

Análise física e microscópica do sêmen e sua relação ao uso de drogas lícitas e ilícitas em indivíduos jovens adultos

Alanna de Souza **GOUVÊA**¹, alannagouvea@hotmail.com; Rafael Gonzalez de **OLIVEIRA**²

1. Graduanda do curso de Biomedicina do UNIFAMINAS (Centro Universitário UNIFAMINAS), Muriaé (MG).
2. Docente no UNIFAMINAS, Muriaé (MG).

RESUMO: Trata-se de estudo transversal e descritivo, realizado em Muriaé (MG), com aplicação de questionário semi-estruturado e coleta do sêmen de 30 indivíduos, com mediana de idade de 22 anos. As técnicas para análise foram desenvolvidas de acordo com a metodologia de Strasinger e Lorenzo. A maioria dos espermogramas avaliados neste estudo encontrava-se dentro dos valores de normalidade estipulados pela OMS. Não foi encontrada associação dos aspectos microscópicos aos dados demográficos da amostra pesquisada, porém foi possível observar uma correlação estatisticamente significativa entre a morfologia dos espermatozoides e o uso de tabaco e de drogas ilícitas.

Palavras-chave: sêmen, análise seminal, drogas lícitas, drogas ilícitas.

Introdução

A avaliação da qualidade seminal consiste em um dos primeiros aspectos a serem avaliados na investigação de infertilidade dos casais. A vida moderna, com a introdução de novas tecnologias, agentes farmacológicos, físicos e o uso de drogas lícitas e ilícitas podem causar diminuição na quantidade e na qualidade seminal. Este estudo teve como objetivo realizar análise física e microscópica do sêmen e sua relação ao uso de drogas lícitas e ilícitas em indivíduos jovens adultos.

I – Materiais e métodos

Foi realizado um estudo do tipo transversal e descritivo, com coleta de amostras de sêmen de voluntários jovens adultos, feita na cidade de Muriaé (MG).

Esta pesquisa foi submetida ao Comitê de Ética e Pesquisa, sendo apreciada e aprovada com número de CAAE 68541517.0.0000.5105. Para a realização da pesquisa, os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido, estabelecido pelos Critérios da Ética na Pesquisa com Seres Humanos conforme resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012 do Conselho Nacional de Saúde, Brasília (DF). Após assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, foi aplicado um questionário semiestruturado para obtenção dos dados sociodemográficos dos participantes e coleta de dados para identificação de uso de medicamentos, anabolizantes, tabaco, drogas ilícitas e uso de bebidas alcoólicas.

A coleta do material e as técnicas foram desenvolvidas de acordo com a metodologia de Strasinger e Lorenzo (2009). Os resultados respeitaram os critérios padronizados propostos pela OMS.

Os participantes foram identificados por um código em todo o processo da pesquisa. O código estava presente no questionário aplicado e nos materiais para a coleta do sêmen, com o intuito de manter seus dados em sigilo. Somente os membros da pesquisa obtiveram conhecimento dos dados, assegurando a privacidade dos participantes. O aspecto do sêmen é modificado à medida que os processos de coagulação e liquefação acontecem. Logo após a coleta, a amostra tem um aspecto heterogêneo e gelatinoso, tornando-se mais homogêneo e fluído após a liquefação. As colorações brancas acinzentadas são normais. Uma amostra de sêmen fresco é coagulado e deve se liquefazer dentro de 30 a 60 minutos após a coleta, o registro do tempo de colheita é essencial para a avaliação da liquefação do sêmen. A análise da amostra não pode ser iniciada depois que a liquefação tenha ocorrido. Se após duas horas a amostra não tiver liquefeito, enzimas proteolíticas, como alfaquimotripsina, podem ser adicionadas para permitir que o restante da análise seja realizado. O volume normal do sêmen varia entre 5 e 2 mL e foi medido colocando-se a amostra em um tubo limpo e graduado. A viscosidade está relacionada com a consistência do sêmen. É considerada normal, quando a amostra sai da pipeta apenas com a força da gravidade ou mesmo, formando um filamento com extensão inferior a 2 cm. Quando o filamento formado for superior a 2 cm, a viscosidade já é aumentada. O pH normal do esperma é alcalino com intervalo de 7,0 a 8,0. Para o exame de pH, o sêmen foi aplicado na almofada de pH das tiras reagentes utilizadas no exame de urina e as cores foram comparadas com a tabela do fabricante. Para a análise microscópica do espermograma, os parâmetros analisados foram a motilidade e a morfologia, os quais também foi seguido pelo método de Strasinger e Lorenzo (2009).

A avaliação da motilidade foi realizada em amostras bem homogêneas de sêmen liquefeito, dentro de uma hora após a coleta. Colocou-se uma quantidade significativa de sêmen sob uma lamínula, com 10 microlitros em uma lamínula de 22x22 milímetros. A porcentagem de espermatozoides que mostra real avanço pôde, então, ser estimada após avaliar cerca de 20 campos de grande aumento. A motilidade é avaliada pela velocidade e pela direção. A classificação pode ser feita utilizando uma escala de A a D, com A indicando movimentação rápida, em linha reta, e D indicando ausência de movimento. A morfologia espermática é avaliada em relação à estrutura da cabeça, gorjal, peça intermediária e cauda. A morfologia espermática foi avaliada em esfregaços finos corados e com óleo de imersão. A coloração foi feita utilizando o Kit Panótico de corantes, onde pelo menos 200 espermatozóides foram avaliados e sua porcentagem foi relatada. Principais anormalidades que podem ser encontradas.

A análise descritiva foi realizada para a obtenção das medianas, valores mínimos e máximos (dados sem distribuição normal) com o programa SPSS versão 20. Para a investigação da associação entre as variáveis foi utilizada a Regressão Múltipla e para a correlação entre duas variáveis foi utilizado o teste t-student de amostras relacionadas. O p valor considerado estatisticamente significativo foi $p < 0,05$.

II – Resultados e discussão

A amostra deste estudo foi composta por 30 indivíduos com mediana de idade de 22 anos (Min: 19 Máx 34). Quanto ao estado civil, 25 indivíduos eram solteiros (83.3%); 2 casados (6,7%) e 3 não especificaram o estado civil (10%) e apenas 2 indivíduos possuíam filhos (6,7%).

Ao questionar o uso de bebida alcoólica, 23 faziam uso de bebidas alcoólicas (76,7%); quanto a frequência do uso, 15 relataram beber esporadicamente (50%) e 7 bebiam todos os finais de semana (23,3%). Quanto a frequência do uso de tabaco, os resultados se encontram na Tabela 1.

TABELA 1 Frequência do uso de tabaco entre os 7 participantes que responderam ter o hábito de fumar

Quantidade de cigarros por dia	N	%
2	2	6,7
5	2	6,7
6	1	3,3
7	1	3,3
10	1	3,3
Total: 100	7	23,3

Quanto ao uso de drogas, apenas 5 participantes (16,7%) relataram fazer uso de drogas. Dentre as drogas utilizadas estavam o LSD (Lysergic acid diethylamide / Dietilamida do ácido lisérgico); maconha e ecstasy.

TABELA 2 Tipo de droga e frequência de uso pelos 5 participantes que relataram utilizar drogas

Tipo de droga e frequência de uso	N	%
LSD	1	3,3
Maconha	1	3,3
Maconha e LSD	1	3,3
Maconha, LSD e Ecstasy	2	6,7

A análise macroscópica do sêmen, observou aspecto, liquefação, volume, viscosidade e pH. A análise microscópica considerou a morfologia e a motilidade do sêmen.

Questionados sobre a percepção de coloração diferenciada no esperma, 24 indivíduos relataram que não (80%), 3 relataram que já perceberam coloração amarelo claro (10%), 2 amarelo escuro (6,7%), 1 relatou coloração translúcida (3,3%).

Alterações nos aspectos dos espermatozoides como a cor, podem ser indicativas de doenças locais ou sistêmicas ou pelo uso de medicamentos. Falha na liquefação pode ser causada por deficiência de enzimas prostáticas e quanto ao Ph e seu aumento é indicativo de infecção no trato reprodutivo; sua diminuição é associada ao aumento do fluido prostático (STRASINGER; LORENZO, 2009).

Todas as amostras analisadas apresentaram viscosidade normais, o tempo de liquefação variou de 30 a 60 minutos e quanto ao pH, 21 indivíduos apresentaram pH 7,0 (70%) e 9 apresentaram pH 8,0 (30%), considerados, portanto, normais. A quantidade de volume variou de 1 a 2,5 mililitros (mL), 7 indivíduos apresentaram 1mL (23,3%), 18 apresentaram 2mL (60%), 1 apresentou 1,5mL (3,3%) e 4 indivíduos apresentaram 2,5 mL (13,3%).

Sobre as análises microscópicas, 2 indivíduos apresentaram azoospermia (quando se constata ausência de espermatozoides) (6,7%), os demais, 93,3%, apresentaram anormalidade morfológica, destes, todos apresentaram espermatozoides com cabeça amorfa, duas cabeças, sem cauda e cauda espiralada. Quanto a motilidade, os 93% da amostra apresentaram motilidade, dentre eles 7 eram grau 3 representando 23% e, 21 eram grau 4, 70%.

A avaliação da qualidade seminal consiste em um dos primeiros aspectos a serem avaliados na investigação de infertilidade dos casais, mesmo não sendo considerada apenas o único parâmetro a ser avaliado para a queixa de infertilidade masculina. Porém, o espermograma é o exame principal requisitado, tendo uma importância significativa uma vez que fornece informações sobre a atividade funcional dos órgãos genitais masculino e suas possíveis alterações, assim como informações sobre a formação, número, motilidade e morfologia dos espermatozoides (PASQUALOTTO, 2008).

A OMS é mundialmente utilizada por laboratórios de análise seminal, onde padroniza os valores de referência dos parâmetros seminais para uma correta análise. Os valores de referência do sêmen foram recentemente atualizados. De acordo com o manual publicado em 2010, o volume total que antes era exigido era de pelo menos 2 mL, atualmente é de 1,5 mL. Outro parâmetro importante é a motilidade, que analisa a progressão de movimentos dos espermatozoides, dividindo-os em 4 grupos: A, B, C e D. Sendo o grupo A com progressão linear rápida e D, ausência de movimento. Outro parâmetro também analisado é a morfologia de Kruger, onde os espermatozoides com a cabeça em formato oval e com a parte intermediária e cauda perfeitas, são os que têm maior chance de fertilização. Pelo critério antigo de Kruger, deveria ser igual ou maior que 14% e, atualmente aceita-se pelo menos 4% (OMS, 2010).

De acordo com os aspectos analisados, as amostras obtiveram padrão normal dentro dos critérios avaliados determinados pela OMS.

Quando os fatores, uso de medicamentos, dias de abstinência, uso de álcool, uso de drogas ilícitas, fumo e presença de DSTs foram associados à motilidade dos espermatozoides, não foi observada associação com $p=0,15$.

Quando os fatores, uso de Medicamentos, Dias de abstinência, uso de álcool, uso de drogas ilícitas, fumo e DSTs foram associados aos aspectos morfológicos como: ausência da cabeça ($p=0,86$), cabeça amorfa ($p=0,62$), cabeça grande ($p=0,18$); cauda espiralada ($p=0,24$) presença de duas cabeças ($p=0,11$), não foi observada associação estatisticamente significativa.

Quando investigado o uso de álcool com as alterações morfológicas dos espermatozoides não apresentou correlação estatisticamente significativa com: cauda espiralada ($p=0,18$), cabeça amorfa ($p=0,62$), cabeça grande ($p=0,19$), ausência de cauda ($p=0,52$) e duas cabeças ($p=0,14$). Em relação ao uso de drogas ilícitas foi observada uma menor chance de presença de espermatozoides com duas cabeças ($t=2,31$ e $p=0,031$) e cauda espiralada ($t=2,39$ e $p=0,027$) em indivíduos usuários.

Quando relacionado o fumo e a presença de espermatozoide com duas cabeças, a chance de ocorrência desta alteração morfológica foi maior ($t=2,18$ e $p=0,041$) assim como para a presença de cabeça grande ($t=2,5$ e $p=0,019$).

Por último, Santo *et al.* (2013) cita em seu estudo que aproximadamente 6% dos homens em idade fértil são inférteis e destes, 90% está relacionada à formação dos espermatozoides. Ele relata também que alguns autores aumentam essa porcentagem para 20% e que destes, 40% indicam que os fatores determinantes da esterilidade estão no homem e estão associados às alterações como menor quantidade do número de espermatozoides; anormalidades na forma; dificuldades ou incapacidade de movimento ou no vigor dos mesmos. Além disso, outras alterações como deformidades de cabeça, de peça intermediária ou de cauda, que contribuem para a infertilidade destes indivíduos.

Vem sendo apresentado pela literatura muitas evidências tanto clínicas como experimentais de que há um aumento do risco da infertilidade relacionado ao uso de tabaco. Acredita-se que a nicotina presente no tabaco influencie a angiogênese e a fertilidade. O uso de tabaco está associado à modesta redução na qualidade do sêmen, incluindo concentração de espermatozoides, motilidade, morfologia e efeito potencial na função espermática, além das alterações nos níveis hormonais (LIMA *et al.*, 2012).

Conforme exposto nos resultados deste trabalho, o fumo apresentou maiores chances de apresentar alterações morfológicas como espermatozoides com duas cabeças e cabeça grande, porém, não foi realizada a contagem desses espermatozoides para evidenciar a diminuição da concentração, assim como também não foi investigado as alterações dos níveis hormonais conforme demonstra a literatura.

Daroz (2008) diz que os estudos dos efeitos de drogas ilícitas nos parâmetros seminais e hormonais são escassos e em geral, realizados com indivíduos usuários de uma única droga. Esta autora realizou um estudo que teve como objetivo avaliar a influência de drogas ilícitas na análise seminal. Ela observou que em indivíduos usuários das drogas maconha e/ou cocaína e/ou crack tiveram alterações nos parâmetros seminais, apresentando redução da concentração, motilidade, morfologia como também diminuição o Índice Androgênico Livre quando comparados a homens inférteis, podendo comprometer a espermatogênese e interferir na fertilidade.

Os resultados apresentados no presente estudo demonstram que o uso de drogas ilícitas apresentou menores chances de apresentar anormalidades como espermatozoides com cauda espiralada e com duas cabeças, este fato pode estar relacionado à diminuição da concentração de espermatozoides assim como a diminuição do índice androgênico livre causado pelo uso de drogas ilícitas, conforme sugere a literatura.

III – Conclusão

A maioria dos espermogramas avaliados neste estudo encontrava-se dentro dos valores de normalidade estipulados pela Organização Mundial da Saúde quanto aos aspectos macroscópicos e microscópicos. Apenas duas amostras apresentaram azoospermia.

Não foi encontrada associação dos aspectos microscópicos aos dados demográficos das amostras pesquisadas, porém foi possível observar uma correlação estatisticamente significativa entre o uso de tabaco e uso de drogas ilícitas à morfologia dos espermatozoides.

Considerando o número de amostra baixo e diante a escassa literatura da relação de hábitos de vida e análise seminal, novos estudos são necessários para investigar os possíveis fatores que contribuíram para esses achados.

Referências

DAROZ, Gisela Alessandra. Influência do uso de drogas ilícitas na análise seminal e hormonal. Tese/Doutorado. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina de Botucatu – Botucatu, 2008.

ESTEVES, S. C. Infertilidade masculina. In: Rhoden, E. L. **Urologia no consultório**. Porto Alegre: Artmed, 2009.

KING, S. S.; SCHAUB, M. L. **Urinálise e fluidos corporais**. 5. ed. São Paulo: Livraria Médica Paulista, 2009.

LEUSHUIS, E.; VAN DER STEG, J. W.; STEURES, P.; REPPING, S.; BOSSUYT, P. M. M.; MOL, B. W. J.; HOMPES, P. G. A.; VAN DER VEEN, F. Semen analysis and prediction of natural conception. **Human Reproduction**, v. 7, 2014, p. 1360-1367.

LIMA, Vânia Maria *et al.* Estudo histopatológico do efeito da nicotina nos testículos e epidídimos de ratos. **Rev Bras Clin**, v. 10, n. 4, p. 322-8, 2012.

MAYORGA-TORRES, B. J. M.; CAMARGO, M.; AGARWAL, A.; DU PLESSIS, S. S.; CADAVID, A. P.; MAYA, W. D. C. Influence of ejaculation frequency on seminal parameters. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 13, n. 47, 2015.

MISELL, L. M. *et al.* A stable isotope-mass spectrometric method for measuring human spermatogenesis kinetics in vivo. **The Journal of Urology**, v. 175, n. 1, p. 242-246, 2006.

NALLELLA, K. P. *et al.* Significance of sperm characteristics in the evaluation of male infertility. **Fertility and Sterility**, v. 85, n. 3, p. 629-634, 2006.

NUDELL, D. M.; MONOSKI, M. M.; LIPSHULTZ, L. I. Common medications and drugs: how they affect male fertility. **Urol. Clin. North. Am.**, v. 29, p. 965-973, 2002.

PASQUALLOTO, F. F. *et al.* Effect of cigarette smoking on antioxidant levels and presence of leukocytospermia in infertile men: a prospective study. **Fertil. Steril.**, v. 90, p. 278-283, 2008.

PIRES, I. O espermograma na prática laboratorial. **Revista Iberoamericana de Fertilidad y Reproducción Humana**, v. 27, n. 3, p. 211-221, 2010.

SANTOS, Társila Rodrigues Moreno *et al.* Considerações sobre infertilidade masculina. **Cadernos de Graduação - Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 1, n. 16, p. 21-26, 2013.

SHARPE, P.; SMITH, G. Cannabis: time for scientific evaluation of this ancient remedy? **Anesth. Analg.**, v. 90, p. 237-240, 2000.

TORTORA, G. J.; GRABOWSKI, S. R. **Corpo humano: fundamento de anatomia e fisiologia**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

World Health Organization – WHO. **Laboratory manual for the examination and processing of human semen**. 5. ed. Geneva: WHO, 2010.