

EXPOSIÇÃO AO SEVOFLURANO E SUA INFLUÊNCIA EM PARÂMETROS REPRODUTIVOS EM CAMUNDONGOS MACHOS

CATIANE PRESTES DOS SANTOS¹; SABRINA KOHLS DE ARAÚJO²;
MARTIELO IVAN GEHRCKE²; CARINE DAHL CORCINI³

¹Universidade Federal de Pelotas – catianeprestes@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – saakohls@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – martielogehrcke@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – corcinicd@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A espermatogênese é um processo complexo envolvendo divisões celulares por meio de meioses e mitoses e o processo de espermatogênese em si. Este desenvolvimento pode ser dividido em três grandes passos, (i) a multiplicação de espermatogônias através de mitoses e (ii) meioses, no qual diminui o número de cromossomos de diploide para haploide e começa com a entrada da espermatogônia tipo B na prófase da primeira divisão meiótica. Essas células agora chamadas de espermatócitos primários, dividem-se para formar espermatócitos secundários, e então dividem-se novamente para formar espermátides redondas, (iii) a transformação bem-sucedida da espermátide redonda na complexa estrutura do espermatozoide é chamada de espermiogênese. (Krester et al, 1998)

A regulação da espermatogênese abrange um complexo arranjo de funções endócrinas, parácrinas, e interações metabólicas que envolvem células de Sertoli, Leydig, peritubulares e germinativas, mantendo a proliferação e diferenciação das células espermáticas (Anderson et al.2002, Saez et al. 1994). O desenvolvimento e manutenção quantitativa e qualitativa da espermatogênese depende da produção do Hormônio Luteinizante (LH) e do Hormônio Folículo estimulante (FSH) na hipófise anterior em resposta ao hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRH) do hipotálamo. O GnRH estimula a síntese e secreção de gonadotrofinas por células gonadotrópicas pela hipófise anterior em pulsos discretos para a circulação sistêmica para controlar o desenvolvimento, maturação e função das gônadas (Ramaswamy et al. 2014).

O LH estimula a produção de testosterona, responsável pelas características e funções sexuais, bem como ações psicológicas e anabólicas (Anderson et al. 2002, McLachlan et al. 2002, Hutaniemi et al, 2018). Já o FSH, aumenta a ação da testosterona ao manter a ação de suporte das células de Sertoli na espermatogênese. A interação entre esses hormônios é crucial para as funções de fertilidade e virilidade do testículo adulto (Oduwole et al. 2014). Enquanto a testosterona é considerada o principal hormônio da espermatogênese, o FSH é o grande contribuidor para a qualidade e quantidade do esperma. A interação e feedback negativo entre a testosterona e a inibina B, produzida pelas células de Sertoli, são essenciais para a regulação por retroalimentação da secreção de GnRH na manutenção do eixo hipotálamo-pituitária-gonadal (Oduwole et al. 2014, Menetti et al. 2010).

O sevoflurano é um anestésico geral que vem sendo usado em anestésias inalatórias a mais de vinte anos, e testado em diversos estudos. Sua segurança e eficácia são bem estabelecidas e continuam sendo estudadas mais precisamente para definir seus efeitos em diferentes populações, pacientes e organismos (Brioni

et al. 2017). O sevoflurano é um éter metil-isopropílico, sem coloração e não inflamável, que promove inconsciência e anestesia geral, muito utilizado para indução e manutenção da anestesia quando comparado com outros agentes anestésicos (Goa et al. 1999). Entretanto, apesar de ser amplamente utilizado, esse anestésico pode apresentar efeitos colaterais incluindo nefrotoxicidade, hepatotoxicidade e gonadotoxicidade (Borello et al. 2008). Diversos estudos veem mostrando que anestésicos inalatórios podem causar danos ao sistema reprodutor masculino, e a toxicidade reprodutiva e danos na espermatogênese possivelmente causados pelo sevoflurano podem estar relacionados à exposição precoce (Baden et al., 1979; Ceyhan et al., 2005; Coate et al., 1979).

2. METODOLOGIA

O experimento proposto será realizado na Universidade Federal de Pelotas, no biotério da universidade, após a liberação do comitê de ética. Trinta camundongos *Mus musculus* acomodados em um ambiente com água *ad libitum* e alimentação de acordo com a espécie, luminosidade 12C/12E, humidade 55% e Gaiolas com 410 mm x 340 mm x 180 mm.

Posterior a aclimação, os animais serão divididos aleatoriamente em três grupos com dez animais cada, no primeiro grupo denominado exposição crônica, os animais serão submetidos à exposição de sevoflurano durante 6h, por 20 dias à uma concentração de 50ppm; o segundo grupo denominado exposição aguda, os animais serão anestesiados, uma única vez, com sevoflurano durante 60 minutos à uma concentração de 2% Concentração Alveolar Mínima (CAM); e o terceiro grupo, o controle, serão expostos apenas à oxigênio.

Ao final do experimento, todos os animais serão eutanasiados através de deslocamento cervical e realizada a coleta de materiais biológicos para análise. Cauda do epidídimo e ducto deferente serão coletados através de laparotomia, com esse material será realizado avaliações de cinética espermática, integridade de membrana plasmática do espermatozoide, funcionalidade mitocondrial, integridade de DNA espermática e produção de espécies reativas de oxigênio. A coleta de sangue será realizada através de punção cardíaca para análise hematológica e hormonal.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A busca por novos dados e resultados sobre a influência dos anestésicos inalatórios em parâmetros reprodutivos nos machos veem sendo trabalhado por diversos pesquisadores nos últimos anos. Ceyhan (2005) e colaboradores realizaram uma pesquisa onde se avaliou a qualidade e quantidade espermática de coelhos expostos a concentrações baixas de sevoflurano, simulando uma inalação crônica (1.2% Concentração alveolar mínima – CAM) por 4 horas durante 5 dias. Foi encontrada uma diminuição progressiva tanto na motilidade quanto na quantidade espermática quando comparada com o grupo controle que não foi exposto ao anestésico. Além disso foi relatado anormalidades no formato e dimensão dos espermatozoides, sendo considerados imaturos.

Estudos realizados com animais de laboratório têm demonstrado diversos resultados semelhantes na avaliação do sevoflurano e seu impacto na reprodução. Yanhong et al. (2019), avaliou os efeitos da exposição crônica em ratos machos em três concentrações diferentes, sendo baixa (50ppm), média (300ppm) e alta

(1800ppm). Observou-se uma diminuição significativa, dose dependente, da quantidade de sêmen desses animais e identificado áreas de apoptose celular no tecido testicular e túbulos seminíferos, onde nos grupos com maiores concentrações do anestésico resultou em maior destruição celular e tecidual.

Este autor também avaliou os efeitos sobre a função hormonal dos animais, os níveis séricos de FSH e LH apresentaram um aumento crescente conforme o grau de exposição ao sevoflurano, enquanto os níveis de testosterona se mostraram baixos nos grupos com concentrações de 50 ppm, 300ppm e 1800ppm quando comparados com o controle. Os resultados demonstraram que o sevoflurano pode afetar a secreção de hormônios sexuais de forma dose dependente. Os níveis de GnRH encontraram-se alterados para menos, tanto no hipotálamo quanto na glândula pituitária.

Efeitos opostos foram encontrados no trabalho realizado por Kaya et al. (2013), revelando um aumento sérico de LH e testosterona em ratos *Wistar-Albino* que receberam em diferentes grupos o sevoflurano de forma crônica, por 2 horas; já os níveis de FSH foram menores, assim como no estudo citado acima. Sabe-se que o FSH, o LH e a testosterona atuam de forma importante no processo espermatogênético, sendo as células de Sertoli estimuladas pelo FSH iniciando o processo de espermatogênese; enquanto a testosterona é sintetizada pelas células de Leydig que são estimuladas pelo LH, essa testosterona é utilizada nos túbulos seminíferos (Sofikitis et al., 2008).

Em níveis relativamente baixos de testosterona, o hipotálamo libera o GnRH, que se liga ao seu receptor na glândula pituitária levando a liberação de FSH e LH (Chiechanowska et al., 2017). Esses dois hormônios estimulam o testículo a produzir testosterona, portanto, quando os níveis séricos da testosterona estão baixos, o sevoflurano pode interferir na expressão do GnRH no hipotálamo e consequentemente na dessensibilização da resposta hipotálamo-hipófise-testicular (Yanhong et al., 2019).

Em contramão aos estudos já citados, Soltani et al., (2019), realizou um estudo onde ratos neonatos com 48h de vida foram expostos à duas concentrações diferentes de sevoflurano, além do grupo controle que não foi exposto, durante 30 minutos por 7 dias. Os resultados histopatológicos não demonstraram diferenças entre os grupos, sendo possível avaliar a preservação do epitélio testicular e túbulos seminíferos, e viabilidade das células de Sertoli e Leydig. Porém, em análises mais específicas em relação ao poder de apoptose celular, houve diferença entre os grupos, sendo a população de células apoptóticas maior nos grupos que receberam o anestésico.

4. CONCLUSÕES

Portanto, faz-se necessário investigar sobre a importância, atuação e mecanismos de ação dos anestésicos inalatórios, em especial o sevoflurano, no eixo hormonal, e na produção e desenvolvimento de espermatozoides; assim como, o risco de exposição dos pacientes e de trabalhadores da área da saúde.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, R.A.; BAIRD, D.T. Male Contraception. *Endocrine Reviews*, v. 23, p.735–762, 2002.

BORELLO, M. G., DEGL'INNOCENTI, D., & PIEROTTI, M.A. Inflammation and cancer: The oncogene-driven connection. **Cancer Letters**, v.267, n.2, p. 262–270, 2008.

BRIONI, D.B.; VARUGHESE, S.; AHMED, R.; BEIN, B. A clinical review of inhalation anesthesia with sevoflurane: from early research to emerging topics. **Journal of Anesthesia**, v.31, n.5, p.764-778, 2017.

CEYHAN, A., CINCIK, M., BEDIR, S., USTUN, H., DAGLI, G., & KALENDER, H. Effects of exposure to new inhalational anesthetics on spermatogenesis and sperm morphology in rabbits. **Archives of Andrology**, v.51, n.4, p.305–315, 2005.

CIECHANOWSKA M.O., ŁAPOT M., MATEUSIAK K., PARUSZEWSKA E., MALEWSKI T., PRZEKOP F. Biosynthesis of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and GnRH receptor (GnRHR) in hypothalamic–pituitary unit of anoestrous and cyclic ewes. **Canadian Journal of Physiology Pharmacology**, v.95, n.2, p.178–184, 2017.

COATE, W.B., KAPP, R.W. JR, & LEWIS, T.R. Chronic exposure to low concentrations of halothane-nitrous oxide: reproductive and cytogenetic effects in the rat. **Anesthesiology**, v.50, n.4, p.310–318, 1979.

GOA K.L., NOBLE S, SPENCER C. M. Sevoflurane in paediatric anaesthesia: a review. **Paediatric Drugs**, v.1, n.2, p.127–153, 1999.

HUHTANIEMI, I. Mechanisms in Endocrinology: Hormonal Regulation of Spermatogenesis: Mutant Mice Challenging Old Paradigms. **European Journal of Endocrinology**, v.179, n. 3, p.R143–R150, 2018.

KAYA Z, SOGUT E, CAYLI S, SUREN M, ARICI S, KARAMAN S, ERDEMIR F. Evaluation of effects of repeated sevoflurane exposure on rat testicular tissue and reproductive hormones. **Inhalation Toxicology**, v.25, n.4, p.192–198, 2013.

KRESTER, D.M.; LOVELAND, K.L.; MEINHARDT, A.; SIMORANGKIR, D.; WREFORD, N. Spermatogenesis. **Human Reproduction**, v.13, n. 1, p.1-8, 1998.

MANETTI, G.J.; HONIG, S.C. Update on Male Hormonal Contraception: Is the Vasectomy in Jeopardy. **International Journal of Impotence Research**, v.22, n.3, p.159–170, 2010.

MCLACHLAN, R.I.; O'DONNELL, L.; MEACHEM, S.J.; STANTON, P.G.; KRESTER, D.M.; PRATIS, K.; ROBERTSON, D.M. Identification of Specific Sites of Hormonal Regulation in Spermatogenesis in Rats, Monkeys, and Man. **Recent Progress in Hormones Research**, V.57, p.149–179, 2002.

ODUWOLE, O.O.; HUHTANIEMI, I.T. Feasibility of Male Hormonal Contraception: Lessons from Clinical Trials and Animal Experiments. **Current Molecular Pharmacology**, v.7, n.2, p.109–118, 2014.