

EFEITOS DO EXTRATO DICLOROMETÂNICO DE FOLHAS DE *Cheiloclinium cognatum* (BACUPARI) SOBRE O APARELHO REPRODUTOR MASCULINO DE RATOS WISTAR.

MARTINS, Jaqueline dos Santos¹; **SOUSA**, Patrícia Vieira²; **LAVERS**, Marina Perillo Navarrete²; **COSTA**, Marcos Fernando Oliveira⁴; **LIÃO**, Luciano Moraes⁴; **MAZARO E COSTA**, Renata³;

Palavras-chave: Plantas, Reprodução Masculina, *Cheiloclinium cognatum*

1. INTRODUÇÃO

Em busca de participação do homem no processo de contracepção, modelos de pílulas masculinas estão sendo idealizados. O surgimento de inconvenientes como efeitos colaterais e o custo do tratamento contraceptivo feminino, reforça a busca por novos compostos que visem à contracepção masculina. Espécies vegetais são fontes inesgotáveis de compostos químicos com finalidade terapêutica, muitas dessas foram estudadas como responsáveis por interferir negativamente sobre parâmetros reprodutivos masculinos. Uma família botânica que se destaca é a Celastraceae que possui espécies como *Tripterigyum wilfordii*, *Celastrus paniculatus*, *Austroplenckia populnea*. Os efeitos inibitórios sobre a reprodução masculina estão atribuídos à presença de terpenos presentes nos extratos vegetais estudados. Assim, pode-se evidenciar que as plantas são fontes potenciais para obtenção de substâncias úteis para o estudo da contracepção masculina. A partir destes resultados e baseados em princípios quimiotaxonômicos justifica-se então a seleção de uma espécie vegetal do cerrado do estado de Goiás para estudar o efeito sobre a reprodução masculina. A planta selecionada é denominada *Cheiloclinium cognatum* (Meirs.) A. C. Sm, com o nome popular de bacupari, pertence à família Hippocrateaceae que em alguns sistemas de classificação é inserida como subfamília Hippocrateoideae dentro de Celastraceae. O extrato diclorometânico das folhas do bacupari é rico em triterpenos, dessa forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar efeito de *C. cognatum* sobre a atividade testicular e epididimária de ratos *Wistar* adultos.

2. METODOLOGIA

2.1. Obtenção do extrato

O extrato foi preparado com folhas de *Cheiloclinium cognatum* localizada no bosque *Saint Hilaire*, na Universidade Federal de Goiás, Goiânia – GO. O material vegetal foi seco em estufa de ventilação forçada a 40 °C e triturado em moinho de facas. Após secagem e pulverização foi extraído por percolação a frio em diclorometano, ao abrigo da luz e sob agitação (5 x 24 h). Evaporação do solvente conduziu ao extrato diclorometânico, posteriormente solubilizado em veículo apolar (Ex: óleo de soja) para ser administrado nos animais.

2.2 Animais

Foram utilizados ratos *Wistar* adultos, 90 dias de idade, pesando em torno de 350 g, provenientes do Biotério de Central da UFG, câmpus de Goiânia divididos em dois grupos: tratado (n=10 - 500 mg/kg/dia, v.o., de extrato diclorometânico de folhas de *C. cognatum*, durante 35 dias) e controle (n=10, óleo de soja em volume e período correspondentes ao tratado).

2.3 Testículo: Quantidade e Concentração de Espermátides - Produção Espermática Diária (PED)

Os animais foram mortos por decapitação para coleta dos órgãos reprodutores masculinos. A vesícula seminal, a próstata, o epidídimo e testículo do lado direito foram retirados e pesados. Após a pesagem os testículos, a túnica albugínea removida e o parênquima foi homogeneizado e sonicado (submetido a ondas de ultra-som) Para avaliação da quantidade espermática as espermátides resistentes à homogeneização e sonicagem (estágio 19 da espermiogênese) foram contadas em câmara de Neubauer melhorada. A concentração espermática foi calculada pela divisão do valor da quantidade espermática pelo peso do parênquima. Para determinação da PED, dividi-se a quantidade espermática por 6,1 (número de dias durante os quais as espermátides 19 permanecem nos túbulos seminíferos).

2.4. Testículo: Células de Sertoli

Os testículos esquerdos foram retirados, fixados em solução de 80% de álcool 80°; 15% de formaldeído 10%; 5% de ácido acético e processados. Foram obtidos cortes transversais com 5 µm de espessura e corados com HE. Foram contadas células de Sertoli com nucléolo evidente presente no estágio XIX (total de 10 por rato) do ciclo espermato gênico.

2.5. Epidídimo: Quantidade e Concentração de Espermatozóides - Tempo de Trânsito dos Espermatozóides

Os epidídimos direitos foram inicialmente divididos nas unidades: cabeça-corpo e cauda sendo pesadas. Para determinação da quantidade, concentração de espermatozóides e tempo de trânsito as unidades epididimárias foram homogeneizadas segundo o mesmo protocolo empregado para os testículos. Para calcular o tempo de trânsito dos espermatozóides o valor referente à quantidade de espermatozóides foi dividido pelo respectivo valor de PED de cada animal.

2.6 Análise Estatística

Para comparação entre os resultados obtidos nos grupos foi utilizado o teste não-paramétrico de Mann-Whitney. Foram considerados significantes as diferenças quando $p < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 – Peso dos órgãos

Os ratos tratados apresentaram 19% de redução do peso testicular absoluto e 24% no peso relativo, estes podem ser devidos à diminuição na quantidade de espermátides presentes nas gônadas (tabelas 01 e 02). Não houve diferença entre os grupos nos pesos absoluto e relativo do epidídimo, da vesícula seminal e próstata (tabela 01).

3.2 – Testículo e epidídimo

Os animais tratados apresentaram diminuições estatisticamente significantes da PED (35% menor em relação ao controle; $p < 0,01$) e nas quantidade e concentração de espermátides maduras no testículo. A redução da PED refletiu diretamente na avaliação epididimária mostrando déficit na quantidade e concentração espermática, principalmente na unidade cabeça-corpo. Contudo, não houve alteração no tempo de trânsito espermático pelo epidídimo (tabela 2).

Tabela 01: Pesos Absoluto e Relativo do testículo, epidídimo, vesícula seminal e próstata de animais tratados com extrato diclorometânico de folhas de *C. cognatum* 500 mg/kg/dia, v.o. por 35 dias e de ratos controle que receberam óleo de soja como veículo. Valores Média $\pm$ EPM, **p<0,01.

Órgão reprodutor	Peso absoluto (g)		Peso relativo (mg/100 g)	
	Controle	Tratado	Controle	Tratado
Testículo	1,16 $\pm$ 0,08	0,86 $\pm$ 0,05**	0,30 $\pm$ 0,02	0,23 $\pm$ 0,01**
Epidídimo cabeça-corpo	0,21 $\pm$ 0,01	0,18 $\pm$ 0,02	0,56 $\pm$ 0,03	0,48 $\pm$ 0,04
Epidídimo cauda	0,11 $\pm$ 0,01	0,12 $\pm$ 0,01	0,85 $\pm$ 0,05	0,75 $\pm$ 0,08
Próstata	0,21 $\pm$ 0,07	0,20 $\pm$ 0,08	0,58 $\pm$ 0,06	0,61 $\pm$ 0,06
Vesícula Seminal	0,63 $\pm$ 0,04	0,55 $\pm$ 0,07	1,67 $\pm$ 0,10	1,60 $\pm$ 0,11

Tabela 02. Efeitos sobre o testículo e epidídimo de ratos tratados com extrato diclorometânico de folhas de *C. cognatum*, v.o. 500 mg/kg/dia por 35 dias em comparação com animais controles que receberam óleo de soja como veículo. Mann-Whitney (Média $\pm$ EPM, *p<0,05; ** p<0,01).

PARÂMETROS	GRUPO	
TESTÍCULO	Controle	Tratado
Produção Espermática Diária (milhões/dia)	24,8 $\pm$ 1,3	16,3 $\pm$ 1,2**
Quantidade de espermátides (10 ⁶ /órgão)	151,4 $\pm$ 8,0	99,2 $\pm$ 7,6**
Concentração de espermátides (10 ⁶ /g/órgão)	145,4 $\pm$ 6,7	118,7 $\pm$ 14,3*
Número de células de Sertoli	17,0 $\pm$ 1,0	15,0 $\pm$ 1,0*
EPIDÍDIMO CABEÇA E CORPO		
Quantidade de espermatozóides (10 ⁶ /órgão)	85,1 $\pm$ 3,9	57,62 $\pm$ 8,0**
Concentração de espermatozóides (10 ⁶ /g/órgão)	413,0 $\pm$ 22,7	313,66 $\pm$ 23,6**
Trânsito espermático (dias)	3,48 $\pm$ 0,14	3,14 $\pm$ 0,28
EPIDÍDIMO CAUDA		
Quantidade de espermatozóides (10 ⁶ /órgão)	57,1 $\pm$ 6,1	44,83 $\pm$ 6,9
Concentração de espermatozóides (10 ⁶ /g/órgão)	537,5 $\pm$ 54,2	349,0 $\pm$ 32,4*
Trânsito espermático (dias)	2,33 $\pm$ 0,24	2,31 $\pm$ 0,31

3.3 – Sertoli

A contagem de células de Sertoli mostrou redução significativa nos animais tratados com bacupari (tabela 02). Tal redução pode ser responsável pelos resultados sobre testículo e epidídimo, pois há uma relação direta entre número de células de Sertoli e o número de espermátides no epitélio germinativo.

4. CONCLUSÃO

A seleção da espécie por princípios quimitaxonômicos foi eficaz e demonstrou o efeito anti-espermatogênico de *Cheiloclinium. cognatum*.

5. FINANCIAMENTO: PIBIC/CNPQ

¹ Bolsista de iniciação científica (PIBIC). DCIF, Instituto de Ciências Biológicas, período 2005/2006 – jack_bio16@hotmail.com

² Bolsista de iniciação científica (PIVIC). DCIF, Instituto de Ciências Biológicas, 2005/2006

³ Orientador/Instituto de Ciências Biológicas/ DICF UFG, mazaro@icb.ufg.br

⁴. Pesquisadores Colaboradores