

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO USO DE TRAMADOL EM DIFERENTES PERÍODOS NA QUALIDADE SEMINAL DE RATOS *WISTAR (Rattus norvegicus)*

EDENARA ANASTÁCIO DA SILVA¹; GEÓRGIA DA CRUZ TAVAREZ²; PEDRO SICA CRUZEIRO²; ANDREIA NOBRE ANCIUTI²; ANELISE DE OLIVEIRA CAMPELLO FELIX²; CARINE DAHL CORCINI³

¹ReproPEL, Universidade Federal de Pelotas - UFPEL – edenara_anastacio@hotmail.com

²ReproPEL, Universidade Federal de pelotas - UFPEL – georgiadacruz.tavarez@gmail.com

²ReproPEL, Universidade Federal de Pelotas - UFPEL – cruzeiropedro@hotmail.com

²Cinpet, Universidade Federal de Pelotas - UFPEL – andreianciuti@hotmail.com

²Cilnpet, Universidade Federal de Pelotas - UFPEL – anelisecampellofelix@gmail.com

³ReproPEL, Universidade Federal de Pelotas - UFPEL – corcinicd@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Apesar da recente introdução de novos fármacos, na atualidade, os analgésicos opióides estão entre as substâncias mais utilizadas para a terapia da dor (AHMED; KURKAR, 2014), estes atuam em receptores (μ , κ e δ) do sistema nervoso central modificando a interpretação da dor (JARDIM, 2007). Há controvérsias sobre utilização destas drogas, principalmente para o tratamento de dores crônicas (ATICI et al., 2005) e seus efeitos colaterais sobre o trato reprodutivo masculino não foram adequadamente investigados (AHMED; KURKAR, 2014).

Dentro desta classe de medicamentos enquadra-se o tramadol, analgésico sintético que possui dois mecanismos de ação diferentes e independentes, mas sinérgicos: efeito agonista opióide (μ) e inibi da recaptura neuronal de norepinefrina e serotonina (BRONDANI, 2003), é indicado para dores moderadas e intensas, agudas ou crônicas (SOUZA et al., 2008). Seu uso em medicina veterinária vem sendo ampliado, entretanto, a literatura carece de dados sobre os efeitos do mesmo em animais (CASTRO, 2008). Em um estudo recente AHMED e KURKAR (2014) afirmaram que o uso deste medicamento afeta a função testicular de ratos.

Em razão da crescente utilização do tramadol em medicina veterinária e dos poucos trabalhos sobre o assunto, objetivou-se avaliar os efeitos da utilização freqüente deste, nos parâmetros seminais do modelo experimental *Rattus norvegicus*.

2. METODOLOGIA

Foram utilizados como modelo experimental 28 animais da espécie *Rattus norvegicus* provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas. A realização do experimento foi aprovada pelo Comitê de Ética em Experimentação animal da Universidade Federal de Pelotas.

Na região dorsal dos animais foram realizadas lesões no tecido cutâneo com punch de 8 mm de diâmetro, sendo que, no procedimento estes se encontravam em plano anestésico. Posteriormente os animais foram divididos em 4 grupos compostos de 7 animais cada, dois grupos tratamentos foram constituídos, estes receberam duas aplicações (8h e 17h e 30 mín.) diárias de tramadol (1ml) totalizando doses de 20mg/kg/dia, sendo que estes receberam o tratamento em dois períodos diferentes (4 e 7 dias), os grupos controle receberam aplicações intraperitoneais de 1ml de solução salina (0,9%) com o mesmo protocolo que os tratamentos. Em todos os grupos foram realizadas aplicações tópicas de vaselina

uma vez ao dia. Os animais foram eutanasiados, conforme Resolução n° 1000 do CRMV, e de cada animal coletou-se os epidídimos e ductos deferentes direitos e esquerdos, estes foram colocados em placas com 9 poços com PBS (phosphate-buffered saline) pré- aquecidos (37°C). Os epidídimos e ductos deferentes foram dilacerados com agulhas descartáveis e mantidos aquecidos (37°C) para a obtenção das células espermática.

Logo em seguida, realizou-se a análise de motilidade, determinada pelo percentual de células móveis identificadas em alguns campos no microscópio em aumento de 200x, com escala de motilidade de 0 a 100% (CBRA, 2013).

As amostras com PBS foram encaminhadas ao laboratório para a execução da análise de funcionalidade de mitocôndria, realizada com a adição de uma sonda específica contendo iodeto de propídeo e rhodamine₁₂₃ segundo protocolo ARRUDA et al, 2005, e análise de integridade de membrana, executada com a utilização de sondas de Diacetato de Carboxifluoresceína (CFDA) e Iodeto de Propídeo (IP). Ambas as análises foram realizadas em microscópio de fluorescência em objetiva de 400X (Olympus BX 51, América ICN, São Paulo – Brasil), por meio de excitação em filtro UV. Para cada análise se considerou 200 células. A análise estatística foi realizada no software Statistx 9.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença nos resultados obtidos nas análises de motilidade espermática e integridade de membrana, entre os grupos que receberam aplicações intraperitoneais de tramadol (2mg/kg/dia) e os controles que receberam aplicações de solução fisiológica (0,9%) (Tab.1).

Tabela 1 – Integridade de membrana, funcionalidade mitocondrial e motilidade espermática nos diferentes períodos de tratamento com tramadol (20mg/kg/dia) e solução fisiológica (0,9%).

Tempo de exposição	Tratamento	Membrana	Mitocôndria	Motilidade
Dia 4	Sol. Fis.	36,1 ± 19,2 ^A	45,8 ± 24,7 ^A	18,5 ± 15,7 ^A
	Tramadol	37,2 ± 10,3 ^A	37,0 ± 21,0 ^A	8,6 ± 3,7 ^A
Dia 7	Sol. Fis.	35,3 ± 24,6 ^A	45,7 ± 17,9 ^B	5,7 ± 7,9 ^A
	Tramadol	28,0 ± 12,3 ^A	24,4 ± 10,3 ^A	2,8 ± 4,9 ^A

Letras diferentes na linha indicam diferença estatística significativa (P < 0,05).

Considerando os resultados da análise de funcionalidade mitocondrial, no período de 4 dias não houve diferença entre tratamento e controle, porém, no período de 7 dias houve efeito negativo do uso de tramadol sobre a funcionalidade mitocondrial (Tab.1). Sabe-se que a utilização frequente de tramadol acarreta em um estresse oxidativo nos tecidos testiculares através da produção de um excesso de óxido nítrico (AHMED; KURKAR, 2014), uma espécie reativa de nitrogênio (ERN), produzido pela mitocôndria na cadeia transportadora de elétrons, sendo que nas células esta substância reage rapidamente com o superóxido (O₂⁻), produzindo peroxinitrito, sendo o O₂⁻ uma espécie reativa de oxigênio (ERO), gerado pelas organelas celulares, principalmente pela mitocôndria, também na cadeia transportadora de elétrons (MOTA, 2004).

De acordo com MOTA (2004), a ação destas espécies reativas produzidas pela mitocôndria, pode resultar em efeitos negativos nas suas funções, constatados pela alteração no número, características morfológicas, atividade

enzimática e aumento nos índices de peroxidação lipídica na membrana interna, tornando a mitocôndria mais suscetível à perda de funcionalidade.

Além disso, o peroxinitrito pode sofrer reações secundárias formando agentes capazes de nitrar aminoácidos aromáticos e bases do DNA nuclear e também do DNA mitocondrial (DNAMit) (BARREIROS et al., 2006). Alterações à nível de DNAMit podem acarretar em erros estruturais do complexo I da cadeia transportadora de elétrons, pois 7 dos polipeptídeos deste complexo são codificados pelo DNAMit, e erros estruturais neste complexo acarretam na diminuição da eficiência mitocondrial e aumento na produção de agentes oxidantes, consequentemente aumento nas lesões do DNAMit e posterior formação de mais agentes oxidantes (MOTA, 2004), podendo-se sugerir que quanto maior a frequência do uso do tramadol, maior será a produção de ARN e maiores as perdas de funcionalidade mitocondrial.

Segundo MOTA os efeitos dos agentes oxidantes sobre a mitocôndria são cumulativos, o que pode explicar o fato de não haver diferença estatística nos resultados de funcionalidade mitocondrial em 4 dias tratamento, mas sim nos 7 dias (Tab. 1).

Diferentemente dos estudos realizados por RODRIGUES-MARTINEZ (2005), a motilidade espermática não se relacionou positivamente com funcionalidade e integridade mitocondrial, propondo ainda que estas lesões mitocondriais devido a agentes oxidantes são cumulativas, pode se sugerir que no período de 7 dias os danos mitocondriais não chegaram ao ponto de afetar a motilidade espermática como no período de 8 semanas consecutivas do estudo realizados por AHMED e KURKAR (2014), onde acarretou a diminuição da motilidade espermática de ratos.

4. CONCLUSÕES

Conclui-se que a utilização de tramadol em por um período de 7 dias consecutivos afeta negativamente a integridade e funcionalidade mitocondrial.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMED, M. A.; KURKAR, A. **Effects of opioid (tramadol) treatment on testicular functions in adult male rats: The role of nitric oxide and oxidative stress.** Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology, Assiut, v.41, n.4, p. 317 – 323, 2014.

ARRUDA, R. P., et al. Importância da qualidade do sêmen em programas de IATF e TETF. **1º Simpósio de Reprodução Animal**, v.33, suple.1, p. 145-150, 2005.

ATICI, A., et al. **Liver and Kidney toxicity in chronic use of opioids: An experimental long term treatment model.** Journaul of Biosciences, Mersin, v.30, n.2, p. 245-252, 2005.

BARREIROS, et al. **Estresse oxidativo: Relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo.** Química Nova, Bahia, v.29, n.1, p. 113-123, 2006.

BRONDONI, J. T.; et al. **Alterações cardiovasculares de gatos submetidos à toracotomia intercostal, pré-medicados com associação de tramadol, butorfanol e atropina e anestesiados com propofol e halotano.** Ciência Rural, Santa Maria, v.33, n.5, p. 869-873, 2003.

CASTRO, D. S. **Comparação entre o efeito analgésico da morfina e do tramadol epidural em gatos.** 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências Clínicas) – Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

CRBA: COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. **Manual para exame andrológico e avaliação se sêmen animal.** Belo Horizonte: CRBA, 2013, n p. 21.

JARDIM, J. G. F. **Utilização de cloridrato de tramadol no controle da dor em pequenos animais.** 2007. Monografia (Especialista em Clínica Médica e Cirúrgica de Pequenos animais) - Curso de Especialização Latu Sensu em Clínica Médica e Cirúrgica de Pequenos Animais, Universidade Castelo Branco.

MOTA, P. M.; FIGUEIREDO, P. A.; DUARTE, A. J. **Teorias biológicas do envelhecimento.** Revista Portuguesa do Desporto. Porto, v.4, n.4, p. 81-110, 2004.

RODRIGUEZ, M. H. Methods for semen evaluation and their relationship to fertility. **Congresso Brasileiro de Reprodução Animal**, 16, 2005, Goiânia, GO.

SOUZA, A. M., et al. **Efeito analgésico local do tramadol em modelo de dor provocada por formalina em ratos.** Revista Brasileira de Anestesiologia, São Paulo, v.58, n.4, p 371-379, 2008.