



MORFOMETRIA DE TÚBULOS SEMINÍFEROS DE RATOS WISTAR TRATADOS COM DOXICICLINA

Janaina da SILVA¹; Fernanda C. R. DIAS¹; Verônica A. SIMAN¹; Viviane G. S. MOURO¹; Eduardo M. DAMASCENO¹; Mariáuria M. SARANDY¹; Rômulo D. NOVAES¹; Reggiani V. GONÇALVES¹; Sérgio L. P. da MATTA¹

RESUMO

Doxiciclina é um bacteriostático semissintético. Poucos trabalhos estabelecem relações entre o uso de antibióticos e seus efeitos na reprodução. A utilização de duas concentrações de Doxiciclina, 10 e 30 mg/kg, por 21 dias, interferiu nos parâmetros morfométricos tubulares, apresentando um aumento de 20% no peso corporal do C1 em relação ao controle o que refletiu em uma redução de 20% do IES. Análises quantitativas tubulares devem ser realizadas para descartar danos à espermatogênese.

INTRODUÇÃO

Os antibióticos são capazes de inibir o crescimento ou causar a morte de fungos ou bactérias. Esses compostos podem ser naturais ou sintéticos, e são classificados como bactericidas quando causam a morte da bactéria, e bacteriostáticos quando promovem a inibição do crescimento microbiano (WALSH, 2003). Dentre os antibióticos naturais estão as Tetraciclinas, muito eficazes no controle de uma ampla gama de bactérias, sejam elas aeróbicas ou anaeróbicas (PATRICK et al., 1995; WRIGHT et al., 2003).

Dentro da família das Tetraciclinas encontra-se a Doxiciclina, um derivado semissintético, que se diferencia dos outros membros deste grupo por promover uma maior penetração nos fluidos e tecidos corporais (TROY et al., 1990). Além

¹ Universidade Federal de Viçosa. Viçosa/MG. Email: janaina.silva2@ufv.br; fernandaribeiro.dias@hotmail.com; vsiman.bio@gmail.com; vivimouro@yahoo.com.br; edumdamasceno@hotmail.com; mariauriasarandy@gmail.com; romulo.novaes@ufv.br; reggysvilela@yahoo.com.br; smatta@ufv.br

disso, quando utilizada por via oral, a doxiciclina resulta em menor taxa de recidiva comparativamente às outras tetraciclinas (CODNER et al., 1986).

Há poucos trabalhos estabelecendo relações entre o uso de antibióticos e seus efeitos na espermatogênese. Entretanto, os estudos até agora realizados têm mostrado que o uso desses medicamentos, dentre eles algumas Tetraciclinas, promove perdas na qualidade da fertilidade masculina (HARGREAVES et al., 1998). O presente trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da Doxiciclina nas características histomorfométricas de túbulos seminíferos de ratos Wistar.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados 15 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) machos jovens, com idade de 50 dias. Durante todo o tratamento, os animais foram mantidos em gaiolas com dieta de manutenção (Labina® - Purina) e água *ad libitum*, sendo submetidos a um ciclo diário de 12 horas de claro e 12 horas de escuro, em temperatura de 22±2°C.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 3 grupos (n=5): Controle (C) - nenhuma substância administrada; Concentração 1 (C1) - 10 mg/kg de Doxiciclina; Concentração 2 (C2) - 30 mg/kg de Doxiciclina. Os animais receberam doses diárias por gavagem, durante 21 dias consecutivos.

Vinte e quatro horas após a administração da última dose, os animais foram pesados e anestesiados intraperitonealmente com cloreto de xilazina 2% (v/v) e cloridrato de quetamina 1% (v/v), 10 e 115 mg/kg de peso corporal, respectivamente. Os animais foram orquiequitomizados e os testículos foram pesados com a albugínea intacta. O cálculo do índice gonadossomático (IGS) foi realizado e em seguida os testículos foram encaminhados para o processamento histológico.

Processamento Histológico

Os testículos dos animais foram fixados em Karnovsky e seccionados perpendicularmente ao seu maior eixo para obtenção de quatro fragmentos testiculares armazenados em etanol 70%. Os fragmentos foram desidratados em séries crescentes de álcoois, incluídos em resina (Historesin®, Leica) e cortados em micrótomo em secções de 3 µm de espessura. As secções foram coradas com azul de toluidina/borato de sódio e levadas ao microscópio de luz para análises morfológicas e morfométricas.

Análises Morfométricas

Diâmetro Tubular e Comprimento Total dos Túbulos Seminíferos

As imagens do parênquima testicular foram obtidas por fotomicroscopia, e as análises morfométricas foram realizadas através do programa Image Pro Plus. Para medir o diâmetro tubular e a altura do epitélio seminífero foram selecionadas, aleatoriamente, secções transversais de túbulos seminíferos, com contornos mais circulares possíveis, totalizando 20 túbulos por animal.

As proporções volumétricas entre os compartimentos tubular e intertubular foram estimadas utilizando-se retículo com 266 intersecções por campo, em aumento de 100X. Para cada animal foram analisados 10 campos, escolhidos ao acaso, perfazendo um total de 2660 intersecções. Foram contabilizados pontos sobre túnica própria, epitélio seminífero, lume e intertúbulo.

O comprimento total do túbulo seminífero (CTS) por testículo, expresso em metros, foi estimado a partir do volume ocupado pelos túbulos seminíferos no testículo (VTS) e do diâmetro tubular médio obtido para cada animal, segundo a fórmula matemática para o comprimento do cilindro, onde $R = \text{diâmetro tubular}/2$. O comprimento de túbulo seminífero por grama de testículo corresponde à razão entre o comprimento tubular total (CTS) e o peso do testículo.

$$CTS = \frac{\text{Volume do Túbulo Seminífero}}{\pi R^2}$$

Análise Estatística

A análise estatística foi realizada por meio de ANOVA com post hoc SNK, usando o programa Statistica. Os valores de $p \leq 0,05$ foram considerados significativos (MORETTIN; BUSSAB, 2010).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais submetidos ao tratamento de menor concentração (10 mg/kg) de Doxiciclina aumentaram o peso corporal em 20% em relação ao controle, o que não aconteceu na maior concentração, como apresentado na Tabela 1. Awobajo et al. (2010) demonstraram que ratos tratados com doses terapêuticas de cloxacilina (6mg/100g), ampicilina (4mg/100g) e tetraciclina (12mg/100g), por 14 dias, não apresentaram alterações nos pesos corporais em relação ao controle, embora tenha ocorrido redução significativa no peso testicular, diferentemente do que foi observado neste trabalho, onde os animais tratados com Doxiciclina não

apresentaram alterações de peso testicular, IGS (%), diâmetro de túbulo, altura de epitélio ou qualquer outro parâmetro morfométrico tubular, como apresentado na Tabela 1. Essa diferença pode estar relacionada com a concentração das doses ministradas durante os tratamentos ou com a natureza do antibiótico.

Em relação ao volume dos componentes tubulares, verificou-se aumento significativo no volume de túnica própria no grupo C2 comparado ao C1 e controle. Apesar do volume de túbulo, volume de lúmen e volume de epitélio não apresentarem aumento significativo em C2, se mostraram maiores que o controle (P= 0,07, 0,06 e 0,06, respectivamente).

A Tabela 1 apresenta que o índice tubulossomático (ITS), comprimento do túbulo seminífero por testículo (CTS/T) e por grama de testículo (CTS/gT) não foram alterados entre os grupos. Já o índice epiteliossomático apresentou redução de 23% no grupo C1 em relação ao controle, podendo indicar diminuição na produção espermática, embora o grupo C2 não tenha sido significativamente diferente, apresentou p=0,08.

Tabela 1: Dados dos parâmetros tubulares de ratos Wistar tratados com Doxiciclina 10 mg/kg (C1) e 30 mg/kg (C2) e o controle (C). Valores analisados com o teste ANOVA com post hoc SNK, considerados significativos p≤0,05.

	Controle	C1	C2
Peso Corporal	269,50 ^a	324,14 ^b	291,29 ^a
Peso Testicular	1,54 ^a	1,77 ^a	1,92 ^a
IGS (%)	1,17 ^a	1,09 ^a	1,33 ^a
Diâmetro Tubular	303,23 ^a	304,03 ^a	292,79 ^a
Altura do epitélio	113,36 ^a	96,57 ^a	102,93 ^a
Percentual de Túbulo	93,02 ^a	90,67 ^a	92,03 ^a
Percentual de epitélio	82,41 ^a	79,90 ^a	81,34 ^a
Percentual de Túnica	1,97 ^a	1,74 ^a	1,84 ^a
Percentual de Lume	8,63 ^a	9,03 ^a	8,84 ^a
Volume de Túbulo	2,95 ^a	3,20 ^a	3,53 ^a
Volume de epitélio	2,51 ^a	2,82 ^a	3,12 ^a
Volume de Túnica	0,059 ^a	0,060 ^a	0,070 ^b
Volume de lume	0,270 ^a	0,325 ^a	0,339 ^a
ITS	1,08 ^a	0,94 ^a	1,23 ^a
IES	0,31 ^a	0,25 ^b	0,28 ^a

CTS/T	40,35 ^a	51,67 ^a	53,04 ^a
CTS/gT	12,97 ^a	14,50 ^a	13,78 ^a

CONCLUSÕES

A menor concentração de antibiótico causou aumento do peso corporal dos animais e uma redução no índice epiteliossomático, indicando possível influência no epitélio germinativo, mas não interferiu nos outros parâmetros morfométricos e volumétricos tubulares, podendo levar a uma redução na produção de espermatozoide. Estudos de populações celulares e ultraestruturais devem ser feitos para elucidar melhor a ação da Doxiciclina na espermatogênese.

REFERÊNCIAS

AWOBAJO, F.O; RAJI, Y; AKINLOYE, A.K. Histomorphometric Changes in the Testes and Epididymis of Wistar Strain Albino Rats Following Fourteen Days Oral Administration of Therapeutic Doses of Some Antibiotics. **International Journal of Morphology**, v. 28, n. 4, p. 1281-1287, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.cl/pdf/ijmorphol/v28n4/art47.pdf>>

CODNER, E.C. et al. Characterization of the subclinical phase of ehrlichiosis in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.189, n. 1, p. 47-50, 1986. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3733499>>

HARGREAVES, C.A. et al. Effects of co-trimoxazole, erythromycin, amoxycillin, tetracycline and chloroquine on sperm function *in vitro*. **Human Reproduction**, v. 13, n. 7 p. 1878–1886, 1998. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9740442>>

MORETTIN, P.A; BUSSAB, W.O. **Estatística Básica**. 6^a ed. São Paulo: Saraiva, 2010.

PATRICK, G.L. et al. **An Introduction to Medicinal Chemistry**. New York. Oxford University Press. 2005. cap. 10 e 16.

TROY, G.C; FORRESTER, S.D. Canine ehrlichiosis. In: GREENE, C.E. **Infectious diseases of the dog and cat**. Philadelphia: Saunders, p.404-414. 1990.

WALSH, C.; Antibiotics: Actions, Origins, Resistance. **American Society for Microbiology**. v. 13, n. 11, p. 3059-3060. 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2286585/>>

WRIGHT, G.D.; CHU, D.T.W. Burger's Medicinal Chemistry & Drug Discovery. **Chemotherapeutic Agents**, v. 5, cap. 15, 2003

MORETTIN, P.A. & BUSSAB, W.O. (2010). Estatística Básica. 6ª ed. São Paulo