

**ANA PAULA DE LIMA FLORENTINO MATTA**

**EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO DA RAIZ DE *OURATEA SEMISERRATA*  
(MART.) ENGL. (OCHNACEAE) SOBRE OS TESTÍCULOS DE CAMUNDONGOS  
SUÍÇOS ADULTOS**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa, como  
parte das exigências do Programa de Pós-  
Graduação em Biologia Celular e  
Estrutural, para obtenção do título de  
*Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2008

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

M435e  
2008

Matta, Ana Paula de Lima Florentino, 1984-  
Efeitos do extrato aquoso da raiz de  
*Ouratea semiserrata* (Mart.) Engl. (Ochnaceae) sobre os  
testículos de camundongos Suíços adultos / Ana Paula  
de Lima Florentino Matta. – Viçosa, MG, 2008.  
viii, 57f.: il. ; 29cm.

Orientador: Sérgio Luis P. Da Matta.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de  
Viçosa.  
Inclui bibliografia.

1. *Ouratea semiserrata*. 2. Testículos - Efeito na  
Reprodução de ratos. 3. Espermatogênese em animais.  
4. Morfologia. 5. Plantas medicinais. 6. Afrodisíacos.  
I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 571.865

**Aos meus pais**

*Um pequeno gesto de carinho e retribuição aos ensinamentos, cuidados, incentivos e ao amor incondicional que dedicam a mim.*

**Ao meu esposo**

*Ao qual compartilho alegrias e dificuldades, amigo e companheiro em todos os momentos.*

**As minhas irmãs**

*Pelo carinho e incentivo.*

*"Posso todas as coisas naquele que me fortalece".*

Filipenses 4:13

## AGRADECIMENTOS

A Deus, que me concedeu sabedoria, forças e perseverança para conquistar esta vitória.

Aos meus pais Nilton e Sônia que mesmo distantes, me apoiaram em todos os momentos desta caminhada, com orações, palavras de amor e de incentivo. Vocês são meus exemplos de vida!

As minhas queridas irmãs Fernanda e Daniele, pelo incentivo e amizade. Pessoas que eu tanto amo!

Ao meu esposo Paulo Roberto pelo companheirismo e amor que dedica a mim. Pela compreensão dos momentos de ausência, pelo ombro amigo, por fazer parte da minha história, acreditar nos meus sonhos e me ajudar a realizá-los. Pelo simples fato de ser quem ele é, o meu amado.

A minha querida sogra Iracema que me ajudou com orações e incentivo para realização desta conquista.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa durante o período do mestrado.

Ao meu orientador Sérgio Luis Pinto da Matta, por ter depositado em mim confiança antes mesmo de me conhecer. Pela maneira atenciosa e paciente com que se dedicou a mim nos momentos de orientação. Por fazer parte desta e de outras conquistas que estão por vir. Guardarei sempre a amizade, o respeito e o carinho por você. Obrigada!

Ao professor e co-orientador João Paulo Viana Leite, pelos ensinamentos para a realização da parte fitoquímica deste trabalho, e pela constante ajuda em todos os momentos de dúvidas. Sua contribuição foi muito importante!

Ao professor e co-orientador Tarcízio Antônio Rêgo de Paula pela contribuição ao longo deste trabalho e pelas considerações que ajudaram em sua melhoria.

A professora Fabiana Cristina Silveira Alves de Melo, pelo carinho, amizade e por ter se prontificado em colaborar na correção deste trabalho.

Ao professor Cláudio César Fonseca, pelas valiosas orientações sobre técnicas para preparação do material biológico e por aceitar prontamente participar da banca examinadora da dissertação.

Aos professores do Laboratório de Biologia Estrutural Sérgio L. P. da Matta, Clóvis A. Neves, José Lino, Izabel R. S. C. Maldonado e Adilson A. Zácara, pela amizade, pelos ensinamentos nas disciplinas e pelo exemplo de profissionalismo.

A amiga Danielle Barbosa Morais pela cumplicidade, pela ajuda nas disciplinas e durante o experimento. Pela forma meiga e sincera que vibrou com minhas vitórias, por ter me incentivado a correr atrás do que parecia distante. Você é um exemplo de trabalho sério!

As amigas e companheiras de trabalho Fabíola, Juliana Silveira, Kyvia e Pamella por toda contribuição durante experimento. Pelas palavras de carinho, por se alegrarem comigo nos momentos de vitória e me encorajarem nos momentos de indecisões. Vocês são pessoas raras que estarão sempre presentes na minha lembrança.

A amiga Nathália Coelho Vargas por compartilhar comigo alegrias e dificuldades, ouvindo, aconselhando ou emprestando o ombro amigo. Pelos sinceros gestos de carinho. Você é muito especial para mim!

Ao companheiro de trabalho Diego por toda ajuda durante o período de experimentação, pela força e pelos momentos de descontração.

A Jesylaine, pela amizade, pela contribuição durante o experimento e pelo auxílio nas análises.

Ao Márcio, pela ajuda durante a realização da quantificação fitoquímica.

Ao Luiz Carlos Chierogatto por ter coletado a raiz, registrado e me cedido para realizar este trabalho. Pela amizade e trocas de idéias.

Aos demais colegas e amigos Juliana Antonucci, Ana Carolina, Suellen, Daiane, Karine, Diane, Marli, Marcos de Lucca, Bruna, Wellington, Mônica Oliveira, Daniele Soares Oliveira, Luciana, Ana Paula Cerqueira e Edalton, pelos momentos de cooperação e descontração.

Aos professores de graduação Ana Teresa César Silva, Lílían Fraga e Alexandre Bittencourt pela amizade, pelos ensinamentos e pelo incentivo.

Aos funcionários de Pós-graduação de Biologia Celular e Estrutural e do Departamento de Biologia Geral, Elizabeth, Diana, Salvadora, Alex e João pelo atendimento atencioso, pelo carinho e amizade.

A professora Neuza Maria Brunoro Costa, por disponibilizar o espaço e a estrutura necessária para realização do experimento, no Laboratório de Nutrição Experimental da UFV.

Ao laboratório de Anatomia Vegetal por ceder espaço e equipamento para a captura das imagens.

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                                                               |               |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| <b>RESUMO.....</b>                                                                                                                                                            | <b>vii</b>    |
| <b>ABSTRACT.....</b>                                                                                                                                                          | <b>ix</b>     |
| <b>INTRODUÇÃO GERAL.....</b>                                                                                                                                                  | <b>1</b>      |
| 1. Fitoterapia.....                                                                                                                                                           | 1             |
| 2. Terapia da estimulação sexual.....                                                                                                                                         | 2             |
| 3. O testículo.....                                                                                                                                                           | 3             |
| 4. Células de Leydig.....                                                                                                                                                     | 5             |
| 5. Metabólitos secundários: importância.....                                                                                                                                  | 5             |
| 6. <i>Ouratea semiserrata</i> (raiz de bugre).....                                                                                                                            | 7             |
| 7. Objetivos.....                                                                                                                                                             | 7             |
| 8. Referências.....                                                                                                                                                           | 9             |
| <br><b>1. EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO DA RAIZ DE <i>OURATEA SEMISERRATA</i> (MART.) ENGL. (OCHNACEAE) SOBRE A BIOMETRIA CORPORAL E TESTICULAR DE CAMUNDONGOS SUÍÇOS ADULTOS</b> | <br><b>14</b> |
| RESUMO.....                                                                                                                                                                   | 14            |
| 1. INTRODUÇÃO.....                                                                                                                                                            | 15            |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS.....                                                                                                                                                    | 16            |
| 2.1. Planta.....                                                                                                                                                              | 16            |
| 2.2. Preparação do extrato.....                                                                                                                                               | 16            |
| 2.3. Análises químicas.....                                                                                                                                                   | 17            |
| 2.4. Animais, grupos experimentais e tratamento.....                                                                                                                          | 17            |
| 2.5. Coleta de Amostras.....                                                                                                                                                  | 17            |
| 2.6. Biometria corporal e testicular.....                                                                                                                                     | 18            |
| 2.7. Análise estatística.....                                                                                                                                                 | 18            |
| 3. RESULTADOS.....                                                                                                                                                            | 18            |
| 3.1 Análise fitoquímica.....                                                                                                                                                  | 18            |
| 3.2. Biometria corporal e testicular.....                                                                                                                                     | 18            |
| 4. DISCUSSÃO.....                                                                                                                                                             | 18            |
| 5. CONCLUSÕES.....                                                                                                                                                            | 21            |
| 6. REFERÊNCIAS.....                                                                                                                                                           | 22            |
| <br><b>2. EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO DA RAIZ DE <i>OURATEA SEMISERRATA</i> (MART.) ENGL. (OCHNACEAE) NO PARÊNQUIMA TESTICULAR DE CAMUNDONGOS SUÍÇOS ADULTOS</b>                | <br><b>29</b> |

|                                                                                                                                                                                         |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| RESUMO.....                                                                                                                                                                             | 29        |
| 1. INTRODUÇÃO.....                                                                                                                                                                      | 30        |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS.....                                                                                                                                                              | 31        |
| 2.1. Coleta e processamento do material botânico.....                                                                                                                                   | 31        |
| 2.2. Animais, tratamento e preparação histológica.....                                                                                                                                  | 31        |
| 2.3. Proporções volumétricas (%), volume dos componentes do testículo e índice<br>tubulosossomático.....                                                                                | 32        |
| 2.4. Diâmetro tubular e altura do epitélio seminífero.....                                                                                                                              | 32        |
| 2.5. Comprimento total dos túbulos seminíferos e comprimento total de túbulos por grama de<br>testículo.....                                                                            | 32        |
| 2.6. Análise estatística.....                                                                                                                                                           | 33        |
| 3. RESULTADOS.....                                                                                                                                                                      | 33        |
| 4. DISCUSSÃO.....                                                                                                                                                                       | 33        |
| 5. REFERÊNCIAS .....                                                                                                                                                                    | 35        |
| <br>                                                                                                                                                                                    |           |
| <b>3. EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO DA RAIZ DE <i>OURATEA SEMISERRATA</i><br/>(MART.) ENGL. (OCHNACEAE) SOBRE COMPONENTES INTERTUBULARES DO<br/>TESTÍCULO DE CAMUNDONGOS SUÍÇOS ADULTOS</b> | <b>41</b> |
| RESUMO.....                                                                                                                                                                             | 41        |
| 1. INTRODUÇÃO.....                                                                                                                                                                      | 42        |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS.....                                                                                                                                                              | 43        |
| 2.1. Coleta e preparação do extrato.....                                                                                                                                                | 43        |
| 2.2. Animais, grupos experimentais e tratamento.....                                                                                                                                    | 43        |
| 2.3. Coleta de amostras e preparação histológica.....                                                                                                                                   | 43        |
| 2.4. Proporção volumétrica e volumes dos elementos do intertúbulo.....                                                                                                                  | 44        |
| 2.5. Diâmetro, volumes nuclear e citoplasmático, número de células de Leydig por testículo,<br>por grama de testículo, relação nucleoplasmática e ILS.....                              | 44        |
| 2.6. Análise estatística.....                                                                                                                                                           | 45        |
| 3. RESULTADOS.....                                                                                                                                                                      | 45        |
| 4. DISCUSSÃO.....                                                                                                                                                                       | 46        |
| 5. CONCLUSÕES.....                                                                                                                                                                      | 48        |
| 6. REFERÊNCIAS.....                                                                                                                                                                     | 62        |
| <br>                                                                                                                                                                                    |           |
| <b>CONCLUSÕES GERAIS.....</b>                                                                                                                                                           | <b>57</b> |

## RESUMO

MATTA, Ana Paula de Lima Florentino, M.Sc. Universidade Federal de Viçosa, julho de 2008. **Efeitos do extrato aquoso da raiz de *Ouratea semiserrata* (Mart.) Engl. (Ochnaceae) sobre os testículos de camundongos Suíços adultos.** Orientador: Sérgio Luis P. da Matta. Co-Orientadores: Tarcízio Antônio Rêgo de Paula e João Paulo Viana Leite.

A utilização de plantas com ação afrodisíaca é uma prática que tem aumentado nos últimos anos, o que desperta o interesse de pesquisadores em investigações fitoquímicas, farmacológicas e clínicas. *Ouratea semiserrata* é utilizada popularmente como adstringente, antiinflamatória e estimulante sexual. Neste trabalho, buscou-se avaliar os efeitos do extrato aquoso da raiz de *O.semiserrata* (EAROS) sobre a biometria corporal e testicular, túbulos seminíferos e elementos intertubulares dos testículos de camundongos adultos, sendo o extrato também submetido à prospecção fitoquímica e a quantificação de compostos fenólicos. Foram utilizados 27 animais, sendo um grupo controle (G1), que recebeu água destilada e dois que receberam o EAROS nas concentrações de 750 (G2) e 1500 (G3) mg/Kg de peso corporal. A prospecção fitoquímica por cromatografia em camada delgada revelou a presença de triterpenos/esteróides, flavonóides, óleos essenciais e taninos. Os teores de polifenóis totais, proantocianidinas e flavonóides na raiz da planta foram 3,57%; 2,07% e 0,11%, respectivamente. Sugere-se que o potencial afrodisíaco do EAROS, provavelmente esteja relacionado com a presença de flavonóides e proantocianidinas, compostos com atividade vasodilatadora. O tratamento em ambas as concentrações do extrato não interferiu de forma significativa na biometria corporal e testicular e na morfometria tubular, sugerindo ausência de alterações no processo espermatogênico e de toxicidade da raiz. Houve redução na proporção volumétrica e no volume de tecido conjuntivo em ambos os grupos tratados. A maior concentração do extrato promoveu aumento no diâmetro e volume nuclear de Leydig, e diminuição na proporção de macrófagos e no volume de vasos sanguíneos. As alterações no volume e diâmetro nuclear de Leydig podem estar associadas com aumento nos níveis de testosterona, provavelmente, não o suficiente para atuar sobre os pesos dos órgãos reprodutivos testosterona-dependentes.

## ABSTRACT

MATTA, Ana Paula de Lima Florentino, M.Sc. Universidade Federal de Viçosa, July, 2008.

**Effects of aqueous extract from *Ouratea semiserrata* (Mart.) Engl. (Ochnaceae) root on Swiss adult mice testes.** Adviser: Sérgio Luis P. da Matta. Co-Advisers: Tarcízio Antônio Rêgo de Paula and João Paulo Viana Leite.

The utilization of plants with aphrodisiac action is a practice that has been increasing in the last years, a fact that awakes the interest of researchers from phytochemical, pharmacological and clinic investigations. *Ouratea semiserrata* is popularly used as astringent, anti-inflammatory and sexual stimulator. In this study, the goal was to evaluate the effects of aqueous extract from roots of *O. semiserrata* (AEROS) over the body and testicular biometry, seminiferous tubule and intertubule components of adult mice testes, also the extract being subjected to phytochemical prospection and the quantification of phenolics compounds. Twenty seven animals were used, divided into a control group (G1), which received distilled water, and two groups that received AEROS in the concentrations of 750 (G2) and 1500 (G3) mg/kg of body weight. The phytochemical prospection by thin layer chromatography revealed the presence of triterpenes/steroids, flavonoids, essential oils and tannins. The content of total polyphenols, proanthocyanidins, and flavonoids in the plant root were 3.57%, 2.07% e 0.11%, respectively. It is suggested that AEROS aphrodisiac potential is probably related to the presence of flavonoids and proanthocyanidins, compounds with vasodilatation activity. The treatment in both extract concentrations interfered in no significant way into body and testicular biometry and tubular morphometry, suggesting absence of alterations in the spermatogenic process and root toxicity. A reduction in volume proportion and connective tissue volume in both groups treated was present. The highest extract concentration promoted an increase in Leydig nuclear diameter and volume, and a decrease in macrophage proportion and blood vessels volume. Alterations in Leydig nuclear diameter and volume may be associated to increased levels of testosterone, probably, not enough to act over this testosterone-dependent reproductive organs weight.

# INTRODUÇÃO GERAL

## 1. Fitoterapia

A utilização de plantas na cura de doenças é uma prática relacionada aos primórdios da medicina e fundamentada no acúmulo de informações através de sucessivas gerações. No Brasil, a utilização obteve sua oficialização através da Farmacopéia Brasileira em 1929. Em países como Alemanha, China e França este recurso representa cerca de 25% do arsenal terapêutico. Nos países em desenvolvimento (75% da população mundial), o percentual chega a 80% deste arsenal (Castro et al., 2005). A fitoterapia tende a se apresentar como uma forma bastante vantajosa de tratamento e está nos dias de hoje, voltando a ser um método terapêutico muito procurado, a exemplo do que era feito antes do aparecimento profuso dos medicamentos convencionais (Chieregatto, 2005).

Capasso et al. (2000), relataram alguns dos fatores que tem promovido o aumento do uso de ervas medicinais e, dentre eles, está o aparecimento de novas doenças para as quais ainda não há qualquer tratamento apropriado, além da convicção de que remédios derivados de ervas são inócuos e superiores às drogas convencionais e a atenção especial que movimentos ecológicos dão para ervas medicinais em países ocidentais. Paralelamente ao crescente interesse da sociedade pelas plantas medicinais, tornam-se importantes e necessários estudos criteriosos para que haja comprovação de seus efeitos terapêuticos e farmacológicos, e possíveis efeitos colaterais e/ou tóxicos (Gomes, 2007).

A verificação da toxicidade de uma planta depende principalmente de experimentos em animais, apesar destes nem sempre reproduzirem a toxicidade em seres humanos, ou de relatos sobre intoxicações acidentais (Schenkel et al., 2002). Vale ressaltar, contudo, que os relatos podem não vir acompanhados de informações quanto à quantidade ou a parte da planta ingerida, ou ainda quanto à sua identificação através de nomes científicos. Além disso, as substâncias tóxicas podem estar limitadas a uma estação do ano ou a certas condições ambientais. Não é surpreendente que muitas plantas acumulem substâncias de elevada toxicidade, já que uma das funções dos metabólitos secundários é promover a defesa do indivíduo contra potenciais predadores.

Além dos estudos toxicológicos, a análise fitoquímica preliminar é importante quando não se dispõe de estudos químicos sobre a espécie de interesse, podendo indicar os grupos de metabólitos secundários relevantes. Caso o interesse seja restrito a uma classe específica de constituintes, ou às substâncias responsáveis por certa atividade biológica, a investigação

deverá ser direcionada para o isolamento e a elucidação estrutural das mesmas (Falkenberg et al., 2002).

Como idéia primordial, a utilização de fitoterápicos na medicina humana aumentaria a opção terapêutica dos profissionais de saúde, oferecendo medicamentos equivalentes, também registrados, talvez mais baratos e com espectros de ação mais adequados (Lapa et al., 2002). Este quadro não só incrementaria a utilização por parte da população mais carente, como também poderia incentivar parcerias com prefeituras e com laboratórios nacionais (Gomes, 2007).

Associado a esses objetivos, tem-se a valorização e o uso pleno da herança da medicina popular, com estímulos e financiamentos de estudos para desenvolvimento da indústria farmacêutica local. Naturalmente estas pesquisas devem ser acompanhadas de medidas conservacionistas, de modo que a utilização das plantas seja racional e sustentável, diminuindo o extrativismo predatório e assegurando sua disponibilidade a futuras gerações.

## **2. Terapia da Estimulação Sexual**

A disfunção erétil é definida como a inabilidade para se alcançar ou manter uma ereção, inabilidade de ejacular, ou a associação destes fatores (Ogah, 1999). Trata-se de uma doença séria que ocorre de 10% a 52% dos homens sexualmente maduros, podendo resultar de prejuízos neurológicos, fisiológicos, hormonais, arterial ou cavernoso, ou da combinação destes fatores (Tharakan e Manyam, 2005). Outros estudos epidemiológicos indicam que a disfunção erétil é um problema universal do envelhecimento dos machos, e tem sido estimado que por volta de 2025 ele afete aproximadamente 350 milhões de homens no mundo todo (Ayta et al., 1999), mas com apenas 20% deles buscando tratamento (Aversa e Fabbri, 2001). A utilização de plantas medicinais para resolver o problema é geralmente vista como uma solução fácil e rápida, porém, a maioria delas, não foi ainda submetida a testes científicos rigorosos, sendo sua qualidade e aplicabilidade, questionadas.

Segundo Sandroni (2001), os afrodisíacos podem ser classificados pelo seu modo de ação, em três tipos: aqueles que aumentam a libido (1), a potência (2) ou o prazer sexual (3), sendo que alguns podem exercer mais de uma função ao mesmo tempo. Como exemplo, o autor cita o Sildenafil (Viagra), que produz ereção, providencia a satisfação sexual, mas sem afetar a libido.

Entre as espécies vegetais utilizadas como afrodisíacos podem ser citadas: *Salvia haematodes* (Islam et al., 1991), *Catha edulis* (Taha et al., 1995), *Trichopus zeylanicus* (Subramoniam et al., 1997), *Turnera diffusa* e *Pfaffia paniculata* (Arletti et al., 1999),

*Tribulus terrestris* (Adaikan et al., 2000), *Lepidium meyenii* (Zheng et al., 2000; Cicero et al., 2002; Gonzales et al., 2002) além de *Heteropterys aphrodisiaca* e *Anemopaegma arvense* (Chieregatto, 2005). Em Cuiabá-MT, assim como em outras cidades brasileiras, existem muitas casas de comercialização de produtos naturais, em que se encontram pelo menos uma seção específica à comercialização de plantas ou princípios delas extraídos relacionados à ação afrodisíaca. Geralmente, informações sobre a eficácia, modo de preparo e dosagem, vem de comunidades tradicionais que, ao longo dos anos utilizam essas espécies e as indicam para melhorar o desempenho e a qualidade da vida sexual (Ghieregatto, 2005). Em muitos desses casos, ocorre o chamado efeito placebo, um tratamento inerte, que em se tratando, por exemplo, de uma de planta medicinal indicada, apresenta efeitos terapêuticos devido aos efeitos fisiológicos da crença da pessoa que está usando.

A busca de novos estimulantes, assim como do conhecimento do modo de ação daqueles já largamente utilizados na medicina tradicional, oferece fortes indicativos para investigações científicas, o que desperta o interesse de pesquisadores na realização de estudos em torno do tema.

### **3. O Testículo**

O testículo é um órgão complexo, produtor de espermatozóides e andrógenos, que mantém as funções reprodutivas e as características sexuais secundárias. As células germinativas formam os espermatozóides no processo espermatogênico, enquanto as células somáticas são o suporte para ambas as funções (Russell e França, 1995).

Esse órgão é envolvido pela albugínea, uma espessa cápsula de tecido conjuntivo denso que emite septos para o interior do órgão até a região do mediastino, dividindo o testículo em lóbulos. Nos mamíferos, o testículo é dividido em dois compartimentos: o intertubular ou intersticial, também chamado de espaço intertubular, e o compartimento de túbulos seminíferos (Russell et al., 1990). Os túbulos constituem a maior parte do testículo, ocupando, na maioria dos mamíferos, de 70% a 90% do parênquima testicular (França e Russell, 1998; Godinho, 1999). Eles formam alças bastante contorcidas, as quais possuem suas duas extremidades conectadas à rede testicular, que se encontra localizada numa região bastante rica em vasos e tecido conjuntivo, denominada mediastino testicular. A partir desta região, a rede testicular encontra-se conectada ao epidídimo através dos ductos eferentes.

Os túbulos seminíferos são desprovidos de vascularização ou inervação sendo constituídos por túnica própria, epitélio seminífero e lume. A túnica própria reveste o túbulo externamente, sendo composta de células mióides e elementos acelulares, como fibras

colágenas e a membrana basal. As células mióides são contráteis, sendo responsáveis pela movimentação de fluidos e propulsão dos espermatozóides através do lume tubular. No epitélio seminífero são encontradas as células germinativas originárias e as células de Sertoli (Russell et al., 1990).

Juntamente com as células mióides, as células de Sertoli elaboram a membrana basal que serve de suporte estrutural para ela e para as células germinativas que se encontram na porção basal do epitélio seminífero. As células de Sertoli, através de junções de oclusão, dividem o epitélio seminífero em dois ambientes: o ambiente basal, onde se localizam as espermatogônias e os espermatócitos primários na fase inicial da prófase meiótica (pré-leptótenos), e o ambiente adluminal, no qual se encontram os espermatócitos primários a partir da fase de zigóteno, espermatócitos secundários e espermátides. Desta forma, o ambiente adluminal está totalmente sob o controle das células de Sertoli, propiciando um microambiente isolado e imunologicamente protegido, essencial para o desenvolvimento do processo espermatogênico (Russell et al., 1990; Setchell, 1991; Poccia, 1994; Sharpe, 1994). Um terceiro ambiente é criado transitoriamente quando ocorre a mudança do preleptóteno do ambiente basal para o adluminal. A célula geralmente encontrada nesse local transitório é o espermatócito primário, na fase de leptóteno (Russell et al., 1990). Além das funções já citadas da célula de Sertoli, ela também é responsável pela manutenção da integridade do epitélio seminífero, secreta fluido para formar o lume tubular, participa do processo de espermiacção, realiza fagocitose, permite a movimentação de células no epitélio, secreta proteínas e regula o ciclo espermatogênico através das junções com as demais células, dentre outras funções.

No espaço intertubular encontram-se células de Leydig, vasos sangüíneos e linfáticos, nervos e uma população celular variável, constituída principalmente de fibroblastos, macrófagos e mastócitos (Russell et al., 1990; Setchell, 1991). Ratos e camundongos apresentam um padrão de intertúbulo em que as células de Leydig estão associadas a vasos sangüíneos e rodeadas pelo fluido linfático (Fawcett et al., 1973).

Segundo Russell et al. (1990), o processo espermatogênico pode ser dividido em três fases baseado em considerações funcionais: 1) fase proliferativa ou espermatogonial, na qual as espermatogônias sofrem sucessivas divisões mitóticas, 2) fase meiótica ou espermatocitogênica, na qual o material genético é recombinado e segregado, onde cada espermatócito dá origem a 4 espermátides e 3) fase de diferenciação ou espermiogênica em que espermátides se transformam em células especializadas estruturalmente e bioquimicamente para alcançar e fertilizar o ovócito, os espermatozóides.

Este processo é controlado por duas principais regulações: endócrina (LH e FSH da hipófise) e comunicações intercelulares locais, através de efetores parácrinos tais como testosterona, fatores de crescimento e citocinas (Weinbauer e Wessels, 1999; Fiorini et al., 2004).

#### **4. Células de Leydig**

As células de Leydig são originadas nos testículos durante o período embrionário. No início do desenvolvimento, a proliferação dessas células e sua produção de hormônios esteróides são reguladas pela célula de Sertoli e macrófagos (Cooke, 1996). Sugere-se que macrófagos testiculares secretam citocinas, tais como, interleucina 1 e TGF $\alpha$ , que podem estimular os progenitores dessas células (Ge et al., 1996).

Duas populações distintas de células de Leydig são responsáveis pelos períodos de esteroidogênese testicular: durante o período fetal-neonatal (células do tipo fetal) e no adulto (células do tipo adulto), que diferem em sua morfologia, produção hormonal, regulação parácrina e funções fisiológicas (Colleta e Carvalho, 2005). Segundo estes autores, a produção ativa de testosterona inicia-se durante o período fetal e é essencial para a diferenciação masculina normal.

Apesar de existir grande variação entre as diversas espécies quanto à proporção volumétrica (%) dos diferentes componentes do compartimento intertubular, de maneira geral a célula de Leydig é o tipo celular mais abundante neste compartimento (Godinho, 1999).

Nos testículos dos mamíferos, as células de Leydig sintetizam andrógenos que incluem a testosterona e a diidrotestosterona. A testosterona é requerida em altas concentrações nos testículos a fim de sustentar a espermatogênese nos túbulos seminíferos, promover a diferenciação do trato genital masculino, além de promover e manter os caracteres sexuais secundários. Particularmente, a diidrotestosterona é responsável pela manutenção funcional das glândulas sexuais acessórias e do epidídimo (Luke e Coffey, 1994; Fan e Robaire, 1998; Goyal et al., 1999). A síntese de testosterona é controlada por hormônios produzidos pela hipófise, mais especificamente o hormônio luteinizante (LH) e o hormônio folículo estimulante (FSH) (Colleta e Carvalho, 2005).

#### **5. Metabólitos secundários: importância**

Metabólitos secundários são substâncias cuja produção e acumulação estão restritas a um número limitado de organismos, sendo a bioquímica e o metabolismo correspondente, específicos e únicos, sendo caracterizados como elementos de diferenciação e especialização.

Estes produtos, embora não necessariamente essenciais para o organismo produtor, garantem vantagens para sua sobrevivência e para a perpetuação de sua espécie, e por serem fatores de interação entre organismos apresentam atividades biológicas interessantes (Santos, 2002). O reino vegetal é o que tem contribuído de forma mais significativa para o fornecimento de metabólitos secundários, muitos destes de grande valor agregado devido às suas aplicações como medicamentos, cosméticos, alimentos, agroquímicos, dentre outras (Pinto et al., 2002). Do ponto de vista farmacêutico, o maior interesse deriva principalmente do grande número de substâncias farmacologicamente importantes (Santos, 2002).

Alguns exemplos podem ser citados quanto à utilização de flavonóides, taninos, óleos essenciais e triterpenos. Medicamentos contendo flavonóides são indicados para tratamento de doenças circulatórias, hipertensão, agindo também como cofator da vitamina C. Outras pesquisas sugerem que alguns flavonóides possam ter ação anticancerosa considerável, podendo ser agentes antivirais, anti-hemorrágicos entre outros abordados (Zuanazzi, 2002).

Com relação aos taninos, a importância de extratos ricos desse composto, ou mesmo taninos puros têm sido demonstrada em testes *in vitro*, podendo ser citadas ação antitumoral (Okuda et al., 1989), bactericida e fungicida (Scalbert, 1991) e antiviral (Okuda et al., 1993). São também importantes no processo da cura de feridas, queimaduras e inflamações através da formação de uma camada protetora (complexo tanino-proteína e/ ou polissacarídeo) sobre a pele ou mucosa danificada (Mello e Santos, 2002).

Os óleos essenciais são mais utilizados nas áreas de alimentos (condimentos aromatizantes de alimentos e bebidas) e cosméticos (perfumes e produtos de higiene), mas suas propriedades farmacológicas são relativamente bem estabelecidas. Dentre elas, ação cardiovascular, sobre o sistema nervoso central, anestésica local, anti-séptica e antiinflamatória (Simões e Spitzer, 2002).

Como exemplo da utilização de triterpeno cita-se a azadirachtina, um fagorrepelente isolado de *Azadirachta indica* e *Melia azedarach*, muito ativo sobre *Schistocerca gregaria*, o gafanhoto do deserto. Os fagorrepelentes geralmente agem sobre o sistema nervoso central dos insetos e são específicos para determinadas espécies (Pinto et al., 2002).

Em função da importância de vários metabólitos secundários, particularmente na área farmacêutica, o estudo de sua biogênese, regulação, bem como as pesquisas fitoquímicas nas espécies vegetais tem aumentado e se tornado um dos campos da Farmacognosia de grande relevância (Santos, 2002).

## 6. *Ouratea semiserrata* (raiz de bugre)

A família Ochnaceae é constituída por plantas tropicais, distribuídas em 40 gêneros, dos quais 600 espécies têm sido identificadas na América do Sul (Daniel et al., 2007). Investigações químicas do gênero *Ouratea* têm levado ao isolamento de diversos flavonóides (Velandia et al., 1998), biflavonóides (Moreira et al., 1994; Moreira et al., 1999; Velandia et al., 2002; Felício, 2004; Daniel et al., 2005), triterpenos (Mbing et al., 2003; Estevam et al., 2005) e proantocianidinas (Valadares et al., 2003).

*Ouratea semiserrata* (Mart.) Engl. (Ochnaceae), conhecida na medicina popular como raiz de bugre, é uma espécie arbustiva, ocorrente nas regiões de savanas brasileiras (Valadares et al., 2003). É utilizada popularmente como adstringente, antiinflamatória (McNeill e Jurgens, 2006) e como estimulante sexual. Outras espécies de *Ouratea* são utilizadas popularmente como tônico e adstringente (*O. castanaefolia*, *O. parviflora*), como antiinflamatório e em doenças da pele (*O. parviflora*) e para tratar doenças gástricas (*O. spectabilis*) (Felício et al., 1995; Valadares et al., 2003).

O estudo fitoquímico das folhas de *O. semiserrata* levou ao isolamento do diterpeno ácido *ent*-16 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diidroxicauran-19-óico e da madeira desta espécie foram isoladas duas isoflavonas cloradas: 6,8,3'-triclora-4',5-diidroxi-7-metoxiisoflavona e 6,8,3',5'-tetracloro-4',5-diidroxi-7-metoxiisoflavona (Velandia et al., 1998).

Estudos relacionados à vasodilatação em anéis de aorta pré-contraídos com fenilefrina mostram atividade vasodilatadora significativa do extrato de caules de *O. semiserrata* em relação a outras espécies do gênero (Valadares et al., 2003). Produtos naturais de diversas classes são descritos por apresentar atividade vasodilatadora *in vitro*, incluindo flavonóides, proantocianidinas e alcalóides (Herrera et al., 1996; Ambriambeloson et al., 1998; Valadares et al., 2003). Uma vez que o modo de ação de algumas substâncias que aumentam a potência sexual, ocorre geralmente através da indução da vasodilatação dos corpos cavernosos (Sandroni, 2001) associado à carência de informações sobre a química dessa espécie, torna-se indispensável à realização de análises fitoquímicas qualitativas e quantitativas, para posteriormente, inferir seus possíveis efeitos medicinais. Apesar de a raiz ser utilizada popularmente como estimulante sexual, nenhum trabalho foi encontrado relacionando seus efeitos sobre a morfometria testicular.

## 7. Objetivos:

Neste trabalho, objetivou-se analisar os efeitos do extrato aquoso da raiz de *Ouratea semiserrata* (EAROS) sobre os testículos de camundongos adultos, avaliando, qualitativa e quantitativamente, através de análises histométricas, possíveis implicações no processo espermato gênico, bem como nas estruturas testiculares quanto a (ao):

- Índices gonadossomático (IGS), tubulossomático (ITS) e Leydigossomático (ILS);
- Proporção volumétrica e volume de túbulos seminíferos, tecido intertubular e seus componentes;
- Diâmetro tubular e altura do epitélio seminífero;
- Comprimento total dos túbulos seminíferos (CTT) e comprimento por grama de testículo (CT/g);
- Diâmetro nuclear da célula de Leydig;
- Número total de células de Leydig por testículo e por grama de testículo;
- Volume nuclear, citoplasmático e celular de Leydig.

*Ouratea semiserrata* foi também submetida a análise fitoquímica qualitativa para testar a presença de:

- Flavonóides;
- Alcalóides;
- Cumarinas;
- Saponinas;
- Glicosídeos cardiotônicos;
- Triterpenos/esteróides;
- Óleos essenciais;
- Taninos.

Posteriormente, buscou-se quantificar os teores de:

- Polifenóis totais;
- Proantocianidinas;
- Flavonóides.

## 8. Referências

- ADAIKAN, P.G.; GAUTHAMAN, K.; PRASAD, R.N.; NG, S.C. Proerectile pharmacological effects of *Tribulus terrestris* extract on the rabbit corpus cavernous. Ann. Acad. Med. Singapore., 29: 22-26, 2000.
- AMBRIAMBELOSON, E.; MAGNIER, C.; HAAN-ARCHIPOFF, G.; LOBSTEIN, A.; ANTON, R.; BERETZ, A.; STOCLET, J.C. Natural dietary polyphenolic compounds cause endothelium-depedent vasorelaxation in rat thoracic aorta. J. Nutr., 128: 2324-2333, 1998.
- ARLETTI, R.; BENELLI, A.; CAVAZZUTI, E.; SCARPETTA, G.; BERTOLINI, A. Stimulating property of *Turnera diffusa* and *Pfaffia paniculata* extracts on the sexual-behavior of male rats. Psychopharmacol., 143: 15-19, 1999.
- AVERSA, A.; FABBRI, A. New oral agents for erectile dysfunction: what is changing in our pratic? Asian. J. Androl., 3: 175-179, 2001.
- AYTA, I.A.; MCKINLAY, J.B.; KRANE, R.J. The likely world increase in erectile dysfunction between 1995 and 2025 and some possible policy consequences. BJU Int., 84: 50-56, 1999.
- CAPASSO, R.; IZZO, A.A.; PINTO, L.; BIFULCO, T.; VITOBELLO, C.; MASCOLO, N. Phytotherapy and quality of herbal medicines. Fitoterapia, 71: 58-65, 2000.
- CASTRO, A.P.; MELLO, F.B.; MELLO, J.R.B. Avaliação toxicológica do *Ginkgo biloba* sobre a fertilidade e reprodução de ratos Wistar. Acta Sci. Vet., 33: 265-269, 2005.
- CHIEREGATO, L.C. Efeito do Tratamento Crônico com extratos de *Heteropterys aphrodisiaca* O. Mach. e *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. no testículo de ratos Wistar adultos. Viçosa: UFV, 67p, 2005. (Dissertação, mestrado)
- CICERO, A.F.G.; PIACENTE, S.; PLAZA, A.; SALA, E.; ARLETTI, R.; PIZZA, C. Hexanic Maca extract improves rat sexual performance more effectively than methanolic and chloroformic Maca extracts. Andrologia, 34: 177-179, 2002.
- COLLETA, H.H.M.D.; CARVALHO, H.F. Células de Leydig. In: CARVALHO, H.F.; COLARES-BUZATO, C.B., (eds). Células: Uma abordagem multidisciplinar. São Paulo: Manole, pp: 325-334, 2005.
- COOKE, B.A. Transduction of the luteinizing hormone signal within the Leydig cell. In: PAYNE, A.H.; HARDY, M.P.; RUSSELL, L.D., (eds). The Leydig Cell. Vienna: Cache River Press, pp: 352-363, 1996.
- DANIEL, J.F.S.; ALVES, C.C.F.; GRIVICICH, I.; ROCHA, A.B.; CARVALHO, M.G. Antitumor activity of biflavonoids from *Ouratea* and *Luxemburgia* on human cancer cell lines. Indian. J. Pharmacol., 39: 184-186, 2007.

- DANIEL., J.F.S.; CARVALHO, M.G.; CARDOSO, R.D.S.; AGRA, M.D.F.; EBERLIN, M.N. Others flavonoids from *Ouratea hexasperma* (Ochnaceae). J. Braz. Chem. Soc., 16: 634–638, 2005.
- ESTEVAM, C.S.; OLIVEIRA, F.M.; CONSERVA, L.M.; LIMA, L.F.C.O.; BARROS, A.C.P.; ROCHA, E.M.M.; ANDRADE, E.H.A. Constituintes químicos e avaliação preliminar *in vivo* da atividade antimalárica de *Ouratea nítida* Aubl (Ochnaceae). Rev. Bras. Farmacogn., 15: 195-198, 2005.
- FALKENBERG, M.B.; SANTOS, R.I.; SIMÕES, C.M.O. Introdução à análise fitoquímica. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R., (eds). Farmacognosia da planta ao medicamento. 4. ed. Florianópolis: Universitária, pp: 165-181, 2002.
- FAN, X.; ROBAIRE, B. Orchidectomy induces a wave of apoptotic cell death in the epididymis. Endocrinology, 139: 2128-2136, 1998.
- FAWCETT, D.W.; NEAVES, W.B.; FLORES, M.N. Comparative observations on intertubular lymphatics and the organization of the interstitial tissue of the mammalian testis. Biol. Reprod., 9: 500-532, 1973.
- FELICIO, J.D.; GONÇALEZ, E.; BRAGGIO, M.M.; CONSTANTINO, L.; ALBASINI, A.; LINS, A.P. Inhibition of lens aldose reductase by biflavones from *Ouratea spectabilis*. Planta Med., 61: 217-220, 1995.
- FELICIO, R.C. Chemical constituents from *Ouratea parviflora*. Biochem. Syst. Ecol., 32: 79- 81, 2004.
- FIORINI, C.; TILLOY-ELLUL, A.; CHEVALIER, S.; CHARUEL, C.; POINTIS, G. Sertoli cell junctional proteins as early targets for different classes of reproductive toxicants. Reprod. Toxicol., 18: 413–421, 2004.
- FRANÇA, L.R.; RUSSELL, L.D. The testis of domestic mammals. In: MARTINEZ-GARCIA, F. AND REGADERA, J., (eds). Male reproduction - a multidisciplinary overview. Madrid, Churchill Communications, pp: 198-219, 1998.
- GE, R.S.; SHAN, L.X.; HARDY, M.P. Pubertal development of Leydig cells. In: PAYNE, A. H.; HARDY, M. P.; RUSSELL, L. D., (eds). The Leydig cell. Vienna: Cache River Press, pp: 159-173, 1996.
- GODINHO, C.L. Análise histométrica do testículo e duração da espermatogênese em gatos (*Felis domestica*), sexualmente maduros. Belo Horizonte: UFMG, 74p, 1999. (Dissertação, mestrado).

- GOMES, M.L.M. Morfometria testicular de ratos Wistar adultos tratados com infusão aquosa de catuaba (*Trichilia catigua* A. Juss. MELIACEAE). Viçosa: UFV, 38p, 2007. (Dissertação, mestrado).
- GONZALEZ, G.F.; CÓRDOVA, A.; VEJA, K.; CHUNG, A.; VILLENA, A.; GÓÑEZ, G.; CASTILLO, S. Effect of *Lepidium meyenii* (MACA) on sexual desire and its absent relationship with serum testosterone levels in adult healthy men. *Andrologia*, 34: 367-372, 2002.
- GOYAL, H.O.; WILLIAMS, C.S.; KHALIL, M.K.; VIG, M.M.; MALONEY, M.A. Postnatal differentiation of ductus deferents, tail of the epididymis, and distal body of epididymis in goats occurs independently of rete testis fluid. *Anat. Rec.*, 254: 508-520, 1999.
- HERRERA, M. D.; ZARZUELO, A.; JIMÉNEZ, J.; MARHUENDA, E.; DUARTE, J. Effects of flavonoids on rat aortic smooth muscle contractility: structure-activity relationships. *Gen. Pharmacol.*, 27: 273-7, 1996.
- ISLAM, M. W.; TARIQ, M.; AGEEL, A. M.; AL-SAID, M. S.; AL-YHYA, A. M. Effect of *Salvia haematodes* on sexual behaviours of male rats. *J. Ethnopharmacol.*, 33: 67-72, 1991.
- LAPA, A.J.; SOUCCAR, C.; LIMA-LADMAN, M.T.R.; LIMA, M.T.; GODINHO, R.O.; LIMA, T.C.M. Farmacologia e toxicologia de produtos naturais. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R., (eds). *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 4. ed. Florianópolis: Universitária, pp: 183-198, 2002.
- LUKE, M.C.; COFFEY, D.S. The male sex accessory tissue: structure, androgen action and physiology. In: KNOBIL, E., NEILL, J.D., (eds). *The physiology of reproduction*. New York: Raven Press, pp: 1435-1488, 1994.
- MBING, J.N.; BASSOMO, M.Y.; PEGNYEMB, D.E.; TIH, R.G.; SONDEMGAM, B.L.; BLOND, A.; BODO, B. Constituents of *Ouratea flava*. *Biochem. Syst. Ecol.*, 31: 215-217, 2003.
- MCNEILL, J.R.; JURGENS, T.M. A systematic review of mechanisms by which natural products of plant origin evoke vasodilatation. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 84: 803-821, 2006.
- MELLO, J.C.P.; SANTOS, S.C. Taninos. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R., (eds). *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 4. ed. Florianópolis: Universitária, pp: 527-554, 2002.
- MOREIRA, I.C.; DE CARVALHO, M.G.; BASTOS, A.B.F.O.; BRAZ-FILHO, R. A flavone dimer from *Ouratea hexasperma*. *Phytochemistry*, 51: 833-838, 1999.

- MOREIRA, I.C.; SOBRINHO, D.C.; DE CARVALHO, M.G.; BRAZ-FILHO, R. Isoflavone dimers hexaspermone A, B and C from *Ouratea hexasperma*. *Phytochemistry*, 35: 1567–1572, 1994.
- OGAH, G. Impotence. *Nig. J. Gen. Pract.*, 3: 30–41, 1999.
- OKUDA, T.; YOSHIDA, T.; HATANO, T. Classification of oligomeric hydrolysable tannins and specificity of their occurrence in plants. *Phytochemistry*, 32: 507-521, 1993.
- OKUDA, T.; YOSHIDA, T.; HATANO, T. Ellagitannins as active constituents of medicinal plants. *Planta Med.*, 55: 117-122, 1989.
- PINTO, A.C.; SILVA, D.H.S.; BOLZANI, V.S.; LOPES, N.P.; EPIFANIO, R.A. Produtos naturais:atualidade, desafios e perspectivas. *Quim. Nova*, 25: 45-61, 2002.
- POCCIA, D. Molecules of the somatic cells. In: POCCIA, D., (ed). *Molecular biology intelligence unit; molecular aspects of spermatogenesis*. Austin: R.G.Landes Company, pp: 75-90, 1994.
- RUSSELL, L.D.; ETTLIN, R.A.; SINHA HIKIM, A.P.; CLEGG, E.D. Mammalian spermatogenesis. In: RUSSELL, D.L., ETTLIN, R.A., SINHA HIKIM, A.P.; CLEGG, E.D., (eds). *Histological and histopathological evaluation of the testis*. Flórida: Cache River Press, pp: 1-40, 1990.
- RUSSELL, L.D.; FRANÇA, L.R. Building a testis. *Tiss. Cell.*, 27: 129-147, 1995.
- SANDRONI, P. Aphrodisiacs past and present: a historical review. *Clin. Auton. Res.*, 11: 303-307, 2001.
- SANTOS, R.I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R., (eds). *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 4. ed. Florianópolis: Universitária, pp: 333-364, 2002.
- SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30: 3875-3883, 1991.
- SCHENKEL, E.P.; ZANNIN, M.; MENTZ, L.A.; BORDIGNON, S.A.L.; IRGANG,B. Plantas Tóxicas. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R., (eds). *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 4. ed. Florianópolis: Universitária, pp: 767-800, 2002.
- SETCHELL, B.P. Male reproductive organs and semen. In: CUPPS, P.T., (ed). *Reproduction in Domestic Animals*. 4. ed. San Diego: Academic Press, pp. 221-250, 1991.
- SHARPE, R.M. Regulation of spermatogenesis. In: KNOBIL, E, NEILL, J.D., (eds.). *The physiology of reproduction*, 2. ed. New York: Raven Press, pp: 1363-1434, 1994.

- SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R., (eds). Farmacognosia da planta ao medicamento. 4. ed. Florianópolis: Universitária, pp: 397-425, 2002.
- SUBRAMONIAM, A.; MADHAVACHANDRAN, V.; RAJASEKHARAN, S.; PUSHPANGADAN, P. Aphrodisiac property of *Trichopus zeylanicus* extract in male mice. J. Ethnopharmacol., 57: 21-27, 1997.
- THARAKAN, B.; MANYAM, B.V. Botanical therapies in sexual dysfunction. Phytother. Res., 19: 457-463, 2005.
- TAHA, S.A.; AGEEL, A.M.; ISLAM, M.W.; GINAWI, O.T. Effect of (-)-cathinone, a psychoactive alkaloid from khat (*Catha edulis* Forsk.) and caffeine on sexual behaviour in rats. Pharmacol. Res., 31: 299-303, 1995.
- VALADARES, Y.M.; OLIVEIRA, A.B.; CÔRTEZ, S.F.; LOMBARDI, J.A.; BRAGA, F.C. Atividade vasodilatadora in vitro de espécies de *Ouratea* (Ochnaceae) e de frações de *Ouratea semiserrata* (Mart.) Engl. Rev. Bras. Ci. Farm., 39: 83-91, 2003.
- VELANDIA, J.R.; CARVALHO, M.G.; BRAZ-FILHO, R. Ácido Ent-16 $\alpha$ , 17- diidroxicauran-19-óico isolado de *Ouratea semiserrata* e os desafios estereoquímicos dos carbonos quirais C-4 e C-16. Quím. Nova., 21: 397-404, 1998.
- VELANDIA, J.R.; CARVALHO, M.G.; BRAZ-FILHO, R.; WERLE, A.A. Biflavonoids and a glucopyranoside derivative from *Ouratea semiserrata*. Phytochem. Anal., 13: 283-292, 2002.
- WEINBAUER, G.F.; WESSELS, J. 'Paracrine' control of spermatogenesis. Andrologia, 31: 249-262, 1999.
- ZHENG, B.L.; HE, K.; KIM, C.H.; ROGERS, L.; SHAO, Y.; HUANG, Z.Y.; LU, Y.; YAN, S.J.; QIEN, L.C.; ZHENG, Q.Y. Effect of a lipidic extract from *Lepidium meyenii* on sexual behavior in mice and rats. Urology, 55: 598-602, 2000.
- ZUANAZZI, J.A.S. Flavonóides. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R., (eds). Farmacognosia da planta ao medicamento. 4. ed. Florianópolis: Universitária, pp: 499-526, 2002.

## Artigo 1

### Efeitos do extrato aquoso da raiz de *Ouratea semiserrata* (Mart.) Engl. (Ochnaceae) sobre a biometria corporal e testicular de camundongos Suíços adultos

#### RESUMO

O emprego de plantas com ação afrodisíaca na medicina popular oferece fortes indicativos para investigações fitoquímicas, farmacológicas e clínicas, a fim de se conhecer seus constituintes químicos e avaliar os riscos e benefícios de sua utilização. *Ouratea semiserrata* (Mart.) Engl. (Ochnaceae) é uma espécie utilizada na medicina popular brasileira como adstringente, antiinflamatória e estimulante sexual. No presente trabalho, buscou-se avaliar o efeito do extrato aquoso da raiz de *O. semiserrata* (EAROS) sobre a biometria corporal e testicular de camundongos adultos. Estes parâmetros são indicativos primários sobre possíveis alterações na atividade espermatogênica, na disponibilidade de testosterona ou de toxicidade da planta, através do peso dos órgãos. O extrato também foi submetido à prospecção fitoquímica e quantificação de compostos fenólicos. Foram utilizados camundongos machos, sendo um grupo controle (G1), que recebeu água destilada, e dois que receberam o EAROS nas concentrações de 750 (G2) e 1500 (G3) mg/kg de peso corporal. A prospecção fitoquímica por cromatografia em camada delgada revelou a presença de triterpenos/esteróides, flavonóides, óleos essenciais e taninos. Os teores de polifenóis totais, proantocianidinas e flavonóides na raiz da planta foram 3,57%; 2,07% e 0,11%, respectivamente. O tratamento com EAROS não influenciou de forma significativa a biometria corporal e testicular dos animais, não sendo observadas variações no peso dos órgãos analisados que indicassem comprometimento do processo espermatogênico, na disponibilidade de testosterona, ou na toxicidade da planta.

**Palavras-chave:** *Ouratea semiserrata*, reprodução, testículo, glândulas anexas reprodutivas.

## 1. INTRODUÇÃO

Por séculos, as plantas têm sido difundidas por suas propriedades medicinais em várias partes do mundo (McNeill e Jurgens, 2006). Cerca de 25 mil espécies vegetais são utilizadas na preparação de remédios da medicina popular, em geral, calcula-se que menos de 5% dessas plantas tenha sido objeto de algum tipo de estudo farmacológico (Rodrigues et al., 2000).

Investigações químicas do gênero *Ouratea* têm levado ao isolamento de diversos flavonóides (Velandia et al., 1998), biflavonóides (Moreira et al., 1994; Moreira et al., 1999; Velandia et al., 2002; Felicio et al., 2004; Daniel et al., 2005), triterpenos (Mbing et al., 2003; Estevam et al., 2005) e proantocianidinas (Valadares et al., 2003). Alguns membros deste gênero são extensivamente usados na medicina tradicional em tratamentos de disenteria, diarreia, reumatismo e doenças gástricas (Mbing et al., 2006). *Ouratea semiserrata* (Mart.) Engl. (Ochnaceae), conhecida na medicina popular como raiz de bugre, é uma espécie arbustiva, ocorrente nas savanas brasileiras (Valadares et al., 2003), sendo utilizada popularmente como adstringente, antiinflamatória e como estimulante sexual (McNeill e Jurgens, 2006).

As plantas utilizadas como afrodisíacas têm ocupado lugar de destaque na medicina popular, o que desperta o interesse de pesquisadores na busca da desmistificação ou validação da sua aplicabilidade. Dentre as espécies citadas encontram-se *Salvia haematodes* (Islam et al., 1991), *Catha edulis* (Taha et al., 1995), *Trichopus zeylanicus* (Subramoniam et al., 1997), *Turnera diffusa* e *Pfaffia paniculata* (Arletti et al., 1999), *Tribulus terrestris* (Adaikan et al., 2000), *Lepidium meyenii* (Zheng et al., 2000; Cicero et al., 2002; Gonzales et al., 2002), *Heteropterys aphrodisiaca* e *Anemopaegma arvense* (Chieregatto, 2005).

O potencial afrodisíaco de uma planta medicinal nem sempre está relacionado com aumento da produção espermática ou da disponibilidade de andrógenos. Níveis de testosterona circulante são requeridos para manter a função testicular e de órgãos sexuais acessórios e, por isso, variações no peso testicular, prostático, da glândula vesicular e do epidídimo podem indicar alterações nos níveis deste hormônio (Gupta et al., 1993; Lohiya e Ansari, 1999; Chauhan et al., 2007). A produção espermática, estimulada pela testosterona, é diretamente correlacionada com o peso testicular (Amann, 1970). O fato de uma planta, usada popularmente como estimulante, não apresentar ação sobre as células testiculares produtoras de hormônio, não significa ausência de potencial afrodisíaco, como é o caso de *Lepidium meyenii* (Maca), capaz de promover o desempenho sexual sem alterar os níveis de testosterona (Gonzales et al., 2005). A estimulação sexual pode, portanto, ocorrer por outras

vias, como por exemplo, através da vasodilatação dos corpos cavernosos, produzindo a ereção (Sandroni, 2001).

Em estudos de avaliação toxicológica envolvendo plantas medicinais, o pesos dos rins e fígado é um parâmetro utilizado para verificar possível toxicidade da espécie (Castro et al, 2005; Sá et al, 2006). Neste sentido, caso alterações sejam observadas, estas podem direcionar a estudos histológicos e morfométricos renais e hepáticos.

A utilização de *O. semiserrata* na medicina tradicional, como afrodisíaco, motivou a investigação dos seus efeitos sobre a biometria corporal e testicular de camundongos adultos, sendo analisados o peso dos testículos, vesícula seminal, próstata, epidídimos, bem como dos rins e fígado, sendo estes dois últimos para avaliar possível toxicidade.

A carência de informações disponibilizadas sobre a química dessa espécie motivou a realização da análise fitoquímica preliminar, a fim de se identificar grupos de metabólitos secundários presentes na raiz, bem como, a avaliação quantitativa de polifenóis totais, proantocianidinas e flavonóides, já que alguns desses compostos foram descritos na literatura como detentores de atividade vasodilatadora.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Planta**

As raízes de *O. semiserrata* foram coletadas no mês de julho do ano de 2006, na região de cerrado, no município brasileiro de Cuiabá, estado de Mato Grosso. O material foi identificado e autenticado no Herbário da Universidade Federal de Viçosa (UFV), onde espécime testemunho foi depositado (exsicata VIC 31.379). A raiz foi seca em temperatura ambiente, protegida da incidência direta da luz solar e, em seguida, o material vegetal foi pulverizado em moinho de bola.

### **2.2. Preparação do extrato**

A preparação do extrato aquoso da raiz de *O. semiserrata* (EARS) foi realizada no Laboratório de Histologia da UFV. Dez gramas da raiz foram imersos em 1 litro de água fervente e deixados em ebulição durante 10 minutos, sendo o material posteriormente filtrado. O rendimento dessa extração foi de 25%, o que resultou em uma relação droga: resíduo seco (RD/RS) de 4:1, equivalente a 2,5 mg/ml. A partir deste resultado e do conhecimento do peso médio dos animais (40g), foram calculadas as concentrações, relativas ao extrato da droga a serem ofertadas em 30 mL diários.

### 2.3. Análises químicas

As análises químicas foram realizadas no Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular da UFV. A análise qualitativa fitoquímica do extrato foi realizada empregando-se cromatofolhas de sílica gel F<sub>254</sub>. O EAROS foi testado para a presença de flavonóides, alcalóides, cumarinas, saponinas, glicosídeos cardiotônicos, triterpenos/esteróides, óleos essenciais e taninos, utilizando-se reveladores e eluentes indicados por Wagner e Bladt (1996).

O teor de polifenóis totais foi expresso em ácido tânico, sendo empregado método espectrofotométrico após reação colorimétrica de Folin–Ciocalteu e leitura na região de 760 nm (Singleton e Rossi, 1965). Para a quantificação de proantocianidinas utilizou-se reação de vanilina como descrita por Price et al. (1980), com algumas modificações. A leitura foi realizada em 500 nm e o resultado expresso em teor de catequina. Flavonóides totais foram quantificados empregando reação com reagente de cloreto de alumínio. Utilizou-se curva de calibração de rutina e leitura de absorbância na região de 420 nm (Chang et al., 2002). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

### 2.4. Animais, grupos experimentais e tratamento

Foram utilizados 27 camundongos Suíços em idade reprodutiva (70 dias), provenientes do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da UFV. Os animais foram divididos em três grupos de 9 indivíduos cada, pesados e colocados em gaiolas individuais. O grupo controle (G1) recebeu apenas água destilada e os dois outros receberam EAROS nas concentrações de 750 (G2) e 1500 (G3) mg/kg de peso corporal. Todo o regime líquido foi fornecido *ad libitum* assim como a alimentação sólida (ração). Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura de 24°C e luminosidade de 12 horas. A fase de tratamento teve duração de 84 dias consecutivos.

### 2.5. Coleta de Amostras

Os animais foram anestesiados por inalação de éter, contidos e pesados para então serem perfundidos, inicialmente com solução salina (0,9%) contendo heparina sódica (Liquemine®) por 10 minutos, e em seguida, com solução fixadora de glutaraldeído 3% em tampão fosfato de sódio 0,1 molL<sup>-1</sup>, pH 7,4. O método de perfusão corporal utilizado foi modificado de Sprando (1990). Os órgãos coletados (testículos, próstata, vesícula seminal, epidídimos, rins e fígado) foram imersos no mesmo fixador, por 24 horas.

## 2.6. *Biometria corporal e testicular*

Os órgãos foram pesados em balança de precisão (BEL Mark 160/0,001g). Para determinar o peso do parênquima, a albugínea foi retirada e pesada, descontando-se seu peso daquele obtido para o testículo inteiro. Baseado nos pesos corporais e testiculares foi calculado o índice gonadosomático (IGS) a partir da fórmula  $IGS = PG/PC \times 100$ , onde PG = peso total das gônadas e PC = peso corporal. O IGS representa a proporção (%) do peso corporal alocado em gônadas.

## 2.7. *Análise estatística*

Análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de Newman-Keuls, foi usada para comparar médias entre os grupos experimentais. Todos os resultados foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão. O nível de significância considerado foi de 5%.

# 3. RESULTADOS

## 3.1. *Análise fitoquímica*

A análise fitoquímica da raiz de *O. semiserrata* revelou a presença de flavonóides, taninos, esteróides/triterpenos e óleos essenciais. Os demais grupos de compostos analisados não foram evidenciados. Os tipos de taninos presentes foram analisados por reações de hidrólise ácida a quente, e posterior solubilidade e reações calorimétricas, indicando a presença de proantocianidinas e taninos hidrolisáveis.

O teor de polifenóis totais, proantocianidinas e flavonóides foram  $3,57 \pm 0,28$  %,  $2,07 \pm 0,41$  % e  $0,11 \pm 0,01$  %, respectivamente.

## 3.2. *Biometria corporal e testicular*

Os resultados das características biométricas analisadas encontram-se nas Tabelas 1 e 2. Não foram observadas variações significativas ( $p > 0,05$ ) para todos os valores dos parâmetros analisados, embora os pesos dos testículos, da próstata e da albugínea, tiveram uma tendência à diminuição nos grupos tratados.

# 4. DISCUSSÃO

O modo de ação de algumas substâncias que aumentam a potência sexual é geralmente através da indução da vasodilatação dos corpos cavernosos, para permitir ou sustentar a ereção (Sandroni, 2001). Alguns autores relatam o efeito vasodilatador *in vitro* de flavonóides (Duarte et al, 1993; Herrera et al, 1996) e de proantocianidinas (Ambriambeloson et al., 1998;

Packer et al., 1999). A prospecção fitoquímica realizada na raiz de *O. semiserrata* revelou a presença de compostos fenólicos como proantocianidinas e flavonóides, que poderiam estar relacionados com o uso popular da planta como afrodisíaco. Estudos realizados por Valadares et al. (2003) também verificaram a presença de proantocianidinas em algumas espécies do gênero *Ouratea* e demonstraram a atividade de compostos desta classe na atividade vasodilatadora *in vitro*. O teor de proantocianidinas em raízes de *O. semiserrata* (2,07%) foi inferior ao encontrado em caule (6,49%) e folha (6,63%) desta mesma espécie e próximo ao encontrado em caule de *O. catanaefolia* (2,55%) (Valadares et al., 2003). As diferenças de teores encontradas podem estar relacionadas com as diferentes metodologias utilizadas, Valdares et al. (2003) utilizou o método de solvólise catalisada por ácido com n-BuOH/HCL 37% (95:5), metodologia previamente descrita por Hiermann et al. (1986).

A raiz de *O. semiserrata*, provavelmente possui efeito vasodilatador, produzido por proantocianidinas e flavonóides, capaz de produzir a ereção, o que leva a sugerir uma possível correlação entre compostos fenólicos com atividade afrodisíaca, sendo que estudos específicos a esse respeito devem ser realizados para confirmação dos fatos.

A presença de flavonóides já foi relatada em folhas e caules de *O. semiserrata* (Velandia et al., 1998; Velandia et al., 2002). Além de efeitos benéficos, a literatura relata atividade antifertilizadora de flavonóides (Bhargava, 1989; Vilegas et al., 1997; Martins et al., 2000). Estudo realizado por Das et al. (2004), demonstraram demonstrou diminuição no peso de órgãos reprodutivos acessórios de ratos machos submetidos ao tratamento do extrato de sementes de *Vitex negundo*, rica em flavonóides, após 15 dias de tratamento. No presente estudo, o EAROS não demonstrou variações significativas na massa dos órgãos reprodutivos, de rins e fígado que pudessem sugerir toxicidade ou efeitos nocivos à fertilidade dos camundongos.

Quanto aos demais grupos de metabólitos secundários evidenciados em *O. semiserrata*, a literatura relata efeitos positivos do óleo essencial da espécie *Satureja khuzestanica* no sistema reprodutivo de ratos, melhorando significativamente a potência, o índice de fertilidade, e aumentando o peso dos testículos, epidídimo, vesícula seminal e próstata (Haeri et al., 2006). Estudos realizados por Velandia et al. (1998) demonstraram a presença de terpenóides em folhas de *O. semiserrata*, sendo a presença de triterpenos já descrita em espécies do gênero, como *O. flava* (Mbing et al., 2003) e *O. nitida* (Estevam et al., 2005). Assim, estudos mais aprofundados para avaliar a atividade vasodilatadora do óleo essencial e de triterpenos de *O. semiserrata* precisam ser realizados.

Os animais que receberam o EAROS em ambas as concentrações não apresentaram variações no peso médio corporal. Tais resultados também foram observados em ratos submetidos ao tratamento com extratos de *Pygeum africanum* (Mello et al., 2004), *Butea superba* (Manosroi et al., 2006), *Rosmarinus officinalis* (Sá et al., 2006), *Lepidium meyenii* (Gasco et al., 2007) e *Arctium lappa* (Predes et al., 2007).

Segundo França e Russell (1998), o peso testicular ou o tamanho do testículo pode ser utilizado como indicador quantitativo da produção espermática, uma vez que o principal componente testicular é o túbulo seminífero. Embora o peso médio testicular e do parênquima tenham sido menores no grupo tratado com a maior concentração do EAROS (1500mg/kg), as variações não foram significativas, ao contrário de observações feitas com extratos de *Heteropterys aphrodisiaca* (Chieriegatto, 2005) e *Tynnanthus fasciculatus* (Melo, 2007). Em ambos os trabalhos, os extratos em sua maior concentração, aumentaram significativamente o peso dos testículos e do parênquima testicular. No caso do extrato de *H. aphrodisiaca*, devido ao aumento do volume no tecido intertubular, enquanto que no tratamento com *T. fasciculatus* foi o aumento no volume de túbulos seminíferos, que interferiu no peso dos testículos.

O percentual de peso corporal alocado em massa testicular (IGS) também não se alterou de forma significativa entre os grupos avaliados. Yakubu et al. (2007), ao testarem os efeitos antiandrogênicos do extrato de *Chromolaena odoratum* em ratos, observaram redução do IGS. Por outro lado, Yakubu et al. (2008) registraram aumento no IGS de ratos tratados com extrato de *Fadogia agrestis*, planta utilizada para tratar a disfunção sexual.

O peso médio do epidídimo, da próstata e da vesícula seminal (órgãos testosterona-dependentes) não sofreu variações significativas entre os grupos. Resultados semelhantes foram encontrados em ratos tratados com extratos de *Mondia whitei* (Watcho et al., 2004), *Rosmarinus officinalis* (Sá et al., 2006) e *Butea superba* (Manosroi et al., 2006). Redução do peso destes órgãos após a administração do irinóide plumeride, extraído de *Plumeria bicolor* foi encontrada por Gupta et al. (2004), que sugere efeitos anti-espermatogênico da planta. Vários autores concordam que existe uma relação direta entre a redução no peso de órgãos reprodutivos acessórios (vesícula seminal, próstata e epidídimo) com a redução na disponibilidade de andrógenos (Mukerjee et al., 1992; Gupta et al., 1993; Lohiya e Ansari, 1999; Chauhan et al., 2007). Outros autores afirmam ainda que a redução no peso das glândulas vesiculares pode indicar quadros de infertilidade como foi demonstrado nos trabalhos realizados por Malini et al. (1999), Gupta et al. (2001) e Ghosh et al. (2002). Estes resultados permitem sugerir que animais tratados com extrato aquoso de *O. semiserrata*, em

ambas as concentrações, não apresentaram alterações no processo espermatogênico, o que não interfere na fertilidade destes animais.

O fígado é o órgão mais vulnerável aos efeitos tóxicos de substâncias, provavelmente devido a sua posição anatômica e ao seu próprio determinismo funcional, que condiciona maior concentração celular, não apenas dos compostos a serem transformados, como também dos metabólitos resultantes (Mendes, 1988; Vasconcelos et al., 2007). Os rins, como órgãos filtradores, também estão sujeitos aos efeitos tóxicos das substâncias. A ausência de diferenças significativas no peso dos rins e do fígado após o tratamento com EAROS é um achado positivo, pois indica a ausência de toxicidade da raiz desta planta nas concentrações administradas. Tais resultados também foram observados em estudos de avaliação toxicológica, em ratos que receberam extratos de *Ginkgo biloba* (Castro et al, 2005) e de *Rosmarinus officinalis* (Sá et al, 2006).

## 5. CONCLUSÕES

A prospecção fitoquímica confirmou a presença de taninos e flavonóides, já anteriormente descritos em *O. semiserrata*, além de constatar, pela primeira vez, a presença de óleo essencial e triterpenos na raiz da espécie.

Os dados biométricos obtidos indicam que o tratamento com EAROS, não influenciou os aspectos biométricos corporais e testiculares de camundongos adultos, não sendo observadas variações no peso dos órgãos ou no IGS que indicassem comprometimento do processo espermatogênico, variações na disponibilidade de testosterona, ou na toxicidade da planta.

A presença de compostos fenólicos com atividade vasodilatadora na raiz de *O. semiserrata*, direciona a estudos para verificação de vasodilatação em corpos cavernosos induzida pelo extrato, bem como a estudos de comportamento sexual, para confirmação de seu uso popular como afrodisíaco.

## AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa.

## 6. REFERÊNCIAS

- Adaikan, P.G., Gauthaman, K., Prasad, R.N., Ng, S.C., 2000. Proerectile pharmacological effects of *Tribulus terrestris* extract on the rabbit corpus cavernous. *Annals Academy of Medicine Singapore* 29, 22-26.
- Ambriambeloson, E., Magnier, C., Haan-Archipoff, G., Lobstein, A., Antton, R., Beretz, A., Stoclet, J.C., 1998. Natural dietary polyphenolic compounds cause endothelium-depedent vasorelaxation in rat thoracic aorta. *The Journal of Nutrition* 128, 2324-2333.
- Amann, R.P., 1970. The male rabbit. IV. Quantitative testicular histology and comparisons between daily sperm production as determined histologically and daily sperm output. *Fertility and Sterility* 21, 662-672.
- Arletti, R., Benelli, A., Cavazzuti, E., Scarpetta, G., Bertolini, A., 1999. Stimulating property of *Turnera diffusa* and *Pfaffia paniculata* extracts on the sexual-behavior of male rats. *Psychopharmacology* 143, 15-19.
- Bhargava, S.K., 1989. Antiandrogenic effects of a flavonoid rich fraction of *Vitex negundo* seeds: a histological and biochemical study in dogs. *Journal of Ethnopharmacology* 27, 327-339.
- Castro, A.P., Mello, F.B., Mello, J.R.B., 2005. Avaliação toxicológica do *Ginkgo biloba* sobre a fertilidade e reprodução de ratos Wistar. *Acta Scientiae Veterinariae* 33, 265-269.
- Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M., Chern, J.C., 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis* 10, 178-182.
- Chauhan, A., Agarwal, M., Kushwaha, S., Mutreja, A., 2007. Suppression of fertility in male albino rats following the administration of 50% ethanolic extract of *Aegle marmelos*. *Contraception* 76, 474-481.
- Chierogatto, L.C., 2005. Efeito do tratamento crônico com extratos de *Heteropterys aphrodisiaca* O. Mach. E *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. no testículo de ratos Wistar adultos. 67p. Tese (Mestrado em Veterinária) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- Cicero, A.F.G., Piagente, S., Plaza, A., Sala, E., Arletti, R., Pizza, C., 2002. Hexanic Maca extract improves rat sexual performance more effectively than methanolic and chloroformic Maca extracts. *Andrologia* 34, 177-179.
- Daniel, J.F.S., Carvalho, M.G., Cardoso, R.S., Agra, M.F., Eberlin, M.N., 2005. Others flavonoids from *Ouratea hexasperma* (Ochnaceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society* 16, 634-638.

- Das, S., Parveen, S., Kundra, C.P., Pereira, B.M.J., 2004. Reproduction in male rats is vulnerable to treatment with the flavonoid-rich seed extracts of *Vitex negundo*. *Phytotherapy Research* 18, 8-13.
- Duarte, J., Vizcaino, F.P., Utrilla, P., Jimenez, J., Tamargo, J., Zarzuelo, A., 1993. Vasodilatory effects of flavonoids in rat aortic smooth muscle, structure activity relationships. *General Pharmacology* 24, 857-862.
- Estevam, C.S., Oliveira, F.M., Conserva, L.M., Lima, L.F.C.O., Barros, A.C.P., Rocha, E.M.M., Andrade, E.H.A., 2005. Constituintes químicos e avaliação preliminar *in vivo* da atividade antimalárica de *Ouratea nítida* Aubl (Ochnaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia* 15, 195-198.
- Felício, J.D., Rossi, M.H., Braggio, M.M., González, E., Pak, A., Cordeiro, I., Felício, R.C., 2004. Chemical constituents from *Ouratea parviflora*. *Biochemical Systematics and Ecology* 32, 79-81.
- Felício, J.D., Rossi, M.H., Park, H.R., González, E., Braggio, M.M., David, J.M., Cordeiro, I., 2001. Biflavonoids from *Ouratea multiflora*. *Fitoterapia* 72, 453-455.
- França, L.R., Russell, L.D., 1998. The testis of domestic mammals. In: F. Martinez-Garcia e J. Regadera (Eds), *Male reproduction- a multidisciplinary overview*, Churchill Communications, Madrid, pp. 198-219.
- Gasco, M., Aguilar, J., Gonzales, G.F., 2007. Effect of chronic treatment with three varieties of *Lepidium meyenii* (Maca) on reproductive parameters and DNA quantification in adult male rats. *Andrologia* 39, 151-158.
- Ghosh, D., Jana, D., Debnath, J.M., 2002. Effects of leaf extract of *Stephania hernandifolia* on testicular gametogenesis and androgenesis in albino rats: a dose dependent response study. *Contraception* 65, 379-384.
- Gonzalez, G.F., Córdova, A., Veja, K., Chung, A., Villena, A., Gónez, G., Castillo, S., 2002. Effect of *Lepidium meyenii* (MACA) on sexual desire and its absent relationship with serum testosterone levels in adult healthy men. *Andrologia* 34, 367-372.
- Gonzales, G.F., Miranda, S., Nieto, J., Fernandez, G., Yucra, S., Rubio, J., Yi, P., Gasco, M., 2005. Red maca (*Lepidium meyenii*) reduced prostate size in rats. *Reproductive Biology and Endocrinology* 3, 1-16.
- Gupta, G., Srivastava, A.K., Setty, B.S., 1993. Androgenic regulation of glycolytic and HMP pathway in epididymides and vas deferens of rhesus monkey. *Indian Journal of Experimental Biology* 31, 305-311.

- Gupta, R.S., Yadav, R.K., Dixit, V.P., Dobhal, M.P., 2001. Antifertility studies of *Colebrookia oppositifolia* leaf extract in male rats with special reference to testicular cell population dynamics. *Fitoterapia* 72, 236-245.
- Gupta, R.S., Bhatnager, A.K., Joshi, Y.C., Sharma, R., Sharma, A., 2004. Effects of Plumieride, an iridoid on spermatogenesis in male albino rats. *Phytomedicine* 11, 169-174.
- Haeri, S., Minaie, B., Amin, G., Nikfar, S., Khorasani, R., Smailly, H., Salehnia, A., Abdollahi, M., 2006. Effect of *Satureja khuzestanica* essential oil on male rat fertility. *Fitoterapia* 77, 495-499.
- Herrera, M.D., Zarzuelo, A., Jiménez, J., Marhuenda, E., Duarte J., 1996. Effects of flavonoids on rat aortic smooth muscle contractility: structure-activity relationships. *General Pharmacology* 27, 273-277.
- HIERMANN, A.; KARTNIG, T. H.; AZZAM, S. Ein Beitrag zur quantitativen Bestimmung der Procyanidine in *Crataegus*. *Sci. Pharm.*, Wien, v.54, p.331-337, 1986.
- Islam, M.W., Tario, M., Ageel, A.M., Al-Said, M.S., Al-Yhya, A.M., 1991. Effect of *Salvia haematodes* on sexual behaviours of male rats. *Journal of Ethnopharmacology* 33, 67-72.
- Lohiya, N.K., Ansari, A.S., 1999. Male contraceptive agents. In: Joy, K.P. Krishna, A. Krishna, C. Haldar, (Eds), *Comparative endocrinology and reproduction*, Narosa Publishing House, New Dehli, pp. 260-77.
- Malini, T., Manimaran, R.R., Arunakaran, J., Aruldas, M.M., Govindarajulu, P., 1999. Effects of piperine on testis of albino rats. *Journal of Ethnopharmacology* 64, 219-225.
- Manosroi, A., Sanphet, K., Saoowakon, S., Aritajat, S., Manosroi, J., 2006. Effects of *Butea superba* on reproductive systems of rats. *Fitoterapia* 77, 435-438.
- Martins, E.R., Castro, D.M., Castellani, D.C., Dias, J.E., 2000. *Plantas Medicinais*. Editora UFV, Viçosa, pp. 70-73.
- Mbing, J.N., Bassomo, M.Y., Pegnyemb, D.E., Tih R.G., Sondemgam, B.L., Blond, A., Bodo, B., 2003. Constituents of *Ouratea flava*. *Biochemical Systematics and Ecology* 31, 215-217.
- Mbing, J.N., Enguehard-Gueiffier, C., Atchadé, A., Allouchi, H., Gangoué-Piéboji, J., Mbafor, J.T., Tih, R.G., Pothier, J., Pegnyemb, D.E., Gueiffier, A., 2006. Two biflavonoids from *Ouratea nigroviolacea*. *Phytochemistry* 67, 2666-2670.
- McNeill, J.R., Jurgens, T.M., 2006. A systematic review of mechanisms by which natural products of plant origin evoke vasodilatation. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 84, 803-821.
- Melo, F.C.S.A., 2007. Efeito da infusão do caule de cipó-cravo (*Tynnanthus fasciculatus* Miers, Bignoniaceae) sobre as características morfométricas de componentes testiculares de ratos

- wistar adultos. 87p. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Estrutural) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- Mello, J.R.B., Maia, J.Z., Castro, A.P., Mello, F.B., 2004. Avaliação dos efeitos do *Pygeum africanum* rosaceae sobre a fertilidade de ratos. *Acta Scientiae Veterinariae* 32, 103-110.
- Mendes, F.T., 1988. Fígado e drogas. In: R. Dani, L.P. Castro (Eds), *Gastroenterologia clínica*, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, pp. 1035-1042.
- Moreira, I.C., Sobrinho, D.C., Carvalho, M.G., Braz-Filho, R., 1994. Isoflavone dimers hexaspermone A, B and C from *Ouratea hexasperma*. *Phytochemistry* 35, 1567–1572.
- Moreira, I.C., Carvalho, M.G., Bastos, A.B.F.O., Braz-Filho, R.A., 1999. A flavone dimer from *Ouratea hexasperma*. *Phytochemistry* 51, 833-838.
- Mukherjee, M., Chattopadhyay, S., Mathur, P.P., 1992. Effect of Flutamide on the physiological status of epididymis and epididymal sperms. *Andrologia* 24, 113-116.
- Packer, L., Rimbach, G., Virgili, F., 1999. Antioxidant activity and biologic properties of a procyanidin-rich extract from pine (*Pinus maritime*) bark, pycnogenol. *Free Radical Biology and Medicine* 27, 704-724.
- Predes, S. F., Monteiro, J.C., Paula, T.A.R., Matta, S.L.P., 2007. Evaluation of rat testes treated with *Arctium lappa* L: Morphometric study. *Brazilian Journal of Morphological Science* 24, 52-57.
- Price, M.L., Hagerman, A.E., Butler, L.G., 1980. Tannin content of cowpeas, chickpeas, pigeon peas, and mung beans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 28, 459-461.
- Rodrigues, A.G., Andrade, F.M.C., Coelho, F.M.G., Coelho, M.F.B., Azevedo, R.A.B., Casali, V.W.D., 2000. *Plantas Medicinais e Aromáticas: etnoecologia e etnofarmacologia*. Editora UFV, Viçosa, p. 320.
- Sá, R.C.S., Leite, M.N., Oliveira, L.E.G., Toledo, M.M., Greggio, T.C., Guerra, M.O., 2006. Preliminary assessment of *Rosmarinus officinalis* toxicity on male Wistar rats' organs and reproductive system. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 16, 324-332.
- Sandroni, P., 2001. Aphrodisiacs past and present: a historical review. *Clinical Autonomic Research* 11, 303-307.
- Singleton, V.L., Rossi, J.R., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphothungstic acid. *American Journal of Enology and Viticulture* 16, 144-158.
- Sprando, R.L., 1990. Perfusion of the rat testis through the heart using heparin. In: L.D. Russell, R.A. Ettlin, A.P. Sinha Hikim, E.D. Clegg (Eds), *Histological and Histopathological Evaluation of the Testis*, Cache River Press, Clearwater, pp. 277-280.

- Subramoniam, A., Madadhavachandran, V., Rajasekharan, S., Pushpangadan, P., 1997. Aphrodisiac property of *Trichopus zeylanicus* extract in male mice. *Journal of Ethnopharmacology* 57, 21-27.
- Taha, S.A., Ageel, A.M., Islam, M.W., Ginawi, O.T., 1995. Effect of (-)-cathinone, a psychoactive alkaloid from khat (*Catha edulis* Forsk.) and caffeine on sexual behaviour in rats. *Pharmacological Research* 31, 299-303.
- Valadares, Y.M., Oliveira, A.B., Côrtes, S.F., Lombardi, J.A., Braga, F.C., 2003. Atividade vasodilatadora *in vitro* de espécies de *Ouratea* (Ochnaceae) e de frações de *Ouratea semiserrata* (Mart.) Engl. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* 39, 83-91.
- Vasconcelos, T.H.C., Modesto-Filho, J., Diniz, M.F.F.M., Santos, H.B., Aguiar, F.B., Moreira, P.V.L., 2007. Estudo toxicológico pré-clínico agudo com o extrato hidroalcoólico das folhas de *Cissus sicyoides* L. (Vitaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia* 17, 583-591.
- Velandia, J.R., Carvalho, M.G., Braz-Filho, R., 1998. Ácido Ent-16 $\alpha$ , 17- diidroxicauran-19-óico isolado de *Ouratea semiserrata* e os desafios estereoquímicos dos carbonos quirais C-4 e C-16. *Química Nova* 21, 397-404.
- Velandia, J.R., Carvalho, M.G., Braz-Filho, R., Werle, A.A., 2002. Biflavonoids and a glucopyranoside derivative from *Ouratea semiserrata*. *Phytochemical Analysis* 13, 283–292.
- Vilegas, J.H.Y., Marchi, E., Lanças, F.M., 1997. Extraction of lowpolarity compounds (with emphasis on coumarin and kaurenoic acid) from *Mikania glomerata* (“guaco”) leaves. *Phytochemical Analysis* 8, 266-270.
- Wagner, H., Bladt, S., 1996. *Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas*. Springer, Berlin, p. 384.
- Watcho, P., Kamtchouing, P., Sokeng, S.D., Moundipa, P.F., Tantchou, J., Essame, J.L., Koueta, N., 2004. Androgenic effect of *Mondia whitei* roots in male rats. *Asian Journal of Andrology* 6, 269-272.
- Yakubu, M.T., Akanji, M.A., Oladiji, A.T., 2008. Effects of oral administration of aqueous extract of *Fadogia agrestis* (Schweinf. Ex Hiern) stem on some testicular function indices of male rats. *Journal of Ethnopharmacology* 115, 288-292.
- Yakubu, M.T., Akanji, M.A., Oladiji, A.T., 2007. Evaluation of antiandrogenic potentials of aqueous extract of *Chromolaena odoratum* (L.) K. R. leaves in male rats. *Andrologia* 39, 235–243.
- Zheng, B.L., He, K., Kim, C.H., Rogers, L., Shao, Y., Huang, Z.Y., Lu, Y., Yan, S.J., Qien, L.C., Zheng, Q.Y., 2000. Effect of a lipidic extract from *Lepidium meyenii* on sexual behavior in mice and rats. *Urology* 55, 598-602.

Tabela 1 – Peso corporal, peso testicular, índice gonadossomático (IGS), peso da albugínea e peso do parênquima de camundongos adultos, após tratamento com extrato aquoso da raiz de *Ouratea semiserrata*.

| Tratamento | Peso corporal (g)           | Peso testicular (g)        | IGS (%)                    | Peso da albugínea (g)      | Peso do parênquima (g)     |
|------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Grupo 1    | 38,933 ± 3,970 <sup>a</sup> | 0,248 ± 0,052 <sup>a</sup> | 0,633 ± 0,102 <sup>a</sup> | 0,012 ± 0,003 <sup>a</sup> | 0,235 ± 0,052 <sup>a</sup> |
| Grupo 2    | 36,386 ± 2,929 <sup>a</sup> | 0,242 ± 0,048 <sup>a</sup> | 0,662 ± 0,102 <sup>a</sup> | 0,012 ± 0,002 <sup>a</sup> | 0,230 ± 0,047 <sup>a</sup> |
| Grupo 3    | 39,092 ± 3,221 <sup>a</sup> | 0,218 ± 0,016 <sup>a</sup> | 0,561 ± 0,063 <sup>a</sup> | 0,010 ± 0,003 <sup>a</sup> | 0,207 ± 0,014 <sup>a</sup> |

Letras iguais nas colunas não diferem significativamente entre si (p>0,05).

Grupo 1: apenas água destilada (controle); grupo 2: concentração de 750 mg/kg de peso corporal; grupo 3: concentração de 1500 mg/kg de peso corporal.

Tabela 2 – Peso do epidídimo, peso da vesícula seminal, peso da próstata, peso do fígado e peso dos rins de camundongos adultos, após tratamento com extrato aquoso da raiz de *Ouratea semiserrata*.

| Tratamento | Peso do epidídimo (g)      | Peso da vesícula seminal (g) | Peso da próstata (g)       | Peso do fígado (g)         | Peso dos rins (g)          |
|------------|----------------------------|------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Grupo 1    | 0,095 ± 0,021 <sup>a</sup> | 0,352 ± 0,059 <sup>a</sup>   | 0,081 ± 0,025 <sup>a</sup> | 1,422 ± 0,212 <sup>a</sup> | 0,542 ± 0,108 <sup>a</sup> |
| Grupo 2    | 0,090 ± 0,014 <sup>a</sup> | 0,355 ± 0,103 <sup>a</sup>   | 0,072 ± 0,037 <sup>a</sup> | 1,504 ± 0,350 <sup>a</sup> | 0,530 ± 0,105 <sup>a</sup> |
| Grupo 3    | 0,088 ± 0,012 <sup>a</sup> | 0,331 ± 0,078 <sup>a</sup>   | 0,075 ± 0,027 <sup>a</sup> | 1,443 ± 0,160 <sup>a</sup> | 0,546 ± 0,102 <sup>a</sup> |

Letras iguais nas colunas não diferem significativamente entre si (p>0,05).

Grupo 1: apenas água destilada (controle); grupo 2: concentração de 750 mg/kg de peso corporal; grupo 3: concentração de 1500 mg/kg de peso corporal.

## Artigo 2

### Efeitos do extrato aquoso da raiz de *Ouratea semiserrata* (Mart.) Engl. (Ochnaceae) no parênquima testicular de camundongos Suíços adultos

#### RESUMO

A disfunção erétil tem levado muitos indivíduos a buscarem soluções nos estimulantes sexuais, principalmente de origem natural. *Ouratea semiserrata*, é uma das espécies utilizadas na medicina popular brasileira como afrodisíaco, além de adstringente e antiinflamatória. Neste trabalho, buscou-se avaliar os efeitos do extrato aquoso da raiz de *O. semiserrata* (EAROS) sobre o parênquima testicular de camundongos adultos, sendo avaliados o peso corporal, testicular e do parênquima, diâmetro tubular, altura do epitélio seminífero, comprimento total de túbulo (m), comprimento de túbulo por grama de testículo (m/g), proporção (%) e volume (ml) de túbulo e intertúbulo e índice tubulossomático (ITS). A quantificação histológica do parênquima testicular é um requisito básico para estudos que envolvam parâmetros reprodutivos masculinos. Foram utilizados camundongos machos, sendo um grupo controle (G1), que recebeu água destilada, e dois que receberam o EAROS nas concentrações de 750 (G2) e 1500 (G3) mg/kg de peso corporal. Não foram observadas diferenças significativas ( $p>0,05$ ) entre os grupos para os parâmetros analisados. Os dados encontrados permitem sugerir que o tratamento com EAROS em ambas as concentrações não interferiu no parênquima testicular de camundongos adultos, não sendo observadas variações nos elementos tubulares que indicassem alterações na atividade espermatogênica.

**Palavras-chave:** *Ouratea semiserrata*, reprodução, parênquima testicular, morfometria

## 1. INTRODUÇÃO

A disfunção erétil é uma doença séria que ocorre de 10% a 52% dos homens sexualmente maduros, podendo resultar de prejuízos neurológicos, fisiológicos, hormonais, arterial ou cavernoso, ou da combinação destes fatores (Tharakan e Manyam, 2005). A busca por soluções nos estimulantes sexuais é grande, principalmente aqueles de origem natural, com utilização de plantas que, em sua maioria, não foram submetidas a testes científicos rigorosos, sendo sua qualidade e aplicabilidade, questionadas. Do ponto de vista toxicológico, deve-se considerar que uma planta medicinal não tem apenas efeitos imediatos e facilmente correlacionados com a sua ingestão, mas também aqueles que se instalam a longo prazo de forma assintomática (Lapa et al., 2002). Este quadro desperta o interesse de pesquisadores sobre o modo de ação das plantas afrodisíacas, suas reais potencialidades e seus possíveis efeitos tóxicos.

*Ouratea semiserrata* (Mart.) Engl. (Ochnaceae) é uma espécie arbustiva, ocorrente na região de savana brasileira (Valadares et al., 2003), sendo utilizada popularmente como adstringente e antiinflamatória e como estimulante sexual (McNeill e Jurgens, 2006). Outras espécies do gênero são utilizadas popularmente como tônico e adstringente (*O. castanaefolia*, *O. parviflora*), como antiinflamatório, em doenças da pele (*O. parviflora*) e para tratar doenças gástricas (*O. spectabilis*) (Felício et al., 1995; Valadares et al., 2003).

O testículo dos mamíferos é dividido em compartimento intertubular, formado pelas células de Leydig, células do conjuntivo (macrófagos, mastócitos e fibroblastos), leucócitos, vasos sanguíneos e linfáticos, e compartimento dos túbulos seminíferos, composto por túnica própria, epitélio seminífero e lume (Russell et al., 1990a). Na maioria dos mamíferos, os túbulos ocupam de 70% a 90% do parênquima testicular (França e Russell, 1998; Godinho, 1999), existindo, portanto, uma relação direta entre tamanho testicular e o volume ocupado pelos túbulos seminíferos, o que reflete na produção espermática individual (Chieregatto, 2005). O termo parênquima testicular é amplamente utilizado na literatura para descrever o testículo após a remoção da albugínea e do mediastino testiculares, e sua quantificação histológica é um requisito básico para estudos que envolvam parâmetros reprodutivos masculinos (Paula et al., 2002).

O emprego de *O. semiserrata* na medicina popular, como afrodisíaco, motivou uma investigação mais detalhada dos efeitos do extrato aquoso de sua raiz sobre o parênquima testicular de camundongos adultos.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Coleta e processamento do material botânico

As raízes de *O. semiserrata* foram coletadas no mês de julho do ano de 2006, na região de cerrado, no município brasileiro de Cuiabá, estado de Mato Grosso. O material foi identificado e autenticado no Herbário da Universidade Federal de Viçosa (UFV), onde espécime testemunho foi depositado (exsicata VIC 31.379). A raiz foi seca em temperatura ambiente, protegida da incidência direta da luz solar e, em seguida, o material vegetal foi pulverizado em moinho de bola.

A preparação do extrato aquoso da raiz de *O. semiserrata* (EAROS) foi realizada no Laboratório de Histologia da UFV. Dez gramas da raiz foram imersos em 1 litro de água fervente e deixados em ebulição durante 10 minutos, sendo o material posteriormente filtrado. O rendimento dessa extração foi de 25%, o que resultou em uma relação droga: resíduo seco (RD/RS) de 4:1, equivalente a 2,5 mg/ml. A partir deste resultado e do conhecimento do peso médio dos animais (40g), foram calculadas as concentrações, relativas ao extrato da droga a serem ofertadas em 30 mL diários.

### 2.2. Animais, tratamento e preparação histológica

Foram utilizados 27 camundongos em idade reprodutiva (70 dias), provenientes do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da UFV. Os animais foram divididos em três grupos com 9 indivíduos cada, pesados e colocados em gaiolas individuais.

O grupo controle (G1) recebeu apenas água destilada e os dois outros receberam EAROS nas concentrações de 750 (G2) e 1500 (G3) mg/kg de peso corporal. Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura de 24°C e luminosidade de 12 horas.

Após 84 dias consecutivos de tratamento os animais foram anestesiados por inalação de éter, contidos e pesados para então serem perfundidos, inicialmente com solução salina (0,9%) contendo heparina sódica (Liquemine®) por 10 minutos, e em seguida, com solução fixadora de glutaraldeído 3% em tampão fosfato de sódio 0,1 molL<sup>-1</sup>, pH 7,4. Após a perfusão, os testículos foram imersos no mesmo fixador por 24 horas. O método de perfusão corporal utilizado foi modificado de Sprando (1990).

Para determinar o peso do parênquima, a albugínea foi retirada e pesada, descontando-se seu peso daquele obtido para o testículo inteiro. Como a densidade do testículo de mamíferos é em torno de 1 (Johnson e Neaves, 1981; França, 1991; Paula, 1999; Tae et al., 2005), a massa do testículo foi considerada igual ao seu volume.

Fragmentos de um dos testículos, destinados ao estudo em microscopia de luz, foram desidratados em concentrações crescentes de etanol, incluídos em 2-hidroxietil metacrilato (Historesin®, Leica), seccionados na espessura de 3 µm, mantendo uma distância de 12 cortes, e corados com azul de toluidina - borato de sódio 1%. Imagens do parênquima testicular foram obtidas em microscópio Olympus AX-70 e analisadas utilizando-se o programa Image-Pro Plus 4 (Media Cybernetics).

### *2.3. Proporções volumétricas (%), volume dos componentes do testículo e índice tubulossomático*

As proporções volumétricas de túbulo e intertúbulo foram estimadas a partir da contagem de 2.660 pontos projetados sobre imagens capturadas utilizando objetiva de 10X, totalizando 10 campos aleatórios nos cortes histológicos do testículo de cada animal.

Para cálculo dos volumes de túbulo e intertúbulo utilizou-se a fórmula: Volume = % túbulo ou intertúbulo/100 x peso parênquima de 1 testículo.

Baseado nos volumes de túbulos seminíferos e nos pesos corporais foi calculado o índice tubulossomático (ITS) a partir da fórmula  $ITS = VT/PC \times 100$ , onde VT = volume de túbulo seminífero e PC = peso corporal.

### *2.4. Diâmetro tubular e altura do epitélio seminífero*

Foi obtido o diâmetro tubular médio por animal a partir da mensuração, ao acaso, de 20 secções transversais de túbulos seminíferos que apresentavam contorno o mais circular possível. Nas mesmas secções utilizadas para se medir o diâmetro tubular foi mensurada a altura do epitélio seminífero, a qual foi tomada da túnica própria até o lume tubular.

### *2.5. Comprimento total dos túbulos seminíferos e comprimento total de túbulo por grama de testículo*

O comprimento total dos túbulos seminíferos por testículo (m), foi estimado a partir do conhecimento do volume ocupado pelos mesmos no testículo e do diâmetro tubular médio obtido para cada animal, empregando-se a fórmula (Attal e Courot, 1963; Dorst e Sajonski, 1974):  $CT = VTS/\pi R^2$ , onde VTS = volume total de túbulos seminíferos;  $\pi R^2$  = área da secção transversal dos túbulos seminíferos; R = diâmetro tubular/2.

O comprimento total de túbulo por grama de testículo foi calculado a partir da fórmula:  $CT/g = \text{Comprimento total de túbulos (m)}/\text{Peso bruto dos testículos}$ .

## 2.6. Análise estatística

Análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Newman-Keuls foi usada para comparar médias e desvio-padrão entre os grupos experimentais ( $p < 0,05$ ). Todos os resultados estão expressos em média  $\pm$  desvio-padrão.

## 3. RESULTADOS

As médias referentes ao peso corporal, testicular e do parênquima, não sofreram variações significativas ( $p > 0,05$ ) e encontram-se na Tabela 1.

As proporções volumétricas (%), o volume (ml) dos compartimentos do parênquima testicular e o ITS, não variaram significativamente entre os grupos, e encontram-se na Tabela 2.

Os valores referentes ao diâmetro tubular, altura de epitélio seminífero, comprimento total de túbulo (m) e comprimento de túbulo por grama de testículo (m/g) também não variaram entre os grupos ( $p > 0,05$ ) e encontram-se na Tabela III.

## 4. DISCUSSÃO

A proporção volumétrica de túbulos seminíferos em mamíferos é bastante variável, sendo este, um dos principais fatores responsáveis pela diferença observada para a eficiência na produção espermática nas diversas espécies (Russell et al., 1990b; França e Russell, 1998).

Os valores referentes à proporção de túbulos seminíferos entre animais do grupo controle e tratados com EAROS permaneceram próximos das médias relatadas para roedores, como *Mus musculus* (camundongo - 85%), *Mesocricetus auratus* (hamster dourado - 85%), *Cavia porcellus* (cobaia - 90%) e *Octodon degus* (degu - 93%) (Russell et al, 1990b). Os parâmetros relacionados à proporção e volume intertubular também não variaram de forma significativa, assim como em ratos tratados com extratos de *Rudgea viburnoides* Benth (Monteiro, 2004), *Arctium lappa* L (Predes et al., 2007) e *Trichilia catigua* (Gomes, 2007).

O ITS é um dado que visa quantificar o investimento em túbulos seminíferos em relação à massa corporal. Ratos que receberam o extrato de *Tynnanthus fasciculatus* (Mello, 2007), na dose de 200mg/Kg de peso corporal, apresentaram aumento significativo no ITS em relação ao grupo que recebeu a dose de 100mg/Kg, indicando, segundo o autor, ser um aumento dose-dependente e refletir em maior investimento corporal na produção espermática. Por outro lado, camundongos tratados com EAROS não apresentaram variações significativas no ITS, em ambas as concentrações.

Em investigações envolvendo a função testicular, a medida do diâmetro tubular é uma abordagem classicamente utilizada como indicador da atividade espermatogênica (França e Russell, 1998; Paula et al., 2002). Ratos que receberam o irinóide plumeride, extraído de *Plumeria bicolor* (Gupta et al., 2004), planta utilizada popularmente como antifertilizante, apresentaram redução do diâmetro tubular, o que reflete, segundo o autor, efeito anti-espermatogênico.

Animais tratados com EROS não apresentaram variações significativas no diâmetro tubular e na altura do epitélio seminífero, sendo os valores do primeiro parâmetro bem próximos à média encontrada por Bustos-Obregón et al., (2007b) para camundongos (220  $\mu\text{m}$ ), e a média da altura do epitélio seminífero dentro da faixa observada para a maioria das espécies de mamíferos, em torno de 60 a 100  $\mu\text{m}$  (França & Russell, 1998). Por outro lado, ratos que receberam os extratos de *Anemopaegma arvense*, *Heteropterys aphrodisiaca* (Chieriegatto, 2005) apresentaram aumento na altura do epitélio seminífero e no diâmetro tubular, e camundongos tratados com *Lepidium meyenii* (Bustos-Obregón et al., 2007a), tiveram a altura do epitélio seminífero significativamente maior em relação ao grupo controle, indicando nestes casos, aumento da atividade espermatogênica.

Parâmetros estruturais como tamanho do testículo, diâmetro tubular e volume dos túbulos seminíferos, estão intimamente relacionados com o comprimento total dos túbulos seminíferos (França e Russell, 1998). Como não houve alterações significativas nos parâmetros estruturais citados acima, nos testículos dos animais que receberam o EROS, o comprimento total de túbulos também permaneceu sem variações significativas. Ao contrário, animais tratados com *Tynnanthus fasciculatus* (Mello, 2007) na maior dose apresentaram aumento do peso testicular e do volume total de túbulos seminíferos o que refletiu em aumento no comprimento total dos túbulos, mas não no comprimento por grama de testículo. Predes et al. (2007) não observaram variações significativas no comprimento tubular, por testículo e por grama de testículo em animais tratados com extrato de *Arctium lappa* L, assim como observado no presente trabalho.

Os valores médios do comprimento de túbulos seminíferos por grama de testículo dos camundongos tratados com EROS permaneceram dentro da faixa média encontrada para os mamíferos, que é de 10 a 15 metros (França & Russell, 1998).

Os dados apresentados permitem concluir que o tratamento com EROS não interferiu no parênquima testicular de camundongos adultos, não sendo observadas variações nos elementos tubulares que indicassem alterações na atividade espermatogênica.

## AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa.

## 5. REFERÊNCIAS

- Attal, J. ; Court, M. Développement testiculaire et établissement de la spermatogénèse chez le taureau. Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys., 3: 219-241, 1963.
- Bustos-Obregón, E.; Rio, F.C.; Sarabia, L. Morphometric analysis of mice testicular tubules after administration of Malathion and Maca. Int. J. Morphol., 25 (2): 245-248, 2007 a.
- Bustos-Obregón, E.; Carvalho, M.; Hartley-Belmar, R.; Saraiba, I.; Ponce, C. Histological and histometrical assessment of boron exposure effects on mouse spermatogenesis. Int. J. Morphol., 25 (4): 919-925, 2007 b.
- Chieriegatto, L.C. Efeito do tratamento crônico com extratos de *Heteropterys aphrodisiaca* O. Mach. e *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. no testículo de ratos wistar adultos. Viçosa: UFV, 67p, 2005. (Dissertação, mestrado).
- Dorst, V.J.; Sajonski, H. Morphometrische untersuchungen am tubulussystem des schweinehodens während der postnatalen entwicklung. Monatsh. Ver. Med., 29: 650-652, 1974.
- Felicio, J.D.; González, E.; Braggio, M.M.; Constantino, L.; Albasini, A.; Lins, A.P. Inhibition of lens aldose reductase by biflavones from *Ouratea spectabilis*. Planta Med., 61(3): 217-220, 1995.
- França, L.R. Análise morfofuncional da espermatogênese de suínos adultos da raça Piau. 180p. Tese (Doutorado em Morfologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 1991.
- França, L.R.; Russell, L.D. The testis of domestic mammals. In: Martinez-Garcia, F. and Regadera, J. (eds). Male reproduction - a multidisciplinary overview. Madrid, Churchill Communications, 1998.
- Godinho, C.L. Análise histométrica do testículo e duração da espermatogênese em gatos (*Felis domestica*), sexualmente maduros. Belo Horizonte, UFMG, 74p, 1999. (Dissertação, mestrado).
- Gomes, M.L.M. Morfometria testicular de ratos Wistar adultos tratados com infusão aquosa de Catuaba (*Trichilia catigua* A. Juss. MELIACEAE). Viçosa, UFV, 38p, 2007. (Dissertação, mestrado).

- Gupta, R.S.; Bhatnager, A.K.; Joshi, Y.C.; Sharma, R.; Sharma, A. Effects of Plumieride, an iridoid on spermatogenesis in male albino rats. *Phytomedicine*, 11(2-3): 169-174, 2004.
- Johnson, L., Neaves, W.B. Age-Related changes in the Leydig cell population, seminiferous tubules, and sperm production in stallions. *Biol. Reprod.*, 24: 703-712, 1981.
- Lapa, A.J.; Souccar, C.; Lima-Landman, M.T.R.; Godinho, R.O.; Lima, T.C.M. *Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais*. In: Simões, C.M.O.; Schenkel, E.P.; Gosmann, G.; Mello, J.C.P.; Mentz, L.A.; Petrovick, P.R.; (eds). *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 4. ed. Florianópolis, Universitária, 2002.
- McNeill, J.R.; Jurgens, T.M. A systematic review of mechanisms by which natural products of plant origin evoke vasodilatation. *Can.J. Physiol. Pharmacol.*, 84 (8-9): 803-821, 2006.
- Monteiro, J.C. Efeitos da infusão de congonha-de-bugre (*Rudgea viburnoides* Benth.) nos parâmetros bioquímicos plasmáticos, no fígado e testículos de ratos Wistar adultos. Viçosa, UFV, 75 p, 2004. (Monografia, graduação).
- Melo, F.C.S.A. Efeito da infusão do caule de cipó-cravo (*Tynnanthus fasciculatus* Miers, Bignoniaceae) sobre as características morfométricas de componentes testiculares de ratos wistar adultos. Viçosa, UFV, 87p, 2007. (Dissertação, doutorado).
- Paula, T.A.R. Avaliação histológica e funcional do testículo de capivaras adultas (*Hydrochoerus hydrochaeris*). Belo Horizonte, UFMG, 84p, 1999. (Tese, doutorado).
- Paula, T.A.R.; Costa, D.S.; Matta, S.L.P. Avaliação histológica quantitativa do testículo de Capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) adultas. *Biosci. J.*, 18 (1): 121-136, 2002.
- Predes, S. F.; Monteiro, J.C.; Paula, T.R.; Matta, S.L.P. Evaluation of rat testes treated with *Arctium lappa* L: Morphometric study. *Braz. J. Morphol. Sci.*, 24 (2): 52-57, 2007.
- Russell, L.D.; Ettlin, R.A.; Sinha Hikim, A.P.; Clegg, E.D. Mammalian spermatogenesis. In: Russell, L.D., Ettlin, R.A., Sinha Hikim, A.P.; Clegg, E.D.; (eds). *Histological and histopathological evaluation of the testis*. Flórida, Cache River Press, 1990 a.
- Russell, L.D.; Ren, H.P.; Sinha-Hikim, I.; Schulze, W.; Sinha-Hikim, A.P.A. Comparative study in twelve mammalian species of volume densities, volumes and numerical densities of selected testis components, emphasizing those related to the Sertoli cell. *Am. J. Anat.*, 188 (1): 21-30, 1990 b.
- Sprando, R.L. Perfusion of the rat testis through the heart using heparin. In: Russell, L.D., Ettlin, R.A., Sinha Hikim, A.P., Clegg, E.D., (eds). *Histological and histopathological evaluation of the testis*. Florida, Cache River Press, 1990.
- Tae, H.J., Jang, B.G., Ahn, D.C., Choi, E.Y., Kang, H.S., Kim, N.S., Lee, J.H., Park, S.Y., Yang, H.H., Kim, I.S. Morphometric studies on the testis of Korean ring-necked pheasant

- (*Phasianus colchicus karpowi*) during the breeding and non-breeding seasons. Vet. Res. Comm., 29 (7): 629-643, 2005.
- Tharakan, B.; Manyam, B.V. Botanical therapies in sexual dysfunction. Phytother. Res., 19 (6): 457-463, 2005.
- Valadares, Y.M.; Oliveira, A.B.; Côrtes, S.F.; Lombardi, J.A.; Braga, F.C. Atividade vasodilatadora *in vitro* de espécies de *Ouratea* (Ochnaceae) e de frações de *Ouratea semiserrata* (Mart.) Engl. Rev. Bras. Ci. Farm., 39 (1): 83-91, 2003.

Tabela I: Peso corporal (g), peso testicular (g) e peso do parênquima (g) de camundongos em adultos, após tratamento com extrato aquoso da raiz de *Ouratea semiserrata*.

| Tratamento | Peso Corporal             | Peso Testicular          | Peso Parênquima          |
|------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Grupo 1    | 38,933±3,970 <sup>a</sup> | 0,248±0,052 <sup>a</sup> | 0,235±0,052 <sup>a</sup> |
| Grupo 2    | 36,386±2,929 <sup>a</sup> | 0,242±0,048 <sup>a</sup> | 0,230±0,047 <sup>a</sup> |
| Grupo 3    | 39,092±3,221 <sup>a</sup> | 0,218±0,016 <sup>a</sup> | 0,207±0,014 <sup>a</sup> |

Letras iguais nas colunas não diferem significativamente entre si (p>0,05).

Grupo 1: apenas água destilada (controle); grupo 2: concentração de 750 mg/kg de peso corporal; grupo 3: concentração de 1500 mg/kg de peso corporal.

Tabela II: Proporção volumétrica (%), volume dos compartimentos do parênquima testicular (ml) e índice tubulossomático – ITS (%) de camundongos adultos, após tratamento com extrato aquoso da raiz de *Ouratea semiserrata*.

| Tratamento | Túbulo seminífero         | Intertúbulo               | Volume tubular           | Volume intertubular      | ITS                      |
|------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Grupo 1    | 89,929±1,220 <sup>a</sup> | 10,070±1,220 <sup>a</sup> | 0,106±0,024 <sup>a</sup> | 0,012±0,003 <sup>a</sup> | 0,270±0,045 <sup>a</sup> |
| Grupo 2    | 90,121±2,210 <sup>a</sup> | 9,879±2,210 <sup>a</sup>  | 0,104±0,021 <sup>a</sup> | 0,011±0,003 <sup>a</sup> | 0,284±0,047 <sup>a</sup> |
| Grupo 3    | 90,422±2,553 <sup>a</sup> | 9,578±2,553 <sup>a</sup>  | 0,094±0,008 <sup>a</sup> | 0,010±0,003 <sup>a</sup> | 0,242±0,031 <sup>a</sup> |

Letras iguais nas colunas não diferem significativamente entre si (p>0,05).

Grupo 1: apenas água destilada (controle); grupo 2: concentração de 750 mg/kg de peso corporal; grupo 3: concentração de 1500 mg/kg de peso corporal.

Tabela III: Diâmetro tubular ( $\mu\text{m}$ ), altura do epitélio seminífero ( $\mu\text{m}$ ), comprimento total dos túbulos seminíferos (m) e comprimento dos túbulos por grama de testículo (m/g) de camundongos adultos, após tratamento com extrato aquoso da raiz de *Ouratea semiserrata*.

| Tratamento | Diâmetro tubular                  | Altura de epitélio seminífero   | Comprimento total de túbulo    | Comprimento de túbulo/grama de testículo |
|------------|-----------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|------------------------------------------|
| Grupo 1    | 224,986 $\pm$ 17,180 <sup>a</sup> | 82,474 $\pm$ 7,714 <sup>a</sup> | 2,676 $\pm$ 0,629 <sup>a</sup> | 10,900 $\pm$ 1,699 <sup>a</sup>          |
| Grupo 2    | 220,456 $\pm$ 11,981 <sup>a</sup> | 80,676 $\pm$ 2,418 <sup>a</sup> | 2,728 $\pm$ 0,637 <sup>a</sup> | 11,285 $\pm$ 1,075 <sup>a</sup>          |
| Grupo 3    | 223,909 $\pm$ 8,291 <sup>a</sup>  | 85,263 $\pm$ 5,848 <sup>a</sup> | 2,390 $\pm$ 0,242 <sup>a</sup> | 10,976 $\pm$ 0,778 <sup>a</sup>          |

Letras iguais nas colunas não diferem significativamente entre si ( $p>0,05$ ).

Grupo 1: apenas água destilada (controle); grupo 2: concentração de 750 mg/kg de peso corporal; grupo 3: concentração de 1500 mg/kg de peso corporal.

### Artigo 3

#### **Efeitos do extrato aquoso da raiz de *Ouratea semiserrata* (Mart.) Engl. (Ochnaceae) sobre componentes intertubulares do testículo de camundongos Suíços adultos**

#### **RESUMO**

Fitoterápico é a mais antiga modalidade utilizada na medicina popular para aumentar a função erétil. Dentre eles, está *Ouratea semiserrata*, uma espécie arbustiva, ocorrente nas savanas brasileiras, conhecida popularmente como raiz de bugre. O testículo dos mamíferos é dividido em compartimento tubular e intertubular, sendo o segundo formado pelas células de Leydig, que representam a porção endócrina deste órgão, células do conjuntivo, vasos sanguíneos e linfáticos. Neste trabalho, buscou-se avaliar os efeitos do extrato aquoso da raiz de *O. semiserrata* (EAROS) sobre os componentes do compartimento intertubular dos testículos de camundongos adultos. Foram utilizados camundongos machos, sendo um grupo controle (G1), que recebeu água destilada, e dois que receberam o EAROS nas concentrações de 750 (G2) e 1500 (G3) mg/kg de peso corporal. O tratamento com EAROS reduziu a proporção volumétrica (%) e o volume de tecido conjuntivo nos dois grupos tratados, e a proporção de macrófagos e o volume de vasos sanguíneos apenas nos animais que receberam a maior concentração do extrato. Observou-se ainda, neste último grupo de animais citado, aumento no diâmetro e volume nuclear ( $\mu\text{m}^3$ ) de Leydig, indicando possível aumento nos níveis de testosterona, provavelmente, não o suficiente para interferir nos pesos dos órgãos reprodutivos testosterona-dependentes.

**Palavras-chave:** *Ouratea semiserrata*, testículo, intertúbulo, célula de Leydig

## 1. INTRODUÇÃO

Em machos, o desempenho sexual depende da integração e coordenação de vários fatores anatômicos e fisiológicos, que juntos, interferem no sistema corporal e providenciam a tumescência peniana requerida para a atividade sexual (Kalamegam et al., 2003; Gauthaman et al., 2002).

A procura por um tratamento efetivo, seguro e fácil para combater problemas eréteis é cada vez maior. Fitoterápico é a mais velha modalidade utilizada na medicina popular para aumentar a função erétil (El-Thaher et al., 2001). Várias espécies têm sido utilizadas na medicina popular com esta finalidade sendo citadas: *Cynomorium coccineum* e *Withania somnifera* (Abdel-Magied et al., 2001), *Ferula harmonis* (El-Thaher et al., 2001), *Tribulus terrestris* (Gauthaman et al., 2002), *Heteropterys aphrodisiaca* e *Anemopaegma arvense* (Chieregatto, 2005), *Lepidium meyenii* (Bogani et al., 2006), *Tynnanthus fasciculatus* (Mello, 2007), *Trichilia catigua* (Gomes, 2007) e *Caesalpinia benthamiana* (Zamblé et al., 2008).

O gênero *Ouratea* pertence à família Ochnaceae e seus representantes ocorrem principalmente na América do Sul. No Brasil, podem ser encontradas 53 espécies (Velandia et al., 1998; Daniel et al., 2007). *Ouratea semiserrata* (Mart.) Engl. (Ochnaceae), conhecida como raiz de bugre, é uma espécie arbustiva, ocorrente nas savanas brasileiras (Valadares et al., 2003). É utilizada popularmente como adstringente, antiinflamatória e como estimulante sexual (McNeill e Jurgens, 2006).

O compartimento intertubular dos mamíferos é formado pelas células de Leydig, que representam a porção endócrina, por células do conjuntivo (macrófagos, mastócitos e fibroblastos), leucócitos, vasos sanguíneos e linfáticos (Sharpe, 1994).

As células de Leydig sintetizam testosterona que sustenta a espermatogênese, promove a diferenciação do trato genital masculino, mantém os caracteres sexuais secundários e a função das glândulas acessórias (O'Donnel et al., 2001; Colleta et al., 2005). Os macrófagos testiculares secretam citocinas, tais como, interleucina 1 e TGF $\alpha$ , que podem estimular os progenitores dessas células (Ge et al., 1996). Ratos e camundongos apresentam um padrão de intertúbulo em que as células de Leydig estão associadas aos vasos sanguíneos e envolvidas pelo fluido linfático (Fawcett et al., 1973).

O emprego de *O.semiserrata* na medicina popular, como afrodisíaco, motivou uma investigação mais detalhada dos seus efeitos sobre a porção androgênica testicular. Neste sentido, o presente trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos do extrato aquoso da raiz de *O.*

*semiserrata* (EAROS) sobre os componentes do compartimento intertubular de testículos de camundongos adultos.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Coleta e preparação do extrato

As raízes de *O. semiserrata* foram coletadas no mês de julho do ano de 2006, na região de cerrado, no município brasileiro de Cuiabá, estado de Mato Grosso. O material foi identificado e autenticado no Herbário da Universidade Federal de Viçosa (UFV), onde espécime testemunho foi depositado (exsicata VIC 31.379). A raiz foi seca em temperatura ambiente, protegida da incidência direta da luz solar e, em seguida, o material vegetal foi pulverizado em moinho de bola.

A preparação do extrato aquoso da raiz de *O. semiserrata* (EAROS) foi realizada no Laboratório de Histologia da UFV. Dez gramas da raiz foram imersos em 1 litro de água fervente e deixados em ebulição durante 10 minutos, sendo o material posteriormente filtrado. O rendimento dessa extração foi de 25%, o que resultou em uma relação droga: resíduo seco (RD/RS) de 4:1, equivalente a 2,5 mg/ml. A partir deste resultado e do conhecimento do peso médio dos animais (40g), foram calculadas as concentrações, relativas ao extrato da droga a serem ofertadas em 30 mL diários.

### 2.2. Animais, grupos experimentais e tratamento

Foram utilizados 27 camundongos em idade reprodutiva (70 dias), provenientes do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da UFV. Os animais foram divididos em três grupos com 9 indivíduos cada, pesados e colocados em gaiolas individuais.

O grupo controle (G1), recebeu apenas água destilada e os dois outros receberam EAROS nas concentrações de 750 (G2) e 1500 (G3) mg/kg de peso corporal. Todo o regime líquido foi fornecido *ad libitum* assim como a alimentação sólida (ração). Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura de 24°C e luminosidade de 12 horas. O tratamento teve duração de 84 dias consecutivos.

### 2.3. Coleta de amostras e preparação histológica

Os animais foram anestesiados por inalação de éter, contidos e pesados para então serem perfundidos, inicialmente com solução salina (0,9%) contendo heparina sódica (Liquemine®) por 10 minutos, e em seguida, com solução fixadora de glutaraldeído 3% em tampão fosfato de sódio 0,1 molL<sup>-1</sup>, pH 7,4. Após a perfusão, os órgãos coletados (testículos,

glândula vesicular, próstata e epidídimo) foram imersos no mesmo fixador por 24 horas. O método de perfusão corporal utilizado foi modificado de Sprando (1990).

Para determinar o peso do parênquima testicular, a albugínea foi retirada e pesada, descontando-se seu peso daquele obtido para o testículo inteiro. Fragmentos de um dos testículos, destinados ao estudo em microscopia de luz, foram desidratados em concentrações crescentes de etanol, incluídos em 2-hidroxietil metacrilato (Historesin®, Leica), seccionados na espessura de 3 µm, mantendo-se uma distância de 12 cortes, e corados com azul de toluidina - borato de sódio 1%.

Imagens do parênquima testicular foram obtidas em microscópio Olympus AX-70 com objetiva de 20X e analisadas utilizando-se o programa Image-Pro Plus 4 (Media Cybernetics).

#### *2.4. Proporção volumétrica e volume dos elementos do intertúbulo*

Para se obter as proporções volumétricas (%) dos componentes intertubulares foram contados 1.000 pontos projetados sobre imagens capturadas da região do intertúbulo, nos diferentes cortes histológicos do testículo de cada animal. Os elementos quantificados foram: tecido conjuntivo, macrófagos, vasos sanguíneos, espaço linfático e células de Leydig.

O volume (ml) dos elementos intertubulares foi calculado a partir da porcentagem do elemento no testículo/100, multiplicado pelo peso do parênquima de 1 testículo.

#### *2.5. Diâmetro, volumes nuclear e citoplasmático, número de células de Leydig por testículo, por grama de testículo, relação nucleoplasmática da célula de Leydig e ILS*

Trinta núcleos de células de Leydig foram medidos em cada animal, escolhendo os que apresentavam contorno circular, cromatina perinuclear e nucléolos evidentes.

Para se calcular os volumes (µm<sup>3</sup>) nuclear, citoplasmático e de cada célula de Leydig por testículo, utilizou-se as seguintes fórmulas:

Volume nuclear =  $4/3 \pi R^3$ , onde R = raio nuclear

Volume citoplasmático = % citoplasma X volume nuclear / % núcleo

Volume celular = volume nuclear + volume citoplasmático

Os números de células de Leydig por testículo e por grama de testículo foram calculados de acordo com as fórmulas abaixo:

Número de células de Leydig por testículo = volume que as células de Leydig ocupam por testículo (µm<sup>3</sup>) / volume de uma célula de Leydig (µm<sup>3</sup>)

Número de células de Leydig por grama de testículo = volume que a célula de Leydig ocupa por grama de testículo ( $\mu\text{m}^3$ ) / volume de uma célula de Leydig ( $\mu\text{m}^3$ )

Onde:

Volume que a células de Leydig ocupa por testículo = proporção da célula de Leydig no testículo X peso do parênquima de um testículo / 100

Volume que a célula de Leydig ocupa por grama de testículo = volume que a célula de Leydig ocupa por testículo / peso bruto de um testículo

Para calcular a relação nucleoplasmática (%) das células de Leydig dividiu-se o percentual ocupado pelo núcleo pelo percentual ocupado por citoplasma. Este percentual foi obtido a partir da contagem de 1000 pontos sobre núcleo e citoplasma.

O índice Leydigossomático (ILS) foi calculado através da seguinte fórmula:  $\text{ILS} = \text{volume que a célula de Leydig ocupa nos testículos} / \text{PC} \times 100$ , onde PC=peso corporal.

## **2.6. Análise estatística**

Análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Newman-Keuls foi usada para comparar médias e desvio-padrão entre os grupos experimentais ( $p < 0,05$ ). Todos os resultados estão expressos em média  $\pm$  desvio-padrão.

## **3. RESULTADOS**

Os parâmetros biométricos referentes a peso corporal, testicular, do parênquima, glândula vesicular, próstata e epidídimo, não sofreram variações significativas (Tabela I).

Houve redução na proporção de tecido conjuntivo nos grupos que receberam o EAROS, em relação ao controle, e também de macrófagos sendo, porém, esta última redução citada, significativa ( $p=0,01$ ) apenas no grupo que recebeu a maior concentração do extrato. As proporções dos demais parâmetros permaneceram invariáveis significativamente (Tabela II).

O volume de tecido conjuntivo também sofreu redução ( $p < 0,05$ ) em ambos os grupos tratados em relação ao controle, e o volume de vasos sanguíneos do grupo 3 em relação ao grupo 2 (Tabela III). Os volumes dos demais componentes do intertúbulo permaneceram sem variações significativas (Tabela III).

Na Tabela IV encontram-se os valores referentes a diâmetro nuclear ( $\mu\text{m}$ ), proporção de núcleo e citoplasma de células de Leydig (%), RNP (%) e ILS (%). Houve aumento ( $p < 0,05$ ) no diâmetro nuclear de células de Leydig dos animais do grupo 3 em relação ao grupo 1. As médias referentes aos demais dados mostraram-se não significativas ( $p > 0,05$ ).

Os volumes ( $\mu\text{m}^3$ ) nuclear, citoplasmático e de uma célula de Leydig, o número de células por testículo ( $\times 10^6$ ) e por grama de testículo ( $\times 10^6$ ) estão expostos na Tabela V. O volume nuclear da célula de Leydig aumentou nos dois grupos tratados, sendo significativo ( $p < 0,05$ ) apenas no grupo que recebeu EAROS em sua maior concentração. Os valores relacionados aos demais dados não foram significativos ( $p > 0,05$ ).

#### 4. DISCUSSÃO

Em termos proporcionais, o principal elemento constituinte do compartimento intertubular dos mamíferos são as células de Leydig, sendo estas as principais responsáveis pela produção de esteróides. Sua quantidade varia entre as espécies e esta variação não é encontrada em outra glândula endócrina (Fawcett et al, 1973; Paula et al, 2002). Os demais componentes do intertúbulo apresentam variações menos evidentes quanto à proporção volumétrica (Paula et al., 2007).

Dados referentes a reduções na proporção e volume de tecido conjuntivo também foram encontrados em ratos que receberam o extrato de *Tynnanthus fasciculatus* (Melo, 2007), porém, ao contrário dos animais tratados com EAROS, este autor verificou ainda aumento na população de macrófagos. Segundo Hales (1996), o número de macrófagos testiculares aumenta consideravelmente do nascimento até a maturidade sexual, e pode também aumentar no animal adulto sob o controle da hipófise. Este mesmo autor propõe que fatores secretados pelos macrófagos controlam de modo parácrino a atividade esteroideogênica e o desenvolvimento das células de Leydig. Apesar da relação íntima entre macrófagos e células de Leydig ser relatada por vários autores (Khan et al, 1992; Ge et al., 1996; Hales, 1996; Colleta e Carvalho, 2005), e redução na proporção destes dois tipos celulares ter sido relatado em animais tratados com extrato de *Trichilia catigua* (Gomes, 2007), a redução na proporção de macrófagos em animais que receberam o EAROS não foi acompanhada pela redução na proporção de células de Leydig.

O volume ocupado pelos vasos sanguíneos no parênquima testicular reduziu no grupo que recebeu a maior concentração de EAROS em relação ao grupo 2, contrastando com dados obtidos por Chieriegatto (2005), em que ratos que receberam a maior concentração de *Heteropterys aphrodisiaca* apresentaram o volume de vasos significativamente maior em relação ao controle.

De acordo com Castro et al. (2002), o volume nuclear da célula de Leydig está altamente correlacionado com o nível de testosterona testicular e plasmático. Animais que receberam extratos de *Barleria prionitis* (Gupta et al., 2000) e *Plumeria bicolor* (Gupta et al.,

2004), apresentaram redução do diâmetro nuclear de Leydig e, segundo estes autores, seus estudos direcionam a idéia de baixa produção de testosterona com interferência na fertilidade e efeitos anti-espermatogênico, respectivamente.

Em camundongos que receberam o EAROS em sua maior concentração, o aumento no diâmetro e volume nuclear de Leydig, sugere possível aumento dos níveis de testosterona, não sendo este, provavelmente, suficiente para alterar os pesos da vesícula seminal, próstata e do epidídimo, órgãos sabidamente andrógeno-dependentes (Gupta et al., 1993; Lohiya e Ansari, 1999; Chauhan et al., 2007). Chieriegatto (2005) também observou aumento significativo no volume nuclear de Leydig em ratos tratados com extrato de *Heteropterys aphrodisiaca* e sugeriu aumento nos níveis plasmático e testicular de testosterona, não encontrando, porém, variações significativas no peso da vesícula seminal dos animais.

O ILS é um parâmetro que visa quantificar o investimento em células de Leydig, com relação ao peso corporal. O valor estimado de ILS para camundongos é de 0,03% (Russell, 1996). Animais tratados com EAROS mantiveram média inferior à citada acima, apesar de não terem variado significativamente com o controle.

Os valores correspondentes aos volumes celular e citoplasmático de Leydig encontram-se dentro da média relatada para camundongos (Russell, 1996) e ratos (Russell e França, 1995) que é em torno de  $1500\mu\text{m}^3$  para volume celular, e  $1372\mu\text{m}^3$  para volume citoplasmático em camundongos (Mori et al., 1982). Assim, como em camundongos tratados com EAROS, ratos que receberam extratos de *Arctium lappa* L. (Predes et al., 2007) também não apresentaram variações significativas para os dados citados acima.

As médias referentes ao número de células de Leydig por testículo e por grama de testículo em animais tratados com EAROS e controle, não variaram significativamente entre si, permanecendo entre 4,7 e 40 milhões, respectivamente. Inúmeros fatores podem influenciar na quantidade necessária de células de Leydig por animal, dentre eles, a quantidade de LH disponível, o número de receptores de LH por célula, quantidade de testosterona que a célula de Leydig é capaz de secretar em um dado tempo, a velocidade pela qual a testosterona deixa o testículo via vasos linfáticos, vasos sanguíneos e fluido seminal, o volume sanguíneo do animal e a taxa de metabolismo da testosterona (Russell et al., 1994; Russell, 1996).

## 5. CONCLUSÕES

O tratamento com EAROS não interferiu de forma significativa no espaço linfático, porém, causou diminuição na proporção e volume de tecido conjuntivo, na proporção de

macrófagos e no volume de vasos sanguíneos. Por outro lado, proporcionou aumento no diâmetro e volume nuclear de Leydig, sendo que, todas estas alterações citadas foram mais evidentes e significativas apenas no grupo que recebeu a maior concentração do extrato. O aumento no volume e diâmetro nuclear de Leydig sugere possível aumento nos níveis de testosterona, provavelmente, não o suficiente para interferir nos pesos dos órgãos reprodutivos testosterona-dependentes.

## AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa.

## 6. REFERÊNCIAS

- ABDEL-MAGIED EM, ABDEL-RAHMAN HA, HARRAZ FM (2001) The effect of aqueous extracts of *Cynomorium coccineum* and *Withania somnifera* on testicular development in immature Wistar rats. J Ethnopharmacol 75: 1-4.
- BOGANI P, SIMONINI F, IRITI M, ROSSONI M, FAORO F, POLETTI A, VISIOLI F (2006) *Lepidium meyenii* (Maca) does not direct androgenic activities. J Ethnopharmacol 104: 415-417.
- CASTRO ACS, BERNDTSON WE, CARDOSO FM (2002) Plasma and testicular testosterone levels, volume density and number of Leydig cells and spermatogenic efficiency of rabbits. Braz J Med Biol Res 35: 493-498.
- CHAUHAN A, AGARWAL M, KUSHWAHA S, MUTREJA A (2007) Suppression of fertility in male albino rats following the administration of 50% ethanolic extract of *Aegle marmelos*. Contraception 76: 474-481.
- COLLETA HHMD, CARVALHO HF (2005) Células de Leydig. In: CARVALHO HF, COLARES-BUZATO CB (eds) Células: Uma abordagem multidisciplinar. São Paulo: Manole. pp: 325-334.
- CHIEREGATTO LC (2005) Efeito do tratamento crônico com extratos de *Heteropterys aphrodisiaca* O. Mach e *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. no testículo de ratos Wistar adultos. Viçosa: UFV, 67p. (Dissertação, mestrado).
- DANIEL JFS, ALVES CCF, GRIVICICH I, ROCHA AB, CARVALHO MG (2007) Antitumor activity of biflavonoids from *Ouratea* and *Luxemburgia* on human cancer cell lines. Indian J Pharmacol 39: 184-186.

- EL-THAHER TS, MATAKA KZ, TAHA HA, BADWAN AA (2001) *Ferula harmonis* 'zallouh' and enhancing erectile function in rats: efficacy and toxicity study. *Int J Impot Res* 13: 247-251.
- FAWCETT DW, NEAVES WB, FLORES MN (1973) Comparative observations on intertubular lymphatics and the organization of the interstitial tissue of the mammalian testis. *Biol Reprod* 9: 500-532.
- GAUTHAMAN K, ADAIKAN PG, PRASAD RNV (2002) Aphrodisiac properties of *Tribulus terrestris* extract (Protodioscin) in normal and castrated rats. *Lif Sci* 71: 1385–1396.
- GE RS, SHAN LX, HARDY MP (1996) Pubertal development of Leydig cells. In: PAYNE AH, HARDY MP, RUSSELL LD (eds) *The Leydig cell*. Vienna: Cache River Press. pp: 159-173.
- GOMES MLM (2007) Morfometria testicular de ratos Wistar adultos tratados com infusão aquosa de catuaba (*Trichilia catigua* A. Juss. MELIACEAE). Viçosa: UFV, 38p. (Dissertação, mestrado).
- GUPTA G, SRIVASTAVA AK, SETTY BS (1993) Androgenic regulation of glycolytic and HMP pathway in epididymides and vas deferens of rhesus monkey. *Indian J Exp Biol* 31: 305–11.
- GUPTA RS, KUMAR P, DIXIT VP, DOBHALL MP (2000) Antifertility studies of the root extract of the *Barleria prionitis* Linn in male albino rats with special reference to testicular cell population dynamics. *J Ethnopharmacol* 70: 111-117.
- GUPTA RS, BHATNAGER AK, JOSHI YC, SHARMA R, SHARMA A (2004) Effects of Plumieride, an iridoid on spermatogenesis in male albino rats. *Phytomedicine* 11: 169-174.
- HALES BD (1996) Leydig cell-macrophage interactions: an overview. In: PAYNE AH, HARDY MP, RUSSELL LD (eds) *The Leydig Cell*. Vienna: Cache River Press. pp: 451-465.
- KALAMEGAM GAUTHAMAN MBBS, ADAIKAN PG, PRASAD RNV (2003) Sexual effects of Puncturevine (*Tribulus terrestris*) extract (Protodioscin): an evaluation using a rat model. *J Altern Comp Med* 9: 257–265.
- KHAN S, TEERDS K, DORRINGTON J (1992) Growth factor requirements for DNA synthesis by Leydig cells from the immature rat. *Biol Reprod* 46: 335–341.
- LOHIYA NK, ANSARI AS (1999) Male contraceptive agents. In: JOY, KRISHNA KP, KRISHNA A, HALDAR C (eds) *Comparative endocrinology and reproduction*. New Delhi: Narosa Publishing House. pp: 77-260.

- MCNEILL JR, JURGENS TM (2006) A systematic review of mechanisms by which natural products of plant origin evoke vasodilatation. *Can J Physiol Pharmacol* 84: 803-821.
- MELO FCSA (2007) Efeito da infusão do caule de cipó-cravo (*Tynnanthus fasciculatus* Miers, Bignoniaceae) sobre as características morfológicas de componentes testiculares de ratos wistar adultos. Viçosa: UFV, 87p. (Dissertação, mestrado).
- MORI H, SHIMIZU D, FUKUNISHI Y, CHRISTENSEN AK (1982) Morphometric analysis of testicular Leydig cells in normal adult mice. *Anat Rec* 204: 33-339.
- O'DONNELL L, ROBERTSON KM, JONES ME, SIMPSON ER (2001) Estrogen and spermatogenesis. *Endocr Rev* 22: 289-318.
- PAULA TAR, COSTA DS, MATTA SLP (2002) Avaliação histológica quantitativa do testículo de Capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) adultas. *Biosci J* 18: 121-136.
- PAULA TAR, MATTA SLP, SILVA VA, COSTA DS, FONSECA CC, NEVES MTD (2007) Intertubular space characterization in adult capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) testis. *Braz Arch Biol Technol* 50: 289-297.
- PREDES SF, MONTEIRO JC, PAULA TR, MATTA SLP (2007) Evaluation of rat testes treated with *Arctium lappa* L: Morphometric study. *Braz J Morphol Sci* 24 : 52-57.
- RUSSELL LD (1996) Mammalian Leydig cell structure. In: PAYNE AH, HARDY MP, RUSSELL LD (eds) *The Leydig Cell*. Vienna: Cache River Press, pp: 43-96.
- RUSSELL LD, CHANDRASHEKAR V, BARTKE A, SINHA-HIKIM AP (1994) The hamsters Sertoli cell in early testicular regression and early recrudescence: a stereological and endocrine study. *Int J Androl* 17: 93-106.
- RUSSELL LD, FRANÇA LR (1995) Building a testis. *Tiss Cell* 27: 129-147.
- SHARPE RM (1994) Regulation of spermatogenesis. In: KNOBIL E, NEILL JD (eds) *The physiology of reproduction*. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Raven Press. pp: 1363-1434.
- SPRANDO RL (1990) Perfusion of the rat testis through the heart using heparin. In: RUSSELL LD, ETTLIN RA, SINHA HIKIM AP, CLEGG ED (eds) *Histological and Histopathological Evaluation of the Testis*. Clearwater: Cache River Press. pp: 277-280.
- VALADARES YM, OLIVEIRA AB, CÔRTEZ SF, LOMBARDI JA, BRAGA FC (2003) Atividade vasodilatadora in vitro de espécies de *Ouratea* (Ochnaceae) e de frações de *Ouratea semiserrata* (Mart.) Engl. *Rev Bras Ci Farm* 39: 83-91.
- VELANDIA JR, CARVALHO MG, BRAZ-FILHO R (1998) Ácido Ent-16 $\alpha$ , 17- diidroxicauran-19-óico isolado de *Ouratea semiserrata* e os desafios estereoquímicos dos carbonos quirais C-4 e C-16. *Quim Nova* 21: 397-404.

ZAMBLÉ A, MARTIN-NIZARD F, SAHPAZ S, HENNEBELLE T, STAELS B, BORDET R, DURIEZ P, BRUNET C, BAILLEUL F (2008) Vasoactivity, antioxidant and aphrodisiac properties of *Caesalpinia benthamiana* roots. J Ethnopharmacol 116: 112–119.

Tabela I: Peso corporal (g), testicular (g), do parênquima (g) e de órgãos reprodutivo-acessórios (g) de camundongos adultos, após tratamento com extrato aquoso da raiz de *Ouratea semiserrata*.

| Tratamento | Peso corporal             | Peso testicular          | Peso do parênquima       | Peso do epidídimo        | Peso da vesícula seminal | Peso da próstata         |
|------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Grupo 1    | 38,933±3,970 <sup>a</sup> | 0,248±0,052 <sup>a</sup> | 0,235±0,052 <sup>a</sup> | 0,095±0,021 <sup>a</sup> | 0,352±0,059 <sup>a</sup> | 0,081±0,025 <sup>a</sup> |
| Grupo 2    | 36,386±2,929 <sup>a</sup> | 0,242±0,048 <sup>a</sup> | 0,230±0,047 <sup>a</sup> | 0,090±0,014 <sup>a</sup> | 0,355±0,103 <sup>a</sup> | 0,072±0,037 <sup>a</sup> |
| Grupo 3    | 39,092±3,221 <sup>a</sup> | 0,218±0,016 <sup>a</sup> | 0,207±0,014 <sup>a</sup> | 0,088±0,012 <sup>a</sup> | 0,331±0,078 <sup>a</sup> | 0,075±0,027 <sup>a</sup> |

Letras iguais nas colunas não diferem significativamente entre si (p>0,05).

Grupo 1: apenas água destilata; grupo 2: concentração de 750 mg/kg de peso corporal; grupo 3: concentração de 1500 mg/kg de peso corporal.

Tabela II: Proporção volumétrica (%) dos componentes no intertúbulo de testículos de camundongos adultos, após o tratamento com extrato aquoso da raiz de *Ouratea semiserrata*.

| Tratamentos | Tecido conjuntivo        | Espaço linfático           | Vasos sanguíneos          | Macrófagos               | Células de Leydig          |
|-------------|--------------------------|----------------------------|---------------------------|--------------------------|----------------------------|
| Grupo 1     | 7,000±1,316 <sup>a</sup> | 20,356±6,240 <sup>a</sup>  | 8,344±3,564 <sup>a</sup>  | 2,178±0,650 <sup>a</sup> | 62,122±7,521 <sup>a</sup>  |
| Grupo 2     | 4,556±1,761 <sup>b</sup> | 15,411±10,767 <sup>a</sup> | 11,911±4,104 <sup>a</sup> | 1,756±0,828 <sup>a</sup> | 66,367±9,852 <sup>a</sup>  |
| Grupo 3     | 3,878±0,982 <sup>b</sup> | 17,178±9,212 <sup>a</sup>  | 8,478±5,700 <sup>a</sup>  | 0,956±0,201 <sup>b</sup> | 69,511±11,488 <sup>a</sup> |

Letras iguais nas colunas não diferem significativamente entre si (p>0,05).

Grupo 1: apenas água destilada; grupo 2: concentração de 750 mg/kg de peso corporal; grupo 3: concentração de 1500 mg/kg de peso corporal.

Tabela III: Volume dos elementos do intertúbulo (ml) por testículo de camundongos adultos, após tratamento com extrato aquoso da raiz de *Ouratea semiserrata*.

| Tratamentos | Tecido conjuntivo          | Espaço linfático           | Vasos sanguíneos            | Macrófagos                 | Células de Leydig          |
|-------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Grupo 1     | 0,0008±0,0002 <sup>a</sup> | 0,0024±0,0009 <sup>a</sup> | 0,0009±0,0004 <sup>ab</sup> | 0,0002±0,0001 <sup>a</sup> | 0,0074±0,0022 <sup>a</sup> |
| Grupo 2     | 0,0005±0,0003 <sup>b</sup> | 0,0018±0,0014 <sup>a</sup> | 0,0013±0,0004 <sup>a</sup>  | 0,0002±0,0001 <sup>a</sup> | 0,0075±0,0027 <sup>a</sup> |
| Grupo 3     | 0,0004±0,0001 <sup>b</sup> | 0,0023±0,0027 <sup>a</sup> | 0,0007±0,0004 <sup>b</sup>  | 0,0002±0,0002 <sup>a</sup> | 0,0072±0,0021 <sup>a</sup> |

Letras iguais nas colunas não diferem significativamente entre si ( $p>0,05$ ).

Grupo 1: apenas água destilata; grupo 2: concentração de 750 mg/kg de peso corporal; grupo 3: concentração de 1500 mg/kg de peso corporal.

Tabela IV: Diâmetro nuclear ( $\mu\text{m}$ ), proporção de núcleo e citoplasma de células de Leydig (%), relação nucleoplasmática - RNP (%) e índice leydigossomático - ILS (%) em testículos de camundongos adultos, após tratamento com extrato aquoso da raiz de *Ouratea semiserrata*.

| Tratamentos | Diâmetro nuclear               | Núcleo de Leydig                | Citoplasma de Leydig             | RNP                             | ILS                            |
|-------------|--------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| Grupo 1     | 7,733 $\pm$ 0,133 <sup>a</sup> | 10,067 $\pm$ 1,992 <sup>a</sup> | 52,056 $\pm$ 5,897 <sup>a</sup>  | 19,267 $\pm$ 2,601 <sup>a</sup> | 0,019 $\pm$ 0,004 <sup>a</sup> |
| Grupo 2     | 7,808 $\pm$ 0,129 <sup>a</sup> | 10,644 $\pm$ 2,661 <sup>a</sup> | 55,722 $\pm$ 7,590 <sup>a</sup>  | 18,971 $\pm$ 2,887 <sup>a</sup> | 0,021 $\pm$ 0,006 <sup>a</sup> |
| Grupo 3     | 7,972 $\pm$ 0,229 <sup>b</sup> | 11,389 $\pm$ 2,100 <sup>a</sup> | 58,122 $\pm$ 10,037 <sup>a</sup> | 19,847 $\pm$ 3,279 <sup>a</sup> | 0,018 $\pm$ 0,005 <sup>a</sup> |

Letras iguais nas colunas não diferem significativamente entre si ( $p>0,05$ ).

Grupo 1: apenas água destilata; grupo 2: concentração de 750 mg/kg de peso corporal; grupo 3: concentração de 1500 mg/kg de peso corporal.

Tabela V: Volumes ( $\mu\text{m}^3$ ) nuclear, citoplasmático e de uma célula de Leydig, número de células de Leydig por testículo ( $\times 10^6$ ) e por grama de testículo ( $\times 10^6$ ) de camundongos adultos, após tratamento com extrato aquoso da raiz de *Ouratea semiserrata*.

| Tratamentos | Volume nuclear                    | Volume citoplasmático               | Volume de uma célula de Leydig      | Nº de células por testículo    | Nº de células/ grama de testículo |
|-------------|-----------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|
| Grupo 1     | 242,350 $\pm$ 12,617 <sup>a</sup> | 1281,415 $\pm$ 210,345 <sup>a</sup> | 1523,765 $\pm$ 216,922 <sup>a</sup> | 4,937 $\pm$ 1,730 <sup>a</sup> | 39,825 $\pm$ 10,023 <sup>a</sup>  |
| Grupo 2     | 249,516 $\pm$ 12,384 <sup>a</sup> | 1342,768 $\pm$ 208,953 <sup>a</sup> | 1592,284 $\pm$ 213,367 <sup>a</sup> | 4,875 $\pm$ 2,081 <sup>a</sup> | 40,211 $\pm$ 13,934 <sup>a</sup>  |
| Grupo 3     | 265,893 $\pm$ 22,544 <sup>b</sup> | 1378,981 $\pm$ 282,025 <sup>a</sup> | 1644,874 $\pm$ 301,035 <sup>a</sup> | 4,510 $\pm$ 1,524 <sup>a</sup> | 41,6941 $\pm$ 14,119 <sup>a</sup> |

Letras iguais nas colunas não diferem significativamente entre si ( $p>0,05$ ).

Grupo 1: apenas água destilata; grupo 2: concentração de 750 mg/kg de peso corporal; grupo 3: concentração de 1500 mg/kg de peso corporal.

## CONCLUSÕES GERAIS

- ▶ A administração do EAROS nas concentrações de 750 e 1500mg/kg de peso corporal não alterou aspectos corporais, testiculares assim como a organização tubular, não sendo observadas variações no peso dos órgãos, no IGS, e na morfometria dos túbulos seminíferos que indicassem interferência na atividade espermatogênica ou toxicidade da planta.
- ▶ A prospecção fitoquímica revelou a presença de triterpenos/esteróides, flavonóides, óleos essenciais e taninos.
- ▶ O tratamento em ambas as concentrações promoveu redução na proporção volumétrica e no volume de tecido conjuntivo.
- ▶ A maior concentração do extrato (1500mg/Kg) promoveu diminuição na proporção de macrófagos e no volume de vasos sanguíneos, e aumento no diâmetro e volume nuclear de Leydig.
- ▶ A presença de compostos fenólicos com atividade vasodilatadora na raiz de *O. semiserrata*, direciona a estudos para verificação de vasodilatação em corpos cavernosos induzida pelo extrato, bem como a estudos de comportamento sexual, para confirmação de seu uso popular como afrodisíaco.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)