

EFEITOS DA BUPROPIONA SOBRE O COMPORTAMENTO SEXUAL,
PARÂMETROS ESPERMÁTICOS E FERTILIDADE DE RATOS
MACHOS E SOBRE A CONTRATILIDADE DO DUCTO EPIDIDIMÁRIO
IN VITRO.

MARILIA MARTINS CAVARIANI

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biociências, Campus de Botucatu,
UNESP, para obtenção do título de
Mestre no Programa de Pós-Graduação
em Biologia Geral e Aplicada, Área de
concentração *Biologia Celular,
Estrutural e Funcional*.

Profa. Dra. WILMA DE GRAVA KEMPINAS

**BOTUCATU – SP
2013**

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Julio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

EFEITOS DA BUPROPIONA SOBRE O COMPORTAMENTO SEXUAL,
PARÂMETROS ESPERMÁTICOS E FERTILIDADE DE RATOS
MACHOS E SOBRE A CONTRATILIDADE DO DUCTO EPIDIDIMÁRIO
IN VITRO.

MARILIA MARTINS CAVARIANI

Profa. Dra. WILMA DE GRAVA KEMPINAS

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biociências, Campus de Botucatu, UNESP,
para obtenção do título de Mestre no
Programa de Pós-Graduação em Biologia
Geral e Aplicada, Área de concentração
Biologia Celular, Estrutural e Funcional.

Profa. Dra. Wilma De Grava Kempinas

BOTUCATU – SP
2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE - CRB 8/5651

Cavariani, Marília Martins.

Efeitos da bupropiona sobre o comportamento sexual, parâmetros espermáticos e fertilidade de ratos machos e sobre a contratilidade do ducto epididimário in vitro / Marília Martins Cavariani. - Botucatu, 2013

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Wilma de Grava Kempinas

Capes: 20602006

1. Antidepressivos - Pesquisa. 2. Drogas - Efeitos colaterais. 3. Epidídimo. 4. Fecundidade.

Palavras-chave: Bupropiona; Epidídimo; Qualidade espermática; Tempo de trânsito espermático; Transportador de noradrenalina.

Dedicatória

Aos meus amados avós, José Martins e Wagner Cavariani.

*Obrigada por terem me ensinado a amar a educação e a
natureza, por todos os domingos em família,
pelos natais mágicos e por todo amor que me deram.*

Agradeço a Deus todos os dias por ter nos unido nesta vida.

Amo-vos para todo o sempre.

Agradecimento

Aos meus amados pais, Mario Lourenço Cavariani e Maria Lucília Martins Cavariani, por todo apoio e por sempre acreditarem em mim. Não existem palavras para expressar toda gratidão que sinto. Vocês são meu apoio, meu porto seguro, minha casa e espero sempre poder enchê-los de orgulho.

A minha irmã e melhor amiga, Isabel Martins Cavariani, por todas as noites vendo filmes, desenhos e vídeos divertidos. O dia em que você nasceu eu sabia que minha missão seria cuidar de você, eu só não sabia que você também cuidaria de mim. Amo-te, haja o que houver.

A minha amada avó, Maria Odete Dias Martins, minha segunda mãe, minha razão de lutar, meu exemplo, minha guerreira, minha “corujinha”.

A minha amada avó, Zenaide Sonsin Cavariani, que mesmo nos deixando tão cedo me ensinou a dar valor em coisas importantes como a criatividade e o amor ao próximo.

Ao homem da minha vida, Ricardo da Silva Dias, que me apóia incondicionalmente, me dá forças para continuar e enche meus dias de luz. É por você que luto todos os dias, para podermos começar nossa vida juntos. O amo profundamente.

A minha orientadora, Dra. Wilma De Grava Kempinas, por ter acreditado em mim, me recebendo de braços abertos em seu laboratório. Obrigada por todas as oportunidades oferecidas, por todos os ensinamentos e por contribuir imensamente com meu crescimento pessoal e profissional. Admiro muito sua paixão pela pesquisa, pelo ensino e pelos animais, obrigada pelo trabalho maravilhoso que a Senhora faz por nós, seus alunos.

Aos meus amados tios Paulo Roberto de Almeida Silves e Maria Regina Cavariani Silves, por todo amor, carinho, incentivo, preocupação e confiança. Sem vocês este tão sonhado mestrado não seria possível, vocês são mais do que tios, são meus anjos da guarda. Obrigada por tudo.

A minha “Tata” Maria, a quem tanto amo e que foi fundamental para minha educação e para formação da pessoa que sou hoje.

A minha amada amiga, companheira, confidente, conselheira, Josiane de Lima Rosa, que esteve comigo nos bons e maus momentos, me apoiando, dando forças, dando risadas e acreditando em mim quando nem eu mesma acreditava.

Aos meus amigos, meus amores, Aline Cutrim Dragalzew, Lucas Milanez Benicio, Lara Martineli Zapata, Gisele Guimarães dos Santos e Aniele Cristina Ricco. Que apesar da distância mantiveram-se fiéis, sempre ao meu lado, compartilhando alegrias e tristezas. Obrigada por todo apoio e por estarem sempre prontos para me socorrer, vocês são a família que a vida me deu, amo vocês!

Aos amigos maravilhosos que UNESP me deu, Ana Flávia Vidotti Roder, Aline Lima de Barros, Luiz Ricardo de Almeida Kiguti, Carlos Alberto da Silva Ribeiro e Sérgio Alexandre Alcantara dos Santos. Obrigada pelo carinho, dedicação, preocupação, suporte, risadas e por me fazerem sentir querida e amparada.

A todos os meus companheiros de laboratório pelos ensinamentos compartilhados e por me ajudarem no meu crescimento profissional e pessoal.

Ao técnico, José Eduardo Bozano, pelo suporte profissional, sempre muito solícito e fazendo de tudo para ajudar. Obrigada por todas as lâminas, luvas, tomadas, extensões, ensinamentos e conselhos.

A minha querida Suzana de Fátima Paccola Mesquita, por me iniciar na vida científica e por ter me ensinado tanto no início da minha jornada acadêmica. Espero enche - lá de orgulho.

Ao Prof. Dr. André Sampaio Pupo, pela colaboração e pela oportunidade de conhecer o mundo da farmacologia pelo qual me apaixonei.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo suporte financeiro.

E a Deus que sempre se fez presente, iluminando meus caminhos e me dando esperança e força quando tudo parecia difícil de mais.

Muitíssimo obrigada!

Epígrafe

*Ha um tempo em que é preciso abandonar as roupas usadas,
que já tem a forma do nosso corpo, e esquecer os nossos caminhos,
que nos levam sempre aos mesmos lugares. É o tempo da travessia:
e, se não osarmos fazê-la, teremos ficado, para sempre, à
margem de nós mesmos.*

Fernando Teixeira de Andrade

Sumário

Resumo	12
Abstract	15
Introdução	18
O surgimento da bupropiona	19
Mecanismo de ação da bupropiona	21
Bupropiona e tabagismo	23
Sistema genital masculino	28
Testículo	29
Epidídimo	32
Pênis	36
Bupropiona e disfunção sexual	38
Justificativa	43
Objetivos	45
Manuscrito	47
Abstract	50
Introduction	51
Material and methods	53
Results	60
Discussion	62
Conflict of interest	65
Acknowledgment	65
References	66
Table	71
Figure	75
Conclusão	83
Referências bibliográficas	85
Apêndices	96
Comissão de ética	101

Resumo

A bupropiona é um antidepressivo amplamente utilizado no tratamento da cessação tabágica que atua inibindo a recaptura neuronal de dopamina (DA) e noradrenalina (NE) com pouco efeito na recaptção da serotonina. Estudos prévios demonstraram que o tratamento com sibutramina, um bloqueador da recaptura de NE que age aumentando a disponibilidade desta monoamina na fenda sináptica, influenciou a qualidade espermática diminuindo a fertilidade de ratos machos submetidos ao tratamento com este fármaco. A bupropiona possui ação sobre algumas funções sexuais como a ejaculação e a excitação, no entanto, não são encontradas na literatura informações sobre a influência desta droga na qualidade espermática de humanos ou de modelos animais. Nesse contexto, o presente trabalho tem como objetivo investigar os efeitos da administração de bupropiona sobre o comportamento sexual, parâmetros espermáticos e fertilidade de ratos machos e sobre a reatividade farmacológica do ducto epididimário isolado. Para tanto, 27 ratos machos (90 dias) foram aleatoriamente alocados em três grupos experimentais que receberam 15 mg/kg de bupropiona (BPP15, n=9), 30 mg/kg de bupropion (BPP30, n=9) e água destilada (veículo, VEH, n=9) via oral durante 30 dias consecutivos. Ao final do tratamento os animais foram eutanaziados e tiveram seus órgãos reprodutores (testículos, epidídimos, próstata, vesícula seminal cheia e vazia) pesados. Os níveis séricos de testosterona, hormônio luteinizante e hormônio folículo estimulante foram determinados por radioimunoensaio e os testículos e epidídimos direitos foram coletados e processados para contagem espermática, determinação da produção diária de espermatozoides e determinação do tempo de transito espermático pela cabeça/corpo e cauda epididimária. Além disso, os espermatozoides da cauda do epidídimo direito foram utilizados para análise da motilidade e morfologia espermática. Em uma segunda etapa do estudo, mais 30 animais (n=10/grupo experimental), divididos e tratados como descrito anteriormente, tiveram seu comportamento sexual e fertilidade após acasalamento natural avaliados. Na última etapa do trabalho mais 18 animais (n=6/grupo experimental) foram utilizados para avaliação dos efeitos do tratamento com bupropiona sobre a contratibilidade do ducto epididimário isolado, importância funcional do sistema de captura de NE e reservas de NE da cauda do epidídimo. Também foram realizados ensaios *in vitro* de reatividade do ducto epididimário isolado de ratos não tratados com o fármaco na presença e ausência de bupropiona para avaliação da capacidade da bupropiona em bloquear o sistema de recaptura de NE. A administração oral de bupropiona não alterou

os pesos dos órgãos reprodutores, a produção diária de espermatozoides bem como o tempo de trânsito e a morfologia espermática, no entanto o tratamento com 30 mg/kg bupropiona diminuiu a qualidade espermática dos animais (uma vez que houve aumento do número de espermatozoides móveis sem movimento progressivo). A dose de 15 mg/kg aumentou o nível sérico de hormônio luteinizante sem alterar o nível sérico de testosterona. Não houve alteração do comportamento sexual e fertilidade nos animais expostos ao fármaco, assim como da importância do sistema de captura de NE no epidídimo e das reservas de NE dos animais BPP15 e BPP30. Dessa maneira o aumento da contração máxima da cauda epididimária induzida por NE observado nos animais BPP15 não foi resultado do aumento das reservas de NE no tecido. Mesmo tendo aumentado em 8 vezes a potência da NE exógena em promover contrações na cauda do epidídimo de ratos não tratados a bupropiona não diminuiu o tempo de trânsito espermático pelo epidídimo, esse resultado foi atribuído ao fato da bupropiona ter se mostrado capaz de inibir apenas parcialmente o sistema de recaptura de NE. Em conjunto, os resultados apresentados demonstram que a bupropiona aumentou a potência da NE em promover contrações na cauda do epidídimo e aumentou a contração máxima da cauda epididimária induzida por NE em ratos tratados com bupropiona durante 30 dias sem alterar as reservas de NE no tecido. Além disso, a bupropiona mostrou-se capaz de inibir apenas parcialmente o transportador de NE e diminuiu a qualidade espermática de ratos machos, sugerindo a importância de estudos que avaliem os efeitos da bupropiona também sobre a qualidade espermática humana.

Abstract

Bupropion is a dopamine and norepinephrine reuptake inhibitor with lower effect on the serotonin reuptake widely used as smoking cessation and antidepressant drug. Previously studies showed that the treatment with the norepinephrine uptake blocker sibutramine, that acts increasing the level of this monoamine at the synaptic cleft impaired the sperm quality and fertility of the animals treated with this drug. Bupropion influences some sexual functions as ejaculation and arousal however, to our knowledge, there is no study investigating the effects of bupropion on human or animals model sperm quality. In this context, the present study investigated the effects of bupropion on sexual behavior, sperm parameters and fertility of male rats as well as its influence on epididymal duct contraction *in vitro*. For this, 27 male rats (90 days) were randomly allocated into three experimental groups that received 15 mg/kg of bupropion (BPP15, n=9), 30 mg/kg of bupropion (BPP30) and distillate water (vehicle, VEH, n=9) orally during 30 days. At the end of the treatment the animals were killed and his reproductive organs (testis, epididymis, prostate, full and empty seminal vesicle) were weighted. The levels of testosterone, luteinizing hormone and follicle stimulating hormone serum were determinate by radioimmunoassay and the right testis and epididymis were collected and processed to sperm count, daily sperm production and determination of sperm transit time trough epididymis. Furthermore, spermatozoa collected by the right epididymal cauda were used to analysis of sperm motility and morphology. In a second stage of this study 30 animals (n=10/experimental group), allocated and treated as describe previously, were used to analysis of male sexual behavior and fertility after natural matting. At the least stage of the study 18 animals (n=6/experimental group) were used to evaluating the effects of the treatment with bupropion on the isolated epididymal duct contraction, functional importance of norepinephrine reuptake system and epididymal cauda norepinephrine reserves. *In vitro* assays with epididymal ducts fragments of untreated rats were also realized in the presence and absence of bupropion to evaluate the capacity of bupropion to blocker the norepinephrine reuptake system. The orally administration of bupropion did not altered the reproductive organ weights and the daily sperm production as well as the sperm transit time and the sperm morphology, however, bupropion at the higher dose impaired the animals sperm quality (once there was an increase in the number of spermatozoa with non-progressive movement). The lower dose of bupropion increased the level of serum luteinizing hormone without altering the level of serum testosterone. There was no alteration on the sexual behavior and fertility of the animals treated with bupropion as well as in the

importance of norepinephrine uptake system and the norepinephrine reserves in the BPP15 and BPP30. Therefore, the increased maximal contraction to NE of the epididymal cauda duct observed in BPP15 animals was not ascribe to an increased NE reserves on the tissue. Despite bupropion increased by 8-fold the potency of norepinephrine in inducing contractions of untreated rats epididymal duct the sperm transit time was not altered by bupropion, this result was related to the fact that bupropion was able in blocker only partially the norepinephrine uptake system. Altogether, the present results showed that *in vitro* bupropion increased the potency of NE induced contractions of cauda epididymal duct and increased maximal contraction to NE of cauda epididymal duct from bupropion treated with no changes in the NE reserves. Furthermore, bupropion blocked only partially the NE uptake system and impaired male sperm quality, suggesting the importance of studies evaluating the effects of bupropion on the human sperm quality.

Introdução

O surgimento da bupropiona

Os primeiros trabalhos testando a eficiência da bupropiona (figura 1) como antidepressivo foram conduzidos por Soroko *et al.* em 1977. No ano seguinte Fabre & McLendon (1978) demonstraram que pacientes tratados com doses de 100 a 200 mg de bupropiona três vezes ao dia apresentaram grande melhora na escala de depressão de Hamilton em relação aos pacientes que receberam placebo. Após estas publicações abriram-se as portas para mais estudos demonstrando a eficiência deste fármaco no combate a depressão e ansiedade. Zung *et al.* (1983) e Fabre *et al.* (1983) foram alguns dos autores que confirmaram a ação antidepressiva da bupropiona através da melhora de pacientes acometidos por distúrbios psíquicos ainda na década de 80.

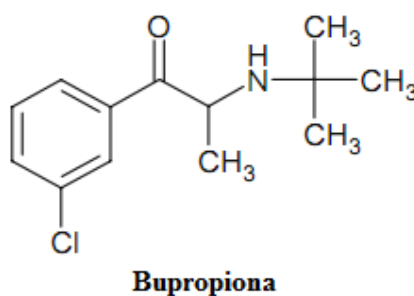


Fig. 1 – Estrutura da bupropiona. Fonte: Dwoskin *et al.*, 2005.

Em 1982, Hamilton *et al.* concluíram em seus estudos que a administração de uma dose única de 100 mg de bupropiona não produziu alterações significativas no quadro de depressão dos pacientes analisados, porém quando co-administrada com uma dose única de 5 mg do ansiolítico diazepam mostrou-se eficaz em antagonizar as deficiências funcionais que são características deste fármaco, como a perda de memória curta, sonolência, perda de equilíbrio e coordenação e vertigem. Sugerindo assim, que como a bupropiona não demonstrou propriedades sedativas sua administração em pacientes ansiosos ou agitados pode ser acompanhada de drogas ansiolíticas ou hipnóticas.

Na década de 90 os estudos comparando a eficiência da bupropiona no tratamento da depressão com outros medicamentos utilizados para este fim confirmaram a eficácia e segurança deste fármaco. Lineberry *et al.* (1990) ao compararem pacientes que receberam bupropiona, na dose de 300 mg durante três semanas, com pacientes que

receberam placebo, evidenciaram que o fármaco foi bem tolerado com poucos efeitos colaterais relatados.

Já Feighner *et al.* (1991) conduziram um estudo para comparar a eficácia e a segurança da bupropiona, inibidor da recaptura de catecolaminas (noradrenalina e dopamina), com a fluoxetina, inibidor da recaptura de indolaminas (serotonina), chegando à conclusão de que ambos os medicamentos demonstraram resultado no alívio da depressão e nos sintomas da ansiedade com um perfil de segurança semelhante.

Ainda neste período, em 1994, Weisler *et al.* compararam os efeitos do tratamento de pacientes depressivos tratados com bupropiona (225-450 mg diariamente) com os efeitos do tratamento com trazodona (150-400 mg diariamente) e observaram que os perfis das respostas à bupropiona e à trazodona foram consistentes com seus perfis farmacológicos conhecidos, ou seja, não sedativo contra sedativo. Perda de peso e ansiedade foram relatados com maior frequência para o grupo tratado com bupropiona, enquanto sonolência, aumento de apetite e edema foram relatados com maior frequência para o grupo tratado com trazodona.

Segundo Plodkowski *et al.* (2009), a capacidade da bupropiona de inibir a recaptação de dopamina e noradrenalina resulta em perda de apetite e redução do consumo alimentar e de cigarros. Além disso, é um dos antidepressivos menos associados a efeitos colaterais sexuais secundários (Gartlehner *et al.*, 2008; Serretti & Chiesa, 2009) sendo inclusive utilizado para o tratamento da disfunção sexual induzida por antidepressivos que agem inibindo a recaptação da serotonina (Dording *et al.*, 2002).

Assim, o antidepressivo bupropiona desempenha papel importante no tratamento de perturbações mentais e comportamentais sendo amplamente utilizado até hoje (Hilliard *et al.*, 2013), e embora tenha sido utilizada no tratamento da depressão desde o início da década de 1980, os mecanismos de ação precisos que resultam em suas ações terapêuticas ainda precisam ser totalmente elucidados (Ghanbari, Mansari e Blier, 2011).

Mecanismo de ação da bupropiona

Assim que foi lançada no mercado Cooper *et al.* (1980) reportaram a eficiência da bupropiona em inibir a recaptação da dopamina (DA) (uma catecolamina ligada aos sintomas da depressão), porém em 1983 Ferris e Beaman contradisseram este resultado demonstrando que a bupropiona e seus metabólitos não possuíam afinidade significativa por receptores serotoninérgicos e adrenoceptores α e β , sendo apenas um fraco inibidor da recaptura neuronal da DA. No entanto, estudos com pacientes depressivos e não depressivos demonstram que doses clinicamente efetivas de bupropiona induzem a ocupação dos receptores dopaminérgicos na gama de 20 a 26%, levantando a hipótese de que a inibição da recaptura neuronal desta catecolamina seja, pelo menos em parte, responsável pelos efeitos terapêuticos desta droga (Learned-Coughlin *et al.*, 2003; Árgyelán *et al.*, 2005).

Apesar dos resultados controversos no início, ficou bem definido que a bupropiona inibe a recaptação de DA e noradrenalina (NE) com pouco efeito na recaptação da serotonina (Dwoskin *et al.*, 2005), além disso este fármaco atua aumentando os níveis de DA extracelulares através da inibição do transportador dopaminérgico plasmático, aumentando assim a função do transportador vesicular-2 de monoaminas que torna possível uma maior disponibilidade de DA na fenda pré-sináptica (Rau *et al.*, 2005). A eficiência da bupropiona em inibir a recaptura neuronal desta catecolamina foi novamente evidenciada no trabalho conduzido por Simmler, Wandeler & Liechti (2013), onde os autores sugerem o uso de bupropiona no combate ao vício à metanfetamina, uma vez que a potência do medicamento em inibir a liberação de DA, induzida pela metanfetamina, correspondeu a sua própria potência em bloquear a reabsorção de DA.

Enquanto muitos antidepressivos produzem seus efeitos terapêuticos através da supra-regulação dos receptores pós-sinápticos noradrenérgicos, a bupropiona não parece ter este efeito (Ferris & Beaman, 1983). No entanto, ela interage com os sistemas noradrenérgicos, de maneira dose dependente, diminuindo a taxa de disparo de neurônios noradrenérgicos localizados no locus coeruleus, região do cérebro com maior densidade deste tipo de neurônio que sintetiza e produz catecolaminas endógenas, (Cooper *et al.*, 1994). Este efeito é consistente com o aumento dos níveis sinápticos de

noradrenalina, que por sua vez inibe o disparo neuronal por meio de um mecanismo de feedback negativo de maneira auto-receptor mediada (Stahl *et al.*, 2004). Corroborando com esta ação do fármaco, Ghanbari, Mansari e Blier (2011) também observaram que a ativação tônica pós-sináptica de adrenoceptores α se mostrou aumentada em ratos tratados com bupropiona na dose de 30 mg/kg durante 14 dias consecutivos. Esse aumento das transmissões noradrenérgicas pode contribuir para a eficácia da droga no tratamento da depressão (figura 2).

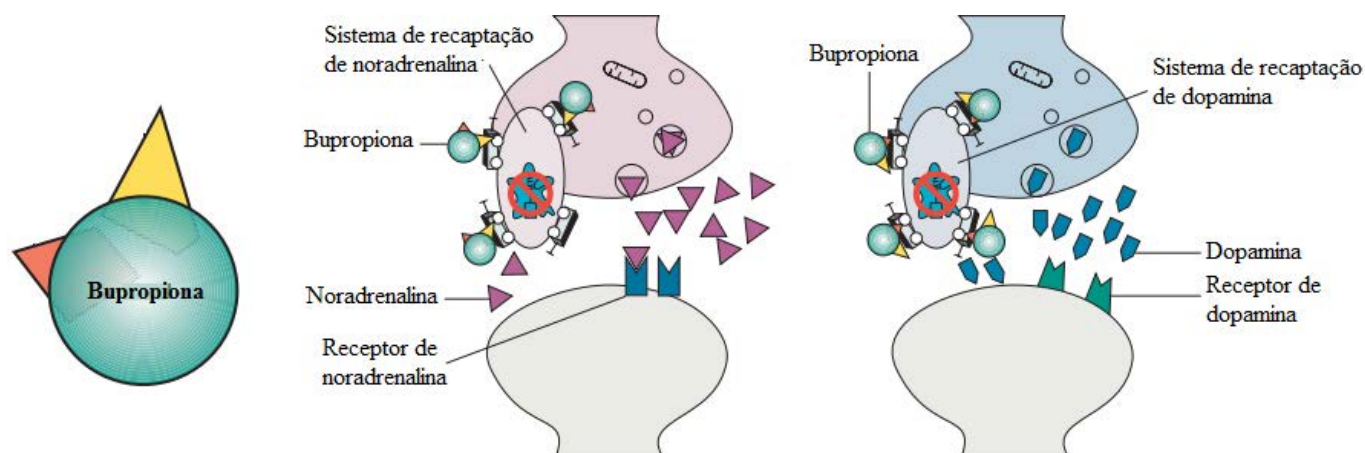


Fig. 2 - Esquema representando o bloqueio do sistema de recaptação de dopamina e noradrenalina pela bupropiona. Fonte: Stahl *et al.*, 2004, com modificações.

Assim, a bupropiona parece atuar aumentando a neurotransmissão tanto noradrenérgica e dopaminérgica via inibição da recaptação de DA e NE, sendo sua potência em inibir a recaptação de DA mil vezes maior do que para inibir a recaptação de NE, com pouco efeito na recaptação de serotonina e, além disso, seu mecanismo de ação pode envolver a liberação pré-sináptica dessas catecolaminas (Baldessarini, 2010).

Bupropiona e tabagismo

A bupropiona é indicada para o tratamento da depressão, prevenção de distúrbios depressivos sazonais e cessação do tabagismo em adultos (sob a marca Zyban - Glaxo Wellcome). Este fármaco pode também melhorar os sintomas de déficit de atenção e hiperatividade e tem sido utilizado *off-label* (usado de forma diferente daquela descrita na bula) para tratamento da dor neuropática e perda de peso (Baldessarini, 2010).

Os mecanismos pelos quais a bupropiona age para promover a cessação do tabagismo ainda não foram totalmente esclarecidos (Grabus *et al.*, 2012). Sabe-se que este fármaco alivia os sintomas da abstinência do tabaco (Perkins *et al.*, 2013) e que esse efeito pode ser devido a sua capacidade de modular os sistemas dopaminérgicos e noradrenérgicos (Cooper *et al.*, 1994), inibindo a função dos transportadores dessas monoaminas e aumentando as concentrações de DA e NE, o que pode substituir a liberação desses neurotransmissores pela nicotina aliviando os sintomas da falta do tabaco (Ascher *et al.*; 1995).

Estudos indicam que a bupropiona é um potente antagonista não competitivo dos receptores de acetilcolina nicotínicos, com maior efetividade em bloquear os receptores $\alpha_3\beta_2$ e $\alpha_4\beta_2$ do que α_7 (Slemmer *et al.*, 2000). Outro possível mecanismo é que a bupropiona pode prevenir o desenvolvimento da tolerância à nicotina, o que permite que os fumantes reduzam gradualmente a quantidade de cigarros consumidos, e até mesmo reverter essa tolerância adquirida com o hábito de fumar (Grabus, Carroll and Damaj, 2012).

A administração de bupropiona é normalmente iniciada pelo menos sete dias antes da tentativa de abandono ao vício, por isso não se sabe se a sua eficácia é devida ao bloqueio dos efeitos da nicotina antes desta tentativa e/ou à sua capacidade de aliviar os sintomas de abstinência de nicotina durante a cessação do tabagismo (Grabus, Carroll and Damaj, 2012).

Na Classificação Internacional de Doenças, o tabagismo situa-se no grupo dos transtornos mentais e de comportamentos relacionados ao uso de substâncias psicoativas (Zaitune *et al.*, 2012). Estima-se que entre 2020 e 2030 aproximadamente sete milhões de óbitos serão atribuíveis ao consumo de tabaco nos países em

desenvolvimento (Oliveira *et al.*, 2008). Cerca de 90% de todos os cânceres de pulmão são causados pelo uso do tabaco, além disso, o hábito de fumar é um importante fator de risco para doença coronariana, doença vascular periférica, acidente vascular cerebral, obstrução pulmonar crônica, alterações em parâmetros reprodutivos e no desenvolvimento fetal, entre outras condições (Carson *et al.*, 2013).

Em 1994 Ferry e Burchette conduziram um dos primeiros estudos utilizando a bupropiona, administrada até então somente no tratamento da depressão, para ajudar na cessação do tabagismo, e em 1997 o *Food and Drug Administration* (FDA) aprovou o uso deste fármaco nos Estados Unidos, sob o nome de *Zybam*, como primeiro tratamento não contendo nicotina a ser utilizado no combate ao hábito de fumar. Neste mesmo ano, pacientes não depressivos tratados com bupropiona nas doses de 100, 150 e 300 mg por dia, durante o período de sete semanas, apresentaram taxas de abandono ao tabagismo de 28,8, 38,6, e 44,2%, respectivamente, enquanto o grupo que recebeu apenas placebo apresentou a taxa de 19%, e no período de um ano após o final do tratamento estas respectivas taxas foram de 19,6, 22,9, 23,1 e 12,4% (Hurt *et al.*, 1997).

Pacientes com histórico de depressão ou alcoolismo tendem a apresentar piores resultados no tratamento para parar de fumar. O estudo conduzido por Hayford *et al.* (1999) onde 615 fumantes, apresentando ou não histórico desses dois transtornos, foram tratados diariamente com três diferentes doses de bupropiona (100, 150 e 300 mg) durante seis semanas, concluiu que o fármaco foi eficiente de maneira dose-dependente na abstinência do fumo independente da história de depressão e alcoolismo. Confirmando esses resultados McGeary *et al.* (2013) não encontraram nenhuma evidência de que a variação genética prevê uma resposta diferencial a bupropiona para a cessação tabágica em alcoólatras.

Apesar da bupropiona ter sido aprovada como tratamento para parar de fumar em 1997 (Hughes *et al.*, 1999) este fármaco ainda é considerado um medicamento de primeira linha na cessação ao tabagismo e seus efeitos são constantemente estudados até hoje (Carson *et al.*, 2013).

Afirmando que estudos publicados até então relatavam a eficiência da bupropiona somente na população norte americana, Aubin *et al.*, em 2004, avaliaram o efeito deste medicamento em 509 fumantes europeus, entre eles homens e mulheres, que desejavam parar de fumar e observaram uma taxa de abstinência de 25% no grupo

tratado com a bupropiona conta 13% do grupo que recebeu placebo, constatando a eficiência deste fármaco como opção para a cessação do tabagismo também em fumantes europeus. Em estudo recente, Sheng *et al.* (2013) constataram a eficiência da bupropiona na cessação tabágica, em pacientes chineses saudáveis, ao observarem uma taxa de abstinência de 39,8 e 8% em no grupo tratado com bupropiona e placebo respectivamente. Neste estudo, o fármaco em questão foi bem tolerado e provocou poucos efeitos secundários.

A bupropiona é efetiva em aliviar rapidamente os sintomas da abstinência ao tabaco quando se está começando a parar de fumar, período em que as recaídas são mais frequentes, melhorando inclusive os déficits cognitivos induzidos pela abstinência (Perkins *et al.*, 2013). Por essa razão, muitas vezes o tratamento com bupropiona vem complementando o tratamento com outros fármacos utilizados no combate ao tabagismo, como a vareniclina que, apesar de ter impacto significativo no combate ao hábito de fumar, pode desencadear nos pacientes efeitos colaterais semelhantes aos sintomas da abstinência à nicotina (Issa *et al.*, 2013).

Com relação à terapia de reposição de nicotina (TRN), não existe diferença na eficácia entre a cessação do tabagismo fazendo uso de bupropiona, TRN e da combinação de ambos em pacientes saudáveis, no entanto, evidências apontam que a bupropiona é mais benéfica do que TRN no caso de fumantes com histórico de depressão (Stapleton *et al.*, 2013).

Pacientes com idades entre 16 e 19 anos que estavam sem consumir cigarros já há cinco dias e passaram a utilizar a bupropiona, na dose de 150 mg durante 90 dias, apresentaram taxa de abstinência maior do que os jovens que receberam apenas placebo (Niederhofer & Huber, 2004). No entanto os autores deste estudo incluíram apenas adolescentes que foram capazes de manter abstinência pelo período de cinco dias antes do início do tratamento, diminuindo assim a abrangência da eficácia da bupropiona dentro da população jovem (Bailey, *et al.*, 2012).

Outros dois estudos utilizando a bupropiona em adolescentes que desejavam parar de fumar na dose de 150 mg concomitante com a TRN (Killen *et al.*, 2004) e com o método de gestão de contingência (CM) (Gray *et al.*, 2011), demonstraram que o uso deste fármaco combinado à TRN não aumentou a taxa de abstinência quando comparado ao grupo placebo combinado à TRN. Por outro lado a ação combinada da

bupropiona e CM aumentou as taxas de abstinência em relação aos grupos tratados com bupropiona sem CM e placebo com CM.

Adolescentes que receberam a dose de 300 mg de bupropiona durante seis semanas apresentaram taxa de abstinência de tabaco de 14,5% enquanto que nos jovens que receberam apenas placebo esta taxa foi de 5,6% (Muramoto *et al.*, 2007).

Dessa maneira, apesar da aparente eficiência da bupropiona na cessação tabágica de jovens, nenhum dos resultados obtidos com adolescentes foi semelhante aos encontrados em estudos com adultos, onde o efeito da bupropiona na abstinência do fumo comparada a placebo, após período de seis meses ou mais, é bastante significativo (Hughes, Stead and Lancaster, 2007).

Assim, desde 2008, a bupropiona não é bem aceita pelo *Practice Guidelines for Treating Tobacco Use and Dependence* (2008) como uma opção de tratamento para adolescentes fumantes.

Em mulheres grávidas, o tabagismo é uma das principais causas reversíveis de complicações gestacionais entre elas a gravidez ectópica, o aborto espontâneo, a insuficiência placentária e o parto prematuro, além de oferecer sérios riscos à saúde do bebê tais como baixo peso ao nascer, restrição de crescimento fetal, fissuras orofaciais, doenças respiratórias na infância, transtorno de déficit de atenção, e alguns tipos de cânceres infantis (Einarson & Riordan, 2009; Murin *et al.*, 2011).

O estudo conduzido por Chan, Einarson e Koren (2005) com gestantes fumantes confirmou a eficiência deste fármaco, uma vez que a taxa de abstinência das mulheres que receberam bupropiona foi de 45% enquanto que essa taxa para mulheres que receberam placebo foi de apenas 14%.

O fabricante do fármaco, Glaxo Smith Kline, em 1997 estabeleceu um registro (*Bupropion Pregnancy Registry*) para acompanhar os resultados de gestações em que mulheres fizeram uso da bupropiona. Até o final de março de 2008, foram relatados nesse registro 24 casos de anomalias congênitas, nove deles sendo cardiopatias, em 675 recém-nascidos de mulheres que fizeram uso deste medicamento no primeiro trimestre da gravidez. Além disso, Alwan *et al.* (2010) identificaram correlação positiva entre o uso de bupropiona na fase inicial da gravidez e defeitos cardíacos na artéria ventricular esquerda de crianças recém-nascidas.

Em ratas Wistar tratadas com bupropiona nas doses de 5 e 10 mg/kg/dia desde 14 dias antes do acasalamento até o desmame da ninhada, o fármaco não causou alteração metabólica na prole, a não ser por uma diminuição significativa no peso dos filhotes de mães tratadas com a dose mais alta. Além disso, com exceção da instalação acelerada da puberdade na prole F1 e F2 (através de um mecanismo ainda desconhecido), a administração de bupropiona para fêmeas prenhes não teve impacto sobre parâmetros de fertilidade ou de prenhez tanto para as mães quanto para as proles femininas (De Long *et al.*, 2013).

Sistema genital masculino

No rato, assim como na maioria dos mamíferos, o sistema genital masculino é composto por um par de testículos, que são as gônadas masculinas propriamente ditas e, portanto, produzem os gametas masculinos, e pelas vias espermáticas formadas por: epidídimos, responsáveis pela maturação e armazenamento dos espermatozoides; ductos deferentes, que conduzem os espermatozoides até a uretra; glândulas sexuais, responsáveis pela secreção do fluido seminal; e pênis, órgão copulatório (Junqueira & Carneiro, 2011) (figura 3).

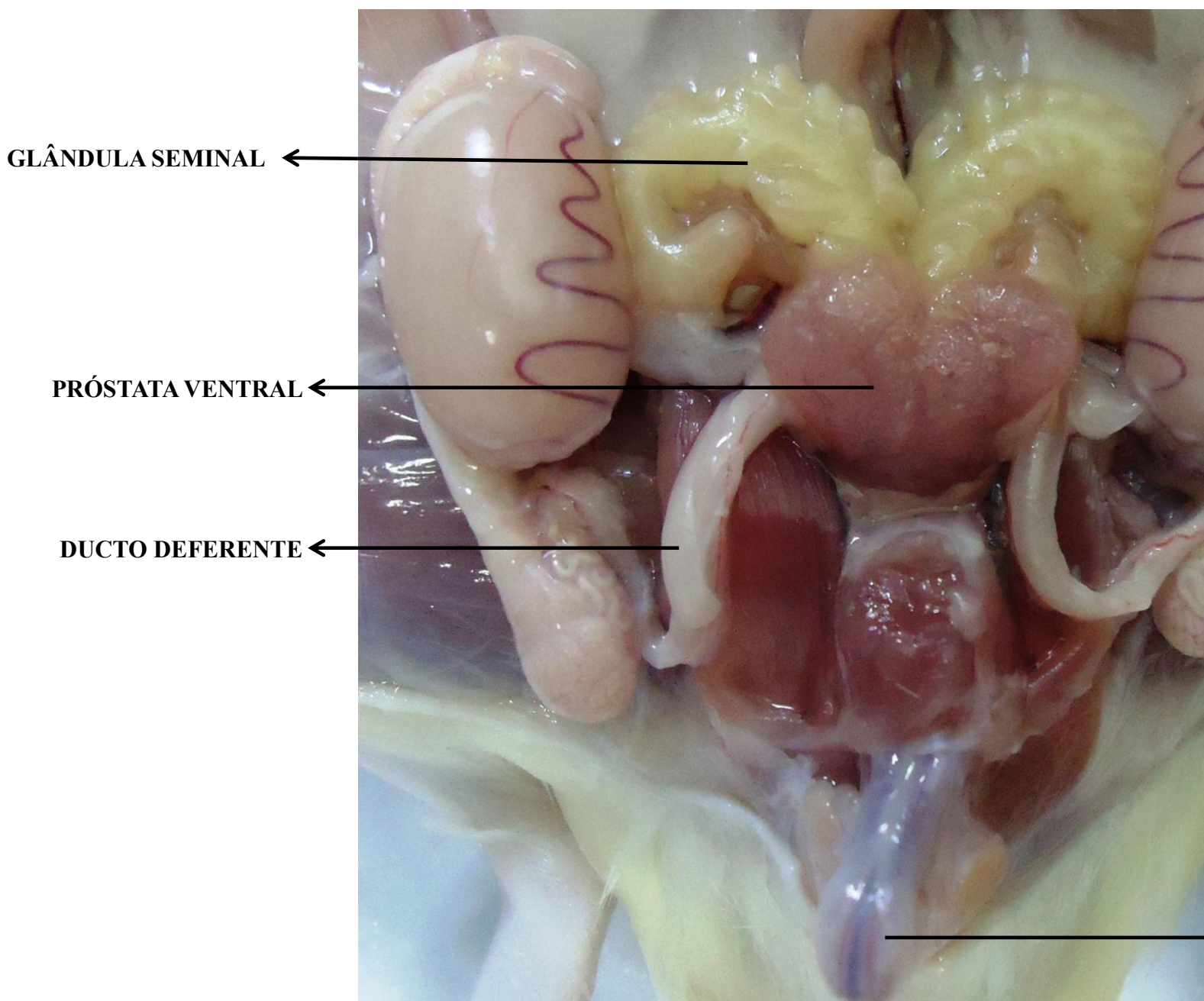


Fig. 3 – Sistema genital masculino de rato *Wistar*. Fonte: Laboratório de Toxicologia da Reprodução e do Desenvolvimento - ReproTox, 2012.

As principais funções do sistema genital masculino são a produção de espermatozoides (espermato gênese) e de hormônios como a testosterona, no entanto, é importante ressaltar que o trato reprodutivo masculino não somente produz gametas como também coordena a liberação e transporte destes para o epidídimo, onde a maturação e armazenamento espermático ocorrem (Amman, 1981).

Testículos

Cada testículo é envolvido por uma camada de tecido conjuntivo denso denominada túnica albugínea que se espessa na superfície dorsal dos testículos para formar o mediastino, do qual partem septos fibrosos que dividem este órgão em compartimentos chamados lóbulos testiculares. Cada lóbulo é ocupado por um a quatro túbulos seminíferos, responsáveis pela produção das células reprodutoras masculinas: os espermatozoides. Estes túbulos são envoltos por tecido conjuntivo frouxo rico em vasos sanguíneos e linfáticos, nervos e células de Leydig, secretoras do andrógeno testicular testosterona (Russell *et al.*, 1990; Junqueira & Carneiro, 2004) (figura 4).

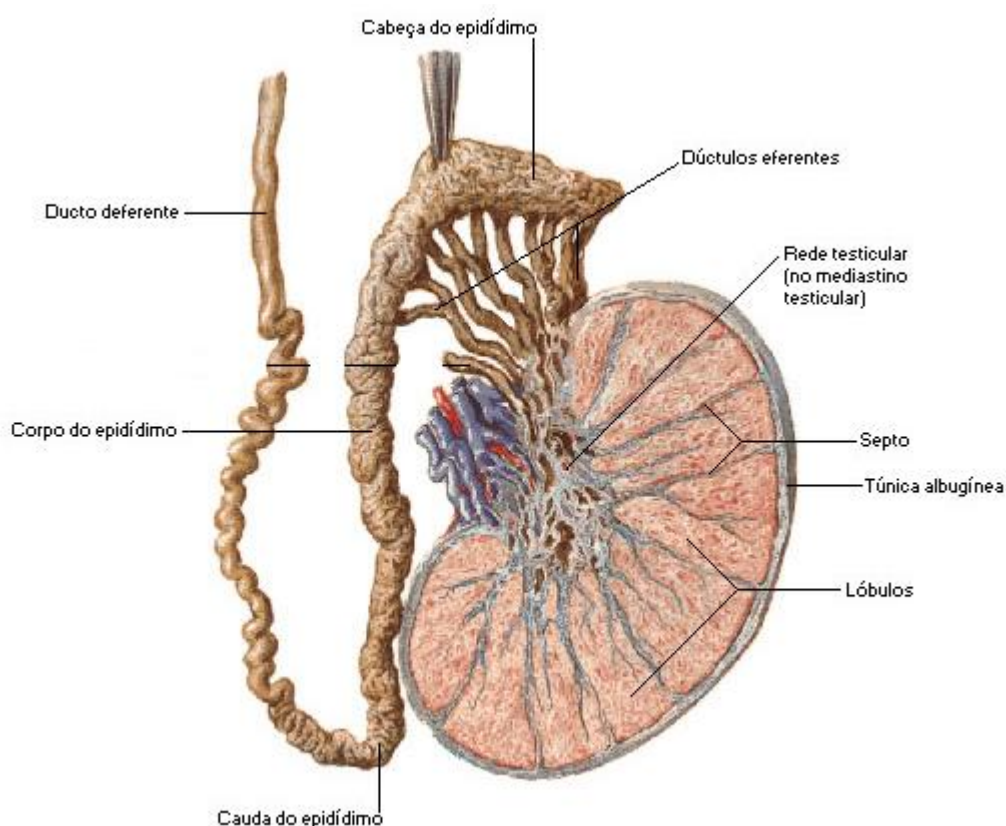


Fig. 4 – Representação esquemática de testículo humano. Fonte: Netter, 2000, com modificações.

As células de Leydig são células da linhagem estereidogênica responsáveis pela maior parte da produção de testosterona, hormônio chave requerido ao longo da vida fetal e adulta para a virilização e espermatogênese (Defalco *et al.*, 2013). Em 1850, Franz von Leydig descreveu células do interstício presentes em pequenas quantidades ao longo do curso dos vasos sanguíneos, mas aumentando consideravelmente em número quando circundante ao túbulo seminífero. Estas células intersticiais mais tarde foram chamadas por ele de "células de Leydig" (Felici and Dolci, 2013). No entanto, apenas 100 anos depois, em 1958, surgiu a primeira evidência obtida por histoquímica de que estas células produziam androgênios (Wattenberg, 1958).

Existem três tipos celulares presentes nos túbulos seminíferos: as células germinativas, células que participaram da formação dos gametas, as células de Sertoli e as células mióides ou peritubulares (Russell *et al.*, 1990; Johnson, Welsh & Wilker, 1997) (figura 5).

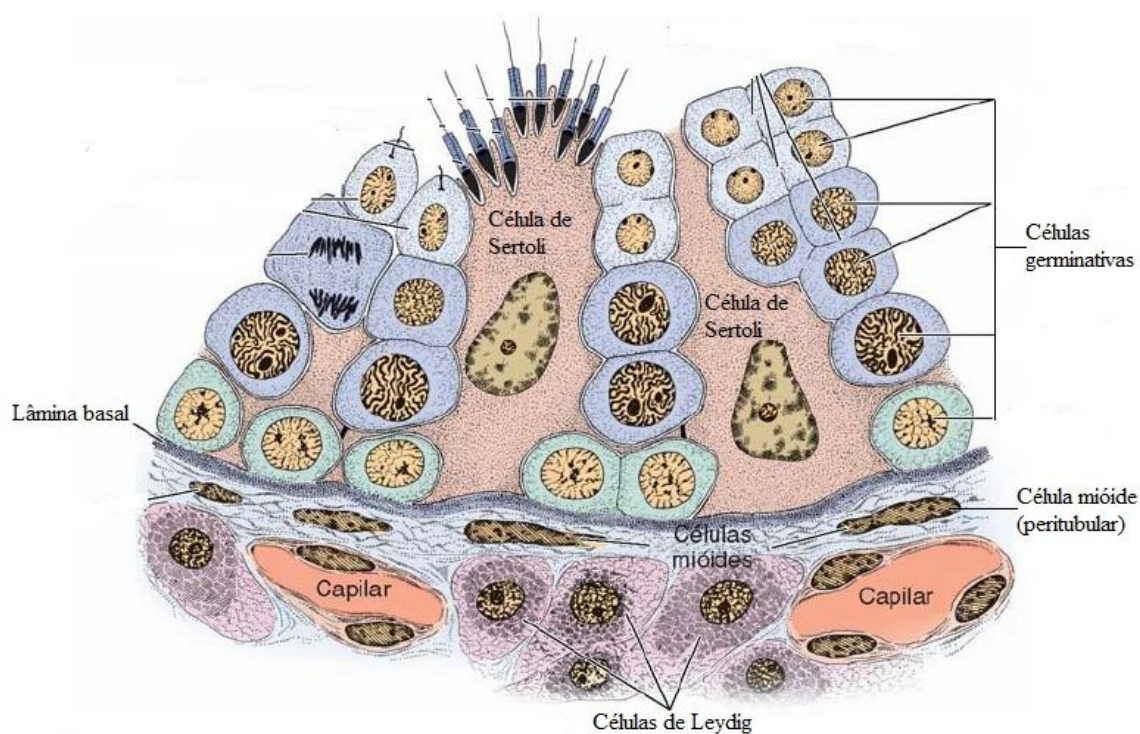


Fig. 5 – Representação esquemática de corte de túbulo seminífero. Fonte: Junqueira & Carneiro, 2004, com modificações

As células mióides, também chamadas peritubulares, são responsáveis pelas contrações lentas e rítmicas dos túbulos seminíferos auxiliando a movimentação dos espermatozoides e do fluido testicular através destas estruturas até os ductos eferentes e epidídimo. Camadas circundantes destas células têm sido encontradas nos túbulos seminíferos de todas as espécies de mamífero, mas a sua organização no interstício peritubular varia dependendo da espécie. Em roedores de laboratório, incluindo ratos, hamsters e camundongos, uma única camada de células mióides é vista no testículo, enquanto que em humanos e em outros animais existem várias camadas destas células na lâmina própria dos túbulos seminíferos (Maekawa, Kamimura and Nagano, 1996).

Nos túbulos seminíferos também estão as células de Sertoli, que dão suporte as células germinativas em diferentes fases do desenvolvimento (Foley, 2001). Células de Sertoli adjacentes são unidas por junções ocludentes nas suas paredes baso-laterais formando a barreira hematotesticular, que protege as células germinativas, nas etapas mais avançadas da espermatogênese, da reação auto-imune e de substâncias tóxicas que possam entrar em contato com os testículos via circulação (Junqueira & Carneiro, 2004). Além disso, estas células também fagocitam os corpos residuais das espermatídes durante a espermiogênese, secretam o fluido testicular, que facilita o transporte dos espermatozoides, secretam proteína ligante de andrógeno e hormônio antimülleriano (Foley, 2001).

Além das células mióides e de Sertoli, o epitélio seminífero é constituído pelas células germinativas que participam da espermatogênese, processo através do qual os espermatozoides são formados a partir de espermatogônias que sofrem meiose. Este processo se inicia na vida pré-natal, torna-se ativo a partir da puberdade e é contínuo até a senescência (Garcia and Fernández, 2012).

A organização do epitélio seminífero em mamíferos demonstra que a espermatogênese é cíclica e contínua, assim, as relações estruturais entre as células de Sertoli e as células germinativas desempenham certamente um papel importante na regulação deste ciclo (França *et al.*, 1993). Apenas em algumas espécies onde os

machos são sazonais, como os peixes e os anfíbios este processo não é contínuo, uma vez que as gônadas regredem fora da estação reprodutiva (Garcia and Fernández, 2012).

A inervação autônoma testicular se dá pela presença dos nervos espermáticos superiores, que se originam do gânglio mesentérico superior chegando à gônada via artéria testicular, e dos nervos espermáticos inferiores, que se originam do gânglio mesentérico inferior acompanhando o ducto deferente e penetrando no testículo pelo pólo inferior (Sosa *et al.*, 2009).

Epidídimo

A função primária do epidídimo é transportar os espermatozoides que chegam do testículo para o ducto deferente (Orgebin-Crist, 1969; Brooks, 1983). Além disso, o epidídimo é responsável pela estocagem, proteção, concentração e maturação destes gametas (Cosentino & Cockett, 1986; Hermo and Robaire, 2002).

O epidídimo é um órgão do sistema genital masculino formado por um único ducto altamente enovelado, podendo chegar a 60 metros de comprimento em mamíferos de grande porte. Esse ducto transporta os espermatozoides que chegam do testículo, via ductos eferentes, até o ducto deferente (Hermo and Robaire, 2002; Gatti *et al.*, 2004; Junqueira & Carneiro, 2004). De maneira geral, este órgão é dividido em três regiões distintas: cabeça, corpo e cauda e, em ratos pode se adicionar mais uma região diferenciada denominada segmento inicial. Dependendo das espécies, essas três regiões podem ainda ser subdivididas em vários segmentos (Gatti *et al.*, 2004; França *et al.*, 2005) (figura 6).

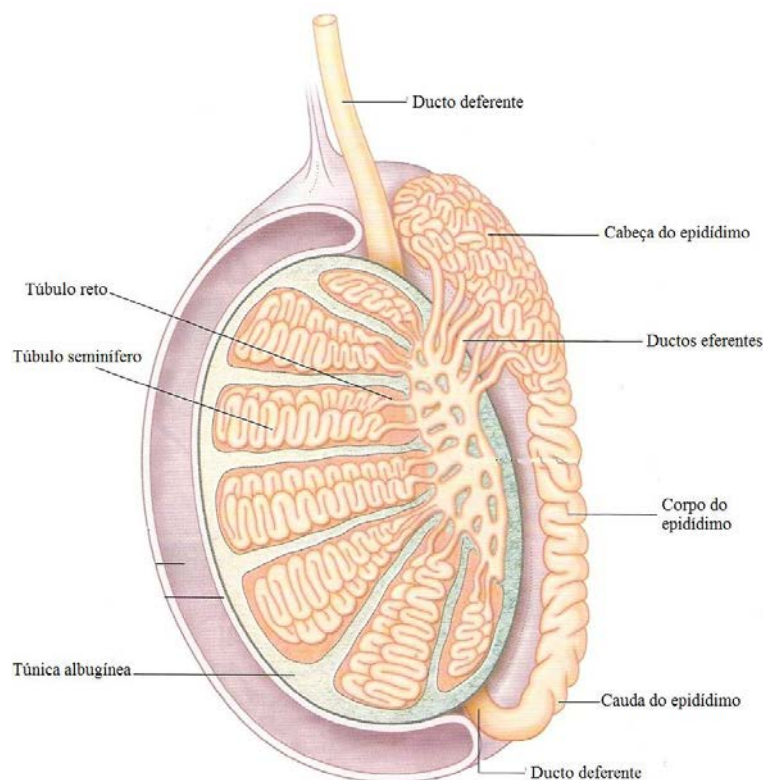


Fig. 6 - Representação esquemática de epidídimo humano. Fonte: Google imagens, com modificações. Disponível em: <<http://dc99.4shared.com/doc/qzalW5rB/preview.html>>.

Do ponto de vista funcional o epidídimo possui três segmentos, no entanto, o ducto epididimário apresenta muitas regiões citologicamente distintas (Amann and Schanbacher, 1983), sendo constituído por epitélio colunar pseudo-estratificado composto por seis tipos celulares: células estreitas, apicais, claras, basais, halo e principais, que desempenham diferentes funções necessárias para o bom funcionamento deste órgão (Hermo and Robaire, 2002). Este epitélio apoia-se na lâmina basal, cercada por células musculares lisas cujas contrações peristálticas auxiliam a mover o fluido e os espermatozoides ao longo do lúmen epididimário (Junqueira & Carneiro, 2004).

As células estreitas e as apicais, presentes apenas no segmento inicial e na porção intermediária da região da cabeça do epidídimo, apresentam vesículas em suas extremidades relacionadas à atividade endocítica destas células (Robaire and Orgebin-Crist, 2006). Além disso, as células estreitas desempenham papel importante na acidificação do meio ambiente intraluminal e, no rato, também parecem estar

envolvidas na síntese e secreção apócrina de esteróides (Hermo, Huzaifa and Andonian, 2000).

Dois tipos de células claras, presentes na cabeça, corpo e cauda, podem ser observados no epidídimo de rato. O tipo I apresenta núcleo central e presença de gotículas lipídicas no citoplasma, localizando-se no corpo do epidídimo, ao passo que o tipo II apresenta núcleo basal e não possui gotículas lipídicas citoplasmáticas, sendo encontrado na cauda deste órgão. Estudos indicam que as células claras desempenham dupla função: absorção e secreção de substâncias do/para o lúmen epididimário, sendo que ambas as funções não são realizadas simultaneamente. O tipo I de células claras parece secretar glicolipoproteínas enquanto o tipo II secreta glicoproteínas (Anand Kumar, Prakash and Prasad, 1980).

As células basais estão presentes em grande quantidade ao longo de todo epitélio do epidídimo, expressam antígenos de macrófagos e por isso sabe-se que desempenham papel de defesa semelhante ao das células do sistema imune, reconhecendo, porém, auto-antígenos presentes nos espermatozóides que passam e são estocados no epidídimo (Seiler *et al.*, 1998; Leung *et al.*, 2004). Estas células são equipadas com complexo de Golgi e possuem grânulos de secreção abundantes, indicando que estão ativamente envolvidas na secreção de fatores que podem servir como reguladores das células principais e outras células (Hermo and Robaire, 2002).

As células halo são encontradas em várias posições dentro do epitélio do epidídimo fazendo parte do sistema imune e são classificadas como tipos de monócitos ou linfócitos (Robaire and Viger, 1995).

As células principais apresentam diferenças morfofuncionais visíveis em diferentes regiões do epidídimo, no entanto, independente do segmento em que se encontram, a porção apical dessas células possui junções oclusivas que são em grande parte responsáveis pela barreira hemato-epididimária (Cyr *et al.*, 2002; França *et al.*, 2005). Estas células apresentam função secretora de proteínas para o compartimento luminal e endocítica de proteínas presentes no fluido luminal, fornecendo um microambiente altamente especializado onde ocorre o transporte, amadurecimento e armazenamento dos espermatozoides (Hermo, Oko and Morales, 1994; Robaire and Viger, 1995).

Durante o trânsito através do epidídimo os espermatozoides adquirem motilidade e capacidade fértil (Yanagimachi, 1994; Cuasnicu *et al.*, 2002). Neste processo, a contração das fibras musculares que revestem esse órgão, e que recebem inervação de fibras adrenérgicas do sistema nervoso simpático, é importante para definir o tempo do trânsito espermático e a expulsão dos espermatozoides da região da cauda para o ducto deferente (Setchell, 2002).

Em ratos, o epidídimo recebe inervação autônoma simpática e parassimpática carregada pelos nervos hipogástricos e pélvicos, respectivamente (Gerendai *et al.*, 2001; Ricker, 1998). O nervo hipogástrico, vindo do gânglio mesentérico inferior, além de derivar as fibras simpáticas emite prolongamentos aos nervos espermáticos inferiores e medianos, que em várias espécies estende-se até o epidídimo pelo ducto deferente (Setchell, 2002).

As fibras simpáticas encontram-se associadas predominantemente com as camadas de músculo liso do epidídimo, e estão presentes ambos receptores α e β -adrenérgicos nesta parede de musculatura lisa que envolve este órgão, sugerindo a importância da inervação adrenérgica na modulação da contratibilidade do ducto epididimário (Gerendai *et al.*, 2001; Setchell and Breed, 2006). De fato, a simpatectomia cirúrgica ou química do epidídimo altera significativamente o transporte e armazenamento de espermatozoides (Billups *et al.*, 1990; Kempinas *et al.*, 1998).

É importante ressaltar que os espermatozoides adquirem motilidade e capacidade fértil durante sua passagem pelo epidídimo e que a redução do tempo de travessia por este órgão prejudica o processo de maturação espermática (Fernandez *et al.*, 2008; Borges *et al.*, 2013). Na cauda do epidídimo de ratos submetidos a ensaios de contratibilidade do ducto epididimário *in vitro*, a inibição do processo de recaptura neuronal da noradrenalina pela cocaína aumentou em até 40 vezes a sensibilidade do tecido à atividade contrátil por este neurotransmissor, demonstrando a importância deste processo no controle da motilidade do ducto epididimário (Nojimoto *et al.*, 2009).

Penis

Os principais componentes do pênis são dois corpos cavernosos bilaterais, localizados na porção dorsal deste órgão, o corpo esponjoso, localizado ventralmente, e a uretra (Junqueira & Carneiro, 2004).

Os corpos cavernosos, formados por grande quantidade de espaços venosos e múltiplos sinusóides compostos de músculo liso e endotélio, são envolvidos por espessa camada de tecido conjuntivo denso, denominada túnica albugínea. Enquanto o corpo esponjoso, que envolve a uretra, é delimitado por uma camada mais fina de túnica albugínea e encontra-se anatomicamente independente dos corpos cavernosos (Patel, Halls and Patel, 2012).

A ereção é o resultado final de um complexo processo neurovascular controlado por impulsos nervosos sobre os músculos lisos das artérias do pênis e das trabéculas que cercam os espaços vasculares dos corpos cavernosos, e reflexo espinal que, dependendo do contexto em que ocorre, envolve diferentes mecanismos neurais e/ou humorais centrais e periféricos (Andersson, 2011). O corpo cavernoso é innervado por três vias neuroefetoras responsáveis pela modulação de seu tônus: uma via adrenérgica, uma colinérgica e uma terceira denominada não-adrenérgica e não-colinérgica (Andersson, 2001). Os processos de ereção e detumescência consistem em complexas interações envolvendo o sistema nervoso autônomo e a subsequente variação no fluxo sanguíneo local, determinando o estado funcional do pênis, flácido ou tumescente (Andersson, 2001).

No estado flácido o fluxo de sangue no pênis é pequeno, mantido pelo tônus intrínseco da musculatura lisa deste órgão e por impulsos contínuos de inervação simpática. Quando impulsos vasodilatadores do parassimpático, associados à concomitante inibição de impulsos vasoconstritores do simpático, causam o relaxamento dos vasos penianos e do músculo liso dos corpos cavernosos, estes se enchem de sangue e o pênis intumescce, resultando na ereção. Após a ejaculação, a atividade parassimpática é reduzida e o pênis volta ao seu estado flácido (Junqueira & Carneiro, 2004).

A ereção ocorre quando um estímulo erótico, recebido por qualquer um dos sentidos e processado no hipotálamo, provoca inibição do tônus simpático, aumento da neurotransmissão parassimpática e liberação de óxido nítrico pelas vias não-adrenérgica e não-colinérgica e por células endoteliais das arteríolas do pênis (Thomas, 2002).

O óxido nítrico, considerado atualmente o principal modulador bioquímico da ereção peniana, ativa a enzima guanilato ciclase, responsável pela síntese de guanosina monofosfato cíclica, que por sua vez diminui o influxo de cálcio na musculatura vascular e no corpo cavernoso do pênis, induzindo o relaxamento muscular, permitindo a entrada de sangue nos sinusóides cavernosos e produzindo a ereção (Thomas, 2002).

Apesar de toda ação periférica coordenada necessária para a obtenção da ereção, quem comanda a ocorrência da mesma é o cérebro. Estruturas supraespinhais são capazes, por si próprias, de iniciar a ereção, provavelmente via projeções diretas aos núcleos espinhais. Nesse contexto, o hipotálamo é a principal estrutura supraespinhal

envolvida no controle e modulação dos mecanismos que levam à ereção (Giulianoa & Rampin, 2000).

Diversos neuromoduladores como o óxido nítrico, a serotonina, a dopamina e a ocitocina estão envolvidos no controle dos estímulos pró-eréteis nas diversas regiões centrais envolvidas, e, em particular, o papel da dopamina tem se mostrado fundamental na mediação das respostas eréteis (Heaton, 2000).

As vias dopaminérgicas responsáveis pelo controle da motivação sexual são: a via nigroestriatal, relacionada à resposta a estímulos sexuais e aos aspectos motores necessários à consumação da cópula, a via mesolímbica, relacionada a fatores de libído, e a via incerto-hipotalâmica, responsável pela liberação de dopamina no hipotálamo, sendo esta a via diretamente ligada aos efeitos pró-eréteis de agentes dopaminérgicos (Hull *et al.*, 1999).

O estímulo de receptores dopaminérgicos no hipotálamo dispara uma cascata de eventos bioquímicos intracelulares que levam ao aumento da síntese de óxido nítrico, que por sua vez estimula a liberação de ocitocina em outras regiões do sistema nervoso central, como o hipocampo e a medula espinhal, resultando na promoção da ereção peniana (Melis & Argiolas, 1997). Além disso, a presença de testosterona é essencial para o efeito de agonistas dopaminérgicos, e a redução nos níveis deste hormônio influencia indiretamente os efeitos da dopamina sobre os mecanismos eréteis (Heaton, 2000).

Bupropiona e disfunção sexual

Antidepressivos de primeira geração, tricíclicos e inibidores da MAO estão associados à sedação, ganho de peso, efeitos adversos cardíacos, além de efeitos anti-colinérgicos, dentre eles dificuldade respiratória, boca e narinas secas, visão borrada, pupilas dilatadas, diminuição da pressão arterial, intestino preso e aumento da temperatura corporal (Serreti & Chiesa, 2009). Quando inibidores seletivos da recaptação de serotonina e de serotonina e noradrenalina, que apresentam um perfil mais seguro, foram desenvolvidos e tornaram-se largamente disponíveis, foi dada maior atenção a efeitos adversos previamente desconsiderados, em particular, a disfunção sexual (Rothschild, 2000).

A atividade sexual humana é modulada por uma série de neurotransmissores e hormônios, no entanto, seu mecanismo de ação sobre as três fases do ciclo de resposta sexual (desejo, excitação e orgasmo) ainda é mal compreendido (La Torre *et al.*, 2013).

Sthal (2008) sugere que os neurotransmissores envolvidos nas três fases do ciclo de resposta sexual humana têm diferentes mecanismos de ação. Na fase de desejo, DA, melanocortina, testosterona e estrogênio exercem influência positiva, enquanto a prolactina e a serotonina têm efeitos negativos. Na fase de excitação, vários neurotransmissores estão envolvidos com a ereção em homens e com o intumescimento e lubrificação vaginal nas mulheres entre eles o óxido nítrico, NE, melanocortina, testosterona, estrogênio, acetilcolina e DA. E assim como acontece com o desejo, a serotonina tem um efeito negativo nesta fase. Por fim, o orgasmo, associado à ejaculação em homens, é inibido pela serotonina e facilitado principalmente pela NE, porém, a DA e o óxido nítrico podem exercer fracas influências positivas nesta fase.

Nos últimos anos, a disfunção sexual induzida por tratamento farmacológico tem sido objeto de interesse crescente, e a maior parte dos estudos voltados a este tema refere-se a medicações antidepressivas (La Torre *et al.*, 2013).

Numerosos trabalhos têm mostrado a relação entre antidepressivos e disfunção sexual, sempre chamando atenção para o fato de que as maiores incidências de efeitos adversos na função sexual aparecem em pacientes que fazem uso de medicamentos inibidores da recaptura neuronal de serotonina, como citalopram, fluoxetina, paroxetina, sertralina e fluvoxamina, e inibidores da recaptura de serotonina e NE, como a venlafaxina e duloxetina (Balon, 2006; Werneke, Northey & Bhugra, 2006; Williams *et al.*, 2010; Baldwin & Foong, 2013).

Dentre os antidepressivos de segunda geração, a bupropiona está associada a menores taxas de disfunção sexual quando comparada ao escitalopram, fluoxetina, paroxetina e sertralina, todos inibidores da recaptura de serotonina (Gartlehner *et al.*, 2011). A bupropiona age como inibidor da recaptura de NE e DA, sua falta de atividade serotoninérgica e as suas ações dopaminérgicas e noradrenérgicas sugerem uma menor incidência de disfunção sexual nos pacientes que fazem uso deste fármaco (Werneke, Northey & Bhugra, 2006).

Quase dez anos após a publicação dos primeiros trabalhos confirmando a ação da bupropiona como medicação antidepressiva, Gardner e Johnston (1985) conduziram um estudo onde homens que apresentavam histórico de disfunção sexual, durante o período em que foram tratados com antidepressivos tricíclicos, inibidores da MAO, maprotilina e trazodona, tiveram seus problemas de ordem sexual resolvidos após a substituição de seus tratamentos pelo uso da bupropiona. Com base nessas observações, os autores demonstraram pela primeira vez a baixa propensão deste fármaco em induzir efeitos adversos nas funções sexuais.

Ainda na década de 80, um estudo inovador demonstrou melhora nos aspectos psicológicos da disfunção sexual devido ao tratamento farmacológico, quando pacientes, homens e mulheres, portadores de disfunção psicosssexual (aversão sexual/desejo sexual inibido, excitação inibida e/ou inibição do orgasmo) apresentaram melhora significativa na libido e funções sexuais após tratamento com bupropiona (Crenshaw *et al.*, 1987).

Homens e mulheres sem histórico de depressão tratados com bupropiona, nas doses de 150 mg/dia e 300 mg/dia, relataram que este fármaco pode ser um agente útil para o tratamento de atraso ou inibição orgásmica e desordens da excitação sexual, uma vez que ambos os sexos relataram melhorias nestes parâmetros (Modell *et al.*, 2000). Além disso, a bupropiona mostrou ser eficiente em reverter os efeitos sexuais adversos ocasionados pelo tratamento com inibidores da recaptura neuronal de serotonina em pacientes depressivos (Modell *et al.*, 1997; Clayton *et al.*, 2001; Clayton *et al.*, 2004; Safarinejad, 2010).

Pacientes que desenvolveram anorgasmia e atraso orgásmico durante o tratamento para depressão com fluoxetina apresentaram melhora significativa de suas funções sexuais a partir do momento em que sua medicação foi trocada pela bupropiona (Walker *et al.*, 1993). Depois deste ensaio clínico, muitos outros estudos testaram e comprovaram a eficiência da terapia combinada de bupropiona e fluoxetina para tratamento da depressão a fim de reverter e evitar a disfunção sexual causada por este inibidor de recaptção de serotonina (Labbate *et al.*, 1997; Ashton and Rosen, 1998; Gitlin *et al.*, 2002).

Ratos machos, da linhagem Sprague–Dawley, tratados com fluoxetina, desipramina e bupropiona, a fim de se desenvolver um método preditivo para avaliar a

disfunção sexual induzida por este tipo de medicamento, apresentaram reduções no número de ereções penianas de 71, 53 e 8% respectivamente. Demonstrando menor incidência de efeitos adversos da função sexual no tratamento com bupropiona (Sukoff Rizzo, Schechter & Rosenzweig-Lipson, 2008).

Coleman *et al.* (2001), após compararem a eficácia, tolerabilidade e os efeitos sobre a função sexual da bupropiona e da fluoxetina em pacientes depressivos, concluíram que os dois fármacos foram igualmente eficazes e bem tolerados no tratamento da depressão. No entanto, disfunção orgásmica, desordem de desejo sexual e desordem de excitação sexual foram mais frequentes nos pacientes tratados com fluoxetina do que nos pacientes que receberam bupropiona, assim, os autores sugerem a bupropiona como a escolha mais adequada para pacientes preocupados com seu desempenho sexual.

Em comparação a outros inibidores da recaptação da serotonina bastante populares e frequentemente prescritos, como a paroxetina e a sertralina, a bupropiona mais uma vez se mostrou eficaz e bem tolerada pelos pacientes no tratamento da depressão sem causar efeitos adversos na função sexual dos mesmos. Pacientes depressivos com histórico de alterações da função sexual antes do início do tratamento observaram melhora no quadro de disfunção sexual após a utilização da bupropiona (Coleman *et al.*, 1999; Segraves *et al.*, 2000; Kennedy *et al.*, 2006).

A venlafaxina é uma medicação antidepressiva que age inibindo a recaptação de serotonina e noradrenalina, aumentando a disponibilidade destas monoaminas na fenda sináptica. Em doses baixas este fármaco inibe apenas a recaptura de serotonina, já em doses altas ela inibe também a recaptura de noradrenalina e em doses muito altas a recaptação de dopamina também é bloqueada. Assim, teoricamente, os efeitos adversos na função sexual devem diminuir com o aumento da dose de venlafaxina (Werneke, Northey and Bhugra, 2006).

O único estudo comparando o impacto do tratamento com bupropiona e com venlafaxina sobre a função sexual de pacientes depressivos demonstrou que a bupropiona apresenta menores efeitos sexuais adversos do que a venlafaxina. Homens e mulheres, sem histórico de disfunção sexual no início do tratamento, passaram a apresentar desordens na função sexual após serem medicados com venlafaxina,

enquanto que nos pacientes tratados com bupropiona a função sexual foi melhorada ou permaneceu inalterada (Thase *et al.*, 2006).

A epidemia mundial de diabetes e obesidade resultou em um rápido aumento na prevalência da síndrome metabólica, o que torna o indivíduo susceptível à disfunção endotelial o que leva à alteração da capacidade de produção de óxido nítrico, podendo iniciar um quadro de disfunção sexual (Amidu *et al.*, 2013). Além disso, a depressão e parte dos medicamentos utilizados para tratá-la podem impor risco adicional de disfunção sexual em pacientes com diabetes (Montejo-González *et al.*, 1997).

Pacientes depressivos portadores de diabetes tipo II tratados com bupropiona obtiveram melhora significativa em suas funções sexuais (Sayuk *et al.*, 2011). Homens diabéticos, não depressivos, apresentando disfunção erétil que fizeram uso de bupropiona demonstraram tendência à melhora da resposta erétil, tornando o fármaco em questão uma opção para o tratamento de depressão em homens diabéticos ou em outras pessoas a quem a disfunção sexual seja uma preocupação (Rowland *et al.*, 1997).

A ejaculação tardia crônica é uma condição relativamente rara na prática clínica descrita como o atraso persistente do orgasmo após excitação sexual normal durante a atividade sexual, e que ainda não possui nenhum tratamento farmacológico aprovado (American Psychiatric Association, 2000).

Pacientes com quadro de ejaculação tardia crônica, tratados com 150 mg/dia de bupropiona, no período de dois meses, apresentaram diminuição no tempo desde o início do incurso sexual (ou ato sexual) até a primeira ejaculação. No entanto, a bupropiona, na dosagem utilizada, possui apenas benefício limitado no tratamento deste tipo de disfunção (Abdel-Hamid and El-Sayed, 2010).

Ao contrário da ejaculação tardia, a ejaculação precoce consiste no adiantamento do orgasmo que acontece com pouca ou nenhuma estimulação sexual, logo no início ou até mesmo antes da penetração (Waldinger, 2002). Em 2010, Kravos reportou os casos de dois pacientes do sexo masculino, com 37 e 39 anos, sem relatos de disfunção sexual, tratados com bupropiona para sintomas residuais da depressão que após o tratamento passaram a apresentar um quadro de ejaculação precoce.

Justificativa

A bupropiona é um inibidor da recaptura neuronal de dopamina e noradrenalina muito utilizado no tratamento do tabagismo e da depressão, sendo um dos antidepressivos menos associados à disfunção sexual masculina. Sabe-se que drogas que inibem a recaptura de noradrenalina aumentando a disponibilidade desta monoamina na fenda sináptica, como o antidepressivo sibutramina, influenciam na qualidade espermática diminuindo a fertilidade de ratos machos submetidos ao tratamento com este fármaco. Homens em idade reprodutiva estão sujeitos a medicações que tem como princípio ativo a bupropiona. Já se sabe que este fármaco é um dos antidepressivos menos associados a efeitos colaterais sexuais secundários e que possui ação sobre algumas funções sexuais como a ejaculação e a excitação, porém, não são encontradas

na literatura informações sobre a influência desta droga na qualidade espermática humana e de modelos animais, justificando o desenvolvimento deste trabalho.

Objetivos

Objetivo geral:

Analisar se a exposição à bupropiona pode alterar o comportamento sexual, parâmetros espermáticos e fertilidade de ratos machos adultos, bem como a contratibilidade do ducto epididimário isolado *in vitro*.

Objetivo específico:

Investigar os efeitos do tratamento com bupropiona durante 30 dias sobre o comportamento sexual, parâmetros espermáticos e a fertilidade de ratos machos.

Investigar os efeitos do tratamento com bupropiona durante 30 dias sobre a contratibilidade do ducto epididimário, tamanho das reservas de noradrenalina e importância funcional do sistema de captura de noradrenalina no epidídimo de ratos.

Investigar a capacidade da bupropiona em promover alterações na contratibilidade do ducto epididimário isolado exposto diretamente ao fármaco.

Manuscripto

Este manuscrito deu origem ao artigo “BUPROPION TREATMENT INCREASES EPIDIDYMAL CONTRACTILITY AND IMPAIRS SPERM QUALITY WITH NO EFFECTS ON EPIDIDYMAL SPERM TRANSIT TIME OF MALE RATS”, submetido para publicação no periódico *Toxicology and Applied Pharmacology*.

BUPROPION TREATMENT INCREASES EPIDIDYMAL CONTRACTILITY AND IMPAIRS SPERM QUALITY WITH NO EFFECTS ON EPIDIDYMAL SPERM TRANSIT TIME OF MALE RATS

Marilia Martins Cavariani^a, Luiz Ricardo de Almeida Kiguti^b, Josiane de Lima Rosa^a, Gabriel Adam de Araujo Leite^a, Patrícia Villela e Silva^a, André Sampaio Pupo^b, Wilma De Grava Kempinas^{a*}.

^aDepartment of Morphology, Institute of Biosciences, UNESP – Univ. Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, Brazil.

^bDepartment of Pharmacology, Institute of Biosciences, UNESP – Univ. Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, Brazil.

* Author for correspondence: kempinas@ibb.unesp.br

Adress for correspondence: Department of Morphology, Institute of Biosciences, UNESP – Univ. Estadual Paulista. Distrito de Rubião Junior S/N, 18618-970 - Botucatu, São Paulo, Brazil.

Abstract

Bupropion is a dopamine and norepinephrine reuptake inhibitor used as smoking cessation and antidepressant drug with lower incidence of male sexual dysfunction. We

showed previously that sibutramine, a norepinephrine/serotonine reuptake inhibitor, reduced male rat fertility. As there are no studies evaluating the impact of bupropion treatment on spermatic parameters and male fertility, we evaluated the effects of bupropion treatment (15 and 30 mg/kg, 30 days) on sexual behavior, spermatic parameters and fertility of male rats and on the epididymal duct contractility *in vitro*. Bupropion 15 mg/kg increased serum luteinizing hormone level and the epididymal duct contractility but the sperm quality was not affected. At 30 mg/kg bupropion impaired sperm quality increasing the incidence of non-progressive sperm. The male sexual behavior and fertility were not modified at both bupropion doses. These results, in rats, suggests the importance of studies evaluating the effects of bupropion on the human male sperm quality.

Keywords: bupropion, epididymis, sperm transit time, sperm quality, fertility, epididymal contraction, norepinephrine transporter.

Introduction

More than 5 million people die annually due to tobacco use and this number is expected to reach more than 8 million by 2030 (WHO, 2011). In addition, tobacco use is an important risk factor for the development of coronary heart disease, stroke, peripheral vascular disease, chronic obstructive pulmonary disease, reproductive and fetal developmental diseases, and many other conditions (Carson *et al.*, 2013). Bupropion was the first non-nicotine smoking-cessation drug approved by Food and Drug Administration and, until these days, is one of the first-line drugs on smoke cessation (Carson *et al.*, 2013).

Bupropion is an antidepressant that blocks dopamine (DA) and norepinephrine (NE) reuptake *in vitro* (Dwoskin *et al.*, 2006) and increases extracellular levels of these catecholamines *in vivo*, with little effect on the inhibition of serotonin (5-HT) reuptake (Rau *et al.*, 2005; Ghanbari *et al.*, 2011). The mechanisms through which bupropion acts to promote smoking cessation still not fully understood (Grabus *et al.*, 2012), however it may involve antagonism of nicotinic acetylcholine receptors (Slemmer *et al.*, 2000) and relief of nicotine withdrawal symptoms (Perkins *et al.*, 2013) through its modulatory actions on dopaminergic and noradrenergic systems (Cooper *et al.*, 1994).

Men are absolute majority in tobacco consumption (WHO, 2011) and are frequently subjected to bupropion as a smoke cessation drug. The use of bupropion as an antidepressant is associated with low incidence of sexual dysfunction in men (Gartlehner *et al.*, 2008; Serretti and Chiesa, 2009). This effect may be related to its ability to raise DA levels, a catecholamine that exerts a positive influence on the three stages of male sexual response (Hull *et al.*, 1999; Hull *et al.*, 2004), and its low influence on 5-HT levels (Piacentini *et al.*, 2003), an inhibitory neurotransmitter of male sexual behavior (Andersson, 2011). We and others already showed that drugs that reduces sperm quality are not always associated with reduced male sexual function (Fernandes *et al.*, 2007; Favareto *et al.*, 2011). To the best of our knowledge there is no study investigating the effects of bupropion on sperm quality and fertility in rats.

We showed previously that the antidepressant sibutramine, a NE and 5-HT reuptake inhibitor, reduces sperm quality of rats (Bellentani *et al.*, 2011; Borges *et al.*, 2013). This effect was ascribed to the acceleration of sperm transit time through epididymis due to an increased contractility of epididymal smooth muscle induced by activation of α_1 -ARs by synaptic NE (Gerendai *et al.*, 2001; Borges *et al.*, 2013).

Since bupropion blocks norepinephrine transporter (NET) *in vitro* (Sanchez and Hyttel, 1999), increases NE *in vivo* (Li *et al.*, 2002) and due to the importance of sympathetic nervous system on the male reproductive function (Ratnasooriya and Wadsworth, 1984; Kempinas *et al.*, 1998), the aim of the present study was to investigate the effects of bupropion administration on sexual behavior, spermatic parameters and fertility of male Wistar rats as well as its influence on epididymal duct (CE duct) contraction *in vitro*.

Materials and methods

Animals

All experimental procedures were approved by the Bioscience Institute/UNESP Ethics Committee for Animal research (protocol number 427/12) and were in accordance with the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (National Institutes of Health).

Male (350-400g) and female (200-250g) Wistar rats supplied by the Central Biotherium of UNESP – Universidade Estadual Paulista were allocated in pairs into polypropylene cages (43cm × 30cm × 15cm) with laboratory grade pine shavings as bedding. Animals were maintained under controlled conditions ($23 \pm 1^{\circ}\text{C}$, 12h light/12h dark cycle and $60 \pm 5\%$ relative humidity) with commercial rat chow and filtered tap water *ad libitum*.

Drugs and solutions

Drugs were obtained from the following sources: bupropion hydrochloride from Xianen Sine (China); cocaine from Boehringer (Ingelheim, Germany); prazosin hydrochloride, (+/-)-propanolol hydrochloride, yohimbine hydrochloride, desipramine hydrochloride from Research Biochemicals International - RBI (Massachusetts, USA); sibutramine hydrochloride monohydrate from Deg (Jiangyin Eas, China); methoxamine hydrochloride, tyramine, NE ((L)-(-)-NE bitartrate salt monohydrate), dimethylsulphoxide (DMSO) and corticosterone from Sigma (Massachusetts, USA). Stock solutions for *in vitro* contractions experiments were prepared in distilled water (bupropion, prazosin, norepinephrine, propanolol, yohimbine, desipramine, cocaine, methoxamine, tyramine, sibutramine) or ethanol 100% (corticosterone).

General treatment schedule

Male rats (90-day-old) were randomly allocated into three experimental groups that received bupropion 15 mg/kg (BPP15, n=9), bupropion 30 mg/kg (BPP30, n=9) or distilled water, the vehicle (control group, VEH, n=9) daily during 30 days orally. Animals were weighed on alternate days during the treatment. The doses of bupropion chosen in this study were effective in enhance noradrenergic neurotransmission in the rat hippocampus (Ghanbari *et al.*, 2011).

Reproductive organ weights, level of serum hormones

At the end of treatment period the rats were killed by decapitation and the blood obtained from ruptured cervical vessels was collected (9:00 – 11:00 am) and left to clot at 4°C for 3 hours. The serum was obtained after centrifugation (2400 rpm, 20 min, 4°C) and then frozen at -20°C until the analyses. Testosterone, luteinizing hormone (LH) and follicle-stimulating hormone (FSH) serum levels were determined by double-antibody radioimmunoassay as described previously (Fernandes *et al.*, 2012). Left testis, epididymis and vas deferens as well as ventral prostate and seminal vesicles wet weights were recorded.

Sperm analysis

Sperm count, daily sperm production (DSP) and epididymal sperm transit time

Homogenization-resistant testicular spermatids (stage 19 of spermiogenesis) in the testis were counted as described previously (Robb *et al.*, 1978) with adaptations. Each right testis was decapsulated, weighed and homogenized in 5 ml of 0.9% NaCl, followed by sonication for 30 sec (cycle 1, amplitude 100%, IKA Labortechnik). A 10-fold homogenate dilution was transferred to Newbauer chambers (4 fields per animal) and stage 19 spermatids were counted. The daily sperm production (DSP) was obtained dividing the number of stage 19 spermatids by 6.1, which is the number of days of the seminiferous cycle in which these spermatids are present in the seminiferous epithelium. Then, the DSP per gram was calculated in order to determine the efficiency of the process (Ashby *et al.*, 2003). Caput/corpus and cauda epididymidis portions were cut into small fragments with scissors and homogenized (1.0ml/200 mg tissue weight for caput/corpus; 1.0ml/100 mg tissue weight for cauda), as described above and sperm were counted. The epididymal sperm transit time through the caput/corpus and cauda epididymis was determined dividing the number of sperm in each portion by the DSP.

Sperm motility and morphology

Proximal epididymal cauda duct was nicked and a sperm sample was collected in 2.0ml of modified human tubular fluid medium (Irvine Scientific). A 10µl of sperm suspensions was immediately transferred to a 34°C heated Makler chamber and 100 spermatozoa were counted and classified as mobile with progressive movement, mobile without progressive movement and immobile under a phase-contrast microscope (400x magnification). Additionally, 100µl aliquots of the sperm suspension were fixed in

900µl of formol saline (10% formol in saline) and smears were prepared on histological slides (left to dry for 90 min) for sperm morphology evaluation. A total of 200 spermatozoa per animal were analyzed in a phase-contrast microscope (400x magnification) and sperm morphology was classified into three general categories: normal spermatozoa (without abnormalities in sperm head and tail), morphological abnormalities of the sperm head (without curvature, without characteristic curvature, pin head or isolated form, i.e., no tail attached) and morphological abnormalities of the sperm tail (broken or rolled into a spiral) (Filler, 1993). The presence of the cytoplasmic droplet was also evaluated as a signal of incomplete sperm maturation.

Evaluation of male sexual behavior

Male rats (90-day-old) were randomly allocated into three experimental groups and treated as described previously. At the ending of the treatment, male rats from each experimental group (n = 10/group) were placed individually in polycarbonate crystal boxes (44cm × 31cm × 16cm) and left alone for 5 min before introduction of one naturally sexually receptive female rat (70-days-old). Paired animals were observed in the dark period of the cycle in a separate room under dim red light and males that did not mount in the initial 10 min after female introduction in the cage were considered sexually inactive.

The male sexual behavior was evaluated during 40 min and the following parameters were recorded: latency to the first mount; latency to the first intromission; latency to the first ejaculation; number of intromissions until the first ejaculation; latency of the first post-ejaculatory intromission; number of post-ejaculatory intromissions; and total number of ejaculations (Perobelli *et al.*, 2012). After completion of the sexual behavior evaluation paired animals were kept together for an additional 3 hours, then females were separated and vaginal smears were collected to confirm that pregnancy occurred to evaluation of fertility.

Fertility evaluation after natural mating

Females naturally inseminated by rats of the VEH, BPP15 and BPP30 groups were killed by decapitation twenty days after mating to assessment of male fertility. After a median laparotomy the uterus and ovaries were collected and the numbers of

corpora lutea, implants, reabsorptions, live and dead fetuses were determined. From these results the following parameters were calculated: fertility potential (efficiency of implantation): $(\text{implantation sites/corpora lutea}) \times 100$; rate of preimplantation loss: $[(\text{number of corpora lutea} - \text{number of implantations})/\text{number of corpora lutea}] \times 100$; and rate of postimplantation loss: $[(\text{number of implantations} - \text{number of live fetuses})/\text{number of implantations}] \times 100$.

In vitro CE duct contraction studies

As the epididymal transit time is dependent on the epididymal duct contraction we evaluated the *in vitro* contractility of CE duct. We evaluated: 1) the effects of *in vitro* CE duct exposure to bupropion on the contractility of CE duct isolated from untreated rats; 2) the contractility of CE duct isolated from rats treated with vehicle, bupropion 15 mg/kg or bupropion 30 mg/kg during 30 days.

General CE duct isolation procedure

Male Wistar rats were killed by decapitation and both epididymides were isolated and left on petri dishes filled with modified Tyrode's solution (NaCl 138mM, KCl 5.7mM, CaCl₂ 1.8mM, NaH₂PO₄ 0.36mM, NaHCO₃ 15mM, dextrose 5.5mM, pH 7.4). Segments (1.0cm length) from the distal cauda epididymal duct were uncoiled and cleaned of luminal contents by flushing of 0.5ml nutrient solution through a blunt-end 30 gauge needle and syringe. CE duct segments were tied to isometric force transducers through nylon threads and mounted in 10ml organ baths under 1.0g resting tension in modified Tyrode's solution at 30°C constantly bubbled with 95%O₂/5%CO₂. After a 30 minutes stabilization period the contraction to 80mM KCl was recorded and tissues were washed at least 4 times with fresh nutrient solution. All further treatments described below were evaluated at a minimum of 30 minutes interval between them.

Effects of in vitro exposure of CE duct from untreated rats to bupropion

CE duct segments isolated from untreated rats were mounted as described above and the effects of bupropion on the contractions induced by activation of α_1 -ARs, muscarinic acetylcholine receptors and to 80mM KCl (a receptor-independent contractile stimulus) were investigated. After mounting and equilibration period a control cumulative concentration-response curve to NE (the endogenous adrenergic receptor agonist), methoxamine (a non-NET substrate α_1 -AR agonist; (Trendelenburg *et al.*, 1970), carbachol (a muscarinic receptor agonist) or a control contraction to 80mM KCl were obtained. After washing the tissues bupropion (1.0-100 μ M) were incubated with the tissues for 30 minutes and new concentration-response curves to NE, methoxamine, carbachol or a contraction to 80mM KCl were obtained in the presence of bupropion. Additionally, the effects of the known NET blockers sibutramine (3 μ M), cocaine (6 μ M) or desipramine (3.0-100nM) on the contractions induced by NE were investigated.

Functional evaluation of NET blocking activity

To investigate the effect of drugs on NET functioning in CE duct we evaluated the changes induced by NET on the antagonist behavior of prazosin (an α_1 -AR antagonist) against the NE-evoked contractions. After a control NE concentration-response curve the antagonism of different prazosin concentrations (1.0-300nM, incubated with the tissues for 45 minutes) was investigated. The rightward displacements of NE curves induced by the different prazosin concentrations were used to calculate concentration ratios (CR), the ratio between the NE concentration effective in 50% of maximal contraction in the absence and presence of prazosin, and the resulting log (CR-1) values were plotted against prazosin concentrations on a Schild graph. Linear regressions of prazosin antagonism were done and the slopes of Schild regressions were retrieved. The whole experiment (NE control curve and in the presence of prazosin different concentrations) was done: in the absence of NET blocker; in the presence of desipramine (a tricyclic NET blocker) or in the presence of bupropion (100 μ M). As discussed by Kenakin and Beek (Kenakin and Beek, 1981) when the agonist is depleted by an uptake system such as NET the Schild analysis of a competitive antagonist would result in linear regressions with slope lesser than 1.0. The Schild slope approaches to 1.0 as the uptake system is increasingly blocked equaling to 1.0 when the NET is completely blocked.

In vitro contraction of CE duct isolated from bupropion-treated rats

Evaluation of contractility of CE duct to NE

Thirty minutes after the 80mM KCl-induced contraction a concentration-response curve to NE (10nM-100µM) was constructed by cumulative addition of NE to the organ bath. The potency of NE induced contraction, expressed as log of NE concentration inducing 50% of maximal contraction (logEC₅₀), and the maximal contraction induced by NE (E_{max}, in grams of tension) were evaluated.

Functional estimation of NET functional importance in the CE duct

After a cumulative concentration-response curve to NE (10nM-100µM) was obtained (control curve) the tissues were washed and the tricyclic NET blocker desipramine (100nM) was incubated with the tissues in the organ bath for 45 minutes. After this incubation period a new NE concentration-response curve was obtained in the presence of desipramine and the difference in the potency of NE in the presence and absence of NET blockade was evaluated. At 100nM desipramine the NET is completely blocked (Supplementary figure) and the increase in the NE potency (leftward displacement of NE concentration-response curve) was taken as a measure of the NET functional importance in the CE duct (Kenakin, 1997b).

Pharmacological evaluation of CE NE reserve pool

CE duct segments isolated from VEH, BPP15 and BPP30 rats were mounted as described above to record of contractions to tyramine. Tyramine is an indirect sympathomimetic drug that releases NE from storage vesicles in the nerve endings to the neuronal cytoplasm, increasing the non-exocytic neuronal NE release to the synaptic cleft (McGrath and Olverman, 1978; Langeloh *et al.*, 1987; Langeloh and Trendelenburg, 1987). The effects induced by tyramine are dependent on the size of neurotransmitter reserve (Jurkiewicz *et al.*, 1992; Takauchi *et al.*, 2000).

Thirty minutes after the 80mM KCl-induced contraction a concentration-response curve to tyramine (0.1-100µM) was obtained and considered as a control curve. After washing the tissues, prazosin 3nM was incubated with the tissues for 45 minutes and then a new concentration-response curve to tyramine (0.1-100µM) was obtained. The rightward displacement of tyramine concentration-response curve was

evaluated as a measure of prazosin potency. As discussed in (Kenakin, 1997a) the potency of a competitive antagonist (prazosin) against an indirect agonist-induced response (tyramine) would be higher in tissues with reduced endogenous agonist (NE) reserve.

Statistical analysis

Data are presented as mean $\pm$ standard error of mean (SEM) or median and interquartil range. Parametric variables were compared by ANOVA followed by Dunnet or Newman-Keuls and nonparametric variables were compared by Kruskal-Wallis followed by Dunn test. Differences were considered significant when $p < 0.05$.

Results

No general signs of toxicity such as piloerection, weight loss or reduced consumption of food or water were observed during the treatment period. Although the level of serum LH was increased in BPP15 animals, the level of serum testosterone was unaltered in the two groups treated with bupropion (Table 1). The reproductive organ weights were not altered in BPP15 and BPP30 (Table 2) as well as DSP, epididymal sperm count and sperm transit time (Table 3), sperm morphology (data not shown) and sexual behavior (Supplementary table). The number of spermatozoa with non-progressive movement was significantly higher in BPP30 (VEH: 15.00 (12.50-15.50); BPP15: 18.00 (15.50-21.50) $p > 0.05$ vs VEH; BPP30: 21.50 (18.25-24.75) $p < 0.05$ vs VEH; Kruskal-Wallis + Dunn). The fertility potential was not modified in rats from BPP15 and BPP30 in comparison to VEH group (VEH: 100 (95.31-100); BPP15: 100 (92.31-100); BPP30mg: 100(93.75-100); $p > 0.05$, Kruskal-Wallis).

In vitro bupropion 30 and 100 μ M increased by 8-fold the NE potency in inducing contractions of CE duct from untreated rats ($p < 0.05$) (Fig. 1 A) and this effect was not unspecific since CE duct contractions to carbachol and to KCl 80mM were not changed in the presence of a maximally effective bupropion concentration (Fig. 1 B and C). The ability of bupropion to enhance CE duct contractions to NE is due to its action as a NET blocker since bupropion did not change CE duct contraction to methoxamine neither those contractions induced by NE when the NET was blocked by desipramine (Fig. 1 D and E). The maximal increase in NE potency induced by bupropion was significantly lower than that induced by desipramine, cocaine and sibutramine, three known NET blockers of different chemical structures (Fig. 2). The submaximal increase of NE potency induced by bupropion does not result from a self-cancelling effect due to α_1 -AR antagonism once that bupropion did not antagonized the contractions of CE duct to methoxamine or NE.

To investigate if the submaximal effect of bupropion resulted of an incomplete NET block we evaluated the effect of bupropion on the α_1 -AR antagonism by prazosin in the CE duct through Schild analysis. The Schild plot for the prazosin antagonism of α_1 -AR activation in CE duct in the absence and presence of desipramine or bupropion are presented in the Figure 3 F and summarized in the Table 4. As expected, the rightward displacement of NE concentration-response curves induced by the different prazosin concentrations was not proportional to the prazosin concentration increase and the resulting slope of Schild regression was significantly lesser than one (slope $0.41 \pm$

0.05, 95% confidence interval 0.30-0.52; Fig. 3 A). The slope of Schild regression was corrected to 1.0 when the experiments were done in the presence of 100nM desipramine, a concentration that blocks completely the NET functioning in the CE duct (Fig. 3 B). A slope equal to 1.0 was also obtained when methoxamine was used as agonist (Fig. 3 C). Bupropion 100 μ M increased the Schild slope from 0.41 to 0.73 but this value still significantly lesser than one ($p < 0.05$) similar to 3nM desipramine, a partially effective concentration that does not blocks completely the NET in CE duct (Fig. 3 D and E).

Segments of CE duct from BPP15 rats showed increased maximal contraction to NE (Fig. 4 A) and KCl 80mM (Fig. 4 B) *in vitro*, however there was no difference among logEC₅₀ to NE in all groups. Importantly, the increased maximal contraction was not ascribed to the use of larger segments from BPP15 rats since the dry weight of CE duct segments employed in the contraction experiments did not differ (VEH: 598.30 $\pm$ 53.40 μ g; BPP15mg: 555.60 $\pm$ 34.72 μ g; BPP30mg: 579.70 $\pm$ 59.26 μ g; $p > 0.05$, ANOVA). In addition, contractions of CE duct to tyramine were increased in BPP15 and BPP30 (Fig. 4 C). Prazosin (3nM) displaced rightward the tyramine concentration-response curve by approximately 3-fold in all groups (log of rightward displacement VEH: 0.64 $\pm$ 0.15, n= 4; BPP15mg: 0.63 $\pm$ 0.16, n= 5; BPP30mg: 0.45 $\pm$ 0.18, n= 6; $p > 0.05$, ANOVA), showing that the increased contraction to tyramine from CE duct of bupropion treated rats is not due to increased NE reserves (Fig. 5).

The treatment with bupropion did not alter the functional importance of NET in CE duct as desipramine (100nM) increased NE contractile potency by approximately 66-fold in CE duct of rats from all groups (log of leftward displacement VEH: 1.82 $\pm$ 0.16, n= 4; BPP15mg: 1.62 $\pm$ 0.12, n= 5; BPP30mg: 1.84 $\pm$ 0.15, n= 6; $p > 0.05$, ANOVA; Fig. 6).

Discussion

Bupropion is an atypical antidepressant drug widely used in the treatment of major depressive disorder and smoke cessation (Stahl *et al.*, 2004; Dwoskin *et al.*, 2006). As an antidepressant bupropion is as effective as selective serotonin re-uptake inhibitors (SSRIs) or tricyclic antidepressants and is significantly less associated with desire, arousal and orgasm sexual dysfunctions (Gardner and Johnston, 1985; Werneke *et al.*, 2006). In fact, combined treatment with bupropion and fluoxetine, paroxetine or sertraline reduced the incidence of sexual dysfunction induced by these SSRIs (Walker *et al.*, 1993; Modell *et al.*, 1997). The combination bupropion-SSRI has been suggested to SSRI users whose sexual dysfunction is a concern (Gitlin *et al.*, 2002; Safarinejad, 2010). The benefic effect of bupropion on SSRI-induced sexual dysfunction would be ascribed to an increase of DA signaling in sex brain circuits that are under inhibitory serotonergic tonus induced by SSRI treatment (Bijlsma *et al.*, 2013). Here we presented a combined behavioral, spermatogenic (sperm motility and morphology) and pharmacological exploitation of bupropion effects on the male reproductive function and fertility.

The treatment with bupropion at doses effective in increase the DA and NE extracellular levels and attenuate the nicotine abstinence symptoms in rats (Hasegawa *et al.*, 2005; Malin *et al.*, 2006) increased LH serum level, however, the testosterone serum level was not changed indicating that increased LH is not a result of altered functioning of hypothalamic-pituitary-gonadal axis. Since luteinizing hormone-releasing hormone releasing neurons receive catecholaminergic innervation (Dudas and Merchenthaler, 2001) and NE increases luteinizing hormone-releasing hormone *in vitro* (Rettori *et al.*, 1993) and *in vivo* (Martin *et al.*, 1995) the increased LH serum level could be ascribed to the catecholamine increase induced by the reuptake inhibition action of bupropion. The unchanged serum testosterone level in spite of the high LH level suggests that the animals were killed at the onset of LH increase. The effects of bupropion on the LH regulation of male reproductive function as well as spermatogenic parameters merits further investigation.

The sympathetic nervous system has a mandatory role on epididymal transit time (Billups *et al.*, 1990; Kempinas *et al.*, 1998) and in fact increased α_1 -AR activation *in vivo* enhances CE duct smooth muscle contraction (Hib, 1976; Laitinen and Talo, 1981; Pholpramool and Triphrom, 1984). NET blockers would increase CE duct contraction

and reduce epididymal sperm transit time as a result of elevated synaptic NE as we showed previously to occur in rats treated with sibutramine (Borges *et al.*, 2013).

Bupropion increased in 8-fold the NE potency in inducing contractions of CE duct from untreated rats and the maximal contraction of CE duct from bupropion-treated rats to NE and 80mM KCl, however this was not enough to accelerate the sperm transit time through the epididymis. The use of antidepressants has been associated with altered monoamine transporters expression (Petrie *et al.*, 1998; Jeannotte *et al.*, 2009). Increased NE uptake resulting from higher NET expression in the CE duct would oppose the bupropion NE elevating effect cancelling the prokinetic effect of NET blockade on the epididymal sperm transit time. However, we rejected this hypothesis showing that the functional importance of NET in the CE duct was not altered by bupropion treatment.

Alternatively, an unaltered epididymal sperm transit time could result from the incomplete NET blockade induced by bupropion showed in this study. Further support to this hypothesis came from the results showing unaltered CE duct NE reserve from bupropion-treated rats since the continuing inhibition of NE reuptake by NET blockers would deplete the NE stores (Borges *et al.*, 2013).

Bupropion at the higher dose tested decreased the sperm quality by increasing the number of spermatozoa with non-progressive movement. This result is relevant for male fertility as spermatozoa with reduced motility are unable to penetrate into cervical mucus and assess the oocyte (Aitken *et al.*, 1985; Mortimer *et al.*, 1986; Clegg, 2001). In fact, the sperm motility is regarded as one of the important parameters used in the sperm fertile capacity evaluation (Bostofte *et al.*, 1990; Barratt *et al.*, 1993).

Sperm acquire motility and fertile capacity during the transit through the epididymis (Hinton *et al.*, 1979; Yanagimachi, 1994; Cuasnicú, 2002) and a reduction in the epididymal sperm transit time impairs the sperm maturation (Fernandez *et al.*, 2008).

Albeit the contraction of epididymal duct by sympathetic nervous system activation is important to propel the spermatozoa during the sperm maturation process, the reduced sperm motility of bupropion treated rats cannot be ascribed to acceleration

of sperm transit time in spite of the increase of maximal contraction of CE duct in rats treated with lower bupropion dose.

Dopamine and adrenergic agonists were shown to stimulate chloride secretion by epididymal epithelial cells *in vitro* (Leung *et al.*, 1992; Chan *et al.*, 1994; Du *et al.*, 2009) and the sympathetic innervation was shown to regulate the epididymal fluid protein composition (Ricker *et al.*, 1996), two important factors related to the acquisition of sperm motility and fertile capacity (Robaire *et al.*, 2006). The impaired sperm motility from rats treated with bupropion at the higher dose may result from modification of epididymal ionic/protein luminal composition through the bupropion indirect sympathomimetic action.

The treatment with bupropion had no impact on male rat fertility despite the sperm quality has been reduced by bupropion highest dose. Probably the impairment of sperm quality was masked by the high reproductive efficiency of male rat (Toner and Adler, 1985).

In conclusion we demonstrated that bupropion acts as an incomplete NET blocker and, at doses that effectively reduces the tobacco abstinence symptoms and the depressant-like behavior in rat models, increased the contraction of epididymal duct and impaired the rat sperm quality. The reduced sperm quality of bupropion-treated rats does not result from modification of epididymal sperm transit time suggesting a modified epididymal microenvironment. Studies investigating the bupropion effects on human sperm quality are urged since the bupropion use have been suggested as an adjuvant treatment to SSRI-induced sexual dysfunctions.

Conflict of interest

The authors declare that there are no conflicts of interest.

Acknowledgments

The authors would like to acknowledge Dr^a Janete Aparecida Anselmo-Franci and to Ruither de Oliveira Gomes Carolino of the Department of Morphology, Physiology and Basic Pathology Dental School of Ribeirão Preto, University of São Paulo –USP, for the collaboration with the hormonal assays, to José Eduardo Bozano, of the Department of Morphology, Institute of Biosciences, São Paulo State University –UNESP, for the excellent technical support, and to all laboratory members for the helpful discussions and critical review of this manuscript. This work was supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

References

- Aitken, R.J., Sutton, M., Warner, P., Richardson, D.W., 1985. Relationship between the Movement Characteristics of Human-Spermatozoa and Their Ability to Penetrate Cervical-Mucus and Zona-Free Hamster Oocytes. *Journal of reproduction and fertility* **73**, 441-449.
- Andersson, K.E., 2011. Mechanisms of penile erection and basis for pharmacological treatment of erectile dysfunction. *Pharmacological reviews* **63**, 811-859.
- Ashby, J., Tinwell, H., Lefevre, P.A., Joiner, R., Haseman, J., 2003. The effect on sperm production in adult Sprague-Dawley rats exposed by gavage to bisphenol A between postnatal days 91-97. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology* **74**, 129-138.
- Barratt, C.L., Tomlinson, M.J., Cooke, I.D., 1993. Prognostic significance of computerized motility analysis for in vivo fertility. *Fertility and sterility* **60**, 520-525.
- Bellentani, F.F., Fernandes, G.S.A., Perobelli, J.E., Pacini, E.S.A., Kiguti, L.R.A., Pupo, A.S., Kempinas, W.D.G., 2011. Acceleration of Sperm Transit Time and Reduction of Sperm Reserves in the Epididymis of Rats Exposed to Sibutramine. *J Androl* **32**, 718-724.
- Bijlsma, E.Y., Chan, J.S., Olivier, B., Veening, J.G., Millan, M.J., Waldinger, M.D., Oosting, R.S., 2013. Sexual side effects of serotonergic antidepressants: Mediated by inhibition of serotonin on central dopamine release? *Pharmacol Biochem Behav.*
- Billups, K.L., Tillman, S., Chang, T.S., 1990. Ablation of the inferior mesenteric plexus in the rat: alteration of sperm storage in the epididymis and vas deferens. *The Journal of urology* **143**, 625-629.
- Borges, C.S., Missassi, G., Pacini, E.S., Kiguti, L.R., Sanabria, M., Silva, R.F., Banzato, T.P., Perobelli, J.E., Pupo, A.S., Kempinas, W.G., 2013. Slimmer or fertile? Pharmacological mechanisms involved in reduced sperm quality and fertility in rats exposed to the anorexigen sibutramine. *PloS one* **8**, e66091.
- Bostofte, E., Bagger, P., Michael, A., Stakemann, G., 1990. Fertility prognosis for infertile men: results of follow-up study of semen analysis in infertile men from two different populations evaluated by the Cox regression model. *Fertility and sterility* **54**, 1100-1106.
- Carson, K.V., Brinn, M.P., Robertson, T.A., To, A.N.R., Esterman, A.J., Peters, M., Smith, B.J., 2013. Current and emerging pharmacotherapeutic options for smoking cessation. *Substance abuse : research and treatment* **7**, 85-105.
- Chan, H.C., Fu, W.O., Chung, Y.W., Zhou, T.S., Wong, P.Y.D., 1994. Adrenergic-Receptors on Cultured Rat Epididymal Cells - Regulation of Cl⁻ Conductances. *Biology of reproduction* **51**, 1040-1045.
- Clegg, E.D., Perreault, S.D., Klinefelter, G.R., 2001. Assessment of Male Reproductive Toxicity In Hayes, A.W., (Ed.), *Principles and Methodes of Toxicology* Taylor & Francis, Philadelphia, pp. 1263-1300.
- Cooper, B.R., Wang, C.M., Cox, R.F., Norton, R., Shea, V., Ferris, R.M., 1994. Evidence That the Acute Behavioral and Electrophysiological Effects of Bupropion (Wellbutrin(R)) Are Mediated by a Noradrenergic Mechanism. *Neuropsychopharmacol* **11**, 133-141.
- Cuasnicú, P.S., Cohen, D. J., Ellerman, D. A., Busso, D., Da Ros, V. G. & Morgenfeld, M. M., 2002. Changes in Sperm Proteins During Epididymal Maturation. In

- Robaire, B.a.H., B.T, (Ed.), The Epididymis: From Molecules to Clinical Practice. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, pp. 389-404.
- Du, J.Y., Zuo, W.L., Ruan, Y.C., Yang, Z.H., Chen, M.H., Chen, S.L., Li, S., Wu, Z.L., Xiang, H., Zhou, W.L., 2009. Stimulating effects of dopamine on chloride transport across the rat caudal epididymal epithelium in culture. *Biology of reproduction* **80**, 13-23.
- Dudas, B., Merchenthaler, I., 2001. Catecholaminergic axons innervate LH-releasing hormone immunoreactive neurons of the human diencephalon. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* **86**, 5620-5626.
- Dwoskin, L.P., Rauhut, A.S., King-Pospisil, K.A., Bardo, M.T., 2006. Review of the pharmacology and clinical profile of bupropion, an antidepressant and tobacco use cessation agent. *Cns Drug Rev* **12**, 178-207.
- Favareto, A.P.A., Fernandez, C.D., da Silva, D.A.F., Anselmo-Franci, J.A., Kempinas, W.D., 2011. Persistent Impairment of Testicular Histology and Sperm Motility in Adult Rats Treated with Cisplatin at Peri-Puberty. *Basic Clin Pharmacol* **109**, 85-96.
- Fernandes, G.S., Arena, A.C., Campos, K.E., Volpato, G.T., Anselmo-Franci, J.A., Damasceno, D.C., Kempinas, W.G., 2012. Glutamate-induced obesity leads to decreased sperm reserves and acceleration of transit time in the epididymis of adult male rats. *Reproductive biology and endocrinology : RB&E* **10**, 105.
- Fernandes, G.S., Arena, A.C., Fernandez, C.D., Mercadante, A., Barbisan, L.F., Kempinas, W.G., 2007. Reproductive effects in male rats exposed to diuron. *Reproductive toxicology* **23**, 106-112.
- Fernandez, C.D., Porto, E.M., Arena, A.C., Kempinas Wde, G., 2008. Effects of altered epididymal sperm transit time on sperm quality. *International journal of andrology* **31**, 427-437.
- Filler, R., 1993. Methods for Evaluation of Rat Epididymal Sperm Morphology. In Heindel, J.J., (Ed.), *Methods in Toxicology: Male Reproductive Toxicology*. Academic Press, Salt Lake City, pp. 334-343.
- Gardner, E.A., Johnston, J.A., 1985. Bupropion--an antidepressant without sexual pathophysiological action. *Journal of clinical psychopharmacology* **5**, 24-29.
- Gartlehner, G., Gaynes, B.N., Hansen, R.A., Thieda, P., DeVeugh-Geiss, A., Krebs, E.E., Moore, C.G., Morgan, L., Lohr, K.N., 2008. Comparative benefits and harms of second-generation antidepressants: background paper for the American College of Physicians. *Annals of internal medicine* **149**, 734-750.
- Gerendai, I., Toth, I.E., Kocsis, K., Boldogkoi, Z., Rusvai, M., Halasz, B., 2001. Identification of CNS neurons involved in the innervation of the epididymis: a viral transneuronal tracing study. *Autonomic neuroscience : basic & clinical* **92**, 1-10.
- Ghanbari, R., El Mansari, M., Blier, P., 2011. Enhancement of serotonergic and noradrenergic neurotransmission in the rat hippocampus by sustained administration of bupropion. *Psychopharmacology* **217**, 61-73.
- Gitlin, M.J., Suri, R., Altshuler, L., Zuckerbrow-Miller, J., Fairbanks, L., 2002. Bupropion-sustained release as a treatment for SSRI-induced sexual side effects. *Journal of sex & marital therapy* **28**, 131-138.
- Grabus, S.D., Carroll, F.I., Damaj, M.I., 2012. Bupropion and its main metabolite reverse nicotine chronic tolerance in the mouse. *Nicotine & tobacco research : official journal of the Society for Research on Nicotine and Tobacco* **14**, 1356-1361.

- Hasegawa, H., Meeusen, R., Sarre, S., Diltoer, M., Piacentini, M.F., Michotte, Y., 2005. Acute dopamine/norepinephrine reuptake inhibition increases brain and core temperature in rats. *Journal of applied physiology* **99**, 1397-1401.
- Hib, J., 1976. Effects of autonomic drugs on epididymal contractions. *Fertility and sterility* **27**, 951-956.
- Hinton, B.T., Dott, H.M., Setchell, B.P., 1979. Measurement of the motility of rat spermatozoa collected by micropuncture from the testis and from different regions along the epididymis. *Journal of reproduction and fertility* **55**, 167-172.
- Hull, E.M., Lorrain, D.S., Du, J., Matuszewich, L., Lumley, L.A., Putnam, S.K., Moses, J., 1999. Hormone-neurotransmitter interactions in the control of sexual behavior. *Behavioural brain research* **105**, 105-116.
- Hull, E.M., Muschamp, J.W., Sato, S., 2004. Dopamine and serotonin: influences on male sexual behavior. *Physiology & behavior* **83**, 291-307.
- Jeannotte, A.M., McCarthy, J.G., Sidhu, A., 2009. Desipramine induced changes in the norepinephrine transporter, alpha- and gamma-synuclein in the hippocampus, amygdala and striatum. *Neuroscience letters* **467**, 86-89.
- Jurkiewicz, N.H., Garcia, A.G., Jurkiewicz, A., 1992. In vitro denervation of the rat vas deferens through hypothermic storage. *British journal of pharmacology* **107**, 610-615.
- Kempinas, W.D., Suarez, J.D., Roberts, N.L., Strader, L., Ferrell, J., Goldman, J.M., Klinefelter, G.R., 1998. Rat epididymal sperm quantity, quality, and transit time after guanethidine-induced sympathectomy. *Biology of reproduction* **59**, 890-896.
- Kenakin, T.P., 1997a. Competitive Antagonism. In Kenakin, T.P., (Ed.), *Pharmacologic Analysis of Drug-Receptor Interaction*. Lippincott - Raven Philadelphia pp. 331-373.
- Kenakin, T.P., 1997b. Diffusion and Drug Concentration in Receptor Compartments. In Kenakin, T.P., (Ed.), *Pharmacologic Analysis of Drug-Receptor Interaction*. Lippincott Raven, Philadelphia pp. 145-197.
- Kenakin, T.P., Beek, D., 1981. The measurement of antagonist potency and the importance of selective inhibition of agonist uptake processes. *J Pharmacol Exp Ther* **219**, 112-120.
- Laitinen, L., Talo, A., 1981. Effects of adrenergic and cholinergic drugs on electrical and mechanical activities of the rat cauda epididymidis in vitro. *Journal of reproduction and fertility* **63**, 205-209.
- Langeloh, A., Bonisch, H., Trendelenburg, U., 1987. The mechanism of the 3H-noradrenaline releasing effect of various substrates of uptake1: multifactorial induction of outward transport. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology* **336**, 602-610.
- Langeloh, A., Trendelenburg, U., 1987. The mechanism of the 3H-noradrenaline releasing effect of various substrates of uptake1: role of monoamine oxidase and of vesicularly stored 3H-noradrenaline. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology* **336**, 611-620.
- Leung, A.Y., Yip, W.K., Wong, P.Y., 1992. Characterization of adrenoceptors involved in the electrogenic chloride secretion by cultured rat epididymal epithelium. *British journal of pharmacology* **107**, 146-151.
- Li, S.X., Perry, K.W., Wong, D.T., 2002. Influence of fluoxetine on the ability of bupropion to modulate extracellular dopamine and norepinephrine concentrations in three mesocorticolimbic areas of rats. *Neuropharmacology* **42**, 181-190.

- Malin, D.H., Lake, J.R., Smith, T.D., Khambati, H.N., Meyers-Paal, R.L., Montellano, A.L., Jennings, R.E., Erwin, D.S., Presley, S.E., Perales, B.A., 2006. Bupropion attenuates nicotine abstinence syndrome in the rat. *Psychopharmacology* **184**, 494-503.
- Martin, A.I., Fernandez-Ruiz, J., Lopez-Calderon, A., 1995. Effects of catecholamine synthesis inhibitors and adrenergic receptor antagonists on restraint-induced LH release. *The Journal of endocrinology* **144**, 511-515.
- McGrath, J.C., Olverman, H.J., 1978. Release of [³H]-noradrenaline from the motor adrenergic nerves of the anococcygeus muscle by lysergic acid diethylamide, tyramine or nerve stimulation. *British journal of pharmacology* **64**, 615-622.
- Modell, J.G., Katholi, C.R., Modell, J.D., DePalma, R.L., 1997. Comparative sexual side effects of bupropion, fluoxetine, paroxetine, and sertraline. *Clinical pharmacology and therapeutics* **61**, 476-487.
- Mortimer, D., Pandya, I.J., Sawers, R.S., 1986. Relationship between human sperm motility characteristics and sperm penetration into human cervical mucus in vitro. *Journal of reproduction and fertility* **78**, 93-102.
- Perkins, K.A., Karelitz, J.L., Jao, N.C., Gur, R.C., Lerman, C., 2013. Effects of bupropion on cognitive performance during initial tobacco abstinence. *Drug and alcohol dependence* **133**, 283-286.
- Perobelli, J.E., Alves, T.R., de Toledo, F.C., Fernandez, C.D., Anselmo-Franci, J.A., Klinefelter, G.R., Kempinas Wde, G., 2012. Impairment on sperm quality and fertility of adult rats after antiandrogen exposure during prepuberty. *Reproductive toxicology* **33**, 308-315.
- Petrie, E.C., Veith, R.C., Szot, P., 1998. Bupropion and desipramine increase dopamine transporter mRNA expression in the ventral tegmental area/substantia nigra of rat brain. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry* **22**, 845-856.
- Pholpramool, C., Triphrom, N., 1984. Effects of cholinergic and adrenergic drugs on intraluminal pressures and contractility of the rat testis and epididymis in vivo. *Journal of reproduction and fertility* **71**, 181-188.
- Piacentini, M.F., Clinckers, R., Meeusen, R., Sarre, S., Ebinger, G., Michotte, Y., 2003. Effect of bupropion on hippocampal neurotransmitters and on peripheral hormonal concentrations in the rat. *Journal of applied physiology* **95**, 652-656.
- Ratnasooriya, W.D., Wadsworth, R.M., 1984. Effects of prazosin on fertility of male rats. *Journal of reproduction and fertility* **70**, 643-647.
- Rau, K.S., Birdsall, E., Hanson, J.E., Johnson-Davis, K.L., Carroll, F.I., Wilkins, D.G., Gibb, J.W., Hanson, G.R., Fleckenstein, A.E., 2005. Bupropion increases striatal vesicular monoamine transport. *Neuropharmacology* **49**, 820-830.
- Rettori, V., Belova, N., Dees, W.L., Nyberg, C.L., Gimeno, M., McCann, S.M., 1993. Role of nitric oxide in the control of luteinizing hormone-releasing hormone release in vivo and in vitro. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **90**, 10130-10134.
- Ricker, D.D., Chamness, S.L., Hinton, B.T., Chang, T.S., 1996. Changes in luminal fluid protein composition in the rat cauda epididymidis following partial sympathetic denervation. *J Androl* **17**, 117-126.
- Robaire, B., Hinton, B.T., Orgebin-Crist, M.C., 2006. The Epididymis. In Neill, J.D., (Ed.), *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*. Elsevier Academic Press, San Diego - California, pp. 1071-1148.

- Robb, G.W., Amann, R.P., Killian, G.J., 1978. Daily sperm production and epididymal sperm reserves of pubertal and adult rats. *Journal of reproduction and fertility* **54**, 103-107.
- Safarinejad, M.R., 2010. The effects of the adjunctive bupropion on male sexual dysfunction induced by a selective serotonin reuptake inhibitor: a double-blind placebo-controlled and randomized study. *BJU international* **106**, 840-847.
- Sanchez, C., Hyttel, J., 1999. Comparison of the effects of antidepressants and their metabolites on reuptake of biogenic amines and on receptor binding. *Cell Mol Neurobiol* **19**, 467-489.
- Serretti, A., Chiesa, A., 2009. Treatment-emergent sexual dysfunction related to antidepressants: a meta-analysis. *Journal of clinical psychopharmacology* **29**, 259-266.
- Slemmer, J.E., Martin, B.R., Damaj, M.I., 2000. Bupropion is a nicotinic antagonist. *J Pharmacol Exp Ther* **295**, 321-327.
- Stahl, S.M., Pradko, J.F., Haight, B.R., Modell, J.G., Rockett, C.B., Learned-Coughlin, S., 2004. A Review of the Neuropharmacology of Bupropion, a Dual Norepinephrine and Dopamine Reuptake Inhibitor. Primary care companion to the *Journal of clinical psychiatry* **6**, 159-166.
- Takauchi, Y., Yamazaki, T., Akiyama, T., 2000. Tyramine-induced endogenous noradrenaline efflux from in situ cardiac sympathetic nerve ending in cats. *Acta physiologica Scandinavica* **168**, 287-293.
- Toner, J.P., Adler, N.T., 1985. Potency of rat ejaculations varies with their order and with male age. *Physiology & behavior* **35**, 113-115.
- Trendelenburg, U., Maxwell, R.A., Pluchino, S., 1970. Methoxamine as a tool to assess the importance of intraneuronal uptake of l-norepinephrine in the cat's nictitating membrane. *J Pharmacol Exp Ther* **172**, 91-99.
- Walker, P.W., Cole, J.O., Gardner, E.A., Hughes, A.R., Johnston, J.A., Batey, S.R., Lineberry, C.G., 1993. Improvement in fluoxetine-associated sexual dysfunction in patients switched to bupropion. *The Journal of clinical psychiatry* **54**, 459-465.
- Werneke, U., Northey, S., Bhugra, D., 2006. Antidepressants and sexual dysfunction. *Acta psychiatrica Scandinavica* **114**, 384-397.
- WHO, 2011. Gender, Health, Tobacco and Equity. In Health, P., (Ed.). World Health Organization, United Nations pp. 1-11.
- Yanagimachi, R., 1994. Mammalian Fertilization. In Knobil, E.a.N., J.D, (Ed.), *The Physiology of Reproduction*. Raven Press, New york, pp. 189-317.

Tables

Table 1. Plasma hormone levels of VEH, BPP15 and BPP30 rats.

<i>Hormones (ng/mL)</i>	<i>VEH (n=9)</i>	<i>15 mg/kg (n=9)</i>	<i>30 mg/kg (n=9)</i>
FSH	4.59 ± 0.52	4.35 ± 0.41	4.2 ± 0.55
LH	0.24 ± 0.04	0.42 ± 0.03*	0.18 ± 0.03
Testosterone	1.64 ± 0.45	2.01 ± 0.33	1.77 ± 0.36

Values expressed as mean ± SEM. *p<0.05: vehicle vs 30 mg/kg (ANOVA with *a posteriori* of Dunnet).

Table 2. Reproductive organ weights of VEH, BPP15 and BPP30 rats.

<i>Parameters</i>	<i>VEH (n=9)</i>	<i>BPP15 (n=9)</i>	<i>BPP30 (n=9)</i>
Testis(g)	1.73 ± 0.05	1.69 ± 0.04	1.71 ± 0.04
Epididymis (mg)	665.68 ± 17.69	654.01 ± 17.42	676.53 ± 18.86
Full Seminal vesicle (g)	1.46 ± 0.08	1.60 ± 0.07	1.57 ± 0.10
Ventral prostate (mg)	477.66 ± 47.86	557.46 ± 33.46	488.00 ± 21.82
Vas deferens (mg)	106.37 ± 2.28	101.16 ± 5.98	105.47 ± 2.52

Values are expressed as mean ± SEM. $p > 0.05$ for all comparisons (ANOVA).

Table 3. Sperm count of VEH, BPP15 and BPP30 rats.

<i>Parameters</i>	<i>VEH (n=9)</i>	<i>BPP15 (n=9)</i>	<i>BPP30 (n=9)</i>
<i>Sperm count in the testis</i>			
Sperm count (x10 ⁶ /organ)	186.37 ± 14.31	185.61 ± 5.98	179.95 ± 7.82
Relative sperm count (x10 ⁶ /g of organ)	118.55 ± 4.17	117.94 ± 1.69	116.09 ± 3.16
Daily sperm production (x10 ⁶ /testis/day)	30.55 ± 2.35	30.43 ± 0.98	29.50 ± 1.28
Daily sperm production (x10 ⁶ /g of testis/day)	19.43 ± 0.68	19.34 ± 0.28	19.03 ± 0.52
<i>Sperm count in the epididymis</i>			
<i>Caput/corpus</i>			
Sperm count (x10 ⁶ /organ)	128.47 ± 6.96	127.96 ± 3.36	127.13 ± 7.53
Relative sperm count (x10 ⁶ /g of organ)	375.93 ± 10.82	363.17 ± 7.07	379.78 ± 15.09
Sperm transit time (days)	4.31 ± 0.20	4.22 ± 0.11	4.30 ± 0.18
<i>Cauda</i>			
Sperm count (x10 ⁶ /organ)	253.35 ± 18.19	248.79 ± 11.73	257.27 ± 18.76
Relative sperm count (x10 ⁶ /g of organ)	1035.40 ± 38.66	997.23 ± 28.35	1078.40 ± 48.70
Sperm transit time (days)	8.42 ± 0.38	8.18 ± 0.32	8.30 ± 0.65

Values expressed as mean ± SEM. p>0.05 for all comparisons (ANOVA).

Table 4. Schild slopes of prazosin-induced antagonism of contractions induced by NE or methoxamine in CE duct in the presence of desipramine or bupropion.

<i>Incubation</i>	<i>Slope</i>	<i>95% CI</i>
Methoxamine (n=4)	1.05 ± 0.04^a	(0.95-1.14)
Desipramine 100nM (n=3)	1.05 ± 0.03^a	(0.98-1.11)
Desipramine 3nM (n=4)	0.76 ± 0.05^b	(0.65-0.87)
Bupropion 100uM (n=4)	0.73 ± 0.08^b	(0.56-0.90)
No inhibitor (n=4)	0.41 ± 0.05^c	(0.30-0.52)

Statistical analysis: ANOVA + Tukey (equal letters indicate statistically similar means).
Data are mean $\pm$ SEM from 4 segments taken from different rats.

Figures

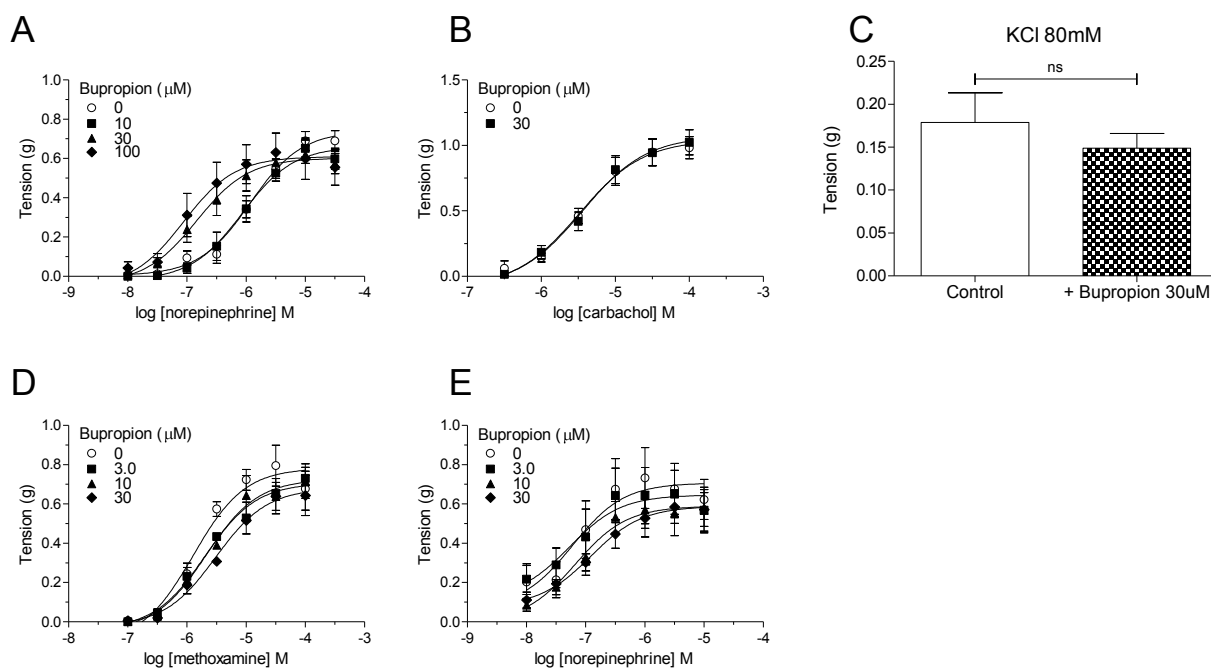


Figure 1. Bupropion increases NE potency at rat CE duct *via* NET blockade. Effect of bupropion on the CE duct contractions induced by NE (A), carbachol (B), KCl 80mM (C), methoxamine (D) and NE in the presence of desipramine 100nM (E). Data represents mean $\pm$ SEM from 4-8 different CE segments. ns: non significant ($p > 0.05$, ANOVA).

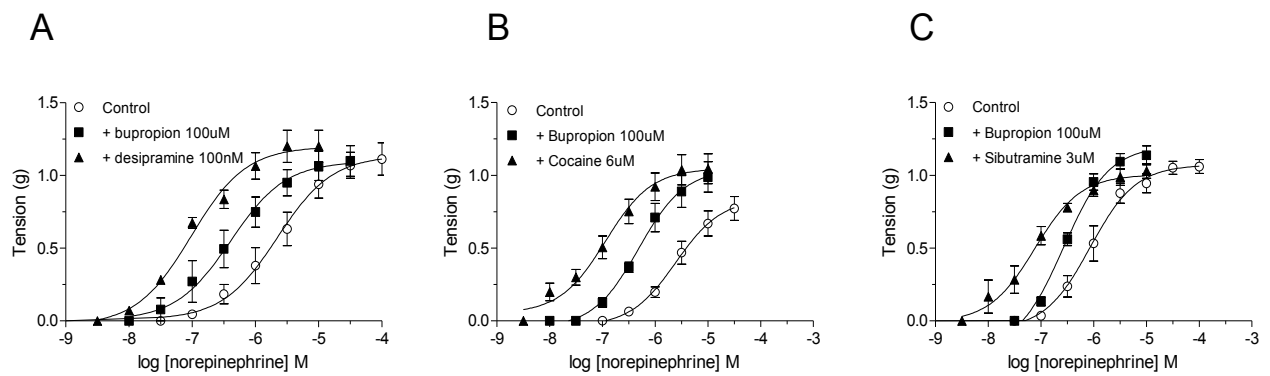


Figure 2. Submaximal increase of NE potency by bupropion. NE concentration-response curves were constructed in the presence of bupropion 100μM, desipramine 100nM (A), cocaine 6μM (B) or sibutramine 3μM (C). Data are mean $\pm$ SEM from 5 segments taken from 3 different rats.

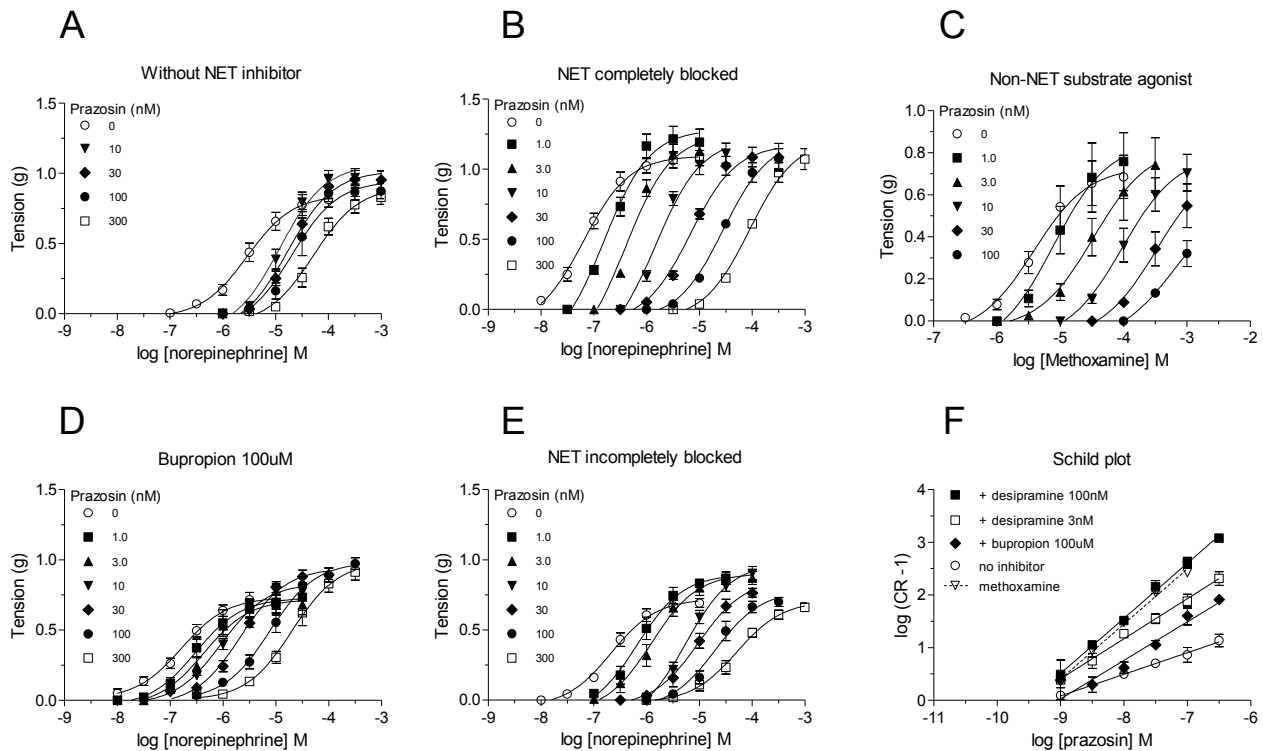


Figure 3. Incomplete NET block by bupropion. Prazosin antagonism of α_1 -AR was investigated in the absence of NET blocker (A), when the NET was completely blocked by desipramine 100nM (B), against methoxamine a non-NET substrate agonist (C), in the presence of bupropion 100 μ M (D) or in the presence of a submaximal desipramine concentration (E). The Schild plot is presented in (F). Data are mean $\pm$ SEM from 4 segments taken from different rats.

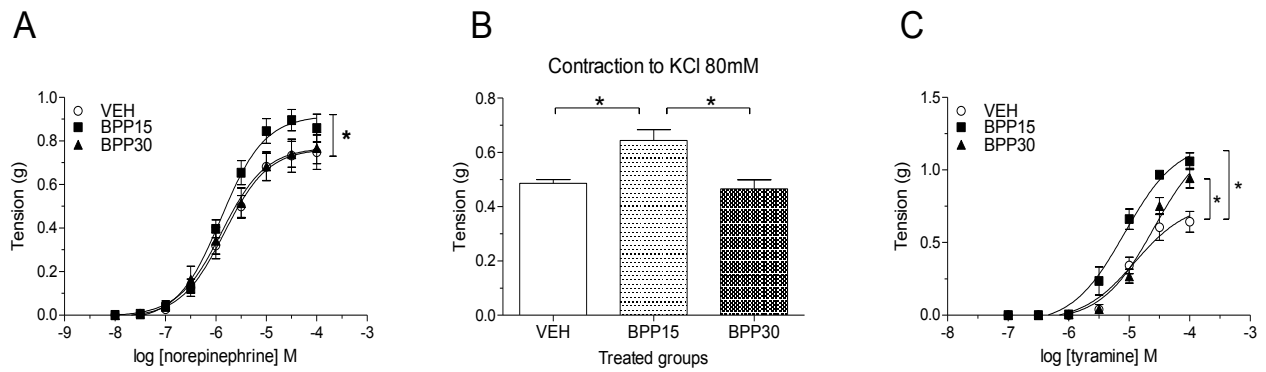


Figure 4. Bupropion treatment increases the contraction of CE duct. *In vitro* contraction of CE duct segments to NE (A), 80mM KCl (B) and to tyramine (C). Data are mean $\pm$ SEM from 5-6 segments taken from different rats/group. * $p < 0.05$ Vehicle vs BPP15 and Vehicle vs BPP30 (ANOVA + Newman-Keuls).

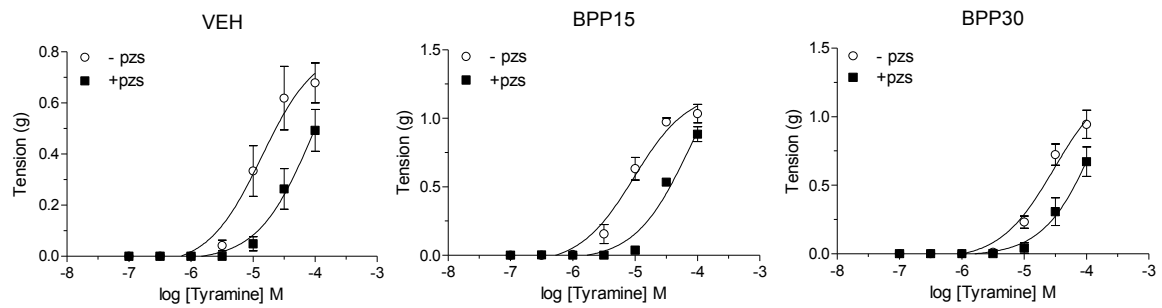


Figure 5. Unchanged NE reserves in CE duct after treatment with bupropion. *In vitro* tyramine concentration-response curves were constructed in absence and presence of prazosin (3nM). Data are mean $\pm$ SEM from 4-6 segments taken from different rats/group.

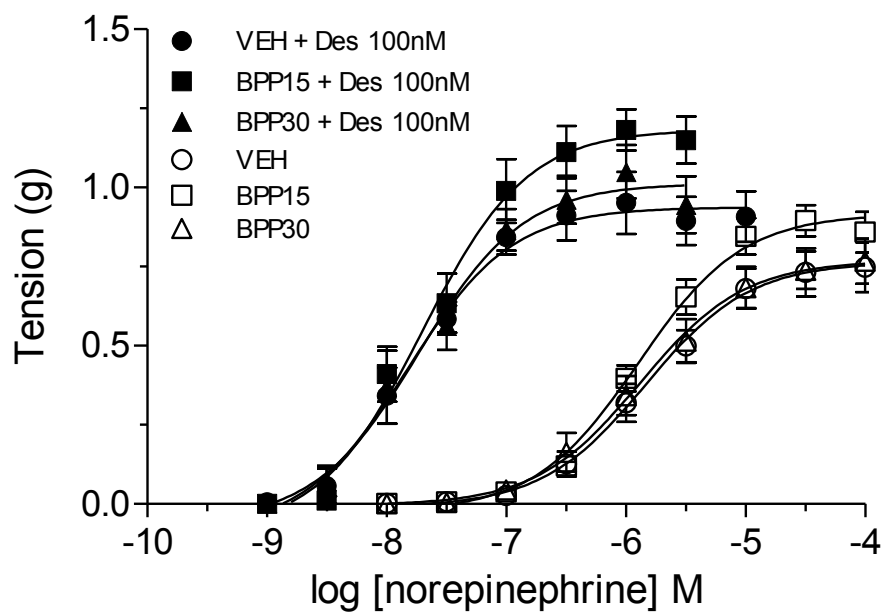
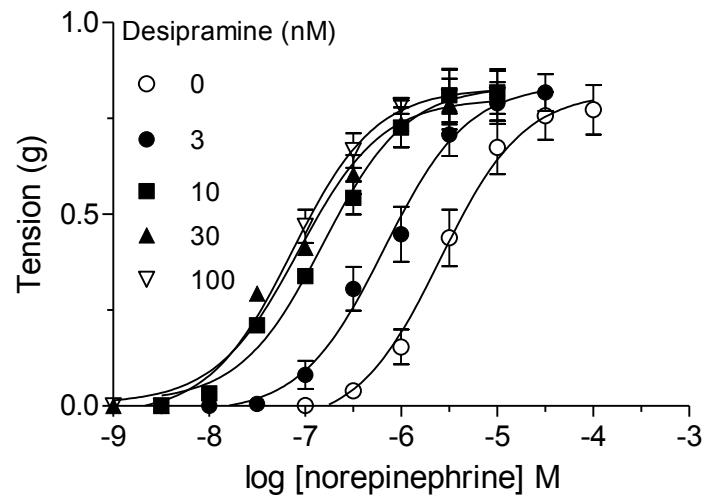


Figure 6. *In vivo* bupropion treatment did not alter the importance of NET in CE duct. *In vitro* NE concentration-response curves were constructed in absence and presence of desipramine 100nM. Data are mean $\pm$ SEM from 5-6 segments taken from different rats/group.



Supplementary figure. Concentration-dependent potentiation of NA-induced contractions of rat CE by desipramine. Data are mean $\pm$ sem from 4 different CE segments.

Supplementary table 1. Sexual behavior of control animals and treated with 15 and 30 mg/kg/day of bupropion during 30 days.

<i>Parameters</i>	<i>VEH (n=10)</i>	<i>BPP15 (n=10)</i>	<i>BPP30 (n=10)</i>
¹ Latency to the first mount (s)	135.89 ± 38.24 (n=9)	128.40 ± 36.19 (n=10)	153.30 ± 34.25 (n=10)
¹ Latency to the first intromission (s)	152.00 ± 27.11 (n=8)	146.33 ± 38.48 (n=9)	238.50 ± 36.05 (n=6)
¹ Number of intromissions until the first ejaculation	21.25 ± 4.40 (n=8)	22.44 ± 4.77 (n=9)	15.67 ± 3.49 (n=6)
¹ Latency to the first ejaculation (s)	1166.10 ± 205.62 (n=7)	1047.00 ± 155.91 (n=7)	1233.00 ± 222.64 (n=5)
² Latency of the first post-ejaculatory intromission	375.00 (355.00-376.00) (n=5)	364.50 (338.25-381.75) (n=6)	349.50 (372.25-378.25) (n=4)
² Number of post-ejaculatory intromissions	14.00 (7.00-15.00) (n=5)	10.50 (7.75-11.75) (n=6)	5.50 (4.50-9.00) (n=4)
¹ Total number of ejaculations	1.86 ± 0.26 (n=7)	2.00 ± 0.31 (n=7)	2.00 ± 0.32 (n=5)

¹Values expressed as mean ± SEM. p>0.05 for all comparisons (ANOVA).

²Values expressed as median (Q1-Q3). p>0.05 for all comparisons (Kruskal-Wallis).

Conclusão

A bupropiona mostrou-se capaz de inibir apenas parcialmente o sistema de captura de NE e, em doses efetivas em reduzir os sintomas antidepressivos e da abstinência do tabaco em ratos, aumentou a contração do ducto epididimário e prejudicou a qualidade espermática desses animais. A redução da qualidade espermática observada em ratos tratados com bupropiona não resultou de uma aceleração no tempo de trânsito espermático pelo epidídimo, sugerindo que este fármaco pode ter agido alterando o microambiente epididimário. Assim, este estudo experimental sugere que sejam investigados os efeitos da bupropiona sobre a qualidade espermática humana, uma vez que o uso desse fármaco tem sido sugerido como tratamento para disfunção sexual induzida por antidepressivos inibidores da recaptação neuronal de serotonina.

Referências bibliográficas

ABDEL-HAMID, I. A.; EL-SAYED, S. Primary Lifelong Delayed Ejaculation: Characteristics and Response to Bupropion. **Journal of Sexual Medicine**, v. 8, n. 6, p. 1772-1779, jun. 2011.

ALWAN, S.; REEFHUIS, J.; BOTTO, L. D.; RASMUSSEN, S. A.; CORREA, A.; Friedman, J. M. Maternal use of bupropion and risk for congenital heart defects. **American Journal of Obstetrics & Gynecology**, v. 203, n. 1, p. 52.e1-52.e6, jul. 2010.

AMANN, R. P. A critical review of methods for evaluation of spermatogenesis from seminal characteristics. **Journal of Andrology**, v. 37, n. 2. 1981.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders DSM IV TR**. 4. ed. Washington, DC: American Psychiatric Publishing, 2000.

AMIDU, N.; OWIREDU, W. K.; ALIDU, H.; SARPONG, C.; GYASI-SARPONG, C. K.; QUAYE, L. Association between metabolic syndrome and sexual dysfunction among men with clinically diagnosed diabetes. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, v. 5, n. 1, p. 42, jul. 2013.

ANAND KUMAR, T. C.; PRAKASH, A.; PRASAD, M. R. Ultrastructure of the clear cell lining the epididymal lumen of the rat. **Anatomischer Anzeiger**, v. 147, n. 3, p. 220-230, 1980.

ANDERSSON, K. E. Pharmacology of Penile Erection. **Pharmacological Reviews**, v. 53, n. 3, p. 417-450, sep. 2001.

ANDERSSON, K. E. Mechanisms of Penile Erection and Basis for Pharmacological Treatment of Erectile Dysfunction. **Pharmacological Reviews**, v. 63, n.4, p. 813-859, dec. 2011.

ÁRGYELÁN, M.; SZABÓ, Z.; KANYÓ, B.; TANÁCS, A.; KOVÁCS, Z.; JANKA, Z.; PÁVICS, L. Dopamine transporter availability in medication free and in bupropion treated depression: A ^{99m}Tc-TRODAT-1 SPECT study. **Journal of Affective Disorders**, v. 89, p. 115-123, 2005.

ASCHER, J. A.; COLE, J. O.; COLIN, J. N.; FEIGHNER, J. P.; FERRIS, R. M.; FIBIGER, H. C.; GOLDEN, R. N.; MARTIN, P.; POTTER, W. Z.; RICHELSON, E. Bupropion: a review of its mechanism of antidepressant activity. **The Journal of Clinical Psychiatry**, v. 56, n. 9, p. 395-401, sep. 1995.

ASHTON, A. K.; ROSEN, R. C. Bupropion as an antidote for serotonin reuptake inhibitor-induced sexual dysfunction. **Journal of Clinical Psychiatry**, v. 59, n. 3, p. 112-115, mar. 1998.

AUBIN, H. J.; LEBARGY, F.; BERLIN, I.; BIDAUT-MAZEL, C.; CHEMALI-HUDRY, J.; LAGRUE, G. Efficacy of bupropion and predictors of successful outcome in a sample of French smokers: a randomized placebo-controlled trial. **Addiction**, v. 99, n. 9, p. 1206-1218, sep. 2004.

BAILEY, S R.; CREW, E. E.; RISKE, E. C.; AMMERMAN, S.; ROBINSON, T. N.; KILLEN, J. D. Efficacy and Tolerability of Pharmacotherapies to Aid Smoking Cessation in Adolescents. **Pediatric Drugs**, v. 14, n. 2, p. 91-108, 2012.

BALDESSARINI, R. J. Drug Therapy of Depression and Anxiety Disorders. In: Goodman & Gilman's. **The Pharmacological Basis of Therapeutics**. 12ª edição. Edição on-line, 2010.

BALDWIN, D. S.; FOONG, T. Antidepressant drugs and sexual dysfunction. **British Journal of Psychiatry**, v. 202, p. 396-397, jun. 2013.

BALON, R. SSRI-Associated Sexual Dysfunction. **American Journal of Psychiatry**, v. 163, n. 9, p. 1504-1509, sep. 2006.

BELLENTANI, F. F.; FERNANDES, G. S. A.; PEROBELLI, J. E.; PACINI, E. S. A.; KIGUTI, L. R. A.; PUPO, A. S.; KEMPINAS, W. D. G. Acceleration of Sperm Transit Time and Reduction of Sperm Reserves in the Epididymis of Rats Exposed to Sibutramine. **Journal of Andrology**, v. 32, n. 6, p. 718-724, nov. 2011.

BILLUPS, K. L.; TILLMAN, S.; CHANG, T. S. Ablation of the inferior mesenteric plexus in the rat: alteration of sperm storage in the epididymis and vas deferens. **Journal of Andrology**, v. 143, n.3, p. 625-629, mar. 1990.

BORGES, C. S.; MISSASSI, G.; PACINI, E. S.; KIGUTI, L. R.; SANABRIA, M.; SILVA, R. F.; BANZATO, T. P.; PEROBELLI, J. E.; PUPO, A. S.; KEMPINAS, W. G. 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. 1-10, jun. 2013.

CARSON, K. V.; BRINN, M. P.; ROBERTSON, T. A.; TO-A-NAN, R.; ESTERMAN, A. J.; PETERS, M.; SMITH, B. J. Current and emerging pharmacotherapeutic options for smoking cessation. **Substance Abuse: Research and Treatment**, v. 7, p. 85-105, 2013. Disponível em: <<http://www.la-press.com>>. Acesso em: 21 jul 2013.

CHAN, B.; EINARSON, A.; KOREN, G. Effectiveness of bupropion for smoking cessation during pregnancy. **Journal of Addictive Diseases**, v. 24, n. 2, p. 19-23, 2005.

CLAYTON, A. H.; MCGARVEY, E. L.; ABOUESH, A. I.; PINKERTON, R. C. Substitution of an SSRI with bupropion sustained release following SSRI-induced sexual dysfunction. **Journal of Clinical Psychiatry**, v. 62, n. 3, p. 185-190, mar. 2001.

CLAYTON, A. H.; WARNOCK, J. K.; KORNSTEIN, S. G.; PINKERTON, R.; SHELDON-KELLER, A.; MCGARVEY, E. L. A placebo-controlled trial of bupropion SR as an antidote for selective serotonin reuptake inhibitor-induced sexual dysfunction. **Journal of Clinical Psychiatry**, v. 65, n. 1, p. 62-27, jan. 2004.

COLEMAN, C. C.; CUNNINGHAM, L. A.; FOSTER, V. J.; BATEY, S. R.; DONAHUE, R. M.; HOUSER, T. L.; ASCHER, J. A. Sexual dysfunction associated with the treatment of depression: a placebo-controlled comparison of bupropion sustained release and sertralina treatment. **Annals of Clinical Psychiatry**, v. 11, n. 4, p. 205-215, dec. 1999.

COLEMAN, C. C.; KING, B. R.; BOLDEN-WATSON, C.; BOOK, M. J.; SEGRAVES, R. T.; RICHARD, N.; ASCHER, J.; BATEY, S.; JAMERSON, B.; METZ, A. A Placebo-Controlled Comparison of the Effects on Sexual Functioning of Bupropion Sustained Release and Fluoxetine. **Clinical Therapeutics**, v. 23, n. 7, p. 1040-1058, jul, 2001.

COOPER, B. R.; HESTER, T. J.; MAXWELL, R. A. Behavioral and biochemical effects of the antidepressant bupropion (Wellbutrin): evidence for selective blockade of dopamine uptake *in vivo*. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 215, n. 1, p. 127-134, 1980.

COOPER, B. R.; WANG, C. M.; COX, R. F.; NORTON, R.; SHEA, V.; FERRIS, R. M. Evidence that the acute behavioral and electrophysiological effects of bupropion (Wellbutrin) are mediated by a noradrenergic mechanism. **Neuropsychopharmacology**, v. 11, n. 2, p. 133-141, oct. 1994.

COSENTINO, M. J.; COCKETT, A. T. K. Structure and Function of the Epididymis. **Urological Research**, V. 14, n. 5, p. 229-240, 1986.

CRENSHAW, T. L.; GOLDBERG, J. P.; STERN, W. C. Pharmacologic modification of psychosexual dysfunction. **Journal of Sex & Marital Therapy**, v. 13, n. 4, p. 239-252, winter, 1987.

CUASNICÚ, P. S., COHEN, D. J., ELLERMAN, D. A., BUSO, D., DA ROS, V. G.; MORGENFELD, M. M. Changes in specific sperm proteins during epididymal maturation. In: ROBAIRE, B.; HINTON, B. T. **The Epididymis: From Molecules to Clinical Practice**. New York: Kluwer Academic/ Plenum Publisher, 2002. p. 389 – 403.

CYR, D. G.; FINNISON, K.; DUFRESNE, J.; GREGORY, M. Cellular interactions and the blood-epididymal barrier. In: ROBAIRE, B.; HINTON, B. T. **The Epididymis: From Molecules to Clinical Practice**. New York: Kluwer Academic/ Plenum Publisher, 2002. p. 103 – 118.

DE LONG, N.; HYSLOP, J. R.; NICHOLSON, C. J.; MORRISON, K. M.; GERSTEIN, H. C.; HOLLOWAY, A. C. Postnatal Metabolic and Reproductive Consequences of Fetal and Neonatal Exposure to the Smoking Cessation Drug Bupropion. **Reproductive Sciences**, feb. 2013. Disponível em: <<http://rsx.sagepub.com/content/early/2013/02/28/1933719113477493>>. Acesso em 21 jul 2013.

DEFALCO, T.; SARASWATHULA, A.; BRIOT, A.; IRUELA-ARISPE, M. L.; CAPEL, B. Testosterone levels influence mouse fetal leydig cell progenitors through notch signaling. **Biology of Reproduction**, v. 88, n. 4, apr. 2013.

DORDING, C. M.; MISCHOULON, D.; PETERSEN, T. J.; KORNBLUH, R.; GORDON, J.; NIERENBERG, A. A.; ROSENBAUM, J. E.; FAVA, M. The Pharmacologic Management of SSRI-Induced Side Effects: A Survey of Psychiatrists. **Annals of Clinical Psychiatry**, v. 14, n. 3, p. 143-147, sep. 2002.

DWOSKIN, L. P.; RAUHUT, A. S.; KING-POSPISIL, K. A.; BARDO, M. T. Review of the Pharmacology and Clinical Profile of Bupropion, an Antidepressant and Tobacco Use Cessation Agent. **CNS Drug Reviews**, v. 12, n. 3-4, p. 178-207, 2006.

EINARSON, A.; RIORDAN, S. Smoking in pregnancy and lactation: a review of risks and cessation strategies. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v.65, n. 1, p. 325-330, jan. 2009.

FABRE, L. F.; BRODIE, H. K.; GARVER, D.; ZUNG, W.W. A multicenter evaluation of bupropion versus placebo in hospitalized depressed patients. **Journal of Clinical Psychiatry**, v. 44, n. 2 de 5, p. 88-94, may, 1983.

FABRE, L.F. & McLENDON, D.M. Double-blind placebo controlled study of Wellbatrin in the treatment of depressed in-patients. **Current Medical Research and Opinion**, n. 23, p. 393-402, 1978.

FEIGHNER, J. P.; GARDNER, E. A.; JOHNSTON, J. A.; BATEY, S. R.; KHAYRALLAH, M. A.; ASCHER, J. A.; LINEBERRY, C. G. Double-blind comparison of bupropion and fluoxetine in depressed outpatients. **Journal of Clinical Psychiatry**, v. 52, n. 8, p. 329-335, aug. 1991.

FELICI, M.; DOLCI, S. From testis to teratomas: a brief history of male germ cells in mammals. **International Journal of Developmental Biology**, v. 57, n.1, p. 115-121, jun. 2013.

FERNANDEZ, C. D. B.; PORTO, E. M. ARENA, A. C.; KEMPINAS, W. DE G. Effects of Altered Epididymal Sperm Transit Time on Sperm Quality. **International Journal of Andrology**, v. 31, n. 4, p. 427-437, aug. 2008.

FERRIS, R.M.; BEAMAN, O. J. Bupropion: a new antidepressant drug, the mechanism of action of which is not associated with down-regulation of postsynaptic beta-adrenergic, serotonergic (5-HT₂), alpha 2-adrenergic, imipramine and dopaminergic receptors in brain. **Neuropharmacology**, v. 22, n.11, p. 1257-1267, nov. 1983.

FERRY, L. H.; BURCHETTE, R. J. Efficacy of bupropion for smoking cessation in non-depressed smokers. **Journal of Addictive Diseases**, v. 13, p. 249, 1994.

FIORE, M. C.; JAÉN, C. R.; BAKER, T. B.; BAILEY, W. C.; BENOWITZ, N. L.; CURRY, S. J.; DORFMAN, S. F.; FROELICHER, E. S.; GOLDSTEIN, M. G.; HEALTON, C. G.; HENDERSON, P. N.; HEYMAN, R. B.; KOH, H. K.; KOTTKE, T. E.; LANDO, H. A.; MECKLENBURG, R. E.; MERMELSTEIN, R. J.; MULLEN, P. D.; ORLEANS, C. T.; ROBINSON, L.; STITZER, M. L.; TOMMASELLO, A. C.; VILLEJO, L.; WEWERS, M. E. Treating Tobacco Use and Dependence: 2008 Update. **Clinical Practice Guideline**, Public Health Service: U.S. Department of Health and Human Services., may, 2008.

FRANÇA, L. R.; AVELAR, G. F.; ALMEIDA, F. F. L. Spermatogenesis and sperm transit through the epididymis in mammals with emphasis on pigs. **Theriogenology**, v. 63, n.2, p. 300-318, jan. 2005.

FRANÇA, L. R.; GHOSH, S.; SHI-JUN, Y.; RUSSELL, L. D. Surface and Surface-to-Volume Relationships of the Sertoli Cell during the Cycle of the Seminiferous Epithelium in the Rat. **Biology of Reproduction**, v. 49, n. 6, p. 1215-1228, dec. 1993.

GARCIA, S. M. L.; FERNÁNDEZ, C. G. Embriologia. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.

GARDNER, E. A.; JOHNSTON, J. A. Bupropion--an antidepressant without sexual pathophysiological action. **Journal of Clinical Psychopharmacology**, v. 5, n. 1, p. 24-29, 1985.

GARTLEHNER, G.; THIEDA, P.; HANSEN, R. A.; GAYNES, B. N.; DEVEAUGH-GEISS, A.; KREBS, E. E.; LOHR, K. N. Comparative Benefits and Harms of Second-Generation Antidepressants: Background Paper for the American College of Physicians. **Annals of Internal Medicine**, v. 149, n. 10, p. 734-750, Nov. 2008.

GARTLEHNER, G.; HANSEN, R. A.; MORGAN, L. C.; THALER, K.; LUX, L.; VAN NOORD, M.; MAGER, U.; THIEDA, P.; GAYNES, B. N.; WILKINS, T.; STROBELBERGER, M.; LLOYD, S.; REICHENPFADER, U.; LOHR, K. N. Comparative Benefits and Harms of Second-Generation Antidepressants for Treating Major Depressive Disorder. **Annals of Internal Medicine**, v. 155, n. 11, p. 772-785, dec. 2011.

GATTI, J. L.; CASTELLA, S.; DACHEUX, F.; ECROYD, H.; MÉTAYER, S.; THIMON, V.; DACHEUX, J. L. Post-testicular sperm environment and fertility. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, p. 321-339, jul. 2004.

GERENDAI, I.; TOTH, I. L.; KOCSIS, K.; BOLDOGKOI, Z.; RUSVAI, M.; HALASZ, B. Identification of CNS neurons involved in the innervation of the epididymis: a viral transneuronal tracing study. **Autonomic Neuroscience**, v. 92, n. 1-2, p.1-10, sep. 2001.

GHANBARI, R.; MANSARI, EL M.; BLIER, P. Enhancement of serotonergic and noradrenergic neurotransmission in the rat hippocampus by sustained administration of bupropion. **Psychopharmacology**, v. 217, p. 61-73, mar. 2011.

GITLIN, M. J.; SURI, R.; ALTSHULER, L.; ZUCKERBROW-MILLER, J.; FAIRBANKS, L. Bupropion-sustained release as a treatment for SSRI-induced sexual side effects. **Journal of Sex & Marital Therapy**, v. 28, n. 2, p. 131-138, mar. 2002.

GIULIANO, F.; RAMPIN, O. Central neural regulation of penile erection. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 24, n. 5, p. 517-533, jul. 2000.

GLAXOSMITHKLINE. Bupropion Pregnancy Registry. Final report: 1 September 1997 through 31 March 2008. **Registry Report**. Wilmington, North Carolina, 2008.

- GRABUS, S. D.; CARROLL, F. I.; DAMAJ, M. I. Bupropion and its Main Metabolite Reverse Nicotine Chronic Tolerance in the Mouse. **Nicotine & Tobacco Research**, v. 14, n. 11, p. 1356-1361, nov. 2012.
- GRAY, K. M.; CARPENTER, M. J.; BAKER, N. L.; HARTWELL, K. J.; LEWIS, A. L.; HIOTT, D. W.; DEAS, D.; UPADHYAYA, H. P. Bupropion SR and contingency management for adolescent smoking cessation. **Journal of Substance Abuse Treatment**, v. 40, n. 1, p. 77-86, jan. 2011.
- HAMILTON, M. J.; BUSH, M.; SMITH, P.; PECK, A. W. The effects of bupropion, a new antidepressant drug, and diazepam, and their interaction in man. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 14, p. 791-797, 1982.
- HAYFORD, K. E.; PATTEN, C. A.; RUMMANS, T. A.; SCHROEDER, D. R.; OFFORD, K. P.; CROGHAN, I. T.; GLOVER, E. D.; SACHS, D. P.; HURT, R. D. Efficacy of bupropion for smoking cessation in smokers with a former history of major depression or alcoholism. **British Journal of Psychiatry**, v. 174, p. 173-178, feb. 1999.
- HEATON, J. P. W. Central neuropharmacological agents and mechanisms in erectile dysfunction: the role of dopamine. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 24, n. 5, p. 561-569, jul. 2000.
- HERMO, L.; OKO, R.; MORALES, C. R. Secretion and endocytosis in the male reproductive tract: a role in sperm maturation. **International Review of Cytology**, v. 154, p. 106-189, 1994.
- HERMO, L.; ROBAIRE, B. Epididymal cell types and their functions. In: ROBAIRE B, HINTON, B. T. **The Epididymis: from molecules to clinical practice**. New York: Kluwer Academic/ Plenum Publisher, 2002. p. 81-102.
- HILLIARD, W. T.; BARLOON, L.; FARLEY, P.; PENN, J. V.; KORANEK, A. Bupropion Diversion and Misuse in the Correctional Facility. **Journal of Correctional Health Care**, v. 19, n. 13, p. 211-217, 2013.
- HUGHES, J. R.; GOLDSTEIN, M. G.; HURT, R. D.; SHIFFMAN, S. Recent advances in the pharmacotherapy of smoking. **Journal of American Medical Association – JAMA**, v. 281, n. 1, p. 72-76, jan. 1999.
- HUGHES, J. R.; STEAD, L. F.; LANCASTER, T. Antidepressants for smoking cessation. **Cochrane Database Syst Rev**, v. 24, n. 1, jan. 2007. CD000031.
- HULL, E. M.; LORRAIN, D. S.; DU, J.; MATUSZEWICH, L.; LUMLEY, L. A.; PUTNAM, S. K.; MOSES, J. Hormone-neurotransmitter interactions in the control of sexual behavior. **Behavioural Brain Research**, v. 105, n. 1, p. 105-116, nov. 1999.
- HURT, R. D.; SACHS, D. P.; GLOVER, E. D.; OFFORD, K. P.; JOHNSTON, J. A.; DALE, L. C.; KHAYRALLAH, M. A.; SCHROEDER, D. R.; GLOVER, P. N.; SULLIVAN, C. R.; CROGHAN, I. T.; SULLIVAN, P. M. A comparison of sustained-release bupropion and placebo for smoking cessation. **The New England Journal of Medicine**, v. 337, n. 17, p. 1195-1202, oct. 1997.
- ISSA, J. S.; OGAWA ABE, T.; MOURA, S.; SANTOS, P. C. J. L.; PEREIRA, A. C. Effectiveness of coadministration of varenicline, bupropion, and serotonin reuptake inhibitors in a smoking cessation program in the real-life setting. **Nicotine & tobacco research**, v. 15, n. 6, p. 1146-1150, jun. 2013.

JOHNSON, L.; WELSH, T. H. J. R.; Anatomy and physiology of the male reproductive system and potential targets of toxicants. In: SIPEs, G.; McQUEEN, C. A.; GANDOLFI, A. J. **Comprehensive toxicology**. 10. ed. New York: Elsevier Science Inc, 1997. p. 05-61.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Aparelho Reprodutor Masculino. In: JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. p. 415-431.

KEMPINAS, W. DE G.; SUAREZ, J. D.; ROBERTS, N. L.; STRADER, L.; FERRELL, J.; GOLDMAN, J. M.; KLINEFELTER, G. R. Rat epididymal sperm quantity, quality, and transit time after guanethidine-induced sympathectomy. **Biology Reproduction**, v. 59, n. 4, p. 890-896, oct. 1998.

KENNEDY, S. H.; FULTON, K. A.; BAGBY, R. M.; GREENE, A. L.; COHEN, N. L.; RAFITARI, S. Sexual function during bupropion or paroxetine treatment of major depressive disorder. **Canadian Journal of Psychiatry**, v. 51, n. 4, p. 234-242, mar. 2006.

KILLEN, J. D.; ROBINSON, T. N.; AMMERMAN, S.; HAYWARD, C.; ROGERS, J.; STONE, C.; SAMUELS, D.; LEVIN, S. K.; GREEN, S.; SCHATZBERG, A. F. Randomized Clinical Trial of the Efficacy of Bupropion Combined With Nicotine Patch in the Treatment of Adolescent Smokers. **Journal of Consulting and Clinical Psychology**, v. 72, n. 4, p. 729-735, 2004.

KRAVOS, M. Bupropion-Associated Premature Ejaculation. **Pharmacopsychiatry**, v. 43, n. 4, p.156-157, mar. 2010.

LA TORRE, A.; GIUPPONI, G.; DUFFY, D.; CONCA, A. Sexual Dysfunction Related to Psychotropic Drugs: A Critical Review – Part I: Antidepressants. **Pharmacopsychiatry**, v. 46, n. 5, p. 191-199, jul. 2013.

LABBATE, L. A.; GRIMES, J. B.; HINES, A.; POLLACK, M. H. Bupropion Treatment of Serotonin Reuptake Antidepressant-Associated Sexual Dysfunction. **Annals of Clinical Psychiatry**, v. 9, n. 4, p. 241-245, 1997.

LEARNED-COUGHILIN, S. M.; BERGSTRÖM, M.; SAVITCHEVA, I.; ASCHER, J.; SCHMITH, V. D.; LÅNGSTROM, B. In Vivo Activity of Bupropion at the Human Dopamine Transporter as Measured by Positron Emission Tomography. **Biological Psychiatry**, v. 54, p. 800-805, 2003.

LEUNG, G. P. H.; CHEUNG, K. H.; LEUNG, C. T.; TSANG, M. W.; WONG, P. Y. D. Regulation of epididymal principal cell functions by basal cells: role of transient receptor potential (Trp) proteins and cyclooxygenase-1 (COX-1). **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 216, p. 5-13, 2004.

LINEBERRY, C. G.; JOHNSTON, J. A.; RAYMOND, R. N.; SAMARA, B.; FEIGHNER, J. P.; HARTO, N. E.; GRANACHER, R. P. JR.; WEISLER, R. H.; CARMAN, J. S.; BOYER, W. F. A fixed-dose (300 mg) efficacy study of bupropion and placebo in depressed outpatients. **Journal of Clinical Psychiatry**, v. 51, n. 5, p. 194-199, may, 1990.

MAEKAWA, M.; KAMIMURA, K. NAGANO, T. Peritubular myoid cells in the testis: their structure and function. **Archives of Histology and Cytology**, v. 59, n. 1, p. 1-13, mar. 1996.

MCGEARY, J. E.; KNOPIK, V. S.; HAYES, J. E.; PALMER, R. H.; MONTI, P. M.; KALMAN, D. Predictors of relapse in a Bupropion Trial for smoking cessation in Recently-Abstinent Alcoholics: preliminary Results Using an Aggregate Genetic Risk score. **Substance Abuse: Research and Treatment**, v. 6, p. 107-114, 2012. Disponível em: <<http://www.la-press.com>>. Acesso em: 21 jul 2013.

- MELIS, M. R.; ARGIOLAS, A. Role of Central Nitric Oxide in the Control of Penile Erection and Yawning. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 21, n. 6, p. 899-922, aug. 1997.
- MODELL, J. G.; KATHOLI, C. R.; MODELL, J. D.; DEPALMA, R. L. Comparative sexual side effects of bupropion, fluoxetine, paroxetine, and sertraline. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 61, n. 4, p. 476-487, apr. 1997.
- MODELL, J. G.; MAY, R. S.; KATHOLI, C. R. Effect of bupropion-SR on orgasmic dysfunction in nondepressed subjects: a pilot study. **Journal of Sex & Marital Therapy**, v. 26, n. 3, p. 231-240, sep. 2000.
- MONTEJO-GONZÁLEZ, A. L.; LLORCA, G.; IZQUIERDO, J. A.; LEDESMA, A.; BOUSOÑO, M.; CALCEDO, A.; CARRASCO, J. L.; CIUDAD, J.; DANIEL, E.; DE LA GANDARA, J.; DERECHO, J.; FRANCO, M.; GOMEZ, M. J.; MACIAS, J. A.; MARTIN, T.; PEREZ, V.; SANCHEZ, J. M.; SANCHEZ, S.; VICENS, E. SSRI-induced sexual dysfunction: fluoxetine, paroxetine, sertraline, and fluvoxamine in a prospective, multicenter, and descriptive clinical study of 344 patients. **Journal of Sex & Marital Therapy**, v. 23, n. 3, p. 176-194, 1997.
- MURAMOTO, M. L.; LEISCHOW, S. J.; SHERRILL, D.; MATTHEWS, E.; STRAYER, L. J. Randomized, Double-blind, Placebo-Controlled Trial of 2 Dosages of Sustained-Release Bupropion for Adolescent Smoking Cessation. **Archives of Pediatrics and Adolescent Medicine**, v. 161, n. 11, p. 1068-1074, nov. 2007.
- NIEDERHOFER, H.; HUBER, M. Bupropion May Support Psychosocial Treatment of Nicotine-Dependent Adolescents: Preliminary Results. **Pharmacotherapy**, v. 24, n. 11, p. 1524-1528, 2004.
- NOJIMOTO, F. D.; PIFFER, R. C.; KIGUTI, L. R. DE A.; LAMEU C.; DE CAMARGO, A. C. M.; PEREIRA, O. C. M.; PUPO, A. S. Multiple effects of sibutramine on ejaculation and on vas deferens and seminal vesicle contractility. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 239, n. 3, p. 233-240, sep. 2009.
- OLIVEIRA, A. F.; VALENTE, J. G.; LEITE, I. C. Aspectos da mortalidade atribuível ao tabaco: revisão sistemática. **Revista de Saúde pública**, v. 42, n. 2, p. 335-345, 2008.
- ORGEBIM-CRIST, M. C. Studies on the Function of the Epididymis. **Biology of Reproduction**, v. 1, n. 1, p. 155-175, jun. 1969.
- PATEL, D. V.; HALLS, J.; PATEL, U. Investigation of erectile dysfunction. **The British Journal of Radiology**, v. 85, n. 1, p. S69-S78, nov. 2012.
- PERKINS, K. A.; KARELITZA, J. L.; JAOA, N. C.; GURB, R. C.; LERMANB, C. Effects of bupropion on cognitive performance during initial tobacco abstinence. **Drug and Alcohol Dependence**, v. 1, n. 133, p. 283-286, Nov. 2013.
- PLODKOWSKI, R. A.; NGUYEN, Q.; SUNDARAM, U.; NGUYEN, L.; CHAU, D. L.; ST JEOR, S. Bupropion and naltrexone: a review of their use individually and in combination for the treatment of obesity. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 10, n. 6, p. 1069-1081, apr. 2009.
- RAU, K. S.; ELISABETH BIRDSALL, E.; HANSON, J. E.; JOHNSON-DAVIS, K. L.; CARROLL, F. I.; WILKINS, D. G.; GIBB, J. W.; HANSON, G. R.; FLECKENSTEIN, A. E. Bupropion increases striatal vesicular monoamine transport. **Neuropharmacology**, v. 49, p. 820-830, 2005.

- RICKER, D. D. The Autonomic Innervation of the Epididymis: It's Effects on Epididymal Function and Fertility. **Journal of Andrology**, v. 19, n. 1, p. 1-4, jan/feb. 1998.
- ROBAIRE, B. H. B.; ORGEBIN-CRIST, M. C. The epididymis. In: NEILL, J. D. **Knobil & Neill's Physiology of Reproduction**. Elsevier, 2006. p. 1071-1148.
- ROBAIRE, B.; VIGER, R. T. Regulation of Epididymal Epithelial Cell Functions. **Biology of Reproduction**, v. 52, n. 2, p. 226-236, feb. 1995.
- ROTHSCHILD, A. J. Sexual side effects of antidepressants. **Journal of Clinical Psychiatry**, v. 61, n. 11, p. 28-36, 2000.
- ROWLAND, D. L.; MYERS, L.; CULVER, A.; DAVIDSON, J. M. Bupropion and sexual function: a placebo-controlled prospective study on diabetic men with erectile dysfunction. **Journal of Clinical Psychopharmacology**, v. 17, n. 5, p. 350-357, oct. 1997.
- RUSSELL, L. D.; ETTLIN, R. A.; HIKIM, A. P. S.; CLEGG, E. D. Mammalian spermatogenesis. In: ---. **Histological & Histopathological Evaluation of the Testis**. United States: Cache River Press ed, 1990. p. 01-40.
- SAFARINEJAD, M. R. The effects of the adjunctive bupropion on male sexual dysfunction induced by a selective serotonin reuptake inhibitor: a double-blind placebo-controlled and randomized study. **BJU International**, v. 106, n. 6, p. 840-847, sep. 2010.
- SAYUK, G. S.; BRITT, M. G.; BILLY, D. N.; LUSTMAN, P. J. Improvement in Sexual Functioning in Patients With Type 2 Diabetes and Depression Treated With Bupropion. **Diabetes Care**, v. 43, p. 332-334, feb. 2011.
- SEGRAVES, R. T.; KAVOUSSI, R.; HUGHES, A. R.; BATEY, S. R.; JOHNSTON, J. A.; DONAHUE, R.; ASCHER, J. A. Evaluation of sexual functioning in depressed outpatients: a double-blind comparison of sustained-release bupropion and sertraline treatment. **Journal of Clinical Psychopharmacology**, v. 20, n. 2, p. 122-128, apr. 2000.
- SEILER, P.; WENZEL, I.; WAGENFELD, A.; YEUNG, C. H.; NIESCHLAG, E.; COOPER, T. G. The appearance of basal cells in the developing murine epididymis and their temporal expression of macrophageantigens. **International Journal of Andrology**, v. 21, n. 4, p. 217-226, aug. 1998.
- SERRETTI, A.; CHIESA, A. Treatment-Emergent Sexual Dysfunction Related to Antidepressants: A Meta-Analysis. **Journal of Clinical Psychopharmacology**, v. 29, n. 3, p. 259-266, jun. 2009.
- SETCHELL, B. P. Innervation and vasculature of the excurrent duct system. In: ROBAIRE, B.; HINTON, B.T. **The Epididymis: from molecules to clinical practice**. New York: Kluwer Academic/ Plenum Publisher, 2002. p. 35-48.
- SETCHELL, B. P.; BREED, W. G. Anatomy, Vasculature & Innervation of the Male Reproductive Tract. In: NEILL, J. D. **Knobil & Neill's Physiology of Reproduction**. Elsevier, 2006. p. 771-825.
- SHENG, L.; TANG, Y.; JIANG, Z.; YAO, C.; GAO, J.; XU, G.; TONG, X. Sustained-release bupropion for smoking cessation in a chinese sample: a double-blind, placebo-controlled randomized trial. **Nicotine & Tobacco Research**, v. 15, n. 2, p. 320-325, feb. 2013.
- SIMMLER, L. D.; WANDELER, R.; LIECHTI, M. E. Bupropion, methylphenidate, and 3,4-methylenedioxypyrovalerone antagonize methamphetamine-induced efflux of dopamine according to their potencies as dopamine uptake inhibitors: implications for the treatment of methamphetamine dependence. **BioMed Central Research Notes**, v. 6, n. 220, p. 1-5, 2013.

SLEMMER, J. E.; MARTIN, B. R.; DAMAJ, M. I. Bupropion Is a Nicotinic Antagonist. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 295, n. 1, p. 321-327, 2000.

SOROKO, F. E.; MEHTA, N. B.; MAXWELL, R. A.; FERRIS, R. M.; SCHROEDER, D. H. Bupropion hydrochloride ((+/-) alpha-t-butylamino-3-chloropropiophenone HCl): a novel antidepressant agent. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 29, n. 12, p. 767-770, dec. 1977.

SOSA, Z. Y.; PALMADA, M. N.; FÓSCOLO, M. R.; CAPANI, F.; CONILL, A.; CAVICCHIA, J. C. Administration of noradrenaline in the autonomic ganglia modifies the testosterone release from the testis using an ex vivo system. **International Journal of Andrology**, v. 32, n. 4, p. 391-398, aug. 2009.

STAHL, S. M. **Stahl's Essential Psychopharmacology: Neuroscientific Basis and Practical Applications**. 3. ed. New York: Cambridge University Press, 2008.

STAHL, S. M.; PRADKO, J. F.; HAIGHT, B. R.; MODELL, J. G.; ROCKETT, C. B.; LEARNED-COUGHLINE, S. A Review of the neuropharmacology of bupropion, a dual norepinephrine and dopamine reuptake inhibitor. **Primary Care Companion to the Journal of Clinical Psychiatry**, v. 6, n. 4, p. 159-166, 2004.

STAPLETON, J.; WEST, R.; HAJEK, P.; WHEELER, J.; VANGELI, E.; ABDI, Z.; O'GARA, C.; MCROBBIE, H.; HUMPHREY, K.; ALI, R.; STRANG, J.; SUTHERLAND, G. Randomized trial of NRT, bupropion, and NRT plus bupropion for smoking cessation: effectiveness in clinical practice. **Addiction**, jul. 2013. Disponível em: <<http://www.controlled-trials.com/ISRCTN91464711>>. Acesso em 21 jul 2013.

SUKOFF RIZZO, S. J.; SCHECHTER, L. E.; ROSENZWEIG-LIPSON, S. A novel approach for predicting antidepressant-induced sexual dysfunction in rats. **Psychopharmacology**, v. 195, n. 4, p. 459-467, jan. 2008.

THASE, M. E.; CLAYTON, A. H.; HAIGHT, B. R.; THOMPSON, A. H.; MODELL, J. G.; JOHNSTON, J. A. A Double-blind Comparison Between Bupropion XL and Venlafaxine XR. **Journal of Clinical Psychopharmacology**, v. 26, n. 5, p. 482-488, oct. 2006.

THOMAS, J. A. Pharmacological aspects of erectile dysfunction. **The Japanese Journal of Pharmacology**, v. 89, n. 2, p. 101-112, jun. 2002.

WALDINGER, M. D. The neurobiological approach to premature ejaculation. **Journal of Urology**, v. 168, n. 6, p. 2359-2367, dec. 2002.

WALKER, P. W.; COLE, J. O.; GARDNER, E. A.; HUGHES, A. R.; JOHNSTON, J. A.; BATEY, S. R.; LINEBERRY, C. G. Improvement in fluoxetine-associated sexual dysfunction in patients switched to bupropion. **Journal of Clinical Psychiatry**, v. 54, n. 12, p. 459-465, dec. 1993.

WATTENBERG, L. W.; Microscopic Histochemical Demonstration of Steroid-3 β -OL Dehydrogenase in Tissue Sections. **Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, v. 6, n. 1, p. 225-232, nov. 1958.

WEISLER, R. H.; JOHNSTON, J. A.; LINEBERRY, C. G.; SAMARA, B.; BRANCONNIER, R. J.; BILLOW, A. A. Comparison of bupropion and trazodone for the treatment of major depression. **Journal of Clinical Psychopharmacology**, v. 14, n. 3, p. 170-179, jun. 1994.

WERNEKE, U.; NORTHEY, S.; BHUGRA, D. Antidepressants and sexual dysfunction. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, v. 114, n.6, p. 384-397, dec. 2006.

WILLIAMS, V. S.; EDIN, H. M.; HOGUE, S. L.; FEHNEL, S. E.; BALDWIN, D. S. Prevalence and impact of antidepressant-associated sexual dysfunction in three European countries: replication in across-sectional patient survey. **Journal of Psychopharmacology**, v. 24, n. 4, p. 489-496, apr. 2010.

YANAGIMACHI, R. Mammalian fertilization. In: E. KNOBIL & J. D. NEIL. **The Physiology of Reproduction**, New York: Raven Press, 1994. p. 189–317.

ZAITUNE, M. P. DO A.; BARROS, M. B. DE A.; LIMA, M. G.; CÉSAR, C. L. G.; CARANDINA, L.; GOLDBAUM, M.; ALVES, M. C. G. P. Fatores associados ao tabagismo em idosos: Inquérito de Saúde no Estado de São Paulo (ISA-SP). **Caderno de Saúde Pública**, v. 28, n. 3, p. 583-595, mar. 2012.

ZUNG, W.W.; BRODIE, H. K.; FABRE, L.; MCLENDON, D.; GARVER, D. Comparative efficacy and safety of bupropion and placebo in the treatment of depression. **Psychopharmacology**, v. 79, n.4, p. 343-347, 1983.

Appendice

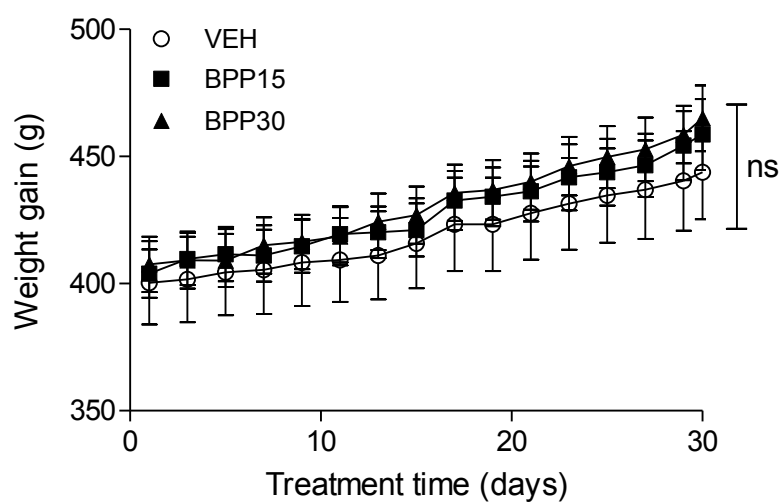


Figure 1. Evolution of body weight of male rats: vehicle, exposed to 15 and 30 mg/kg of Bupropion for 30 consecutive days. Values represent the mean $\pm$ S.E.M. ns: non significant ($p > 0.05$, ANOVA).

Table 1. Organ weights

<i>Parameters</i>	<i>VEH (n=9)</i>	<i>BPP15 (n=9)</i>	<i>BPP30 (n=9)</i>
Pituitary (mg)	11.61 ± 0.55	11.34 ± 0.54	11.26 ± 0.52
Pituitary (mg/100g)	2.63 ± 0.11	2.49 ± 0.14	2.42 ± 0.10
Liver (g)	15.88 ± 0.92	16.77 ± 0.88	17.70 ± 0.84
Liver (g/100g)	3.56 ± 0.11	3.64 ± 0.11	3.80 ± 0.14
Right kidney (g)	1.46 ± 0.08	1.51 ± 0.09	1.54 ± 0.05
Right kidney (g/100g)	0.32 ± 0.01	0.33 ± 0.01	0.33 ± 0.01
Left kidney (g)	1.46 ± 0.08	1.52 ± 0.08	1.56 ± 0.05
Left kidney (g/100g)	0.32 ± 0.01	0.33 ± 0.01	0.33 ± 0.01
Right adrenal (mg)	30.83 ± 1.43	30.72 ± 2.02	31.39 ± 1.68
Right adrenal (mg/100g)	6.99 ± 0.31	6.69 ± 0.41	6.76 ± 0.32
Left adrenal (mg)	32.73 ± 1.24	33.78 ± 1.57	33.03 ± 2.41
Left adrenal (mg/100g)	7.43 ± 0.35	7.39 ± 0.33	7.14 ± 0.55

Values expressed as mean ± SEM. $p > 0.05$ for all comparisons (ANOVA).

Table 2. Sperm morphology.

<i>Parameters</i>	<i>VEH</i>	<i>BPP15</i>	<i>BPP30</i>
Normal sperm	98.00	97.00	98.00
	(97.50 – 98.00)	(96.50 – 97.50)	(96.00 – 98.00)
Morphological abnormalities of the sperm head (%)	1.00	0.50	0.50
	(0.00 – 1.00)	(0.50 – 1.00)	(0.50 – 1.50)
Morphological abnormalities of the flagellum (%)	1.00	2.50	1.50
	(1.00 – 2.00)	(1.50 – 2.50)	(0.50 – 3.50)
Presence of cytoplasmic droplets (%)	60.00	57.50	57.5
	(56.50 – 65.50)	(47.50 – 59.00)	(54.00 – 60.50)

Values expressed as median (Q1-Q3). $p > 0.05$ for all comparisons (Kruskal-Wallis).

Table 3. Fertility test obtained by natural mating of control animals and treated with 15 and 30 mg/kg/day bupropion during 30 days.

Parameters	VEH (n=10)	BPP15 (n=10)	BPP30 (n=10)
Number of pregnant females	10	10	10
¹ Body weight of dams (g)	338.79 ± 7.05	337.85 ± 5.56	339.29 ± 5.46
¹ Uterus weight with fetuses (g)	58.49 ± 2.67	56.55 ± 2.52	51.36 ± 2.79
¹ Fetus weight (g)	2.95 ± 0.12	2.96 ± 0.12	2.93 ± 0.11
¹ Placental weight (g)	0.54 ± 0.02	0.59 ± 0.01	0.57 ± 0.02
¹ Implant number	12.30 ± 0.42	11.80 ± 0.51	10.90 ± 0.64
¹ Number of live fetuses	11.80 ± 0.49	11.10 ± 0.57	10.20 ± 0.59
² Fertility potential (%)	100 (95.31-100)	100 (92.31-100)	100(93.75-100)
² Fetal viability (%)	100 (92.31-100)	96,15 (90.42-100)	91,67 (90.23-100)

¹ Values expressed as mean ± SEM. p>0.05 for all comparisons (ANOVA).

² Values expressed as median (Q1-Q3). p>0.05 for all comparisons (Kruskal-Wallis).

Comissão de ética



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



Certificado

Certificamos que o Protocolo nº 427-CEUA, sobre "Efeitos da bupropiona sobre o comportamento sexual, parâmetros espermáticos e fertilidade de ratos machos", sob a responsabilidade de **Wilma De Grava Kempinas**, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado "Ad referendum" da **COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)**, nesta data.

Botucatu, 23 de agosto de 2012.

Prof.ª Dr.ª Patrícia Fernanda Felipe Pinheiro
Presidenta da CEUA