

AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DOS ESPERMATOZÓIDES DE RATOS TRATADOS COM EXTRATO DICLOROMETÂNICO DE FOLHAS DE BACUPARI *Cheiloclinium cognatum* (Miers.) A. C. Sm.

SOUSA, Patrícia Vieira²; **Martins**, Jaqueline dos Santos¹, **Lavers**, Marina Perillo
Navarrete², **Costa**, Marcos Fernando Oliveira⁴, **Lião**, Luciano Morais⁴; **Mazaro e**
Costa, Renata⁵

Palavras-chave: Ratos, *C. cognatum*, Índice de Fertilidade, Morfologia de Espermatozóides.

1. INTRODUÇÃO

A expansão demográfica desordenada é um problema mundial que acarreta sérias dificuldades sócio-econômicas. Para controlá-la são utilizados muitos métodos contraceptivos, em maioria de uso feminino. A Organização Mundial de Saúde (OMS), na busca de soluções para esta problemática incentiva as pesquisas com espécies vegetais com potencialidade contraceptiva masculina. Verifica-se que a família Celastraceae inclui várias plantas de gêneros distintos com atividade inibitória sobre o aparelho reprodutor masculino; tais como *Celastrus paniculatus*.; *Catha edulis*, *Austroplenckia populnea*., *Maytenus ilicifolia* e *Tripterygium wilfordii*. *Cheiloclinium cognatum* (Bacupari), pertencente a Hippocrateaceae está distribuída pelo estado de Goiás apresentando pouca variação morfológica, sua composição química demonstra a presença de vários triterpenos distintos, essa espécie foi selecionada para esse estudo baseado princípio de quimiotaxonomia, pois a família Hippocrateaceae em alguns sistemas de classificação é incluída em Celastraceae, como subfamília Hippocrateoideae, dessa forma o bacupari pode ser uma fonte de compostos químicos que possuam atividades contraceptivas masculinas. Os objetivos do presente estudo são investigar o efeito de *C. cognatum* sobre morfologia dos espermatozóides contido no canal deferente de ratos *Wistar* e avaliar o índice de fertilidade dos animais expostos ao extrato diclorometânico das folhas do bacupari.

2. METODOLOGIA

2.1. Planta

O extrato foi preparado com folhas de *C. cognatum* localizada no bosque *Saint Hilaire*, na Universidade Federal de Goiás, Goiânia – GO. O material vegetal foi seco, moído e extraído por percolação a frio em diclorometano, resultando no extrato diclorometânico, diluído em veículo apolar (Ex: óleo de soja) para administração.

2.2. Animais

Foram utilizados ratos *Wistar* adultos, 90 dias de idade, pesando em torno de 350 g, provenientes do Biotério Central da UFG, campus 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 correspondente ao tratado). Os animais foram mantidos com condições controladas de luminosidade (12h luz: 12h escuro) e temperatura (cerca de 23 °C). Os ratos receberam alimento sólido (Labina/Purina) e líquido à vontade.

2.3. Cruzamento dos animais – Determinação do Índice de Fertilidade

Na última semana do tratamento os ratos foram submetidos ao cruzamento com 40 fêmeas nulíparas, em ciclo estral regular, para o cálculo do Índice de fertilidade.

Cada macho dividiu a caixa com duas fêmeas durante uma semana, com verificação diária da presença de espermatozóides nos esfregaços vaginais. O Índice de Fertilidade é a relação entre o número de fêmeas que copularam e o número total de fêmeas submetidas ao cruzamento.

2.4. Morfologia dos espermatozóides presentes no canal deferente

O canal deferente foi lavado com 1,5 mL de solução formol-salina com auxílio de seringa e agulha. Foram feitos esfregaços em lâminas histológicas, recobertas por lamínulas, analisando-se 200 espermatozóides por animal (FILLER 1993). As anormalidades morfológicas consideradas foram: cabeça sem curva, cabeça em forma de alfinete, espermatozóide com duas cabeças, cabeça em forma de banana, flagelo enrolado, flagelo curvado, cauda quebrada, cabeça decapitada.

2.5. Análise Estatística

Para avaliar os dados obtidos nos cruzamentos foi utilizado o teste de qui-quadrado e o teste não-paramétrico de Mann-Whitney ($p < 0,05$) para a análise da morfologia dos espermatozóides.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Índice de Fertilidade

A eficiência do cruzamento teve uma tendência de redução em 20% em relação ao grupo controle, esse resultado pode estar associado às diminuições nas quantidade e concentração de espermátides testiculares ou a um comprometimento do interesse sexual dos animais pelo tratamento com bacupari (tabela 01).

Tabela 01. Efeitos sobre o testículo e índice de fertilidade de ratos *Wistar* adultos tratados com extrato diclorometânico de folhas de *Cheiloclinium cognatum*, v.o. 500 mg/kg/dia, durante 35 dias. Mann-Whitney (Média $\pm$ EPM, * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$). Para comparação do índice de fertilidade entre controle e tratado utilizou-se o teste de qui-quadrado.

PARÂMETRO	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*
Índice de Fertilidade	60%	40%

3.2. Morfologia dos espermatozóides presentes no canal deferente

O tratamento com *C. cognatum* não produziu alterações morfológicas nos espermatozóides presentes no ducto deferente do grupo tratado (tabela 02). Resultados semelhantes aos nossos foram obtidos no tratamento de ratos *Wistar* com extratos hidrometanólico (MAZARO et al, 2002) e hexânico de *Austroplenckia populnea* (MAZARO et al, 2000), planta do cerrado brasileiro e da família Celastraceae, que não produziu anormalidades nos espermatozóides coletados no ducto deferente, apresentando, porém, redução significativa na quantidade de

espermatozóides do epidídimo. Estudos realizados com espécies da família Celastraceae demonstraram alterações morfológicas dos espermatozóides com aumento da frequência de espermatozóides anormais, são exemplos: *Catha edulis*, *Maytenys ilicifolia* e *Tripterygium wilfordii*, tendo esta última forte potencial para se tornar anticoncepcional masculino, com vários de seus compostos ativos sendo estudados para inibição do aparelho reprodutor masculino (HUYNH, 2000).

Tabela 02. Morfologia dos espermatozóides presentes no canal deferente de ratos tratados com extrato diclorometânico de folhas de *Cheiloclinium cognatum*, 500 mg/kg/dia v.o., durante 35 dias. Valores médios $\pm$ EPM e porcentagem de formas estruturalmente normais e anormais entre parênteses.

MORFOLOGIA DOS ESPERMATOZÓIDES			
GRUPO	N	NORMAL	ANORMAL
CONTROLE	9	174 $\pm$ 6 (87%)	26 $\pm$ 6 (13%)
TRATADO	9	168 $\pm$ 12 (84%)	32 $\pm$ 12(16%)

N = Número total de animais

4. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos com o tratamento de ratos *Wistar* com o extrato diclorometânico de *C. cognatum* evidencia alteração negativas em alguns parâmetros reprodutivos masculinos, tais como espermatogênese e fertilidade, sem alterar a morfologia do espermatozóide causadas pelo tratamento. Tais resultados estimulam novos projetos para avaliar a fertilidade dos animais submetidos ao tratamento com bacupari.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FILLER, R. Methods for evaluation of rat epididymal sperm morphology. In: CHAPIN, R. E., HUYNH, P. N, et al. Long-term effects of triptolide on spermatogenesis, epididymal sperm function, and fertility in male rats. *Journal of andrology*, v.21, p.689-99, 2000.
 MAZARO R, DI STASI LC, FILHO SA, KEMPINAS WG. Decrease in sperm number after treatment of rats with *Austroplenckia populnea*. *Contraception*. 62(1):45-50. 2000;
 MAZARO R, DI STASI LC, KEMPINAS W.G Effects of the hydromethanolic extract of *Austroplenckia populnea* (Celastraceae) on reproductive parameters of male rats.. *Contraception*. 66(3):205-9, 2002

¹ Bolsista de iniciação científica (PIBIC). DCIF, Instituto de Ciências Biológicas, período 2005/2006

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

⁴ Pesquisador Colaborador

⁵ Orientadora/Instituto Ciências Biológicas /DICF, UFG, mazaro@icb.ufg.br