



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE**  
**CENTRO DE BIOCÊNCIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**MAYARA SAMALA BEZERRA**

**EFEITOS DOS ANTIDEPRESSIVOS FLUOXETINA E SERTRALINA  
SOBRE PARÂMETROS ESPERMÁTICOS E NA CONTRAÇÃO DO  
EPIDÍDIMO DE RATO**

**NATAL-RN**  
**2020**

**MAYARA SAMALA BEZERRA**

**EFEITOS DOS ANTIDEPRESSIVOS FLUOXETINA E SERTRALINA  
SOBRE PARÂMETROS ESPERMÁTICOS E NA CONTRAÇÃO  
DO EPIDÍDIMO DE RATO**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Norte para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Edilson Dantas da Silva Junior

**NATAL-RN  
2020**

# MAYARA SAMALA BEZERRA

Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN  
Sistema de Bibliotecas - SISBI  
Catalogação de Publicação na Fonte. UFRN - Biblioteca Setorial Prof. Leopoldo Nelson - -Centro de  
Biociências - CB

Bezerra, Mayara Sâmala.

Efeitos dos antidepressivos fluoxetina e sertralina sobre parâmetros espermáticos e na contração do epidídimo de rato / Mayara Sâmala Bezerra. - Natal, 2020.  
78 f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Edilson Dantas da Silva Junior.

1. Fluoxetina - Dissertação. 2. Sertralina - Dissertação. 3. Epidídimo - Dissertação. I. Silva Junior, Edilson Dantas da. II. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. III. Título.

RN/UF/BSCB

CDU

**MAYARA SAMALA BEZERRA**

**EFEITOS DOS ANTIDEPRESSIVOS FLUOXETINA E SERTRALINA  
SOBRE PARÂMETROS ESPERMÁTICOS E NA CONTRAÇÃO DO  
EPIDÍDIMO DE RATO**

Dissertação de mestrado apresentada ao  
Programa de Pós-graduação em Ciências  
Biológicas da Universidade Federal do Rio  
Grande do Norte para obtenção do título de  
Mestre em Ciências Biológicas.

Aprovada em: \_\_/\_\_/\_\_\_\_.

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Prof. Dr. Edilson Dantas da Silva Junior**  
Presidente da Banca - UFRN

---

**Prof. Dr. Almir Gonçalves Wanderley**  
Membro externo à instituição - UFPE

---

**Profa. Dra. Alice Valença Araújo**  
Membro externo à instituição - UFPE

Dedico este trabalho a sociedade, principalmente a sociedade brasileira, que carece não só de avanço nas ciências da saúde, mas, em tantas outras áreas e no entendimento do quanto é difícil realizar pesquisa no país. Dedico também as minhas mães (a biológica, a de criação e a madrinha) vocês são meu maior estímulo e exemplo de resiliência na vida, sem vocês eu não chegaria até aqui.

A **Deus**, pela dádiva da vida e por me permitir realizar tantos sonhos nesta existência. Obrigado por me permitir errar, aprender e crescer e por seu infinito amor e sua voz que não me permitiu desistir em meio a tantos desafios desde do início deste propósito;

A **Minha família**, por todo apoio em tudo que me comprometo a fazer. Especialmente às minhas mães: **Maria do Céu** e **Maria José** por todo cuidado com minha saúde física e mental. E a minha madrinha **Ana Maria**, por sempre me estimular e ajudar de todas as formas a atingir meus objetivos.

Ao **Prof. Edilson**, pela orientação, competência, profissionalismo e dedicação ao trabalho e especialmente aos seus alunos. Foi muito bom ter alguém como referência durante toda essa jornada. Obrigado por acreditar em mim e por sempre me incentivar a melhorar e nunca desistir. Sou grata pela compreensão em cada percalço que apareceu pelo caminho e pela sabedoria em me guiar para fazer dá certo. Tenho certeza que não chegaria neste ponto sem o seu apoio. Você foi e está sendo muito mais que orientador: para mim será sempre mestre e amigo. Com você não aprendi apenas o conteúdo descrito neste trabalho, aprendi como que é de fato ser um educador, a ter uma visão ampla e realista sobre a pesquisa, a liderar de mãos dadas e a olhar sempre além. Você é uma grande inspiração, professor. Sempre irei carregar seus ensinamentos durante minha trajetória profissional;

A **Prof. Elaine e Prof. Vanessa** por todas as contribuições e ajuda na realização dos experimentos;

A **Ana Beatriz Martins**, por não ser apenas uma companheira na pesquisa e sim uma companheira de vida. Não tenho palavras para agradecer por todo seu apoio. Obrigada por todas as madrugadas junto comigo no biotério, por todos os finais de semanas e feriados em experimento, por topa a aventura de viajar em busca de materiais ou congressos, por ser meu ombro amigo nos dias difíceis e por vibrar junto a mim em toda nova conquista, por ser meu recanto de paz, paciência e positividade e acima de tudo por estar sempre presente. Com você como parceira a vida flui mais leve;

A **Luana Taline**, pela contribuição, conversas, cafés com bolo e risadas durante um experimento e outro;

Aos alunos de iniciação científica **Francisco Mateus e Talles Henrique** por todas as trocas de conhecimento, pelo apoio na realização dos experimentos e pela amizade e boas memórias construída;

Aos **amigos do laboratório de farmacologia**: Técnicos e usuários do laboratório, meu muito obrigado por todos os ensinamentos, conversas e momentos de descontração;

Aos **funcionários e aos terceirizados do Centro de Biociências da UFRN**, obrigada pelo carinho, suporte e alegria nos corredores ao longo desses anos;

Aos amigos que ganhei da UFRN e que sem dúvidas levarei para vida:

**Brenna Melo**, por ser minha eterna incentivadora. Mais uma vez fechamos um ciclo juntas. Amiga de turma na graduação e no mestrado, mas, não só isso irmã na vida. Já diria a música: Não tem asas e nem podem voar, mas, em seu coração trazem o dom de amar. Gratidão por todo esse amor na minha vida. És meu anjo amigo!

**Isabela Fortaleza**, por sempre se preocupar em como meu bem estar, saúde e lazer. Por sempre está presente se disponibilizando a me ajudar no que fosse preciso. Muito obrigada por cada momento vivido, cada experiência trocada e apoio desde do período da graduação.

**Jully Anne**, uma mãe amiga. Obrigada por todo suporte que você me deu durante essa jornada. Por cada festinha inventada para melhorar a semana, por cada palavra dita, cada abraço dado, por todas as vezes que me esperou para almoçar, por todas as vezes que se disponibilizou a me ajudar e acima de tudo por ter sido meu exemplo de resiliência na busca dos sonhos.

**Jorge Lucas**, por todas as risadas nos cafés da tarde, por trazer toda alegria e animação por onde passa. Você é o pesquisador que eu quero ser! Obrigada por estar na minha vida e por me acrescentar tanto como pessoa e profissional.

**Ramayana**, agradeço por ter tido a experiência em dividir um pouco da vida profissional com você. Você me ensinou que mesmo em um meio longe do ideal a contribuição para ciência pode acontecer. Você mesmo sem falar me ensinou a pensar fora da caixinha. Me inspirou a ser perspicaz e resiliente. Além garantir boas gargalhadas junto aos lanches da tarde.

**Bia Gomes**, mais conhecida como “Bea” a arengueira me presenteou nesses dois anos com uma sensibilidade e humanidade enorme. Sempre me fez refletir a falta dessas coisas na vida e principalmente no mundo científico. Me ajudou a reencontrar um amor antigo: A medicina tradicional chinesa e usá-lo como aliado nos momentos de ansiedade. Obrigada por esse e tantos outros bons momentos que vivemos juntas nesse mestrado.

A **Sueli Paiva**, por muitas vezes ser a minha terapeuta, por todos os conselhos, por toda força e ânimo que me deu em dias de cansaço e que com a voz da experiência me ajudou a lidar com a adaptação e variações de rotina entre trabalho e estudos, por todas as vezes que precisei me hospedar em sua casa e fui tão bem recebida e cuidada. Por sempre

me lembrar de onde vim e para onde quero ir. Sua amizade é preciosa em minha vida;

A **Maria Clara Cavalcante**, por me manter firme na fé mesmo nos piores momentos, por sempre me passar positividade e amor e acreditar mais em mim do que eu mesma;

Aos membros da banca examinadora, **Prof. Dr. Almir Gonçalves Wanderley**, **Profa. Dra. Juliana Félix da Silva** e a **Profa. Dra. Alice Valença Araújo** que tão gentilmente aceitaram participar e colaborar com essa dissertação;

A todos **os animais** usados em experimento, que proporcionam o avanço na ciência. Deixo registrado meu respeito e valorização à vida animal;

Grata, a **todas as pessoas que valorizam a pesquisa científica e os cientistas brasileiros.**

A **CAPES**, pelo financiamento da bolsa de Pós-graduação;

A todos os amigos e pessoas que se fizeram presente e jamais deixaram de acreditar em mim, aqui deixo o meu muito obrigado.



É amplamente descrito que a maioria dos antidepressivos (incluindo a fluoxetina e sertralina) apresenta efeitos negativos sobre a função sexual masculina e qualidade do sêmen, fazendo com que a prevalência de homens em uso de tais fármacos e apresentando redução da fertilidade tenha significado clínico. No entanto, os mecanismos pelos quais diferentes antidepressivos afetam a fertilidade masculina ainda permanecem elusivos. É possível que parte dos efeitos “antifertilidade” destes fármacos se deva a ações diretas sobre o epidídimo, alterando a contração do ducto epididimário e, conseqüentemente, parâmetros espermáticos como trânsito epididimário ou concentração de espermatozoides em diferentes partes do epidídimo. Desta forma, esse trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos de dois dos antidepressivos mais usados na clínica (fluoxetina e sertralina) sobre parâmetros espermáticos e na contração do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo de ratos. Para tanto, usamos segmentos do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo de ratos Wistar adultos para avaliar os efeitos *in vitro* da fluoxetina ou sertralina nas contrações deste tecido induzidas por agonistas (carbacol ou fenilefrina) ou KCl. Além disso, ratos Wistar adultos foram tratados por 21 dias com fluoxetina 20 mg/kg/dia (i.p.), sertralina 20 mg/kg/dia (i.p.) ou solução livre de fármaco (veículo DMSO 20% - grupo controle). Ao fim do tratamento, os animais foram eutanasiados e o sangue coletado para dosagem de testosterona sérica. O testículo e o epidídimo foram usados para determinação dos parâmetros espermáticos: produção diária de espermatozoides, concentração e trânsito de espermatozoides pelo epidídimo. Segmentos do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo de ratos tratados ou controles também foram usados para avaliar as contrações espontâneas ou induzidas por agentes exógenos (agonistas ou KCl). A incubação *in vitro* de fluoxetina 3 e 10  $\mu$ M reduziu as contrações do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo de ratos induzidas por KCl (~30 e ~70%, respectivamente), carbacol (~50 e ~75%, respectivamente) ou fenilefrina (~50 e ~80%, respectivamente). Observamos ainda que a pré-incubação de fluoxetina 1  $\mu$ M potencializou as contrações do epidídimo induzidas por fenilefrina em 3 vezes, enquanto a pré-exposição de fluoxetina 10  $\mu$ M reduziu a potência da fenilefrina e carbacol em 5,5 e 7,5 vezes, respectivamente. A incubação *in vitro* de sertralina 3 e 10  $\mu$ M reduziu as contrações do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo de ratos de forma similar à fluoxetina. A potência da fenilefrina e do carbacol foi reduzida em 3 e 5 vezes, respectivamente, após a pré-incubação de sertralina 10  $\mu$ M. Além disso, verificamos que o tratamento *in vivo* com fluoxetina e sertralina por 21 dias reduziu a produção diária de espermatozoides (~40 e ~35%, respectivamente), a contagem de espermatozoides no epidídimo (cabeça/corpo: ~60 e ~55%, respectivamente; cauda: ~60 e ~60%, respectivamente) e acelerou o trânsito espermático na região da cauda do epidídimo (~40 e ~40%, respectivamente). O tratamento *in vivo* com fluoxetina ou sertralina também foi capaz de reduzir drasticamente os níveis séricos de testosterona (~60 e ~55%, respectivamente), aumentar a frequência (Controle:  $0,31 \pm 0,15$ , n = 10; Fluoxetina:  $2,27 \pm 0,48$ , n =

8;  $P < 0,05$ ; Sertralina:  $0,95 \pm 0,28$ ,  $n = 8$ ;  $P > 0,05$ ) e amplitude (Controle:  $0,026 \pm 0,015$ ,  $n = 10$ ; Fluoxetina:  $0,15 \pm 0,02$ ,  $n = 8$ ,  $P < 0,05$ ; Sertralina:  $0,11 \pm 0,02$ ,  $n = 8$ ,  $P < 0,05$ ) das contrações espontâneas do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo e potencializar as contrações induzidas pelo agonista adrenérgico fenilefrina em 3 e 2,5 vezes, respectivamente. Em conclusão, alterações na atividade motora do epidídimo podem estar associadas aos efeitos antifertilidade da fluoxetina ou sertralina.

**Palavras-chave:** Fluoxetina; Sertralina; Ducto epididimário da cauda distal do epidídimo; Contração; Parâmetros espermáticos.

It is widely described that antidepressants (including fluoxetine and sertraline) presents negative effects on male sexual function and semen quality. However, the exact mechanism behind the “antifertility” effects of antidepressants remains elusive. We speculate that these drugs could induce direct effects on epididymis, altering its motor activity and, then, sperm parameters as epididymal transit or sperm counts in different parts of the epididymis. Thus, our work was conducted in order to evaluate the effects of two of most clinically used antidepressants (fluoxetine and sertraline) on sperm parameters and epididymal duct contractions. We have used segments of epididymal duct isolated from distal cauda epididymis of male adult Wistar rats in an attempt to evaluate the *in vitro* effects of fluoxetine or sertraline on contractions induced by agonists (carbachol or phenylephrine) or KCl. In addition, male adult Wistar rats were also treated for 21 days with fluoxetine 20 mg/kg/day (i.p.), sertraline 20 mg/kg/day (i.p.) or drug free vehicle (DMSO 20%). At the end of the treatment, the animals were euthanized and the blood collected for testosterone dosage. Testis and epididymis were also isolated for determination of sperm parameters: sperm production, sperm transit time and sperm count throughout epididymis. Segments of epididymal duct from distal cauda epididymis were also used to check the effects of *in vivo* treatment with both drugs on spontaneous or drug induced contractions. *In vitro* incubation of fluoxetine 3 and 10  $\mu$ M reduced the epididymal duct contractions induced by KCl (~30 and ~70%, respectively), carbachol (~50 and ~75%, respectively) or phenylephrine (~50 e ~80%, respectively). We were also found that pre-exposition to fluoxetine 1  $\mu$ M increased the phenylephrine potency by about 3-fold while fluoxetine 10  $\mu$ M significantly decreased the potency of phenylephrine and carbachol by 5,5 and 7,5-fold, respectively. The *in vitro* incubation of sertraline 3 and 10  $\mu$ M reduced the epididymal duct contractions with similar fashion to the fluoxetine. Sertraline 10  $\mu$ M also decreased the potency of phenylephrine and carbachol by about 3 and 5- fold, respectively. Thus, we found that *in vivo* treatment with fluoxetine and sertraline diminished the daily sperm production (~40 and 30%, respectively), sperm count in epididymis (caput/body: 60 and 55%, respectively; cauda: ~60% for both drugs) and accelerated the sperm transit time through cauda epididymis (~40% for both drugs). The rats exposed to fluoxetine and sertraline for 21 days also presented a reduction in serum testosterone levels (~60 and ~55%, respectively), an increase in the frequency (Control:  $0.31 \pm 0.15$ , n = 10; Fluoxetine:  $2.27 \pm 0.48$ , n = 8, P <0.05; Sertraline:  $0.95 \pm 0.28$ , n = 8, P > 0.05) and amplitude (Control:  $0.026 \pm 0.015$ , n = 10; Fluoxetine:  $0.15 \pm 0.02$ , n = 8, P <0.05; Sertraline:  $0.11 \pm 0.02$ , n = 8, P <0.05) of the epididymal duct spontaneous contractions. The potency of phenylephrine was increased by 3 and 2.5-fold in the epididymal duct of distal cauda epididymis from rats treated with fluoxetine and sertraline, respectively. In conclusion, changes in the motor activity of the epididymis may be associated with the antifertility effects of fluoxetine or sertraline.

**Keywords:** Fluoxetine; Sertraline; Epididymal duct from distal cauda of epididymis; Contraction; Sperm parameters.

---

<b>Figura 01</b> - Número de trabalhos publicados ou longos dos anos sobre infertilidade. <i>Fonte: Pubmed, 2019</i> .....	16
<b>Figura 02</b> – Esquema exemplificando as principais causas da infertilidade masculina. <i>Fonte: Autoria própria com base em Durairajanayagam, 2018</i> .....	18
<b>Figura 03</b> – Estrutura química da fluoxetina (Painel A) e sertralina (painel B). <i>Fonte: National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Fluoxetine, 2020</i> .....	20
<b>Figura 04</b> - Epidídimo de rato e suas divisões anatômicas. <i>Fonte: Própria Autoria</i> ...	22
<b>Figura 05</b> - Ratos adultos da linha Wistar. <i>Fonte: Própria Autoria</i> .....	25
<b>Figura 06</b> - Etapas do isolamento da cauda distal do epidídimo Cb: cabeça do epidídimo; Cp: corpo do epidídimo; Ca: cauda do epidídimo; ←: região da cauda distal usada para isolamento do ducto epididimário; Cad: ducto epididimário da cauda distal do epidídimo. <i>Fonte: Silva Junior, 2014</i> .....	31
<b>Figura 07</b> - Traçados originais das contrações de segmentos do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo de ratos induzidas por KCl 80 mM por 5 min (painel A) ou pela adição cumulativa de concentrações crescentes de fenilefrina (painel B) ou carbacol (painel C) na ausência (controle) ou presença de fluoxetina 1, 3 ou 10 µM .....	37
<b>Figura 08</b> - Traçados originais das contrações de segmentos do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo de ratos induzidas por KCl 80 mM por 5 min (painel A) ou pela adição cumulativa de concentrações crescentes de fenilefrina (painel B) ou carbacol (painel C) na ausência (controle) ou presença de sertralina 1, 3 ou 10 µM	38
<b>Figura 09</b> – Efeitos da fluoxetina (painéis A, B e C) ou sertralina (painéis D, E e F) nas contrações do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo de rato induzidas por KCl (painéis A e D), fenilefrina (painéis B e E) ou carbacol (painéis C e F). Cada barra	

ou ponto representa a média  $\pm$  EPM de no mínimo 5 experimentos independentes realizados em tecidos oriundos de diferentes animais. \*P<0,05 em relação a resposta contrátil máxima do controle (Bezerra et al., 2019)..... 39

**Figura 10** – Variação de massa dos animais submetidos ao tratamento *in vivo* com solução livre de fármaco (controle), fluoxetina ou sertralina 20 mg/Kg, i.p. por 21 dias. Cada ponto representa a média  $\pm$  EPM de 11-14 animais. \*P<0,05 em relação ao controle no 21º dia de tratamento (Bezerra et al., 2019)..... 42

**Figura 11** – Níveis séricos de testosterona em ratos submetidos ao tratamento *in vivo* com solução livre de fármaco (controle), fluoxetina ou sertralina 20 mg/Kg, .i.p., por 21 dias. Cada barra apresenta a média  $\pm$  EPM de 5-6 experimentos. \*P< 0,05 em relação ao controle (Bezerra et al., 2019)..... 44

**Figura 12** - Frequência e amplitude das contrações espontâneas do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo de ratos submetidos ao tratamento *in vivo* com solução livre de fármaco, fluoxetina ou sertralina (20 mg/Kg, i,p,) por 21 dias. No painel, A observa-se os traçados originais das contrações espontâneas do ducto epididimário do grupo controle ou nos animais submetidos ao tratamento com fluoxetina ou sertralina. Os painéis B e C apresentam os gráficos de barra para os valores de frequência (painel B) ou amplitude (painel C) da contrações espontâneas do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo de rato nos grupos experimentais. Cada barra representa a média  $\pm$  EPM de 8-10 experimentos realizados em diferentes animais. \*P<0,05 em relação ao controle (Bezerra et al., 2019)..... 47

**Figura 13-** Contrações de segmentos do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo induzidas por KCl (Painel A), fenilefrina (Painel B) ou carbacol (Painel C) em ratos submetidos ao tratamento *in vivo* com solução livre de fármaco (controle), fluoxetina ou sertralina (20 mg/Kg, i,p,) por 21 dias. Cada barra (painel A) ou ponto (painéis B e C) representam a média  $\pm$ EPM de 8-10 experimentos realizados em diferentes animais (Bezerra et al., 2019)..... 48

**Tabela 1-** Efeito máximo ( $E_{max}$ ) (% da contração do KCl) e valores de  $pEC_{50}$  para fenilefrina ou carbacol na ausência (controle) ou presença de fluoxetina em segmentos do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo (Bezerra et al., 2019). ..... 40

**Tabela 2 -** Efeito máximo ( $E_{max}$ ) (% da contração do KCl) e valores de  $pEC_{50}$  para fenilefrina ou carbacol na ausência (controle) ou presença de sertralina em segmentos do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo (Bezerra et al., 2019). ..... 41

**Tabela 3 –** Massa dos órgãos reprodutores de animais submetidos ao tratamento *in vivo* com solução livre de fármaco (controle), fluoxetina ou sertralina 20 mg/Kg, i.p. por 21 dias (Bezerra et al., 2019). ..... 43

**Tabela 4 –** Parâmetros espermáticos de animais submetidos ao tratamento *in vivo* com solução livre de fármaco (controle), fluoxetina ou sertralina 20 mg/Kg, i.p. por 21 dias (Bezerra et al., 2019)..... 45

**Tabela 5 -** Efeito máximo ( $E_{max}$ ) (g de contração) e valores de  $pEC_{50}$  para fenilefrina ou carbacol no ducto epididimário da cauda distal do epidídimo de ratos submetidos ao tratamento *in vivo* com veículo (controle), fluoxetina ou sertralina (20 mg/Kg, i,p,) por 21 dias (Bezerra et al., 2019)..... 49

**Tabela 6 –** Resumo dos resultados mais importantes observados para os efeitos *in vitro* da fluoxetina ou sertralina nas contrações do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo de ratos ou após 21 dias de tratamento com ambos os fármacos em parâmetros espermáticos ou na contração do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo de rato.....50

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

---

$\mu$ M: microMolar

5-HT: 5-hidroxitriptamina ou serotonina

ANOVA: Análise de variância

DNA: Ácido desoxirribonucleico

E.P.M: Erro padrão da média

EC<sub>50</sub>: Concentração que produz metade do efeito máximo

E<sub>max</sub>: Efeito máximo

FSH: Hormônio folículo estimulante

g: gramas

KCl: Cloreto de potássio

kg: Quilogramas

LH: Hormônio Luteinizante

Log: Logaritmo

M: Molar ou mol/l

mg: Miligramas

mM: miliMolar

n: número de experimentos

°C: Grau Celsius

pEC<sub>50</sub>: Logaritmo negativo da EC<sub>50</sub>

pH: potencial hidrogeniônico

---

<b>1</b>	<b>Introdução.....</b>	<b>15</b>
1.1	<b>Ação de medicamentos sobre fertilidade masculina.....</b>	<b>17</b>
1.2	<b>Ações dos inibidores seletivos da recaptção de serotonina, fluoxetina e sertralina, sobre a fertilidade masculina.....</b>	<b>20</b>
1.3	<b>O epidídimo como alvo para os efeitos antifertilidade dos antidepressivos fluoxetina ou sertralina.....</b>	<b>21</b>
1.4	<b>O epidídimo de rato como modelo de estudo da função epididimária.....</b>	<b>24</b>
<b>2</b>	<b>Objetivos.....</b>	<b>26</b>
<b>3</b>	<b>Metodologia.....</b>	<b>28</b>
3.1	<b>Animais.....</b>	<b>29</b>
3.2	<b>Grupos experimentais e tratamento.....</b>	<b>29</b>
3.3	<b>Isolamento da cauda distal do epidídimo de rato para experimento em banho de órgão isolado.....</b>	<b>30</b>
3.3.1	<i>Avaliação dos efeitos in vitro da fluoxetina ou sertralina nas contrações da cauda distal do epidídimo.....</i>	<i>31</i>
3.3.2	<i>Avaliação dos efeitos do tratamento com fluoxetina ou sertralina por 21 dias nas contrações da cauda distal do epidídimo.....</i>	<i>31</i>
3.4	<b>Dosagem de testosterona sérica.....</b>	<b>32</b>
3.5	<b>Determinação de parâmetros espermáticos.....</b>	<b>33</b>
3.6	<b>Análise dos dados.....</b>	<b>33</b>
3.7	<b>Fármacos e reagentes.....</b>	<b>34</b>
<b>4</b>	<b>Resultados.....</b>	<b>35</b>
4.1	<b>Efeitos <i>in vitro</i> da fluoxetina ou da sertralina nas contrações de segmentos do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo.....</b>	<b>36</b>
4.2	<b>Efeitos do tratamento com fluoxetina ou sertralina por 21 dias na massa dos animais e órgãos reprodutivos.....</b>	<b>42</b>
4.3	<b>Efeitos do tratamento com fluoxetina ou sertralina por 21 dias sobre os níveis séricos de testosterona e parâmetros espermáticos.....</b>	<b>44</b>
4.4	<b>Efeito do tratamento com fluoxetina ou sertralina por 21 dias nas contrações de segmentos do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo.....</b>	<b>46</b>
4.5	<b>Resumo dos resultados.....</b>	<b>48</b>
<b>5</b>	<b>Discussão.....</b>	<b>51</b>
<b>6</b>	<b>Considerações Finais.....</b>	<b>58</b>
<b>7</b>	<b>Referências Bibliográficas.....</b>	<b>60</b>
	<b>ANEXO.....</b>	<b>73</b>
	<b>APÊNDICE.....</b>	<b>75</b>

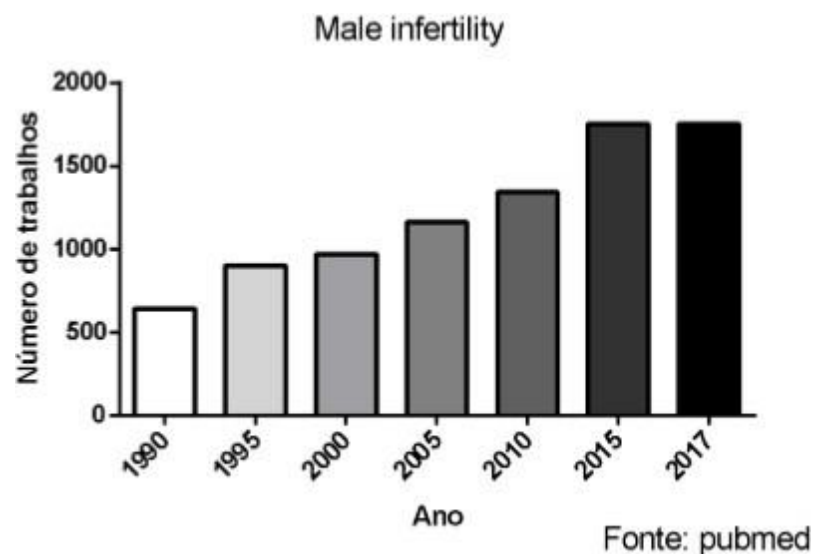


## 1 INTRODUÇÃO

---

---

A infertilidade é definida como falha em gerar uma gravidez ou de conceber um filho após um ano de relacionamento sexual regular sem o uso de quaisquer métodos contraceptivos. É sabido que a incidência mundial de infertilidade varia de 10% a 15% entre os casais pesquisados, sendo o homem responsável por 40-50% destes casos (KUMAR; SINGH, 2015). Nos últimos anos, o número de estudos abordando a infertilidade masculina vem aumentando (Figura 01), uma vez que a contagem de espermatozoides em homens considerados “sadios” vem decaindo significativamente (DURAIRAJANAYAGAM, 2018). Por exemplo, um estudo francês descreveu que houve uma redução na contagem de espermatozoides de 74 milhões/mL para 49 milhões/mL da década de 90 até o ano 2005 (ROLLAND et al., 2013). Múltiplos fatores podem afetar o sistema reprodutivo masculino levando a uma redução da contagem de espermatozoides e, conseqüentemente, da fertilidade masculina, como: fatores ambientais e sexuais, doenças urogenitais de caráter congênito ou infeccioso, radiação e uso de drogas de abuso ou medicamentos (DURAIRAJANAYAGAM, 2018).



**Figura 01** - Número de trabalhos publicados ou longos dos anos sobre infertilidade masculina

Fonte: Pubmed, 2019

Elaboração: Autor

É amplamente aceito que o uso crônico da maioria dos medicamentos, sejam eles de venda livre ou prescritos, pode interferir ou até mesmo abolir a fertilidade masculina. Neste contexto, a maioria das agências regulatórias exige, atualmente, ensaios de toxicidade reprodutiva nos estudos pré-comercialização para novos fármacos. No entanto, os efeitos e o impacto de diferentes fármacos sobre a fertilidade

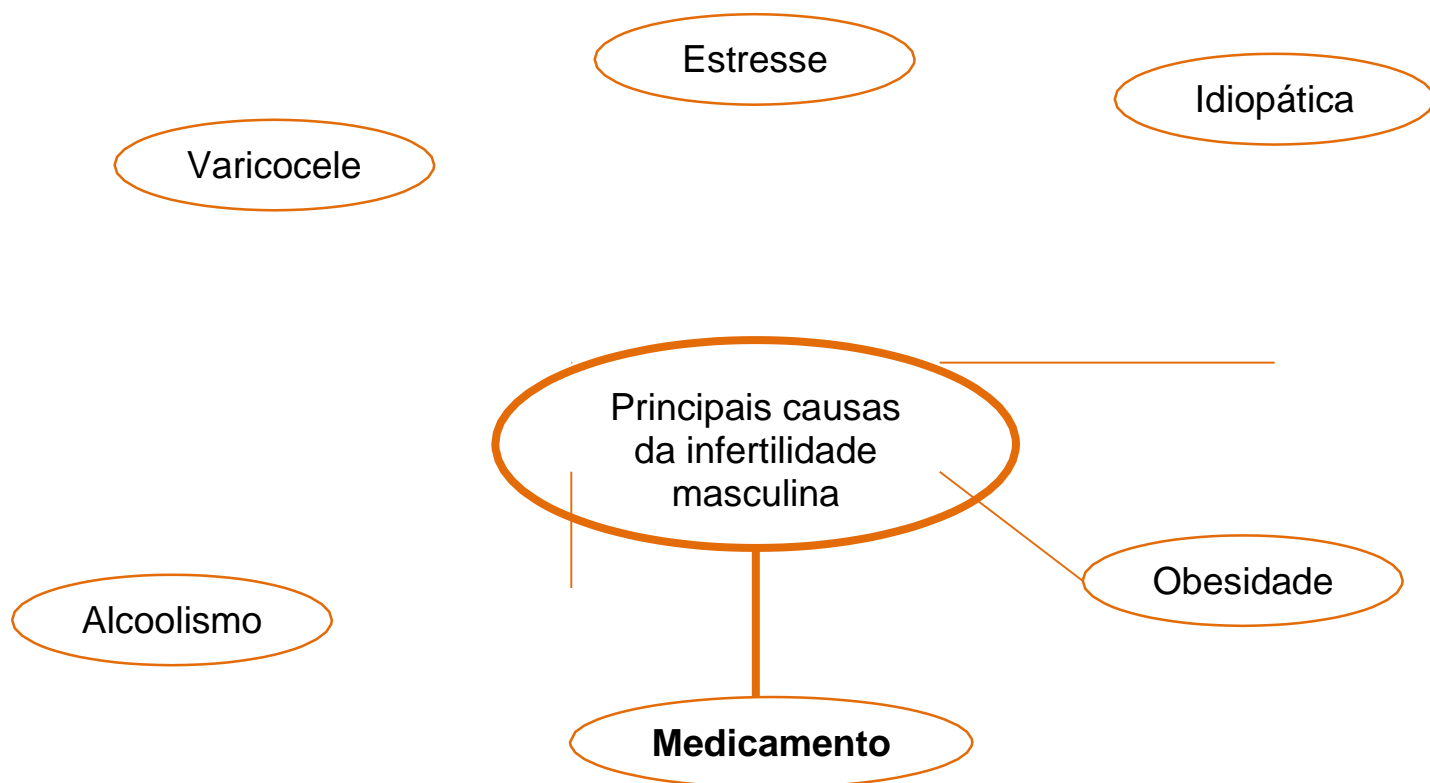
masculina permanecem desconhecidos, visto que a maioria destes produtos foram lançados no mercado antes de tal exigência (DROBNIS; NANGIA, 2017).

Os antidepressivos representam uma importante classe de fármacos capazes de produzir efeitos deletérios sobre o sistema reprodutor e a fertilidade masculina. Em especial, destacam-se os inibidores seletivos da recaptção de serotonina, como a fluoxetina e a sertralina, por serem os mais usados por homens em idade fértil (ANDRADE; ANDRADE; SANTOS, 2004; COUPLAND et al., 2015; DROBNIS; NANGIA, 2017). Os antidepressivos, como a fluoxetina e a sertralina, afetam a fertilidade masculina pelos mais diversos mecanismos, podendo atuar em nível testicular e/ou até mesmo na ejaculação (DROBNIS; NANGIA, 2017).

O epidídimo, por sua vez, é um importante e pouco considerado alvo para os efeitos antifertilidade para diversos fármacos (incluindo os antidepressivos). Isto se dá pela recente constatação de que alterações na atividade motora do epidídimo induzidas de forma direta ou indireta pelos mais diferentes agentes exógenos podem levar a prejuízos na qualidade e na quantidade de espermatozoides no ejaculado, produzindo, assim, uma redução significativa da fertilidade masculina (ELFGEN et al., 2018). A seguir, apresentamos uma breve revisão sobre as ações dos medicamentos, em especial dos antidepressivos fluoxetina e sertralina sobre o sistema reprodutor e a fertilidade masculina. Ademais, apresentamos o epidídimo como um possível alvo para os efeitos antifertilidade destes agentes antidepressivos.

### **1.1 Ação de medicamentos sobre fertilidade masculina**

Diversos fatores químicos e/ou físicos podem afetar a fertilidade masculina por prejudicarem a formação dos espermatozoides (espermatogênese) ou interferir no eixo hipotálamo-hipóse-gônadas, ou ainda, o trânsito de espermatozoides. Pode-se citar, como exemplo, as radiações ionizantes, a varicocele, o estresse, a obesidade, o uso de álcool ou hábito de fumar e o uso regular de medicamentos (DURAIRAJANAYAGAM, 2018) (Figura 02).



**Figura 02** – Esquema exemplificando as principais causas da infertilidade masculina.

*Fonte: Autoria própria com base em Durairajanayagam, 2018*

Diversos medicamentos de venda livre ou prescritos (antidepressivos, ansiolíticos, analgésicos, anti-inflamatórios, etc) podem afetar de forma negativa a função do sistema reprodutor masculino, gerando casos de infertilidade. Atualmente, tais efeitos “antifertilidade” produzidos pelos medicamentos estão cada vez mais se destacando, uma vez que: (i) a população está desenvolvendo doenças crônicas mais precocemente, principalmente em países ricos; (ii) as pessoas estão usando mais medicamentos que no passado, incluindo homens em idade fértil; (iii) os homens estão cada vez mais apresentando dificuldades em reproduzir e tal fenômeno pode estar associado ao grande uso de fármacos durante a idade reprodutiva (DROBNIS; NANGIA, 2017).

Como exemplo do exposto acima, destacamos o trabalho de Pompe et al. (2016), o qual demonstrou que 46% dos homens inférteis atendidos por uma clínica estavam em uso de pelo menos um medicamento. Dentre os medicamentos em uso por estes pacientes, reações adversas relacionadas à fertilidade masculina já haviam

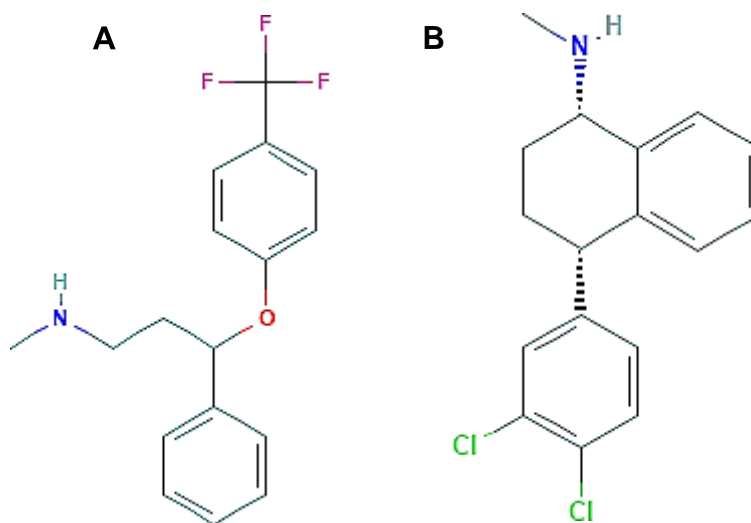
sido relatadas para 51% destes agentes. Outro estudo que avaliou 1768 homens com redução da fertilidade relatou que 165 pacientes estavam em uso regular de medicamentos que poderiam estar diretamente envolvidos com a redução da sua capacidade reprodutiva. Além disso, destaca-se que em 73 desses pacientes, o medicamento em questão foi substituído por outro com menor toxicidade reprodutiva, o que fez com que os parâmetros de qualidade do sêmen retornassem para valores normais (HAYASHI; MIYATA; YAMADA, 2008).

Uma classe de medicamentos muito utilizada atualmente é a dos antidepressivos, os quais podem ser subdivididos de acordo com o seu mecanismo de ação, como por exemplo: inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ex. fluoxetina e sertralina), antidepressivos tricíclicos (ex. imipramina, amitriptilina), inibidores da monoamino oxidase (ex. moclobemida e trianilcipromina), inibidores seletivos da recaptação de noradrenalina e serotonina (ex. duloxetina e desvenlafaxina), etc (DROBNIS; NANGIA, 2017). Estes agentes são clinicamente empregados no tratamento farmacológico da depressão e seu uso pela população masculina em idade reprodutiva é considerável (6-12% dos homens em idade fértil). Tal fato ressalta a importância da avaliação dos efeitos destes agentes sobre o sistema reprodutor masculino e suas consequências na fertilidade (PRATT; BRODY; GU, 2011, 2017).

Vários estudos demonstraram que a maioria dos antidepressivos, independentemente da classe avaliada, é capaz de induzir efeitos deletérios sobre a função sexual masculina e/ou qualidade do sêmen (número de espermatozoides no ejaculado, morfologia e motilidade dos espermatozoides e etc) (HENDRICK et al., 2000; TANRIKUT; SCHLEGEL, 2007; DROBNIS; NANGIA, 2017). Portanto, uma prevalência significativa de homens em uso de antidepressivos e apresentando infertilidade representa uma realidade, como previamente observado por diversos autores (HENDRICK et al., 2000; TANRIKUT; SCHLEGEL, 2007; DROBNIS; NANGIA, 2017). Os mecanismos responsáveis pelos efeitos dos antidepressivos sobre a fertilidade masculina são diversos. Estes agentes podem afetar a produção de gonadotrofinas (FSH e/ou LH) ou hormônios esteroides sexuais (testosterona), a espermatogênese ou até mesmo a ejaculação (causando atraso ou até mesmo anejaculação) (DROBNIS; NANGIA, 2017). No entanto, um importante e pouco considerado alvo para estes efeitos antifertilidade para diversos fármacos, incluindo os antidepressivos, é o epidídimo.

## 1.2 Ações dos inibidores seletivos da recaptção de serotonina, fluoxetina e sertralina, sobre a fertilidade masculina

Os inibidores seletivos da recaptção de serotonina (ISRS; ex. fluoxetina, sertralina, paroxetina, citalopram e escitalopram) são os agentes mais empregados no tratamento da depressão devido a sua alta efetividade e segurança (GOODNICK; GOLDSTEIN, 1998). Entre os ISRS, a fluoxetina (nomes comerciais: Daforin®, Deprax®, Depress®, Eufor 20®, Fluox®, Fluoxetin®, Fluxene®, Prozac®) e sertralina (nomes comerciais: Assert®, Dieloft®, Serenata®, Seronip®, Tolrest®, Zoloft®) (Figura 03) se destacam como os mais prescritos e utilizados na prática clínica (ANDRADE; ANDRADE; SANTOS, 2004; COUPLAND et al., 2015), principalmente por homens (PRATT; BRODY; GU, 2011, 2017; DROBNIS; NANGIA, 2017).



**Figura 03** – Estrutura química da fluoxetina (Painel A) e sertralina (painel B).

Fonte: National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Fluoxetine, 2020

Embora a eficácia antidepressiva da fluoxetina ou sertralina seja comprovada por diversos estudos, o uso destes fármacos está associado a uma importante redução da libido e da fertilidade masculina (CASCADE; KALALI; KENNEDY, 2009). De fato, é relatado que estes fármacos podem reduzir os níveis séricos de prolactina (TRENQUE et al., 2011) e retardar a ejaculação (MONTEJO et al., 2001) em um número significativo de pacientes masculinos (TANRIKUT; SCHLEGEL, 2007;

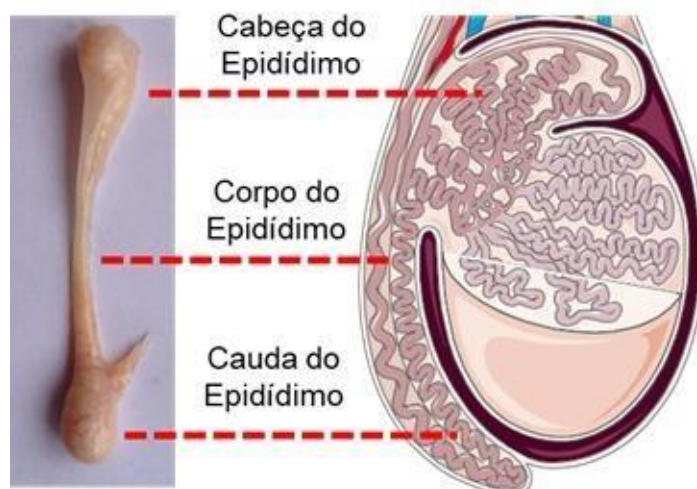
DROBNIS; NANGIA, 2017). Além disso, Safarinejad (2008) demonstrou que pacientes em uso de fluoxetina e sertralina apresentaram uma redução da fertilidade caracterizada por uma redução da motilidade e quantidade dos espermatozoides no ejaculado, além de uma maior fragmentação do DNA. De maneira similar, Akasheh et al. (2014) demonstraram que pacientes com ejaculação precoce tratados com sertralina 50 mg/dia por três meses apresentaram redução da qualidade (alterações na morfologia e maior fragmentação do DNA espermático) e quantidade de espermatozoides no ejaculado.

Estudos em roedores também demonstraram que o ISRS como a fluoxetina e sertralina apresentaram importantes efeitos sobre a fertilidade dos animais machos. Por exemplo, Alzahrani (2012) demonstrou que a fluoxetina administrada por 5 dias em ratos foi capaz de reduzir a contagem e a motilidade de espermatozoides, além de aumentar a frequência de alterações morfológicas da cabeça deste gameta. Outro estudo demonstrou que o tratamento *in vivo* com fluoxetina por 60 dias reduziu a motilidade e a densidade dos espermatozoides coletados da cauda do epidídimo, assim como também diminuiu os níveis dos hormônios testosterona e FSH (BATAINEH; DARADKA, 2007). Efeitos similares também foram descritos para a sertralina em roedores (ATLI et al., 2017).

O exato mecanismo ou alvos farmacológicos relacionados aos efeitos da fluoxetina ou sertralina sobre a fertilidade masculina ainda não são conhecidos. Conjecturamos que as alterações na emissão/expulsão do sêmen e na qualidade/quantidade de espermatozoides no ejaculado observados em humanos ou roedores esteja relacionado, pelo menos em parte, a alterações na contratilidade do ducto epididimário. Como discutido adiante, alterações na atividade motora do ducto epididimário podem prejudicar a maturação e o armazenamento dos espermatozoides, o que traz consigo, prejuízos na qualidade e na quantidade dos espermatozoides. Além disso, o epidídimo poderia ser um alvo para os efeitos “antifertilidade” da fluoxetina ou sertralina, com base nos efeitos *off-target* destes agentes.

### **1.3O epidídimo como alvo para os efeitos antifertilidade dos antidepressivos fluoxetina ou sertralina**

O epidídimo é um órgão composto por um ducto altamente enovelado que liga os túbulos seminíferos ao ducto deferente (NEILL et al., 2015). No polo superior do testículo, o epidídimo apresenta sua região mais proximal, a qual é denominada de cabeça. Este órgão ainda apresenta um segmento intermediário conhecido como corpo e mais distalmente, uma dilatação que é denominada de cauda (Figura 07). Na cabeça do epidídimo, os ductos eferentes dos testículos continuam por ductos muito tortuosos que, em seguida, se anastomosam para constituir um único tubo que é denominado como ducto epididimário. Este ducto é tão sinuoso que ocupa um espaço de aproximadamente dois centímetros de comprimento, quando na realidade possui seis metros de extensão (NETTER, 2019) (Figura 04). O ducto epididimário é formado por uma camada de epitélio pseudoestratificado contendo células principais, basais, apicais, claras e halo. Esta camada de tecido epitelial é envolta por músculo liso, o que confere atividade motora ao ducto epididimário (CORNWALL, 2009). A espessura da musculatura lisa do ducto epididimário varia entre suas porções. Na região da cabeça, o ducto epididimário apresenta uma fina camada circular de músculo liso, enquanto que em regiões mais distais da cauda do epidídimo, observamos no ducto epididimário uma camada circular mais espessa somada a uma camada longitudinal de músculo liso (BAUMGARTEN; HOLSTEIN; ROSENGREN, 1971).



**Figura 04** - Epidídimo de rato e suas divisões anatômicas.

*Fonte: Própria Autoria*

Funcionalmente, o epidídimo é responsável pelo transporte dos espermatozoides do testículo até o ducto deferente. Além disso, a região da cauda do



epidídimo pode servir de armazenamento dos espermatozoides até o momento da ejaculação. O transporte dos espermatozoides ao longo do epidídimo ocorre graças a atividade motora da musculatura lisa do ducto epididimário (ELFGEN et al., 2018). Deve-se ressaltar ainda que é durante o transporte dos espermatozoides ao longo do epidídimo que o gameta masculino sofre o processo de maturação, adquirindo motilidade e capacidade de fertilizar o óvulo (NEILL et al., 2015). Assim, se o transporte dos espermatozoides ao longo do epidídimo e sua consequente maturação não ocorrerem de forma apropriada, observaremos importantes alterações na qualidade e na quantidade dos espermatozoides no ejaculado, prejudicando, portanto, a fertilidade masculina (FERNANDEZ et al., 2008; NEILL et al., 2015; ELFGEN et al., 2018).

O trânsito de espermatozoides pelo ducto epididimário depende de uma atividade motora espontânea que é mediada por prostaglandinas, endotelina-1 e oxitocina liberadas pelo epitélio (MEWE et al., 2006; ELFGEN et al., 2018) e que varia em frequência e amplitude entre as diferentes partes do epidídimo (PHOLPRAMOOL; TRIPHROM; DIN-UDOM, 1984). Além disso, existem evidências de que a atividade motora do ducto epididimário pode ser modulada por fatores hormonais ou neuronais. É descrito que a castração aumenta a contratilidade do ducto epididimário, levando a uma redução da reserva de espermatozoides na cauda do epidídimo e a uma redução do tempo de trânsito dos espermatozoides pelo epidídimo. A reposição hormonal com testosterona reverte tais efeitos, indicando que os andrógenos podem modular a atividade motora do epidídimo e o transporte de espermatozoides (FOLDESY; BEDFORD, 1982; DIN-UDOM; SUJARIT; PHOLPRAMOOL, 1985; SUJARIT; PHOLPRAMOOL, 1985). A musculatura lisa do epidídimo recebe inervação autonômica adrenérgica e colinérgica e os neurotransmissores liberados (noradrenalina e acetilcolina, respectivamente) são capazes de causar contrações tônicas (de caráter sustentado) e de aumentar a frequência/amplitude das contrações espontâneas (HIB; PONZIO; VILAR, 1979; PHOLPRAMOOL; TRIPHROM; DIN-UDOM, 1984). Estes efeitos contráteis são mimetizados por agonistas adrenérgicos ou colinérgicos exógenos e são mediados por adrenoceptores  $\alpha_1$  e receptores  $M_3$ , respectivamente (PHOLPRAMOOL; TRIPHROM; DIN-UDOM, 1984; VENTURA; PENNEFATHER, 1991; QUEIROZ et al., 2002).

Trabalhos recentes têm demonstrado que o epidídimo pode ser um importante alvo para os efeitos antifertilidade de diferentes fármacos como anti-inflamatórios não

esteroides, bloqueadores dos canais de cálcio, agentes psicotrópicos, antagonistas muscarínicos ou adrenérgicos. As ações destes fármacos no epidídimo estão relacionadas, em sua maioria, a alterações na atividade motora do ducto epididimário ou nos seus mecanismos regulatórios, o que levaria a alterações no trânsito de espermatozoides, prejudicando o processo de maturação e armazenamento dos espermatozoides na cauda do epidídimo (para revisão consultar Elfgen et al., 2018).

No caso dos antidepressivos fluoxetina e sertralina, é sabido que além de seu mecanismo de ação primário (inibição da recaptação de serotonina), estes fármacos são capazes de inibir a contração da musculatura lisa em diferentes tecidos, possivelmente devido a uma ação inibitória em canais de cálcio voltagem dependentes (UNGVARI; PACHER; KOLLER, 2000; LEE et al., 2012; PEDROSO et al., 2017). Estes agentes também são capazes de alterar a neurotransmissão autonômica. Por exemplo, foi observado que a administração aguda de fluoxetina ou sertralina diminuiu o tônus do sistema nervoso autônomo simpático (SHORES, 2001; TIRADENTES et al., 2014), enquanto que a administração crônica de fluoxetina foi capaz de aumentar a atividade simpática (HONG et al., 2017). Os níveis de testosterona também foram afetados pela fluoxetina ou sertralina em modelos animais ou celulares (ERDEMIR et al., 2014; HANSEN et al., 2017; MUNKBOEL et al., 2018; CÂMARA et al., 2019). Portanto, diante dos estudos que demonstraram a capacidade da fluoxetina ou sertralina de afetar a contração do músculo liso, o sistema nervoso autônomo e os níveis de testosterona, nos perguntamos se tais agentes também poderiam afetar a atividade motora do epidídimo, levando a alterações no trânsito de espermatozoides por este órgão e, conseqüentemente, alterando a qualidade e a quantidade dos espermatozoides no ejaculado.

### **1.4 O epidídimo de rato como modelo de estudo da função epididimária**

O uso de roedores, particularmente ratos de diferentes linhagens, possibilitou um grande avanço no estudo da função do epidídimo, permitindo um melhor entendimento da participação deste órgão na fertilidade masculina (Figura 05) Apesar de haver pequenas diferenças anatômicas entre o epidídimo de humanos e ratos, ambos compartilham as mesmas funções (transporte, maturação e armazenamento de espermatozoides) (TURNER, 2008; SULLIVAN; MIEUSSET, 2016). Com a

restrição ou maior dificuldade em usar epidídimos de humanos na pesquisa pré-clínica, o uso alternativo do epidídimo de roedores é de suma importância, uma vez que permite o entendimento da função epididimária em diferentes condições, como por exemplo em modelos animais de doenças (hipertensão, diabetes, epididimite) ou após manipulação cirúrgica (adrenalectomia, castração unilateral, denervação etc). Além disso, o epidídimo de roedores é um excelente modelo para a avaliação *in vitro* ou *in vivo* da administração de fármacos ou outros agentes tóxicos sobre o transporte, maturação e armazenamento de espermatozoides. Por fim, é possível avaliar diretamente como as alterações epididimárias induzidas por doenças ou fármacos podem interferir na fertilidade masculina. (TURNER, 2008; SULLIVAN; MIEUSSET, 2016).

Segmentos do ducto epididimário da região caudal do epidídimo de ratos são também usados em ensaios farmacológicos, utilizando a técnica de banho de órgão isolado para o entendimento dos sistemas receptores ou mecanismo regulatórios envolvidos na atividade motora deste órgão. O ducto epididimário da cauda do epidídimo é frequentemente usado por ser uma região de fácil dissecação e que apresenta uma espessa camada de músculo liso e uma boa responsividade aos fármacos adrenérgicos, colinérgicos e outros agentes (RICKER, 1998; DA SILVA et al., 2014; PACINI et al., 2018; MUELLER et al., 2019). Além disso, alterações na contração desta região do epidídimo têm sido associadas a problemas na fertilidade masculina relacionadas ao processo de transporte dos espermatozoides e na emissão do ejaculado (BELLENTANI et al., 2011; BORGES et al., 2013). Assim, o epidídimo de rato vem sendo usado por diversos grupos de pesquisa ao redor do mundo (FERNANDEZ et al., 2008; BELLENTANI et al., 2011; DA SILVA et al., 2014; SILVA et al., 2014; GUERRA et al., 2017; OMOLAOYE; SKOSANA; DU PLESSIS, 2018; MUELLER et al., 2019), permitindo que o nosso entendimento sobre o papel deste órgão no campo da fertilidade masculina avance.



**Figura 05** - Ratos adultos da linha Wistar  
*Fonte: Própria Autoria*

## **2 OBJETIVOS**

---

---

### 2.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos dos antidepressivos fluoxetina e sertralina sobre parâmetros espermáticos e a contração do ducto epididimário.

### 2.2 Objetivos específicos

- Avaliar os efeitos *in vitro* da fluoxetina e sertralina nas contrações do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo induzidas por agonistas ou KCl.
- Verificar se o tratamento *in vivo* com fluoxetina e sertralina sobre a produção diária de espermatozoides, a quantidade de espermatozoides nas diferentes partes do epidídimo e o trânsito espermático pelo epidídimo;
- Investigar se o tratamento *in vivo* com fluoxetina e sertralina sobre os níveis séricos de hormônios sexuais;
- Verificar os efeitos do tratamento *in vivo* com fluoxetina e sertralina nas contrações espontâneas do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo ou induzidas por agonistas ou KCl;

### **3 METODOLOGIA**

---

---

### 3.1 Animais

Foram utilizados ratos *Wistar* com 2-3 meses de idade, pesando 200-350g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Rio Grande Norte (UFRN). Os animais foram mantidos no Biotério do Departamento de Biofísica e Farmacologia (DBF), sendo alojados em gaiolas-viveiro (5 animais/gaiola) com livre acesso a água e ração (Ração Purina®, Labina), ciclo de luz claro-escuro de 12 horas (claro das 6:00 às 18:00) e temperatura controlada ( $23^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ). Todos os procedimentos experimentais descritos aqui foram realizados após aprovação pelo comitê de ética institucional (protocolo 058/2018, CERTIFICADO nº 131.058/2018) (ANEXO). Além disso, foram utilizados um total de 68 animais para a realização de todos os experimentos abaixo descritos.

### 3.2 Grupos experimentais e tratamento

Após período de ambientação ao biotério do DBF (1 mês), alguns animais (n=24) foram eutanasiados por decapitação para avaliação dos efeitos *in vitro* da fluoxetina ou setralina nas contrações da cauda distal do epidídimo. Além disso, outro conjunto de animais foi aleatoriamente dividido em três grupos experimentais: (1) grupo controle, os quais foram tratados com solução livre de fármaco (DMSO 20%) por 21 dias (n=14) por via intra peritoneal (i.p) (2) grupo tratado com fluoxetina na dosagem de 20 mg/kg/dia, i.p., por 21 dias (n=15); e (3) grupo tratado com sertralina na dosagem de 20 mg/kg/dia, i.p., por 21 dias (n= 15). As doses, vias de administração e duração de tratamento acima mencionados foram escolhidas de acordo com trabalhos anteriores que avaliaram os efeitos da exposição a estes fármacos no trato genitourinário de roedores (BUSCH; WALD; BORDA, 1999; OZYAVUZ; KALYONCU; KARAOGLU, 2004; CANPOLAT et al., 2016; PEDROSO et al., 2017). Durante o tratamento, os animais foram monitorados diariamente (uma vez ao dia) para observação da massa corpórea, condições físicas (sinais de dor com presença de pelos eriçados, possíveis machucados, diarreia e etc) e comportamento (agitação ou recolhimento do animal). Ao fim dos 21 dias de tratamento, os animais tratados e seus

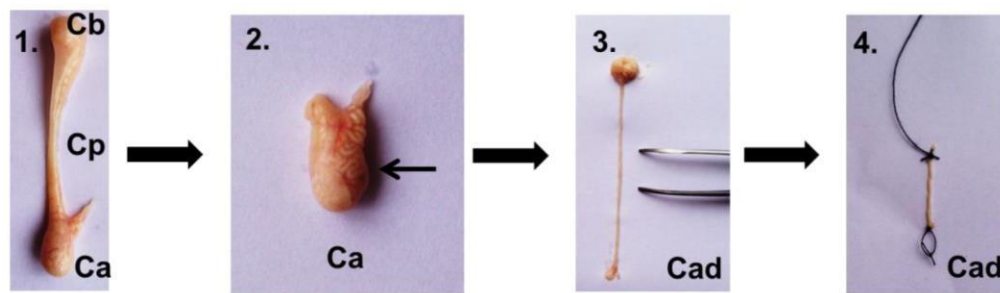
respectivos controles foram eutanasiados por decapitação 24h após a última administração dos fármacos. Em seguida, o sangue foi coletado (no momento da sangria pós-decapitação) para análise da testosterona sérica e os órgãos reprodutores isolados (testículo, epidídimo, próstata e vesícula seminal), pesados e levados para os procedimentos experimentais (determinação de parâmetros espermáticos em testículo e epidídimo; experimentos em banho de órgão isolado com epidídimo).

#### **3.3. Isolamento da cauda distal do epidídimo de rato para experimento em banho de órgão isolado**

Após a eutanásia dos animais, foi realizada uma incisão na parede abdominal para remoção do epidídimo em toda sua extensão. Em seguida, a região da cauda do epidídimo foi separada e o ducto epididimário da região distal (região 7) (HINTON; DOTT; SETCHELL, 1979) foi isolado, desenovelado e dissecado de seus tecidos adjacentes (Figura 06). Por conseguinte, um segmento de aproximadamente de 1 a 1,5 cm da região distal da cauda do epidídimo foi montado, sob tensão inicial de 1 g, em um banho de órgão isolado contendo 10 ml de solução fisiológica com a seguinte composição (mM): 138,0 NaCl; 5,7 KCl; 1,8 CaCl<sub>2</sub>; 0,36 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 15 NaHCO<sub>3</sub> e 5,5 C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub> diluídos em água destilada, pH ajustado em 7,35, aquecida a 34°C e sob aeração. As alterações na tensão isométrica foram detectadas por meio de transdutor de força (Ugo Basile, Itália) e registradas em um fisiógrafo Gemini de dois canais (Ugo Basile, Itália).

Após a montagem, os segmentos da cauda distal do epidídimo foram mantidos em equilíbrio com a solução fisiológica por 40 min. Em seguida, uma solução a 80 mM de KCl foi aplicada a preparação e mantida por 5 min com o intuito de determinar a viabilidade e a resposta contrátil máxima do tecido. Em seguida, a preparação foi lavada (três vezes) e após um novo período de 40 min de estabilização, deu-se início aos experimentos.





**Figura 06** - Etapas do isolamento da cauda distal do epidídimo Cb: cabeça do epidídimo; Cp: corpo do epidídimo; Ca: cauda do epidídimo; ←: região da cauda distal usada para isolamento do ducto epididimário; Cad: ducto epididimário da cauda distal do epidídimo. *Fonte: Silva Junior, 2014*

### 3.3.1 Avaliação dos efeitos *in vitro* da fluoxetina ou sertralina nas contrações da cauda distal do epidídimo

Os animais que não passaram por nenhum tipo de tratamento foram eutanasiados e segmentos da cauda distal do epidídimo foram isolados e montados em um banho de órgão isolado, conforme descrito acima. Após o período estabilização de 40 min, os tecidos foram submetidos ao KCl 80 mM por 5min ou curvas concentração-efeito cumulativas para a fenilefrina (agonista dos adrenoreceptores  $\alpha_1$ ) ou carbacol (agonista dos receptores  $M_3$ ) na ausência ou presença de concentrações crescentes de fluoxetina (1, 3 e 10  $\mu\text{M}$ ) ou sertralina (1, 3 e 10  $\mu\text{M}$ ). Cada concentração de fluoxetina ou sertralina foi pré-incubada por 40 min antes da aplicação do KCl ou da realização da curvas concentração-efeito cumulativas para os agonistas. Os parâmetros farmacológicos  $E_{\text{max}}$  (efeito máximo - corresponde à capacidade contrátil máxima induzida por um agonista) e  $pEC_{50}$  (logaritmo negativo da concentração que produz 50% do  $E_{\text{max}}$  -  $EC_{50}$  - da preparação para um determinado agonista. É um parâmetro que indica potência do agonista) foram obtidos a partir da regressão não-linear das respostas contráteis obtidas a partir das curvas concentração-efeito cumulativas para fenilefrina ou carbacol. Tais parâmetros foram usados na comparação entre as curvas dos agonistas realizadas na ausência ou presença da fluoxetina ou sertralina.

#### *3.3.2 Avaliação dos efeitos do tratamento com fluoxetina ou sertralina por 21 dias nas contrações da cauda distal do epidídimo*

Após 21 dias do tratamento com solução livre de fármaco, fluoxetina ou sertralina, os animais foram eutanasiados e segmentos do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo foram isolados para avaliação da contração espontânea e das respostas contráteis induzidas pelo agente despolarizante KCl 80 mM por 5 min ou por agonistas (fenilefrina ou carbacol). Após checar a viabilidade do tecido e posterior período de estabilização de 40 min, as contrações espontâneas da cauda distal do epidídimo dos animais controle ou tratados foram observadas por um período de 10 min para mensuração da frequência e amplitude das contrações. Em seguida, a preparação foi lavada e após novo período de estabilização de 40 min, curvas concentração-efeito cumulativas para a fenilefrina ou carbacol foram realizadas. Os parâmetros farmacológicos  $E_{max}$  e  $pEC_{50}$  foram obtidos, conforme explicado no subtópico 3.3.1, e usados para a comparação das respostas contráteis entre os grupos experimentais.

#### **3.4 Dosagem de testosterona sérica**

Ao fim dos 21 dias de tratamento, o sangue dos animais tratados ou controles foi coletado (em dois ependorfs de 2 mL) e processado (em duas etapas: na primeira etapa a centrifugação ocorreu por 15 min a 4000 rpm para a obtenção do soro. Na segunda etapa, o soro foi transferido para outro ependorf e repetimos o processo de centrifugação por 15 min a 4000 rpm para descartar a possibilidade de hemólise. No caso de decantação de hemácias após a segunda etapa do processamento, o soro era transferido para outro ependorf, assegurando o estado ideal da amostra). Em seguida, o soro foi congelado até o momento da determinação do hormônio testosterona. A dosagem de testosterona total foi realizada pelo laboratório DNA Center (Natal, Brasil) utilizando ensaio imunológico por quimioluminescência (Access Testosterone kit, Beckman Coulter - sensibilidade de 10 ng/dL).

#### 3.5 Determinação de parâmetros espermáticos

Os testículos e os epidídimos dos animais tratados com fluoxetina e sertralina, assim como os controles, foram processados para a determinação dos seguintes parâmetros espermáticos: produção diária de espermatozoides no testículo, trânsito e concentração de espermatozoides em segmentos específicos do epidídimo. Para o cálculo da produção diária de espermatozoides, as espermátides resistentes à homogeneização (estágio 19 da espermiogênese) foram determinadas como previamente descrito (ROBB; AMANN; KILLIAN, 1978). Primeiramente, o testículo foi decapsulado, pesado e homogeneizado em 5 mL de NaCl 0,9% contendo Triton X 100 0,5%, seguido de sonicação por 30 s. Após diluição (10 vezes), uma amostra foi transferida para uma câmara de Neubauer (quatro campos por animal) e as espermátides 19 contadas. Para o cálculo da produção diária de espermatozoides, o número de espermátides (por testículo) no estágio 19 foi dividido por 6,1 (se refere ao número de dias que estas espermátides estão presentes no epitélio seminífero).

O epidídimo, por sua vez, foi dividido em duas regiões: cabeça/corpo e a cauda. Cada região foi cortada em pequenos fragmentos, seguido de homogeneização em NaCl 0,9% contendo Triton X 100 0,5% (1 mL para cada 100mg da cabeça/corpo ou 200mg da cauda) e diluição (10 vezes). A contagem dos espermatozoides em cada região do epidídimo foi realizada como descrito para as espermátides 19. O tempo de trânsito espermático pelo epidídimo foi calculado dividindo o número de espermatozoides em cada porção do epidídimo pela respectiva produção diária de espermatozoides.

#### 3.6 Análise dos dados

Os dados de contração foram expressos como porcentagem da contração máxima da preparação obtida pelo KCl 80 mM (% de contração em relação ao KCl) ou gramas (g) de contração. Os valores foram apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M.). A Análise de variância (ANOVA) unidirecional (one-way) seguida pelo teste de Dunnet (na comparação de três ou mais grupos) foi usada na análise estatística entre os grupos. Em todas as análises foi adotado um valor de

$p < 0,05$ . Os resultados foram obtidos a partir de grupos experimentais contendo um número mínimo de 5 experimentos realizados em tecidos ou amostras de diferentes animais.

#### 3.7 Fármacos e reagentes

Fluoxetina (usada em experimentos *in vitro*), sertralina (usada em experimentos *in vitro*), fenilefrina e carbacol foram adquiridos da Sigma Chemical Co (St. Louis, MO, USA). A fluoxetina e sertralina usadas nos tratamentos *in vivo* foram adquiridas da Viafarma (Brasil) e Iberoquímica Farmacêutica (Brasil), respectivamente. Todos os sais usados na preparação da solução fisiológica foram adquiridos da Dinâmica (Brazil).

## **4 RESULTADOS**

---

---

Os resultados aqui apresentados foram previamente publicados por Bezerra et al. (2019) na revista “European Journal of Pharmacology” (APÊNDICE), conforme referência a seguir: Bezerra MS, Martins ABM, Trajano FMG, et al. Fluoxetine and sertraline effects on rat distal cauda epididymis contraction, sperm count and sperm transit time through epididymis. Eur J Pharmacol. 2019;865:172774. doi:10.1016/j.ejphar.2019.172774.

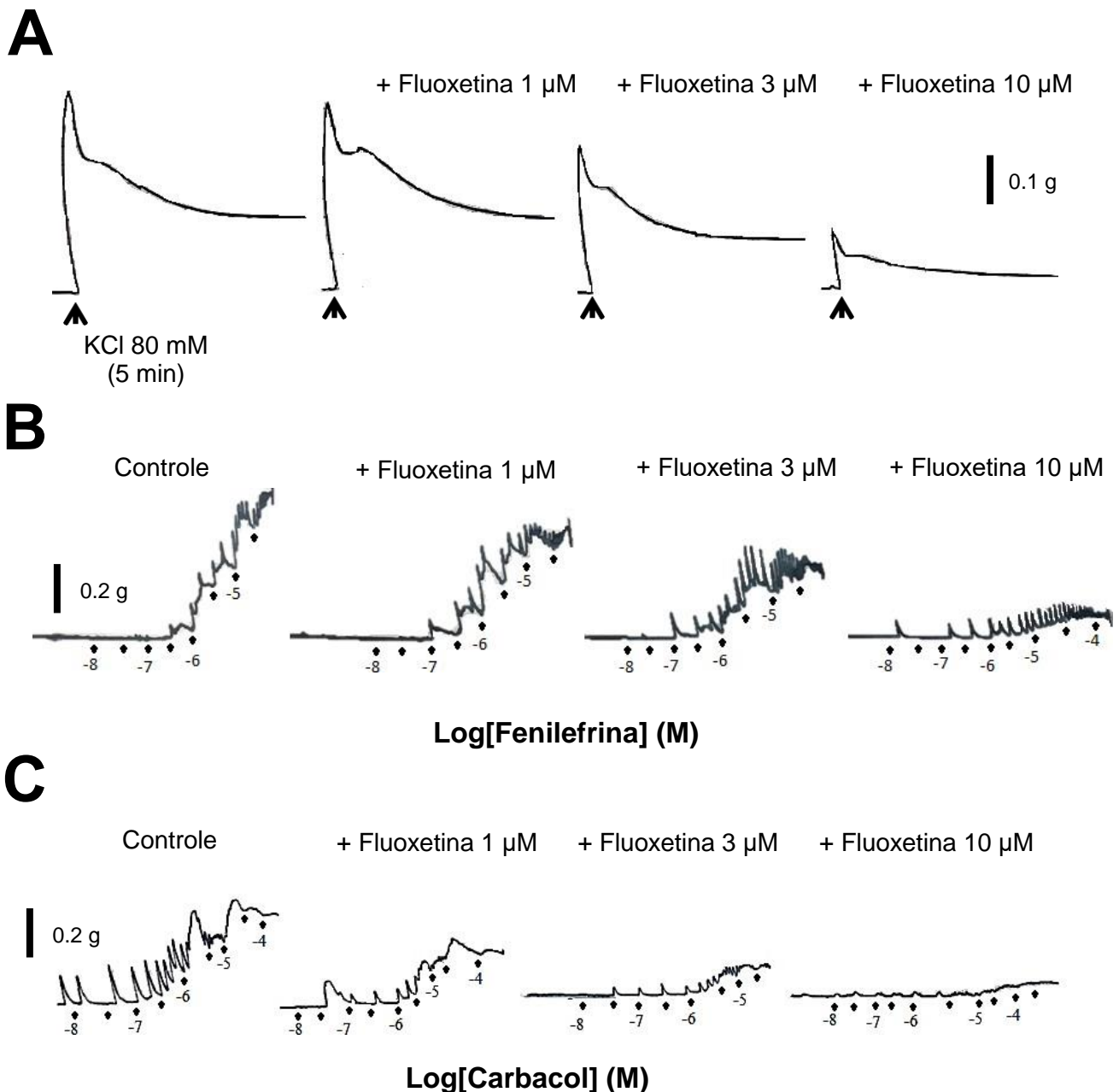
### **4.1 Efeitos *in vitro* da fluoxetina ou da sertralina nas contrações de segmentos do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo**

As figuras 07 e 08 mostram os traçados originais das contrações de segmentos do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo de rato induzidas por KCl, fenilefrina ou carbacol na ausência ou presença de fluoxetina ou sertralina (pré-incubadas por 40 min). Nestas figuras, podemos observar que tanto a fluoxetina (Figura 07) quanto a sertralina (Figura 08), em concentrações superiores a 3  $\mu\text{M}$ , apresentaram a capacidade de reduzir as contrações do ducto epididimário, independentemente do agente contrátil utilizado.

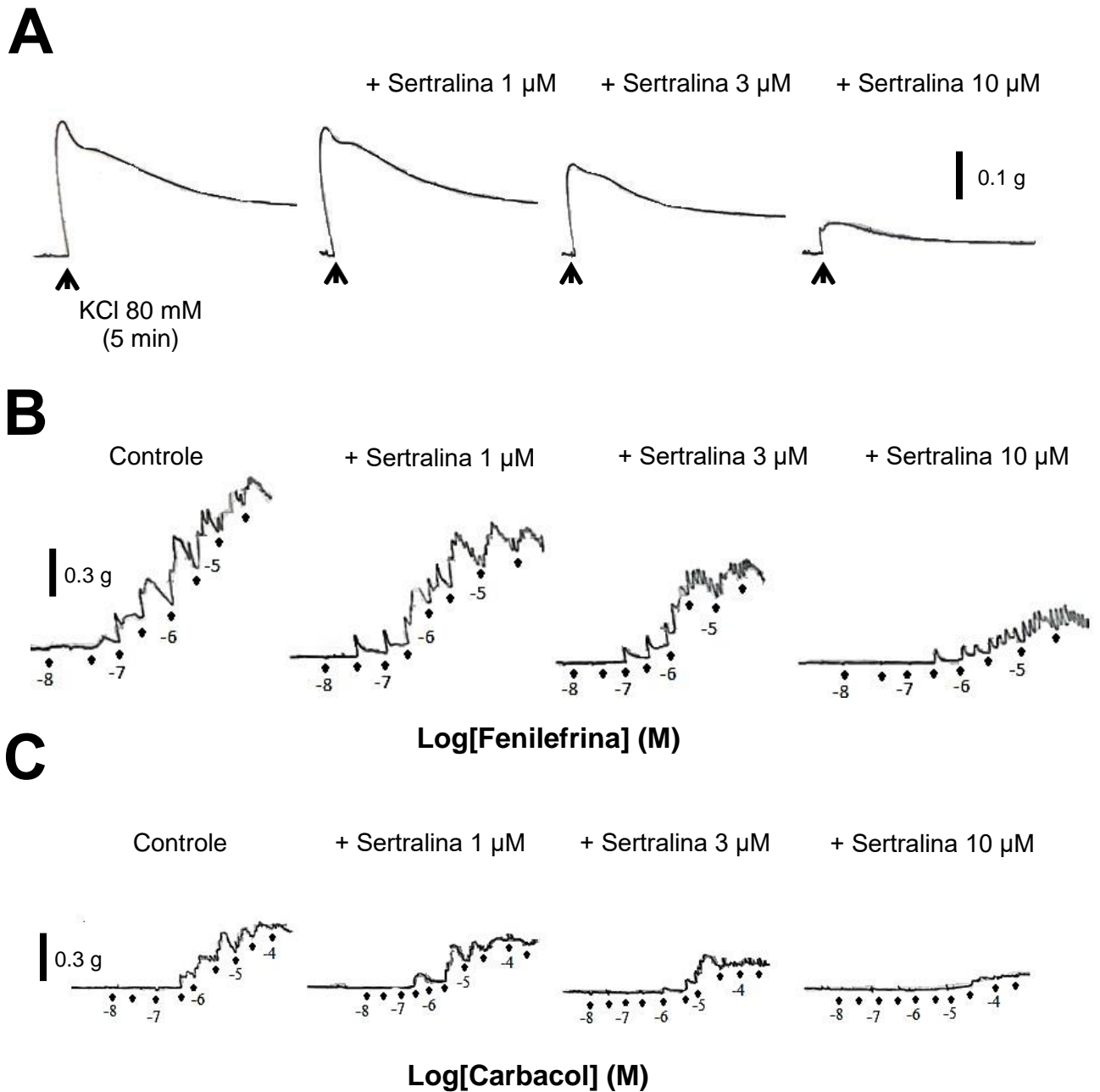
A pré-incubação com fluoxetina 3 e 10  $\mu\text{M}$  diminuiu a contração do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo induzida por KCl em cerca de 30 e 70%, respectivamente (Figura 09, painel A). A fluoxetina 3 e 10  $\mu\text{M}$ , pré-incubada por 40 min, também foi capaz de diminuir significativamente o  $E_{\text{max}}$  para fenilefrina (~50 e ~80%, respectivamente) (Figura 09, painel B; Tabela 1) ou carbacol (~50 e ~75%, respectivamente) (Figura 09, painel C; Tabela 1). Também observamos que a fenilefrina foi 3 vezes mais potente em tecidos pré-expostos à fluoxetina 1  $\mu\text{M}$  (Figura 09, painel B; Tabela 1). Por outro lado, fenilefrina e carbacol foram 5,5 e 7,5 vezes, respectivamente, menos potentes na presença de fluoxetina 10  $\mu\text{M}$  (Figura 09, painéis B e C; Tabela 1).

Por sua vez, os tecidos pré-expostos à sertralina 3 e 10  $\mu\text{M}$  apresentaram uma diminuição das contrações da cauda distal do epidídimo induzidas por uma concentração única de KCl em cerca de 40 e 75%, respectivamente (Figura 09, painel D). A pré-incubação da sertralina 3 e 10  $\mu\text{M}$  reduziu o  $E_{\text{max}}$  da fenilefrina (~35 e ~70%, respectivamente) (Figura 09, painel E; Tabela 2) ou carbacol (~50 e ~80%,

respectivamente) (Figura 09, painel F; Tabela 2). A potência da fenilefrina e do carbacol foi reduzida em 3 e 5 vezes, respectivamente, após a pré-incubação da sertralina 10  $\mu$ M (Figura 09, painéis E e F; Tabela 2). A sertralina 1  $\mu$ M não induziu alterações nas contrações do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo induzidas por KCl, fenilefrina ou carbacol (Figura 09; Tabela 2).

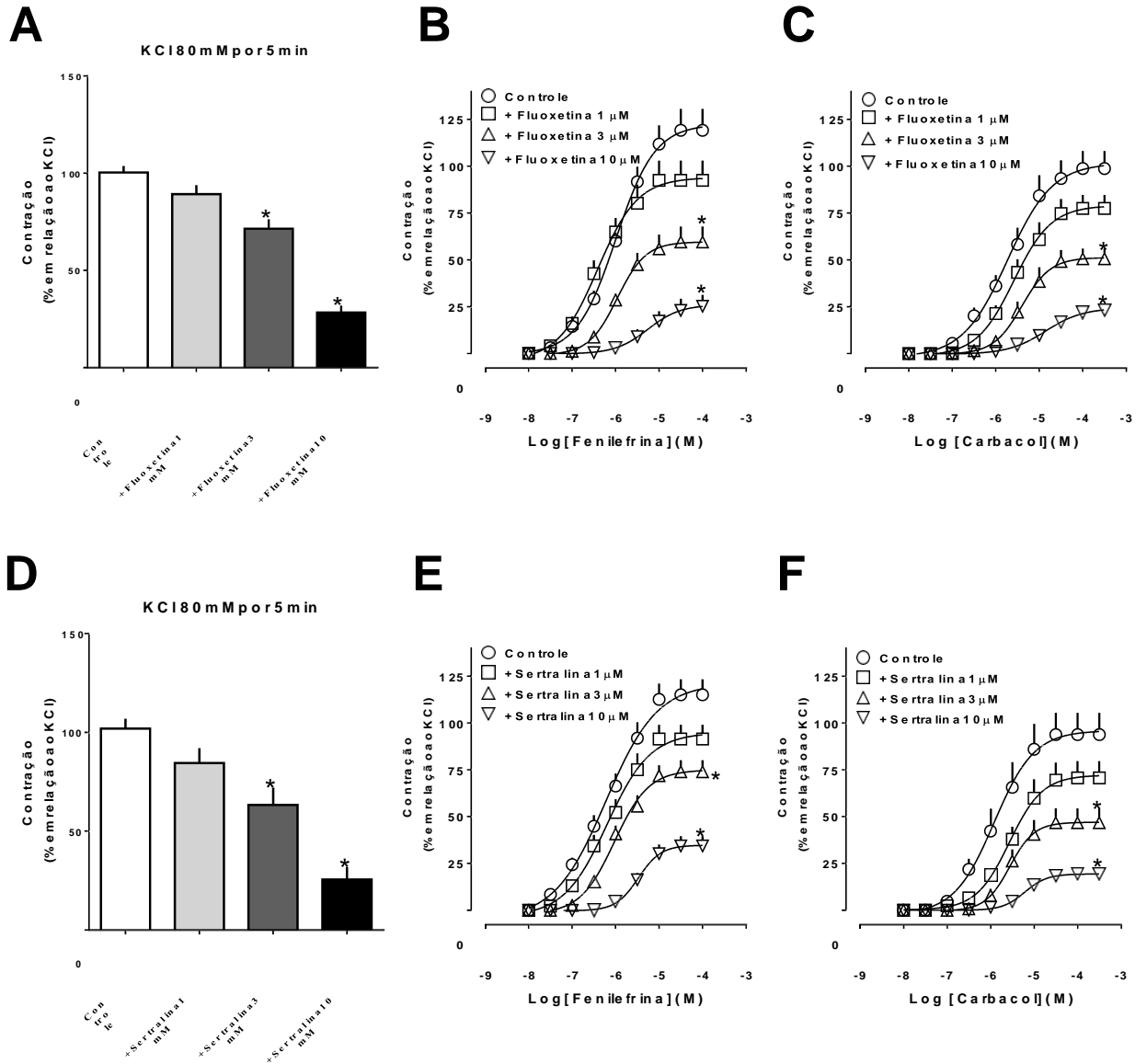


**Figura 07** - Traçados originais das contrações de segmentos do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo de ratos induzidas por KCl 80 mM por 5 min (painel A) ou pela adição cumulativa de concentrações crescentes de fenilefrina (painel B) ou carbacol (painel C) na ausência (controle) ou presença de fluoxetina 1, 3 ou 10  $\mu$ M.



**Figura 08** - Traçados originais das contrações de segmentos do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo de ratos induzidas por KCl 80 mM por 5 min (painel A) ou pela adição cumulativa de concentrações crescentes de fenilefrina (painel B) ou carbacol (painel C) na ausência (controle) ou presença de sertralina 1, 3 ou 10  $\mu\text{M}$ .





**Figura 09** – Efeitos da fluoxetina (painéis A, B e C) ou sertralina (painéis D, E e F) nas contrações do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo de rato induzidas por KCl (painéis A e D), fenilefrina (painéis B e E) ou carbacol (painéis C e F). Cada barra ou ponto representa a média  $\pm$  EPM de no mínimo 5 experimentos independentes realizados em tecidos oriundos de diferentes animais. \* $P < 0,05$  em relação a resposta contrátil máxima do controle (Bezerra et al., 2019).

## 4 RESULTADOS

**Tabela 1-** Efeito máximo ( $E_{max}$ ) (% da contração do KCl) e valores de  $pEC_{50}$  para fenilefrina ou carbacol na ausência (controle) ou presença de fluoxetina em segmentos do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo (Bezerra et al., 2019).

<b>Parâmetros Farmacológicos</b>		
<b>Fenilefrina</b>	<b>E<sub>max</sub></b>	<b>pEC<sub>50</sub></b>
Controle (n=6)	119,2 ± 11,5	6,0 ± 0,09
+ Fluoxetina 1 µM (n=6)	92,5 ± 10,5	6,4 ± 0,09*
+ Fluoxetina 3 µM (n=6)	59,6 ± 8,2*	5,9 ± 0,04
+ Fluoxetina 10 µM (n=6)	25,2 ± 6,0*	5,2 ± 0,15*
<b>Carbacol</b>		
Controle (n=6)	98,8 ± 9,4	5,7 ± 0,14
+ Fluoxetina 1 µM (n=6)	77,5 ± 7,1	5,5 ± 0,13
+ Fluoxetina 3 µM (n=6)	50,6 ± 5,6*	5,3 ± 0,12
+ Fluoxetina 10 µM (n=6)	23,2 ± 2,2*	4,9 ± 0,13*

Valores são média ±EPM. n=número de experimentos \*P<0,05 em relação ao controle.

## 4 RESULTADOS

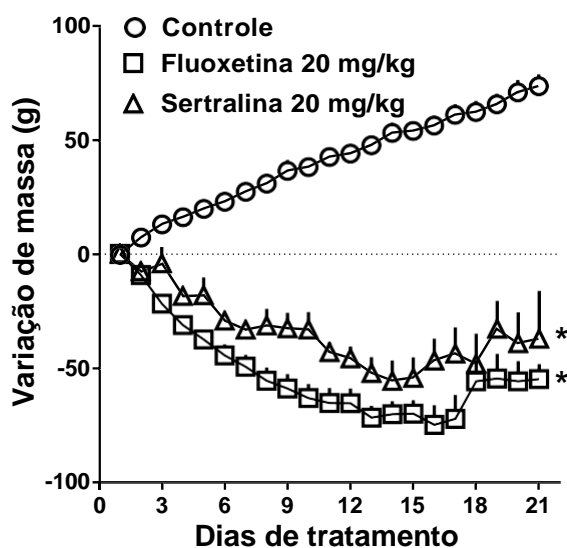
**Tabela 2** - Efeito máximo ( $E_{max}$ ) (% da contração do KCl) e valores de  $pEC_{50}$  para fenilefrina ou carbacol na ausência (controle) ou presença de sertralina em segmentos do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo (Bezerra et al., 2019).

Parâmetros Farmacológicos		
Fenilefrina	$E_{max}$	$pEC_{50}$
Controle (n=6)	115,0 ± 8,3	6,2 ± 0,09
+ Sertralina 1 $\mu$ M (n=6)	91,5 ± 7,5	6,2 ± 0,10
+ Sertralina 3 $\mu$ M (n=6)	73,9 ± 6,2*	6,0 ± 0,09
+ Sertralina 10 $\mu$ M (n=6)	34,4 ± 5,2*	5,5 ± 0,10*
Carbacol		
Controle (n=5)	93,8 ± 11,6	5,9 ± 0,13
+ Sertralina 1 $\mu$ M (n=5)	70,7 ± 8,9	5,5 ± 0,07
+ Sertralina 3 $\mu$ M (n=5)	46,7 ± 7,6*	5,5 ± 0,10
+ Sertralina 10 $\mu$ M (n=5)	19,3 ± 1,3*	5,2 ± 0,10*

Valores são média  $\pm$ EPM. n=número de experimentos \*P<0,05 em relação ao controle.

#### 4.2 Efeitos do tratamento com fluoxetina ou sertralina por 21 dias na massa dos animais e órgãos reprodutivos

Os animais tratados com solução livre de fármaco apresentaram um ganho de massa de  $73,57 \pm 5,17$  g ( $n = 14$ ) após 21 dias do tratamento. Por outro lado, ratos tratados com fluoxetina ou sertralina apresentaram, ao fim do tratamento, uma perda significativa de massa ( $P < 0,05$  comparado ao controle) de  $-54,45 \pm 6,56$  g ( $n = 11$ ) e  $-38,8 \pm 13,41$  g ( $n = 12$ ), respectivamente (Figura 10). Além disso, observamos que o tratamento *in vivo* com fluoxetina e sertralina por 21 dias foi capaz de diminuir significativamente a massa do ducto deferente, vesícula seminal, testículo e epidídimo, quando comparado ao grupo controle (Tabela 3).



**Figura 10** – Variação de massa dos animais submetidos ao tratamento *in vivo* com solução livre de fármaco (controle), fluoxetina ou sertralina 20 mg/Kg, i.p. por 21 dias. Cada ponto representa a média  $\pm$  EPM de 11-14 animais. \* $P < 0,05$  em relação ao controle no 21º dia de tratamento (Bezerra et al., 2019).

## 4 RESULTADOS

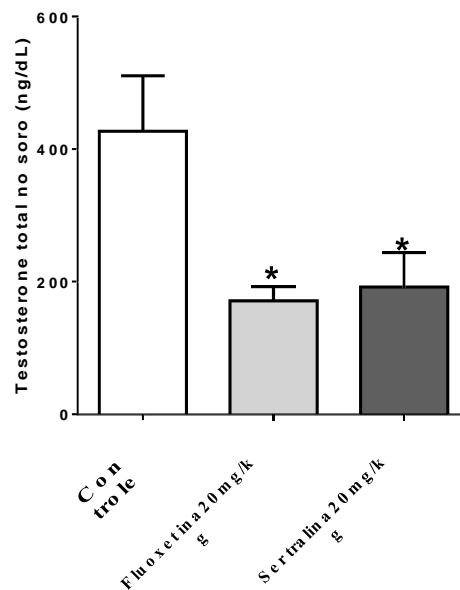
**Tabela 3** – Massa dos órgãos reprodutores de animais submetidos ao tratamento *in vivo* com solução livre de fármaco (controle), fluoxetina ou sertralina 20 mg/Kg, i.p. por 21 dias (Bezerra et al., 2019).

<b>Massa do órgão</b>	<b>Controle</b>	<b>Fluoxetina 20 mg/kg</b>	<b>Sertralina 20 mg/kg</b>
Ducto deferente (g)	0,074 ± 0,002 (9)	0,045 ± 0,002* (9)	0,046 ± 0,002* (9)
Vesícula seminal (g)	0,45 ± 0,18 (9)	0,32 ± 0,02* (8)	0,27 ± 0,19* (8)
Testículo (g)	1,55 ± 0,017 (9)	1,34 ± 0,03* (9)	1,36 ± 0,03* (9)
Epidídimo (g)	0,50 ± 0,009 (6)	0,44 ± 0,009* (8)	0,33 ± 0,016* (7)

Valores são média ±EPM (número de experimentos). \*P<0,05 em relação ao controle

### 4.3 Efeitos do tratamento com fluoxetina ou sertralina por 21 dias sobre os níveis séricos de testosterona e parâmetros espermáticos

O tratamento *in vivo* com fluoxetina ou sertralina durante 21 dias foi capaz de reduzir os níveis séricos de testosterona total em aproximadamente 60 e 55%, respectivamente, quando comparados ao controle (Figura 11). Ademais, ratos submetidos ao tratamento com fluoxetina ou sertralina por 21 dias apresentaram uma redução significativa no número de espermatides 19 no testículo e, conseqüentemente, uma produção diária de espermatozoides significativamente reduzida (Tabela 4). Também foi encontrada uma redução significativa no número de espermatozoides presentes na cabeça/corpo e cauda do epidídimo de animais tratados com fluoxetina e sertralina. O tratamento com fluoxetina ou sertralina foi capaz de acelerar o tempo de trânsito espermático na cauda do epidídimo, sem alterar o tempo de trânsito dos espermatozoides na região da cabeça/corpo do epidídimo (Tabela 4).



**Figura 11** – Níveis séricos de testosterona em ratos submetidos ao tratamento *in vivo* com solução livre de fármaco (controle), fluoxetina ou sertralina 20 mg/Kg, .i.p., por 21 dias. Cada barra apresenta a média  $\pm$  EPM de 5-6 experimentos. \* $P < 0,05$  em relação ao controle (Bezerra et al., 2019).

**Tabela 4** – Parâmetros espermáticos de animais submetidos ao tratamento *in vivo* com solução livre de fármaco (controle), fluoxetina ou sertralina 20 mg/Kg, i.p. por 21 dias (Bezerra et al., 2019).

Parâmetros	Grupos Experimentais		
	Controle (n=6)	Fluoxetina 20 mg/kg (n=6)	Sertralina 20 mg/kg (n=7)
<b>Testículo</b>			
Número de espermátides, x10 <sup>6</sup> /testículo	250,4 ± 20,6	155,8 ± 20,2*	167,7 ± 14,9*
Número de espermátides, x10 <sup>6</sup> /g/testículo	293,8 ± 57,75	128,6 ± 14,7*	150,7 ± 13,3*
Produção diária de espermatozoides	41,0 ± 3,37	25,5 ± 3,31*	27,5 ± 2,44*
<b>Cabeça/corpo do epidídimo</b>			
Número de espermatozoides, x10 <sup>6</sup> /órgão	90,4 ± 20,8	32,2 ± 4,56*	44,15 ± 4,06*
Número de espermatozoides, x10 <sup>7</sup> /g/órgão	43,4 ± 7,05	18,07 ± 1,54*	18,66 ± 2,36*
Trânsito de espermatozoides (dias)	2,17 ± 0,36	1,72 ± 0,36	1,65 ± 0,16
<b>Cauda do epidídimo</b>			
Número de espermatozoides, x10 <sup>6</sup> /órgão	163,6 ± 16,7	54,71 ± 5,89*	58,13 ± 6,48*
Número de espermatozoides, x10 <sup>7</sup> /g/órgão	63,4 ± 5,90	24,09 ± 2,64*	24,91 ± 3,02*
Trânsito de espermatozoides (dias)	4,12 ± 0,51	2,39 ± 0,42*	2,21 ± 0,29*

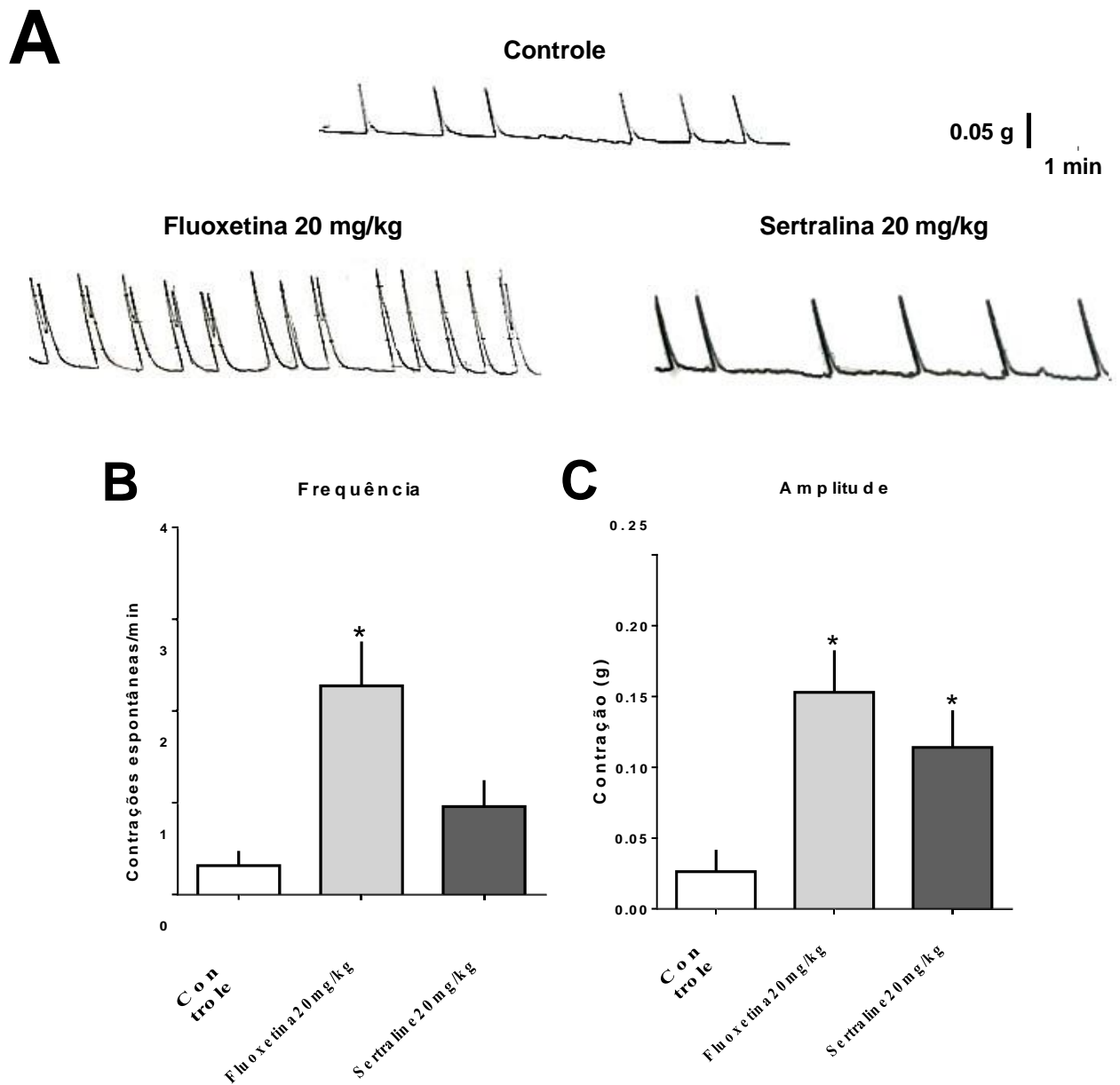
Valores são média ±EPM. n= número de experimentos. \*P<0,05 em relação ao controle.

### 4.4 Efeito do tratamento com fluoxetina ou sertralina por 21 dias nas contrações de segmentos do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo

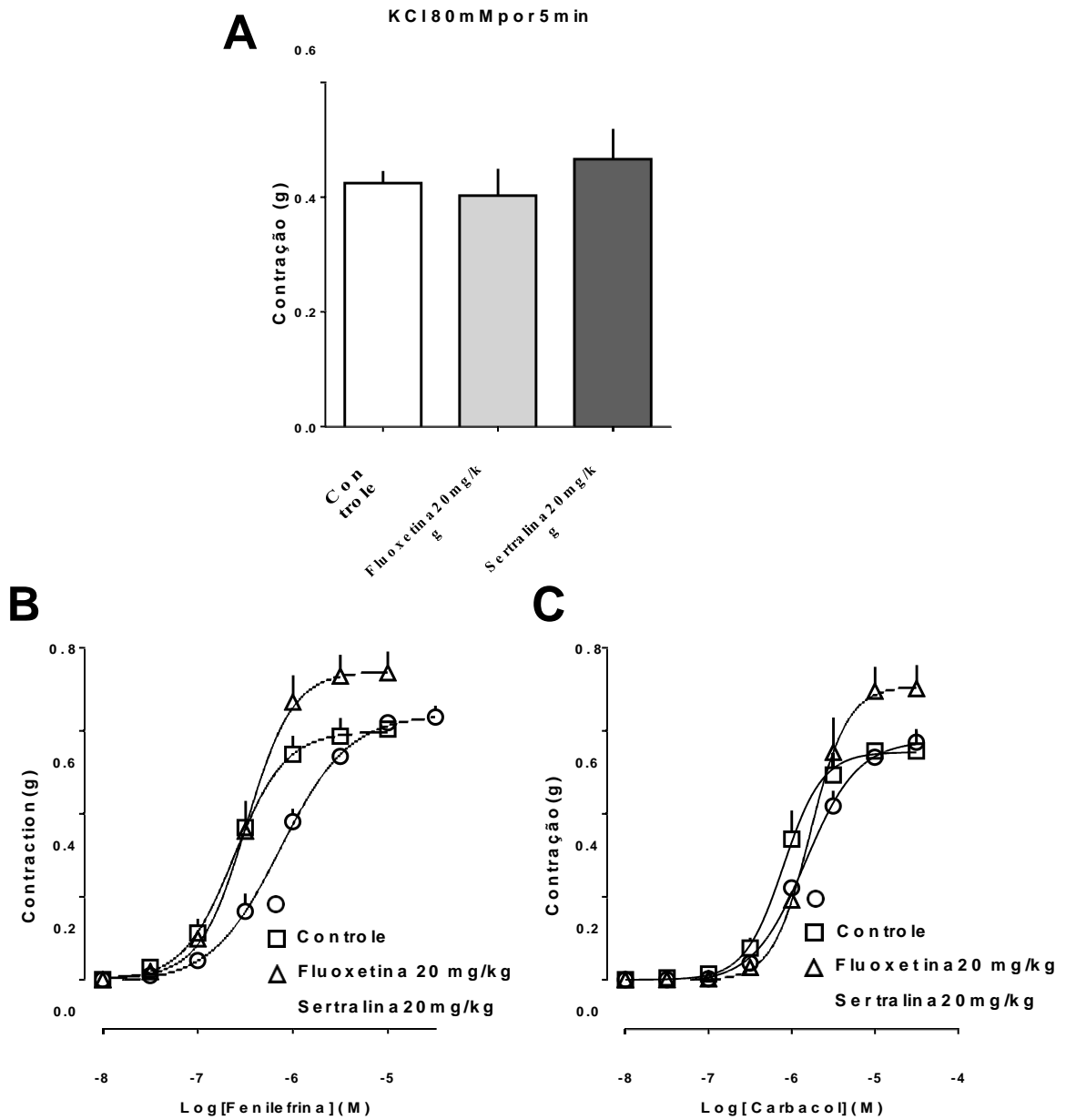
A figura 12 (painel A) mostra os efeitos do tratamento com fluoxetina ou sertralina por 21 dias nas contrações espontâneas do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo de ratos. Foi observado que os animais submetidos ao tratamento com fluoxetina apresentaram um aumento significativo da frequência (Controle:  $0,31 \pm 0,15$ ,  $n = 10$ ; Fluoxetina:  $2,27 \pm 0,48$ ,  $n = 8$ ;  $P < 0,05$ ) e amplitude (Controle:  $0,026 \pm 0,015$ ,  $n = 10$ ; Fluoxetina:  $0,15 \pm 0,02$ ,  $n = 8$ ;  $P < 0,05$ ) das contrações espontâneas do ducto epididimário (Figure 12, painéis B e C). Por outro lado, o tratamento com sertralina por 21 dias foi capaz de induzir um aumento da amplitude (Controle:  $0,026 \pm 0,015$ ,  $n = 10$ ; Sertralina:  $0,11 \pm 0,02$ ,  $n = 8$ ;  $P < 0,05$ ) sem, no entanto, afetar a frequência (Controle:  $0,31 \pm 0,15$ ,  $n = 10$ ; Sertralina:  $0,95 \pm 0,28$ ,  $n = 8$ ;  $P > 0,05$ ) das contrações espontâneas do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo de rato (Figura 12, painéis B e C)

Os efeitos do tratamento com fluoxetina ou sertralina por 21 dias também foram verificados nas contrações do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo induzidas por KCl (agente despolarizante), fenilefrina (agonista dos adrenoreceptores  $\alpha_1$ ) ou carbacol (agonista dos receptores muscarínicos) (Figura 13). Verificamos que as contrações do ducto epididimário induzidas por KCl não foram alteradas pelo tratamento com fluoxetina ou sertralina (Figura 13, painel A). No entanto, as contrações induzidas por fenilefrina foram 3 e 2,5 vezes mais potentes no ducto epididimário da cauda distal do epidídimo de ratos tratados com fluoxetina ou sertralina, respectivamente (Figura 13, painel B; Tabela 5). Ainda, foi observado que a potência do carbacol não foi alterada após o tratamento com fluoxetina ou com sertralina (Figura 18, painel C; Tabela 5). Além disso, não foi encontrado nenhuma alteração significativa no efeito contrátil máximo ( $E_{max}$ ) da fenilefrina ou carbacol no ducto epididimário de animais tratados, quando comparados ao controle (Figura 13, painel C; Tabela 5),





**Figura 12** - Frequência e amplitude das contrações espontâneas do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo de ratos submetidos ao tratamento *in vivo* com solução livre de fármaco, fluoxetina ou sertralina (20 mg/Kg, i.p.) por 21 dias. No painel, A observa-se os traçados originais das contrações espontâneas do ducto epididimário do grupo controle ou nos animais submetidos ao tratamento com fluoxetina ou sertralina. Os painéis B e C apresentam os graficos de barra para os valores de frequência (painel B) ou amplitude (painel C) da contrações espontâneas do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo de rato nos grupos experimentais. Cada barra representa a média  $\pm$  EPM de 8-10 experimentos realizados em diferentes animais. \* $P < 0,05$  em relação ao controle (Bezerra et al., 2019).



**Figura 13-** Contrações de segmentos do ducto epididíamrio da cauda distal do epidídimo induzidas por KCl (Painel A), fenilefrina (Painel B) ou carbacol (Painel C) em ratos submetidos ao tratamento *in vivo* com solução livre de fármaco (controle), fluoxetina ou sertralina (20 mg/Kg, i.p.) por 21 dias. Cada barra (painel A) ou ponto (painéis B e C) representam a média  $\pm$ EPM de 8-10 experimentos realizados em diferentes animais (Bezerra et al., 2019).

## 4 RESULTADOS

**Tabela 5** - Efeito máximo ( $E_{max}$ ) (g de contração) e valores de  $pEC_{50}$  para fenilefrina ou carbacol no ducto epididimário da cauda distal do epidídimo de ratos submetidos ao tratamento *in vivo* com veículo (controle), fluoxetina ou sertralina (20 mg/Kg, i.p.) por 21 dias (Bezerra et al., 2019).

Parâmetros Farmacológicos		
Fenilefrina	$E_{max}$	$pEC_{50}$
Controle (n=10)	0,63 ± 0,03	6,16 ± 0,09
Fluoxetina 20 mg/kg (n=8)	0,60 ± 0,04	6,60 ± 0,08*
Sertralina 20 mg/kg (n=9)	0,74 ± 0,05	6,46 ± 0,05*
Carbacol		
Controle (n=10)	0,57 ± 0,03	5,81 ± 0,07
Fluoxetina 20 mg/kg (n=8)	0,55 ± 0,05	6,05 ± 0,08
Sertralina 20 mg/kg (n=9)	0,70 ± 0,05	5,75 ± 0,06

Valores são média ±EPM. n= número de experimentos. \*P<0,05 em relação ao controle.

#### 4.5 Resumo dos resultados

Os resultados mais importantes podem ser observados na tabela 6.

**Tabela 6** – Resumo dos resultados mais importantes observados para os efeitos *in vitro* da fluoxetina ou sertralina nas contrações do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo de ratos ou após 21 dias de tratamento com ambos os fármacos em parâmetros espermáticos ou na contração do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo de rato.

Parâmetros observados	FLUOXETINA	SERTRALINA
<i>In vitro</i>		
Contrações induzidas por KCl 80 mM por 5 min	↓	↓
E <sub>max</sub> da contrações induzidas por fenilefrina ou carbabol	↓	↓
<i>Após tratamento por 21 dias</i>		
Produção diária de Espermatozoides	↓	↓
Reserva de espermatozoides na cabeça/corpo do epidídimo	↓	↓
Reserva de espermatozoides na cauda do epidídimo	↓	↓
Trânsito de espermatozoides na cabeça/corpo do epidídimo	-	-
Trânsito de espermatozoides na cauda distal do epidídimo	Acelerado	Acelerado
Níveis de testosterona	↓	↓
Contrações espontâneas da cauda distal do epidídimo	↑	↑
Potência da fenilefrina para induzir contrações do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo	↑	↑

Legenda: (↓) reduzido; (↑) aumentado; (-) sem efeito.

## 5 DISCUSSÃO

---

---

O presente trabalho demonstrou que a fluoxetina ou sertralina, inibidores seletivos da recaptação de serotonina amplamente empregados no manejo clínico da depressão, foram capazes de produzir efeitos nas contrações de segmentos do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo e parâmetros espermáticos de ratos Wistar (Tabela 6). De fato, observamos que a fluoxetina ou sertralina *in vitro* ( $>10^{-6}$ M, pré-incubadas por 30 min) foram capazes de prejudicar as contrações de segmentos do ducto epididimário induzidas pelo agente despolarizante KCl e por agonistas adrenérgicos (fenilefrina) ou colinérgicos (carbacol). Ademais, o tratamento com fluoxetina ou sertralina por 21 dias diminuiu a produção diária dos espermatozoides, a contagem de espermatozoides em diferentes partes do epidídimo e acelerou o tempo de trânsito espermático na região da cauda do epidídimo. Discutiremos adiante que tais efeitos podem ser consequência: (i) da redução dos níveis de testosterona observada em animais tratados com fluoxetina ou sertralina; (ii) do aumento da frequência e amplitude das contrações espontâneas em segmentos do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo de ratos submetidos ao tratamento com fluoxetina ou sertralina; e (iii) do aumento da potência de agonistas adrenérgicos em induzir contrações do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo de ratos tratados.

Como já mencionado anteriormente, o transporte de espermatozoides ao longo do epidídimo e o processo de maturação deste gameta (aquisição da motilidade e da capacidade de fertilizar o ovócito) são eventos que dependem da atividade motora das células de músculo liso presentes em toda a extensão do ducto epididimário. Desta forma, a regulação precisa da função motora epididimária resulta no correto, transporte, armazenamento e maturação dos espermatozoides, estando diretamente relacionado a fertilidade masculina (DACHEUX; DACHEUX, 2014; ELFGEN et al., 2018). São vários os mecanismos responsáveis pela regulação da atividade motora do músculo liso no epidídimo, como recentemente revisado por Elfggen et al. (2018), destacando-se: influxo de cálcio por canais de cálcio voltagem dependentes do tipo L; inervação adrenérgica e colinérgica, com envolvimento dos adrenoceptores  $\alpha_1$  e receptores muscarínicos  $M_3$ ; mecanismos hormonais (testosterona, estrógenos, vasopressina, ocitocina); fatores epiteliais (endotelina-1, NO, serotonina, prostaglandinas, angiotensina, etc.) e fatores espermáticos ou luminiais. Portanto, é de se esperar que qualquer agente externo capaz de interferir na atividade motora do

epidídimo ou nos processos regulatórios acima descritos, pode levar a alterações na maturação, transporte e armazenamento dos espermatozoides, gerando prejuízos na quantidade e qualidade destes gametas no ejaculado.

Vários estudos demonstraram que tanto a fluoxetina como a sertralina são fármacos capazes de prejudicar a contração da musculatura lisa de diferentes órgãos (ducto deferente, bexiga, artéria mesentérica e arteríolas) por um mecanismo diferente da inibição da recaptação de serotonina e relacionado ao bloqueio de canais de cálcio voltagem dependentes do tipo L (BUSCH; WALD; BORDA, 1999; UNGVARI; PACHER; KOLLER, 2000; OZYAVUZ; KALYONCU; KARAOGLU, 2004; PEDROSO et al., 2017; UNO et al., 2017). Diante deste perfil farmacológico da fluoxetina ou sertralina, conjecturamos que ambos os fármacos também exercessem efeitos negativos sobre a contração do ducto epididimário. De fato, verificamos que a fluoxetina ou sertralina em concentrações superiores a 3  $\mu\text{M}$  reduziram de forma inespecífica o efeito contrátil do agente despolarizante KCl e dos agonistas fenilefrina ou carbacol. O mecanismo exato de tal efeito não foi investigado em nosso estudo. No entanto, é possível que os efeitos negativos da fluoxetina ou sertralina quando observados *in vitro* sobre a contração do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo seja consequência de um provável bloqueio dos canais de cálcio voltagem dependentes do tipo L, conforme discutido e demonstrado em estudos anteriores avaliando tecidos ou células isoladas (BUSCH; WALD; BORDA, 1999; PARK et al., 1999; DEÁK et al., 2000; UNGVARI; PACHER; KOLLER, 2000; OZYAVUZ; KALYONCU; KARAOGLU, 2004; LEE et al., 2012; PEDROSO et al., 2017; UNO et al., 2017).

Verificamos também que as contrações de segmentos do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo de ratos induzidas por fenilefrina, mas não carbacol, foram potencializadas na presença de fluoxetina 1  $\mu\text{M}$ . Embora seja comercializado como um inibidor seletivo da recaptação de serotonina, a fluoxetina também inibe o mecanismo de recaptação neuronal para noradrenalina com um  $K_D$  estimado de 1,5  $\mu\text{M}$  (WENTHUR; BENNETT; LINDSLEY, 2014). Além disso, considerando que a fenilefrina é também um substrato da recaptação neuronal de noradrenalina (BIRMINGHAM, 1967), supomos que o deslocamento da curva de fenilefrina para a esquerda (aumento de potência) seja o resultado da capacidade da fluoxetina em interferir no sistema de recaptação neuronal da noradrenalina no epidídimo de rato.

Efeito similar foi observado em ducto deferente de rato, onde a fluoxetina 0,1  $\mu\text{M}$  aumentou os efeitos contráteis produzidos por baixas concentrações do agonista adrenérgico noradrenalina de forma similar a cocaína ou desipramina (inibidores da recaptação de noradrenalina) (BUSCH et al., 2000).

Por outro lado, fluoxetina e sertralina na concentração de 10  $\mu\text{M}$  deslocaram as curvas de fenilefrina ou carbacol para a direita, como demonstrado por uma significativa redução da potência para ambos os agonistas. Tal fenômeno pode ser explicado por um possível antagonismo dos adrenoceptores  $\alpha_1$  e dos receptores muscarínicos  $M_3$  provocado pela fluoxetina ou sertralina, uma vez que estudos de radioligação demonstraram que estes fármacos apresentam afinidade para ambos os receptores (Fluoxetina -  $K_D$  2,2  $\mu\text{M}$  em adrenoceptores  $\alpha_1$  e  $K_D$  1  $\mu\text{M}$  em receptores  $M_3$ ; Sertralina -  $K_i$  0,2  $\mu\text{M}$  em adrenoceptores  $\alpha_1$  e  $K_i$  1,3  $\mu\text{M}$  em receptores  $M_3$ ) (WENTHUR; BENNETT; LINDSLEY, 2014; SIAFIS; PAPAISIS, 2018) em uma faixa de concentração compatível com os efeitos observados em banho de órgão isolado. Vale destacar que ao contrário da fluoxetina 1  $\mu\text{M}$ , sertralina 1  $\mu\text{M}$  não foi capaz de potencializar as contrações do ducto epididimário induzidas por fenilefrina. Embora a sertralina também seja capaz de inibir o sistema de recaptação neuronal de noradrenalina ( $K_i$  estimado de 0,4 a 0,8  $\mu\text{M}$ ) (SANCHEZ; REINES; MONTGOMERY, 2014), a sua afinidade para os adrenoceptores  $\alpha_1$  na faixa de 0,2  $\mu\text{M}$  (SIAFIS; PAPAISIS, 2018) poderia contrabalancear o aumento da potência da fenilefrina induzida pelo possível bloqueio da captação neuronal de catecolaminas. Ressaltamos ainda que os efeitos *in vitro* da fluoxetina ou sertralina na contração da cauda distal do epidídimo foram observados em concentrações superiores a 1  $\mu\text{M}$ , fazendo com que seu impacto clínico seja questionado. Isso também nos motivou a avaliar os efeitos do tratamento *in vivo* com ambos os fármacos sobre o epidídimo.

Os animais submetidos ao tratamento com fluoxetina ou sertralina na dosagem de 20 mg/kg por 21 dias apresentaram uma redução significativa nos níveis séricos de testosterona e na produção de espermatozoides. Estes resultados estão de acordo com trabalhos anteriores, os quais descreveram que tanto a fluoxetina como a sertralina agem como disruptores endócrinos, reduzindo a síntese de testosterona em roedores ou linhagens celulares (JAHROMY; MOGHADAM, 2014; HANSEN et al., 2017; MUNKBOEL et al., 2018; CÂMARA et al., 2019). Além disso, esta ação antiandrogênica da fluoxetina ou sertralina está diretamente relacionada a alterações



na espermatogênese, caracterizada por uma produção deficitária de espermatozoides nos túbulos seminíferos (BATAINEH; DARADKA, 2007; ERDEMIR et al., 2014; AGGARWAL et al., 2019; CÂMARA et al., 2019). Ainda não há consenso quanto ao mecanismo pelo qual a fluoxetina ou sertralina induzem seus efeitos antiandrogênicos, embora alguns estudos tenham demonstrado que ambos os fármacos são capazes de inibir importantes enzimas envolvidas no processo da esteroidogênese (HANSEN et al., 2017; MUNKBOEL et al., 2018). A redução dos níveis de testosterona também pode explicar a diminuição significativa da massa corporal e dos órgãos reprodutores nos animais submetidos ao tratamento com fluoxetina ou sertralina. No entanto, destacamos que os inibidores seletivos da recaptação de serotonina, em especial a fluoxetina ou sertralina, podem levar a perda de massa corpórea em roedores por outros mecanismos, os quais não foram objetos de estudo neste trabalho (SILVERSTEIN-METZLER et al., 2016; SCABIA et al., 2018).

Os animais tratados por 21 dias com fluoxetina ou sertralina também apresentaram uma redução significativa na reserva de espermatozoides nas diferentes partes do epidídimo. Este efeito pode estar relacionado à redução da produção de testosterona e a consequente diminuição na produção de espermatozoides, assim como também pode ser uma consequência da alteração do transporte de espermatozoides ao longo do epidídimo, conforme demonstrado por diversos estudos (FERNANDEZ et al., 2008; BELLENTANI et al., 2011; BAGOJI et al., 2017; CARIATI et al., 2019). De fato, observamos uma aceleração no trânsito de espermatozoides ao longo da cauda do epidídimo de ratos submetidos ao tratamento com fluoxetina ou sertralina.

É descrito que alterações no transporte de espermatozoides ao longo do epidídimo estão relacionados em sua maioria a perturbações na atividade motora da musculatura lisa do ducto epididimário (ELFGEN et al., 2018). Assim, decidimos avaliar os efeitos do tratamento com fluoxetina ou sertralina nas contrações espontâneas ou induzidas farmacologicamente em segmentos do ducto epididimário isolados da cauda distal do epidídimo e montados em um banho de órgão isolado. Observamos que a administração de fluoxetina ou sertralina por 21 dias produziu um aumento da frequência e da amplitude das contrações espontâneas do ducto epididimário da cauda distal do epidídimo e aumentou a potência da fenilefrina (agonista adrenérgico) em induzir contrações deste tecido sem, no entanto, alterar as

contrações induzidas por carbacol (agonista colinérgico) ou pelo agente despolarizante KCl.

As contrações espontâneas do ducto epididimário são essenciais para a propulsão dos espermatozoides ao longo do epidídimo e para o processo de maturação deste gameta (ELFGEN et al., 2018). A auto-ritmicidade do ducto epididimário é um evento que depende da produção epitelial de prostaglandina  $PG_{2\alpha}$  (MEWE et al., 2006) e é regulado por diversos fatores, entre eles a testosterona (ELFGEN et al., 2018). É sabido que a testosterona exerce importantes efeitos modulatórios sobre a atividade motora do trato geniturinário. Por exemplo, a castração cirúrgica e o conseqüente déficit de testosterona induzem um aumento das contrações espontâneas em ducto deferente e vesícula seminal de roedores (Hib et al., 1985; MacDonald and McGrath, 1980). Por sua vez, Din-Udom et al. (1985) descreveram um aumento da amplitude das contrações espontâneas do ducto epididimário da cabeça/corpo do epidídimo e da pressão intraluminal basal no ducto epididimário do corpo e cauda do epidídimo de ratos castrados. Portanto, sugerimos que o aumento do trânsito de espermatozoides na região da cauda do epidídimo seja o resultado do aumento das contrações espontâneas do ducto epididimário desta região, sendo este último efeito, possivelmente ocasionado pela redução dos níveis de testosterona nos animais tratados com fluoxetina e sertralina.

Além das contrações espontâneas, a atividade motora produzida por agonistas adrenérgicos ou colinérgicos via adrenoceptores  $\alpha_1$  e receptores muscarínicos  $M_3$ , respectivamente, também desempenham um importante papel no transporte de espermatozoides pelo epidídimo (DACHEUX; DACHEUX, 2014; ELFGEN et al., 2018). Assim, o aumento da potência da fenilefrina (agonista adrenérgico) em produzir contrações no ducto epididimário da cauda distal do epidídimo de ratos tratados com fluoxetina ou sertralina poderia também estar associado à aceleração do tempo de trânsito espermático na região da cauda do epidídimo. Um aumento da potência para agonistas adrenérgicos foi também demonstrado no ducto deferente de ratos tratados cronicamente com fluoxetina (BUSCH; WALD; BORDA, 1999) ou sertralina (OZYAVUZ; KALYONCU; KARAOGLU, 2004). O mecanismo pelo qual tal efeito ocorre ainda é desconhecido, embora tenha-se sugerido que a fluoxetina ou sertralina possam causar supersensibilidade a agonistas adrenérgicos pela depleção do conteúdo neuronal de noradrenalina causada pelo bloqueio persistente do sistema de

recaptação de catecolaminas. No entanto, nenhum estudo ao nosso conhecimento avaliou esta hipótese.

## **6 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

---

Em face dos nossos resultados, podemos concluir que o impacto clínico dos efeitos depressores da fluoxetina e sertralina observados *in vitro* sobre a contração do ducto epididimário isolado da cauda distal do epidídimo são discutíveis, visto que são encontrados em concentrações superiores a 3  $\mu\text{M}$  e não são mimetizados pelo tratamento *in vivo*. Por sua vez, o tratamento *in vivo* com fluoxetina e sertralina por 21 dias aumentou as contrações espontâneas e a potência da fenilefrina, um agonista adrenérgico. Estas alterações na atividade motora do ducto epididimário podem estar associadas à redução dos níveis séricos de testosterona e a uma supersensibilidade adrenérgica da musculatura lisa epididimária, resultando na aceleração do trânsito espermático e, conseqüentemente, na baixa contagem de espermatozoides no epidídimo. Por fim, o epidídimo se mostra um importante alvo farmacológico para os efeitos antifertilidade de fármacos, seja por uma ação direta na musculatura lisa ou indireta, por alterar os mecanismos modulatórios da atividade motora epididimária.

## **7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

---

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

1. AGGARWAL, A. et al. Effect of Fluoxetine on Kidney of Albino Rats- A Histological Study. **JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH**, v. 13, n. 10, p. AC05–AC08, 2019. Disponível em: <[https://jcdr.net/article\\_fulltext.asp?issn=0973-709x&year=2019&volume=13&issue=10&page=AC05&issn=0973-709x&id=13232](https://jcdr.net/article_fulltext.asp?issn=0973-709x&year=2019&volume=13&issue=10&page=AC05&issn=0973-709x&id=13232)>.
2. AKASHEH, G. et al. Comparison of the Effect of Sertraline With Behavioral Therapy on Semen Parameters in Men With Primary Premature Ejaculation. **Urology**, v. 83, n. 4, p. 800–804, abr. 2014. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0090429513015367>>.
3. ALZHRANI, H. A. S. Sister chromatid exchanges and sperm abnormalities produced by antidepressant drug fluoxetine in mouse treated in vivo. **European review for medical and pharmacological sciences**, v. 16, n. 15, p. 2154–61, dez. 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23280034>>.
4. ANDRADE, M. de F.; ANDRADE, R. C. G. de; SANTOS, V. dos. Prescrição de psicotrópicos: avaliação das informações contidas em receitas e notificações. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 40, p. 471–479, 2004. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-93322004000400004&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-93322004000400004&nrm=iso)>.
5. ATLI, O. et al. Sertraline-induced reproductive toxicity in male rats: evaluation of possible underlying mechanisms. **Asian journal of andrology**, v. 19, n. 6, p. 672–679, 2017. Disponível em: <<http://www.ajandrology.com/text.asp?2017/19/6/672/192637>>.
6. BAGOJI, I. B. et al. Sub-chronic indomethacin treatment and its effect on the male reproductive system of albino rats: possible protective role of black tea extract. **Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology**, v. 28, n. 3, p.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

- 201–207, 1 jan. 2017. Disponível em: <<http://www.degruyter.com/view/j/jbcpp.2017.28.issue-3/jbcpp-2016-0168/jbcpp-2016-0168.xml>>.
7. BATAINEH, H. N.; DARADKA, T. Effects of long-term use of fluoxetine on fertility parameters in adult male rats. **Neuro endocrinology letters**, v. 28, n. 3, p. 321–5, jun. 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17627270>>.
8. BAUMGARTEN, H. G.; HOLSTEIN, A. F.; ROSENGREN, E. Arrangement, ultrastructure, and adrenergic innervation of smooth musculature of the ductuli efferentes, ductus epididymidis and ductus deferens of man. **Z Zellforsch Mikrosk Anat**, v. 120, n. 1, p. 37–79, 1971. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5569060>>.
9. BELLENTANI, F. F. et al. Acceleration of sperm transit time and reduction of sperm reserves in the epididymis of rats exposed to sibutramine. **J Androl**, v. 32, n. 6, p. 718–724, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21764897>>.
10. BEZERRA, M. S. et al. Fluoxetine and sertraline effects on rat distal cauda epididymis contraction, sperm count and sperm transit time trough epididymis. **European Journal of Pharmacology**, v. 865, p. 172774, dez. 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014299919307265>>.
11. BIRMINGHAM, A. T. THE UPTAKE AND STORAGE OF NORADRENALINE IN SYMPATHETIC NERVES. By Leslie L. Iversen. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 19, n. 10, p. 703–704, out. 1967. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.2042-7158.1967.tb08019.x>>.
12. BORGES, C. S. et al. Slimmer or Fertile? Pharmacological Mechanisms Involved in Reduced Sperm Quality and Fertility in Rats Exposed to the Anorexigen Sibutramine. **PLoS ONE**, v. 8, n. 6, p. e66091, 12 jun. 2013. Disponível em:



<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23776614>>.

13. BUSCH, L. et al. FLUOXETINE MODULATES NOREPINEPHRINE CONTRACTILE EFFECT ON RAT VAS DEFERENS. **Pharmacological Research**, v. 41, n. 1, p. 39–45, jan. 2000. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1043661899905595>>.
14. BUSCH, L.; WALD, M.; BORDA, E. Long-term treatment with fluoxetine associates with peripheral effects on rat vas deferens contractility. **Life Sci**, v. 64, n. 10, p. PL117-23, 1999. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10096441>>.
15. CÂMARA, M. L. et al. Fluoxetine-induced androgenic failure impairs the seminiferous tubules integrity and increases ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase L1 (UCHL1): Possible androgenic control of UCHL1 in germ cell death? **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 109, p. 1126–1139, jan. 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0753332218356361>>.
16. CANPOLAT, S. et al. Studies on the reproductive effects of chronic treatment with agomelatine in the rat. **Eur J Pharmacol**, v. 770, p. 33–39, 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26643170>>.
17. CARIATI, F. et al. “Bisphenol a: an emerging threat to male fertility”. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 17, n. 1, p. 6, 20 dez. 2019. Disponível em: <<https://rbej.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12958-018-0447-6>>.
18. CASCADE, E.; KALALI, A. H.; KENNEDY, S. H. Real-World Data on SSRI Antidepressant Side Effects. **Psychiatry (Edmont)**, v. 6, n. 2, p. 16–18, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19724743>>.
19. CORNWALL, G. A. New insights into epididymal biology and function. **Hum**

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

- Reprod Update**, v. 15, n. 2, p. 213–227, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19136456>>.
20. COUPLAND, C. et al. Antidepressant use and risk of suicide and attempted suicide or self harm in people aged 20 to 64: cohort study using a primary care database. **BMJ**, v. 350, p. h517, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25693810>>.
21. DA SILVA, E. D. et al. Epididymal contraction and sperm parameters are affected by clonidine. **Andrology**, v. 2, n. 6, p. 955–966, nov. 2014. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/andr.283>>.
22. DACHEUX, J.-L.; DACHEUX, F. New insights into epididymal function in relation to sperm maturation. **REPRODUCTION**, v. 147, n. 2, p. R27–R42, fev. 2014. Disponível em: <<https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/147/2/R27.xml>>.
23. DEÁK, F. et al. Inhibition of voltage-gated calcium channels by fluoxetine in rat hippocampal pyramidal cells. **Neuropharmacology**, v. 39, n. 6, p. 1029–1036, maio 2000. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0028390899002063>>.
24. DIN-UDOM, A.; SUJARIT, S.; PHOLPRAMOOL, C. Short-term effect of androgen deprivation on intraluminal pressure and contractility of the rat epididymis. **J Reprod Fertil**, v. 73, n. 2, p. 405–410, 1985. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3989794>>.
25. DROBNIS, E. Z.; NANGIA, A. K. **Impacts of Medications on Male Fertility**. Cham: Springer International Publishing, v. 1034, p. XIII, 325, 2017.
26. DURAIRAJANAYAGAM, D. Lifestyle causes of male infertility. **Arab Journal of Urology**, v. 16, n. 1, p. 10–20, 18 mar. 2018. Disponível em:

<<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1016/j.aju.2017.12.004>>.

27. ELFGEN, V. et al. Contractility of the epididymal duct: function, regulation and potential drug effects. **Reproduction**, v. 156, n. 4, p. R125–R141, out. 2018. Disponível em: <<https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/156/4/REP-17-0754.xml>>.
28. ERDEMIR, F. et al. The effect of sertraline, paroxetine, fluoxetine and escitalopram on testicular tissue and oxidative stress parameters in rats. **Int Braz J Urol**, v. 40, n. 1, p. 100–108, 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24642156>>.
29. FERNANDEZ, C. D. et al. Effects of altered epididymal sperm transit time on sperm quality. **Int J Androl**, v. 31, n. 4, p. 427–437, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17822422>>.
30. FOLDES, R. G.; BEDFORD, J. M. Biology of the scrotum. I. Temperature and androgen as determinants of the sperm storage capacity of the rat cauda epididymidis. **Biol Reprod**, v. 26, n. 4, p. 673–682, 1982. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7082731>>.
31. FRANK H. NETTER. Summary for Policymakers. In: INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE (Ed.). **Climate Change 2013 - The Physical Science Basis**. Cambridge: Cambridge University Press, 2019. p. 1–30.
32. GOODNICK, P. J.; GOLDSTEIN, B. J. Selective serotonin reuptake inhibitors in affective disorders--I. Basic pharmacology. **J Psychopharmacol**, v. 12, n. 3 Suppl B, p. S5-20, 1998. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9808077>>.
33. GUERRA, M. T. et al. Maternal exposure to butyl paraben impairs testicular

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

- structure and sperm quality on male rats. **Environ Toxicol**, v. 32, n. 4, p. 1273–1289, 2017. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27444704>>.
34. HANSEN, C. H. et al. The six most widely used selective serotonin reuptake inhibitors decrease androgens and increase estrogens in the H295R cell line. **Toxicology in Vitro**, v. 41, p. 1–11, jun. 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0887233317300243>>.
35. HAYASHI, T.; MIYATA, A.; YAMADA, T. The impact of commonly prescribed drugs on male fertility. **Hum Fertil (Camb)**, v. 11, n. 3, p. 191–196, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18608524>>.
36. HENDRICK, V. et al. Antidepressant medications, mood and male fertility. **Psychoneuroendocrinology**, v. 25, n. 1, p. 37–51, 2000. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10633534>>.
37. HIB, J.; PONZIO, R. O.; VILAR, O. Contractile behaviour of rat epididymis after sympathectomy produced by the administration of guanethidine. **Andrologia**, v. 11, n. 6, p. 461–465, 1979. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/532986>>.
38. HINTON, B. T.; DOTT, H. M.; SETCHELL, B. P. Measurement of the motility of rat spermatozoa collected by micropuncture from the testis and from different regions along the epididymis. **J Reprod Fertil**, v. 55, n. 1, p. 167–172, 1979. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/423154>>.
39. HONG, L.-Z. et al. Chronic fluoxetine treatment enhances sympathetic activities associated with abnormality of baroreflex function in conscious normal rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 811, p. 164–170, set. 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014299917304272>>.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

40. JAHROMY, M. H.; MOGHADAM, A. A. Effects of Sertraline on Sperm Motility, Number and Viability and Its Relation to Blood Levels of Testosterone, FSH and LH in Adult Male Mice. **Advances in Sexual Medicine**, v. 04, n. 02, p. 17–24, 2014. Disponível em: <<http://www.scirp.org/journal/doi.aspx?DOI=10.4236/asm.2014.42004>>.
41. KUMAR, N.; SINGH, A. Trends of male factor infertility, an important cause of infertility: A review of literature. **Journal of Human Reproductive Sciences**, v. 8, n. 4, p. 191, 2015. Disponível em: <<http://www.jhrsonline.org/text.asp?2015/8/4/191/170370>>.
42. LEE, H. A. et al. Wide spectrum of inhibitory effects of sertraline on cardiac ion channels. **Korean J Physiol Pharmacol**, v. 16, n. 5, p. 327–332, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23118556>>.
43. MEWE, M. et al. Mechanisms regulating spontaneous contractions in the bovine epididymal duct. **Biol Reprod**, v. 75, n. 4, p. 651–659, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16855213>>.
44. MONTEJO, A. L. et al. Incidence of sexual dysfunction associated with antidepressant agents: a prospective multicenter study of 1022 outpatients. Spanish Working Group for the Study of Psychotropic-Related Sexual Dysfunction. **J Clin Psychiatry**, v. 62 Suppl 3, p. 10–21, 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11229449>>.
45. MUELLER, A. et al. Contractile Effects of Serotonin (5-HT) in the Rat Cauda Epididymis: Expression and Functional Characterization of 5-HT Receptors. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 369, n. 1, p. 98–106, abr. 2019. Disponível em: <<http://jpet.aspetjournals.org/lookup/doi/10.1124/jpet.118.254110>>.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

46. MUNKBOEL, C. H. et al. Sertraline Suppresses Testis and Adrenal Steroid Production and Steroidogenic Gene Expression While Increasing LH in Plasma of Male Rats Resulting in Compensatory Hypogonadism. **Toxicological Sciences**, v. 163, n. 2, p. 609–619, 1 jun. 2018. Disponível em: <<https://academic.oup.com/toxsci/article/163/2/609/4947780>>.
47. NEILL, J. D. et al. **Knobil and Neill's Physiology of Reproduction**. Academic Press, 4th. ed. Elsevier, 2684 p., 2015.
48. OMOLAOYE, T. S.; SKOSANA, B. T.; DU PLESSIS, S. S. Diabetes mellitus-induction: Effect of different streptozotocin doses on male reproductive parameters. **Acta Histochem**, v. 120, n. 2, p. 103–109, 2018. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29277349>>.
49. OZYAVUZ, R.; KALYONCU, N. I.; KARAOGLU, S. Long-term use of sertraline leads to alterations in contractility of rat isolated vas deferens. **Urol Res**, v. 32, n. 1, p. 20–24, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14579107>>.
50. PACINI, E. S. A. et al. Contraction of Rat Cauda Epididymis Smooth Muscle to  $\alpha$  1 -Adrenoceptor Activation Is Mediated by  $\alpha$  1A -Adrenoceptors. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 366, n. 1, p. 21–28, jul. 2018. Disponível em: <<http://jpet.aspetjournals.org/lookup/doi/10.1124/jpet.117.246710>>.
51. PARK, K. S. et al. Fluoxetine inhibits L-type  $\text{Ca}^{2+}$  and transient outward  $\text{K}^{+}$  currents in rat ventricular myocytes. **Yonsei Med J**, v. 40, n. 2, p. 144–151, 1999. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10333718>>.
52. PEDROSO, S. P. et al. Effects of in vitro, acute and chronic treatment with fluoxetine on the sympathetic neurotransmission of rat vas deferens. **Auton**

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

- Neurosci**, v. 203, p. 17–24, 2017. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27887927>>.
53. PHOLPRAMOO, C.; TRIPHROM, N.; DIN-UDOM, A. Intraluminal pressures in the seminiferous tubules and in different regions of the epididymis in the rat. **J Reprod Fertil**, v. 71, n. 1, p. 173–179, 1984. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6726678>>.
54. POMPE, S. V et al. Drug use among men with unfulfilled wish to father children: a retrospective analysis and discussion of specific drug classes. **Pharmacoepidemiol Drug Saf**, v. 25, n. 6, p. 668–677, 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26932728>>.
55. PRATT, L. A.; BRODY, D. J.; GU, Q. Antidepressant use in persons aged 12 and over: United States, 2005-2008. **NCHS Data Brief**, n. 76, p. 1–8, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22617183>>.
56. PRATT, L. A.; BRODY, D. J.; GU, Q. Antidepressant Use Among Persons Aged 12 and Over:United States,2011-2014. **NCHS Data Brief**, n. 283, p. 1–8, 2017. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29155679>>.
57. QUEIROZ, D. B. et al. Alpha1-adrenoceptor subtypes in rat epididymis and the effects of sexual maturation. **Biol Reprod**, v. 66, n. 2, p. 508–515, 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11804969>>.
58. RICKER, D. D. The autonomic innervation of the epididymis: its effects on epididymal function and fertility. **J Androl**, v. 19, n. 1, p. 1–4, 1998. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9537285>>.
59. ROBB, G. W.; AMANN, R. P.; KILLIAN, G. J. Daily sperm production and epididymal sperm reserves of pubertal and adult rats. **Reproduction**, v. 54, n. 1,

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

- p. 103–107, 1 set. 1978. Disponível em:  
<<https://rep.bioscientifica.com/doi/10.1530/jrf.0.0540103>>.
60. ROLLAND, M. et al. Decline in semen concentration and morphology in a sample of 26 609 men close to general population between 1989 and 2005 in France. **Human Reproduction**, v. 28, n. 2, p. 462–470, fev. 2013. Disponível em:  
<<https://academic.oup.com/humrep/article-lookup/doi/10.1093/humrep/des415>>.
61. SAFARINEJAD, M. R. Sperm DNA damage and semen quality impairment after treatment with selective serotonin reuptake inhibitors detected using semen analysis and sperm chromatin structure assay. **J Urol**, v. 180, n. 5, p. 2124–2128, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18804223>>.
62. SANCHEZ, C.; REINES, E. H.; MONTGOMERY, S. A. A comparative review of escitalopram, paroxetine, and sertraline. **International Clinical Psychopharmacology**, v. 29, n. 4, p. 185–196, jul. 2014. Disponível em:  
<<http://journals.lww.com/00004850-201407000-00001>>.
63. SCABIA, G. et al. The antidepressant fluoxetine acts on energy balance and leptin sensitivity via BDNF. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1781, 29 dez. 2018. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/s41598-018-19886-x>>.
64. SHORES, M. Short-term sertraline treatment suppresses sympathetic nervous system activity in healthy human subjects. **Psychoneuroendocrinology**, v. 26, n. 4, p. 433–439, maio 2001. Disponível em:  
<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306453001000026>>.
65. SIAFIS, S.; PAPAZISIS, G. Detecting a potential safety signal of antidepressants and type 2 diabetes: a pharmacovigilance-pharmacodynamic study. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 84, n. 10, p. 2405–2414, out. 2018. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/bcp.13699>>.



66. SILVA, E. J. et al. Impact of adrenalectomy and dexamethasone treatment on testicular morphology and sperm parameters in rats: insights into the adrenal control of male reproduction. **Andrology**, v. 2, n. 6, p. 835–846, 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24925687>>.
67. SILVERSTEIN-METZLER, M. G. et al. Sertraline inhibits increases in body fat and carbohydrate dysregulation in adult female cynomolgus monkeys. **Psychoneuroendocrinology**, v. 68, p. 29–38, jun. 2016. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306453016300427>>.
68. SUJARIT, S.; PHOLPRAMOOL, C. Enhancement of sperm transport through the rat epididymis after castration. **J Reprod Fertil**, v. 74, n. 2, p. 497–502, 1985. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4045817>>.
69. SULLIVAN, R.; MIEUSSET, R. The human epididymis: its function in sperm maturation. **Hum Reprod Update**, v. 22, n. 5, p. 574–587, 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27307387>>.
70. TANRIKUT, C.; SCHLEGEL, P. N. Antidepressant-associated changes in semen parameters. **Urology**, v. 69, n. 1, p. 185 e5–7, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17270655>>.
71. TIRADENTES, R. V. et al. Effects of acute administration of selective serotonin reuptake inhibitors on sympathetic nerve activity. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 47, n. 7, p. 554–559, 30 maio 2014. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-879X2014000700554&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-879X2014000700554&lng=en&tlng=en)>.
72. TRENQUE, T. et al. Serotonin reuptake inhibitors and hyperprolactinaemia: a case/non-case study in the French pharmacovigilance database. **Drug Saf**, v. 34,

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

- n. 12, p. 1161–1166, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22077504>>.
73. TURNER, T. T. De Graaf's thread: the human epididymis. **J Androl**, v. 29, n. 3, p. 237–250, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18222912>>.
74. UNGVARI, Z.; PACHER, P.; KOLLER, A. Serotonin Reuptake Inhibitor Fluoxetine Decreases Arteriolar Myogenic Tone by Reducing Smooth Muscle [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 35, n. 6, p. 849–854, jun. 2000. Disponível em: <<http://journals.lww.com/00005344-200006000-00004>>.
75. UNO, J. et al. Inhibitory Effects of Antidepressants on Acetylcholine-Induced Contractions in Isolated Guinea Pig Urinary Bladder Smooth Muscle. **Pharmacology**, v. 99, n. 1–2, p. 89–98, 2017. Disponível em: <<https://www.karger.com/Article/FullText/452221>>.
76. VENTURA, S.; PENNEFATHER, J. N. Sympathetic co-transmission to the cauda epididymis of the rat: characterization of postjunctional adrenoceptors and purinoceptors. **Br J Pharmacol**, v. 102, n. 2, p. 540–544, 1991. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1849774>>.
77. WENTHUR, C. J.; BENNETT, M. R.; LINDSLEY, C. W. Classics in Chemical Neuroscience: Fluoxetine (Prozac). **ACS Chemical Neuroscience**, v. 5, n. 1, p. 14–23, 15 jan. 2014. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/cn400186j>>.

# **ANEXO**



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA**

Av. Salgado Filho, S/N – CEP: 59072-970 – Natal / RN  
Fone: (84) 9229-6491 / e-mail: [ceua@reitoria.ufrn.br](mailto:ceua@reitoria.ufrn.br)



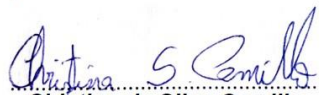
**CERTIFICADO**

Natal (RN), 02 de setembro de 2018.

Certificamos que a proposta intitulada “**Efeito dos antidepressivos fluoxetina, sertralina e agomelatina sobre parâmetros espermáticos e na contração do epidídimo de rato**”, protocolo 058/2018, **CERTIFICADO nº 131.058/2018**, sob a responsabilidade de **Edilson Dantas da Silva Júnior** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei n.º 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto n.º 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), foi aprovada, após adequações, pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS da Universidade Federal do Rio Grande do Norte – CEUA/UFRN.

<b>Vigência do Projeto</b>	<b>Setembro 2021</b>					
<b>RELATÓRIO</b>	<b>OUTUBRO 2021</b>					
<b>Espécie</b>	<b>Linhagem</b>	<b>Idade</b>	<b>Peso aprox.</b>	<b>Quantidade</b>		
				<b>M</b>	<b>F</b>	<b>Total</b>
<i>Rattus norvegicus</i>	Wistar	60 dias	200-300 gramas	<b>90</b>	<b>-</b>	<b>90</b>
<b>Origem</b>	<b>Biotério Central - UFRN</b>					
<b>Manutenção</b>	<b>Biotério do Depto de Biofísica e Farmacologia – UFRN</b>					

Informamos ainda que, segundo o Cap. 2, Art. 13, do Regimento Interno desta CEUA, é função do professor/pesquisador responsável pelo projeto a **elaboração de relatório** de acompanhamento que deverá ser entregue tão logo a pesquisa seja concluída. **O descumprimento desta norma poderá inviabilizar a submissão de projetos futuros.**

  
**Chistina da Silva Camillo**  
Coordenadora da CEUA-UFRN

# APÊNDICE



Contents lists available at ScienceDirect

European Journal of Pharmacology

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/ejphar](http://www.elsevier.com/locate/ejphar)

Full length article

## Fluoxetine and sertraline effects on rat distal cauda epididymis contraction, sperm count and sperm transit time trough epididymis

Mayara Samala Bezerra<sup>a,1</sup>, Ana Beatriz Melo Martins<sup>a,1</sup>, Francisco Mateus Gonçalves Trajano<sup>a</sup>, Talles Henrique de Araújo Pontes<sup>a</sup>, Luana Talinne da Costa Gomes<sup>a</sup>, Elaine Cristina Gavioli<sup>b</sup>, Edilson Dantas da Silva Junior<sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup> Mode of Drug Action Laboratory, Federal University of Rio Grande do Norte, Natal, Rio Grande do Norte, Brazil

<sup>b</sup> Department of Biophysics and Pharmacology, Federal University of Rio Grande do Norte, Natal, Rio Grande do Norte, Brazil

### ARTICLE INFO

#### Keywords:

Fluoxetine

Sertraline

Distal cauda epididymis contraction

Sperm count

Epididymal sperm transit time

### ABSTRACT

Fluoxetine and sertraline are antidepressants drugs capable to impair male fertility by decreasing the number of sperm cells in the ejaculate. However, the mechanism underlying these effects is still not fully understood. It is also reported that alterations in epididymis contraction induced by different drugs affect the number of sperm cells, leading to male fertility alterations. Therefore, this study aimed to investigate if both fluoxetine and sertraline could affect the rat epididymis contraction, altering the sperm transit and/or sperm count trough rat epididymis. *In vitro* effects of fluoxetine and sertraline (1, 3 and 10  $\mu$ M) were evaluated in isolated distal cauda epididymis of rats by pharmacological experiments. The effects of long-term treatment with fluoxetine and sertraline (20 mg/kg, i.p., 21 days) were also checked on distal cauda epididymis contractions, serum testosterone levels, sperm production, sperm reserves and sperm transit time trough rat epididymis. *In vitro* fluoxetine and sertraline (> 3  $\mu$ M) impaired the contractions induced by KCl, phenylephrine or carbachol although fluoxetine 1  $\mu$ M potentiate the phenylephrine-induced contractions. Long-term *in vivo* treatment with fluoxetine and sertraline promoted: (a) an enhancement of rat distal cauda spontaneous contractions; (b) a potentiation of phenylephrine-induced contractions; (c) a decreased in serum testosterone levels; and (d) a diminished daily sperm production, sperm reserves trough epididymis and sperm transit time in rat cauda epididymis. In conclusion, the alteration in the motor activity of epididymis could be associated to the low sperm count in this organ and accelerated transit time trough epididymal cauda of rats.



## Fluoxetine and sertraline effects on rat distal cauda epididymis contraction, sperm count and sperm transit time trough epididymis

#### Author:

Mayara Samala Bezerra, Ana Beatriz Melo Martins, Francisco Mateus Gonçalves Trajano, Talles Henrique de Araújo Pontes, Luana Talinne da Costa Gomes, Elaine Cristina Gavioli, Edilson Dantas da Silva Junior

Publication: European Journal of Pharmacology

Publisher: Elsevier

Date: Available online 4 November 2019

© 2019 Elsevier B.V. All rights reserved.

<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.172774>