

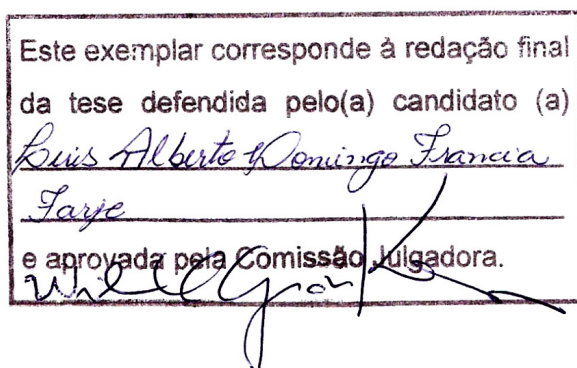


UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE BIOLOGIA

LUIS ALBERTO DOMINGO FRANCA FARJE

**“PERFORMANCE REPRODUTIVA E AVALIAÇÃO
MORFOFISIOLÓGICA CARDÍACA MATERNA, E
DESENVOLVIMENTO EMBRIOFETAL DE RATAS NORMAIS
E COM SOBREPESO EXPOSTAS À SIBUTRAMINA”**



Tese apresentada ao Instituto de Biologia para obtenção do Título de Doutor em Biologia Celular e Estrutural, na área de Anatomia.

Orientadora: Profa. Dra. Wilma de Grava Kempinas

Co-Orientador: Prof. Dr. Jair de Campos Soares

Campinas, 2010

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP**

F846p

Francia-Farje, Luis Alberto Domingo

Performance reprodutiva e avaliação morfofisiológica cardíaca materna, e desenvolvimento embriofetal de ratas normais e com sobrepeso expostas à sibutramina / Luis Alberto Domingo Francia-Farje. – Campinas, SP: [s.n.], 2010.

Orientadores: Wilma De Grava Kempinas, Jair de Campos Soares.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.

1. Sibutramina. 2. Reprodução - Performance. 3. Coração - Morfometria. 4. Teratologia. 5. Visceras – Anomalias e deformidades. 6. Esqueleto - Anomalias e deformidades. I. Kempinas, Wilma De Grava. II. Soares, Jair de Campos. III. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. IV. Título. (rcdt/ib)

Título em inglês: Maternal reproductive performance and cardiac morphophysiological evaluation, and embryofetal development of normal and overweight female rats exposed to sibutramine.

Palavras-chave em inglês: Sibutramine; Reproduction - Performance; Heart - Morphometry; Teratology; Viscera – Anomalies and deformities; Skeleton - Anomalies and deformities.

Área de concentração: Anatomia.

Titulação: Doutor em Biologia Celular e Estrutural.

Banca examinadora: Wilma De Grava Kempinas, Isabel Cristina Cherici Camargo, Débora Cristina Damasceno, Humberto Santo Neto, Alexandre Leite Rodrigues de Oliveira.

Data da defesa: 30/03/2010.

Programa de Pós-Graduação: Biologia Celular e Estrutural.

Campinas, 30 de março de 2010.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Wilma De Grava Kempinas (Orientadora)

Assinatura

Prof. Dr. Humberto Santo Neto

Assinatura

Prof. Dr. Alexandre Leite Rodrigues de Oliveira

Assinatura

Profa. Dra. Isabel Cristina Cherici Camargo

Assinatura

Profa Dra. Débora Cristina Damasceno

Assinatura

Prof. Dr. José de Anchieta de Castro e Horta Junior

Assinatura

Prof. Dr. Wilson de Mello Júnior

Assinatura

Profa. Dra. Valéria Helena Alves Cagnon Quitete

Assinatura

A Deus

“Amarás ao Senhor, teu Deus, de todo o teu coração, de toda a tua alma e de todo o teu entendimento. (...) Amarás ao teu próximo como a ti mesmo.”

Jesus Cristo

Aos meus amados pais, Teobaldo Francia Aguirre e Elena Farje Maraví de Francia:

De vocês eu recebi o dom mais precioso: A Vida. Só por isso seria grato, mas ainda cultivaram na criança todos os valores que o transformaram num jovem responsável e consciente. Trabalharam dobrado, sacrificando seus sonhos em favor dos meus. Obrigado pelo sonho realizado, pela lição de amor e de fé que me ensinaram durante a vida.

“Porque os Pais amam os filhos, e lhes mostram tudo o que fazer.”

À minha amada esposa Camila Contin Diniz de Almeida Francia:

Agradeço a Deus pela pessoa maravilhosa que você é: amiga, carinhosa, dedicada, paciente, trabalhadora, esforçada, guerreira. Você compartilhou meu cansaço e preocupações, sempre me incentivando a prosseguir. Hoje, procuro palavras que fossem do meu coração para o seu. E só encontro umas poucas simples e sinceras: *“Grazie amore della mia vita, Te Amo mia principessa!”*

Às minhas queridas irmãs Judith, Elizabeth e Maria Elena pelo apoio e confiança em todos os momentos.

Ao meu cunhado Luis Marcelino, por fazer dos meus pais os seus e aos meus queridos sobrinhos **Kathleen e Jonhy** pelo seu carinho.

Aos meus queridos antepassados e, em especial, à minha avó Juanita Farje (in memorian) por estar sempre ao meu lado.....

“Não há nada como o sonho para criar o futuro.”

Leonardo da Vinci

DEDICO ESTE TRABALHO

A Dios

“Amarás al Señor, tu Dios, de todo corazón, de toda tu alma y de todo tu entendimiento. (...)

Amarás a tu prójimo como a ti mismo.”

Jesus Cristo

A mis amados padres, Teobaldo Francia Aguirre y Elena Farje Maraví de Francia:

De ustedes recibí El Don mas valioso: La Vida. Solo por eso sería agradecido, pero aún cultivaron en el niño todos los valores que lo transformaron en un joven responsable, conciente y luchador. Trabajaron el doble, sacrificando sus sueños a favor de los míos. Gracias por el sueño realizado, por la lección de amor y de fé que me enseñaron durante la vida.

“Porque los Padres aman a los hijos, y les muestran todo lo que hacer.”

A mi amada esposa Camila Contin Diniz de Almeida Francia:

Le agradezco a Dios por la maravillosa persona que eres: amiga, cariñosa, dedicada, paciente, trabajadora, esforzada, guerrera. Tu compartiste mi cansancio y mis preocupaciones, siempre animándome e incentivándome a continuar. Hoy, busco palabras que puedan vayan de mi corazón al tuyo. Y solo encuentro estas sencillas pero sinceras palabras *“Muchas gracias amor de mi vida, Te Amo Princesita!”*

A mis amadas hermanas Judith, Elizabeth y Maria Elena por su apoyo y confianza en todos los momentos.

A mi cuñado Luis Marcelino, por hacer de mis padres los suyos y a mis queridos sobrinos Kathleen y Jonhy por su maravilloso cariño.

A mis queridos antepasados, en especial, a mi abuelita Juanita Farje (in memorian) por estar siempre a meu lado.....

“Não há nada como o sonho para criar o futuro.”

Leonardo da Vinci

DEDICO ESTE TRABALHO

Agradeço profundamente a Deus:

“Sagrado, Supremo, Infinito, Mente que permeia o Universo, Vida que permeia o Universo, Lei que permeia o Universo; Verdade, Luz, Sabedoria, Amor Absoluto – isto é a Grande Vida. Deus é o Todo de tudo. Todas as coisas são Mente de Deus, tudo é Palavra de Deus; tudo é Espírito, tudo é Mente; nada há que seja feito de matéria.”

Trechos da Sutra Sagrada Chuva de Néctar da Verdade

Respeitosamente junto as mãos e curvo-me diante do Onipotente.

Muito obrigado!

“Estamos começando a conceber a relação entre a ciência e a religião de um modo totalmente diferente da concepção clássica.

Afirmo com todo o vigor que a religião cósmica é o móvel mais poderoso e mais generoso da pesquisa científica.”

(Albert Einstein)

À Profa. Dra. Wilma de Grava Kempinas

Por ensinar-me que o amor à ciência e a dedicação ao trabalho estão acima de qualquer obstáculo. Por ensinar-me que o dinamismo e o trabalho em grupo são peças importantes para a conquista do sucesso na pesquisa.

Pelo seu exemplo e por todos estes anos de valiosos ensinamentos.

Por abrir as portas de seu laboratório, pela sua orientação, paciência e principalmente, pela sua confiança.

Pela sua amizade, carinho e por dar-me a oportunidade de crescer profissionalmente e como ser humano.

Meus sinceros agradecimentos.

“Treinar o espírito, desenvolver o senso crítico, a independência mental, o amor à Verdade, tendo sempre em vista o bem da humanidade – este deve ser o fundamento máximo da educação.”

Ao Prof. Dr. Jair de Campos Soares

Por fazer parte de minha vida científica desde o início e me acompanhar nesta etapa
tão importante.

Pela sua paciência e confiança, por ensinar-me a ter calma nos momentos difíceis e
dar um passo de cada vez.

Pelo seu exemplo e seus valiosos ensinamentos tanto na vida profissional quanto na
vida pessoal.

Pelo seu carinho, amizade, e por dar-me a alegria de compartilhar tantos anos
juntos.

Meus sinceros agradecimentos.

“Treinar o espírito, desenvolver o senso crítico, a independência mental, o amor à
Verdade, tendo sempre em vista o bem da humanidade – este deve ser o fundamento máximo da
educação.”

Aos demais componentes da Comissão Examinadora **Profa. Dra. Isabel Cristina Cherici Camargo, Dra. Débora Cristina Damasceno, Prof. Dr. Humberto Santo Neto, Prof. Dr. Alexandre Leite Rodrigues de Oliveira, Prof. Dr. José de Anchieta de Castro e Horta Junior, Prof. Dr. Wilson de Mello Junior e Profa. Dra. Valéria Helena Alves Cagnon** Quitete por terem aceitado o convite para participarem da minha banca, pelas importantes correções, sugestões e incentivos.

“A instrução forma o caráter, mostra os deveres, inspira o amor à ordem, à justiça e às virtudes, origina o bom gosto em todas as coisas da vida.”

Diderot

Agradecimentos

- ✚ Ao Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Estrutural do Instituto de Biologia da UNICAMP, pela realização deste trabalho.
- ✚ Ao Instituto de Biociências de Botucatu – UNESP, em especial aos Departamentos de Morfologia e Anatomia pela concessão de dependência e aparelhos durante a realização desse trabalho.
- ✚ Ao Professor Dr. **Gustavo Tadeo Volpato**, pela sua ajuda, companheirismo e amizade. Obrigado pelos seus ensinamentos e sugestões.
- ✚ À Professora Dra. Valéria Helena Alves Cognon Quitete, ao Professor Dr. Humberto Santo Neto e à Professora Dra. Patrícia Fernanda Felipe Pinheiro por comporem minha banca de qualificação ao doutorado, pela atenção e principalmente pelos ensinamentos transmitidos.
- ✚ À CAPES-PROEX pelo apoio financeiro, me disponibilizando uma bolsa de estudos.
- ✚ Ao técnico de laboratório do Departamento de Morfologia do IB/UNESP - Botucatu, **José Eduardo**, pelo auxílio profissional e amizade.
- ✚ Aos amigos do laboratório REPROTOX de hoje, e de ontem... afinal foram três anos!! Faço questão de citá-los pelos nomes: Juliana Perobelli, Carla Del Bianco, Fabíola, Denise, Fernanda, Thais, Marina, Glaura, Nilsinho, Gustavo, Ana Paula, Ana Luísa, Ana Sílvia, Thaiane, Carla Teixeira, Flavinha e Mydian pela amizade, companheirismo, ajuda e ensinamentos. Aos que contribuíram mais diretamente para a realização deste projeto:

Gustavo, Denise, Glaura, Nilson, Moisés, Luiz e Letícia um agradecimento extra. E a todos vocês, meu muito obrigado!...

- ✚ Aos meus amigos do Peru, amigos de infância, e presentes até hoje, Johan Tabori, Israel Soto, Carlos Barco, Rafael Vargas, Joel, Rafael (Pocho), meus amigos da “Academia Nobel”, etc., por mostrarem que a verdadeira amizade vence as barreiras da distância e do tempo.

“Todas as grandezas deste mundo não valem um bom amigo.”

Voltaire

- ✚ Aos coordenadores, professores e demais funcionários do Programa de Pós Graduação em Biologia Celular e Estrutural – IB – UNICAMP, aos quais, com muito orgulho e satisfação, agradeço pela competência e por tornar este programa de pós-graduação, um dos melhores do país.

- ✚ À secretária do Programa de Pós Graduação em Biologia Celular e Estrutural, Lílíam Alves Senne Panagio (“minha madrinha”), pela grande amizade, paciência, responsabilidade e sua vasta eficiência profissional. Por toda sua ajuda...Muito Obrigado!!!!

“Todas as grandezas deste mundo não valem um bom amigo.”

Voltaire

- ✚ À secretária do departamento de Morfologia da UNESP – Botucatu, Luciana, pela ajuda, amizade e eficiência.

- ✚ Ao **Prof. Dr. Antonio Carlos Cicogna** pelo fornecimento de ração padrão e hipercalórica assim como de animais para a formação dos grupos experimentais.

- ✚ Aos senhores **André F. Nascimento, José Carlos Georgette and Mario Batista Bruno** do Laboratório Experimental da Clínica Médica da FMB – UNESP – Botucatu, pela ajuda na indução de sobrepeso e avaliação da pressão arterial.

- ✚ Ao amigo e funcionário do Laboratório de Histologia do Departamento de Anatomia IBB/UNESP, **Gelson Rodrigues**, pela colaboração e auxílios no laboratório.

“O prazer mais delicado é o de fazer bem aos outros. Fazei felizes e vós o sereis.”

- ✚ Ao amigo e funcionário do Laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia IBB/UNESP, **Ricardo Teixeira**, pelo seu auxílio no laboratório e na análise Morfométrica.

“Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina.”

Coralina

- ✚ Ao Prof. Dr. **Carlos Roberto Padovani**, pela interpretação dos dados estatísticos e pela construção de tabelas.

“Só teremos alegria se a repartirmos: a felicidade nasceu gêmea...”

Lord Byron

- ✚ Às Profas. Dras. **Selma Maria Michelin Matheus** e **Irani Quagio Grassiotto**, pela sua amizade e apoio.

- ✚ Ao Prof. Dr. **José de Anchieta de Castro e Horta Junior**, pela sua amizade, apoio e por todos os seus ensinamentos.

“A amizade é uma predisposição recíproca que torna dois seres igualmente ciosos da felicidade um do outro.”

Platão

- ✚ Às secretárias do Departamento de Anatomia **Dona Cleusa de Andrade Freitas** e **Jerusa Verpa** e à secretária do Departamento de Morfologia **Luciana** pela amizade, agradável convivência e colaboração destes anos.

“Todas as outras ciências são nocivas a quem não possui a ciência da bondade.”

✚ À amiga e funcionária da Biblioteca Central do *Campus* de Botucatu, **Rosemary Cristina da Silva** pela gentileza e dedicação no atendimento e revisão das referências bibliográficas.

“O encanto da vida depende, unicamente, das boas amizades que cultivamos.”

Tarafa

✚ Aos amigos **Júlio César de Oliveira Santana e Gisleine Fernanda França**, pela sua ajuda, companheirismo e amizade.

✚ À **Roberta** do Serviço de Biblioteca e Documentação da UNICAMP, pela elaboração da ficha catalográfica.

✚ Aos animais por contribuírem, ainda que inconscientemente, para o desenvolvimento técnico e científico.

“A amizade não conhece o esquecimento; ela tem por divisa: sempre.”

Platão

Tudo o que somos nasce com nossos pensamentos. Em nossos pensamentos, fazemos o nosso mundo. (Buda).

SUMÁRIO

Resumo.....	15
Abstract	17
1. Introdução	19
1.1. Obesidade e sobrepeso	19
1.2. Obesidade e reprodução	20
1.3. Sibutramina.....	21
1.4. Serotonina	22
1.5. Noradrenalina	23
1.6. Dopamina	24
1.7. Eficiência da sibutramina	26
1.8. Hipertensão, obesidade e sibutramina.....	27
1.9. Efeitos adversos do uso da sibutramina	29
2. Objetivos	31
3. Capítulos	32
Artigo 1	34
Artigo 2	54
4. Conclusões finais	89
5. Referências da Introdução	90

RESUMO

A ação anorexígena e termogênica da sibutramina é bem conhecida e tem como efeitos colaterais principalmente o aumento da pressão arterial e da frequência cardíaca. Entretanto, seus efeitos sobre a performance reprodutiva e sobre os fetos de mulheres que receberam sibutramina durante a gestação não é bem conhecido. Assim, os trabalhos mostrados nesta tese têm o objetivo de avaliar os possíveis efeitos da sibutramina na performance reprodutiva de ratas prenhes, assim como seu possível efeito teratogênico na prole de ratas tratadas durante a prenhez e sua possível influência na morfofisiologia cardíaca das mães. Inicialmente foi realizada a indução de sobrepeso com uso de ração hipercalórica (20% de gordura) durante 15 semanas. Para isto foram utilizados dois grupos de animais: ratas controle (n=30) e ratas com sobrepeso (n=30). Após quinze semanas de tratamento para indução de obesidade, verificou-se que a média de peso corpóreo do grupo sobrepeso foi significativamente maior do que a do grupo controle. A seguir, iniciou-se o tratamento com sibutramina (6,0 mg/kg/dia). Foram utilizados quatro grupos de animais: ratas controle, ratas controle tratadas com sibutramina, ratas sobrepeso, ratas sobrepeso tratadas com sibutramina. As ratas tratadas receberam sibutramina diariamente, via gavagem por 15 dias, sendo em seguida acasaladas com ratos adultos normais. A prenhez foi confirmada via esfregaço vaginal e o tratamento continuou por mais 15 dias durante a prenhez. No dia 20 de prenhez, todas as ratas foram anestesiadas e realizaram-se as laparotomias com a retirada dos fetos para as análises esqueléticas e viscerais. Nas laparotomias, coletaram-se dados para determinar diversos parâmetros da performance reprodutiva. Também foram retirados os corações das mães para a futura análise morfométrica. O tratamento com dieta hipercalórica foi eficiente na indução de sobrepeso. Os resultados da performance reprodutiva mostraram que o sobrepeso e o tratamento com sibutramina isoladamente causaram aumento do índice placentário

e da perda pós-implantação. Também se observou diminuição do peso fetal nos grupos com sobrepeso e com sobrepeso tratado com sibutramina. Nos grupos: controle tratado com sibutramina, com sobrepeso e com sobrepeso tratado com sibutramina, houve número de fetos com anomalias esqueléticas significativamente maior ($p < 0,05$) que nos animais do grupo controle. Em relação à presença de anomalias viscerais, não houve diferença estatística entre os grupos experimentais. A sibutramina causou aumento de pressão arterial e alterações morfométricas cardíacas. Concluiu-se que o tratamento com sibutramina e a condição de sobrepeso, isoladamente, causam deficiências na performance reprodutiva. Dos resultados da avaliação teratogênica, conclui-se que a sibutramina e o sobrepeso, isoladamente ou combinados, podem causar anomalias esqueléticas fetais em ratos. Em relação à avaliação morfométrica do coração, o uso de sibutramina por indivíduos normais pode causar aumento da espessura da parede do ventrículo esquerdo (VE), mas seu uso por indivíduos obesos traz efeito cardiovascular benéfico, pois, ao diminuir o peso corpóreo, pode trazer diminuição da sobrecarga funcional do coração.

Palavras chave: sibutramina; sobrepeso; gravidez; performance reprodutiva; risco teratogênico; anomalias fetais; hipertensão; hipertrofia miocárdica; ratas.

ABSTRACT

The anorexigenic and thermogenic action of sibutramine is well-known and its side effects are mainly the increase of arterial pressure and cardiac frequency. However, its effects on the reproductive performance and on the fetuses of women who had sibutramine during pregnancy are not well known. Thus, the studies in this thesis aimed to evaluate possible effects of sibutramine on the reproductive performance of pregnant rats as well as its possible teratogenic effect on the pups of rats treated during pregnancy and its possible influence on the cardiac morpho physiology of the mothers. First, overweight was induced using hyper caloric feed (20% fat) for 15 weeks. Two groups of animals were used: control rats (n=30) and overweight rats (n=30). After fifteen weeks of overweight inducing treatment, it was verified that the average body weight of the overweight group was significantly higher than the control group. Next, the treatment with sibutramine (6.0 mg/kg/day) was started. Four groups of animals were used: control rats, control rats treated with sibutramine, overweight rats, and overweight rats treated with sibutramine. The treated rats had sibutramine daily, via gavage, for 15 days and then they were mated with normal adult rats. Pregnancy was confirmed via vaginal smear and the treatment continued for 15 other days. At day 20 of pregnancy, all female rats were anesthetized and laparotomies were performed to remove fetuses for skeletal and visceral analyses. During the laparotomies, data were collected to determine several parameters of the reproductive performance. Maternal hearts were also removed for future morphometric analysis. The hypercaloric diet treatment was efficient to induce overweight. The results of the reproductive performance showed that overweight and treatment with sibutramine separately caused increase of the placental index and post implantation loss. Also, it was observed that the decrease of fetal

weight in the overweight group and the overweight group treated with sibutramine. The number of fetuses with skeletal anomalies was significantly higher in the control group treated with sibutramine, overweight group and overweight group treated with sibutramine when compared to the control group. Regarding the presence of visceral anomalies, there was no significant statistical difference among the experimental groups. Sibutramine increased arterial pressure and caused cardiac morphometric alterations in the treated animals. It was concluded that the treatment with sibutramine and the overweight condition, isolated, caused deficiencies in the reproductive performance. The teratogenic evaluation results showed that sibutramine and overweight, isolated or combined, can cause fetal skeletal anomalies in rats. Regarding the morphometric evaluation of the heart, the use of sibutramine by normal individuals can increase the thickness of the LV wall, but its use by obese individuals results in cardiovascular benefit because it can reduce functional heart overcharge when the body weight decreases.

Keywords: sibutramine, overweight, pregnancy, reproductive performance, teratogenic risk, fetal anomalies, hypertension, myocardial hypertrophy, female rats.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Obesidade e sobrepeso

A obesidade está rapidamente se tornando uma epidemia mundial, sendo um importante contribuinte para o aumento da incidência de problemas cardiovasculares, diabetes e hipertensão (Tan et al., 2005). Atualmente, a obesidade é definida simplesmente como uma condição de acúmulo excessivo de gordura no tecido adiposo (WHO, 2010). Esse tecido desempenha relevante papel no estoque de energia, no isolamento térmico e na proteção de pequenos traumas (Bueno et al., 2005), além de estar envolvido no controle do metabolismo, do balanço energético e de funções reprodutivas, através da secreção de hormônios, como a leptina (Nogueiras et al., 2004).

Quando o balanço energético é positivo, isto é, o número de calorias ingeridas é maior do que de energia consumida (por exemplo em exercícios físicos, aumento de temperatura corpórea em estados febris ou durante exposição ao frio), as calorias são estocadas no corpo como gordura, e glicogênio, resultando em aumento de peso corpóreo (Nakagawa et al., 2000). Os indivíduos obesos diferem não somente na quantidade excessiva de gordura que armazenam, mas também na distribuição corpórea dessa gordura (WHO, 2000). Fatores genéticos, dieta e estilo de vida são os principais responsáveis pelo desenvolvimento da obesidade (Tan et al., 2005). Em 1999, os Centros de Prevenção e Controle de Doenças reportaram que a obesidade, definida como índice de massa corpórea (IMC) ≥ 30 , aumentou na população adulta dos Estados Unidos, de 12% em 1991 para 17,9% em 1998 (Nokdad et al., 1999). Dados da pesquisa Nacional do Exercício e da Saúde Nutricional mostraram que 34% dos adultos nos Estados Unidos tinham sobrepeso e 30,8% eram obesos, resultando em um total de 64,8% acima do valor normal de

peso. A prevalência de sobrepeso e obesidade em crianças foi de 13%, o dobro desde 1980, enquanto que adolescentes mostraram o triplo (Korner & Aronne, 2003). Nos Estados Unidos, aproximadamente 34% dos adultos com 20 anos ou mais são obesos com um IMC maior do que 30 e quase 2/3 da população adulta têm sobrepeso, além disso, o número de crianças e adolescentes obesos tem triplicado nas últimas três décadas. Essas crianças obesas permanecem assim na vida adulta e podem desenvolver doenças cardiovasculares e diabetes na juventude (Department of Health and Human Services, 2008). Na França, quase metade dos adultos (49,3%) tem sobrepeso ou obesidade e 16,9% são obesos (Vernay et al., 2009).

A obesidade abdominal é uma das causas mais comuns de complicações como diabetes tipo 2, hipertensão, doenças cardiovasculares, hiperlipidemia, dentre outras coisas (Després et al., 2001). Apesar do aumento do número de pessoas com sobrepeso e obesidade, o tratamento médico, baseado em medicamentos, inclui somente alguns tipos de drogas (Caterson, 1999).

1.2. Obesidade e reprodução

Os efeitos negativos do sobrepeso já haviam sido descritos por Hipócrates há mais de 2000 anos (Bray, 1990). Chu et al. (2008) observaram que a condição de obesidade durante a gravidez está associada ao aumento do uso de serviços e cuidados médicos. Segundo Linne (2004), investigações clínicas mostraram que as mulheres obesas têm maior prevalência de amenorréia e infertilidade, sendo comum encontrar nelas maiores riscos de complicações durante a gravidez como hipertensão, diabetes gestacional, assim como maior susceptibilidade a complicações durante o parto, que resultam em cesarianas não planejadas. Rolls and Rowe (1982) observaram que, na época do desmame, os filhotes de ratas obesas pesaram significativamente menos que aqueles das mães controle.

1.3. Sibutramina

A sibutramina (Figura 1) ou cloridrato monohidratado de sibutramina (Meridia®) é um fármaco anorexígeno utilizado no tratamento da obesidade. Na década de 80 (Buckett et al., 1988; Meridia® Product monograph, 2002), foi inicialmente desenvolvido como um antidepressivo, agindo em áreas do cérebro que controlam não somente o humor e a sensação de bem estar como também o apetite. Posteriormente, descobriu-se que induzia a uma importante perda de peso, afetando tanto a ingestão de alimento como o gasto de energia, o que aumenta o processo fisiológico de saciedade e estimula a termogênese. Em novembro de 1997, o FDA (Food and Drug Administration), agência americana que controla a qualidade de alimentos e medicamentos, aprovou nos Estados Unidos o uso da sibutramina para o controle de peso. Atualmente, a função esperada é a perda de peso, conseguida através do aumento da sensação de saciedade, moderação da compulsão alimentar e inibição da sensação de fome. Esses efeitos são conseguidos através da inibição da reabsorção, da recaptação e da degradação de neurotransmissores como a serotonina, noradrenalina e dopamina, fazendo com que essas substâncias permaneçam disponíveis por mais tempo na fenda sináptica, estimulando os neurônios (Stock, 1997; Hansen et al., 1999). Balcioglu and Wurtman (2000) demonstraram que, em ratos, a sibutramina eleva a concentração de dopamina e de serotonina e sugerem que a ação antiobesidade deste medicamento seja consequência das alterações causadas pelo aumento de dopamina agindo no cérebro, e também pelas alterações metabólicas resultantes do aumento de serotonina circulante. Demétrio et al. (2004) verificaram os efeitos da sibutramina em ratos machos Wistar submetidos ao modelo experimental de ansiedade do labirinto em T elevado (LTE). Este modelo procura gerar, em um mesmo animal, respostas defensivas condicionadas (esquiva inibitória) e incondicionadas (fuga), as quais têm sido correlacionadas à ansiedade

generalizada e ao pânico, respectivamente. Os resultados desse trabalho mostraram que a sibutramina inibe ambas as respostas, sugerindo os efeitos ansiolítico e antipânico.

A sibutramina exerce suas ações farmacológicas via dois metabólitos ativos: M1 e M2. Assim, a perda de seu radical metil origina o Metabólito 1, que é uma amina secundária. Em seguida, forma-se o Metabólito 2, que é uma amina primária. Ambos os metabólitos apresentam atividade farmacológica. A sibutramina age inibindo a recaptação de noradrenalina, entretanto, seus metabólitos ativos também inibem a recaptação de noradrenalina e serotonina. Este fato diferencia claramente a sibutramina de outras substâncias causadoras de perda de peso como a D-fenfluramina (na qual há predomínio da liberação de serotonina (5-HT)) e a D-anfetamina (predominantemente um liberador de dopamina e noradrenalina) (Buckett et al., 1988; Heal et al., 1998; Finer, 2002).

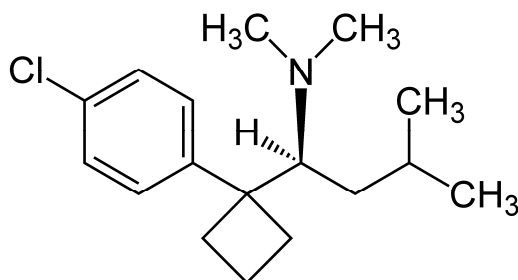


Figura 1. Fórmula estrutural da sibutramina.

1.4. Serotonina

A serotonina (Figura 2), à semelhança da histamina, é amplamente distribuída na natureza, sendo encontrada em tecidos, vegetais e animais, venenos e irritantes. A serotonina é

um neurotransmissor, produzido no cérebro (núcleo da rafe) a partir do aminoácido L-triptofano, atuando como vasoconstritor, estimulador da musculatura lisa presente nos órgãos, regulador do sono e da temperatura, da percepção da dor crônica, da regulação da pressão arterial, do apetite e do humor. A serotonina exerce muitas ações, as quais são mediadas por sete famílias de subtipos de receptores na membrana celular. Estes receptores 5-HT são identificados com algarismos subscritos de um a sete. A serotonina causa diretamente a contração do músculo liso principalmente através dos receptores 5-HT₂. Nos seres humanos, a serotonina age como um poderoso vasoconstritor, exceto no músculo esquelético e no músculo cardíaco, locais onde dilata os vasos sanguíneos. Assim, a sibutramina, ao inibir a recaptação da serotonina, aumenta sua concentração, diminuindo a ansiedade e aumentando a saciedade (Chapelot et al., 2000).

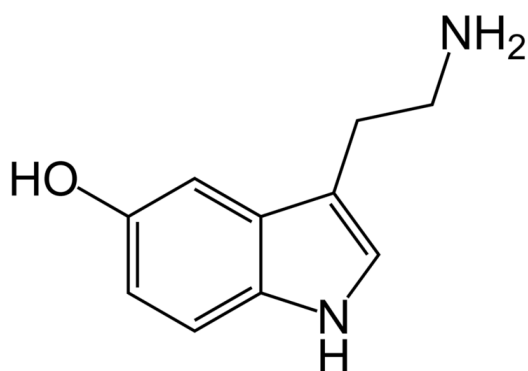


Figura 2: Fórmula estrutural da serotonina

1.5. Noradrenalina

A noradrenalina (Figura 3), também chamada de norepinefrina, é sintetizada nas fibras nervosas, enquanto que a adrenalina é produzida na glândula suprarrenal. É uma das monoaminas que mais influenciam o humor, ansiedade, sono e alimentação junto à serotonina, dopamina e adrenalina, tendo como principais efeitos a elevação do metabolismo, o aumento da frequência

cardíaca e o aumento da pressão arterial. A noradrenalina tem potente efeito alfa-agonista, assim como, algum efeito beta1-adrenérgico (Dellinger, 2003). A noradrenalina endógena é metabolizada pela enzima monoaminoxidase (MAO) na terminação nervosa simpática, enquanto a droga exógena sofre processo de metabolização pela catecol-o-metiltransferase (COMT). Os principais efeitos colaterais são semelhantes aos da adrenalina, tais como, arritmias cardíacas, hipertensão, taquicardia, cefalêia e vômitos (Beloeil et al., 2005). Ao evitar a recaptação da noradrenalina na fenda sináptica, a sibutramina potencializa os efeitos deste hormônio, aumentando o gasto energético e a pressão arterial (Hansen et al., 1998; Walsh et al., 1999).

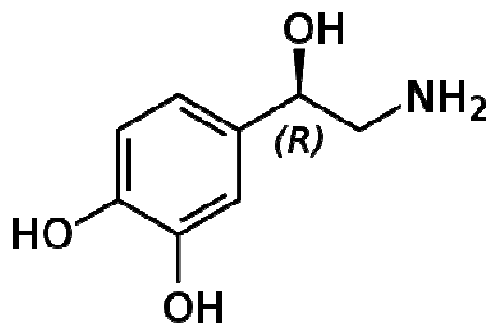


Figura 3: Fórmula estrutural da noradrenalina

1.6. Dopamina

A dopamina (Figura 4) é um neurotransmissor, precursor natural da adrenalina e da noradrenalina que tem ação estimuladora sobre o sistema nervoso central (SNC), agindo nos receptores adrenérgicos do sistema nervoso simpático. Também atua sobre os receptores dopaminérgicos nos leitos vasculares renais, mesentéricos, coronarianos e cerebrais, produzindo

vasodilatação. A dopamina é mais abundante no corpo estriado, que é parte do sistema motor e está envolvido nos movimentos automáticos e coordenação dos movimentos a partir do córtex cerebral. Altas concentrações desse mediador são encontradas em algumas regiões do sistema límbico e do hipotálamo e seus efeitos são dependentes da dose. Assim, em doses baixas (0,5 a 2 mcg/kg/min), atua predominantemente sobre os receptores dopaminérgicos, produzindo vasodilatação mesentérica e renal. A vasodilatação renal dá lugar a um aumento do fluxo sanguíneo renal, da taxa de filtração glomerular, da excreção de sódio e geralmente do volume urinário. Em dose baixas a moderadas (2 a 10 mcg/kg/min), também exerce um efeito inotrópico positivo sobre o miocárdio devido à ação direta nos receptores beta 1 e à ação indireta mediante a liberação de norepinefrina dos locais de armazenamento. Destas ações resulta um aumento da contratilidade do miocárdio e do volume de ejeção, aumentando o gasto cardíaco. A pressão arterial sistólica e a pressão do pulso podem aumentar, sem variação ou com ligeiro aumento da pressão arterial diastólica. A resistência total periférica não se altera. O fluxo sanguíneo coronariano e o consumo de oxigênio do miocárdio geralmente aumentam. Com doses mais elevadas (10mcg/kg/min), ocorre estímulo dos receptores alfa adrenérgicos, produzindo aumento da resistência periférica pela vasoconstrição cutânea e renal. As pressões sistólica e diastólica aumentam como resultado do incremento do débito cardíaco e da resistência periférica (Rang et al., 2007).

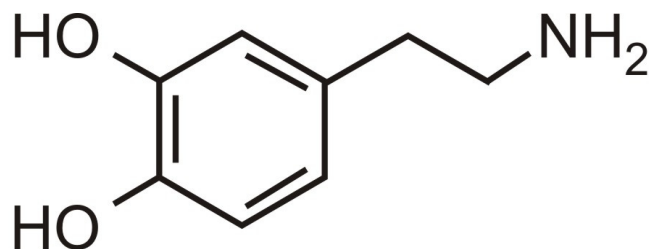


Figura 4: Fórmula estrutural da dopamina

1.7. Eficiência da sibutramina

Em primeiro lugar, a sibutramina promove a sensação mais prolongada de saciedade após a alimentação o que leva à menor ingestão alimentar entre as refeições. Cabe salientar que a ação principal da sibutramina não é causar o efeito de anorexia, mas aumentar e prolongar a saciedade pelo sentimento de plenitude depois de comer. Estudos nos quais pacientes classificavam seus sentimentos de saciedade numa escala visual analógica (SAV) demonstraram que os pacientes tratados com sibutramina alcançaram pontuações mais elevadas que aqueles não tratados (Hansen et al., 1999). Chapelot et al. (2000) realizaram um estudo em que se avaliou o consumo de energia num período de 24 horas e concluíram que a sibutramina reduziu significativamente a ingestão diária de energia em 310 kcal/dia.

É sabido que, durante e após o ganho de peso, há aumento nas necessidades diárias de energia total, e que por outro lado, com a perda de peso, existe normalmente uma diminuição na taxa metabólica. Assim, o segundo efeito da sibutramina é estimular o gasto de energia, limitando desta forma a diminuição da taxa metabólica que ocorre normalmente quando há perda de peso.

Este efeito é menor em humanos, mas pode ser calculado como um aumento de aproximadamente 100 kcal/dia (Walsh et al., 1999).

Em 2000, James et al. administraram 10 mg/dia de sibutramina, juntamente a um déficit calórico, e obtiveram redução de 5% ou mais de peso em 77% dos pacientes ao final de seis meses.

Na maioria das vezes, os estudos têm verificado perda de peso significativa com o uso de sibutramina (Cuellar et al., 2000; Fanghanel et al., 2000). Na dose de 15 mg/dia de sibutramina em pacientes obesos durante seis meses, observou-se perda de 10,27 kg no grupo experimental em relação a 1,26 kg no grupo controle, além de reduções significativas no IMC e da circunferência da cintura (Cuellar et al., 2000). A administração de 10 mg/dia de sibutramina para pacientes obesos, durante seis meses, provocou, em média, perda de 7,52 kg e redução de 12,51 cm na circunferência da cintura para o grupo experimental (Fanghanel et al., 2000).

Especificamente sobre a saciedade, foram analisados os efeitos objetivos (ingestão de alimentos) e subjetivos (sensações de fome) através da administração de 15 mg de sibutramina no período da manhã. A substância começou a fazer efeito em torno de seis horas depois da ingestão, produzindo redução no consumo calórico de 311,5 kcal, em média, comparada com o placebo. Esta redução foi ainda maior quando analisado o período de 24 horas (redução de 382,4 kcal), sendo o efeito mais acentuado no almoço (redução de 152,1 kcal) (Chapelot et al., 2000).

1.8. Hipertensão, obesidade e sibutramina

A hipertensão ou pressão arterial elevada foi definida pela Organização Mundial da Saúde (WHO) como um aumento persistente da pressão arterial sistólica igual ou maior a 140 mmHg e a pressão diastólica maior ou igual a 90 mmHg (Tortora and Grabowski, 2002; Rubin, 2006). Nas

sociedades industrializadas, a hipertensão é o distúrbio mais comum que afeta o coração e os vasos sanguíneos. A hipertensão arterial é causa importante de insuficiência cardíaca, doença renal e de acidentes vasculares cerebrais. A hipertensão pode ser classificada em: *hipertensão primária* (90 a 95% dos casos) em que a pressão arterial persistentemente elevada não pode ser atribuída a qualquer causa identificável, e a *hipertensão secundária* (5 a 10%), cuja causa é identificável. Os distúrbios que podem causar hipertensão secundária são: a) obstrução do fluxo de sangue renal ou distúrbios que lesem o tecido renal. Essas lesões podem fazer com que os rins liberem quantidade excessiva de renina no sangue; b) hipersecreção de aldosterona (causado por tumor de córtex adrenal), que causa a reabsorção excessiva de sal e de água pelos rins, aumentando assim os líquidos corporais e, por último, c) a hipersecreção de norepinefrina ou noradrenalina (por exemplo, em tumor de medula adrenal). A noradrenalina e a norepinefrina aumentam a frequência e a contratilidade cardíacas, além de aumentar a resistência vascular sistêmica. A pressão arterial elevada é conhecida como o “assassino silencioso”, por causar dano considerável aos vasos sanguíneos, ao coração, ao encéfalo e aos rins, antes de causar dor ou outro sintoma perceptível. Nos vasos sanguíneos, provoca espessamento da túnica média, acelera o desenvolvimento da aterosclerose e da doença das artérias coronárias, além de aumentar a resistência vascular sistêmica. No coração, a hipertensão aumenta a pós-carga, o que força os ventrículos a trabalhar mais para ejetar o sangue. A resposta à carga de trabalho aumentada é a hipertrofia de miocárdio, especialmente da parede do ventrículo esquerdo e do septo interventricular. Se não conseguir atender à demanda aumentada por oxigênio, o fluxo sanguíneo coronariano pode causar *angina pectoris* ou mesmo infarto do miocárdio (Tortora and Grabowski, 2002; Rubin, 2006).

Segundo Wilson et al. (2002), a obesidade e o sobrepeso são fatores determinantes do risco de doenças cardiovasculares, tanto em homens como em mulheres, entre elas a hipertensão, hipercolesterolemia, diabetes mellitus e infarto de miocárdio. Em obesos ou indivíduos hipertensos, o número médio de anormalidades metabólicas aumentou proporcionalmente ao grau de adiposidade (Kannel and Wilson, 1998).

A sibutramina é uma droga que age como inibidora do apetite e por isso tem sido utilizada nos últimos anos como coadjuvante em dietas de emagrecimento. No entanto, essa droga apresenta efeitos colaterais relacionados ao sistema cardiovascular, assim, os efeitos graves, como hipertensão, arritmias e taquicardia, levaram à sua retirada do mercado italiano depois de 50 casos com eventos adversos e duas mortes por causas cardiovasculares (Advisory, 2002). O aumento na frequência cardíaca e o aumento da pressão arterial com o uso de sibutramina são conhecidos e resultaram na interrupção da terapia com esta droga em 5% dos pacientes avaliados por Yanovski & Yanovski (2002). Por outro lado, o uso de sibutramina melhora outros riscos cardiovasculares como hiperlipidemia e ajuda no controle glicêmico em pacientes com diabetes do tipo 2 (Fujioka et al., 2000; McMahon et al., 2000).

1.9. Efeitos adversos do uso da sibutramina

Os efeitos colaterais mais comuns encontrados nos estudos foram: secura de boca, pressão arterial alta, fadiga, constipação, taquicardia, anorexia, dores de cabeça e insônia (Luque & Rey, 1999; Richter, 1999; James et al., 2000; Cuellar et al., 2000; Fanghanel et al., 2000; Meridia, 2002). Existem poucos relatos sobre o uso de sibutramina durante a gravidez, e a maioria dos estudos refere-se ao primeiro trimestre de gestação (Kadioglu et al., 2004; Zreik et al., 2005; De Santis et al., 2006). Na maioria dos casos, as mulheres eram obesas, estavam em tratamento com

sibutramina e não sabiam que estavam grávidas. Assim, em 2004, foram descritos dois casos de gestantes que continuaram com a gravidez, após interromper o tratamento com sibutramina. No primeiro caso, a mulher fez uso de 10mg/dia de sibutramina durante 4 a 6 semanas de gestação. Após 37 semanas, deu à luz a uma criança do sexo masculino (3850g; 53 cm). O bebê foi monitorado durante 18 meses, não sendo registrados problemas no desenvolvimento. No segundo caso, a mulher fez uso a 10mg/dia de sibutramina entre a 5ª e 8ª semana de gestação. O parto ocorreu na 39ª semana. A criança era do sexo masculino (3500g; 50cm), foi monitorada por dois meses e também não apresentou problemas no desenvolvimento (Kadioglu et al., 2004).

Estudos recentes descreveram casos de 10 pacientes que tomaram sibutramina durante o primeiro trimestre de gravidez, duas delas sofreram aborto espontâneo, enquanto as restantes tiveram bebês normais e saudáveis (Einarson et al., 2004).

Os estudos experimentais geraram diferentes resultados, dependendo da espécie estudada e da dose de sibutramina utilizada. Em ratos, não se evidenciou teratogenicidade com doses de 1, 3 e 10mg Kg/dia de sibutramina. No entanto, em coelhos, altas doses da droga provocaram toxicidade materna e malformações cardiovasculares na prole (Physicians Desk Reference, 2004).

2. OBJETIVOS

Objetivo Geral:

Este estudo experimental tem como objetivo analisar a performance reprodutiva de ratas expostas à sibutramina, avaliando seu possível efeito teratogênico e sua influência sobre o miocárdio materno.

Objetivos específicos:

Os objetivos específicos deste trabalho são:

- Avaliar se ratas que receberam dieta hipercalórica (20% de gordura) por um período de 15 semanas apresentaram sobrepeso.
- Avaliar a performance reprodutiva das ratas dos grupos: G1) controle, G2) controle tratadas com sibutramina, G3) com sobrepeso e G4) com sobrepeso tratadas com sibutramina (6,0 mg/kg/dia).
- Avaliar o efeito teratogênico da sibutramina sobre a prole de mães tratadas durante os primeiros 15 dias de prenhez.
- Avaliar a pressão arterial e a espessura das paredes ventriculares do coração das ratas tratadas com sibutramina, com sobrepeso e de seus respectivos grupos controle.

3. CAPÍTULOS

Este trabalho originou os artigos:

- **“Sibutramine effects on the reproductive performance of pregnant overweight and non-overweight rats”** que foi submetido e aceito no periódico **“Journal of Toxicology and Environmental Health, Parte A, dedicada ao Brasil”** sob o código de **MS # 19**
- **“Efeitos da sibutramina nos produtos da prenhez de ratas normais ou com sobrepeso”** que será submetido ao periódico **“Journal of Applied Toxicology”**.

JOURNAL OF TOXICOLOGY AND ENVIRONMENTAL HEALTH

Part A: Current Issues

Editor-in-Chief

SAM KACEW, Ph.D.

McLaughlin Centre for Population Health Risk Assessment
Institute of Population Health, Room 310
University of Ottawa
1 Stewart Street
Ottawa, Ontario
K1N 6N5
Phone: (613) 562-5800 ext. 8357
Fax: (613) 562-5380
E-mail: skacew@uottawa.ca

Associate Editors:

GARY P. CARLSON
School of Health Sciences
Purdue University
West Lafayette, IN 47907-1338
Email: gcarlson@purdue.edu

VINCENT CASTRANOVA
Pathology and Physiology
Research Branch
National Institute for Occupational
Safety and Health
1095 Willowdale Road
Mail Stop 2015
Morgantown, WV 26505
Email: VIC1@CDC.GOV

RAKESH DIXIT
Medimmune, Inc.
One Medimmune Way
Gaithersburg, MD 20878
Email: Dixitr@medimmune.com

BYUNG MU LEE
Division of Toxicology
College of Pharmacy
Sungkyunkwan University
Chonchon-dong 300, Changan-ku
Suwon, Kyonggi-do 440-746
South Korea
Email: bmllee@skku.ac.kr

MARK J. REASOR
Department of Pharmacology
and Toxicology
Robert C. Byrd Health Sciences Center
of West Virginia University
Morgantown, WV 26506
Email: mreasor@hsc.wvu.edu

DR. CHUN-YUH YANG
Institute of Public Health
Kaohsiung Medical University
100 Shih-Chuan 1st Road
Kaohsiung 80708
Taiwan
Email: chunyh@cc.kmu.edu.tw

JUDITH T. ZELIKOFF
New York University School of Medicine
Department of Environmental Medicine
57 Old Forge Road
Tuxedo, NY 10987
Email: judyz@env.med.nyu

January 18, 2010

Dr. Wilma de Grava Kempinas
Departamento de Morfolgia
Instiuto de Biociencias de Botacutu- UNESP
Disritio de Ribiao Junior s/n
18618-000 Botacutu
Brazil

Re: Brazil IBAMTOX Symposium Volume MS # 19

Title: Determination of sibutramine....

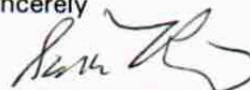
Dear Wilma:

I am happy to inform you that your manuscript has been accepted in its revised version and forwarded to our publishers Taylor & Francis for further handling once all the papers for this volume have been received. Taylor & Francis will provide you with the proofs of your paper approximately 8 months prior to publication.

Should any questions arise concerning galley proofs, the volume in which article is to appear, etc. please contact Andrea McFadden (tel. 215-625-8900 ext. 213) or (FAX. 215-625-2940) or email: andrea.mcfadden@taylorandfrancis.com at Taylor & Francis.

Thank you again for your interest in the Journal of Toxicology and Environmental Health.

Sincerely



Sam Kacew, Ph.D.
Editor-in-Chief



Taylor & Francis

Taylor & Francis Group

www.taylorandfrancis.com

Artigo 1

SIBUTRAMINE EFFECTS ON THE REPRODUCTIVE PERFORMANCE OF PREGNANT OVERWEIGHT AND NON-OVERWEIGHT RATS

Short running title: Sibutramine effects in pregnant rats

**Luis Alberto Domingo Francia-Farje¹; Denise Salioni Silva²; Gustavo Tadeu Volpato³; Glaura
Scantamburlo Alves Fernandes¹; Nilson Carnietto²; Antonio Carlos Cicogna⁴; Wilma De Grava
Kempinas^{2*}**

¹ *Post-graduate Program of Cellular and Structural Biology, Institute of Biology, University of Campinas (UNICAMP), São Paulo, Brazil*

² *Department of Morphology, Institute of Biosciences, UNESP – Univ Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, Brazil*

³ *Institute of Biological and Health Science, Campus of Araguaia, Mato Grosso Federal University (UFMT), Mato Grosso, Brazil*

⁴ *Department of Medical Clinic, School of Medicine, UNESP – Univ Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, Brazil*

*Correspondence to: Profa. Dra. Wilma De Grava Kempinas
Departamento de Morfologia
Instituto de Biociências de Botucatu – Unesp
Distrito de Rubião Júnior, s/n
18618-000 - Botucatu - SP - BRASIL
Tel: (+55 14) 38116264
E-mail: kempinas@ibb.unesp.br

Abstract

It is well-established that sibutramine produces weight loss and is used frequently in women of child bearing age. However, the potential adverse consequences attributed to sibutramine use by women who may become pregnant is not known. It was thus of interest to determine the effects of sibutramine on the reproductive performance of pregnant rats. Overweight as well as non-overweight female Wistar rats were treated with sibutramine (6mg/kg) orally, daily for 15 days and then mated with normal male rats. Pregnancy was confirmed and treatment continued with sibutramine until day 14 of pregnancy. On day 20 of pregnancy all rats were anesthetized for determination of various maternal and fetal parameters. There was a significant maternal weight reduction at the end of pregnancy in the non-overweight drug-treated group compared to control (non-overweight, no drug). Sibutramine alone and overweight condition alone produced a significant increase in postimplantation loss and placental index. In the overweight with or without sibutramine groups a significant decrease in fetal weight was noted. Data suggest that sibutramine alone or the condition of excess weight in the absence of drugs produced impaired reproductive performance. However, treatment of overweight rats with sibutramine did not further exacerbate fetal loss compared to sibutramine alone or the effects noted with excess weight alone.

Key words: Sibutramine, overweight, pregnancy, reproductive performance, rats.

Introduction

Obesity is currently a global epidemic and has contributed to increased frequency of cardiovascular diseases, diabetes and hypertension (Tan et al., 2005). Obesity is frequently defined simply as a condition of excessive fat accumulation in adipose tissue (WHO, 2000). Adipose tissue plays an important role in energy storage, thermal isolation, and protection from minor trauma (Bueno et al., 2005).

Genetic factors, diet and lifestyle are the predominant factors associated with obesity development (Tan et al., 2005) and medical treatment may include the use of certain drugs (Cateron, 1999). Sibutramine is an anorexigenic substance used in obesity treatment (Luque and Rey, 1999). In the 1980s sibutramine was originally developed as an antidepressant, but was also found to produce weight loss. Sibutramine appeared to affect food ingestion as well as energy expenditure, which simulated the physiological process of satiety and stimulates thermogenesis (Meridia, 2002). Hansen et al. (1999) indicated that weight loss occurred through the inhibition of serotonin and norepinephrine reuptake.

The most commonly reported side effects of sibutramine include dry mouth, high blood pressure, fatigue, constipation, tachycardia, anorexia, headaches and insomnia (Fanghanel et al., 2000; James et al., 2000; Meridia, 2002). There are few reports on the use of sibutramine during pregnancy and most of the studies refer use in the first trimester of pregnancy (Kadioglu et al., 2004; De Santis et al., 2006; Zreik et al., 2005). In most cases, the women who were obese and taking sibutramine did not know that they were pregnant. Einarson et al. (2004) observed that some pregnant women administered sibutramine suffered miscarriages.

Considering the lack of information regarding the adverse effects of sibutramine during pregnancy, this study aimed to determine the reproductive performance of overweight and non-overweight pregnant rats treated with sibutramine.

Materials and methods

Animals

Female (n=60) and male Wistar rats (n= 30), weighing approximately 116 g and 150 g respectively, approximately 30 days old, were obtained from UNESP's Vivarium (State of São Paulo, Brazil). During the 2-week acclimation and experimental periods, rats were kept in an experimental room under controlled conditions of temperature (22 ± 2 °C), humidity ($50\pm 10\%$), and a 12hr light/dark cycle. Control animals had *ad libitum* access to a commercial diet (Agroceres[®] rat chow Brazil), and overweight rats to a hypercaloric diet with 20% excess lipids (Agroceres[®] rat chow Brazil). Water was provided *ad libitum*. The Ethical Committee for Animal Experimental Research approved the protocols used in this study (18/07-CEEA).

Obesity induction and pregnancy diagnosis

Obesity was induced by providing a hypercaloric diet for 15 weeks. The obesity state was confirmed when the difference of body weight between overweight and control animals was considered statistically significant (17 % higher). Female overweight following a 15 week treatment of a hypercaloric diet and non overweight females were mated overnight with normal weight male rats. The morning in which sperm was found in the vaginal smear was designated gestational day 0 (GD 0) (Damasceno et al., 2008).

Experimental groups

Rats were divided into 4 experimental groups: G1 = non-overweight (control, n=12); G2 = non-overweight treated with sibutramine (n=12); G3 = overweight (n=12); and G4 = overweight treated with sibutramine (n=13). Pregnancy was confirmed and treatment continued with sibutramine daily at 6mg/kg until GD 14. Sibutramine was daily diluted with saline solution (0.9%).

Evaluation of pregnancy

Maternal weight was measured every 7 days during hypercaloric treatment and pregnancy at approximately 9 a.m. In the afternoon of GD 20 rats were anesthetized with ether and sacrificed by inducing pneumothorax. The gravid uterus was weighed and dissected to count dead and live fetuses, resorptions, implantations, and number of corpora lutea. The number of implantation sites was determined by the Salewski (1964) method. The fetuses were weighed and male/female percentage ratio was calculated. The rates of pre-implantation loss and postimplantation loss were calculated (Volpato et al., 2008). The fetuses and placentae were weighed to calculate the placental index as: placental weight/fetal weight. The mean birth weight of the control pups (G1) was 4.16 ± 0.32 g. Newborns in the experimental groups whose birth weights did not diverge more than ± 1 standard deviation (SD) from the G1 mean (i.e., those that were within the 3.84 to 4.48 g range) were classified as appropriate for pregnancy age (APA). Those whose weights were at least 1 SD greater than the G1 mean birth weight were classified as large for pregnancy age (LPA). Those whose birth weights were at least 1 SD lower than the G1 mean birth weight were classified as small for pregnancy age (SPA) (Calderon et al., 1992).

Statistical analysis

Student's t test was used for comparison of weight between control and overweight groups after 15 weeks of treatment. The Kruskal-Wallis test, followed by Dunn's test, was used for comparison between experimental groups regarding the number of corpora lutea, implantations, resorptions, fetal and placental weight, and placental index. For the number of live and dead fetuses, gravid uterine and maternal weight and maternal weight gain, F test of Analysis of Variance (ANOVA), followed by Student-Newman-Keuls test, was applied. The % values were calculated by the Fisher Exact Test (Zar, 1999). A $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Results

Obesity induction

As shown in Figures 1 and 2, after 15 weeks of hypercaloric diet treatment, the body weight mean of overweight group was significantly higher than the non-overweight group.

Evaluation of the reproductive performance

Table 1 shows the reproductive performances in various experimental groups. Sibutramine in non-overweight (G2) and overweight alone (G3) rats presented a reduced number of live fetuses per implantation compared to control. G2 and G3 groups also displayed an increased % postimplantation loss and placental index. The placental weight was significantly higher in non-overweight drug-treated group (G2). The overweight groups (G3 with no drug and G4 with sibutramine) presented an elevated number of SPA fetuses and decreased fetal body weight compared to control group.

Discussion

There are several models of hypercaloric diets, with addition of carbohydrates or fat that results in significant weight gain (Von Diemen et al., 2006). In animals, hyperlipidic feeding is an important factor in etiology of obesity as these diets induced excessive body fat accumulation in monkeys, dogs, pigs, squirrels, hamsters and rats (Willet, 1998; Katan, 1999). This study used an obesity-induced model which incorporated a hypercaloric (hyperlipidic) diet intake that is similar to that noted in humans. Our data showed that the use of this diet may thus serve as an appropriate experimental model for inducing significant weight gain in animals in agreement with the previous findings of Nascimento et al. (2005).

In the USA, obesity during pregnancy occurs frequently and elevates the risk of adverse obstetric outcomes, especially to the fetus and newborn with consequent increased use of the health care system and financial cost burdens (Chu et al., 2008). Clinical investigations demonstrated that obese women presented with high rates of amenorrhea and infertility (Hassan and Killick, 2004). In our study it was found that being overweight was associated with a reduction in % live fetuses per implantation sites, and consequently increased postimplantation loss. Linne (2004) reported the possibility of adverse effects on the health of obese mother's children. Rolls and Rowe (1982) and Holemans et al. (2004) showed that pups weights of obese and control mothers did not differ significantly at birth; however, Rolls and Rowe (1982) observed that pups of obese mothers weighed significantly less than those of controls at weaning. In this study a decrease in fetal body weight was noted in overweight groups in the absence or presence of sibutramine confirmed to increase of % in small for pregnancy age fetuses.

Numerous substances including sibutramine are currently used in the treatment of obesity both in non-pregnant as well as during pregnancy. Various experimental studies indicated that pre-natal administration of selective serotonin reuptake inhibitors, statins, and medicinal plants like rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract may result in fetal death, malformations or growth suppression (Damasceno and Lemonica, 1999; Mello et al., 2005; Ofori et al., 2007; Pendersen et al., 2009). These compounds may cross the placenta producing deleterious effects on the embryo (Volpato et al., 2006). In this study, sibutramine administered to pregnant rats produced a decrease in number of live fetuses and increased rate postimplantation loss. On GD 0 the maternal weight of overweight non drug-treated rats was significantly higher than control. Sibutramine was effective in reducing weight in the overweight drug-treated group. At the end of pregnancy (5 days after termination of sibutramine treatment), the body weight of animals in the overweight non drug-treated group did not differ from control, possibly as a result of increase in postimplantation loss with consequent decreased fetal number.

Data thus indicate that sibutramine is effective in reducing body weight in non-pregnant rats but failed to markedly alter maternal weight gain during pregnancy. Sibutramine treatment produced a significant increase in postimplantation loss index similar to that noted in overweight rats; however, in the presence of obesity and sibutramine, there was no marked effect on postimplantaion loss. Evidence thus suggests that the use of sibutramine does not appear to exert additive or potentiating effects in pregnant overweight rats.

Acknowledgements

We are grateful to André F. Nascimento, José Carlos Georgette and Mario Batista Bruno for their help with hipercaloric diet protocol; and CAPES - PROEX for the fellowship granted to Luis Francia-Farje.

References

- Bueno, A. A., Oyama, L. M., Estadella D., Habitante, B. S. S., Ribeiro, E. B. and Oller do Nascimento, C. M. 2005 Lipid metabolism of monosodium glutamate obese rats after partial removal of adipose tissue. *Physiol. Res.*54:57-65.
- Calderon, I. M. P., Rudge, M. V. C., Brasil, M. A. M. and Henry, M. A. C. A. 1992 Diabete e gravidez experimental em ratas I. Indução do diabete, obtenção e evolução da prenhez. *Acta Cir. Bras.*7:1-9.
- Caterson, I. D. 1999 What should we do about overweight and obesity? *Med. J. Aust.* 171:599-600.
- Chu, S. Y., Bachman, D. J., Callaghan, W. M., Whitlock, E. P., Dietz, P. M., Berg, C. J., O'Keeffe-Rosetti, M., Bruce, F. C. and Hornbrook, M. C. 2008 Association between obesity during pregnancy and increased use of health care. *N. Engl. J. Med.* 358: 1444-1453.

Damasceno, D. C., Kempinas, W. G., Volpato, G. T., Consonni, M., Rudge, M. V. C. and Paumgarten, F. J. R. 2008 *Anomalias Congênitas – Estudos Experimentais*. Belo Horizonte: Editora Coopmed.

Damasceno, D.C., Lemonica, I.P., 1999. Embryotoxicity and anti-implantation effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract in pregnant rats within preimplantation period. *Braz. J. Toxicol.*12: 47-54.

De Santis, M., Straface, G., Cavallere, A. F., Carducci, B. and Caruso, A. 2006 Early first-trimester Sibutramine exposure: pregnancy performance and neonatal follow-up. *Drug. Saf.* 29:255-259.

Einarson, A., Bonari, L., Sarkar, M., Mckenna, K. and Koren, G. 2004 Exposure to Sibutramine during pregnancy: a case series. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*116:112.

Fanghanel, G., Cortinas, L., Sanchez-Reyes, L. and Berber, A. 2000 A clinical trial of the use of Sibutramine for treatment of patients suffering essential obesity. *Int. J. Obesity Related. Metab. Disord.* 24:144-150.

Hansen, D. L., Toubro, S., Stock, M. J., Macdonald, I. A. and Astrup, A. 1999 The effect of sibutramine on energy expenditure and appetite during chronic treatment without dietary restriction. *Int. J. Obesity Related. Metab. Disord.* 23:1016-1024.

- Hassan, M. A. M. and Killick, S. R. 2004 Negative lifestyle is associated with a significant reduction in fecundity. *Fertil. Steril.* 81:384-392.
- Holemans, K., Caluwaerts, S., Poston, L. and Van Assche, F. A. 2004 Diet-induced obesity in the rat: a model for gestational diabetes mellitus. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 190:858-865.
- James, W. p., Astrup, A., Finer, N., Hilsted, J., Kopelman, P., Rössner, S., Saris, W. H.. and Van Gaal, L. F.. 2000 Effect of Sibutramine on weight maintenance after weight loss: a randomised trial. *Lancet* 356:2119-2125.
- Kadioglu, M., Ulku, C., Yaris, F., Kesim, M., Kalyoncu, N. I., Yaris, E. 2004 Sibutramine use in pregnancy: Report of two cases. *Birth Defects Res. A. Clin. Mol. Teratol.* 70:545-546.
- Katan, M. B. 1999 Fatty acids and health: an update. *Scand. J. Nutr.* 43:26.
- Linne, Y. 2004 Effects of obesity on women's reproduction and complications during pregnancy. *Obes. Rev.* 5:137-143.
- Luque, C. A. and Rey, J. A. 1999 Sibutramine: a serotonin-norepinephrine reuptake-inhibitor for the treatment of obesity. *Ann Pharmacother* 33:968-978.

Mello, F.B., Jacobus, D., Carvalho, K., Mello, J.R.B., 2005. Effects of *Lantana camara* (Verbenaceae) on general reproductive performance and teratology in rats. *Toxicol* 45: 459–466.

Meridia[®] Product monograph. 2002 *Compendium of Pharmaceuticals and Specialties* (CPS).
Ottawa: Canadian Pharmacists Association,.

Nascimento, A. F., Sugizaki, M. M. and Nogueira, C.R. 2005 Modelo de dieta hipercalórica para indução de obesidade. *Arq. Bras. Endocr. Metab.* 49:S528.

Ofori, B., Rey, E. and Bérard A. 2007 Risk of congenital anomalies in pregnant users of statin drugs *Br. J. Clin. Pharmacol.* 64:496-509.

Pedersen, L. H., Henriksen, T. B., Vestergaard M., Olsen J. and Bech, B.H. 2009 Selective serotonin reuptake inhibitors in pregnancy and congenital malformations: population based cohort study. *Br.Med.J* 339: B3569.

Rolls, B. J. and Rowe, E. A. 1982 Pregnancy and lactation in the obese rat: effects on maternal and pup weights. *Physiol. Behav.* 23:393-400.

Salewski, E. 1964 Farbemethode zum makroskopischen nachweis von implantationsstellen im uterus der ratte nach Naunyn-Schmüderberg. *Arch. Pharmacol.* 247:367.

- Tan, H. M., Gundlach, A. L. and Morris, J. M. 2005 Exaggerated feeding response to central galanin-like peptide administration in diet-induced obese rats. *Neuropeptides* 39:333-336.
- Volpato, G. T., Damasceno, D. C., Miranda, M. R. F., Sabbag-Filho, D., Calderon, I. M. P., Rudge, M. V. C. 2006 Mixture of vitamin C, hesperidin and piperidol exposure in pregnancy: maternal-fetal repercussions. *Braz. J. Pharmaceut. Sci.* 42:77-82.
- Volpato, G. T., Damasceno, D. C., Rudge, M. V. C., Padovani, C. R. and Calderon, I. M. P. 2008 Effect of *Bauhinia forficata* aqueous extract on the maternal-fetal performance and oxidative stress biomarkers of streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* 116:131-137.
- Von Diemen, V., Trindade, E. N. and Trindade, M. R. 2006 Experimental model to induce obesity in rats. *Acta Cir. Bras.* 21:425-429.
- Willet, W. 1998 Is dietary fat a major determinant of body fat? *Am. J. Clin. Nutr.* 67:556-562.
- World Health Organization (WHO). 2000 Part I: The problem of overweight and obesity. In: WHO. *Obesity: preventing and managing the global epidemic*. Geneva: WHO Technical Report Series, 894.
- Zar, J. H. 1999 *Biostatistical Analysis*. New Jersey: Prentice-Hall.

Zreik, T. G., Ramzi, F., Elias, D. and Mona, S. 2005 Sibutramine in pregnancy.

Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 122: 243-251.

Figure Legend

Figure 1. Body weight of non-overweight and overweight animals after 15 weeks of normal and hypercaloric diet treatment.

*Values are expressed as means $\pm$ SEM. Data were evaluated by the Student's *t* test*

** Significant from control $p < 0.05$. ($n = 30/\text{group}$)*

Figure 2. Body weight of non-overweight and overweight animals during 15 weeks of normal and hypercaloric diet treatment. After 10 weeks, shows that there was statistically significant difference between body weight of non-overweight and overweight animals.

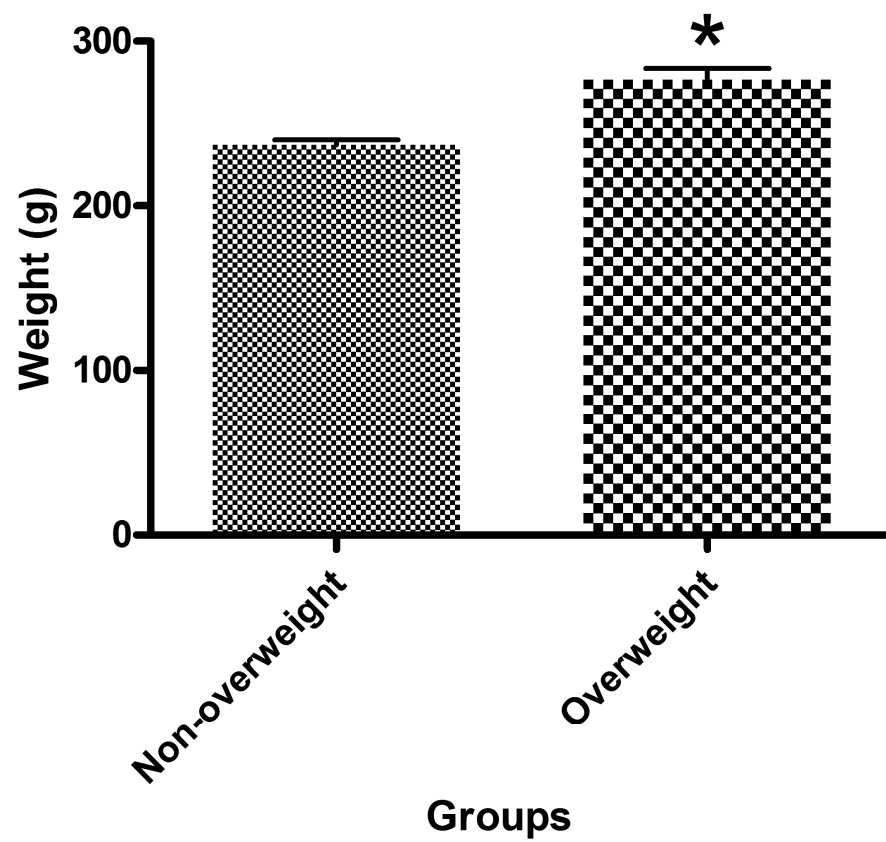


Figure 1

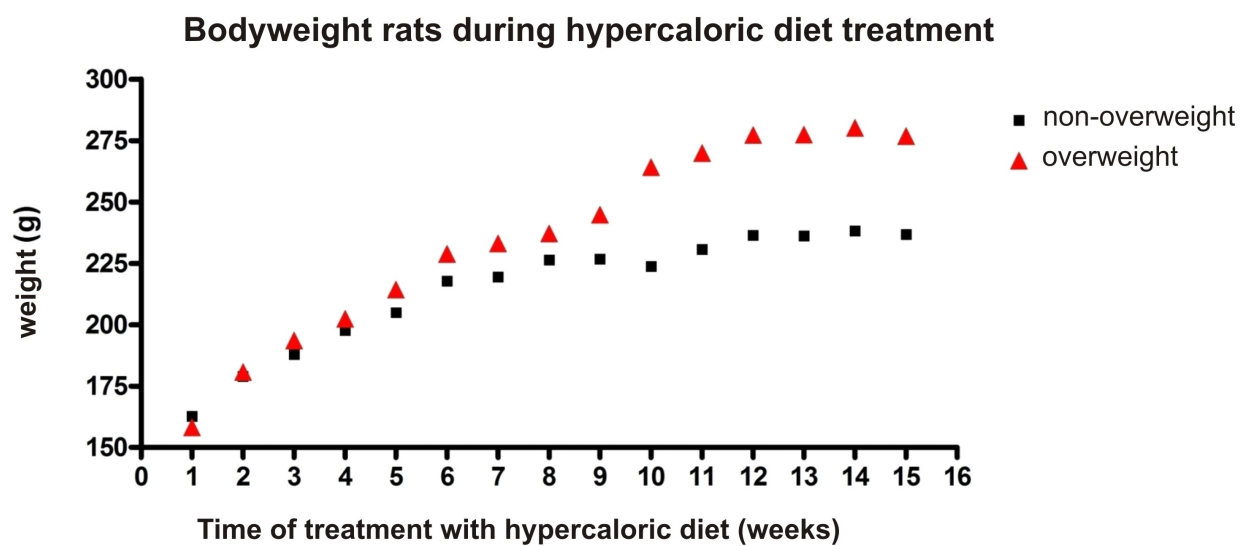


Figure 2

Table 1. Reproductive performance of non-overweight and overweight rats treated orally with sibutramine (6.0 mg/kg body weight/day) before mated and until 14th of pregnancy.

	<i>Groups</i>			
	<i>G1</i>	<i>G2</i>	<i>G3</i>	<i>G4</i>
Pregnant females (N)	12	12	12	13
Pregnant at term (N)	12	12	11	13
With total resorptions (N)	0	0	1	0
Corpora lutea				
Total (N)	162	156	171	178
Mean $\pm$ SD	13.50 $\pm$ 2.24	13.00 $\pm$ 2.33	15.54 $\pm$ 3.11	13.69 $\pm$ 2.06
Implantation				
Total (N)	126	129	115	156
Mean $\pm$ SD	10.50 $\pm$ 2.43	10.75 $\pm$ 2.18	10.45 $\pm$ 3.01	12.00 $\pm$ 1.53
Live fetuses				
Total (N)	119	104	98	143
Mean $\pm$ SD	9.92 $\pm$ 2.61	8.67 $\pm$ 3.47	8.91 $\pm$ 2.91	11.00 $\pm$ 2.27
Per implantation sites (%)	94.44	80.62*	85.22*	91.67
Dead fetuses				
Total (N)	0	0	1	0
Mean $\pm$ SD	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.13 $\pm$ 0.34	0.00 $\pm$ 0.00
Resorptions				
Total (N)	7	25	16	13
% Per litter (mean $\pm$ SD)	6.31 $\pm$ 7.32	23.32 $\pm$ 28.60	12.47 $\pm$ 18.11	8.81 $\pm$ 11.03
Preimplantation loss (%)	22.22	17.31	32.75	12.36
Postimplantation loss (%)	5.56	19.38*	14.78*	8.33
Fetal body weight (g)				
Mean $\pm$ SD	4.16 $\pm$ 0.32	4.09 $\pm$ 0.40	3.92 $\pm$ 0.51*	4.04 $\pm$ 0.34*
SPA Fetuses (%)	15.97	25.45	35.35*	29.79*
APA Fetuses (%)	71.43	61.82	56.57*	63.12
LPA Fetuses (%)	12.60	12.73	8.08	7.09
Placental weight (g)				
Mean $\pm$ SD	0.48 $\pm$ 0.07	0.55 $\pm$ 0.09*	0.49 $\pm$ 0.08	0.49 $\pm$ 0.07
Placental Index (g)				
Mean $\pm$ SD	0.11 $\pm$ 0.02	0.13 $\pm$ 0.02*	0.12 $\pm$ 0.03*	0.12 $\pm$ 0.02
Sex ratio (M/F)	57/62	55/51	50/47	77/67

Maternal weight (g)				
Day 0	253.00 ± 19.79	234.29 ± 19.12	275.13 ± 33.86*	257.15 ± 30.09
Day 20	341.83 ± 32.82	317.00 ± 25.23	355.12 ± 47.54	358.85 ± 43.34
Maternal weight gain (g) - MWG	88.80 ± 19.30	83.54 ± 16.15	79.98 ± 34.02	101.66 ± 21.89
Gravid uterine weight (g) - GUW	58.17 ± 16.28	49.12 ± 20.03	51.18 ± 17.79	63.08 ± 13.29
MWG minus GUW (g)	30.63 ± 10.40	34.42 ± 20.57	36.34 ± 18.21	38.58 ± 26.60

G1 = non-overweight group, G2 = non-overweight treated with sibutramine, G3 = overweight group, and G4 = overweight treated with sibutramine. N= number. Data shown as mean ± standard deviation (SD) and proportions (%). Different values (p<0.05) from those of the non-overweight group (G1) are indicated by an asterisk ().*

Artigo 2

AVALIAÇÃO DO EFEITO TERATOLÓGICO DA SIBUTRAMINA ADMINISTRADA NA PRENHEZ DE RATAS NORMAIS OU COM SOBREPESO E REPERCUSSÃO NA MORFOFISIOLOGIA CARDÍACA

**Luis Alberto Domingo Francia-Farje¹; Gustavo Tadeu Volpato²; Denise Salioni Silva³;
Camila Contin Diniz de Almeida-Francia⁴; Carlos Roberto Padovani⁵; André Ferreira do
Nascimento⁶; Jair de Campos Soares⁴; Wilma De Grava Kempinas^{3*}**

¹ *Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Estrutural, Instituto de Biologia, Universidade de Campinas (UNICAMP), São Paulo, Brasil.*

² *Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Campus de Araguaia, Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), Mato Grosso, Brasil*

³ *Departamento de Morfologia, Instituto de Biociências, UNESP - Univ Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, Brasil*

⁴ *Departamento de Anatomia, Instituto de Biociências, UNESP – Univ Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, Brasil*

⁵ *Departamento de Bioestatística, Instituto de Biociências, UNESP - Univ Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, Brasil*

⁶ *Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina, UNESP, Univ Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, Brasil*

*Correspondência: Profa. Dra. Wilma De Grava Kempinas
Departamento de Morfologia
Instituto de Biociências de Botucatu – Unesp
Distrito de Rubião Júnior, s/n
18618-000 - Botucatu - SP - BRASIL
Tel: (+55 14) 38116264
E-mail: kempinas@ibb.unesp.br

Resumo

A ação anorexígena e termogênica da sibutramina é bem conhecida e tem como efeitos colaterais principalmente o aumento da pressão arterial e da frequência cardíaca. Entretanto, seus efeitos sobre os fetos de mulheres que receberam sibutramina durante a gestação não é bem conhecido. Assim, este trabalho visa avaliar o possível efeito teratogênico da sibutramina na prole de ratas tratadas durante a prenhez e sua possível influência na morfofisiologia cardíaca das mães. Foram utilizados quatro grupos de animais: ratas controle, ratas controle tratadas com sibutramina, ratas com sobrepeso, ratas com sobrepeso tratadas com sibutramina. As ratas tratadas receberam sibutramina diariamente (6mg/kg), via *gavage* por 15 dias, sendo em seguida acasaladas com ratos adultos normais. A prenhez foi confirmada via esfregaço vaginal e o tratamento continuou por mais 15 dias durante a prenhez. No dia 20 de prenhez, todas as ratas foram anestesiadas e realizaram-se as laparotomias com a retirada dos fetos para as análises esqueléticas e viscerais. Também foram retirados os corações das mães para a análise morfométrica. Nos grupos controle tratado com sibutramina, com sobrepeso e com sobrepeso tratado com sibutramina, houve número de fetos com anomalias esqueléticas significativamente maior que nos animais do grupo controle. Em relação à presença de anomalias viscerais, não houve diferença estatística entre os grupos experimentais. A sibutramina causou aumento de pressão arterial e alterações morfométricas nos corações dos animais tratados. Concluiu-se que, nessas condições experimentais, a sibutramina e o sobrepeso, isoladamente ou combinadas, causaram anomalias esqueléticas fetais em ratos. Em relação à avaliação cardiológica, o uso de sibutramina por ratas normais pode causar aumento da espessura da parede do VE, mas seu uso

por ratas com sobrepeso traz efeito cardiovascular benéfico, pois, ao diminuir o peso corpóreo, pode diminuir a sobrecarga funcional do coração.

Palavras chave: sibutramina, sobrepeso, gravidez, risco teratogênico, anomalias fetais, ratas.

Introdução

A obesidade pode ser descrita como a “Síndrome do Novo Mundo”. Sua prevalência está aumentando continuamente em todas as faixas etárias em vários países desenvolvidos e em desenvolvimento. Estudos mostram que, na década dos anos 90, o problema da obesidade tem aumentado de 12 a 20% em homens e 16 a 25% em mulheres (Flegal et al., 1998). Nos Estados Unidos e em alguns países europeus, quase dois terços da população tem sobrepeso e quase um terço é obesa (Tzotzas & Krassas, 2004; Ogden et al., 2006; Department of Health and Human Services, 2008). A obesidade não é simplesmente produto de ingestão exagerada de alimento e de falta de exercício, pois o acúmulo de gordura ou a mobilização dos lipídios, a partir dos depósitos de gordura, são controlados por vários fatores como regulação hormonal da fome e da saciedade, regulação dos níveis de glicose, controle central da taxa metabólica basal e do tamanho e da atividade metabólica dos adipócitos (Grun & Blumberg, 2009). Além disso, a etiologia da obesidade envolve, por um lado, fatores genéticos, metabólicos e neurais (Dryden et al., 1994; Andersson, 1996; Flier and Flier, 1998) e, por outro, fatores ambientais, hábitos alimentares, atividade física e fatores sócio-culturais (Wadley, 1980; Spiegelman and Flier, 1996).

O sobrepeso e a obesidade têm contribuído com o aumento de doenças cardiovasculares, hipertensão, doenças respiratórias e desordens metabólicas (Tuck et al., 1981; Kolarzyk et al., 1985; Rahilly, 1997; Tan et al., 2005).

Apesar do aumento do número de pessoas com excesso de peso e com obesidade, o tratamento médico inclui apenas alguns tipos de drogas (Caterson, 1999). Diretrizes nutricionais recomendam uma dieta com baixas calorias e exercício para promover perda de peso (Health, 2000). No entanto, após a perda de peso inicial, a motivação parece acabar depois de atingido o platô esperado (Lean, 2001). Este platô da perda de peso tem estimulado vários cientistas na procura de novas drogas. Fenfluramina e fluoxetina foram sugeridas como possíveis soluções, mas causam efeitos colaterais sérios, razão pela qual foram retiradas do mercado (Cannistra et al., 1997; Mark et al., 1997; Rothman and Bauman, 2002). A sibutramina foi inicialmente usada nos anos 80 como antidepressivo devido ao seu mecanismo de ação, inibindo a recaptação de norepinefrina e serotonina (Heal, 1998; Wortley, 1999) e tem sido usada nos Estados Unidos, onde foi introduzida pelos Laboratórios Abbott, no tratamento de obesidade desde fevereiro de 1998, (Luque and Rey, 2002). Essa droga causa aumento da saciedade e estimula a termogênese através da queima de gordura (Hansen, 1999; Meridia, 2002), causando assim perda de peso. A sibutramina apresenta, também, efeitos colaterais tais como boca seca, aumento da pressão arterial, fadiga, constipação, taquicardia, dor de cabeça e insônia (Luque and Rey, 1999; Fanghanel et al., 2000; James et al., 2000; Meridia, 2002). Existem poucos relatos do uso de sibutramina durante a gravidez e a maioria deles se refere ao uso da droga durante o primeiro trimestre de gravidez (Kadioglu et al., 2004; Zreik et al., 2005; De Santis et al., 2006). Na maioria dos casos, as mulheres eram obesas, estavam em tratamento com a sibutramina e não

estavam cientes da gravidez. Segundo as observações de Einarson et al. (2004), algumas das mulheres grávidas em tratamento com a sibutramina apresentaram abortos.

Atualmente cerca de um bilhão de pessoas no mundo apresentam pressão arterial alta, e há expectativa de que este quadro atinja um bilhão e meio de pessoas até 2025, afetando 1 entre 3 adultos com 20 anos de idade média (Kearney et al., 2005). A circulação sanguínea é mantida graças à função de bomba aspirante/premente que o coração possui. Ele apresenta quatro câmaras - átrios direito e esquerdo e ventrículos direito e esquerdo. Assim, o coração é dividido por um septo, ao longo de seu eixo maior, em porções direita e esquerda, compreendidas por um átrio e um ventrículo cada uma. O átrio do coração direito recebe sangue venoso dos órgãos periféricos e, através do ventrículo direito, esse sangue é direcionado aos pulmões. A circulação pulmonar inicia-se no ventrículo direito e termina no átrio esquerdo e apresenta um sistema de baixa pressão. Ao contrário, a circulação sistêmica, que se inicia no ventrículo esquerdo, apresenta pressão suficiente para garantir a perfusão do sangue através de todo o organismo. A circulação sistêmica termina no átrio direito, as veias cavas superior e inferior, e do seio coronário, despejam o sangue venoso com pressão praticamente zero.

O ciclo cardíaco entre dois batimentos é dividido em diástole e sístole, que representam respectivamente o relaxamento e a contração do miocárdio das câmaras (Frank, 1959). Durante a diástole atrial o sangue flui para o interior do coração (função aspirante) e a contração dos átrios promove o enchimento passivo dos ventrículos que estão relaxados. Durante a diástole ventricular a pressão interna do coração permanece baixa e depois que as valvas atrioventriculares se fecham (primeira bulha cardíaca), a musculatura ventricular se contrai isovolumetricamente, diminuindo a cavidade ventricular. Neste momento a pressão ventricular excede às pressões da aorta e do tronco pulmonar, as valvas destes vasos se abrem e o sangue é ejetado do coração

(função premente). Após a ejeção do volume intraventricular, as pressões ventriculares caem rapidamente e as valvas aórtica e do tronco pulmonar se fecham (segunda bulha cardíaca). Neste momento, as valvas atrioventriculares se abrem reiniciando a diástole ventricular (Frank, 1895). O comprimento da fibra muscular e a tensão estão em íntima relação, assim o enchimento do ventrículo leva ao aumento da pressão ventricular. Esta relação é conhecida como mecanismo de Frank-Starling (Starling, 1897).

O funcionamento do coração é modulado pelo sistema nervoso autônomo simpático e parassimpático através de neurotransmissores como a acetilcolina e a norepinefrina respectivamente. O aumento de norepinefrina por ação do sistema nervoso autônomo simpático estimula o aumento da frequência cardíaca e da PA sistólica.

Visando acrescentar informações sobre os possíveis efeitos teratogênicos da sibutramina sobre a prole, este estudo tem como objetivo avaliar as possíveis alterações esqueléticas e viscerais dos fetos de ratas com e sem sobrepeso, tratadas ou não com sibutramina. Ao mesmo tempo, procurou-se avaliar nas mães as possíveis alterações da pressão arterial e as consequentes variações morfométricas do miocárdio induzidas pela sibutramina.

Materiais e métodos

Animais

Foram utilizadas ratas Wistar fêmeas (n=60) e machos (n=30), pesando aproximadamente 116 g e 150g, respectivamente, com 30 dias de idade, obtidas do biotério do Laboratório Experimental do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da UNESP de Botucatu. Os animais foram mantidos no Biotério de Pequenos Mamíferos do Departamento de

Morfologia do Instituto de Biociências da UNESP de Botucatu, sob condições controladas de luminosidade (12 horas de luz/ 12 horas de escuro), temperatura (média de 23°C), umidade (50±10%) e circulação contínua de ar. Durante a semana de adaptação, os animais receberam água e ração padrão (Agrocere[®]) *ad libitum*.

Os animais dos grupos experimentais receberam ração e água *ad libitum*. Os animais dos grupos controle receberam ração padrão (Agrocere[®]) e os animais dos grupos com sobrepeso receberam ração hipercalórica com 20% de gordura (Agrocere[®]). Os protocolos usados nesta pesquisa foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (18/07-CEEA).

Indução de sobrepeso, grupos experimentais e diagnóstico de prenhez

A indução de sobrepeso foi realizada com o uso de dieta hipercalórica durante 15 semanas, sendo que o sobrepeso foi confirmado através da diferença estatisticamente significativa do peso corpóreo entre os animais do grupo controle e do grupo com sobrepeso (Francia-Farje et al. 2010 *in press*).

Após 15 semanas, os animais controle e com sobrepeso foram distribuídos em quatro grupos: G1= sem sobrepeso (controle, n=12), G2= controle tratado com sibutramina (n=12), G3= sobrepeso (n=12) e G4= sobrepeso tratado com sibutramina (n=13). Os animais foram tratados oralmente (via *gavage*) com sibutramina (6,0 mg/kg/dia) durante 15 dias antes do acasalamento. Depois de confirmada a prenhez, o tratamento continuou até o 14º dia de prenhez (DG 14). Os grupos não tratados com sibutramina (controle e sobrepeso) receberam solução salina (0,9 %) pela mesma via.

Após 15 semanas de tratamento com dieta hipercalórica, as ratas foram acasaladas com machos adultos na proporção de 1:1 durante o período escuro do ciclo. Na manhã seguinte, foram

coletados esfregaços vaginais e, quando identificados espermatozóides nas lâminas, considerou-se como dia 0 de prenhez ou DG 0 das fêmeas (Damasceno et al., 2008).

Análise das anomalias externas, esqueléticas e viscerais (Figuras 2A, 2B e 2C)

As laparotomias das mães dos quatro grupos foram realizadas no DG20. Os animais foram anestesiados com éter e mortos pela indução de pneumotórax. Durante as laparotomias, as vísceras das mães foram analisadas para possível detecção de anormalidades macroscópicas. Os fetos foram retirados e, após as análises macroscópicas, metade dos fetos de cada ninhada foi fixada em álcool 70% e, posteriormente, processada para análise de anomalias e/ou malformações esqueléticas. A outra metade foi colocada em solução fixadora de Bodian (148 ml de água destilada, 50 ml de formaldeído, 50 ml de ácido acético glacial e 752 ml de álcool etílico a 95% - Damasceno et al., 2008) para análise de anomalias ou malformações viscerais.

A análise das anomalias e/ou malformações esqueléticas foi realizada utilizando-se o método de Staples & Schnell (1964). Para a observação e contagem dos pontos de ossificação na ninhada processada, utilizou-se o método proposto por Aliverti et al. (1979). A análise visceral foi realizada seguindo o método descrito por Wilson (1965).

Avaliação de mudanças morfofuncionais cardíacas nas fêmeas

Avaliação da Pressão Arterial (PA)

A avaliação da pressão arterial foi realizada nas ratas dos quatro grupos experimentais no Laboratório Experimental do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina – UNESP – Câmpus de Botucatu (SP-Brasil). Os animais foram colocados em suporte próprio provido de mecanismo de contenção. A seguir, as caudas dos animais foram colocadas em

manguito apropriado no qual foi colocado um sensor ou transdutor. As pressões captadas pelo esfigmomanômetro foram registradas em papel por meio de Polígrafo de dois canais (Gould 3200). O parâmetro analisado foi a pressão arterial sistólica cujo limite de normalidade é 110 a 120 mmHg. (Figura 2 D)

Procedimentos para o estudo histológico (morfometria)

Após a laparotomia das ratas prenhes (DG 20), os corações foram retirados, pesados, lavados com solução fisiológica, fixados em solução de Karnovsky (solução de paraformaldeído a 5% e de glutaraldeído a 2,5% em tampão fosfato Sörensen pH 7,2 – 0,1M), desidratados e incluídos em historesina Leica®. A seguir foram realizadas secções transversais dos órgãos com 5µm de espessura em micrótomo rotativo automático. Estes cortes foram corados com azul de toluidina (AT), desidratados e montados. As lâminas foram analisadas e fotografadas em fotomicroscópio digital Leica® DMLB do Departamento de Morfologia do IBB/UNESP.

A morfometria foi realizada nos cortes histológicos cardíacos das lâminas, onde foram realizadas 10 medidas aleatórias das paredes dos ventrículos direito, esquerdo e do septo interventricular (Figura 2E). Para a mensuração, foi utilizado o Sistema de Análise de Imagens Computadorizado LEICA QWin Plus V 3.5.0 do Departamento de Morfologia do IBB/UNESP.

Análise Estatística

Para a análise das anomalias fetais externas e internas, foi usado o teste de Goodman e ANOVA seguido de Teste de Student Newman-Keuls. Para a análise morfométrica dos corações, foi utilizada a Técnica de Variância para o esquema de dois fatores no experimento inteiramente

casualizado, não balanceado, complementada com o teste de Comparações Múltiplas de Tukey. Para todos os testes, foi considerado como nível de significância estatística $p < 0,05$ (Zar, 1999).

Resultados

A Tabela 1 mostra os pontos de ossificação nos quatro grupos experimentais: controle (G1), controle tratado com sibutramina (G2), com sobrepeso (G3) e com sobrepeso tratado com sibutramina (G4). O número de falanges anteriores e posteriores, metacarpos, metatarsos, vértebras caudais e esternóbrios dos grupos G2, G3 e G4 não diferiram do grupo G1. Os números de sítios de ossificação total dos grupos G2 e G3 foram menores do que os grupos G1 e G4, porém não houve diferença estatisticamente significativa.

A Tabela 2 mostra a incidência de anomalias externas, esqueléticas e viscerais entre os grupos experimentais. Não foram observadas anomalias externas em nenhum dos grupos experimentais. Em relação ao número de anomalias viscerais, também não foram observadas diferenças significativas dos grupos G2, G3 e G4 em relação ao grupo G1. A análise esquelética mostrou que os grupos G2, G3 e G4 apresentaram número total de fetos com anomalias significativamente maior em relação ao grupo G1. Quando analisada a média de fetos com alterações por ninhada, foi observado que os grupos G2 e G3 apresentaram média significativamente maior que o grupo G1 e o grupo G4 apresentou média maior do que o G1, embora não estatisticamente significativa.

A Figura 1 mostra os valores de pressão arterial sistólica dos grupos controle, controle tratado, com sobrepeso e com sobrepeso tratado, após o período de uma semana de tratamento

com sibutramina 6 mg/Kg/dia. Na tabela, observa-se que os valores de pressão arterial nos grupos controle tratado e com sobrepeso tratado são significativamente maiores que no grupo controle.

A Tabela 3 mostra os valores de peso absoluto e relativo dos corações dos quatro grupos experimentais. Observa-se que o grupo com sobrepeso não tratado com sibutramina (G3) apresentou peso cardíaco absoluto significativamente maior do que o grupo G1. Em relação ao peso relativo, não se observaram diferenças significativas entre os grupos.

A Tabela 4 mostra os valores em média e desvio padrão da espessura da parede do ventrículo esquerdo (VE), do septo interventricular, e da parede do ventrículo direito, respectivamente, dos corações das ratas dos quatro grupos experimentais. Nesta tabela, observa-se que a parede do VE do grupo G3 é significativamente mais espessa do que o grupo G1. Do mesmo modo, nota-se que o septo interventricular do grupo G4 é significativamente mais delgado que o septo do grupo G3. Em relação à espessura do ventrículo direito, não se observaram diferenças significativas entre os grupos.

Discussão

O aumento no número de pessoas com sobrepeso ou obesidade, atualmente já constatados também em crianças e jovens, tem contribuído com o aumento de doenças cardiovasculares, hipertensão, doenças respiratórias e distúrbios metabólicos (Tuck et al., 1981; Kolarzizyk et al., 1985; Rahilly, 1997; Tan et al., 2005). Existem vários métodos para indução de sobrepeso, Francia-Farje et al. (2010) utilizaram dieta hipercalórica (20% de gordura) durante 15 semanas de tratamento, sendo que, após este período, o grupo com sobrepeso apresentou peso significativamente maior do que o grupo controle. Isto possibilitou o estudo da performance

reprodutiva das ratas com sobrepeso e com sobrepeso tratadas com sibutramina onde observaram-se alterações em vários parâmetros como aumento da perda de embriões pósimplantação no grupo com sobrepeso.

Os tratamentos disponíveis para o tratamento de obesidade ou sobrepeso incluem dietas, exercícios e, em casos mais graves, a cirurgia bariátrica e a administração de alguns tipos de drogas (Cateron, 1999). Uma das drogas utilizadas nos últimos anos, a sibutramina mostrou-se eficaz no tratamento da obesidade. Essa droga atua inibindo a recaptação de serotonina, aumentando a saciedade e diminuindo o apetite e, conseqüentemente, o consumo de alimento e incrementando o gasto energético (Stock, 1997; Hansen et al., 1999; Walsh et al., 1999).

Inúmeros experimentos com humanos e com animais procuraram determinar a dose ideal de sibutramina para a obtenção de resultados satisfatórios. Nesses estudos foram utilizadas doses que variaram entre 0,06 mg/kg a 32mg/kg. (Nakagawa et al., 2000; Brown et al., 2001; Strack et al., 2002; LeBlanc M. & Thibault, 2003; Hu et al., 2004; Foltin, 2006). Para padronização da dose de 6,0 mg/kg/dia utilizada neste trabalho, foram realizados ensaios anteriores para testar as doses de 0,6, 2,0, 4,0, 6,0 e 30,0 mg/kg/dia, sendo que a última mostrou-se inviável para ratas.

A saúde materna pode ter impacto significativo no útero, no desenvolvimento fetal e, desse modo, na saúde da prole na vida adulta (de Boo and Harding, 2006). Os fetos de mães obesas têm que se adaptar ao suprimento aumentado ou deficitário de certos nutrientes, os quais podem alterar sua fisiologia e metabolismo permanentemente (de Boo and Harding, 2006).

A obesidade e/ou sobrepeso e o uso de determinados medicamentos (Pedersen et al., 2009) e plantas medicinais no período pré-natal podem causar anomalias fetais (Damasceno and Lemonica, 1999; Mello et al., 2005; Ofori et al., 2007; Rasmussen et al., 2008). Linne (2004) relatou a possibilidade de efeitos negativos sobre a saúde dos filhos de mães obesas. Rasmussen

et al. (2008) observaram que a obesidade materna aumenta o risco de defeito do tubo neural na prole. Assim, os resultados obtidos no presente estudo corroboram com os autores mencionados, demonstrando através de número significativamente maior de fetos com anomalias esqueléticas nos grupos com sobrepeso e com sobrepeso tratado com sibutramina.

Poucos estudos relataram o uso da sibutramina para avaliar a performance reprodutiva em fêmeas e/ou seu potencial teratogênico. De Santis et al. (2006) observaram o efeito da sibutramina durante o primeiro trimestre de gravidez de 52 mulheres, as quais estavam tomando o medicamento sem saberem que estavam grávidas. Relataram sete casos de hipertensão durante a gravidez e nenhum caso de anomalias congênitas nos neonatos. Ramzi et al. (2005) estudaram o efeito da sibutramina durante o segundo trimestre de gravidez em três mulheres. Em um dos casos, a gravidez transcorreu dentro dos padrões de normalidade e o bebê nasceu saudável e sem malformações. Em outro caso, ocorreu um aborto espontâneo e o feto não apresentava malformações externas, porém a placenta mostrava sinais de anomalias cromossômicas. Einarson et al. (2004) acompanharam dez grávidas expostas à sibutramina e constataram que houve sete recém-nascidos saudáveis, um aborto terapêutico e dois abortos espontâneos. Kadioglu et al. (2004) reportaram resultados não deletérios em duas mulheres grávidas expostas à sibutramina durante o primeiro trimestre.

Em coelhos, se observou-se toxicidade materna à sibutramina e malformações cardiovasculares (Ramzi et al., 2005). Em relação às análises esqueléticas realizadas ao longo do presente trabalho, os grupos tratados com sibutramina G2 e G4 apresentaram elevado número de fetos com anomalias. Esses dados estão em concordância com os resultados obtidos por Ramzi et al. (2005).

As malformações esqueléticas nos grupos G2, G3 e G4, demonstradas por defeitos na ossificação, foram causadas pela alteração no desenvolvimento ósseo dos fetos, sendo provocada pela obesidade, pela sibutramina, ou por ambos. O tecido adiposo pode causar alterações no desenvolvimento e no crescimento (Kershaw, 2004), enquanto a sibutramina, que age no hipotálamo, regulando o apetite da mãe, também pode causar alterações no desenvolvimento e no crescimento fetal. Existem estudos com agentes redutores de peso que indicaram ocorrência de defeitos no tubo neural (Robert et al., 1995), associado à perda de peso durante a gravidez (Garcia-Bournissen et al., 2007) e, por este motivo, não é recomendável o uso de sibutramina durante este período. Embora os estudos em animais sejam divergentes sobre a existência ou não de um potencial de teratogenicidade, os resultados do presente trabalho sugerem que não há segurança no uso da sibutramina durante a gravidez. Durante a lactação, seu uso também deve ser evitado, pois ainda não existem evidências se a sibutramina é excretada no leite materno (Ballone, 2005).

A ausência de alterações nas análises viscerais nos fetos das ratas dos grupos controle tratado com sibutramina (G2) e com sobrepeso tratado com sibutramina (G4) está de acordo com os resultados encontrados por Hu et al.(2004).

Em situações fisiológicas normais, o ventrículo esquerdo apresenta paredes mais grossas que o ventrículo direito. Como já mencionado, essa diferença ocorre devido o ventrículo direito bombear sangue exclusivamente aos pulmões, enquanto o ventrículo esquerdo bombeia sangue arterial através de toda a circulação sistêmica (Berne et al., 2000). Interessante mencionar que, durante o desenvolvimento intra-uterino, o ventrículo direito apresenta paredes mais espessas que o esquerdo. Esse miocárdio hipertrófico se deve à alta resistência vascular apresentada pelos

pulmões em desenvolvimento e ainda não funcionais, e à alta pressão aórtica que se contrapõe ao expressivo desvio de fluxo da artéria pulmonar através do ducto arterial (Moore and Persaud, 2000).

Durante a hipertensão arterial sistêmica o coração é um dos primeiros órgãos a ser afetado. Punzi and Flamenbaum (1989) observaram que, dos pacientes hipertensos não tratados, 22% apresentaram hipertrofia do septo interventricular; enquanto Nicholls (1996) observou hipertrofia ventricular esquerda em 20% dos pacientes na mesma situação.

A avaliação de pressão arterial demonstrou que os valores de pressão arterial são altos nos grupos controle tratado com sibutramina e com sobrepeso tratado com sibutramina, concordando com os estudos que mostram que a sibutramina causa um aumento na pressão arterial (Yanovski & Yanovski, 2002; Kim et al., 2003). Como mencionado acima, estes valores elevados de pressão arterial podem causar mudanças no coração, causando principalmente hipertrofia do músculo cardíaco, levando ao aumento da espessura das paredes ventriculares, assim como do septo interventricular (Nicholls, 1996; Tortora, 2002; Rubin, 2006). Por outro lado, a obesidade pode causar hipertensão e hipertrofia da musculatura cardíaca (Wilson et al, 2002) em face da maior exigência funcional do órgão para suprir todos os tecidos. Isso foi confirmado após avaliação morfométrica da parede do ventrículo esquerdo no grupo sobrepeso, onde a espessura da parede foi estatisticamente maior do que no grupo controle. O grupo controle tratado com sibutramina apresentou espessura média da parede do ventrículo esquerdo maior do que o grupo controle não tratado, porém sem significância estatística; enquanto a parede do ventrículo esquerdo do grupo sobrepeso tratado apresentou espessura da parede ventricular esquerda menor do que a do grupo sobrepeso não tratado. Esse resultado também se confirma com os valores observados na

espessura do septo interventricular, onde o grupo sobrepeso tratado com sibutramina apresentou espessura do septo interventricular menor do que o grupo sobrepeso não tratado.

Estes resultados sugerem que o uso de sibutramina por indivíduos sem sobrepeso ou com pouco sobrepeso pode causar aumento da espessura da parede do VE através do efeito hipertensivo indesejável, mas paradoxalmente o seu uso por indivíduos obesos pode trazer efeito cardiovascular benéfico, uma vez que, diminuindo o peso corpóreo diminui a sobrecarga funcional do coração.

Agradecimentos

Agradecemos ao aluno de graduação Nilson Carnietto Junior pela sua ajuda no experimento. Os autores agradecem também a CAPES – PROEX pela Bolsa concedida a Luis Francia-Farje.

Referências

Aliverti V, Bonanomi L, Giavini E. 1979. The extent of fetal ossification as an index of delayed development in teratogenic studies on the rat. *Teratol.*, **20**:237-242.

Andersson LB. 1996. Genes and obesity. *Ann. Med.*, **28**:5-7.

Ballone GJ. 2005. Sibutramina - In. PsiqWeb. [http:// www.psiqweb.med.br](http://www.psiqweb.med.br). Revisto em 2007.

Berne RM, Levy MN, Koeppen BM, Staton BA. 2000. **Fisiologia** 4ed. Rio de Janeiro. Guanabara-Koogan.

Brown M, Bing C, King P, Pickavance L, Heal D, Wilding J. 2001. Sibutramine reduces feeding, body fat and improves insulin resistance in dietary-obese male Wistar rats independently of hypothalamic neuropeptide Y. *Br. J. Pharmacol.* **132**:1898-1904.

Cannistra LB, Davis SM, Bauman AG. 1997. Valvular hearth disease associated with dexfenfluramine. *N. Engl. J. Med.* **337**:636.

Caterson ID. 1999. What should we do about overweight and obesity? *Méd. J. Aust.* **171**:599-600.

de Boo HA, Harding JE. 2006. The developmental origins of adult disease (Barker) hypothesis. *Aust. N. Z. J. Obstet. Gynaecol.* **46**:4-14.

Damasceno DC, Lemonica IP. 1999. Embryotoxicity and anti-implantation effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract in pregnant rats within preimplantation period. *Rev. Bras. Toxicol.* **12**:47-54.

- Damasceno DC, Kempinas WG, Volpato GT, Consonni M, Rudge MVC, Paumgartten FJR. 2008. *Anomalias Congênitas – Estudos Experimentais*. Editora Coopmed: Belo Horizonte.
- De Santis M, Straface G, Cavallere AF, Carducci B, Caruso A. 2006. Early first-trimester Sibutramine exposure: pregnancy performance and neonatal follow-up. *Drug. Saf.* **29**:255-259.
- Dryden S, Frankish H, Wang Q, Williams G. 1994. Neuropeptide Y and energy balance, one way ahead for the treatment of obesity? *Eur. J. Clin. Invest.* **24**:293-308.
- Einarson A, Bonari L, Sarkar M, McKenna K, Koren G. 2004. Exposure to Sibutramine during pregnancy: a case series. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* **116**:112.
- Fanghanel G, Cortinas L, Sanchez-Reyes L, Berber A. 2000. A clinical trial of the use of Sibutramine for treatment of patients suffering essential obesity. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* **24**:144-150.
- Flamenbaum W, Punzi HA. 1989. Clinical **Cardiovascular Therapeutics** – Hypertension. Mount Kisco, New York. Futura Publishing Company, Inc.
- Flegal KM, Carroll MD, Kuczmarski RJ, Johnson CL. 1998. Over weight and obesity in the United States: Prevalence and trends, 1960–1994. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* **22**:39-47.

Flier JS, Flier EM. 1998. Obesity and the hypothalamus: Novel peptides for new pathways. *Cell*. **92**:437-440.

Francia-Farje LAD, Salioni-Silva D, Volpato GT, Fernandes GSA, Carnietto N, Cicogna AC, Kempinas WG. 2010 Sibutramine effects on the reproductive performance of pregnant overweight and non-overweight rats *J. Toxicol. Environ. Health. Part A*, In press.

Frank, O. 1895. *Z. Biol.* 32: 370-447.

Frank, O. 1959. *Am. Heart J.* 58: 282-317.

Foltin RW. 2006. Effects of sibutramine on the appetitive and consummatory aspects of feeding in non-human primates *Physiol. Behav.* **87**:280-286.

Garcia-Bournissen F, Shrim A, Koren G. 2007. Exposure to sibutramine during pregnancy *Can. Fam. Physician.* **53**:229-230.

Grun F, Blumberg B. 2009. Endocrine disrupters as obesogens. *Mol. Cell Endocrinol.* In press.

Hansen DL, Toubro S, Stock MJ, Macdonald IA, Astrup A. 1999. The effect of Sibutramine on energy expenditure and appetite during chronic treatment without dietary restriction. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* **23**:1016-1024.

- Heal DJ, Cheetham SC, Prow MR, Martin KF, Buckett WR. 1998. A comparison of the effects on central α -HT function of sibutramine hydrochloride and other weight-modifying agents. *Br. J. Pharmacol.* **125**:301-308.
- Health Canada. 2000. *The vitality program: a positive approach to healthy living*. Service Canada: Canada.
- Hu YH, Pang DG, Qi B, Lei Q, You S, Liu YQ. 2004. Studies of the effects of sibutramine hydrochloride on perinatal development and maternal function in mice. *Sichuan Da Xue bao Yi Xue Ban.* **35**:229-231.
- James WP, Astrup A, Finer N, Hilsted J, Kopelman P, Rössner S, Saris WH, Van Gaal LF. 2000. Effect of Sibutramine on weight maintenance after weight loss: a randomised trial. *Lancet* **356**:2119-2125.
- Kadioglu M, Ulku C, Yaris F, Kesim M, Kalyoncu NI, Yaris E. 2004. Sibutramine use in pregnancy: Report of two cases. *Birth Defects Res. A. Clin. Mol. Teratol.* **70**:545-546.
- Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J 2005 Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet.* **365**: 217-223.
- Kershaw EE, Flier JS. 2004. Adipose tissue as an endocrine organ. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **89**:2548-2556.

- Kim SH, Lee YM, Jee SH, Nam ChM. 2003. Effect of Sibutramine on Weight Loss and Blood Pressure: A Meta-analysis of Controlled Trials. *Obes. Res.* **11**: 1116-1123.
- Kolarzyk E, Kiec E, Wiater M. 1985. Effect of obesity on the ventilatory capacity of the respiratory system. I. Relation between basic spirometric indicators: vital capacity (VC) and forced expiratory volume (FEV1) and obesity. *Med. Pr.* **36**:87-95.
- Lean MEJ. 2001. How does sibutramine work? *Internat.J. Obes.* **25**: S8–S11.
- Leblanc M, Thibault L. 2003. Effect of sibutramine on macronutrient selection in male and female rats. *Physiol. Behav.* **80**:243-52.
- Linne Y. 2004. Effects of obesity on women's reproduction and complications during pregnancy *Obes Rev.* **5**:137-43.
- Luque CA, Rey JA. 1999. Sibutramine: a serotonin-norepinephrine reuptake-inhibitor for the treatment of obesity. *Ann. Pharmacother.* **33**:968-978.
- Luque CA, Rey JA. 2002. The discovery and status of sibutramine as an antiobesity drug. *Eur. J. Pharmacol.* **440**:119-128.

- Mark EJ, Patalas ED, Chang HT, Evans RJ, Kessler SC. 1997. Fatal pulmonary hypertension associated with short-term use of fenfluramine and phentermine *N. Engl. J. Med.* **337**:602-606.
- Mello FB, Jacobus D, Carvalho K, Mello JRB. 2005. Effects of *Lantana camara* (Verbenaceae) on general reproductive performance and teratology in rats. *Toxicon.* **45**:459-466.
- Meridia® Product monograph. 2002. *Compendium of Pharmaceuticals and Specialties* (CPS). Canadian Pharmacists Association: Ottawa.
- Moore K L and Persaud T V N 2000 Embriologia Clínica Editora Guanabara-Koogan Rio de Janeiro .
- Nakagawa T, Ukai K, Ohyama T, Gomita Y, Okamura H. 2000. Effects of chronic administration of sibutramine on body weight, food intake and motor activity in neonatally monosodium glutamate-treated obese female rats: relationship of antiobesity effect with monoamines. *Exp. Anim.* **49**:239-249.
- Nicholls M G. 1996. Hypertension, hypertrophy, heart failure. *Heart* **76**:92-97.
- Ofori B, Rey E, Bérard A. 2007. Risk of congenital anomalies in pregnant users of statin drugs *Br. J. Clin. Pharmacol.* **64**:496–509.

- Ogden CL, Carroll MD, Curtin LR, Mcdowell MA, Tabak CJ, Flegal KM. 2006. Prevalence of overweight and obesity in the United States, 1999-2004. *J.A.M.A.* **295**:1549–1555.
- Pedersen LH, Henriksen TB, Vestergaard M, Olsen J, Bech H. 2009. Selective serotonin reuptake inhibitors in pregnancy and congenital malformations: population based cohort study. *Br. Med. J.* **339**:b3569.
- Rahilly OS. 1997. Non insulin dependent diabetes mellitus: the gathering storm. *Br. Med. J.* **314**:955-960.
- Ramzi F, Elias F, Mona S, Zreik TG. 2005. Sibutramine in pregnancy. *Eur. J .Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* **122**:243-244.
- Rasmussen SA, Chu SY, Kim SY, Schmid CH, Lau J. 2008. Maternal obesity and risk of neural tube defects: a metaanalysis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **198**:611-619.
- Robert E, Francannet C, Shaw G. 1995. Neural tube defects and maternal weight reduction in early pregnancy. *Reprod. Toxicol.* **9**:57–59.
- Rothman RB, Bauman MH. 2002. Serotonin releasing agents. Neurochemical, therapeutic and adverse effects *Pharmacol. Biochem. Behav.* **71**:825-836.

- Rubin E, Gorstein F, Rubin R, Schwarting R, Strayer D. 2006. **Rubin Patologia** – Bases clinicopatológicas da Medicina. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan.
- Spiegelman BM, Flier JS. 1996. Adipogenesis and obesity: round in out the big picture. *Cell*. **87**:377-389.
- Staples RE, Schnell VL. 1964. Refinements in rapid clearing technic in the KOH-alizarin red S method for fetal bone. *Stain Technol*. **39**:61-63.
- Starling, EH. 1897 *Lancet* 1: 569-572
- Strack AM, Shu J, Camacho R, Gorski JN, Murphy B, Macintyre DE, Hickey GJ. 2002. Regulation of Body Weight and Carcass Composition by Sibutramine in Rats. *Obes. Res*. **10**:173-181.
- Stock MJ. 1997. Sibutramine: a review of the pharmacology of a novel anti-obesity agent. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* **21**:S25-29.
- Tan HM, Gundlach AL, Morris JM. 2005. Exaggerated feeding response to central galanin-like peptide administration in diet-induced obese rats. *Neuropeptides*. **39**:333-336.
- Tortora G, Grabowski SR. 2002. *Principios de anatomia e fisiologia*. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Kooganx.

- Tuck ML, Sowers J, Dornfeld L, Kledzik G, Maxwell M. 1981. The effect of weight reduction on blood pressure, plasma rennin activity, and plasma aldosterone levels in obese patients. *N. Engl. J. Med.* **304**:930-933.
- Tzotzas T, Krassas GE. 2004. Prevalence and trends of obesity in children and adults of South Europe. *Pediatr Endocrinol Rev.***1**:448–454.
- Wadley J. 1980 Dietary restraint and binge eating behaviour. *Anal. Modif.* **4**:647-660.
- Walsh KM, Leen E, Lean ME. 1999. The effect of sibutramine on resting energy expenditure and adrenaline-induced thermogenesis in obese females. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* **23**:1009-1015.
- Wilson JC. 1965. Methods for administering agents and detecting malformations in experimental animal. In: WILSON, J.C.; WARKANY, J. *Teratology: principles and techniques*. Chicago: The University of Chicago Press.: 262-277.
- Wilson WF, D’agostino RB, Sullivan L, Parise H, Kannel WB. 2002. Overweight and Obesity as Determinants of Cardiovascular Risk. *Arch. Intern. Med.***162**:1867-1872.
- Wortley KE, Hughes ZA, Heal DJ, Stanford SC. 1999. Comparison of changes in the extracellular concentration of noradrenaline in rat frontal cortex induced by sibutramine or D-amphetamine: modulation by alpha2-adrenoceptors *Br. J. Pharmacol.* **127**:1860-1866.

Yanovski SZ, Yanovski JA. 2002. Drug therapy: obesity. *N. Engl. J. Med.* **346**:591-602.

Zreik TG, Ramzi F, Elias D, Mona S. 2005. Sibutramine in pregnancy. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* **122**:243-251.

Zar JH. 1999. Biostatistical Analysis. 4th ed. Prentice-Hall: New Jersey; 663.

Legendas

Figura 1. Valores de pressão arterial sistólica (PA) das ratas após uma semana de tratamento com sibutramina. Valores expressos em média. Teste ANOVA, com teste *a posteriori* deTukey-Kramer. Os asteriscos indicam diferença significativa em relação ao grupo controle não tratado.

** $p < 0,05$; *** $p < 0,05$.

Figura 2: A. Pontos de ossificação para análise esquelética dos fetos. B. Desenho mostrando os planos de corte usados na análise visceral dos fetos. C. Análise esquelética. Esternébrios com aspecto normal na primeira figura da direita. Esternébrio com pouca ossificação (seta grande). Esternébrios com ossificação incompleta (setas finas). Ausência de esternébrio (cabeça de seta). Vértebra torácica em alteres ou com ossificação incompleta. Figuras tiradas de Damasceno et al., 2008. D. Pressão Arterial sistólica normal registrada no polígrafo. E. Corte transversal de coração normal mostrando as paredes ventriculares e o septo interventricular, usados para a realização da análise morfométrica.

Tabela 1

Sítios de ossificação dos grupos de ratas controle (G1), controle tratadas com sibutramina (G2), com sobrepeso (G3) e com sobrepeso tratadas com sibutramina (G4) (6,0 mg/kg peso corpóreo/dia).

	<i>Grupos</i>			
	<i>G1</i>	<i>G2</i>	<i>G3</i>	<i>G4</i>
Número de fetos analisados	63	58	54	72
Falanges anteriores	1,54 ± 0,39	1,33 ± 0,48	1,76 ± 1,05	1,75 ± 0,52
Metacarpos	3,81 ± 0,48	4,00 ± 0,00	3,57 ± 0,68	3,97 ± 0,09
Falanges posteriors	0,00 ± 0,00	0,06 ± 0,14	0,36 ± 1,21	0,00 ± 0,00
Metatarsos	4,04 ± 0,34	4,00 ± 0,00	3,64 ± 1,21	4,01 ± 0,05
Vértebras caudais	3,96 ± 0,63	3,62 ± 0,79	3,79 ± 0,54	4,07 ± 0,71
Esternébrios	5,90 ± 0,33	5,90 ± 0,22	5,85 ± 0,20	5,95 ± 0,10
Total	19,25 ± 1,44	18,91 ± 1,24	18,98 ± 1,64	19,76 ± 1,16

Valores mostrados em média ± desvio padrão (DP). Valores com diferença significativa ($p < 0,05$) comparados aos do grupo controle (G1) são indicados com asterisco(*). Teste de Goodman e ANOVA seguido de Teste de Newman-Keuls.

Tabela 2

Incidência de anomalias na prole de ratas controle (G1), controle tratada com sibutramina (G2), com sobrepeso (G3) e com sobrepeso tratadas com sibutramina (G4) (6,0 mg/kg peso corpóreo/dia) antes do acasalamento e até o 14º dia de prenhez.

	Grupos			
	G1	G2	G3	G4
Anomalias externas				
Número de fetos examinados (ninhada)	118 (12)	110 (12)	99 (10)	138 (13)
Número total de fetos (%) com alterações	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Média de fetos % com alterações por ninhada	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
Anomalias esqueléticas				
Número de fetos examinados (ninhada)	63 (12)	58 (12)	54 (10)	72 (13)
Número total de fetos (%) com alterações	16 (25,4)	34 (58,6)*	32 (59,3)*	37 (51,4)*
Média de fetos % com alterações por ninhada	33,59 ± 31,91	68,98 ± 32,18*	68,08 ± 27,93*	54,00 ± 31,44
<i>Craniofenestria</i>	0 (0,0%)	3 (5,2%)	1 (1,8%)	0 (0,0%)
<i>Ossificação em halteres do centro da vértebra torácica</i>	2 (3,2%)	2 (3,4%)	3 (5,6%)	11 (15,3%)*
<i>Centro da vértebra torácica com ossificação bipartida</i>	1 (1,6%)	0 (0,0%)	2 (1,6%)	1 (1,4%)
<i>Costela supranumerária</i>	1 (1,6%)	0 (0,0%)	1 (1,8%)	1 (1,4%)
<i>Esternébrio ausente (agenesia)</i>	2 (3,2%)	5 (8,6%)	9 (16,7%)*	3 (4,2%)
<i>Esternébrio assimétrico</i>	10 (15,9%)	14 (24,1%)	15 (27,8%)	25 (34,7%)*
<i>Esternébrio bipartido</i>	0 (0,0%)	2 (3,4%)	0 (0,0%)	1 (1,4%)
<i>Esternébrio com ossificação incompleta</i>	11 (17,5%)	29 (50,0%)*	19 (35,2%)*	29 (40,3%)*
Anomalias Viscerais				
Número de fetos examinados (ninhada)	55 (12)	52 (12)	45 (10)	66 (13)
Número total de fetos (%) com alterações	26 (47,3)	30 (57,7)	21 (46,7)	34 (51,5)
Média de fetos % com alterações por ninhada	49,03 ± 28,38	56,67 ± 26,26	49,55 ± 30,95	49,64 ± 28,61

<i>Traqueia dilatada</i>	9 (16,4%)	9 (17,3%)	4 (8,9%)	13 (19,7%)
<i>Esôfago dilatado</i>	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (1,5%)
<i>Pelve renal dilatada</i>	3 (5,4%)	3 (5,8%)	4 (8,9%)	5 (7,6%)
<i>Hidronefrose</i>	18 (32,7%)	22 (42,3%)	15 (33,3%)	26 (39,4%)

Valores mostrados em média $\pm$ desvio padrão (DP) e proporções (%). Valores com diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao grupo controle (G1) são indicados com asterisco (*). Teste de Goodman e ANOVA seguido de Teste de Newman-Keuls.

Tabela. 3 Pesos relativo e absoluto dos corações das ratas mães dos grupos controle (G1), controle tratadas com sibutramina (G2), com sobrepeso (G3) e com sobrepeso tratadas com sibutramina (G4) (6,0 mg/kg peso corpóreo/dia).

	Grupos			
	G1	G2	G3	G4
Peso relativo	0,204 ± 0,118	0,297 ± 0,069	0,300 ± 0,052	0,234 ± 0,021
Peso absoluto	0,833 ± 0,068	0,94 ± 0,287	1,081 ± 0,115 *	0,892 ± 0,093

Valores em gramas mostrados em média ± desvio padrão (DP). Valores com diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao grupo controle (G1) são indicados com asterisco ().*

Tabela 4. Espessura da parede do ventrículo esquerdo, septo interventricular e ventrículo direito dos corações das ratas mães dos grupos de ratas controle (G1), controle tratadas com sibutramina (G2), com sobrepeso (G3) e com sobrepeso tratadas com sibutramina (G4) (6,0 mg/kg peso corpóreo/dia).

	Grupos			
	G1	G2	G3	G4
Espessura do ventrículo esquerdo	3193,26 ± 231,54	3439,99 ± 274,10	3641,27 ± 433,43 [*]	3354,26 ± 346,67
Espessura do septo interventricular	2320,01 ± 54,35	2530,40 ± 284,35	2708,53 ± 308,76	2326,41 ± 406,75 ^{**}
Espessura do ventrículo direito	1028,86 ± 189,22	1336,64 ± 392,92	1260,27 ± 417,99	1109,44 ± 160,75

Valores em micrômetros mostrados em média ± desvio padrão(DP). Valores com diferença significativa ($p < 0.05$) em relação ao grupo controle (G1) são indicados com asterisco (*) e em relação ao grupo G3 com dois asteriscos (**). Técnica de Variância para o esquema de dois fatores no experimento inteiramente casualizado complementado com o teste de Comparações Múltiplas de Tukey.

**Avaliação da Pressão Arterial (PA)
durante o tratamento com Sibutramina**

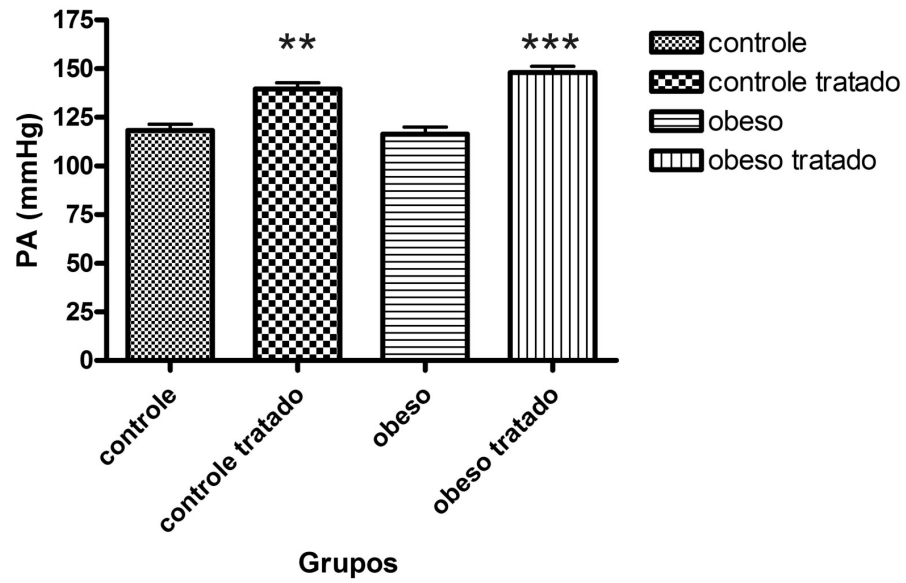


Figura 1

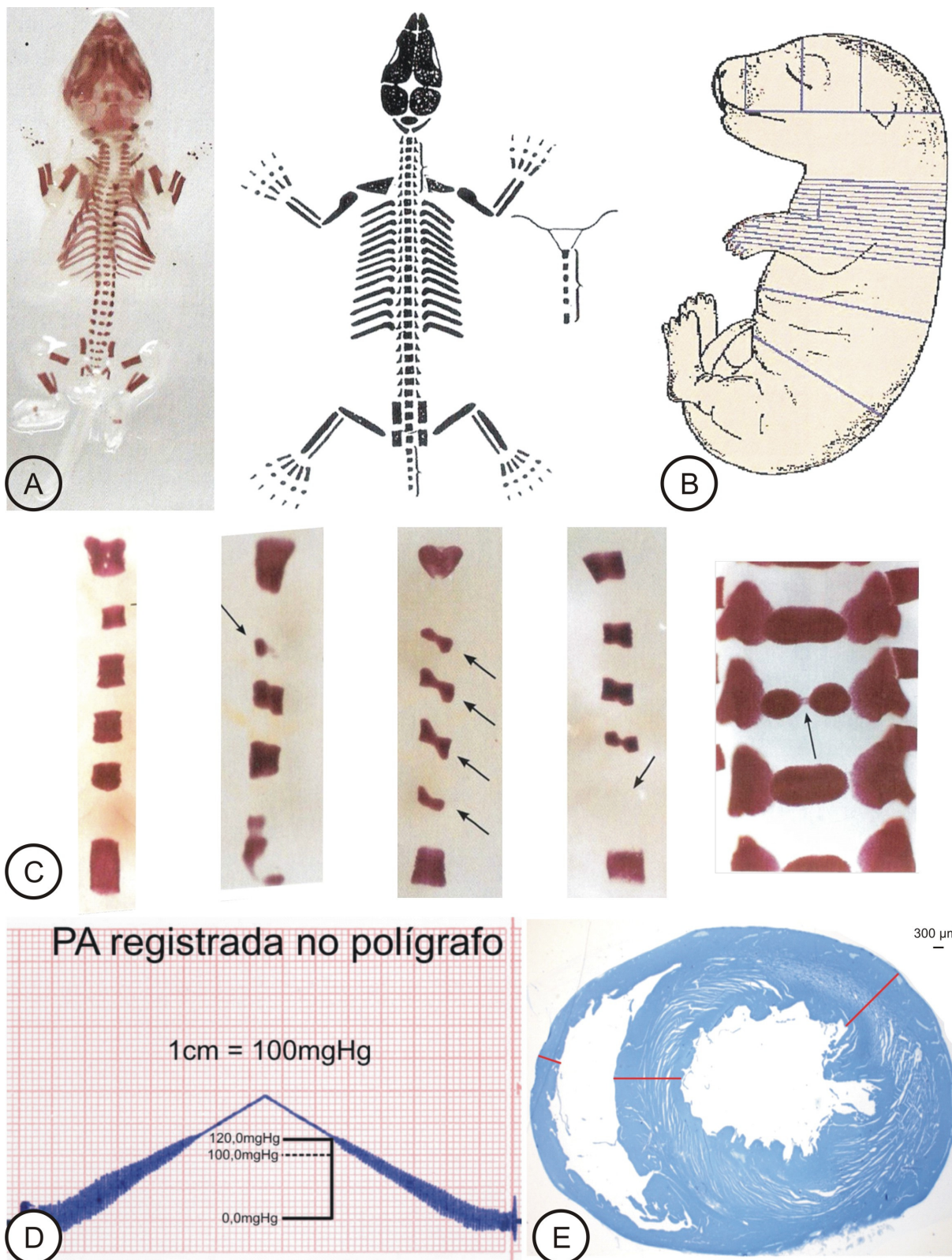


Figura 2

4. CONCLUSÕES

A sibutramina e o sobrepeso, isoladamente, neste modelo experimental, causaram aumento das perdas pós-implantação, do índice placentário e da frequência de anomalias esqueléticas na prole. Na combinação das duas condições, houve uma reversão dos dois primeiros parâmetros. A obesidade provocou diminuição do peso fetal e a droga não foi capaz de reverter esse resultado. Em relação a seus efeitos cardíacos nas mães, a indução de incremento de pressão arterial causou aumento da espessura da parede do ventrículo esquerdo. Entretanto, o uso de sibutramina por ratas com sobrepeso traz efeito cardiovascular benéfico.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO.

ADVISORY: Health Canada investigates safety of Meridia (sibutramine). Ottawa: Health Canada, 2002. Available from: <www.hc-sc.gc.ca/english/protection/warnings/2002/2002_21e.htm>. Accessed: 2002 Apr 17.

BALCIOGLU, A.; WURTMAN, R.J. Sibutramine, a serotonin uptake inhibitor, increases dopamine concentrations in rat striatal and hypothalamic extracellular fluid. **Neuropharmacology**, v.39, n.12, p. 2352-2359, 2000.

BELOEIL, H.; MAZOIT, J.X.; BENHAMOU, D.; DURANTEAU, J. Norepinephrine kinetics and dynamics in septic shock and trauma patients. **Br. J. Anaesth.**, v. 95, p.782-788, 2005.

BUCKETT, W.R.; THOMAS, P.C.; LUSCOMBE, G.P. The pharmacology of sibutramine hydrochloride (BTS 54 524), a new antidepressant which induces rapid noradrenergic down-regulation. *Prog Neuropsychopharmacol.* **Biol. Psychiatr.**, v.12, n.5, p.575–584, 1988.

BUENO, A.A.; OYAMA, L.M.; ESTADELLA, D.; HABITANTE, B.S.S.; RIBEIRO, E.B.; OLLER DO NASCIMENTO, C.M. Lipid metabolism of monosodium glutamate obese rats after partial removal of adipose tissue. **Physiol. Res.**, v.54, p.57-65, 2005.

BRAY GA. Obesity: historical development of scientific and cultural ideas. **Int. J. Obes.**, v.14, p. 909-926, 1990.

CATERSON, I.D. What should we do about overweight and obesity? **Méd. J. Aust.**, v.171, p.599–600, 1999.

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

CHU, S.Y.; BACHMAN, D.J.; CALLAGHAN, W.M.; WHITLOCK, E.P.; DIETZ, P.M.; BERG, C.J.; O'KEEFFE-ROSETTI, M.; BRUCE, C.; HORNBROOK, C. Association between Obesity during Pregnancy and Increased Use of Health Care. **N. Engl. J. Med.**, v.358, p.1444-1453, 2008.

CUELLAR, G.E.; RUIZ, A.M.; MONSALVE, M.C.; BERBER, A. Six-month treatment of obesity with sibutramine 15 mg; a double-blind, placebo-controlled monocenter clinical trial in a Hispanic population. **Obes. Res.**, v.8, n.1, p.71-82, 2000.

DELLINGER, R.P. Cardiovascular management of septic shock. **Crit. Care. Med.**, v.31, p. 946-955, 2003.

DEMÉTRIO, S.; HENSCHER, R.L.; SOARES, V.; OLIVEIRA, A.M.; ZANGROSSI, H. Jr. Effects of sibutramine on anxiety-related behaviours in rats. **Pharmacol. Res.**, v.50, n.5, p. 517-522, 2004.

Department of Health and Human Services – Center for disease Control and Prevention Obesity and overweight trends in the U.S.2008 Available at: <http://www.cdc.gov/nccdphp/dnpa/obesity/trend/index.htm> This website maintained by the Department of Health and Human Services contains resourceful and updated information on obesity

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

DESPRÉS, J.P.; LEMIEUX, I.; PRUD'HOMME, D. Treatment of obesity: need to focus on high risk abdominally obese patient. **Br. Med. J.**, v.322, p.716-720, 2001.

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

FANGHANEL, G.; CORTINAS, L.; SANCHEZ-REYES, L.; BERBER, A. A clinical trial of the use of sibutramine for the treatment of patients suffering essential obesity. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.**, v.24, n.2, p.144-150, 2000.

FINER, N. Sibutramine: its mode of action and efficacy. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.**, v.26, n.4, p.29–33, 2002.

FUJIOKA, K.; SEATON, T.B.; ROWE, E.; JELINEK, C.A.; RASKIN, P.; LEBOVITZ, H.E.; WEINSTEIN, P. Weight loss with sibutramine improves glycaemic control and other metabolic parameters in obese patients with type 2 diabetes mellitus. **Diabetes Obes. Metab.**, v.2, p.175-187, 2000.

HANSEN, D.L.; TOUBRO, S.; STOCK, M.J.; MACDONALD, I.A.; ASTRUP, A. Thermogenic effects of sibutramine in humans. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.68, n.6, p.1180-1186, 1998.

HANSEN, D.L.; TOUBRO, S.; STOCK, M.J.; MACDONALD, I.A.; ASTRUP, A. The effect of sibutramine on energy expenditure and appetite during chronic treatment without dietary restriction. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.**, v.23, n.10, p.1016-1024, 1999.

HEAL, D.J.; ASPLEY, S.; PROW, M.R.; JACKSON, H.C.; MARTIN, K.F.; CHEETHAM, S.C. Sibutramine: a novel anti-obesity drug. A review of the pharmacological evidence to differentiate it from d-amphetamine and d-fenfluramine. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.** v.22, suppl.1, p. 518-528, 1998.

JAMES, W.P.; ASTRUP, A.; FINER, N.; HILSTED, J.; KOPELMAN, P.; ROSSNER, S.; SARIS, W.H.; VAN GAAL, L.F. Effect of sibutramine on weight maintenance after weight loss: a randomised trial. STORM Study Group. Sibutramine Trial of Obesity Reduction and Maintenance. **Lancet**, v.356, n.9248, p.2119-2125, 2000.

KANNEL, W.B.; WILSON, P.W. Epidemiology of risk factor clustering in elevated blood pressure. In: GOTTO Jr, A.M. (Ed.). **Multiple risk factors in cardiovascular disease**. Amsterdam: Kluwer Academic Publishers, 1998. p.325-333.

KADIOGLU M, ULKU C, YARIS F, KESIM M, KALYONCU NI, YARIS E. Sibutramine use in pregnancy: Report of two cases. **Birth Defects Res. A. Clin. Mol. Teratol.** . v.**70**, p.545-546, 2004.

KORNER, J.; ARONNE, L.J. The emerging science of body weight regulation and its impact on obesity treatment. **J. Clin. Invest.** v.111, p.565–570, 2003.

LINNE Y. Effects of obesity on women's reproduction and complications during pregnancy. **Obes. Rev.**, v.5, p.137-143, 2004.

LUQUE, C.A.; REY, J.A. Sibutramine: a serotonin-norepinephrine reuptake-inhibitor for the treatment of obesity. **Ann. Pharmacother.**, v.33, n.9, p.968-978, 1999.

MCMAHON, F.G.; FUJIOKA, K.; SINGH, B.N.; MENDEL, C.M.; ROWE, E.; ROLSTON, K.; JOHNSON, F.; MOORADIAN, A.D. Efficacy and safety of sibutramine in obese white and African American patients with hypertension: a 1-year, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial. **Arch. Intern. Med.**, v.160, n.14, p.2185-2191, 2000.

MERIDIA (sibutramine HCl monohydrate, anorexiant-antiobesity). In:____. **Compendium of pharmaceuticals and specialties**. Ottawa: Canadian Pharmacists Association, 2002. p. 980-984.

NAKAGAWA, T.; UKAI, K.; OHYAMA, T.; GOMITA, Y.; OKAMURA, H. Effects of chronic administration of sibutramine on body weight, food intake and motor activity in neonatally monosodium glutamate-treated obese female rats: relationship of antiobesity effect with monoamines. **Exp. Anim.**, v.49, n.4, p.239-249, 2000.

NOGUEIRAS, R.; BARREIRO, M.L.; CAMINOS, J.E.; GAYTÁN, F.; SOUMINEN, J.S.; NAVARRO, V.M.; CASANUEVA, F.F.; AGUILAR, E.; TOPPARI, J.; DIÉGUEZ, C.; TENA-SEMPERE, M. Novel expression of resistin in rat testis: functional role and regulation by nutritional status and hormonal factors. **J. Cell Sci.**, v.117, p.3247-3257, 2004.

NOKDAD, A.H.; SERDULA, M. K.; DIETZ, W. H.; BOWMAN, B. A.; MARKS, J. S.; KOPLAN, J. P. The spread of the obesity epidemic in the United States, 1991-1998. **J. Am. Med. Assoc.**, v.282, p.1519–1522, 1999.

WHO - ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. Obesidad. Ginebra: OMS, 2010.
Disponível em: [<http://www.who.int/topics/obesity/es/>](http://www.who.int/topics/obesity/es/). Acesso em: 11 fev. 2010.

PDR STAFF. **Physician'S Desk Reference**. 58. ed. Montvale, 2004. Meridia 491-6.

RANG, H.P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J. **Farmacologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.

RICHTER, W.O. How safe are the new obesity drugs? Indications and contraindications of orlistat and sibutramine. **MMW Fortschr. Med.**, v.49, n.49-50, p.32-36, 1999.

ROLLS, J.B.; ROWE, E.A. Pregnancy and lactation in the obese rat: Effects on maternal and pup weights. **Physiol. Behav.**, v.28, n.3, p.393-400, 1982.

RUBIN, E.; GORSTEIN, F.; RUBIN, R.; SCHWARTING, R.; STRAYER, D. **Rubin Patologia** – Bases clinicopatológicas da Medicina. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2006.

STOCK, M.J. Sibutramine: a review of the pharmacology of a novel anti-obesity agent. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.**, v.21, suppl. 1, p.S25-29, 1997.

TAN, H.M.; GUNDLACH, A.L.; MORRIS, J.M. Exaggerated feeding response to central galanin-like peptide administration in diet-induced obese rats. **Neuropeptides**, v.39, p.333-336, 2005.

TORTORA, G.; GRABOWSKI, S.R. **Princípios de anatomia e fisiologia**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2002.

VERNAY, M.; MALON1, A.; OLEKO, A.; SALANAVE, B.; ROUDIER, C.; SZEGO, E.; DESCHAMPS, V.; HERCBERG, S.; CASTETBON, K. Association of socioeconomic status with overall overweight and central obesity in men and women: the French Nutrition and Health Survey 2006. **BMC Public Health**.v. 9, p.215, 2009.

WALSH, K.M.; LEEN, E.; LEAN, M.E. The effect of sibutramine on resting energy expenditure and adrenaline-induced thermogenesis in obese females. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.**, v.23, n.10, p.1009-1015, 1999.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Part I: The problem of overweight and obesity. In: World Health Organization. **Obesity: preventing and managing the global epidemic**. Geneva, WHO Technical Report Series, No. 894, 2000.

WILSON W.F.; D'AGOSTINO R.B.; SULLIVAN, L.; PARISE, H.; KANNEL, W.B. Overweight and Obesity as Determinants of Cardiovascular Risk. **Arch. Intern. Med.**, v.162, p.1867-1872, 2002.

YANOVSKI, S.Z.; YANOVSKI, J.A. Drug therapy: obesity. **N. Engl. J. Med.**, v.346, n.8, p.591-602, 2002.

ZREIK, T. G.; RAMZI, F.; ELIAS, D.; MONA, S. Sibutramine in pregnancy. **Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.**, v.122, p.243–251, 2005.

DECLARAÇÃO

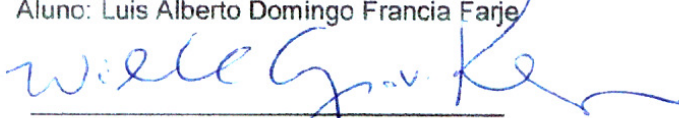
Declaro para os devidos fins que o conteúdo de minha Tese de Doutorado intitulada **"PERFORMANCE REPRODUTIVA MATERNA E DESENVOLVIMENTO EMBRIOFETAL DE RATAS EXPOSTAS À SIBUTRAMINA"**:

() não se enquadra no § 3º do Artigo 1º da Informação CCPG 01/08, referente a bioética e biossegurança.

(X) tem autorização da(s) seguinte(s) Comissão(ões) de Bioética ou Biossegurança*: **COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CEEA)** do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho" – UNESP – Botucatu, sob Protocolo(s) nº **18/07-CEEA**.

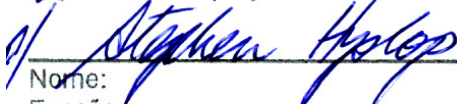
** Caso a Comissão seja externa à UNICAMP, anexar o comprovante de autorização dada ao trabalho. Se a autorização não tiver sido dada diretamente ao trabalho de tese ou dissertação, deverá ser anexado também um comprovante do vínculo do trabalho do aluno com o que constar no documento de autorização apresentado.*


Aluno: Luis Alberto Domingo Francia Farje


Orientador: Wilma de Grava Kempinas

Para uso da Comissão ou Comitê pertinente:

(X) Deferido () Indeferido


Nome: _____

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 18/07-CEEA, sobre "*Investigação da toxicidade reprodutiva, potencial teratogênico e morfologia cardíaca em ratas expostas à sibutramina*", sob a responsabilidade de **WILMA DE GRAVA KEMPINAS**, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela **COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL** (CEEA), em reunião de **25/05/2007**.

Botucatu, 25 de maio de 2007.

A blue ink signature of Prof. Dr. Marcelo Razera Baruffi, written in a cursive style.

Prof. Dr. MARCELO RAZERA BARUFFI
Presidente - CEEA

A blue ink signature of Nadia Jovêncio Cotrim, written in a cursive style.

NADIA JOVÊNCIO COTRIM
Secretária - CEEA