



EFEITOS DO L-TRIPTOFANO E DO CLORIDRATO DE FLUOXETINA NO CONTROLE PONDERAL E NO DESENVOLVIMENTO DA DEPRESSÃO EM RATOS WISTAR

Mariane Rovero Costa¹

Ana Júlia Lilli²

Rochely Luiz Joel³

Tháise Ramires⁴

Adriane Gasparino dos Santos Martinez Uribe⁵

^{1,2,3,4}Graduanda do Departamento de Nutrição/Centro de Ciências da Saúde - Universidade do Sagrado Coração (USC) – Bauru/SP – marianerovero@gmail.com

⁵Docente do Departamento de Nutrição/Centro de Ciências da Saúde - Universidade do Sagrado Coração (USC) – Bauru/SP

RESUMO

O triptofano é um aminoácido aromático essencial que no sistema nervoso central, atua como precursor da serotonina, neurotransmissor conhecido pela regulação do humor, ansiedade e ingestão alimentar. Sua deficiência pode estar relacionada ao desenvolvimento da depressão e da obesidade, morbidades que representam um importante problema de saúde pública. Assim, este estudo buscou investigar os efeitos da suplementação de L-triptofano e de Cloridrato de Fluoxetina, em ratos da linhagem Wistar. Foram utilizadas 32 ratas fêmeas, divididas em 4 grupos que receberam o tratamento via gavagem diluídos em solução aquosa no volume de 0,8ml. O grupo C recebeu apenas veículo aquoso; o grupo LT I recebeu 48,3mg de L-TRP; o grupo LT II recebeu 69mg de L-TRP; e o grupo CF administração de 71mcg de FLX. Os animais foram submetidos ao teste do nado forçado para indução da depressão. O controle do consumo de ração foi diário e as variações ponderais aferidas no início e ao término do experimento. Os dados coletados foram submetidos à análise estatística descritiva, por meio do Teste de Tukey, ao nível de 5% de significância. Os grupos CF e L-TI não sofreram alterações estatisticamente significativas quanto ao consumo médio de ração e ao controle ponderal. Entretanto, os mesmos grupos induziram uma resposta antidepressiva estatisticamente significativa representada pelo menor tempo de imobilidade no TNF. O grupo LTII obteve resultados positivos quanto a redução da ingestão alimentar média e o controle de ganho de peso médio, porém, apresentou maior resposta depressiva ao TNF.

Palavras-chave: Depressão; Fluoxetina; Obesidade; Triptofano.

INTRODUÇÃO

O triptofano é um aminoácido aromático essencial que dentre suas ações destacam-se a contribuição para o crescimento normal e síntese proteica sendo um dos aminoácidos que estimula a secreção de insulina e do hormônio do crescimento, além de ter um papel regulador em importantes mecanismos fisiológicos, funcionando como precursor da serotonina, melatonina e da vitamina B3 (niacina). (MAZZINI; GROSSI; MALHEIROS, 2013).

A serotonina é um neurotransmissor que influencia quase todas as funções cerebrais, regulando o humor, o apetite, as funções neuroendócrinas e cognitivas. A sua síntese é controlada pelos níveis plasmáticos de triptofano que, por sua vez, relaciona-se à ingestão dietética. Nesse sentido, a nutrição comporta-se como fator profilático contribuindo para a manutenção do estado de saúde, visto que a redução desse neurotransmissor desencadeia diversas alterações no sistema nervoso, incluindo a depressão, ansiedade, aumento de peso e fadiga. (ALMEIDA et al., 2008).

A serotonina tem efeito inibitório em agressão, e dados clínicos sugerem que seu baixo nível no cérebro está associado à agressão direcionada a outros e à agressão por suicídio. Estudos animais sugerem ainda que a serotonina esteja também envolvida no controle da ingestão alimentar por diminuir a ingestão energética total, ou alterar a preferência por proteína ao invés de carboidrato. Evidências apontam o aumento dos níveis de serotonina cerebral em seres humanos e animais experimentais, a partir do consumo de triptofano firmando-o como um antidepressivo eficaz na depressão leve a moderada. (MAZZINI; GROSSI; MALHEIROS, 2013).

Dessa maneira, a nutrição inadequada pode contribuir para o desenvolvimento da depressão e da obesidade, sendo estas morbidades comuns e que podem utilizar tratamentos farmacológicos semelhantes como, por exemplo, os ISRS's, que prolongam sua atividade, e podem ser utilizados no tratamento da obesidade associada à depressão, ansiedade ou compulsão alimentar; e na depressão, condição em que são considerados fármacos de primeira escolha. (WAGNER, 2015).

Considerando os potenciais agravos à saúde desencadeados pela depressão e obesidade, o presente estudo visa investigar os efeitos da suplementação de L-Triptofano (LTRP) e administração do inibidor seletivo da receptação de serotonina, Cloridrato de Fluoxetina (CF), em relação ao desenvolvimento de ambas as morbidades em ratos da linhagem Wistar.

METODOLOGIA

Delineamento experimental

Foram utilizadas 32 ratas fêmeas da linhagem Wistar, com 120 dias de idade e peso médio de 270g, provenientes do Biotério da Universidade do Sagrado Coração/USC, Bauru-SP. A pesquisa foi desenvolvida após a avaliação e o aceite da Comissão de Ética em Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Sagrado Coração. Os animais permaneceram em gaiolas com 4 animais cada, no biotério da universidade, sob condições controladas de temperatura em torno de 22 a 23°C, e de luminosidade com ciclo claro/escuro 12/12h, com água e ração padronizada *ad libitum*, durante um período de 45 dias. Os animais foram divididos de forma aleatória em 4 grupos de 8 animais cada. (Figura 1)

Figura 1 - Grupos Experimentais

Grupo GC (controle): oferta de solução aquosa no volume de 0,80 mL por dia por gavagem visando simular o estresse ocasionado pelo tratamento dos demais grupos.

Grupo LTI (administração de L-triptofano): oferta de 144,9mg de L-triptofano, dividido em 3 doses diluído em solução aquosa, administrado via gavagem nas primeiras 48 horas da pesquisa. A partir do 3º dia foi administrado diariamente 48,3mg de L-triptofano diluído em 0,8ml de solução aquosa, por via gavagem. A diluição foi realizada em solução aquosa e o aporte diário do aminoácido seguiu as orientações das Dietary Reference Intakes, 2006 (DRI'S) que são 7 mg de L-triptofano por grama de proteína consumida.
--

Grupo LTII (suplementação de L-triptofano): oferta de 207mg de L-triptofano, dividido em 3 doses diluído em solução aquosa, administrado via gavagem nas primeiras 48 horas da pesquisa. A partir do 3º dia foi suplementado diariamente 69mg de L-triptofano diluído em 0,8ml de solução aquosa, por via gavagem. A diluição foi realizada em solução aquosa e o aporte diário de triptofano foi calculado com o objetivo de suplementar esse aminoácido, considerando-se 10mg de L-triptofano por grama de proteína consumida.

Grupo CF (administração de Cloridrato de Fluoxetina): administração de 213mcg de Cloridrato de Fluoxetina, dividida em 3 doses e diluída em solução aquosa, via gavagem nas primeiras 48 horas da pesquisa. A partir do 3º dia foi administrado diariamente 71mcg de Cloridrato de Fluoxetina diluído em 0,8ml de solução aquosa, por via gavagem. Os cálculos para dosagem foram realizados respeitando a recomendação, para tratamento depressivo, de 20mg de Cloridrato de fluoxetina. (ANVISA, 2007).

Fonte: Elaborada pelas autoras.

Medidas a serem realizadas durante o experimento:

Consumo de Ração

Todos os grupos tiveram os seus rejeitos controlados 24 horas após a oferta.

Ganho Ponderal

Os animais foram pesados no início do experimento, a fim de se obter o peso inicial (PI) e no último dia do experimento, o peso final (PF). Desta forma foi possível determinar o ganho ponderal absoluto [PF – PI].

Teste do Nado Forçado

O teste do nado forçado é um modelo animal de depressão, desenvolvido por Porsolt, Le Pichon e Jalfre (1977) com o intuito de comprovar a eficácia de fármacos antidepressivos. Os animais nadam em busca de uma saída, não obtendo êxito assumem uma postura imóvel que ocorre cada vez mais precocemente com a repetição do procedimento. Dessa maneira, os animais foram colocados, individualmente, em um cilindro de acrílico contendo uma coluna de água, na temperatura de 23 a 25°C, impossibilitando que as patas alcançassem a base. No primeiro dia, os ratos foram forçados a nadar durante 15 minutos. Entre as sessões o grupo GC recebeu 3 doses de 0,8mL de solução aquosa e os grupos LT I, LT II e CF receberam 3 doses totalizando, respectivamente, 144,9mg e 207mg de L-triptofano e 213mg de Cloridrato de Fluoxetina diluídos em solução aquosa nas 23h30m, 5h e 1h antecedentes ao início do próximo teste. Completadas 24 horas do teste inicial, os animais, foram novamente submetidos ao nado nas mesmas condições do dia anterior, porém, com duração de 5 minutos.

Para o registro comportamental, os animais foram filmados e os vídeos arquivados em computador. Foi realizada neste estudo apenas a mensuração em duplicata do tempo de imobilidade aferido nos últimos 4 minutos, em um regime minuto a minuto. Entretanto, três categorias comportamentais puderam ser observadas a imobilidade, natação e a escalada. Foi considerado efeito antidepressivo uma redução do tempo de imobilidade, com consequente aumento dos outros movimentos.

Eutanásia

A eutanásia foi realizada ao término dos 45 dias de experimento, através do método químico câmara de eutanásia. Foi utilizado 25ml do agente inalatório isoflurano na forma de vapor, diluído em oxigênio.

Análise Estatística

Os dados coletados foram submetidos à análise estatística descritiva com comparação dos 4 grupos entre si, por meio do Teste de Tukey, adotando 5% como nível de significância.

RESULTADOS

Consumo de Ração

Os tratamentos com cloridrato de fluoxetina, 71 mcg (CF) e L-triptofano, 48,3mg (LTI) não alteraram o consumo médio de ração quando comparados com o grupo controle (GC) e com o grupo L-TII, não apresentando diferença estatisticamente significativa ($p>0,05$). Entretanto a suplementação com quantidades mais elevadas de L-triptofano, 69mg (LTII) refletiu na diminuição estatisticamente significativa do consumo médio de ração quando comparado com o grupo controle (GC) ($p=0,0371$)

Ganho Ponderal

Não houve diferença estatisticamente significativa em relação ao ganho ponderal entre os grupos CF, LTI e GC ($p>0,05$). Sendo a média de ganho ponderal 26g, 25g e 21g, respectivamente. Porém quando comparado os valores médios do grupo suplementado com quantidades elevadas de triptofano, 69mg (LTII), observa-se diferença estatisticamente significativa entre todos os grupos ($p=0,0033$), sendo a média de ganho de peso do grupo LTII de 1g.

Teste do Nado Forçado

Os animais tratados com 71mcg de cloridrato de fluoxetina e com 48,3mg de LT apresentaram redução do tempo de imobilidade quando comparado com o GC e com o LTII, essa diferença obteve resultados estatisticamente significativos ($p<0,0001$). O grupo suplementado com dosagens maiores de L-Triptofano, grupo LTII, não apresentou diferença estatisticamente significativa em relação ao tempo de imobilidade quando comparado com o GC. ($p>0,05$).

DISCUSSÃO

Consumo de Ração e Ganho Ponderal

A serotonina (5-HT) é um dos neurotransmissores moduladores do apetite, sendo um potente agente anorexígeno. O cloridrato de fluoxetina (CF) inibe de maneira eficaz e seletiva a recaptção de serotonina, potencializando a neurotransmissão serotoninérgica. Existem evidências na literatura da ação do CF em diferentes dosagens sobre o emagrecimento e/ou a manutenção ponderal. No presente estudo não houve influência da administração de 71mcg de CF sobre o consumo alimentar e, conseqüentemente, no controle de ganho ponderal de ratas Wistar estudadas durante 45 dias. Ardekani e Sedghi (2005) após a realização do tratamento com 40mg/dia de CF em 88 homens e 113 mulheres de 20 a 48 anos, com IMC entre 25 e 42kg/m², durante 8 semanas, observaram resultados distintos aos encontrados no presente estudo. A diferença entre o referido estudo e o estudo vigente pode ser atribuída às dosagens utilizadas, bem como a dessemelhança da população avaliada. Não obstante, diversos autores limitam o uso do CF ao tratamento da obesidade quando associada à depressão, ansiedade ou compulsão alimentar, mostrando-se eficaz na perda de peso em doses a partir de 60mg ao dia.

O aumento dos níveis de 5-HT também pode ser alcançado através de um incremento de seu precursor, o triptofano. Pesquisas com roedores comprovaram que a liberação neuronal de serotonina ocorre em relação direta com a concentração de substrato. No presente estudo a administração de 48,3mg de L-Triptofano (L-TRP) não influenciou na ingestão alimentar e no ganho ponderal dos animais. Hiratsuka et al. (2013) acompanhou durante 19 semanas 17

estudantes universitárias japonesas entre 18 e 26 anos de idade. As estudantes receberam cada uma das seguintes dosagens de L-TRP durante 21 dias, 0 (placebo), 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 ou 5.0g/d, com 5 semanas de intervalo. Todas as colaboradoras participaram das 6 etapas e receberam todas as doses de L-TRP ou placebo administradas 3 vezes ao dia. Os pesquisadores observaram que a administração de L-TRP até 5g/d não interferiu nas características antropométricas das participantes. Tais resultados corroboram com os achados do presente estudo, apesar da divergência quanto à população estudada.

Já o tratamento com 69mg de L-TRP (LTII), induziu ao controle da ingestão alimentar em comparação ao grupo que não foi suplementado e restringiu o ganho ponderal. Desse modo, é provável que a hipofagia e a redução do ganho de peso sejam consequência da ação do L-TRP sobre o sistema serotoninérgico. Pode-se hipotetizar que o aumento do substrato intensificou a via serotoninérgica de metabolização do triptofano culminando na maior disponibilidade de 5-HT no hipotálamo.

Teste do Nado Forçado

Os ISRS's têm sido fármacos de primeira escolha para o tratamento da depressão por apresentarem menor risco de reações adversas em relação aos demais antidepressivos disponíveis no nível primário de saúde. (WAGNER, 2015). No presente estudo, a administração de 3 doses de 71mcg de CF anterior à reexposição ao TNF induziu ao menor tempo de imobilidade em relação ao grupo controle. Fernandes et al. (2012), seguindo o mesmo protocolo, porém, repetindo o procedimento durante 12 dias consecutivos, obtiveram dados semelhantes. Os dados, portanto, corroboram com os achados do presente estudo apesar de existir variáveis distintas.

Acredita-se que a deficiência de serotonina possa estar relacionada à etiologia da depressão sendo que os níveis plasmáticos de triptofano é significativamente menor em pacientes depressivos em relação ao controle ou aqueles com menos sintomas de depressão. (TURNER; LOFTIS; BLACKWELL, 2005). Nesse sentido, no presente estudo a administração de 3 doses de 48,3mcg de L-TI anterior à reexposição ao TNF produziu efeito no tempo de imobilidade do grupo semelhante aqueles tratados com CF.

Resultados semelhantes foram obtidos por Poldinger, Calanchini e Sharwarz (1991 apud JANGID, 2013), que compararam a suplementação de 100mg de 5-hidroxitriptofano (5-HTP) e de 150mg de fluvoxamina, um ISRS, ambos três vezes ao dia. Participaram do estudo 36 pessoas todas diagnosticadas com alguma forma de depressão. Os grupos mostraram reduções significativas no estado depressivo após 2 semanas e ao final da 6ª semana os pesquisadores observaram uma melhora percentual média ligeiramente maior entre os pacientes tratados com 5-HT. O melhor resultado em relação ao grupo triptofano, quando comparado ao fármaco, não visto no presente estudo pode ser atribuído ao estado de hidroxilação do aminoácido oferecido já que o uso terapêutico do 5-HTP ignora a conversão pela enzima triptofano hidroxilase.

Já a suplementação de 3 doses com 69mg de L-TRP anterior à reexposição ao TNF não reduziu o tempo de imobilidade do grupo. A disponibilidade do triptofano assim como a síntese de 5-HT são influenciados pelas enzimas indolamina 2, 3 dioxigenase (IDO) e triptofano 2,3-dioxigenase (TDO) envolvidas no metabolismo da quirerunina. Em concentrações supra-fisiológicas, como a fornecida ao grupo L-TII, o triptofano pode aumentar a atividade da TDO de 5 a 6 vezes nos hepatócitos de ratos. Portanto, um aumento na ingestão de triptofano, considerada suplementação, pode não elevar significativamente os níveis de 5-HT. (TURNER; LOFTIS; BLACKWEL, 2005).

Experimentalmente, ratos expostos ao estresse de um ambiente novo tendem a exibir uma atividade exploratória variável. Alguns apresentam altas taxas de reatividade locomotora (high responders – HR), enquanto outros desenvolvem baixa responsividade (low responders – LR). A resposta ao TNF possui um efeito fenotípico dependente da atividade de enzimas relacionadas à síntese de 5-HT. No hipocampo de LR, o TNF estimula a enzima triptofano hidroxilase. Por outro lado, em ratos RH há a indução da IDO uma enzima pró-inflamatória que participa da conversão do L-TRP em quirerunina, sendo que seus metabólitos neurotóxicos podem levar ao estresse oxidativo por aumentar a produção de espécies reativas do oxigênio conduzindo a apoptose e atrofia do hipocampo. (WAGNER, 2015).

Fernstrom (2012) e Turner e Blackwell (2005) em suas revisões bibliográficas sobre a ação da suplementação do triptofano na depressão, não encontraram dados conclusivos, além disso, os estudos analisados apresentam datas progressas.

CONCLUSÃO

A busca por alterar a química cerebral através de nutrientes baseia-se na hipótese da relação entre inadequação alimentar, desequilíbrio na neurotransmissão e alterações neurológicas importantes associadas ao desequilíbrio do controle energético e a depressão. Nessa perspectiva o estudo conclui que a suplementação com L-Triptofano (69mg), reduziu a ingestão alimentar impactando sobre a evolução ponderal. No entanto, o tratamento com cloridrato de fluoxetina e L-Triptofano (48,3mg), com dosagens inferiores, não influenciou na modulação da homeostase energética, já que não levou à alterações quanto a ingestão alimentar e ao controle ponderal. Por outro os mesmos tiveram efeito antidepressivo representado pelo menor tempo de imobilidade e consequente aumento da tentativa de fuga. A suplementação com L-Triptofano (69mg), porém, não exerceu efeito antidepressivo sendo que o elevado tempo de imobilidade se relaciona a um fracasso na tentativa de escapar do estímulo estressante, semelhante ao retardo psicomotor observado em muitos seres humanos deprimidos.

Diante do exposto, ressalta-se a importância de novos estudos para o entendimento da relação entre o triptofano dietético e a síntese de serotonina.

REFERÊNCIAS

FERNSTROM, J. D. Effects and Side Effects Associated with the Non-Nutritional Use of Tryptophan by Humans. **The Journal of Nutrition**, Springfield, v. 142, n. 12, p. 2236-2244, 2012. Disponível em: <<http://jn.nutrition.org/content/142/12/2236S.full.pdf+html>>. Acesso em: 26 nov. 2015.

HIRATSUKA, C. et al. Supplementing Healthy Women with up to 5.0 g/d of L-Tryptophan Has No Adverse Effects. **The Journal of Nutrition**, Springfield, v. 143, n. 6, p. 859-866, 2013. Disponível em: <<http://jn.nutrition.org/content/143/6/859.full.pdf+html>>. Acesso em: 16 nov. 2015.

JANGID, P. et al. Comparative study of efficacy of L-5-hydroxytryptophan and fluoxetine in patients presenting with first depressive episode. **Asian Journal of Psychiatry**, Netherlands, v. 6, n. 1, p. 29–34, 2013. Disponível em:

<[http://www.asianjournalofpsychiatry.com/article/S1876-2018\(12\)00117-7/pdf](http://www.asianjournalofpsychiatry.com/article/S1876-2018(12)00117-7/pdf)>. Acesso em: 22 nov. 2015.

MAZZINI, M. C. R.; GROSSI, M.; MALHEIROS, S.V.P. Regulação nutricional e neuroendócrina da serotonina podem influenciar a síndrome pré-menstrual. **Jornal Perspectivas Médicas**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 43-50, 2013. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/pdf/2432/243227944008.pdf>>. Acesso em: 26 nov. 2015.

PORSOLT, R. D.; LE PICHON, M.; JALFRE, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature**, Londres, v. 266, p. 730–732, abr. 1977. Disponível em: <<http://www.nature.com/nature/journal/v266/n5604/pdf/266730a0.pdf>>. Acesso em: 2 maio 2015.

TURNER, E. H.; BLACKWELL, A. D. 5-Hydroxytryptophan plus SSRIs for interferon-induced depression: Synergistic mechanisms for normalizing synaptic serotonin. **Medical Hypotheses**, v. 65, p. 138, 2005. Disponível em: <[144http://www.anth.ucsb.edu/faculty/blackwell/Documents/turner-blackwell-medical%20hyp.pdf](http://www.anth.ucsb.edu/faculty/blackwell/Documents/turner-blackwell-medical%20hyp.pdf)> Acesso em: 22 nov. 2015.

WAGNER, G. A. Tratamento de depressão no idoso além do cloridrato de fluoxetina. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 49, p.1-5, 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rsp/v49/pt_0034-8910-rsp-S0034-89102015049005835.pdf>. Acesso em: 21 nov. 2015.