoneal) e V) Grupo Sibutramina + Nicotina (administração simultânea dos dois fármacos). Os tratamentos foram realizados por meio de uma única dose diária, durante 30 dias consecutivos, sempre no início da fase clara do biotério (07h30min-08h30min).

A escolha das doses baseou-se em relatos prévios (MERIDIA, 2002; IRANLOYE; BOLARINWA, 2007).

O ciclo estral de cada fêmea foi monitorado diariamente por meio da obtenção do lavado vaginal (MARCONDES et al., 2002), e as lâminas foram observadas em microscópio de luz para identificação de cada uma das fases do ciclo, conforme o seguinte: a) proestro, consistindo de células basais nucleadas; b) estro, com predominância de células queratinizadas anucleadas; c) metaestro, consistindo de leucócitos em combinação com células queratinizadas; d) diestro, com predominância de leucócitos (THROWER; LIM, 1981).

No primeiro estro ao final do período experimental, cada rata foi previamente pesada e em seguida procedeu-se à eutanásia com o emprego de dose excessiva de tiopental sódico (50 mg/kg), via intraperitoneal. Os ovários e cornos uterinos foram coletados e pesados separadamente, obtendo-se os valores do peso absoluto (g) de cada órgão. Posteriormente foi calculado o peso relativo com base em 100 g de peso corpóreo da fêmea (g%). Os órgãos reprodutivos foram processados por meio da rotina histológica usual e secções semisseriadas de 5  $\mu\text{m}$  de espessura, coradas em Hematoxilina-eosina (HE), analisadas em microscopia de luz.

Para a análise da quantificação folicular ovariana foi realizada a contagem dos folículos em crescimento (com mais de duas camadas de células foliculares) e folículos antrais (com presença do antro), conforme classificação proposta por PEDERSEN e PETERS (1968) apresentada por PLOWCHALCK et al. (1993), e folículos atrésicos e corpos lúteos.

Para a análise morfométrica uterina foram mensuradas a altura do epitélio luminal, a espessura do estroma endometrial e a espessura do miométrio e perimétrio. As mensurações foram efetuadas em microscópio Zeiss modelo Scope A1-Axio, acoplado ao sistema digitalizador de imagens Axio Vision, versão 4.7.2.

Os resultados foram avaliados

estatisticamente através do programa computacional "BioEstat" versão 5.0, empregando-se a análise de variância não paramétrica de Kruskal-Wallis, complementada com o teste de Dunn ou Student-Newman-Kleus, dependendo da variável analisada. A significância foi dada para  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

O peso corpóreo das ratas foi influenciado significativamente ( $p < 0,05$ ) pelo tratamento isolado com sibutramina ou nicotina, em comparação aos grupos controles A e B, respectivamente (Tabela 1). A associação dos fármacos não promoveu efeito significativo ( $p > 0,05$ ) no peso corpóreo das fêmeas.

**Tabela 1.** Peso corpóreo (g) e peso absoluto (g) e relativo (g%) dos ovários e útero das ratas dos diferentes grupos experimentais.

Parâmetros	Controle A	Controle B	Sibutramina	Nicotina	Sibutramina + Nicotina
<b>Peso corpóreo (g)</b>	236,5±13,6	244,4±26,1	238,0±3,9*	239,7±13,6**	252,7±13,3
<b>Peso dos ovários (g)</b>	0,10±0,02	0,10±0,005	0,08±0,014*	0,10±0,012	0,09±0,016
<b>(g%)</b>	0,04±0,003	0,04±0,05	0,03±0,003	0,04±0,009 <sup>#</sup>	0,03±0,004
<b>Peso do útero (g)</b>	0,62±0,16	0,61±0,38	0,47±0,08 <sup>#</sup>	0,46±0,05 <sup>#</sup>	0,86±0,70
<b>(g%)</b>	0,24±0,04	0,23±0,01	0,20±0,03 <sup>#</sup>	0,18±0,02 <sup>#</sup>	0,38±0,03

Valores de mediana ± desvio interquartil. Kruskal-Wallis; Teste de Dunn; \*  $p < 0,05$  em comparação ao grupo Controle A (oral, gavage); \*\*  $p < 0,05$  em comparação ao grupo Controle B (intraperitoneal); #  $p < 0,05$  em comparação ao grupo Sibutramina + Nicotina.

Apenas o grupo que recebeu o tratamento com sibutramina apresentou peso absoluto ovariano menor ( $p < 0,05$ ) que o grupo controle. Na avaliação do peso relativo dos ovários o grupo tratado com nicotina diferiu ( $p < 0,05$ ) do grupo que recebeu os dois fármacos simultaneamente.

A administração de sibutramina ou nicotina promoveu redução significativa ( $p < 0,05$ ) no peso absoluto e peso relativo do útero das fêmeas, comparativamente ao grupo tratado com os dois fármacos.

As ratas tratadas com sibutramina e nicotina exibiram sinais clínicos de toxicidade e houve uma morte. Macroscopicamente o fígado apresentou coloração escura, a massa adiposa corpórea foi reduzida e o intestino delgado apresentou vesículas cheias de líquido, localizadas na parede serosa.

A avaliação do tecido ovariano das ratas não

tratadas com os fármacos sibutramina e/ou nicotina (Figura 1A), mostrou a presença de vários corpos lúteos maduros inseridos no estroma cortical e folículos ovarianos em fase de maturação e degeneração.

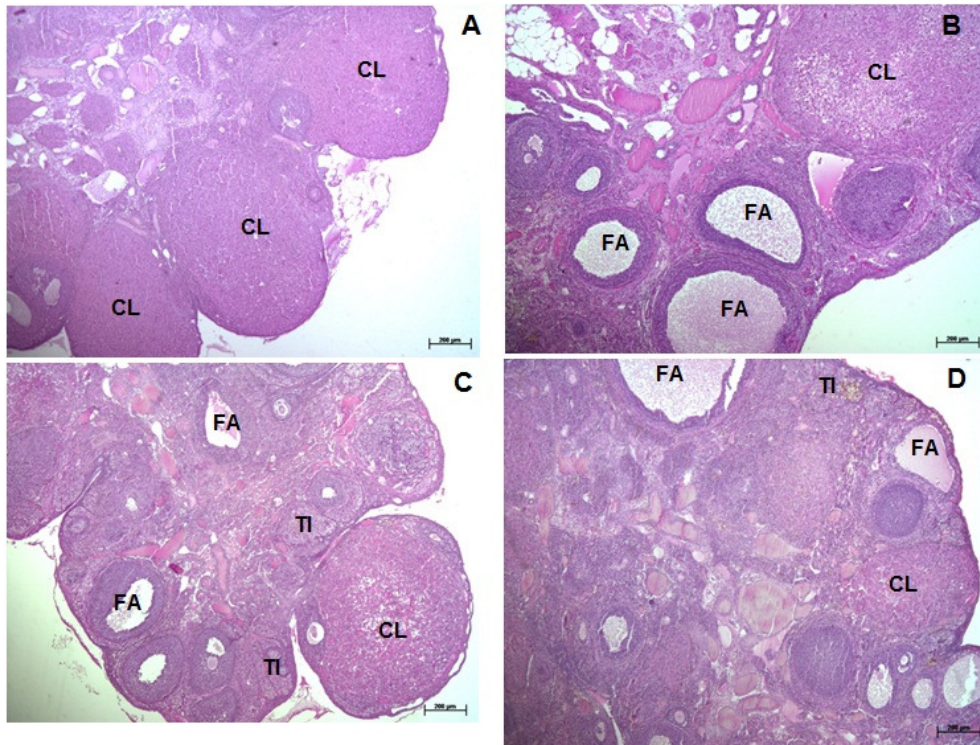
Nas ratas tratadas com sibutramina (Figura 1B), os ovários apresentaram folículos primários, em crescimento, antrais e atrésicos, e corpos lúteos de aspecto geralmente degenerativo, caracterizado por células luteínicas retraídas e citoplasma pálido.

No grupo tratado com nicotina (Figura 1C), o tecido ovariano caracterizou-se principalmente pela escassez de estruturas luteínicas, folículos em crescimento e folículos antrais. Houve a presença de vários folículos atrésicos e áreas estromais foram ocupadas por tecido intersticial.

As gônadas das fêmeas do grupo tratado simultaneamente com sibutramina e nicotina (Figura 1D), exibiram poucos folículos antrais, vários

folículos atrésicos e apresentaram ausência ou

escassez de corpos lúteos.



**Figura 1.** Secções ovarianas de ratas dos grupos: Controle (A), Sibutramina (B), Nicotina (C) e Sibutramina + Nicotina (D). São observados: corpo lúteo (CL), folículos atrésicos (FA) e tecido intersticial (TI). Note a predominância de folículos atrésicos nos grupos tratados com os fármacos. HE. Barras = 200µm.

Os resultados referentes à quantificação folicular ovariana são apresentados na Tabela 2. A avaliação preliminar da histologia ovariana nos grupos não tratados com os fármacos (Controles A e B) mostrou o mesmo padrão morfológico, caracterizado pela presença de várias estruturas

luteínicas e unidades foliculares (Figura 1 A). Desta forma, a quantificação folicular foi realizada nas secções semisseriadas de apenas um grupo não tratado, para permitir a comparação com os grupos que receberam os fármacos sibutramina e/ou nicotina.

**Tabela 2.** Quantificação folicular ovariana nos diferentes grupos experimentais.

Parâmetros	Controle	Sibutramina	Nicotina	Sibutramina + Nicotina
Folículos em crescimento	5,0±3,5	2,0±2,2*	2,0±1,2*	2,0±1,2*
Folículos antrais	8,0±3,0	2,0±2,2*#	3,0±2,0*#	1,5±1,0*
Folículos atrésicos	12,0±3,2	15,5±5,2#	14,0±11,7#	23,0±3,0*
Corpos lúteos	14,5±3,5	9,0±6,7*#	8,0±3,0*#	1,0±0,0*

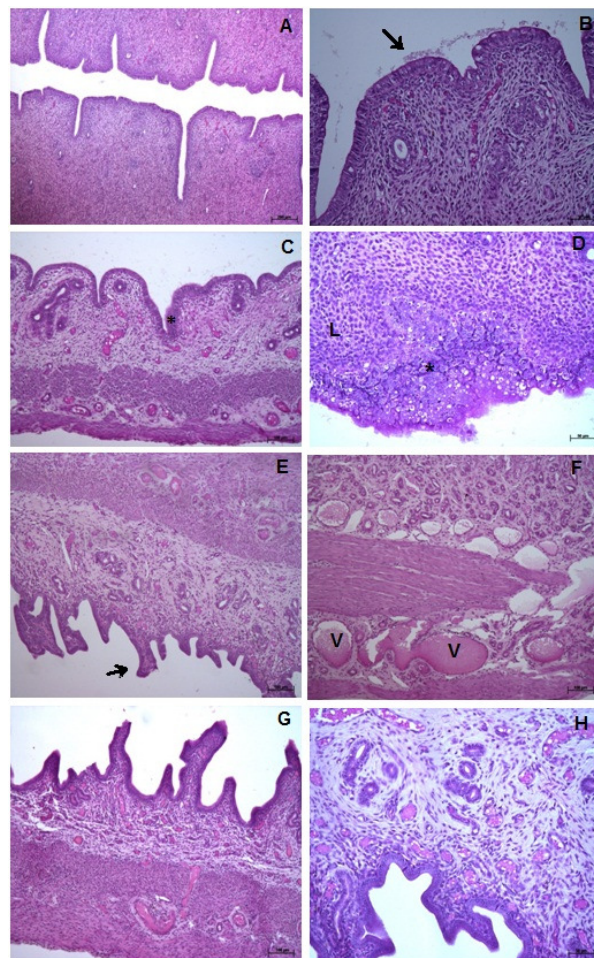
Valores expressos como mediana±desvio interquartilico. Kruskal-Wallis. Teste de Dunn. \*p<0,05 em comparação ao grupo controle; #p<0,05 em comparação ao grupo Sibutramina + Nicotina.



O número de folículos em crescimento, folículos antrais e corpos lúteos foi reduzido ( $p < 0,05$ ) nos grupos que receberam os fármacos, em comparação ao grupo controle. A associação de sibutramina e nicotina promoveu maior redução ( $p < 0,05$ ) no número de folículos antrais e corpos lúteos, comparativamente aos grupos em que as ratas receberam cada fármaco isoladamente. O número de folículos em crescimento foi similar ( $p > 0,05$ ) nos grupos tratados com os fármacos.

A quantidade de folículos atresícos nos ovários das ratas tratadas com a sibutramina associada à nicotina foi maior ( $p < 0,05$ ) que aquele observado nos grupos controle e tratados com cada fármaco isoladamente.

A avaliação histológica uterina mostrou que nos grupos controles (Figuras 2A, 2B), o revestimento luminal apresentou aspecto retilíneo, com epitélio cilíndrico simples composto por vacúolos secretores em posição supranuclear. A cavidade uterina exibiu escassa quantidade de secreção. As glândulas mostraram-se predominantemente tubulosas. No estroma endometrial, células do sistema imune mantiveram-se dispersas no tecido. O miométrio e perimétrio apresentaram padrão característico dos tecidos, respectivamente compostos por duas camadas de fibras musculares lisas, e epitélio pavimentoso simples sustentado por tecido conjuntivo fibroso.



**Figura 2.** Secções uterinas de ratas dos grupos: Controle (A,B), Sibutramina (C,D), Nicotina (E,F) e Sibutramina + Nicotina (G,H). Observe no grupo controle o aspecto retilíneo do epitélio luminal e a presença de escassa secreção (seta). No grupo Sibutramina o epitélio luminal mostrou áreas estratificadas (asterisco) e com abundância de leucócitos (L) em posição subepitelial. No grupo Nicotina, observe o aspecto papilífero do epitélio luminal (seta) e a vasodilatação (V) no estroma do miométrio. No grupo Sibutramina + Nicotina o epitélio luminal apresentou aspecto papilífero e o estroma exibiu aspecto edematoso. HE. Barras = 200 $\mu$ m (A); 100 $\mu$ m (C,E,F,G); 50  $\mu$ m (B, D, H).

No grupo tratado apenas com sibutramina (Figuras 2C, 2D), o revestimento luminal exibiu áreas com epitélio estratificado, com desorganização na citoarquitetura e com a presença de muitos vacúolos, e áreas de epitélio cilíndrico simples baixo. Houve a presença de linfócitos intraepiteliais e predominância de linfócitos e neutrófilos no tecido conjuntivo subepitelial. Escassa secreção na cavidade uterina foi observada. O estroma endometrial mostrou aspecto levemente edematoso.

No grupo tratado com nicotina (Figuras 2E, 2F), o revestimento luminal apresentou aspecto papilífero, com epitélio do tipo cilíndrico simples baixo e presença de algumas células em mitose. Houve ausência de secreção na cavidade uterina. O estroma endometrial mostrou-se levemente edematoso. O tecido intersticial entre as camadas de fibras musculares lisas do miométrio apresentou-se ricamente vascularizado e houve sinais de vasodilatação.

No grupo tratado com a sibutramina associada à nicotina (Figuras 2G, 2H), as características endometriais assemelharam-se àquelas do grupo tratado apenas com a nicotina. O aspecto papilífero do epitélio luminal manteve-se neste grupo, mas não foi observado no grupo controle e no grupo tratado com sibutramina. Houve ausência de secreção na cavidade uterina. Comparativamente ao grupo tratado apenas com a sibutramina, foi mantido o mesmo aspecto edematoso do estroma.

A Tabela 3 apresenta os resultados morfométricos uterinos obtidos nos grupos experimentais.

Não houve diferença significativa na altura do epitélio uterino dos grupos tratados com nicotina e sibutramina + nicotina, comparados ao grupo controle. As ratas tratadas apenas com sibutramina apresentaram altura do epitélio luminal uterino maior ( $p < 0,05$ ) que os grupos controle e com a associação dos fármacos.

Houve redução significativa ( $p < 0,05$ ) na espessura do estroma endometrial das ratas tratadas com sibutramina ou nicotina e com a associação dos fármacos, comparativamente ao grupo controle. Além disso, o estroma apresentou-se menos espesso no grupo que recebeu a sibutramina e a nicotina simultaneamente. As ratas que receberam sibutramina diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ) daquelas do grupo sibutramina + nicotina.

As ratas tratadas apenas com sibutramina ou nicotina apresentaram espessura do miométrio significativamente menor ( $p < 0,05$ ) que os grupos controle e tratado com a associação dos fármacos. Este último grupo não diferiu ( $p > 0,05$ ) do grupo controle.

Na avaliação da espessura do perimétrio, apenas o grupo tratado com nicotina apresentou menor valor significativo ( $p < 0,05$ ), em comparação ao grupo controle e grupo tratado simultaneamente com sibutramina e nicotina.

**Tabela 3.** Análise morfométrica uterina nos diferentes grupos experimentais (valores expressos em  $\mu\text{m}$ ).

Parâmetros	Controle	Sibutramina	Nicotina	Sibutramina + Nicotina
Altura do epitélio luminal	23,88 $\pm$ 5,1	30,79 $\pm$ 7,8*#	22,87 $\pm$ 6,3	21,87 $\pm$ 5,9
Espessura do estroma	401,83 $\pm$ 322,9	272,96 $\pm$ 119,3*#	242,91 $\pm$ 112,1*	179,15 $\pm$ 55,6*
Espessura do miométrio	353,21 $\pm$ 87,4	284,12 $\pm$ 74,9*#	299,70 $\pm$ 78,3*#	302,91 $\pm$ 50,7
Espessura do perimétrio	16,98 $\pm$ 9,6	20,89 $\pm$ 13,5	11,20 $\pm$ 5,1*#	17,50 $\pm$ 8,8

Valores expressos como mediana  $\pm$  desvio interquartilício. Kruskal-Wallis. Teste de Student-Newman-Kleus. \* $p < 0,05$  em comparação ao grupo controle; # $p < 0,05$  em comparação ao grupo Sibutramina + Nicotina.

## DISCUSSÃO

A sibutramina é uma amina terciária originalmente desenvolvida como um fármaco antidepressivo, que demonstrou propriedades indutoras de perda de peso corpóreo (JAMES et al., 2000; ARTERBURN et al., 2004). Apesar de sua eficácia em reduzir o peso corpóreo e o consumo alimentar em curto período de tempo, o principal efeito colateral da sibutramina está associado com a sua estimulação noradrenérgica de circuitos hipotalâmicos do apetite e com suas propriedades simpatomiméticas inerentes (ARAÚJO; MARTEL, 2012). Estudos em animais experimentais têm apresentado resultados controversos quanto à eficácia do fármaco em promover redução no peso corpóreo. No presente estudo, a dose de 15 mg/kg de sibutramina não promoveu efeito redutor de peso nas ratas. O consumo alimentar não foi registrado e poderia fornecer maiores informações sobre o resultado obtido. A diferença significativa observada no peso corpóreo das fêmeas tratadas com o fármaco, em comparação ao grupo controle, pode ser atribuída à variação no valor do desvio interquartilico entre os dois grupos, já que numericamente os valores de pesos corpóreos foram próximos. No grupo que recebeu simultaneamente os fármacos sibutramina e nicotina, o peso corpóreo das fêmeas não foi influenciado pelo tratamento. Trabalhos prévios relataram haver redução de peso em ratas submetidas ao tratamento com sibutramina na dose de 2,83 mg/kg (HU et al., 2005) ou 30 e 100 mg/kg (MULLA et al., 2010). Em machos, houve ausência de alteração no peso corpóreo após o tratamento com o fármaco na dose de 10 mg/kg (MULLA et al., 2010; BELLENTANI et al., 2011). As discrepâncias observadas nos resultados de vários estudos estão relacionadas às diferenças nos protocolos experimentais adotados, espécie animal, sexo e linhagem, duração do tratamento e dose empregada.

Há escassa literatura disponível sobre o peso das estruturas orgânicas em modelos experimentais submetidos aos tratamentos com sibutramina ou nicotina. Nenhum relato foi encontrado quanto à associação destes fármacos. No presente estudo, a administração de sibutramina reduziu o peso absoluto dos ovários, mas não influenciou o peso relativo do órgão reprodutivo. A diferença significativa observada no peso corpóreo das fêmeas deste grupo refletiu em alteração no peso absoluto dos ovários, já que há correlação entre massa corpórea e peso dos órgãos. O resultado obtido é discordante daquele relatado por MULLA et al. (2010), que verificaram ausência de influência de

diferentes doses de sibutramina (10, 30 e 100 mg/kg) no peso dos ovários de ratas tratadas durante sete dias. A diferença no protocolo experimental adotado entre os dois estudos deve ser considerada. O sinergismo entre os dois fármacos, sibutramina e nicotina, não resultou em alteração no peso ovariano. No entanto, o peso absoluto e peso relativo do útero foram afetados pela associação dos fármacos, sendo maior neste grupo que naqueles que receberam isoladamente a sibutramina ou nicotina. Este resultado pode ser decorrente das características histopatológicas e morfométricas específicas do grupo da associação dos fármacos, que podem ter influenciado o peso uterino. Trabalho prévio (KIDO; CAMARGO, 2010) constatou aumento no peso absoluto e peso relativo do útero de ratas tratadas com 5 mg/kg de sibutramina, o qual foi atribuído ao aspecto intumescendo do órgão, observado macropatologicamente. No presente estudo, nenhuma alteração macroscópica uterina foi verificada nos grupos tratados apenas com sibutramina ou com a associação dos fármacos e, a análise microscópica demonstrou haver escassez ou ausência de conteúdo luminal na cavidade uterina.

Alta taxa de mortalidade foi relatada por Mulla et al. (2010) em ratas tratadas com a dose de 100 mg/kg de sibutramina, mas nas doses de 10 e 30 mg/kg não houve incidência de mortes nos grupos. Os resultados do presente estudo são concordantes com aqueles obtidos pelos autores, nas doses mais baixas de sibutramina. No entanto, a associação do fármaco com a nicotina promoveu a morte de uma fêmea do grupo, que apresentou alterações macropatológicas no fígado e intestino delgado, possivelmente decorrentes dos efeitos deletérios dos dois fármacos no organismo.

Embora o uso de fármacos antiobesidade esteja aumentando em função do sobrepeso da população mundial, pouca atenção tem sido dada quanto aos efeitos da sibutramina e outros medicamentos sobre o sistema reprodutor feminino ou masculino. Os poucos relatos da literatura enfatizam principalmente os efeitos do uso do fármaco durante o primeiro trimestre da gestação de mulheres (KADIOGLU et al., 2004; De SANTIS et al., 2006), ou seus efeitos sobre os produtos da gestação de camundongos fêmeas tratados durante o período pré-gestacional (HU et al., 2004). Nenhum estudo comparativo foi encontrado na literatura a respeito dos possíveis efeitos da administração simultânea de sibutramina e nicotina no tecido ovariano e uterino.

No presente estudo, a foliculogênese e luteogênese foram afetadas pelo tratamento das ratas com sibutramina e/ou nicotina, visto que ocorreram

alterações histológicas nos ovários, redução na quantidade de unidades foliculares e corpos lúteos, e aumento no número de folículos em degeneração. Estes resultados corroboram com aqueles descritos por outros autores, em fêmeas tratadas com sibutramina (KIDO; CAMARGO, 2010) ou nicotina (AUDI et al., 2006; MOHAMMADGHASEMI et al., 2012). Estudo realizado por REHAVI et al. (2000) demonstrou que agentes inibidores de recaptção de dopamina e serotonina reduziram os níveis séricos de estradiol e progesterona, mas não alteraram os níveis de prolactina em ratas tratadas cronicamente. Segundo os autores, o efeito destes agentes sobre os hormônios esteroides gonadais está relacionado ao impacto dos inibidores de recaptção de monoaminas sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal. Embora no presente trabalho não tenham sido investigados os níveis hormonais de gonadotrofinas hipofisárias, os resultados morfológicos observados nos ovários das ratas tratadas cronicamente com sibutramina confirmam o relato dos autores. A ação inibidora da sibutramina na recaptção de serotonina reduziu os níveis de FSH e LH, e aumentou os níveis de prolactina. Como consequência, a sibutramina promoveu efeito prejudicial ao desenvolvimento dos folículos ovarianos e corpos lúteos, conforme verificado no presente estudo, e promoveu supressão na biossíntese e liberação dos hormônios esteroides ovarianos. De fato, a provável redução nos níveis de estradiol e progesterona induziu às alterações histológicas e morfométricas observadas no tecido uterino das ratas tratadas com sibutramina. Os efeitos deletérios sobre o tecido ovariano e uterino, promovidos pela associação dos fármacos, foram

mediados pela ação da serotonina através da sibutramina e ação da dopamina através da nicotina. Este fármaco exerce seus efeitos através da ligação aos receptores acetilcolinérgicos, cuja ativação afeta a liberação de vários neurotransmissores incluindo a dopamina, noradrenalina, adrenalina, serotonina e glutamato (WICKSTRÖM, 2007). De acordo com AUDI et al. (2006), a nicotina promove atrofia na estrutura e função ovariana, devido ao decréscimo nos níveis de FSH e LH hipofisários. Desta forma, no presente estudo o sinergismo dos fármacos alterou a regulação do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, influenciando negativamente o padrão morfológico ovariano e uterino.

As alterações histomorfológicas observadas nos ovários e útero indicam que a capacidade reprodutiva das ratas tratadas com sibutramina e/ou nicotina pode ser severamente comprometida. É relatado que a administração isolada de sibutramina (KIDO; CAMARGO, 2010) ou nicotina (CESTA et al., 2009) promovem redução na taxa de fertilidade de ratas.

## CONCLUSÃO

A administração isolada de sibutramina ou nicotina alterou o padrão morfológico dos tecidos reprodutivos de ratas e os efeitos deletérios foram potencializados pela associação dos fármacos.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica do PIBIC/Reitoria (UNESP), pelo auxílio financeiro.

---

**ABSTRACT:** Sibutramine is a drug recommended clinically for the treatment of obesity, but there are women that use the drug for maintenance of body weight. Many time this use occur associate to habit of tabagism, being the nicotine the main toxic compound in the cigarette. The goal of study was to evaluate the side effects promoted by sibutramine, associated or not to nicotine, in the reproductive tissue of adult female rats. Wistar animals (n =30), were distributed in the groups: a) Control A (0.3 mL of distilled water; oral); b) Sibutramine (15 mg/kg of body weight; oral); c) Control B (0.3 mL of saline solution; intraperitoneal); d) Nicotine (4.0 mg/kg of body weight; intraperitoneal); e) sibutramine + nicotine. The treatments were conducted during 30 consecutive days (single dose, daily). Sibutramine, associated or not to nicotine, affected the folliculogenesis and luteogenesis. There were significant alterations (p<0.05) in the thickness of uterine layers, considerate each treatment. In conclusion, the administration isolated of sibutramine or nicotine promoted deleterious effects in the reproductive tissues of female rats and these effects were potential in the group that received both drugs.

**KEYWORDS:** Sibutramine. Nicotine. Histomorphometry. Ovaries. Uterus. Rats.

---

## REFERÊNCIAS

ALI, O. Sibutramine: a safety profile. **Br. J. Cardiol.**, Birmingham, v. 10, n. 2, p. 137-140, mar. 2003.



ARAÚJO, J. R.; MARTEL, F. Sibutramine effects on central mechanisms regulating energy homeostasis. **Curr. Neuropharmacol.**, San Francisco, v. 10, p. 49-52, 2012.

ARTERBURN, D. E.; CRANE, P. K.; VEENSTRA, D. L. The efficacy and safety of sibutramine for weight loss: a systemic review. **Arch. Intern. Med.**, Thessaloniki, v. 164, n. 9, p. 994-1003, may. 2004.

AUDI, S. S.; ABRAHAN, M. E.; BORKER, A. S. Effect of cigarette smoke on body weight, food intake, and reproductive organs in adult albino rats. **Indian J. Exp. Biol.**, New Delhi, v. 44, n. 7, p. 562-565, jul. 2006.

BELLENTANI, F. F.; FERNANDES, G. S. A.; PEROBELLI, J. E.; PACINI, E. S. A.; KIGUTI, L. R. A.; PUPO, A. S.; KEMPINAS, W. G. Acceleration of sperm transit time and reduction of sperm reserves in the epididymis of rats exposed to sibutramine. **J. Androl.**, Philadelphia, v. 32, n. 6, p. 718-724, nov.-dec. 2011.

BINSALEH, S. Sibutramine for the treatment of recurrent high- flow priapism. **J. Androl.**, Philadelphia, v. 33, n. 4, p. 566-569, oct. 2011.

BORDEL, R.; LASCHKE, M.V.; MENGER, M.D.; VOLLMAR, B. Nicotine does not affect vascularization but inhibits growth of freely transplanted ovarian follicles by inducing granulosa cell apoptosis. **Hum. Reprod.**, Oxford, v. 21, n. 3, p. 610-617, mar. 2006.

BRAY, G. A.; RYAN, D. H. Drug treatment of the overweight patient. **Gastroenterology**, Baltimore, v. 132, n. 6, p. 2239-2252, mai. 2007.

CESTA, C. E.; PATRIK, J. J.; AMBRASKA, H.; HOLLOWAY, A. C. *In utero* and lactational exposure to nicotine alters the intra-ovarian IGF system in adult female rats. **Reprod. Biol. Insights**, London, v. 2, p. 1-9, 2009.

CHAPELOT, D.; MARMONIER, C.; THOMAS, F.; HANOTIN, C. Modalities of the food intake-reducing effect of sibutramine in humans. **Physiol. Behav.**, Elmsford, v. 68, n. 3, p. 299-308, jan.2000.

CHOI, J. W.; JOO, J. I.; KIM, D. H.; WANG, X.; OH, T. S.; CHOI, D. K.; YUN, J. M. Proteome changes in rat plasma response to sibutramine. **Proteomics**, Weinheim, v. 11, n. 7, p. 1300 – 1312, apr. 2011.

De SANTIS, M.; STRAFACE, G.; CAVALIERE, A.F.; CARDUCCI, B.; CARUSO, A. Early first-trimester sibutramine exposure: pregnancy outcome and neonatal follow-up. **Drug Saf.**, Auckland, v. 29, n. 3, p. 255-259, 2006.

EINARSON, A.; BONARI, L.; SARKAR, M.; MCKENNA, K.; KOREN, G. Exposure to sibutramine during pregnancy: a case series. **Eur. J. Obstet. Gynecol.**, Amsterdam, v. 116, n. 1, p. 112-116, sep. 2004.

FRANCIA-FARJE, L. A. D.; SILVA, D. S.; VOLPATO, G. T.; FERNANDES, G. S. A.; CARNIETTO, N.; CICOGNA, A. C.; KEMPINAS, W. G. Sibutramine effects on the reproductive performance of pregnant overweight and non-overweight rats. **J. Toxicol. Environ. Health**, Washington, v. 73, n. 13-14, p. 985-990, 2010.

GLANDT, M.; RAZ, I. Present and Future: Pharmacologic Treatment of Obesity. **J. Obesity**, London, p. 1-13, 2011. doi: 10.1155/2011/636181.

HEAL, D. J.; GOSDEN, J.; SMITH, S.L. Regulatory challenges for new drugs to treat obesity and comorbid metabolic disorders. **Br. J. Clin. Pharmacol.**, London, v. 68, n.6, p. 861–874, dec. 2009.

HU, Y. H.; PANG, D. G.; QI, B.; LEI, Q.; YOU, S.; LIU, Y. Q. Studies of the effects of sibutramine hydrochloride on perinatal development and maternal function in mice. **J. Sichuan Univ.**, v. 35, n. 2, p. 229-231, marc. 2004.

- IRANLOYE, B. O.; BOLARINWA, A. F. Effect of nicotine administration on estrous cycle in female albino rats. **Nig. J. Health Biomed. Sci.**, v. 6, n. 2, p. 21-25, 2007.
- JAMES, W. P. T.; ASTRUP, A.; FINER, N.; HILSTED, J.; KOPELMAN, P.; RÖSSNER, S.; SARIS, W. H. M.; VAN GAAL, L. F. Effect of sibutramine on weight maintenance after weight loss: a randomised trial. **Lancet**, London, v. 356, p. 2119-2125, dec. 2000.
- KADIOGLU, M.; ULKU, C.; YARIS, F.; KESIM, M.; KALYONCU, N.I.; YARIS, E. Sibutramine use in pregnancy: report of two cases. **Birth Defects Res.**, Part A, Hoboken, v. 70, n. 8, p. 545-546, aug. 2004.
- KIDO, L. A.; CAMARGO, I. C. C. Avaliação histológica dos ovários e útero de ratas não obesas, submetidas ao tratamento experimental com sibutramina. In: XXV REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL – FeSBE, Águas de Lindóia. Resumo 05.010, 2010. Divulgação eletrônica.
- LI, M. F.; CHEUNG, B. M. Rise and fall of anti-obesity drugs. **World J. Diabetes**, v. 2, n. 2, p. 19-23, feb. 2011.
- MANCINI, M. C.; HALPERN, A. Tratamento farmacológico da obesidade. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, São Paulo, v. 46, n. 5, p. 497-513, oct. 2002.
- MANDAL, K.; DASGUPTA, S.; CHATTOPADHYAY, B.D. Nicotine induce alterations on reproductive organs of female rats under protein deficient conditions. **Indian J. Exp. Biol.**, New Delhi, v. 42, n. 3, p. 330-332, mar. 2004.
- MARCONDES, F. K.; BIANCHI, F. J.; TANNO, A. P. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. **Braz. J. Biol.**, Brasil, v. 62, p. 609-614, 2002.
- MERIDIA PRODUCT MONOGRAPH. CPS, P. 980-984, 2002.
- MOHAMMADGHASEMI, F.; JAHROMI, S.K.; HAJIZADEH, H.; HOMAFAR, A.; SAADAT, N. The protective effects of exogenous melatonina on nicotine-induced changes in mouse ovarian follicles. **J. Reprod. Infertil.**, Tehran, v. 13, n. 52, p. 143-150, jul.-sep. 2012.
- MONTEIRO, C. A.; CONDE, W. L. A tendência secular da obesidade segundo estratos sociais: nordeste e sudeste do Brasil. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, São Paulo, v. 43, n. 3, p. 186-194, jun. 1999.
- MULLA, M. S. A.; GOYAL, V. K.; JANA, S.; NIROGI, R. Safety evaluation of sibutramine in Wistar rats. **African J. Basic Appl. Sci.**, v. 2, n. 5-6, p. 128-134, 2010.
- NISOLI, E.; CARRUBA, M. O. An assessment of the safety and efficacy of sibutramine, an anti-obesity drug with a novel mechanism of action. **Obes. Rev.**, v. 1, n. 2, p. 127-139, oct. 2000.
- NOJIMOTO, F. D.; PIFFER, R. C.; KIGUTI, L. R.; LAMEU, C.; DE CAMARGO, A. C.; PEREIRA, O. C.; PUPO, A. S. Multiple effects of sibutramine on ejaculation and on vas deferens and seminal vesicle contractility. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, New York, v. 239, n. 3, p. 233-240, sep. 2009.
- PEDERSEN, T.; PETERS, H. Proposal for a classification of oocytes and follicles in the mouse ovary. **J. Reprod. Fertil.**, Cambridge, v. 17, n. 3, p. 555-557, dec.1968.
- PLOWCHALCK, D. R.; SMITH, B. J.; MATTISON, C. R. Assessment of toxicity to the ovary using follicle quantitation and morphometrics. In: HEINDEL, J.; CHAPLIN, R. E. (Eds.). *Methods in Toxicology. Female Reproductive Toxicology*. New York: Academic Press Inc., 1993. p. 57-68.

RAJALA, M. W.; SCHERER, P. E. Minireview: the adipocyte - at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. **Endocrinology**, Baltimore, v. 144, n. 9, p. 3765- 3773, sep. 2003.

REHAVI, M.; ATTALI, G.; GIL-AD, I.; WEIZMAN, A. Suppression of serum gonadal steroids in rats by chronic treatment with dopamine and serotonin reuptake inhibitors. **Eur. Neuropsychopharmacol.**, Amsterdam, v. 10, p. 145-150, 2000.

ROGERS, J. M. Tobacco and pregnancy: overview of exposures and effects. **Birth Defects Res., Part C**, Hoboken, v. 84, n. 1, p. 1-15, mar. 2008.

THROWER, S.; LIM, L. The nuclear oestrogen receptor in the female rat. Effects of oestradiol administered during the oestrous cycle on the uterus and contrasting effects of progesterone on the uterus and hypothalamus. **Biochem. J.**, London, v. 198, p. 385-389, 1981.

UTAGAWA, C. Y.; SOUZA, R. A.; SILVA, C. O. M.; SILVA, M. O. Tabagismo e Gravidez: repercussões no desenvolvimento fetal. **Cadernos UniFOA**, Volta Redonda, ano II, n. 4., p. 97-103, ago. 2007.

VIDAL, J. D.; VANDEVOORT, C. A.; MARCUS, C. B.; LAZAREWICZ, N. R.; CONLEY, A. L. *In vitro* exposure to environmental tobacco smoke induces CYP1B1 expression in human luteinized granulosa cells. **Reprod. Toxicol.**, Elmsford, v. 22, n. 4, p. 731-737, nov. 2006.

WICKSTRÖM, R. Effects of nicotine during pregnancy: human and experimental evidence. **Curr. Neuropharmacol.**, San Francisco, v. 5, p. 213-222, 2007.