

LUIZ CARLOS CHIEREGATTO

**EFEITO DO TRATAMENTO CRÔNICO COM EXTRATOS DE  
*Heteropterys aphrodisiaca* O. Mach. E *Anemopaegma arvense* (Vell.)  
Stellf. NO TESTÍCULO DE RATOS WISTAR ADULTOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS-BRASIL  
2005

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

T

C533e  
2005

Chieriegatto, Luiz Carlos, \d 1969-

Efeito do tratamento crônico com extratos de  
*Heteropterys aphrodisiaca* O. Mach. e *Anemopaegma*  
*arvense*. ( Vell.) Stellf. no testículo de ratos wistar  
adultos / Luiz Carlos Chieriegatto. – Viçosa : UFV, 2005.  
xii, 67f. : il. ; 29cm.

Orientador: Tarcízio Antônio Rêgo de Paula.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de  
Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Reprodução animal. 2. *Heteropterys aphrodisiaca* -  
Efeito na reprodução de ratos. 3. *Anemopaegma arvense* -  
Efeito na reprodução de ratos. 4. Testículos. 5. Plantas  
medicinais. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

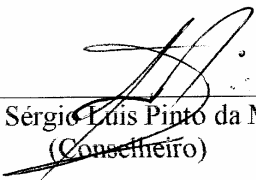
CDD 22.ed. 636.08982

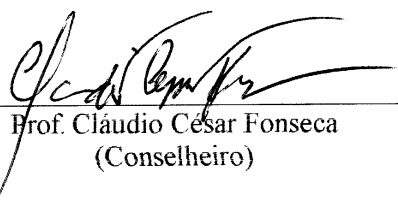
LUIZ CARLOS CHIEREGATTO

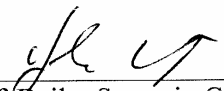
**EFEITO DO TRATAMENTO CRÔNICO COM EXTRATOS DE  
*Heteropterys aphrodisiaca* O. Mach. E *Anemopaegma arvense* (Vell.)  
Stellf. NO TESTÍCULO DE RATOS WISTAR ADULTOS**

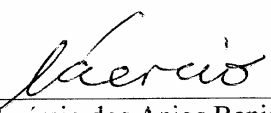
Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

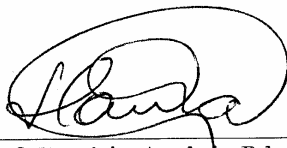
APROVADA: 15 de fevereiro de 2005.

  
Prof. Sérgio Luis Pinto da Matta  
(Conselheiro)

  
Prof. Cláudio César Fonseca  
(Conselheiro)

  
Prof. Deiler Sampaio Costa

  
Prof. Laércio dos Anjos Benjamin

  
Prof. Tarcízio Antônio Rêgo de Paula  
(Orientador)

### **Aos meus pais**

Uma pequena retribuição aos cuidados e esforços de me acompanhar nos anos iniciais, pelos ensinamentos das primeiras lições, por alertar que o conhecimento é também uma ferramenta para benefícios de todos, incluindo aqueles que não tiveram as mesmas oportunidades.

À Temilze, a qual divido com muito carinho as alegrias do dia-a-dia.

Dedico também à minha irmã Edenir, uma retribuição aos incentivos iniciais, os quais foram decisivos para vencer etapas acadêmicas cada vez mais importantes.

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais Enéas e Rosa Maria, às minhas irmãs Edenir, Eliane e Perla, e aos meus sobrinhos Paulo Vitor e João Carlos, que foram a razão principal e fonte de estímulo permanente para realização de mais esta etapa acadêmica.

À Temilze Gomes Duarte, pelos anos de carinho e respeito, e pela sua incansável dedicação a mim, por sua eterna confiança e capacidade em tornar as dificuldades, sempre menores que a determinação para superá-las.

Ao Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realização do curso. À coordenação do programa de Pós-graduação pela seriedade na condução dos trabalhos, por possibilitar o acesso a todas as informações para realização das atividades acadêmicas, e por disponibilizar o acesso irrestrito e essencial à Internet, como fonte de pesquisa.

À Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT, pelo auxílio financeiro, mantendo sistematicamente os encargos salariais os quais possibilitaram a permanência em Viçosa, e ao Campus Universitário de Nova Xavantina pelo apoio irrestrito ao afastamento.

Ao Prof. Tarcízio Antônio Rêgo de Paula, que foi durante todas as etapas desta pesquisa uma referência ética primorosa, pela atenção e dedicação integral oferecida durante todo o período, especialmente na fase final do trabalho, por sua

capacidade em apontar sempre soluções para superação das dificuldades encontradas, e pelo exemplo profissional e de orientação praticado nas atividades diárias.

Ao Prof. Sérgio Luís Pinto da Matta, que esteve muito acima de um conselheiro, sugerindo desde o princípio um planejamento refinado de todos os detalhes de cada etapa deste trabalho. Ao auxílio fundamental na geração e análises dos dados estatísticos, ao acesso irrestrito a todas as informações bibliográficas disponíveis em seu laboratório, e principalmente, pela confiança permanente demonstrada na realização desta pesquisa.

Ao Prof. Cláudio César Fonseca, pelas valiosas orientações sobre as técnicas para preparação do material histológico, as quais possibilitaram os acertos indispensáveis no processamento do material utilizado.

Aos professores Laércio dos Anjos Benjamim, Deiler Sampaio Costa, Isabel Regina dos Santos Maldonado e Eduardo Paulino da Costa por aceitar prontamente a participação na banca examinadora da tese.

À Prof<sup>a</sup> Helena Soares Ramos Cabette, pelos anos de convivência e amizade, pelos incentivos sinceros e pelas longas conversas sobre pós-graduação, a quem sou muito grato.

Aos Professores do Laboratório de Biologia Estrutural do Departamento de Biologia Geral da UFV, Sérgio, Isabel, Lino, Clóvis e Adilson, pela colaboração no uso dos equipamentos para preparação e análise do material histológico.

Ao Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia Vegetal da UFV, pela disponibilidade do microscópio acoplado a câmera de captura de imagens, e ao uso do programa Image Pro Plus.

Aos informantes de Cuiabá e de Nova Xavantina, que prestaram grande colaboração, fornecendo informações adquiridas de gerações passadas, sobre o preparo e uso dos extratos das espécies vegetais utilizadas.

Aos amigos Biólogos Lorivaldo Amâncio de Castro e Joana Darc Batista, pelo auxílio nas coletas do material botânico e pelo desprendimento de tempo para as

andanças nos Cerrados de Nova Xavantina a procura de exemplares viáveis para utilização no experimento.

Aos professores do Departamento de Veterinária, pelos ensinamentos obtidos durante a realização das disciplinas.

À amiga Ana Paula Adry, pelo auxílio nas preparações dos trabalhos, por disponibilizar seus equipamentos de informática os quais foram fundamentais em inúmeras atividades desenvolvidas, e pela constante dedicação em busca da qualidade das apresentações que realizamos durante o curso.

Aos amigos Bruno Sant'Anna pelo treinamento para utilização do programa Image Pro Plus e Walnir Gomes Ferreira Jr. pelo auxílio na ordenação dos dados estatísticos.

À Secretária de Pós-Graduação do Departamento de Veterinária, Rosinéia Aparecida da Cunha, pela preocupação permanente com as documentações necessárias durante a realização do curso, e pelos incansáveis e-mails informativos sobre as datas e prazos para encaminhamentos junto à coordenação do programa.

Aos professores, alunos e funcionários da UNEMAT - Campus Universitário de Nova Xavantina, pelos agradáveis anos de trabalho e convivência profissional, experiência útil na superação de dificuldades aqui encontradas.

À Bióloga Geórgia Martins Ferreira e Silva, pela colaboração permanente em todas as etapas deste trabalho, por dividir as surpresas agradáveis e também diversas preocupações, que foram superadas graças à colaboração efetiva de nossos atenciosos orientadores: Sérgio e Tarcízio.

À Coordenação do Biotério Central da UFV, por disponibilizar os animais e estrutura necessária para realização do experimento. Ao Técnico Adão Custódio de Carvalho e ao funcionário Juliano Souza Cardoso, pelo controle rigoroso da linhagem e cuidados com os animais, pelo atendimento cortês às pessoas envolvidas no experimento e pelo treinamento para o manejo adequado com os animais.

Ao estudante de Veterinária, Marco Antônio Bastos, pelo compromisso diário durante a realização do experimento e coleta do material para o estudo histológico. Também aos acadêmicos de Veterinária: Telma, Alessandro, Deysiane, Shênia, Luana e Sabrina, pela colaboração no tratamento dos animais.

Aos Biólogos: Marcos de Lucca, Fabrícia Predes e Juliana Monteiro, pelo importante auxílio durante a administração das dosagens dos extratos aos animais, na obtenção dos dados biométricos e na coleta do material histológico. Aos estudantes de Ciências Biológicas: Diego Ceolin, Katiane de Oliveira, Juliana Silveira e Fabiola Carvalho, pela colaboração no manejo dos animais na fase experimental.



## CONTEÚDO

	<b>Página</b>
RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1. Antecedentes	5
1.1.1. Fitoterapia	5
1.1.2. Plantas afrodisíacas	9
1.1.3. <i>Heteropterys aphrodisiaca</i> (nó-de-cachorro)	11
1.1.4. <i>Anemopaegma arvense</i> (vergateza)	13
1.1.5. Testículo	14
1.1.6. Espermatogênese	16
1.1.7. Células de Leydig	17
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21
Efeitos dos extratos de <i>Heteropterys aphrodisiaca</i> e <i>Anemopaegma arvense</i> sobre o túbulo seminífero de ratos Wistar adultos	32
Resumo	32
Abstract	33
1. Introdução	34
2. Material e métodos	36
2.1. Seleção das espécies e coleta do material botânico	36
2.2. Preparo dos extratos	36
2.3. Animais e grupos experimentais	37
2.4. Tratamentos	37
2.5. Coleta e preparação histológica	37

	<b>Página</b>
2.6. Proporção volumétrica e volume dos componentes do parênquima testicular	38
2.7. Diâmetro tubular, altura do epitélio seminífero e comprimento total dos túbulos seminíferos	38
2.8. Análises estatísticas	39
3. Resultados	39
4. Discussão	43
5. Conclusões	45
Referências Bibliográficas	46
Efeitos dos extratos de <i>Heteropterys aphrodisiaca</i> e <i>Anemopaegma arvense</i> sobre a célula de Leydig e demais componentes do espaço intertubular de ratos Wistar adultos	49
Resumo	49
Abstract	50
1. Introdução	51
2. Material e métodos	53
2.1. Seleção das espécies e coleta do material botânico	53
2.2. Preparo dos extratos	53
2.3. Animais e grupos experimentais	54
2.4. Tratamentos	54
2.5. Coleta e preparação histológica	54
2.6. Proporções volumétricas, relação nucleoplasmática e volumes dos componentes intertubulares do parênquima testicular	55
2.7. Diâmetro, volume nuclear e número de células de Leydig por testículo	55
2.8. Análises estatísticas	56
3. Resultados	56
4. Discussão	60
5. Conclusões	62
Referências Bibliográficas	63
2. CONCLUSÕES GERAIS	66

## RESUMO

CHIEREGATTO, Luiz Carlos, M.S., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2005. **Efeito do tratamento crônico com extratos de *Heteropterys aphrodisiaca* O. Mach. e *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. no testículo de ratos Wistar adultos.** Orientador: Tarcízio Antônio R. de Paula. Conselheiros: Sérgio Luís Pinto da Matta e Cláudio César Fonseca.

A medicina tradicional oferece forte indicativo para experimentações científicas envolvendo produtos vegetais que vêm, há muito tempo, sendo utilizados pela população. Entre as diversas plantas utilizadas, aquelas consideradas afrodisíacas ocupam um lugar de destaque na medicina popular. As indicações mais enfáticas no Estado de Mato Grosso apontam para as espécies *Heteropterys aphrodisiaca* (nó-de-cachorro) e *Anemopaegma arvense* (vergateza), como os mais potentes afrodisíacos do Cerrado. Neste trabalho, foram avaliadas as ações dos extratos brutos das raízes de nó-de-cachorro e vergateza sobre a biometria corporal, glândula vesicular, túbulo seminífero, células de Leydig e demais componentes do tecido intertubular de ratos Wistar adultos, tratados cronicamente. Foram utilizados 62 ratos machos Wistar em idade reprodutiva, divididos em 5 grupos. Os animais do grupo-controle foram submetidos à gavagem diária, durante 56 dias, recebendo 0,5 mL de solução salina. Os animais dos demais quatro grupos receberam 0,5 mL de extratos obtidos das duas espécies em duas concentrações distintas. Os extratos de *H. aphrodisiaca*, em ambas as concentrações testadas, promoveram aumentos significativos no peso corporal, na espessura do epitélio seminífero, no diâmetro do

túbulo seminífero, na proporção volumétrica do núcleo e citoplasma de célula de Leydig, nos volumes do núcleo e citoplasma das células de Leydig e no volume individual e total de células de Leydig. O tratamento com a maior concentração de *H. aphrodisiaca* promoveu ainda aumentos no peso do testículo e parênquima testicular. Já dos animais tratados com extrato de *A. arvense*, apenas os submetidos a maior concentração, mostraram resultados significativos para o aumento do peso corporal. Os extratos de *A. arvense* nas duas concentrações testadas também causaram aumentos significativos na espessura do epitélio seminífero no diâmetro do túbulo seminífero na proporção volumétrica do citoplasma de células de Leydig e no volume individual dessas mesmas células.

## ABSTRACT

CHIEREGATTO, Luiz Carlos, M.S., Universidade Federal de Viçosa, February, 2005. **Effects of the cronical treatment with extracts from *Heteropterys aphrodisiaca* O. Mach. and *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. in the testicle of adult rats Wistar.** Adviser: Tarcízio Antônio R. de Paula. Committee members: Sérgio Luís Pinto da Matta and Cláudio César Fonseca.

The traditional medicine offers large indications for scientific experimentations involving vegetal products that have been used by the population for a long time. Among the several plants, those considered aphrodisiac have an outstanding role in the popular medicine. The most emphatic indications in the State of Mato Grosso refer to the species *Heteropterys aphrodisiaca* (nó-de-cachorro) and *Anemopaegma avense* (vergateza) as the most powerful aphrodisiac in the Cerrado. In this work, the actions of the rough extracts of nó-de-cachorro roots and vergateza were evaluated on the corporal biometry, vesicular gland, seminiferous tubule cells of Leydig and other components of the intertubular tissues of adult rats Wistar in reproductive age chronically treated. 62 male rates Wistar in reproductive age were divided into 5 groups. The animals of the control group were exposed to daily gavage for 56 days, receiving 0.5 ml of salt solution. The animals of the other groups received 0.5 ml of extracts obtained from the two species in two different concentrations. The extracts of *H. aphrodisiaca*, in both concentrations tested increased significantly the corporal weight, the thickness of the seminiferous epithelium, the diameter of the seminiferous tubule, the volume ratio of the nucleus

and cytoplasm of the cells of Leydig and the individual and total volume of the cells of Leydig. The treatment with the larger concentration of *H. aphrodisiaca* also caused increases in the weight of the testicular parenchyma. The animals treated with extracts from *A. arvensis*, showed significant results on the corporal weight only when receiving higher concentrations. The extracts of *A. arvensis* also showed expressive increases in the thickness of the seminiferous epithelium, in the diameter of the seminiferous tubule, in the volume ratio of the cytoplasm of the cells of Leydig and in the individual volume of those same cells.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O presente estudo fundamenta-se em uma promissora área de pesquisa, abordando aspectos da reprodução animal, especialmente eventos que ocorrem na espermatogênese sob influência de extratos vegetais obtidos das espécies *Heteropterys aphrodisiaca* e *Anemopaegma arvense*, nativas do cerrado, indicadas pela medicina popular como importantes tônicos naturais, amplamente comercializadas com finalidade afrodisíaca no Estado de Mato Grosso, sendo administrados a ratos machos mantidos em laboratório sob condições controladas. Esta experimentação pautou-se em condições inovadoras, sobretudo ligadas a produtos fitoterápicos e conhecimentos preconizados pela medicina popular, através do uso de plantas com utilidades terapêuticas. Entende-se por fitoterápicos, medicamentos compostos de substâncias exclusivamente vegetais, sem ocorrência de misturas com produtos sintéticos ou de outra natureza (Marques, 1997).

No Brasil, poucos estudos têm abordado aspectos da fitoterapia com aplicações práticas provenientes de experimentação científica, não sendo observado na literatura qualquer registro proveniente de testes monitorados associado à reprodução, em que os animais fossem mantidos em condições experimentais controladas. Portanto, apesar dos muitos produtos extraídos de centenas de espécies vegetais preconizadas pela medicina tradicional e cultura popular, especialmente as que pertencem à flora nativa do nosso país, não existem dados provenientes de estudos conclusivos que sustentem a eficácia dessas substâncias como ativas na reprodução animal.

Atualmente, este tema vem despertando interesse de muitos pesquisadores que buscam, por diversos motivos, informações mais detalhadas para a melhor compreensão da importância dessas espécies. Desse modo, algumas razões podem ser apontadas para justificar este forte interesse científico por produtos naturais de origem vegetal: 1 – aspectos ecológicos para obtenção de conhecimentos mais abrangentes sobre o potencial das espécies, visando propor mecanismos que assegurem sua conservação; 2 – estratégia para manter as tradições populares, sobretudo aspectos da cultura, presentes em muitas comunidades tradicionais, e que têm sido registrados em diversos estudos etnobotânicos; e 3 – interesse econômico, incentivado diretamente pela indústria farmacêutica, que tem buscado insistentemente novas fontes de fármacos para obtenção de matéria-prima, empregadas na produção de medicamentos.

Entre os diversos usos conhecidos das plantas medicinais, os afrodisíacos ocupam lugar de destaque na medicina popular, sendo objeto de grande interesse da comunidade científica que se ocupa, ainda que timidamente, da desmistificação ou validação da sua aplicabilidade. No Brasil, apesar da grande quantidade de plantas utilizadas na medicina popular, como afrodisíacas, quase nada se sabe sobre suas reais potencialidades.

Nas regiões do Cerrado e do Pantanal mato-grossense, várias espécies são indicadas na medicina popular como afrodisíacas. Dentre estas, a *Heteropterys aphrodisiaca* (nó-de-cachorro) e a *Anemopaegma arvense* (vergateza) são as mais utilizadas. A *H. aphrodisiaca* sob o ponto de vista etnobotânico, é um dos mais famosos afrodisíacos do centro oeste brasileiro, sendo largamente utilizada e conhecida popularmente com os nomes de nó-de-cachorro, raiz-de-Santo-Antônio e cordão-de-São-Francisco (Pott & Pott, 1994; Guarim Neto, 1996). De acordo com estes autores, é uma planta arbustiva com cerca de 0,6 a 2,0 m de altura, possuindo raízes com partes engrossadas e nós.

A *A. arvense* é uma espécie arbustiva da família Bignoniaceae, da qual se utilizam extratos da casca, folha e raiz com fins medicinais nas regiões de Cerrado, é conhecida popularmente com os nomes de alecrim-do-campo, catuaba verdadeira, catuabinha, catuíba, catuaba-pau, caramuru, tatuaba, piratançara, marapuama do cerrado, verga-teso, vergateza e pau-de-resposta. As raízes da *A. arvense* são preconizadas na medicina popular para preparações afrodisíacas indicadas contra impotência sexual, como energético e estimulante do



sistema nervoso, sendo utilizadas também contra insônia e falta de memória (Lorenzi & Matos, 2002).

Tradicionalmente, a ingestão do extrato de raízes destas plantas faz parte do hábito do homem pantaneiro. Apesar da fama e da comercialização indiscriminada de produtos contendo compostos dessas espécies, não há registros de experimentação científica sobre o potencial afrodisíaco atribuído a estas plantas.

Segundo Sandroni (2001), os afrodisíacos podem ser classificados, pelo seu modo de ação, em três tipos: 1 – substâncias que aumentam a libido; 2 – a potência; e 3 – o prazer sexual. Estas substâncias podem ser de origem animal ou vegetal, e têm sido utilizadas na medicina popular, nas mais diferentes culturas, sendo que algumas delas têm sido identificadas farmacologicamente, o que favorece a compreensão de seu mecanismo de ação. A busca constante da resolução das disfunções sexuais, especialmente as masculinas, tem levado também à pesquisa e desenvolvimento de drogas alopáticas, que são colocadas no mercado a preços muitas vezes inacessíveis para grande parte da população. Dentre essas drogas podem ser citadas o Pasuma (Kunzfeld, 1966), o Afrodex (Miller, 1968; Sobotka, 1969), o Potensan Forte (Cooper et al., 1973), o Afrodor 2000 (Baumbusch et al., 1995), o Ardorare ou Eresom (Eskeland et al., 1997), o Viagra (Kloner, 1998), o Uprima (Wagner, 2001; Hafez & Hafez, 2004), o Levitra (Stark et al., 2001; Scheen, 2003; Gaines, 2004) e o Cialis (Gaines, 2004; Brigante, et al., 2004).

O uso indiscriminado de substâncias, fitoterápicas ou alopáticas, com finalidades afrodisíacas é extremamente temerário, visto a falta de informações conclusivas de seus mecanismos de ação e, principalmente, seus efeitos sobre o processo espermatogênico. Segundo Aitken (1999), existe não somente uma forte indicação de declínio da contagem de espermatozóides, mas também uma grande evidência da diminuição da competência funcional da produção espermática humana, provavelmente relacionada às mudanças comportamentais, de vestuário e de substâncias ingeridas. O mesmo autor relata ainda que alterações morfológicas e funcionais nos espermatozóides humanos podem chegar a 85% do ejaculado, estando diretamente relacionadas com a mais alta perda gestacional e má-formação embrionária observadas entre os vertebrados vivíparos. Assim, a ação direta sobre o processo espermatogênico, de diferentes substâncias utilizadas atualmente que vão de aditivos alimentares a medicamentos, necessariamente deveriam ser avaliadas quanto ao seu efeito no processo espermatogênico antes da liberação ao consumo indiscriminado.

Em termos funcionais, o testículo de mamíferos pode ser dividido em dois compartimentos básicos: o tubular ou espermatogênico, e o intertubular ou androgênico. A proporção entre estes compartimentos é bastante variável, sendo um dos principais fatores responsáveis pela diferença observada para a eficiência na produção espermática nas diversas espécies (Russell et al., 1990; França & Russell, 1998). O túbulo seminífero é o componente gametogênico testicular e em seu epitélio, ocorre uma intrincada série de eventos que culminam na produção espermática, sob a regência da célula de Sertoli. Sendo o principal componente do parênquima testicular, o túbulo seminífero pode ocupar, em algumas espécies domésticas, cerca de 90% deste (França & Russell, 1998).

A porção endócrina do testículo de mamíferos é representada pelas células de Leydig as quais juntamente com células conjuntivas, leucócitos, vasos sanguíneos e linfáticos, formam o espaço intertubular ou tecido intertubular. Segundo Sharpe (1994), o arranjo e a proporção destes componentes variam nas diferentes espécies de mamíferos e constituem mecanismos que mantêm o nível de testosterona, principal produto da célula de Leydig, que é duas a três vezes maior no fluido intersticial que nos vasos sanguíneos testiculares, e de 40 a 250 vezes maior nestes que no sangue periférico.

Dentre os andrógenos sintetizados pelas células de Leydig incluem-se, além da testosterona, a diidrotestosterona. Ambos responsáveis pela diferenciação do trato genital masculino e da genitália externa na fase fetal (Pelleniemi et al., 1996), pelo aparecimento dos caracteres sexuais secundários, pela manutenção quantitativa da espermatogênese a partir da puberdade, e pelo comportamento sexual (Sharpe, 1994; Zirkin et al., 1994). O mecanismo de ação da testosterona sobre o processo espermatogênico e sobre o comportamento sexual não está totalmente esclarecido, porém, seus efeitos estimulatórios sobre a espermatogênese são evidentemente indiretos visto sua ligação exclusiva com células testiculares somáticas (Weinbauer & Wessels, 1999).

Os efeitos sobre o comportamento e desempenho sexual humano, supostamente relacionado a diferentes substâncias afrodisíacas, podem não refletir necessariamente sua real atuação, mas sim, uma manifestação do efeito placebo. Entretanto, estudos morfofisiológicos sobre o compartimento androgênico testicular, em animais de laboratório, plausivelmente levam a melhor compreensão de seus reais mecanismos de ação.

## *1.1. Antecedentes*

### *1.1.1. Fitoterapia*

A flora medicinal constitui um arsenal terapêutico de grande importância. Há vários séculos, as plantas vêm sendo consideradas fontes medicamentosas, empregadas tanto em preparações tradicionais (chás, sucos, xaropes, cataplasmas, tinturas, unguentos) quanto na forma de princípios ativos puros (Pitman, 1996).

As plantas medicinais sempre constituíram uma forma imediata e viável de medicamentos para diversas enfermidades com poucos recursos terapêuticos, sendo uma fonte importante de produtos naturais biologicamente ativos, muitos dos quais se constituem em modelos para a síntese de grande número de fármacos. De uso quase exclusivo na terapêutica medicamentosa até a década de 1950, os remédios vegetais foram paulatinamente substituídos nas farmácias por medicamentos contendo as substâncias ativas deles extraídas ou seus derivados sintéticos. A razão mais importante para essa mudança foi o difícil controle de qualidade dos extratos vegetais utilizados. Em consequência, poucas plantas medicinais foram estudadas segundo protocolos mais modernos. A maioria das informações disponíveis remonta à década de 1950, obsoletas, portanto, frente ao estado atual do conhecimento científico (Lapa et al., 1999).

Corrêa et al. (2000) reportam que a Medicina enquanto ciência surgiu há muitos anos, e que o século XVII em particular, foi aquele que abriu as portas para o conhecimento científico da medicina. Embora a arte da cura tenha sido refinada, as plantas continuaram a ocupar posição de destaque, o que permaneceu como paradigma até o século XX, sendo que até 1930 cerca de 90% dos medicamentos oficiais eram de origem vegetal. Segundo os mesmos autores, o advento da Revolução Industrial proporcionou a produção em larga escala de vários tipos de produtos, incluindo os medicamentos. Na nascente indústria farmacêutica, era grande o interesse pelas plantas medicinais, estudando-se sua composição e os efeitos farmacológicos de seus distintos constituintes. Partiu-se assim, para a síntese dos princípios ativos, empregando-os então de forma ampla na terapêutica de diversas entidades nosológicas. Dessa vertente, temos o ácido acetil-salicílico (AAS), atropina, digitálicos, efedrina, mentol, alguns opiáceos, pilocarpina, quinino, reserpina, teofilina, vimblastina, vincristina, entre outros, fármacos obtidos a partir de plantas.

Pesquisadores da área de produtos naturais mostram-se impressionados pelo fato desses produtos encontrados na natureza revelarem uma enorme diversidade em termos de estrutura e de propriedades físico-químicas e biológicas (Wall & Wani, 1996).

Desde 1977, a Organização Mundial de Saúde (OMS) tem encorajado o estudo de plantas conhecidas tradicionalmente, com a esperança de obter os benefícios terapêuticos de forma segura. Estima-se que existam aproximadamente 500 mil espécies de plantas no mundo, das quais o Brasil possui cerca de 120 mil, sendo o país com a maior cobertura vegetal em todo o globo (Almassy Jr., 2000).

Atualmente observa-se um interesse científico crescente na utilização de plantas da medicina popular. Em 1978 (dados da OMS), cerca de 80% da população mundial fez uso de algum tipo de erva buscando alívio para sintomas dolorosos ou desagradáveis (Martins et al., 1995). A aceitação e a confiança populares nos produtos naturais, associado ao alto custo dos remédios alopáticos e à grande dificuldade da população de baixa renda em se obter assistência médica e farmacêutica de qualidade, estão impulsionando o processo de utilização de plantas medicinais indiscriminadamente. Segundo Lapa et al. (1999), é notório que no Brasil, bem como em outros países em desenvolvimento, as plantas medicinais e os fitoterápicos delas obtidos sejam muito utilizados no tratamento de doenças. No entanto, poucos desses produtos foram estudados de acordo com protocolos científicos modernos, incluindo o monitoramento biológico em roedores e primatas. A maioria não pode, portanto, ser aceita como medicamento ético de prescrição livre porque, em geral, são produtos sem eficácia testada, sem estudos da eventual toxicidade e sem controle de qualidade apropriado, tornando-se importantes e necessários estudos criteriosos que avaliem os efeitos terapêuticos dessas plantas.

Apesar do uso consagrado e crescente de plantas medicinais por uma parcela significativa da população (Trentini, 1997), há consenso que, apesar das estimadas 55 mil espécies medicinais da flora brasileira, uma das mais ricas do mundo, os estudos científicos que abordam esse tema são ainda incipientes e insuficientes em nosso país (Ferreira, 1998). O uso de produtos naturais na síntese de substâncias bioativas é uma estratégia que tem sido amplamente empregada para a produção de fármacos (Simões et al., 2000), podendo tornar os tratamentos medicinais muito mais baratos e acessíveis (Fett, 2000).

A fitoterapia tende a se apresentar como uma forma bastante vantajosa de tratamento e que 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 alopáticos. O resgate do uso de fitoterápicos pode e deve estar aliado aos avanços das pesquisas científicas. Porém, necessita-se de estímulo e incremento por parte de programas de fomentos específicos para estudos desta natureza.

Segundo Farnsworth (1990), um número ainda reduzido de medicamentos extraídos de plantas, são explorados. Considerando-se que há pelo menos 250.000 espécies de plantas superiores na Terra, presume-se que muito mais drogas poderão ser encontradas se as pesquisas forem realizadas de maneira lógica e sistemática, baseadas em informações da medicina popular, etnobotânica e etnomedicina. Segundo Fabricant & Farnsworth (2001), 122 compostos de estrutura definida, obtidos a partir de 94 espécies vegetais, estão sendo utilizados globalmente como drogas. Desses compostos, 80% tiveram uso etnomédico idêntico àquele relacionado ao uso atual do elemento ativo da planta. Akerele (1993) afirma que drogas derivadas de plantas têm lugar de destaque tanto na medicina tradicional quanto na medicina moderna, sendo estas, em alguns casos, o único recurso disponível para a população carente de várias partes do mundo. Desta forma, o conhecimento sobre o uso terapêutico seguro de maior variedade de plantas medicinais toma grande importância, uma vez que mais da metade dos habitantes do planeta vivem em estado de carência (Almassy Jr., 2000).

O conhecimento e o uso de plantas identificadas como medicinais, estão claramente visíveis na população, principalmente nas comunidades tradicionais. Entretanto, este saber a respeito da viabilidade das plantas como fitoterápicos não é suficiente para incorporação dos produtos delas retirados, como medicamento. Entre diversas razões que impedem esta incorporação podem ser citadas:

- a falta de padronização quanto à nomenclatura das plantas. Uma mesma espécie pode receber diferentes nomes populares, assim como diferentes espécies podem receber o mesmo nome comum, dependendo da região inventariada;

- os níveis dos compostos químicos das espécies podem ser diferentes, dependendo essencialmente do tipo de solo onde a planta se encontra, além de alterações que podem ocorrer em função das condições de manuseio nos processos de secagem, armazenamento e preparo;

- os nomes usados para definição de muitas doenças segundo o conhecimento popular, muitas vezes não são equivalentes com a terminologia médica, como é amplamente visto na literatura;

- existe, ainda, uma dificuldade muito grande de se eliminar o efeito placebo. A crença sobre a possibilidade de cura de algumas plantas ou dos extratos delas obtidos pode causar em usuários a falsa sensação de melhora de alguns quadros clínicos, sem a resolução definitiva da patologia. Por outro lado, as doenças psicossomáticas são comprovadamente influenciadas pelo efeito placebo de substâncias incapazes de agir como medicamentos.

Em países como o Brasil o conhecimento de medicamentos alternativos, como os fitoterápicos, acabam tendo importância social muito grande, e a ampla aceitação desses medicamentos, fundamenta-se na tendência ao uso de produtos naturais como sendo mais saudáveis, ou seja, menos agressivos ao organismo.

Segundo Lapa et al. (1999), a idéia primordial na indicação do uso de fitoterápicos na medicina humana não deverá ser a substituição de medicamentos registrados e já comercializados, mas sim aumentar a opção terapêutica dos profissionais de saúde, ofertando medicamentos equivalentes, também registrados, talvez mais baratos e com espectros de ação mais adequados. Objetivos secundários, mas não menos importantes, seriam a valorização das tradições populares e o fornecimento de substratos autóctones para o desenvolvimento da indústria farmacêutica local.

Não obstante a falta de comprovações fundamentadas da ação de determinados fitoterápicos, sua aplicação terapêutica deve ser considerada sem menosprezar, porém os possíveis efeitos indesejáveis da utilização destes produtos, simplesmente por serem “naturais”. Muitas plantas possuem princípios ativos tóxicos e que podem, principalmente, pela ingestão indiscriminada, acarretar dentre vários problemas, alterações sanguíneas, dependência, intoxicação, envenenamento e até a morte (Fisch et al., 1978; Salazar-Schettino, 1983; Linden et al., 1985; Bogart et al., 1986; Forsyth & Moulden, 1991; Polettini et al., 1992; Marcovigi et al., 1995; Karras et al., 1996; Siddiqui et al., 1996; Stambach et al., 1997; Lee et al., 1999; Ruck et al., 1999; El-Thaer et al., 2001).

### 1.1.2. Plantas afrodisíacas

Entre os diversos usos conhecidos das plantas medicinais, sua utilização como afrodisíaco ocupa um lugar de destaque na medicina popular, sendo ainda objeto de grande interesse da comunidade científica, a qual se ocupa, ainda que timidamente, da desmistificação ou validação da sua aplicabilidade. No Brasil, apesar da grande quantidade de plantas utilizadas como afrodisíacas na medicina popular, quase nada se sabe sobre suas reais potencialidades.

Nas regiões do Cerrado e do Pantanal mato-grossense, várias espécies são indicadas como afrodisíacas na medicina popular. Dentre elas, a *Heteropterys aphrodisiaca* (nó-de-cachorro) e a *Anemopaegma arvense* (vergateza) são as mais utilizadas. Tradicionalmente a ingestão do extrato de raízes destas plantas faz parte do hábito do homem pantaneiro, sendo conhecidas popularmente como “um produto energético e estimulante do sistema nervoso”. Apesar da fama e da comercialização indiscriminada de produtos contendo essências dessas espécies, não há registros de experimentação científica sobre o potencial afrodisíaco destas plantas. Em Cuiabá-MT, assim como em outras cidades brasileiras, existem muitas casas de comercialização de produtos naturais, sendo comum encontrar nestes locais pelo menos uma seção específica à comercialização de plantas ou princípios delas extraídos relacionadas à ação afrodisíaca. Normalmente, o conhecimento relatado sobre a eficácia, modo de preparo e dosagem, vem de comunidades tradicionais que, ao longo dos anos, fazem uso dessas espécies e as indicam como forma de melhorar, especialmente no sexo masculino, o desempenho e qualidade da atividade sexual.

A medicina tradicional oferece forte indicativo para experimentações científicas envolvendo essências ou extratos vegetais que vêm, há muito tempo, sendo consumidos pela população. As indicações populares mais enfáticas apontam para as espécies *Heteropterys aphrodisiaca* (nó-de-cachorro) e *Anemopaegma arvense* (vergateza), como os mais “potentes” afrodisíacos encontrados nas regiões de Cerrado.

Segundo Sandroni (2001), os afrodisíacos podem ser classificados pelo seu modo de ação em três tipos: substâncias que aumentam a libido (1), a potência (2) e o prazer sexual (3). Estas substâncias podem ser de origem animal ou vegetal, e têm sido utilizadas na medicina popular nas mais diferentes culturas, tendo sido algumas delas identificadas farmacologicamente, o que favorece a compreensão de seu

mecanismo de ação. Segundo este autor, os árabes utilizam a ambreína, uma substância extraída da espécie vegetal *Ambra grisea*, para aumentar a libido, sendo esta droga responsabilizada pelo aumento da concentração de vários hormônios hipofisários e da testosterona sérica. Já na Índia, existem relatos da ingestão de secreções cutâneas do sapo *Bufo* sp em busca dos efeitos afrodisíacos da bufotenina, mesmo com o risco da ingestão de outros bufodienolídeos considerados alucinógenos (Sandroni, 2001). O aumento da performance física, incluindo a sexual, vem sendo atribuído ao *Panax ginseng* (ginseng) por pesquisadores chineses (Chen & Lee, 1995; Chen, 1996; Gillis, 1997; Kim et al., 1998, Nocerino et al., 2000). O ginseng atua como antioxidante pelo aumento na síntese de óxido nítrico no endotélio de muitos órgãos, incluindo os corpos cavernosos (Sandroni, 2001). Ainda, Sandroni (2001) descreve que a cantaridina, derivada do coleóptero cantarida, vem sendo utilizada há milênios na Ásia como estimulante sexual, atuando como inibidor da atividade da fosfodiesterase e fosfatase e estimulando  $\alpha$ -receptores, induzindo a congestão vascular. Porém, quadros de morbidade são comuns devido à sua utilização abusiva. A ingestão de besouros vivos (*Palembus dermestoides*) no sudeste da Ásia pode ter uma relação com a cantaridina, assim como a ingestão de triatomíneos no México, onde têm sido relatados casos de doença de Chagas, relacionados à contaminação por tripanosomas presentes nos triatomíneos (Salazar-Schettino, 1983).

Os efeitos da espécie vegetal *Eurycoma longifolia* têm sido avaliados na Malásia (Ang & Sim, 1997; 1998a; 1998b; Ang et al., 2000; Ang & Cheang, 2001; Ang & Ngai, 2001; Ang et al., 2001) com resultados positivos na estimulação sexual, atuando como afrodisíaco. Na Jordânia, El-Thaer et al. (2001) testaram em ratos, com efeito positivo, a função erétil do óleo de sementes de *Ferula harmonis*. No Sri Lanka, Ratnasooriya & Dharmasiri (2002) analisaram o potencial afrodisíaco das sementes de *Terminalia catappa* (sete-copas) no comportamento sexual e fertilidade de ratos, concluindo que, além do efeito esperado, o extrato pode ser usado também em outras formas de disfunção sexual, como a ejaculação precoce.

A busca constante da resolução das disfunções sexuais, especialmente as masculinas, tem levado também à pesquisa e desenvolvimento de drogas alopáticas, que são colocadas no mercado a preços muitas vezes inacessíveis para grande parte da população. Dentre os produtos já lançados no mercado são citados o Pasuma (Kunzfeld, 1966), o Afrodex (Miller, 1968; Sobotka, 1969), o Potensan Forte (Cooper et al., 1973), o Afrodor 2000 (Baumbusch et al., 1995), o Ardorare ou



Eresom (Eskeland et al., 1997) o Viagra (Kloner, 1998), o Uprima (Wagner, 2001; Hafez & Hafez, 2004), o Levitra (Stark et al., 2001; Scheen, 2003; Gaines, 2004) e o Cialis (Gaines, 2004; Brigante, et al 2004). Assim, a fitoterapia mostra-se como fonte viável de estudos de matérias-primas vegetais, para descoberta de produtos com potencial terapêuticos, talvez mais acessíveis à população.

No Brasil, apesar da grande quantidade de plantas utilizadas como afrodisíacas, quase nada se sabe sobre sua ação e toxicologia, inclusive aquelas mais popularmente conhecidas, como a quase mítica catuaba (*Trichilia catigua*), utilizada por um grande número de pessoas e fazendo parte do imaginário popular. Apesar de todo o enfoque popular sobre a suposta ação afrodisíaca da catuaba, nenhuma evidência científica tem sido reportada neste sentido, bem como seus possíveis efeitos deletérios. Apesar disto, diversos produtos contendo catuaba são atualmente comercializados.

Há várias espécies conhecidas como catuaba, e todas parecem apresentar as mesmas propriedades listadas em livros sobre plantas medicinais e fitoterapia espalhados pelo Brasil, assim como pelas páginas da Internet que tratam desse assunto. No herbário médico da Europa e dos Estados Unidos, são atribuídas à catuaba “propriedades afrodisíacas, estimulante do sistema nervoso central, ação contra impotência, insônia relacionada com hipertensão e agitação, bem como para estimulante da memória” (Schwontkowski, 1993; Van Straten, 1994).

Segundo Van Straten (1994), a catuaba é benéfica tanto para o homem quanto para a mulher como agente afrodisíaco, mas tem mostrado melhores resultados para o sexo masculino, não havendo ainda evidências de efeitos colaterais mesmo após uso prolongado. Dentre os constituintes encontrados na catuaba, estão incluídos substâncias amargas, alcalóides, taninos, óleos aromáticos, resinas gordurosas, fitoesteróis e ioimbina (Altman, 1958; Maia, 1978).

### *1.1.3. Heteropterys aphrodisiaca (nó-de-cachorro)*

Esta espécie pertence à família botânica Malpighiaceae segundo classificação de Othon Machado em 1949 (Fig. 1), sendo chamada de *Heteropterys aphrodisiaca* (Correa, 1984). Entretanto, relatos de suas propriedades afrodisíacas, já haviam sido realizados por Hoehne (1920).

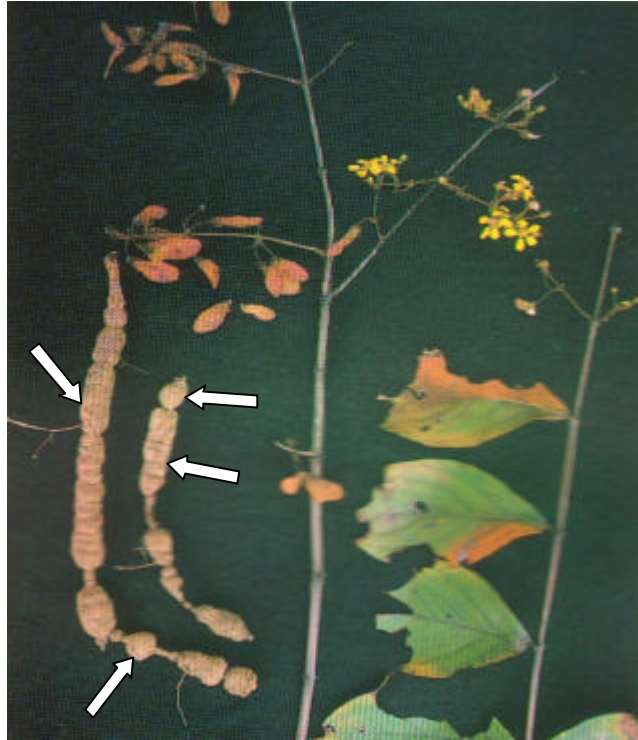


Fig. 1. Estrutura reprodutiva de *Heteropterys aphrodisiaca* – nó-de-cachorro: raízes com partes engrossadas e nós (setas), o que caracteriza o nome popular (Pott & Pott, 1994).

A distribuição desta espécie ocorre em regiões de Cerrado dos Estados de Mato Grosso, Goiás e norte de Minas Gerais. Geralmente, a população usa as raízes como tônico ou estimulante, bem como para o tratamento de debilidades do sistema nervoso (Correa, 1984; Pott & Pott, 1994; Guarim Neto, 1996).

Do ponto de vista etnobotânico a *H. aphrodisiaca*, é um dos mais famosos afrodisíacos do centro-oeste brasileiro. É largamente utilizada, sendo conhecida popularmente com os nomes de nó-de-cachorro, raiz-de-Santo-Antônio e cordão-de-São-Francisco (Pott & Pott, 1994; Guarim Neto, 1996). Segundo estes autores, é uma planta arbustiva com cerca de 0,6 a 2,0m de altura, possuindo raízes com partes engrossadas e nós.

Rizzini (1983) descreve que a raiz de *H. aphrodisiaca* possui propriedades estimulantes e faz parte de um grande elenco de espécies da flora brasileira com elementos psicoativos. A espécie *Paullinia cupana* (guaraná Mart.- Sapindaceae), tem sido amplamente usada como planta energética e tônica em muitas regiões do Brasil, como nos Estados do Amazonas, Acre, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, e tem despertado interesse de diversos pesquisadores (Galduróz & Carlini 1994; Espinola et al., 1997; Mattei et al., 1998).

Guarim Neto (1996) em seus estudos etnobotânicos realizados em 25 cidades do Estado de Mato Grosso, relata que o chá preparado com as raízes de *H. aphrodisiaca* é empregado como depurativo do sangue, dentre outras indicações. Entretanto, o emprego mais difundido é sob a forma de garrafadas, tidas como afrodisíacas. O mesmo autor relata que estudos clínicos e farmacológicos das plantas utilizadas pela medicina popular são imprescindíveis, pois complementarão as informações divulgadas em muitos estudos etnobotânicos, realizados a partir deste conhecimento.

Estudos com *H. aphrodisiaca* encontraram resultados interessantes, envolvendo propriedades que mostraram benefícios no campo da memória, em experimento com grupos de ratos idosos, conforme evidenciado por Galvão et al. (2002). Entretanto, a sua eficácia como tônico sexual, estimulador da libido ou qualquer alteração positiva ou negativa no processo reprodutivo, ainda não foi avaliada a partir de protocolos aceitáveis pela comunidade científica e tampouco sistematicamente descrita na literatura.

#### 1.1.4. *Anemopaegma arvense* (vergateza)

É uma espécie arbustiva da família Bignoniaceae da qual se utilizam extratos da casca, da folha e da raiz com fins medicinais, em todas as regiões de Cerrado (Fig. 2). *A. arvense* é conhecida popularmente com os nomes de alecrim do campo, catuaba verdadeira, catuabinha, catuiba, catuaba-pau, caramuru, tatuaba, piratançara, marapuama do cerrado, verga-teso, vergateza e pau-de-resposta. Seus constituintes são a catuabina (substância amarga), aromáticos, resinas, taninos e alcalóides similares à atropina (Lorenzi & Matos, 2002). O uso da espécie é sob a forma de chá, sendo o mesmo utilizado para a catuaba arbórea (*Trichilia catigua*) (Coimbra, 1942; Conceição, 1982; Almeida, 1993).

As raízes da *Anemopaegma arvense* são preconizadas na medicina popular para preparações afrodisíacas, indicadas contra impotência sexual, como tônico poderoso, como energético e estimulante do sistema nervoso, sendo utilizadas também contra insônia e falta de memória (Lorenzi & Matos, 2002). O amplo emprego desta planta nas práticas caseiras da medicina popular e no hábito do povo, são motivos suficientes para sua escolha como tema de estudos químicos, farmacológicos e clínicos, visando uma investigação detalhada das indicações citadas (Lorenzi & Matos, 2002) e, principalmente, de seus efeitos deletérios.



Fig. 2 – Estrutura geral de *Anemopaegma arvense* mostrando ramos em estágio reprodutivo (Lorenzi & Matos, 2002).

#### 1.1.5. Testículo

O testículo é um órgão com funções exócrina e endócrina, geralmente localizado no escroto, e envolvido por espessa cápsula de tecido conjuntivo, a albugínea testicular. Esta túnica, de maneira variada, nas diferentes espécies de mamíferos, emite septos para o interior do órgão até a região do mediastino testicular, dividindo o testículo em lóbulos.

Funcionalmente, o testículo dos mamíferos pode ser dividido em dois compartimentos principais: o compartimento intertubular ou intersticial, também chamado de espaço intertubular, e o tubular, formado por túbulos seminíferos (Russell et al., 1990). Com exceção das células germinativas que se originam do epiblasto, a grande maioria das células somáticas constituintes dos testículos é procedente dos ductos mesonéfricos e do epitélio celomático (Karl & Capel, 1998; Merchant-Larios & Moreno-Mendoza, 1998). Os componentes do compartimento intertubular são as células de Leydig, vasos sanguíneos e linfáticos, nervos, e uma população celular variável constituída principalmente de fibroblastos, macrófagos e mastócitos (Russell et al., 1990; Setchell, 1991). Apesar de existir grande variação entre as diversas espécies quanto à proporção volumétrica dos diferentes

componentes do compartimento intertubular (Fawcett et al., 1973; França & Russell, 1998; Godinho, 1999), a célula de Leydig é o tipo celular mais freqüente neste compartimento. Assim, por exemplo, o percentual ocupado por elas nos testículos de animais sexualmente maduros no período reprodutivo pode variar de aproximadamente 1% em carneiros até cerca de 35% em capivaras (França & Russell, 1998; Paula, 2002). O compartimento dos túbulos seminíferos constitui a maior parte do testículo, ocupando de 70% a 90% do parênquima testicular na maioria dos mamíferos até agora estudados (França & Russell, 1998; Godinho, 1999). Estes túbulos formam alças bastante contorcidas, as quais possuem suas duas extremidades conectadas à rede testicular, que se encontram localizadas 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 constituídos por túnica própria, epitélio seminífero e lume tubular. A túnica própria reveste o túbulo externamente, sendo composta de células mióides ou peritubulares, e membrana basal. No epitélio seminífero são encontrados dois tipos celulares de origem embriológica distintas: as células germinativas originárias do epiblasto e as células de Sertoli provenientes do epitélio celomático (Karl & Capel, 1998). Juntamente com as células mióides, as células de Sertoli elaboram a membrana basal que serve de suporte estrutural para a própria célula de Sertoli 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 compartimentos: o basal, onde se localizam as espermatogônias e os espermátocitos primários na fase inicial da prófase meiótica (pré-leptótenos e leptótenos), e o adluminal, no qual se encontram os espermátocitos primários a partir da fase de zigóteno, os espermátocitos secundários e as espermátides. Desta forma, o compartimento adluminal está totalmente sob controle das células de Sertoli, propiciando um micro-ambiente isolado e imunoprivilegiado, essencial para o desenvolvimento do processo espermatogênico (Russell et al., 1990; Setchell, 1991; Poccia, 1994; Sharpe, 1994). No lume tubular encontram-se os espermatozóides recém-espermiados e o fluido secretado pelas células de Sertoli.

Existe grande variação no número e nas dimensões (diâmetro e comprimento) dos túbulos seminíferos nas diferentes espécies de mamíferos (França & Russell, 1998). O camundongo, por exemplo, possui aproximadamente 20 túbulos

seminíferos por testículo perfazendo, no total, cerca de dois metros de comprimento tubular por testículo (Bascom & Ostrud, 1925). Já no suíno doméstico, existem de várias centenas a alguns poucos milhares de túbulos seminíferos por testículo e aproximadamente 3000 metros de túbulos no total (França & Russell, 1998). De maneira geral, o valor observado para o diâmetro tubular na grande maioria das espécies de mamíferos está em torno de 180 a 300  $\mu\text{m}$  (Roosen-Runge, 1977).

#### *1.1.6. Espermatogênese*

A espermatogênese é um processo altamente complexo e bem organizado, que ocorre nos túbulos seminíferos e dura cerca de 40 a 60 dias na maioria dos mamíferos (França & Russell, 1998; França et al., 1998; Godinho, 1999). Baseado em características morfológicas e funcionais, o processo espermatogênico pode ser dividido em três fases: a) fase proliferativa ou espermatogonial; caracterizada por várias e sucessivas divisões mitóticas dos diferentes tipos de espermatogônias; b) fase meiótica ou espermatocitogênica, na qual ocorre a duplicação do DNA, a recombinação gênica e duas divisões reducionais que resultam na formação de uma célula haplóide denominada espermátide; e c) fase de diferenciação ou espermiogênica, onde as espermátides arredondadas passam por drásticas alterações morfológicas e funcionais, tais como a formação do acrossoma e do flagelo, e a condensação nuclear, resultando numa célula altamente especializada, o espermatozóide (Russell et al., 1990; Sharpe, 1994).

Nos túbulos seminíferos, as células germinativas não estão organizadas ao acaso e sim em associações celulares distintas, denominadas estádios, que se sucedem com o tempo, de maneira bastante ordenada, formando o ciclo do epitélio seminífero. Os estádios do ciclo podem ser classificados pelo método da morfologia tubular (Berndtson, 1977; França & Russell, 1998) e pelo método do sistema acrossômico (Leblond & Clermont, 1952; Russell et al., 1990). No primeiro caso oito estádios do ciclo são obtidos para todas as espécies, enquanto pelo sistema acrossômico o número de estádios classificados é variável para cada espécie. A duração do ciclo do epitélio seminífero é uma constante biológica espécie-específica, e está sob o controle do genótipo da célula germinativa (França et al., 1998). De maneira geral, em torno de 4,5 ciclos são necessários para que o processo espermatogênico se complete em mamíferos, ou seja, desde uma espermatogônia do

tipo A<sub>1</sub> até a liberação dos espermatozóides no lume do túbulo seminífero (Amann & Schanbacher, 1983; França & Russell, 1998).

Durante o processo espermatogênico, as células de Sertoli e as células germinativas interagem de maneira bastante complexa, tanto física quanto bioquimicamente. Existem diversas formas de junções intercelulares entre estes dois tipos celulares, incluindo-se os desmossomos, as junções do tipo “gap” as junções à base de actina conhecidas como especializações ectoplasmáticas, e os complexos túbulos-bulbares. Apesar de serem postuladas várias funções para estes componentes juncionais, ainda existem poucas evidências experimentais para apoiar o papel preciso dos mesmos (Russell & Griswold, 1993). No entanto, fica evidente a necessidade da interação das células germinativas com os componentes somáticos do testículo, principalmente células de Sertoli, células de Leydig e células mióides, para que o processo espermatogênico transcorra de maneira normal e eficiente (Skinner, 1991; Daduone & Demoulin, 1993; Jégou, 1993; Spiteri-Grech & Nieschlag, 1993; Pescovitz et al., 1994; Russell et al., 1994; Griswold, 1995; Schlatt et al., 1997; França & Russell, 1998). A integridade funcional da membrana basal elaborada pelas células de Sertoli e células mióides é também essencial para o processo espermatogênico (Dym, 1994).

#### *1.1.7. Células de Leydig*

As células de Leydig são bastante conhecidas por sua marcante produção de andrógenos, os quais são sintetizados a partir de uma molécula-base, o colesterol (Bardin, 1996). A produção de andrógenos ocorre por meio de estímulos do LH (hormônio luteinizante) em receptores localizados na membrana plasmática das células de Leydig. O LH é uma glicoproteína sintetizada e secretada pela adenohipófise, sob a influência do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) proveniente do hipotálamo. O controle “feedback” negativo do LH é exercido pela testosterona tanto na adenohipófise quanto no hipotálamo (Shupnik & Schreihof, 1997; Huhtaniemi & Topari, 1998). Dentre os andrógenos sintetizados pelas células de Leydig incluem-se a testosterona e a diidrotestosterona, os quais são responsáveis pela diferenciação do trato genital masculino e da genitália externa na fase fetal (Pelleniemi et al., 1996) e pelo aparecimento dos caracteres sexuais secundários e a manutenção quantitativa da espermatogênese a partir da puberdade (Sharpe, 1994;

Zirkin et al., 1994). Particularmente, a diidrotestosterona é responsável pela manutenção funcional das glândulas sexuais acessórias e do epidídimo (Luke & Coffey, 1994; Fan & Robaire, 1998; Goyal et al., 1999). Nos testículos, existem receptores para andrógenos nas células de Sertoli, células mióides, células musculares lisas dos vasos e na própria célula de Leydig (Schlatt et al., 1997; Suárez-Quian et al., 1998). Adicionalmente, foi demonstrado que o FSH também participa na manutenção da espermatogênese (Russell et al., 1993; Huhtaniemi & Toppari, 1998; Meachem et al., 1999).

Nos mamíferos, existem dois tipos de células de Leydig: as fetais, que são produtoras de andrógenos responsáveis pela masculinização fetal, e as do tipo adulto, produtoras de testosterona (Kerr & Knell, 1988; Kuopio et al., 1989a, b; Huhtaniemi & Pelliniemi, 1992). O início da diferenciação das células de Leydig fetais e da produção de andrógenos não está sob o controle das gonadotrofinas (Van Vorstenbosch et al., 1982; Lejeune et al., 1998; Majdic et al., 1998; O'Shaughnessy et al., 1998). O desenvolvimento pós-natal das células de Leydig envolve a proliferação celular, diferenciação morfológica e aquisição da capacidade de produção de testosterona. De acordo com Ge et al. (1996) e Rouiller-Fabre et al. (1998), a transição das células de Leydig em proliferação, originadas de células progenitoras, para as células de Leydig do tipo adulto, é regulada hormonalmente. O LH induz primariamente a diferenciação das células de Leydig, mas não está envolvido na proliferação das mesmas. Os andrógenos e o IGF-1 (Fator de Crescimento Semelhante à Insulina), aumentam a sensibilidade das células de Leydig progenitoras ao LH. A proliferação é estimulada por IGF-1 e fatores secretados pelas células de Sertoli e por macrófagos, enquanto o estradiol provavelmente limita o crescimento da população de células de Leydig, por meio da inibição de proliferação das progenitoras de células de Leydig (Ge et al., 1996).

Em contraste com a maioria das espécies de mamíferos investigadas, que exibem um padrão bifásico (fetal e pós-natal) de desenvolvimento das células de Leydig (Gondos et al., 1976), os suínos mostram três fases de desenvolvimento destas células: duas fases transitórias, uma durante a fase inicial (de 30 a 35 dias) do período fetal (Van Straaten & Wensing, 1978) e a outra durante o período perinatal (Dierichs et al., 1973; Van Straten & Wensing, 1978). A última fase ocorre a partir do período pré-puberal, estendendo-se para a idade adulta (Dierichs et al., 1973; Van Straaten & Wensing, 1978; Allrich et al., 1983). Ainda em suínos, está bem



estabelecido que o volume das células de Leydig e o número de receptores de LH por célula de Leydig se alteram substancialmente durante as diferentes fases do desenvolvimento testicular (Dierichs et al., 1973; Van Straaten & Wensing, 1978; Lunstra et al., 1986). No entanto, nenhum estudo completo foi encontrado na literatura, mostrando as alterações que ocorrem no volume das células de Leydig, do nascimento até a idade adulta.

As células mesenquimais são consideradas as principais precursoras das células de Leydig do tipo adulto (Russell et al., 1995; Ge et al., 1996; Lejeune et al., 1998). Outros tipos celulares do testículo tais como as células mióides, células endoteliais dos vasos linfáticos e células perivasculares (pericítos) também podem dar origem às células de Leydig (De Kretser et al., 1994; Gaytan et al., 1994; Russell et al., 1995; Dombrowicz et al., 1996). Apesar de pouco documentado, ocorrem mitoses de células de Leydig em animais adultos (Russell et al., 1995).

Além da produção de andrógenos, várias outras substâncias também são produzidas pelas células de Leydig. Estas substâncias participam no controle autócrino e parácrino das funções das células de Leydig e de Sertoli. As células de Leydig podem influenciar a função das células de Sertoli tanto em animais imaturos quanto em animais adultos especificamente por meio de peptídeos derivados da proopiomelanocorticotrofina (POMC), tais como  $\beta$ -endorfina, hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e hormônio melanotrófico (MSH), (Bardin et al., 1987). A ontogênese aumenta progressivamente a intensidade de imunomarcção da  $\beta$ -endorfina nas células de Leydig de camundongos e hamsters durante a vida fetal, declinando após o nascimento e voltando a aumentar na puberdade. Estes dois picos de produção da  $\beta$ -endorfina nas células de Leydig estão temporalmente associados com a elevação dos níveis de testosterona (Shaha et al., 1984). É importante salientar que este padrão de expressão da  $\beta$ -endorfina coincide com a maturação e o aumento do número de receptores para LH nas células de Leydig durante o desenvolvimento testicular (Chen & Madigan, 1987), com as fases pré e pós-natal de proliferação das células de Sertoli, e com o início da espermatogênese, época em que os níveis de FSH estão elevados (Orth, 1986; Berndtson & Thompson, 1990; Orth & Boehm, 1990; Orth, 1993). Também nesta fase, receptores específicos de alta afinidade para  $\beta$ -endorfina estão presentes nas células de Sertoli (Fabbri et al., 1985; Orth, 1986). Estas e outras evidências relatadas na literatura (Orth & Boehm, 1990; Orth, 1993;

Sharpe, 1994) sugerem fortemente que as células de Leydig têm influência direta na determinação do número definitivo de células de Sertoli, via  $\beta$ -endorfina. Da mesma forma, as células de Sertoli parecem regular de forma parácrina a determinação da população das células de Leydig e a capacidade esteroidogênica das mesmas, por meio da secreção de fatores de crescimento estimulados pelo FSH (Tabone et al., 1984; Waites et al., 1985).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akerele, O., 1993. Nature's medicinal bounty: don't throw it away. *World Health Forum* 14(4), 390-395.
- Allrich, R.D., Christenson, R.K., Ford, J.J., Zimmerman, D.R., 1983. Pubertal development of the boar: age-related changes in testicular morphology and in vitro production of testosterone and estradiol-17 $\beta$ <sup>1,2</sup>. *Biology of Reproduction* 28, 902-909.
- Almassy Jr. A.A., 2000. O Programa Fitoverde e o Grupo Entrefolhas: a fitoterapia nas esferas governamental e não-governamental. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG (Dissertação, Mestrado).
- Almeida, E.R., 1993. Plantas medicinais brasileiras. São Paulo, Hemus. 493 p.
- Altman, R.F.A., 1958. A presença de oimbina na catuaba. Manaus-AM. INPA, Série Química. Publicação 1.
- Amann, R.P., Schanbacher, B.D., 1983. Physiology of male reproduction. *Journal Animal Science* 57 (2), 380-403.
- Ang, H.H., Cheang, H.S., 2001. Effects of *Eurycoma longifolia* Jack on lavatory ani muscle in both uncastrated and testosterone-stimulated castrated intact male rats. *Archives of Pharmacal Research* 24(5), 437-440.
- Ang, H.H., Cheang, H.S., Yusof, A.P., 2000. Effects of *Eurycoma longifolia* Jack (Tongkat Ali) on the initiation of sexual performance of inexperienced castrated male rats. *Experimental Animals* 49(1), 35-38.
- Ang, H.H., Ikeda, S., Gan, E.K., 2001. Evaluation of the potency activity of aphrodisiac in *Eurycoma longifolia* Jack. *Phytotherapy* 15(5), 435-436.

- Ang, H.H., Ngai, T.H., 2001. Aphrodisiac evaluation in non-copulator male rats after chronic administration of *Eurycoma longifolia* Jack. *Fundam. Clinical Pharmacology* 15(4), 265-268.
- Ang, H.H., Sim, M.K., 1998a. *Eurycoma longifolia* increases sexual motivation in sexually naive male rats. *Archives of Pharmacal Research* 21(6), 779-781.
- Ang, H.H., Sim, M.K., 1998b. *Eurycoma longifolia* Jack and orientation activities in sexually experienced male rats. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 21(2), 153-155.
- Ang, H.H., Sim, M.K., 1997. *Eurycoma longifolia* Jack enhances libido in sexually experienced male rats. *Experimental Animals* 46(4), 87-90.
- Bardin, C.W., Chen, C.C., Morris, P.L., Gerendai, I., Boitani, C., Liotta, A.S., Margoris, A., Krieger, D.T., 1987. Proopiomelanocortin-derived peptides in testis, ovary, and tissues of reproduction. *Recent Progress in Hormone Research* 43, 1-28.
- Bardin, C.W., 1996. Androgens: early attempts to evaluate Leydig cell function in man. In: Payne, A.H., Hardy, M.P., Russell, L.D. (Eds.). *The Leydig cell*. Editora Viena, Cache River Press. Cap. 2, 31-42.
- Bascom, K.F., Ostrud, H.L., 1925. Quantitative studies of testicle. II. Pattern and total tubule length in the testicles of certain common mammals. *Anatomical Records* 31, 159-169.
- Baumbusch, F., Papp, G. K., Kpa, Z. S., 1995. Treatment for potency problems with Afrodor 2000. *Acta Chirurgica Hungarica* 35(1-2), 87-92.
- Berndtson, W.E., 1977. Methods for quantifying mammalian spermatogenesis: a review. *Journal of Animal Science* 44, 818-833.
- Berndtson, W.E., Thompson, D.L., 1990. Changing relationships between testis size, Sertoli cell number and spermatogenesis in sprague-dawley rats. *Journal of Andrology* 11, 429-435.
- Bogart, L., Bonsignore, J., Carvalho, A., 1986. Massive hemolysis following inhalation of volatile nitrites. *American Journal Hematology* 22(3), 327-329.
- Briganti, A., Salonia, A., Gallina, A., Suardi, N., Rigatti, P., Montorsi, F., 2004. Emerging oral drugs for erectile dysfunction. *Expert Opinion on Emerging Drugs* 9(1), 179-189.
- Chen, C., Madigan, M.B., 1987. Regulation of testicular proopiomelanocortin gene expression. *Endocrinology* 121, 590-596.
- Chen, X., Lee, T.J., 1995. Ginsenosides-induced nitric oxide-mediated relaxation of the rabbit corpus cavernosum. *British Journal of Pharmacology* 115(1), 15-18.

- Chen, X., 1996. Cardiovascular protection by ginsenosides and their nitric oxide releasing action. *Clinical and Experimental Pharmacology Physiology* 23(8), 728-732.
- Coimbra, R., 1942. *Notas de fitoterapia*. Rio de Janeiro, L.C.S.A., 299 p.
- Conceição, M., 1982. *As Plantas Medicinais no Ano 2000*. São Paulo. Tao, 2ª Ed., 152 p.
- Cooper, A.J., Smith, C.G., Ismail, A.A., Loraine, J.A., 1973. A controlled trial of Potensan Forte (“aphrodisiac” and testosterone combined) in impotence. *Journal of Medicine Science* 142(4), 155-161.
- Corrêa, A.D., Batista, R.S., Quintas, L.E.M., 2000. *Plantas Medicinais. Do cultivo à Terapêutica*. Petrópolis-RJ. 3ª Ed., Ed. Vozes. 247 p.
- Correa, M.P., 1984. *Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas*. Ministério da Agricultura/Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal. Rio de Janeiro. 293 p.
- Daduone, J.P., Demuolin, A., 1993. Structure and functions of the testis. In: Thibault, C.; Lévassieur, M.; Hunter, R.H.F. (Ed.), *Reproduction in mammals and man*. Paris. Ellipses, Cap. 13, p. 227-250.
- De Kretser, M., Kerr, J.B., 1994. The cytology of the testis. In: Knobil, E., Neill, J.D. (Eds.). *The Physiology of Reproduction*. New York: Raven Press, Ed. 2, Cap. 19, 1177-1290.
- Dierichs, R., Wrobel, K.H., Schilling, E., 1973. Licht-und Elektronenmikroskopische Untersuchungen an den Leydigzellen des Schweines während der postnatalen Entwicklung. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anatomy* 143, 207-227.
- Dombrowicz, D., Sente, B., Reiter, E., Closset, J., Hennen, G., 1996. Pituitary control of proliferation and differentiation of Leydig cells and their putative precursors in immature hypophysectomized rat testis. *Journal of Andrology* 17, 639-650.
- Dym, M., 1994. Basement membrane regulation of Sertoli cells. *Endocrine Reviews* 15, 102-115.
- El-Thaer, T.S., Matalka, K.Z., Taha, H.A., Badwan, A.A., 2001. *Ferula harmonis* ‘zallouh’ and enhancing erectile function in rats efficacy and toxicity study. *International Journal of Impotence Research* 13(4), 246-251.
- Eskeland, B., Thom, E., Svendsen, K.O., 1997. Sexual desire in men: effects of oral ingestion of a product derived from fertilized eggs. *Journal International of Medical Research* 25(2), 62-70.
- Espinola, E.B., Dias, R.F., Mattei, R., 1997. Pharmacological activity of guarana in: Laboratory animals. *Journal of Ethnopharmacology* 223-229.

- Fabbri, A., Tsai-Morris, C.H., Luna, S., Fraioli, F., Dufau, M.L., 1985. Opiate receptors are present in rat testis. Identification and localization in Sertoli cells. *Endocrinology* 117, 2544-2546.
- Fabricant, D.S., Farnsworth, N. R., 2001. The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Environmental Health Perspectives* 109, 69-75.
- Fan, X., Robaire, B., 1998. Orchidectomy induces a wave of apoptotic cell death in the epididymis. *Endocrinology* 139, 2128-2136.
- Farnsworth, N.R., 1990. The role of ethnopharmacology in drug development. *Ciba Foundation Symposium* 152, 2-11.
- Fawcett, D.W., Neaves, W.B., Flores, M.N., 1973. Comparative observations on intertubular lymphatics and the organization of the interstitial tissue of the mammalian testis. *Biology of Reproduction* 9, 500-532.
- Ferreira, S.H., 1998. Medicamentos a partir de plantas medicinais no Brasil. Rio de Janeiro, RJ, Academia Brasileira de Ciências. 132 p.
- Fett, C., 2000. Ciência e suplementação alimentar. Rio de Janeiro. Sprint. 390 p.
- Fisch, H.P., Reutter, F.W., Gloor, F., 1978. Lesions of the kidney and the efferent urinary tract due to cantharidine. *Schweizerische Medizinische Wochenschrift* 108(43), 1664-1667.
- Forsyth, R.J., Moulden, A., 1991. Methaemoglobinemia after ingestion of amyl nitrite. *Archives Disease in Childhood* 66(1), p. 152.
- França, L.R., Parreira ,G.G., Gates, R.J., Russell, D.L., 1998. Hormonal regulation of spermatogenesis in the hypophysectomized rat: quantitation of germ-cell population and effect of elimination of residual testosterone after long-term hypophysectomy. *Journal of Andrology* 19, 335-342.
- França. L.R., Russell, L.D., 1998. The testis of domestic mammals. In: *Male reproduction; a multidisciplinary overview*. Churchill Communications Europe España, Editora Madrid. Cap. 16, 198-219.
- Gaines, K.K., 2004. Tadalafil (Cialis) and vardenafil (Levitra) recently approved drugs for erection dysfunction. *Urologic Nursing* 24(1), 46-48.
- Galduróz, J.C.F., Carlini, E.A., 1994. Acute effects of the *Paulinia cupana*, “guaraná” on cognition of normal volunteer. São Paulo. *Journal Medical* 112, 607-611.
- Galvão, S.M.P., Marques, L.C., Oliveira, M.G.M., Carlini, E.A., 2002. *Heteropterys aphrodisiaca* (extract BST0289): a Brazilian plant that improves memory in aged rats. *Journal of Ethnopharmacology* 79, 305-311.

- Gaytan, F., Bellido, C., Aguilar, E., Van Rooijen, N., 1994. Requirement for testicular macrophages in Leydig cell proliferation and differentiation during prepuberal development in rats. *Journal of Reproduction and Fertility* 102, 393-399.
- Ge, R.S., Shan, L.X., Hardy, M.P., 1996. Pubertal development of Leydig cells. In: Payne, A.H., Hardy, M.P., Russell, L.D. (Eds.), *The Leydig cell*. Ed. Viena, Cache River Press. Cap. 6, 159-174.
- Gillis, C.N., 1997. *Panax ginseng* pharmacology: a nitric oxide link? *Biochemical Pharmacology* 54(1), 1-8.
- Godinho, C.L., 1999. Análise histométrica do testículo e duração da espermatogênese em gatos (*Felis catus*), sexualmente maduros. Belo Horizonte: UFMG, ICB, p. 74 (Dissertação, Mestrado).
- Gondos, B., Renston, R.H., Goldstein, D.A., 1976. Postnatal differentiation of Leydig cells in the rabbit testis. *The American Journal of Anatomy* 145, 167-182.
- Goyal, H.O., Williams, C.S., Khalil M.K., Vig, M.M., Maloney, M.A., 1999. Postnatal differentiation of ductus deferents, tail of the epididymis, and distal body of epididymis in goats occurs independently of rete testis fluid. *Anatomical Records* 254, 508-520.
- Griswold, M.D., 1995. Interactions between germ cells and Sertoli cells in the testis. *Biology of Reproduction* 52, 211-216.
- Guarim Neto, G., 1996. *Plantas Medicinais do Estado de Mato Grosso*. Brasília – DF. Associação Brasileira de Educação Agrícola Superior, UFMT. Instituto de Biociências. ABEAS. 72 p.
- Hafez, B., Hafez, E.S., 2004. Andropause: endocrinology, erectile dysfunction and prostate pathophysiology. *Archives of Andrology* 50(2), 45-68.
- Hoehne, F.C., 1920. *O que vendem os Hervanários da cidade de São Paulo*. São Paulo. Casa Duprat. Brasil. 248 p.
- Huhtaniemi, I., Pelliniemi, L.J., 1992. Fetal Leydig cells: cellular origin, morphology, life span, and special functional features. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 201, 125-140.
- Huhtaniemi, I., Toppari, J., 1998. Hormonal regulation of testis In: *Male reproduction; a multidisciplinary overview*. Churchill Communications Europe España, Editora Spain. Cap 7, 67-80.
- Jégou, B., 1993. The Sertoli-germ cell communication network in mammals. *International Review of Cytology* 147, 25-95.
- Karl, J., Capel, B., 1998. Sertoli cells of mouse testis originate from the coelomic epithelium. *Developmental Biology* 203, 323-333.

- Karras, D.J., Farrell, S.E., Harrigan, R.A., Henretig, F.M., Gealt, L., 1996. Poisoning from "Spanish fly" (cantharidin). *American Journal of Emergency Medicine* 14(5), 478-483.
- Kerr, J.B., Knell, C.M., 1988. The fate of fetal Leydig cells during the development of the fetal and postnatal. *Development* 103, 535-544.
- Kim, H.J., Woo, D.S., Lee, G., Kim, J.J., 1998. The relaxation effects of ginseng saponin in rabbit corporal smooth muscle: is it a nitric oxide donor? *British Journal of Urology* 82(5), 744-748.
- Kloner, R.A., 1998. Viagra: what every physician should know. *Ear Nose Throat Journal* 77(9), 783-786.
- Kunzfeld, M., 1966. Trials with "Pasuma" of the Cascan Company, Wiesbaden. Preliminary report. *Zeitschrift Fur Haut-und Geschlechtskrankheiten* 41(4), 156-157.
- Kuopio, T., Tapanainen, J., Pelliniemi, L.J., Huhtaniemi, I., 1989a. Developmental stages of fetal-type Leydig cells in prepubertal rats. *Development* 107, 213-220.
- Kuopio, T., Tapanainen, J., Pelliniemi, L.J., Huhtaniemi, I., 1989b. Rapid Leydig cell proliferation and luteinizing hormone receptor replenishment in the neonatal rat testis after a single injection of human chorionic gonadotrophin. *Biology of Reproduction*. 40, 135-143.
- Lapa, A.J., Souccar, C., Lima-Ladman, M.T.R., Lima, M.T., Godinho, R.O., Lima, T.C.M., 1999. Farmacologia e toxicologia de produtos naturais. In: Farmacognosia. Da planta ao medicamento. 4<sup>a</sup> Ed. Simões, C.M.O., Schenkel, E.P., Gosmann, G., Melo, J.C.P., Mentz, L. A., Petrovick, P.R., Editora da UFSC, 183-198.
- Leblond, C.P., Clermont, Y., 1952. Definition of stages of the cycle of seminiferous epithelium in the rat. *Annals of New York Academy Science* 55, 548-573.
- Lee, S.W., Lee, J.Y., Lee, K.J., Kim, M., Kim, M.J., 1999. A case of methemoglobinemia after ingestion of an aphrodisiac, later proven as dapsone. *Journal Yonsei of Medicine* 40(4), 388-391.
- Lejeune, H., Habert, R., Saez, J.M., 1998. Origin, proliferation and differentiation of Leydig cells. *Journal of Molecular Endocrinology* 20, 1-25.
- Linden, C.H., Vellman, W.P., Rumack, B., 1985. Yohimbine: a new street drug. *Annals of Emergency Medicine* 14(10), 1002-1004.
- Lorenzi H., Matos F.J.A., 2002. Plantas Mediciniais do Brasil – Nativas e Exóticas. São Paulo. Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda. Editora Nova Odessa. 512 p.



- Luke, M.C., Coffey, D.S., 1994. 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. 1, Ed. 2, Cap. 23, 1435-1488.
- Lunstra, D.D., Ford, J.J., Christenson, R.K., Allrich, R.D., 1986. Changes in Leydig cell ultrastructure and function during pubertal development in boar. *Biology of Reproduction* 34, 145-158.
- Maia, J.G., 1978. Estudos Integrados das Plantas da Amazônia. V – Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil. São Paulo. Anais Brasil. Separata 6, 7 p.
- Majdic, G., Saunders, P.T.K., Teerds, K.J., 1998. Immunoexpression of the steroidogenic enzymes 3-Beta Hydroxysteroid dehydrogenase and 17 $\alpha$ -hydroxylase, C17, 20 lease and the receptor for luteinizing hormone (LH) in fetal rat testis suggests that the onset of Leydig cell steroid production is independent of LH action. *Biology of Reproduction* 58. 520-525.
- Marcovigi, P., Leoni, S., Calbi, G., Valtancoli, E., Ravaglia, G., 1995. Acute poisoning caused by cantharidin ingestion for aphrodisiac purposes. A clinical case. *Minerva Anesthesiology* 61(3), 105-107.
- Marques, L.C., 1997. Nova legislação para os fitoterápicos. In: Bonfim, J.R.A., Mercucci, V.L. (Org.), A construção da política de medicamentos. Hucitec. São Paulo, SP, 203-209.
- Martins, E.R., Castro, D.M., Castellani, D.C., 1995. Plantas Mediciniais. Viçosa - MG., UFV, Imprensa Universitária. 220 p.
- Mattei, R., Dias, R.F., Espinola, E.B., Carlini, E.A., Barros, S.B.M., 1998. Guaraná (*Paulinia cupana*); toxic behavioral effects in laboratory animals and antioxidant activity in vitro. *Journal of Ethnopharmacology* 60, 111-116.
- Meachem, S.J., Mclachlan, R.I., Stanton, P.G., Robertson, D.M., Wreford, N.G., 1999. FSH immunoneutralization acutely impairs spermatogonial development in normal adult rats. *Journal of Andrology* 20,756-762.
- Merchant-Larios, H., Moreno-Mendoza, N., 1998. Mesonephric stromal differentiate into Leydig cell in the mouse fetal testis. *Experimental Cell Research* 244, 230-238.
- Miller, W. W. Jr., 1968. Afrodex in the treatment of male impotence: a double-blind cross-over study. *Current Therapeutic Research Clinical Experimental* 10(7), 354-359.
- Nocerino, E.; Amato, M., Izzo, A.A., 2000. The aphrodisiac and adaptogenic properties of ginseng. *Fitoterapia* 71(Suppl.1), 1-5.
- O'Shaughnessy, P.J., Baker, P., Sohnius, U., Haavisto, A.M., Charlton, H.M., Huhtaniemi, I., 1998. Fetal development of Leydig cell activity in the mouse is independent of pituitary gonadotroph function. *Endocrinology* 139, 1141-1146.

- Orth, J.M., 1986. FSH-induced Sertoli cell proliferation in the development rat is modified by  $\beta$ -endorphin produced in the testis. *Endocrinology* 119, 1876-1878.
- Orth, J.M., Boehm, R., 1990. Endorphin suppresses FSH-stimulated proliferation of isolated neonatal Sertoli cells by a pertussis toxin-sensitive mechanism. *The Anatomical Record* 226, 320-327.
- Orth, J.M., 1993. Cell biology of testicular development in fetus and neonate. In: Desjardins, C., Ewing, L.L. (Eds.), *Cell and molecular biology of the testis*. New York. Oxford University Press. Cap. 1, 03-42.
- Paula, T.A.R., Costa, D.S., Matta, S.L.P., 2002. Avaliação histológica e quantitativa do testículo de capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) adultas. *Bioscience Journal* 18(1), 121-136.
- Pelliniemi, L.J., Kuopio, T., Fröjdman, K., 1996. The cell biology and function of the fetal Leydig cell. In: Payne, A.H., Hardy, M.P., Russell, L.D. (Eds.), *The Leydig cell*. Ed. Viena. Cache River Press. Cap. 5, 143-157.
- Pescovitz, O.H., Srivastava, C.H., Breyer, P.R., Monts, B.A., 1994. Paracrine control of spermatogenesis. *Trends Endocrinology and Metabolism* 5, 126-131.
- Pitman, V., 1996. *Fitoterapia. As plantas medicinais e a saúde*. Lisboa, Estampa, 188 p.
- Poccia, D., 1994. Molecules of the somatic cells. In: Poccia, D. *Molecular biology intelligence unit; molecular aspects of spermatogenesis*. Austin: R.G. Landes Company. Cap. 4, 75-90.
- Polettini, A., Crippa, O., Ravagli, A., Saragoni, A., 1992. A fatal case of poisoning with cantharidin. *Forensic Science International* 56 (1), 37-43.
- Pott, A., Pott, V.J., 1994. *Plantas do Pantanal*. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária do Pantanal - Corumbá, MS: Embrapa-SPI. 320 p.
- Ratnasooriya, W.D., Dharmasiri, M.G., 2002. Effects of *Terminalia catappa* seeds on sexual behaviour and fertility of male rats. *Asian Journal of Andrology* 2(3), 213-219.
- Rizzini, C.T., 1983. Efeitos psicotrópicos de plantas brasileiras parte II: aspectos botânicos. *Ciências e Cultura*, São Paulo-SP 35, 434-438.
- Roosen-Runge, E.C., 1977. *The process of spermatogenesis in animals*. Cambridge: Academic Press. 123 p.
- Rouiller-Fabre, V., Lecerf, L., Gautier, C., Saez, J.M., Habert, R., 1998. Expression and effects of insulin-like growth factor I on rat fetal Leydig cell function and differentiation. *Endocrinology* 139, 2926-2934.

- Ruck, B., Shih, R.D., Marcus, S.M., 1999. Hypertensive crisis from herbal treatment of impotence. *American Journal of Emergency Medicine* 17(3), 317-318.
- Russell, D.L., Ettlín, R.A., Sinha Hikim, A.P., Clegg, E.D., 1990. Mammalian spermatogenesis. In: Russell, D.L., Ettlín, R.A., Sinha Hikim, A.P., Clegg, E.D., (Eds), *Histological and histopathological evaluation of the testis*. Bolesta: Cache River Press. Cap. 1, 1-40.
- Russell, L.D., Corbin, T.J., Borg, K.E., França, L.R., Grasso, P., Bartke, A., 1993. Recombinant human follicle-stimulating hormone is capable of exerting a biological effect in the adult hypophysectomized rat by reducing the numbers of degenerating germ cells. *Endocrinology* 133, 2062-2070.
- Russell, L.D., França, L.R., Hess, R., Cooke, P., 1995. Characteristics of mitotic cells in developing and adult testes with observations on cell lineages. *Tissue & Cell* 27, 105-128.
- Russell, L.D., Griswold, MD., 1993. *The Sertoli Cell*. Clearwater: Cache River Press. 801 p.
- Russell, L.D., Sinha-Hikim, A.P., Ghosh, S., Bartke, A., 1994. Structure-function relationships in somatic cells of the testis and accessory reproductive glands. In: Bartke, A. *A function of somatic cells in the testis*. Editora New York: Springer-Verlag, Cap. 3, 55-84.
- Salazar-Schettino, P.M., 1983. Customs which predispose to Chagas disease and cysticercosis in Mexico. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 32(5), 1179-1180.
- Sandroni, P., 2001. Aphrodisiacs past and present: a historical review. *Clinical Autonomic Research* 11(5), 303-307.
- Scheen, A.J., 2003. Medication of the month. Vardenafil (Levitra). *Revue Medicale Liege* 58(9), 576-579.
- Schlatt, S., Meinhardt, A., Nieschlag, E., 1997. Paracrine regulation of cellular interactions in the testis: factors in search of a function. *European Journal of Endocrinology* 137, 107-117.
- Schwontkowski, D., 1993. Herbs of the Amazon. Traditional and common use. Science Student Brain Trust Pub. Utah. *Journal of Ethnopharmacology* 30, 11-16.
- Setchell, B.P., 1991. Male reproductive organs and semen. In: Cupps, P.T., *Reproduction in Domestic Animals*. 4<sup>th</sup> Ed. San Diego: Academic Press, Inc. Cap. 6, 221-250.
- Shaha, C., Liotta, A.S., Krieger, D.T., Bardin, C.W., 1984. Ontogeny of immunoreactive  $\beta$ -endorphin in fetal, neonatal, and pubertal testes from mouse and hamster. *Endocrinology* 114, 1584-1591.

- Sharpe, R.M., 1994. Regulation of spermatogenesis. In: Knobil, E., Neill, J.D. (Eds.), *The physiology of reproduction*. Ed. 2, New York. Raven Press. 1, Cap. 22, 1363-1434.
- Shupnik, M.A., Schreihof, D.A., 1997. Molecular aspects of steroid hormone action in the male reproductive axis. *Journal of Andrology* 18(4), 341-344.
- Siddiqui, M.A., More-O'ferral, D., Hammond, R.S., Baime, R.V., Staddon, A.P., 1996. Agranulocytosis associated with yohimbine use. *Archives of Internal Medicine* 156(11), 1235-1236.
- Simões, M.C.O., Schenkel, P.E., Gosmann, G., Mello, J.C.P., Mentz, L.A., Petrovick, P.R., 2000. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Porto Alegre, 2 ed. Editora da UFRGS. 821 p.
- Skinner, M., 1991. Cell-cell interactions in the testis. *Endocrine Reviews* 12, 45-77.
- Sobotka, J.J., 1969. An evaluation of Afrodex in the management of male impotency: a double-blind crossover study. *Current Therapeutic Research Clinical Experimental* 11(2), 87-94.
- Spiteri-Grech, J., Nieschlag, E., 1993. Paracrine factors relevant to the regulation of spermatogenesis – a review. *Journal of Reproduction and Fertility* 98, 1-14.
- Stambach, T., Haire, K., Soni, N., Booth, J., 1997. Saturday night blue - a case of near fatal poisoning from the abuse of amyl nitrite. *Journal of Accident and Emergency Medicine* 14(5), 339-340.
- Stark, S., Sachse, R., Liedl, T., Hensen, J., Rohde, G., Wensing, G., Horstmann, R., Schrott, K.M., 2001. Vardenafil increases penile rigidity and tumescence in men with erectile dysfunction after a single oral dose. *European Urology* 40(2), 181-188.
- Suárez-Quian, C.A., Oke, B.O., Musto, N., 1998. Localization of the androgen receptor in the rodent testis. In: *Male reproduction; a multidisciplinary overview*. Ed. Spain: Churchill Communications Europe España. Cap. 10, 114-124.
- Tabone, E., Benahmed, M., Reventos, J., Saez, J.M., 1984. Interactions between immature porcine Leydig and Sertoli in vitro. *Cell and Tissue Research* 237, 357-362.
- Trentini, A.M.M., 1997. A auto-regulamentação na produção de fitoterápicos. In: Bonfim, J.R.A., Mercucci, V.L. (Org.), *A construção da política de medicamentos*. HUCITEC, São Paulo, SP, 213-215.
- Van Straaten, H.W.M., Wensing, C.J.G., 1978. Leydig cell development in the testis of the pig. *Biology of Reproduction* 18, 86-93.
- Van Straten, M., 1994. *Guarana. The energy seeds and Herbs of the Amazon Rainforest*. Saffran Walden, Essex, UK: C.W. Daniel Company.

- Van Vorstenbosch, C.J.A.H.V., Colenbrander, B., Wensing, C.J.G., 1982. Leydig cell development of pig testis in the early fetal period: an ultrastructural study. *The American Journal of Anatomy* 165, 305-318.
- Wagner, C., 2001. Apomorphine SL (Uprima): a new treatment for the management of erectile dysfunction. *International Journal of Impotence Research* 13(3), 51-52.
- Waites, G.M.H., Speight, A.C., Jenkins, N., 1985. The function maturation of the Sertoli cell and Leydig cell in mammalian testis. *Journal of Reproduction and Fertility* 75, 316-326.
- Wall, M.E., Wani, M.C., 1996. Camptothecin and taxol: from discovery to clinic. *Journal of Ethnopharmacology* 51, 239-254.
- Zirkin, B.R., Awoniyi, C., Griswold, M.D., Russell, L.D., Sharpe, R., 1994. Is FSH required for adult spermatogenesis? *Journal of Andrology* 15, 273-276.

## **Efeitos dos extratos de *Heteropterys aphrodisiaca* e *Anemopaegma arvense* sobre o túbulo seminífero de ratos Wistar adultos**

### **Resumo**

O conhecimento e o uso das plantas identificadas como medicinais estão claramente visíveis na população principalmente nas comunidades tradicionais. Entre os diversos usos dessas plantas, aquelas consideradas afrodisíacas ocupam um lugar de destaque na medicina popular. Nas regiões do Cerrado e do Pantanal mato-grossense, várias espécies são indicadas como afrodisíacas, e dentre estas, a *Heteropterys aphrodisiaca* (nó-de-cachorro) e a *Anemopaegma arvense* (vergateza) são as mais utilizadas. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a ação do extrato bruto das raízes destas espécies sobre a biometria corporal e o túbulo seminífero de ratos Wistar adultos tratados cronicamente. Foram usados 62 ratos machos em idade reprodutiva, divididos em 5 grupos. Os animais do grupo-controle foram submetidos à gavagem diária, durante 56 dias, recebendo 0,5 mL de solução salina. Os animais dos demais quatro grupos receberam 0,5 mL de extratos obtidos das duas espécies, em duas concentrações distintas. O extrato de *H. aphrodisiaca*, promoveu aumento significativo no peso corporal, no peso do parênquima testicular, na espessura do epitélio seminífero e no diâmetro do túbulo seminífero. Já apenas os animais tratados com a maior concentração do extrato de *A. arvense*, mostraram resultados significativos para o aumento do peso corporal, da espessura do epitélio seminífero e do diâmetro do túbulo seminífero.

*Palavras-chave:* *Heteropterys aphrodisiaca*, *Anemopaegma arvense*, biometria corporal, testículo, túbulo seminífero

## **Effect of the extracts of *Heteropterys aphrodisiaca* and *Anemopaegma arvense* on Seminiferous Tubule of Adult Rats Wistar**

### **Abstract**

The knowledge and the use of plants identified as medicinal are observed in the whole population mainly in traditional communities. Among the several uses of those plants, some considered as aphrodisiac have an important role in popular medicine. In the regions of Cerrado and Pantanal several species are indicated as aphrodisiac and, among those ones, the *Heteropterys aphrodisiaca* (nó-de-cachorro) and the *Anemopaegma arvense* (vergateza) are the most used. The aim of this work is to evaluate the action of the rough extract of roots of those species on the corporal biometry, vesicular gland and seminiferous tubule of adult rats Wistar in reproductive age chronically treated. 62 males rats in reproductive age were divided into 5 groups. The animals of the control group were exposed to daily gavage for 56 days, receiving 0.5 ml of salt solution. The animals of the other four groups received 0.5 ml of extracts from the two species in different concentrations. The extract of *H. aphrodisiaca* caused significant increase in the corporal weight, in the weight of the testicular parenchyma, in the thickness of the seminiferous epithelium and in the diameter of the seminiferous tubule. On the other hand, the animals treated with larger concentrations of the extract of *A. arvense* showed significant results in corporal weight increase in the thickness of the seminiferous epithelium and in the diameter of the seminiferous tubule.

*Key words:* *Heteropterys aphrodisiaca*; *Anemopaegma arvense*; corporal biometry; testicle; tubule seminiferous

## 1. Introdução

Entre os diversos usos conhecidos das plantas medicinais, os afrodisíacos ocupam lugar de destaque na medicina popular, sendo objeto de grande interesse da comunidade científica que se ocupa, ainda que timidamente, da desmistificação ou validação da sua aplicabilidade. No Brasil, apesar da grande quantidade de plantas utilizadas na medicina popular, como afrodisíacas, quase nada se sabe sobre suas reais potencialidades.

Nas regiões do Cerrado e do Pantanal mato-grossense, várias espécies são indicadas na medicina popular como afrodisíacas. Dentre estas, a *Heteropterys aphrodisiaca* (nó-de-cachorro) e a *Anemopaegma arvense* (vergateza) são as mais utilizadas. *A.H. aphrodisiaca* é um dos mais famosos afrodisíacos do centro oeste brasileiro, do ponto de vista etnobotânico, sendo largamente utilizada e conhecida popularmente com os nomes de nó-de-cachorro, raiz-de-Santo-Antônio e cordão-de-São-Francisco (Pott & Pott, 1994; Guarim Neto, 1996). De acordo com estes autores, é uma planta arbustiva com cerca de 0,6 a 2,0m de altura, possuindo raízes com partes engrossadas e nós. Estudos com esta espécie encontraram resultados interessantes, envolvendo propriedades que mostraram melhoria na capacidade de memorização em experimentos com grupos de ratos idosos, conforme evidenciado por Galvão et al. (2002).

A *A. arvense* é uma espécie arbustiva da família Bignoniaceae, da qual se o utilizam extratos da casca, folha e raiz com fins medicinais, em todas as regiões de Cerrado. A *A. arvense* é conhecida popularmente com os nomes de alecrim-do-campo, catuaba verdadeira, catuabinha, catuíba, catuaba-pau, caramuru, tatuaba, piratançara, marapuama do cerrado, verga-teso, vergateza e pau-de-resposta. As raízes da *A. arvense* são preconizadas na medicina popular para preparações afrodisíacas indicadas contra impotência sexual, como energético e estimulante do sistema nervoso, sendo utilizadas também contra insônia e falta de memória (Lorenzi & Matos, 2002).

Tradicionalmente, a ingestão do extrato de raízes destas plantas faz parte do hábito do homem pantaneiro. Apesar da fama e da comercialização indiscriminada de produtos contendo compostos dessas espécies, não há registros de experimentação científica sobre o potencial afrodisíaco atribuído a estas plantas.



Segundo Sandroni (2001), os afrodisíacos podem ser classificados, pelo seu modo de ação, em três tipos: (1) substâncias que aumentam a libido, (2) a potência, (3) o prazer sexual. Estas substâncias podem ser de origem animal ou vegetal, e têm sido utilizadas na medicina popular, nas mais diferentes culturas, sendo que algumas delas têm sido identificadas farmacologicamente, o que favorece a compreensão de seu mecanismo de ação. A busca constante da resolução das disfunções sexuais, especialmente as masculinas, tem levado também à pesquisa e desenvolvimento de drogas alopáticas, que são colocadas no mercado a preços muitas vezes inacessíveis para grande parte da população. Dentre essas drogas podem ser citadas o Pasuma (Kunzfeld, 1966), o Afrodex (Miller, 1968; Sobotka, 1969), o Potensan Forte (Cooper et al., 1973), o Afrodor 2000 (Baumbusch et al., 1995), o Ardorare ou Eresom (Eskeland et al., 1997) o Viagra (Kloner, 1998), o Uprima (Wagner, 2001; Hafez & Hafez, 2004), o Levitra (Stark et al., 2001; Scheen, 2003; Gaines, 2004) e o Cialis (Brigante et al., 2004; Gaines, 2004).

O uso indiscriminado de substâncias, fitoterápicas ou alopáticas, com finalidades afrodisíacas é extremamente temerário, visto a falta de informações conclusivas de seus mecanismos de ação e, principalmente, seus efeitos sobre o processo espermato gênico. Segundo Aitken (1999), existe não somente uma forte indicação de declínio da contagem de espermatozoides, mas também uma grande evidência da diminuição da competência funcional da produção espermática humana, provavelmente relacionada às mudanças comportamentais, de vestuário e de substâncias ingeridas. O mesmo autor relata ainda que alterações morfológicas e funcionais nos espermatozoides humanos podem chegar a 85% do ejaculado, estando diretamente relacionadas com a mais alta perda gestacional e má-formação embrionária observadas entre os vertebrados vivíparos. Assim, a ação direta sobre o processo espermato gênico, de diferentes substâncias utilizadas atualmente que vão de aditivos alimentares a medicamentos, necessariamente deveriam ser avaliadas quanto ao seu efeito no processo espermato gênico antes da liberação ao consumo indiscriminado.

Em termos funcionais, o testículo de mamíferos pode ser dividido em dois compartimentos básicos: o tubular ou espermato gênico, e o intertubular ou androgênico. A proporção entre estes compartimentos é bastante variável, sendo um dos principais fatores responsáveis pela diferença observada para a eficiência na produção espermática nas diversas espécies (Russell et al., 1990; França & Russell,

1998). O túbulo seminífero é o componente gametogênico testicular e em seu epitélio, ocorre uma intrincada série de eventos que culminam na produção espermática, sob a regência da célula de Sertoli. Sendo o principal componente do parênquima testicular, o túbulo seminífero pode ocupar, em algumas espécies domésticas, cerca de 90% deste (França & Russell, 1998).

Nesse sentido, o objetivo de presente trabalho foi avaliar a ação dos extratos brutos das raízes de *Heteropterys aphrodisiaca* (nó-de-cachorro) e *Anemopaegma arvense* (vergateza) sobre a biometria corporal e o túbulo seminífero de ratos Wistar adultos tratados cronicamente.

## **2. Material e métodos**

### *2.1. Seleção das espécies e coleta do material botânico*

Para a seleção das espécies, foram realizadas entrevistas com membros de comunidades tradicionais e raizeiros das cidades de Nova Xavantina e Cuiabá, no Estado de Mato Grosso. Esta seleção foi realizada a partir de indicações fornecidas pela medicina popular. Nestas entrevistas foram apontadas 2 espécies da flora do Cerrado, e de interesse para estudos associados à espermatogênese: *Heteropterys aphrodisiaca* e *Anemopaegma arvense*.

As coletas de *H. aphrodisiaca* e *A. arvense* foram realizadas em setembro de 2003, nos Cerrados de Nova Xavantina e identificadas por comparação de amostras do Herbário da Universidade Federal de Mato Grosso, registros nº 23928 para *H. aphrodisiaca*, e nº 5881 para *A. arvense*.

### *2.2. Preparo dos extratos*

As raízes de ambas as plantas foram secas em temperatura ambiente, protegidas, da incidência direta da luz solar. Em seguida, foram cortadas em pequenos fragmentos e usadas para o preparo dos extratos. Para isto, frações de raízes foram pesadas em balança digital, para se obter pesos de 25g e 12,5g, das quais foram preparadas infusões em 100mL de água destilada em ponto de fervura, obtiveram-se, assim, duas concentrações de cada planta. As infusões permaneceram em repouso por um período de quatro horas, sendo posteriormente filtradas e

armazenadas em geladeira, por até quatro dias. Após este período, desprezava-se o produto excedente e novas dosagens eram preparadas.

O preparo dos extratos, tempo de armazenamento e dosagens foram estabelecidas e adaptadas a partir das indicações mencionadas pela medicina popular, obtidas nas entrevistas.

### 2.3. Animais e grupos experimentais

Foram utilizados 62 ratos Wistar machos albinos (*Ratus rattus*) em idade reprodutiva (100 dias), pesando entre 310 e 330g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Viçosa. Os animais foram assim distribuídos: grupo - I controle – 12 animais, grupo - II 15 animais, grupo - III 15 animais, grupo - IV 10 animais e grupo - V 10 animais. Alimentação (ração comercial) e água foram oferecidas *ad libitum*.

### 2.4. Tratamentos

Todos os animais foram submetidos diariamente, durante 56 dias, à gavagem, sendo que os animais do grupo I, (controle) (n=12), receberam 0,5 mL/dia de solução salina; os animais do grupo II (n=15) receberam 0,5 mL/dia de extrato de *A. arvense* na menor concentração (infusão de 12,5 g em 100 mL de água); os animais do grupo III (n=15) receberam 0,5 mL/dia de extrato *H. aphrodisiaca* também na menor concentração (infusão de 12,5 g em 100 mL de água); os animais do grupo IV (n=10) receberam 0,5 mL/dia de extrato de *A. arvense* na maior concentração (infusão de 25 g em 100 mL de água); e os animais do grupo V (n=10) receberam 0,5 mL/dia de extrato de *H. aphrodisiaca* na maior concentração (infusão de 25 g em 100 mL de água).

### 2.5. Coleta e preparação histológica

Ao término do período experimental, os animais foram pesados e eutanasiados através de superdosagem anestésica. Em seguida, foram removidos os testículos e as glândulas vesiculares, que foram pesados em balança de precisão. Ambos os testículos foram fixados por imersão em solução de Karnovsky. Aleatoriamente, testículos direito ou esquerdo foram armazenados para posterior

dissecação e pesagem da albugínea. Fragmentos do testículo contra-lateral foram submetidos à desidratação em concentrações crescentes de álcool (50°, 70°, 80°, 90°, 95° e 100° GL) por 40 minutos cada, sendo posteriormente incluídos em resina glicolmetacrilato historesin (Leica). Foram obtidas secções histológicas de 3µm de espessura em micrótomo rotativo (Reichert-Jung, Alemanha) equipado com navalha de vidro. As secções foram coradas com azul de toluidina-borato de sódio a 1% e analisadas em microscópio Olympus BX – 70. Imagens do parênquima testicular foram obtidas e analisadas por meio do programa Image Pro Plus associado ao microscópio Olympus BX-70, no Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa.

#### *2.6. Proporção volumétrica e volume dos componentes do parênquima testicular*

As proporções volumétricas (%) dos componentes tubular e intertubular foram estimadas por meio da contagem de um total de 4.320 pontos projetados sobre imagens capturadas em 10 campos aleatoriamente distribuídos, nos diferentes cortes histológicos do testículo de cada animal. Para tal, utilizou-se um retículo de 432 intersecções (pontos), e as imagens foram capturadas em aumento de 400 vezes. O volume dos componentes tubular e intertubular foram estimados a partir do percentual ocupado por cada um desses componentes, e no volume total do parênquima testicular. O valor do volume do parênquima testicular foi obtido subtraindo-se o peso da túnica albugínea do peso bruto do testículo. O peso dos diferentes componentes testiculares foi considerado como volume uma vez que a densidade volumétrica do testículo de mamífero está em torno de 1 (1,046) (Johnson et al., 1981).

#### *2.7. Diâmetro tubular, altura do epitélio seminífero e comprimento total dos túbulos seminíferos*

O diâmetro tubular médio de cada animal foi obtido pela mensuração, de 10 secções transversais de túbulos seminíferos que apresentavam o contorno mais circular possível. Estas medidas não levaram em consideração o estágio do ciclo e foram mensuradas através do programa de análise de imagem Image Pro Plus associado ao microscópio Olympus BX 70, em aumento de 200 vezes. Nas mesmas

secções utilizadas para se medir o diâmetro tubular foi mensurada a altura do epitélio seminífero, que foi tomada da membrana basal até o lume tubular. O valor encontrado para a altura do epitélio em cada túbulo representou a média de duas medidas tomadas de forma diametralmente opostas. O comprimento total dos túbulos seminíferos por testículo, expresso em metros, foi estimado a partir do conhecimento do volume ocupado pelos túbulos seminíferos no testículo e da área da secção transversal do túbulo seminífero, através da fórmula:  $CT = VOL/A$ , onde CT representa o comprimento total do túbulo seminífero; VOL representa o volume total de túbulos seminíferos; e A representa a área da secção transversal do túbulo seminífero.

### 2.8. Análises estatísticas

Análise de variância seguida de teste de Duncan (5% de significância) foi utilizada para avaliar variações dos parâmetros estudados nos grupos controle e tratados. Os valores dos parâmetros estão representados pelas médias, desvios – padrão e coeficiente de variação.

## 3. Resultados

Os valores médios para peso corporal dos animais dos grupos tratados foram maiores, quando comparados com a média do grupo-controle (Tab. 1). Os animais do grupo IV, tratados com a maior concentração de *A. arvensis*, apresentaram a maior média, diferindo estatisticamente de todos os demais grupos, com exceção dos animais do grupo V, tratados com a maior concentração de *H. aphrodisiaca*. Os animais do grupo V apresentaram massa corporal semelhante à dos animais do grupo III, tratados com a menor concentração de *H. aphrodisiaca*, e diferiram significativamente dos animais-controle (grupo I) e tratados com *A. arvensis* em sua menor concentração (grupo II), os quais apresentaram as menores médias de peso corporal.

Quanto ao peso testicular (Tab. 1), os animais tratados com as maiores concentrações de *A. arvensis* (grupo IV) e *H. aphrodisiaca* (grupo V), apresentaram os maiores valores, mas estatisticamente semelhantes entre si. Porém, somente os animais do grupo V apresentaram diferenças estatisticamente significativas em relação aos demais grupos (I, II e III).

Tab. 1 – Parâmetros biometricos de ratos Wistar em idade reprodutiva após tratamento com extratos de raízes de *H. aphrodisiaca* e *A. arvensis*

Tratamentos	Peso Corporal	Peso dos Testículos	Peso da Albugínea	Peso da G. Vesicular.	IGS (%)	Peso do Parênquima
Grupo I CV	333,9±19,19 a (5,74)	2,855±0,16 a (5,90)	0,047±0,009 a (19,59)	2,386±0,39 a (16,70)	0,843±0,07 a (8,34)	2,812±0,16 a (5,97)
Grupo II CV	340,0±13,62 a (4,00)	2,901±0,12 a (4,56)	0,072±0,01 b (15,69)	2,359±0,35 a (15,20)	0,850±0,05 a (6,78)	2,828±0,13 a (4,68)
Grupo III CV	353,4±11,70 b (3,31)	2,956±0,26 a (8,91)	0,050±0,009 a (13,78)	2,634±0,20 a (7,90)	0,837±0,08 a (10,36)	2,905±0,25 a (9,13)
Grupo IV CV	371,0±14,68 c (3,95)	3,034±0,28 a b (9,27)	0,068±0,020 b (30,19)	2,523±0,17 a (6,90)	0,818±0,08 a (9,93)	2,966±0,27 a b (9,34)
Grupo V CV	363,0±18,13 b c (4,99)	3,170±0,20 b (6,33)	0,051±0,008 a (16,11)	2,560±0,26 a (10,20)	0,875±0,06 a (8,34)	3,123±0,19 b (6,28)

Médias seguidas por letras iguais nas colunas, não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ).

Dados expressos em médias  $\pm$  s.d . CV = coeficiente da variação.

Grupo I – controle: tratado com 0,5 mL/dia de solução salina; Grupo II - tratado com 0,5 mL/dia de *A. arvensis* (menor concentração); Grupo III – tratado com 0,5 mL/dia de *H. aphrodisiaca* (menor concentração); Grupo IV - tratado com 0,5 mL/dia de *A. arvensis* (maior concentração) e Grupo V - tratado com 0,5 mL/dia de *H. aphrodisiaca* (maior concentração).

O peso do parênquima testicular apresentou a mesma tendência do peso dos testículos. Deste modo, os maiores valores foram encontrados nos grupos submetidos às maiores dosagens, tanto de *A. arvensis* (grupo IV) quanto de *H. aphrodisiaca* (grupo V), sendo significativamente maiores apenas nos animais tratados com *H. aphrodisiaca* (Tab. 1).

O índice gonadossomático (IGS), que expressa o percentual de massa corporal alocada em testículos (Tab. 1), não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os animais-controle e tratados, seja com *A. arvensis* ou com *H. aphrodisiaca*.

Os maiores valores do peso da albugínea testicular foram observados nos animais tratados com *A. arvensis*, nas duas concentrações utilizadas (grupos II e IV), mas estatisticamente semelhantes entre si. Já nos animais tratados com *H. aphrodisiaca*, nas duas concentrações utilizadas (grupos III e V) e nos animais do grupo-controle, o peso da albugínea testicular foi estatisticamente menor que o apresentado pelos animais submetidos aos tratamentos com *A. arvensis*, não diferindo estatisticamente entre si e destes para os animais do grupo-controle (Tab. 1).

As médias de peso da glândula vesicular (Tab. 1) não foram estatisticamente significativas entre os cinco grupos. Os animais do grupo tratado com extrato de *A. arvensis* em sua menor concentração apresentaram valores muito próximos aos

observados no grupo-controle ocorrendo, entretanto, aumentos médios de 5,80% deste órgão nos animais do grupo IV, submetidos ao extrato de *A. arvensis* em sua maior concentração e de 10,4 e 7,35% nos animais tratados com *H. aphrodisiaca*, em menor e maior concentração (grupos III e V), respectivamente, em comparação ao grupo-controle.

A avaliação da variação na proporção volumétrica de túbulos seminíferos mostrou que os valores médios foram estatisticamente menores nos grupos tratados com *H. aphrodisiaca* nas duas concentrações utilizadas (grupos III e V), quando comparados com os valores observados nos demais grupos (Tab. 2).

Tab. 2 – Proporção de túbulo seminífero e tecido intertubular (%) no parênquima testicular de ratos Wistar, após tratamento com extratos de raízes de *H. aphrodisiaca* e *A. arvensis*

Tratamentos	Túbulo seminífero	Tecido intertubular
Grupo I CV	84,00±5,67 <b>a</b> (6,75)	16,00±5,67 <b>a b</b> (35,47)
Grupo II CV	83,40±0,65 <b>a</b> (0,78)	16,60±0,65 <b>a</b> (3,92)
Grupo III CV	79,31±1,42 <b>b</b> (1,79)	20,69±1,42 <b>c</b> (6,89)
Grupo IV CV	83,62±3,78 <b>a</b> (4,52)	16,38±3,78 <b>a b</b> (23,09)
Grupo V CV	78,88±5,96 <b>b</b> (28,24)	21,12±5,96 <b>b c</b> (28,24)

Médias seguidas por letras iguais nas colunas, não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ).

Dados expressos em médias  $\pm$  s.d . CV = coeficiente da variação.

Grupo I – controle: tratado com 0,5 mL/dia de solução salina; Grupo II - tratado com 0,5 mL/dia de *A. arvensis* (menor concentração); Grupo III – tratado com 0,5 mL/dia de *H. aphrodisiaca* (menor concentração); Grupo IV – tratado com 0,5 mL/dia de *A. arvensis* (maior concentração) e Grupo V – tratado com 0,5 mL/dia de *H. aphrodisiaca* (maior concentração).

As médias encontradas para a proporção de tecido intertubular em relação ao parênquima testicular, foram maiores nos grupos tratados com as duas concentrações do extrato de *H. aphrodisiaca* (III e V), quando comparados ao grupo-controle e aos tratados com o extrato de *A. arvensis* (II e IV), sendo, porém, estatisticamente significativas somente no grupo III (Tab. 2).

Com relação à espessura do epitélio seminífero os valores médios encontrados nos grupos tratados, foram significativamente maiores que aqueles registrados para os animais do grupo-controle (Tab. 3). Os grupos tratados com as

Tab. 3 – Espessura do epitélio seminífero, diâmetro do túbulo, comprimento do túbulo em metros e por grama de testículo e volume total do túbulo em ratos Wistar, após tratamento com extratos brutos de raízes de *H. aphrodisiaca* e *A. arvense*

Tratamentos	Espessura do epitélio (µm)	Diâmetro do túbulo (µm)	Comprimento do túbulo (m)	Comprimento do túbulo (por/g de testículo)	Volume total do túbulo (mL)
Grupo I CV	69,302±1,12 a (1,62)	301,89±1,84 a (0,61)	32,98±2,74 a (8,31)	11,56±0,82 a (7,13)	2,36±0,18 a (7,80)
Grupo II CV	80,471±1,64 c (2,04)	335,06±13,68 c (4,08)	26,91±2,82 b (10,49)	9,26±0,76 b (8,25)	2,35±0,10 a (4,63)
Grupo III CV	75,112±1,26 b (1,68)	325,64±4,69 b (1,44)	27,69±2,70 b (9,76)	9,36±0,38 b (4,07)	2,30±0,21 a (9,17)
Grupo IV CV	108,952±7,21 e (6,62)	337,83±11,26 c (3,33)	27,69±2,72 b (9,85)	9,14±0,76 b (8,34)	2,47±0,18 a (7,36)
Grupo V CV	103,887±5,48 d (5,28)	330,9±14,94 b c (4,52)	28,80±3,30 b (11,48)	9,11±1,20 b (13,23)	2,46±0,19 a (8,12)

Médias seguidas por letras iguais nas colunas, não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ).

Dados expressos em médias  $\pm$  s.d . CV = coeficiente da variação.

Grupo I – controle: tratado com 0,5 mL/dia de solução salina; Grupo II - tratado com 0,5 mL/dia de *A. arvense* (menor concentração); Grupo III – tratado com 0,5 mL/dia de *H. aphrodisiaca* (menor concentração); Grupo IV – tratado com 0,5 mL/dia de *A. arvense* (maior concentração) e Grupo V – tratado com 0,5 mL/dia de *H. aphrodisiaca* (maior concentração).

maiores concentrações de *A. arvense* (grupo IV) e de *H. aphrodisiaca* (grupo V), apresentaram os maiores valores registrados para espessura do epitélio seminífero, sendo que o grupo IV apresentou valores significativamente maiores a todos os demais grupos. Já o grupo V apresentou espessura média do epitélio seminífero significativamente superior ao observado nos animais tratados com as menores concentrações de ambas as plantas. Enquanto o grupo III, animais tratados com extrato de *H. aphrodisiaca* em menor concentração, apresentaram valores significativamente inferiores aos demais grupos tratados (Tab. 3). Porém, os menores valores para este parâmetro foram registrados para o grupo-controle.

O valor médio do diâmetro do túbulo seminífero registrado no grupo-controle apresentou-se estatisticamente menor quando comparado com os grupos tratados (Tab. 3). Entre os grupos tratados, os animais que receberam extrato de *H. aphrodisiaca*, em sua menor concentração (grupo III), apresentaram valor médio de diâmetro tubular estatisticamente semelhante àquele observado no grupo tratado com o extrato da mesma planta, em sua maior concentração (grupo V), porém significativamente menor que os valores observados nos grupos II e IV, tratados com extrato de *A. arvense* nas duas concentrações utilizadas (Tab. 3).



Para o comprimento do túbulo seminífero em metros ou por grama de testículo, estes foram significativamente maiores para os animais do grupo-controle em relação aos grupos tratados, que não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre si. Da mesma forma os valores encontrados para o volume total do túbulo não mostraram diferenças estatísticas entre os grupos estudados (Tab. 3).

#### 4. Discussão

A produção espermática é altamente correlacionada com o peso testicular (Amann, 1970), e segundo Russell et al. (1990), e França & Russell (1998), a massa testicular pode ser usada como um indicador quantitativo da produção espermática, uma vez que o principal componente testicular é o túbulo seminífero. No presente trabalho, o tratamento com *H. aphrodisiaca*, em sua maior concentração, aumentou significativamente o peso médio de ambos os testículos. Da mesma forma, ratos tratados com extrato de *Cynomorium coccineum* (Abdel-Magied et al., 2001) e *Lepidium meyenii* (Gonzales et al., 2001) apresentaram valores significativamente maiores do que animais-controle. Embora seja tentador associar o aumento do peso testicular com um possível aumento na produção espermática, o aumento registrado para o peso total do testículo observado no grupo tratado com *H. aphrodisiaca*, é devido, principalmente, a um aumento significativo (em torno de 30%) no volume do tecido intertubular, uma vez que o volume de túbulos seminíferos não variou entre os grupos tratados.

Ratos que receberam extrato seco de *Andrographis paniculata* nas doses de 20, 200 e 1.000 mg/kg durante 60 dias não mostraram variações nos pesos de testículo e órgãos sexuais acessórios (Burgos et al., 1997). Ratos tratados com extratos de *Stevia rebaudiana* (Melis, 1999) e *Martynia annua* (Mali et al., 2002) apresentaram diminuição significativa no peso testicular após 60 dias de tratamento em relação a animais controle.

Apesar do aumento constatado na massa testicular dos animais tratados em relação ao grupo-controle, o percentual do peso corporal alocado em massa testicular, ou seja, o índice gonadossomático, não foi alterado significativamente entre os cinco grupos em consequência do aumento do peso corporal verificado nos grupos tratados em relação ao grupo-controle. Ratos que receberam gangetina, substância isolada das raízes de *Desmodium gangeticum*, mostraram redução

significativa no peso dos testículos e órgãos sexuais acessórios e aumento uniforme e gradual no peso corporal, o que contribui para diminuir o valor do índice gonadosomático (Latha et al., 1997).

O índice gonadosomático encontrado no presente trabalho (0,84%) foi semelhante aos valores encontrados em ratos tratados com sementes de barbatimão (0,94%), extrato de gangetina (1,10%), piperina (1,07%) e extrato de *Martynia annua* (0,91%) (Peters et al., 1985; Latha et al., 1997; Malini et al., 1999; Mali et al., 2002).

Embora o aumento verificado para a peso das glândulas vesiculares, que são andrógeno-dependentes, não tenha sido estatisticamente significativo. O peso corporal dos animais dos grupos tratados foi significativamente maior que no grupo-controle, podendo-se inferir que o provável aumento nos níveis plasmáticos de testosterona nestes animais resultou em efeito anabolizante sobre a massa muscular.

O peso do parênquima testicular, ou peso líquido testicular representa a porção produtiva, gametogênica e androgênica do testículo. Este parâmetro é calculado a partir da remoção, sempre que possível, do mediastino e da albugínea testiculares. No presente trabalho o peso do parênquima testicular foi considerado como o peso do testículo descontando-se apenas a albugínea testicular. Embora a proporção volumétrica e o volume total da albugínea testicular tenham aumentado significativamente nos grupos tratados com *A. arvense* (grupos II e IV) em relação aos demais grupos, o volume de parênquima testicular acompanhou o comportamento observado para o peso total dos testículos, sendo significativamente maior nos animais tratados com a maior dosagem de *H. aphrodisiaca*.

Em termos funcionais, o testículo de mamíferos pode ser dividido em dois compartimentos básicos: o tubular ou espermatogênico, e o intertubular ou androgênico. A proporção entre estes compartimentos é bastante variável, sendo um dos principais fatores responsáveis pela diferença observada para a eficiência da produção espermática nas diversas espécies (Russell et al. 1990; França & Russell, 1998).

O túbulo seminífero é o componente gametogênico testicular e, em seu epitélio, ocorre uma intrincada série de eventos que culminam na produção espermática. Sendo o principal componente do parênquima testicular, o túbulo seminífero pode ocupar, em algumas espécies domésticas, cerca de 90% deste (França & Russell, 1998). Existe, portanto, uma relação direta entre o tamanho testicular e o volume ocupado pelos túbulos seminíferos, o que reflete na produção

espermática individual. Embora a proporção volumétrica de túbulos seminíferos tenha sofrido redução significativa nos grupos tratados com *H. aphrodisiaca* em relação aos demais grupos, o volume total de túbulos seminíferos não apresentou alteração significativa entre os cinco grupos, sendo discretamente maior nos animais tratados com as maiores concentrações de *A. arvense* e *H. aphrodisiaca*.

Os animais tratados com *A. arvense* apresentaram diâmetro do túbulo seminífero e espessura do epitélio seminífero maiores do que os animais tratados com as doses correspondentes de *H. aphrodisiaca*. Porém, o grupo-controle apresentou-se significativamente menor que todos os grupos tratados. Como não foi observada qualquer variação significativa em relação ao volume total de túbulos seminíferos, o aumento verificado no diâmetro tubular refletiu em redução significativa do comprimento tubular total em metros e por grama de testículo nos animais tratados. Ratos albinos que receberam extrato alcoólico de *Momordica charantia* por via intraperitoneal mostraram redução significativa no diâmetro tubular (Neseen et al., 1998). O mesmo aconteceu com ratos albinos tratados com piperina, pois além da redução no diâmetro tubular mostraram também, alterações no comprimento total dos túbulos seminíferos. Essas alterações são responsáveis pela redução do peso testicular (Malini et al., 1999).

França et al. (2000) relatam que ratos Wistar que receberam injeções de cimetidina em diferentes concentrações não apresentaram alterações no diâmetro dos túbulos seminíferos, mas a altura do epitélio germinativo reduziu com o aumento da dose. Alterações do diâmetro tubular também não foram observadas em ratos albinos tratados com extrato de *Abrus precatorius* e *Barleria prionitis* (Sinha, 1990; Gupta et al., 2000).

## 5. Conclusões

Extratos de raízes das espécies *Heteropterys aphrodisiaca* e *Anemopaegma arvense*, administrados cronicamente a ratos Wistar adultos, em duas dosagens distintas, por meio de gavagem, influenciaram significativamente os aspectos quantitativos, biométricos e morfológicos do parênquima testicular. Assim, a espessura do epitélio seminífero e o diâmetro tubular aumentaram enquanto o comprimento de túbulo seminífero diminuiu em relação ao grupo-controle. Já o peso corporal apresentou-se maior nos animais tratados com *Heteropterys aphrodisiaca*, e

no grupo de animais tratados com a maior concentração de *Anemopaegma arvense*. A proporção volumétrica dos componentes tubular e intertubular foi maior nos grupos tratados com *Heteropterys aphrodisiaca*, porém, o peso do testículo e do parênquima testicular foi maior apenas no grupo de animais tratados com extrato em maior concentração desta planta.

### Referências Bibliográficas

- Abdel-Magied, E.M., Abdel-Rahman H.A., Harraz F.M., 2001. The effect of aqueous extracts of *Cynomorium coccineum* and *Withania somnifera* on testicular development in immature Wistar rats. Buraidah, Arabia Saudita. *Journal of Ethnopharmacology* 75, 01-04.
- Aitken R.J., 1999. The human spermatozoon a cell in crisis. *Journal Reproduction of Fertility* 115, 1-7.
- Amann, R.P., 1970. Sperm production rates. In: Johnson, A.D., Gomes, W.R., Vandemark, N.L. (ed), *The testis*. New York. Academic Press.1, Cap. 7, 433-482.
- Baumbusch, F., Papp, G. K., Kpa, Z.S., 1995. Treatment for potency problems with Afrodor 2000. *Acta Chirurgica Hungarica* 35(1-2), 87-92.
- Briganti, A., Salonia, A., Gallina, A., Suardi, N., Rigatti, P., Montorsi, F. 2004. Emerging oral drugs for erectile dysfunction. *Expert Opinion on Emerging Drugs* 9(1), 179-189.
- Burgos, R.A., Caballero, E.E., Sánchez, N.S., Schoeder, R.A., Wikman, G.K., Hancke, J.L., 1997. Testicular toxicity assesment of *Andrographis paniculata* dried extract in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 58, 219-224.
- Cooper, A.J., Smith, C.G., Ismail, A. A., Loraine, J.A., 1973. A controlled trial of Potensan Forte (“aphrodisiac” and testosterone combined) in impotence. *Journal Medicine Science* 142(4), 155-161.
- Eskeland, B., Thom, E., Svendsen, K.O., 1997. Sexual desire in men: effects of oral ingestion of a product derived from fertilized eggs. *The Journal of International Medical Research* 25(2), 62-70.
- França, L.R., Leal, M.C., Cerri-Sasso, E., Vasconcelos, A., Debeljuk, L., Russell, L. D., 2000. Cimetidine (Tagamet) is a reproductive toxicant in male rats affecting peritubular cells. *Biology Reproduction* 63, 1403-1412.
- França. L.R., Russell, L.D., 1998. The tests of domestic mammals. In: *Male reproduction; a multidisciplinary overview*. Ed. Madrid: Churchill Comunicions Europe España. Cap. 16, 198-219.

- Gaines, K.K. 2004. Tadalafil (Cialis) and vardenafil (Levitra) recently approved drugs for erection dysfunction. *Urologic Nursing* 24(1), 46-48.
- Galvão, S.M.P., Marques, L.C., Oliveira, M.G.M., Carlini, E.A., 2002. *Heteropterys aphrodisiaca* (extract BST0289): a Brazilian plant that improves memory in aged rats. *Journal of Ethnopharmacology* 79, 305-311.
- Gonzales, G.F., Ruiz, A., Gonzales, C., Villegas, L., Cordova, A., 2001. Effect of *Lepidium meyenii* (maca) roots on spermatogenesis of male rats. Lima, Peru. *Journal of Andrology* 3, 231-233.
- Guarim Neto, G., 1996. Plantas Mediciniais do Estado de Mato Grosso. Associação Brasileira de Educação Agrícola Superior, UFMT. Instituto de Biociências. ABEAS. Brasília. 72 p.
- Gupta, R.S., Kumar, P., Dixit, V.P., Dobhal, M.P., 2000. Antifertility studies of the root extract of the *Barleria prionitis* Linn in male albino rats with special reference to testicular cell population dynamics. *Journal of Ethnopharmacology* 70, 111-117.
- Hafez, B., Hafez, E.S., 2004. Andropause: endocrinology, erectile dysfunction and prostate pathophysiology. *Archives of Andrology* 50(2), 45-68.
- Johnson, L., Petty, C.S., Neves, W.B., 1981. A new approach to qualification of spermatogenesis and its application to germinal cell attrition during human spermatogenesis. *Biology Reproduction* 25, 217-226.
- Kloner, R.A., 1998. Viagra: what every physician should know. *Ear Nose Throat Journal*. 77(9), 783-786.
- Kunzfeld, M., 1966. Trials with "Pasuma" of the Cascan Company, Wiesbaden. Preliminary report. *Zeitschrift Fur Haut-und Geschlechtskrankheiten* 41(4), 156-157.
- Latha, P., Govindasamy, S., Balakrishna, K., 1997. Effect of gangetin on fertility of male rats. *Phytotherapy Research* 11, 372-375.
- Lorenzi H., Matos F.J.A., 2002. Plantas Mediciniais do Brasil - Nativas e Exóticas. São Paulo. Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda., Editora Nova Odessa. 512 p.
- Mali, P.C., Ansari, A.S., Chaturvedi, M., 2002. Antifertility effect of chronically administered *Martynia annua* root extract on male rats. *Journal of Ethnopharmacology* 82, 61-67.
- 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.

- Melis, M.S., 1999. Effects of chronic administration of *Stevia rebaudiana* on fertility in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 167, 157-161.
- Miller, W.W. Jr., 1968. Afrodex in the treatment of male impotence: a double-blind cross-over study. *Current Therapeutic Research Clinical Experimental* 10(7), 354-359.
- Neseem, M.Z., Patil, S.R., Patil, S.R., Ravindra., Patil, S.B., 1998. Antispermatic and androgenic activities of *Momordica charantia* (Karela) in albino rats. *Journal of Ethnopharmacology* 61, 9-16.
- Peters, V.M., Carmo, P.S., Guerra, M.O., 1985. Efeito do barbatimão (*Stryphnodendron polliphyllum* M.) sobre o peso de órgãos do sistema reprodutor de ratos adultos e a produção de espermatozoides viáveis. *Revista Brasileira de Ciências Morfológica* 2(2), 45-47.
- Pott, A., Pott, V.J., 1994. *Plantas do Pantanal*. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária do Pantanal – Corumbá, MS: Embrapa-SPI, 320 p.
- Russell, D.L., Ettlin, R.A., Sinha Hikim, A.P., Clegg, E.D., 1990. Mammalian spermatogenesis. In: Russell, D.L., Ettlin, R.A., Sinha Hikim, A.P., Clegg, E.D. (Eds.), *Histological and histopathological evaluation of the testis*. Bolesta: Cache River Press. Cap. 1, 1-40.
- Sandroni, P., 2001. Aphrodisiacs past and present: a historical review. *Clinical Autonomic Research* 11(5), 303-307.
- Scheen, A.J., 2003. Medication of the month. Vardenafil (Levitra). *Revue Medicale Liege* 58(9), 576-579.
- Sinha, R., 1990. Post-testicular antifertility effects of *Abrus precatorius* seed extract in albino rats. *Journal of Ethnopharmacology* 28, 173-181.
- Sobotka, J.J., 1969. An evaluation of Afrodex in the management of male impotency: a double-blind crossover study. *Current Therapeutic Research Clinical Experimental* 11(2), 87-94.
- Stark, S., Sachse, R., Liedl, T., Hensen, J., Rohde, G., Wensing, G., Horstmann, R., Schrott, K.M., 2001. Vardenafil increases penile rigidity and tumescence in men with erectile dysfunction after a single oral dose. *European Urology* 40(2), 181-188.
- Wagner, C., 2001. Apomorphine SL (Uprima): a new treatment for the management of erectile dysfunction. *International Journal of Impotence Research*, 13(3), 51-52.

## **Efeitos dos extratos de *Heteropterys aphrodisiaca* e *Anemopaegma arvense* sobre a célula de Leydig e demais componentes do espaço intertubular de ratos Wistar adultos**

### **Resumo**

A medicina tradicional oferece forte indicativo para experimentações científicas envolvendo essências ou extratos vegetais que vêm, há muito tempo, sendo utilizados pela população com finalidade afrodisíaca. As indicações populares mais enfáticas do Estado de Mato Grosso apontam para as espécies *Heteropterys aphrodisiaca* (nó-de-cachorro) e *Anemopaegma arvense* (vergateza), como os mais “potentes” afrodisíacos do Cerrado. O objetivo deste trabalho foi avaliar a ação do extrato bruto das raízes de *Heteropterys aphrodisiaca* (nó-de-cachorro) e *Anemopaegma arvense* (vergateza) sobre a célula de Leydig e demais componentes do tecido intertubular de ratos adultos tratados cronicamente. Foram usados 62 ratos machos Wistar em idade reprodutiva, divididos em 5 grupos. Os animais do grupo-controle foram submetidos à gavagem diária, durante 56 dias, recebendo 0,5 mL de solução salina. Os animais dos demais quatro grupos receberam 0,5 mL de extratos obtidos das duas espécies em duas concentrações distintas. Os extratos de *Heteropterys aphrodisiaca* promoveram aumentos significativos na proporção volumétrica e nos volumes do núcleo e citoplasma das células de Leydig, no volume individual e total de células de Leydig, bem como no tecido conjuntivo. Já os extratos de *A. arvense* promoveram aumentos significativos apenas na proporção volumétrica do citoplasma de células de Leydig e no volume individual dessas mesmas células.

*Palavras-chave:* *Heteropterys aphrodisiaca*; *Anemopaegma arvense*; fitoterápicos; células de Leydig; proporção volumétrica; volumes; componentes intertubulares

## **Effect of the extracts of *Heteropterys aphrodisiaca* and *Anemopaegma arvense* on the cell of leydig and other components in the intertubular space of adult rats Wistar**

### **Abstract**

Traditional medicine offers large indications for scientific experimentations involving essences and vegetable extracts that have been, for a long time, used by the population aiming for aphrodisiac results. In the State of Mato Grosso, the popular preference has been on the species *Heteropterys aphrodisiaca* (nó-de-cachorro) and *Anemopaegma arvense* (vergateza) considered the most powerful aphrodisiac in Cerrado. The aim of this work is to evaluate the action of the rough extract from roots of *H. aphrodisiaca* and *A. arvense* over the cell of Leydig and other components of the intertubular tissue of adult rats chronically treated. 62 male rats in reproductive age were divided into 5 groups. The animals of the control group were exposed to daily gavage for 56 days, receiving 0.5 ml of salt solution. The animals of the other groups received 0.5 ml of extracts from the two species in two different concentrations. The extracts of *H. aphrodisiaca* caused significant increases in the volumetric ratio and in the nucleus volume and cytoplasm of the cells of Leydig, in the individual and total volume of the cells of Leydig as well as in the conjunctive tissue. On the other hand, the animals treated with larger concentrations of the extract of *A. arvense* showed significant increases only in the volumetric ratio of the cytoplasm of the cells of Leydig and in the individual volume of those same cells.

*Key words:* *Heteropterys aphrodisiaca*; *Anemopaegma arvense*; phytoterapic; cells of Leydig; volumetric ratio; volumes; components intertubular



## 1. Introdução

Os afrodisíacos podem ser classificados, pelo seu modo de ação, em três tipos: substâncias que aumentam a libido, a potência e o prazer sexual (Sandroni, 2001). Embora a busca constante da resolução das disfunções sexuais tenha promovido o desenvolvimento de diversas drogas alopáticas como o Pasuma (Kunzfeld, 1966), o Afrodex (Miller, 1968; Sobotka, 1969), o Potensan Forte (Cooper et al., 1973), o Afrodor 2000 (Baumbusch et al., 1995), o Ardorare ou Eresom (Eskeland et al., 1997), o Viagra (Kloner, 1998), o Uprima (Wagner, 2001; Hafez & Hafez, 2004), o Levitra (Stark et al., 2001; Scheen, 2003; Gaines, 2004) e o Cialis (Gaines, 2004; Brigante et al., 2004) estas em sua maioria tem sido colocadas no mercado a preços muitas vezes inacessíveis para grande parte da população. Desta forma, várias substâncias não industrializadas, de origem animal ou vegetal, vêm sendo utilizadas na medicina popular para tratamento afrodisíaco.

O uso de plantas medicinais é a mais forte corrente de tratamento de diferentes males pela medicina popular. Dentre os diversos usos conhecidos, os afrodisíacos ocupam lugar de destaque e, atualmente, vem sendo objeto de grande interesse da comunidade científica. No Brasil, apesar da grande quantidade de plantas utilizadas na medicina popular como afrodisíacas, quase nada foi testado sobre os rigores científicos para verificação de suas reais potencialidades.

Nas regiões do Cerrado e do Pantanal mato-grossense, várias espécies são indicadas pela medicina popular como afrodisíacas. Dentre estas a *Heteropterys aphrodisiaca* (nó-de-cachorro) e a *Anemopaegma arvense* (vergateza) são as mais utilizadas. Do ponto de vista etnobotânico, *H. aphrodisiaca* é um dos afrodisíacos mais famosos e utilizados no do centro-oeste brasileiro, sendo conhecida popularmente com os nomes de nó-de-cachorro, raiz-de-Santo-Antônio e cordão-de-São-Francisco (Pott & Pott 1994; Guarim Neto 1996). De acordo com estes autores, é uma planta arbustiva com cerca de 0,6 a 2,0m de altura, possuindo raízes com partes engrossadas e nós. Estudos com esta espécie encontraram resultados interessantes envolvendo propriedades que mostraram benefícios na capacidade de memorização em experimento com grupos de ratos idosos, conforme evidenciado por Galvão et al. (2002).

*A. arvense* é uma espécie arbustiva da família Bignoniaceae da qual se utilizam extratos da casca, folha e raiz com fins medicinais, nas regiões de Cerrado.

Esta espécie é conhecida popularmente com os nomes de alecrim-do-campo, catuaba verdadeira, catuabinha, catuíba, catuaba-pau, caramuru, tatuaba, piratançara, marapuama do cerrado, verga-teso, vergateza e pau-de-resposta. As raízes da *A. arvensis* são utilizadas na medicina popular para preparações afrodisíacas, indicadas contra impotência sexual, como energético e estimulante do sistema nervoso, sendo utilizadas também contra insônia e falta de memória (Lorenzi & Matos, 2002).

O uso indiscriminado de substâncias afrodisíacas alopáticas e mesmo as de origem fitoterápicas, pode apresentar efeitos positivos, porém ainda são extremamente escassas informações conclusivas de seus mecanismos de ação e, principalmente, de seus efeitos deletérios sobre a morfofisiologia dos órgãos reprodutores, em especial sobre o processo androgênico testicular. A porção endócrina do testículo de mamíferos é representada pelas células de Leydig as quais juntamente com células conjuntivas, leucócitos, vasos sanguíneos e linfáticos, formam o espaço intertubular ou tecido intertubular. Segundo Sharpe, (1994) o arranjo e a proporção destes componentes variam nas diferentes espécies de mamíferos e constituem mecanismos que mantêm o nível de testosterona, principal produto da célula de Leydig, que é duas a três vezes maior no fluido intersticial que nos vasos sanguíneos testiculares, e de 40 a 250 vezes maior nestes que no sangue periférico.

Dentre os andrógenos sintetizados pelas células de Leydig incluem-se, além da testosterona, a diidrotestosterona. Ambos responsáveis pela diferenciação do trato genital masculino e da genitália externa na fase fetal (Pelleniemi et al., 1996), pelo aparecimento dos caracteres sexuais secundários, pela manutenção quantitativa da espermatogênese a partir da puberdade, e pelo comportamento sexual (Sharpe, 1994; Zirkin et al., 1994). O mecanismo de ação da testosterona sobre o processo espermatogênico e sobre o comportamento sexual não está totalmente esclarecido, porém, seus efeitos estimulatórios sobre a espermatogênese são evidentemente indiretos visto sua ligação exclusiva com células testiculares somáticas (Weinbauer & Wessels, 1999).

Os efeitos sobre o comportamento e desempenho sexual humano, supostamente relacionado a diferentes substâncias afrodisíacas, pode não refletir necessariamente sua real atuação, mas sim, uma manifestação do efeito placebo. Entretanto, estudos morfofisiológicos sobre o compartimento androgênico testicular, em animais de laboratório, plausivelmente levam a melhor compreensão de seus

reais mecanismos de ação. Neste sentido, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a ação do extrato bruto das raízes de *Heteropterys aphrodisiaca* (nó-de-cachorro) e *Anemopaegma arvense* (vergateza) sobre as células de Leydig e demais componentes do tecido intertubular de ratos Wistar adultos tratados cronicamente.

## 2. Material e métodos

### 2.1. Seleção das espécies e coleta do material botânico

Para a seleção das espécies foram realizadas entrevistas com membros de comunidades tradicionais e raizeiros das cidades de Nova Xavantina e Cuiabá, no Estado de Mato Grosso. Esta seleção foi realizada a partir de indicações fornecidas pela medicina popular. Nestas entrevistas foram apontadas 2 espécies da flora do Cerrado e de interesse para estudos associados à espermatogênese: *H. aphrodisiaca* e *A. arvense*.

As coletas de *H. aphrodisiaca* e *A. arvense* foram realizadas em setembro de 2003, nos Cerrados de Nova Xavantina e identificadas por comparação de amostras do Herbário da Universidade Federal de Mato Grosso, sob registros nº 23928 para *H. aphrodisiaca*, e nº 5881 para *A. arvense*.

### 2.2. Preparo dos extratos

As raízes de ambas as plantas foram secas em temperatura ambiente, protegidas, da incidência direta da luz solar. Em seguida, foram cortadas em pequenos fragmentos e usadas para o preparo dos extratos. Para isto, frações de raízes foram pesadas em balança digital para se obter pesos de 25 g e 12,5 g, das quais foram preparadas infusões em 100 mL de água destilada em ponto de fervura, obteve-se, assim, duas concentrações de cada planta. As infusões permaneciam em repouso por um período de quatro horas, sendo posteriormente filtradas e armazenadas em geladeira, por até quatro dias. Após este período, desprezava-se o produto excedente e novas dosagens eram preparadas.

O preparo dos extratos, tempo de armazenamento e dosagens foram estabelecidas e adaptadas a partir das indicações mencionadas pela medicina popular, obtidas nas entrevistas.

### 2.3. Animais e grupos experimentais

Foram utilizados 62 ratos Wistar machos albinos (*Ratus rattus*) em idade reprodutiva (100 dias), pesando entre 310 e 330 g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Viçosa. Os animais foram assim distribuídos: grupo I: controle – 12 animais; grupo II: 15 animais; grupo III: 15 animais; grupo IV: 10 animais; e grupo V: 10 animais. Alimentação (ração comercial) e água foram oferecidas *ad libitum*.

### 2.4. Tratamentos

Todos os animais foram submetidos diariamente, durante 56 dias, à gavagem, sendo que os animais do grupo I, (controle) (n=12), receberam 0,5 mL/dia de solução salina; os animais do grupo II (n=15) receberam 0,5 mL/dia de extrato de *A. arvense* na menor concentração (infusão de 12,5 g em 100 mL de água); os animais do grupo III (n=15) receberam 0,5 mL/dia de extrato *H. aphrodisiaca* também na menor concentração (infusão de 12,5g em 100 mL de água); os animais do grupo IV (n=10) receberam 0,5 mL/dia de extrato de *A. arvense* na maior concentração (infusão de 25 g em 100 mL de água); e os animais do grupo V (n=10) receberam 0,5 mL/dia de extrato de *H. aphrodisiaca* na maior concentração (infusão de 25 g em 100 mL de água).

### 2.5. Coleta e preparação histológica

Ao término do período experimental, os animais foram pesados e eutanasiados através de superdosagem anestésica. Em seguida, foram removidos os testículos e as glândulas vesiculares, que foram pesados em balança de precisão. Ambos os testículos foram fixados por imersão em solução de Karnovsky. Aleatoriamente, testículos direito ou esquerdo foram armazenados para posterior dissecação e pesagem da albugínea. Fragmentos do testículo contra-lateral foram submetidos à desidratação em concentrações crescentes de álcool (50°, 70°, 80°, 90°, 95° e 100° GL) por 40 minutos cada, sendo posteriormente incluídos em resina glicolmetacrilato historesin (Leica). Foram obtidas secções histológicas de 3µm de espessura em micrótomo rotativo (Reichert-Jung, Alemanha) equipado com navalha de vidro. As secções foram coradas com azul de toluidina–borato de sódio a 1% e

analisadas em microscópio Olympus BX – 70. Imagens do parênquima testicular foram obtidas e analisadas por meio do programa Image Pro Plus associado ao microscópio Olympus BX-70, no Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa.

#### *2.6. Proporções volumétricas, relação nucleoplasmática e volumes dos componentes intertubulares do parênquima testicular*

As proporções volumétricas (%) dos componentes intertubulares foram estimadas por meio da contagem de um total de 4.320 pontos projetados sobre imagens capturadas em 10 campos, aleatoriamente distribuídas nos diferentes cortes histológicos de cada animal. Para tal, utilizou-se um retículo de 432 intersecções (pontos), e imagens foram capturadas em aumento de 400 vezes. Os elementos quantificados foram: células de Leydig, vasos sanguíneos, vasos linfáticos e tecido conjuntivo. Para o cálculo da relação nucleoplasmática (RNP) da célula de Leydig, foram computados 3.000 pontos projetados especificamente sobre núcleo e citoplasma de células de Leydig, em imagens capturadas com aumento de 1000 vezes.

O volume dos componentes intertubulares foi estimado a partir do percentual ocupado por cada um e no volume total do parênquima testicular. O valor do volume do parênquima testicular foi obtido subtraindo-se o peso da túnica albugínea do peso bruto do testículo. O peso dos diferentes componentes testiculares foi considerado como volume, uma vez que a densidade volumétrica do testículo mamífero é de aproximadamente 1 (1,046) (Johnson et al., 1981).

#### *2.7. Diâmetro, volume nuclear e número de células de Leydig por testículo*

O diâmetro nuclear médio (DM) das células de Leydig foi registrado utilizando-se programa de análise de imagem Image Pro Plus, com aumento de 1000 vezes. Dez núcleos de células de Leydig foram mensurados em cada animal. Os núcleos mensurados foram aqueles que se mostraram os mais circulares possíveis e com a cromatina perinuclear e nucléolos bastante evidentes. O volume individual médio das células de Leydig foi calculado através do somatório do volume nuclear e

do volume citoplasmático das mesmas. O volume médio do núcleo foi calculado a partir da fórmula  $\frac{4}{3}\pi R^3$  onde, R = raio nuclear. Já o volume citoplasmático foi calculado considerando-se a relação núcleoplasmática e o volume nuclear desta célula, através da fórmula: volume citoplasmático = % citoplasma x volume nuclear / % núcleo.

Para o cálculo do número total de células de Leydig, o volume total destas células foi dividido pelo seu volume individual.

## 2.8. Análises estatísticas

Análise de variância seguida de teste de Duncan (5% de significância) foi utilizada para avaliar variações dos parâmetros estudados nos grupos controle e tratados. Os valores dos parâmetros estão representados pelas médias, desvios – padrão e coeficiente de variação.

## 3. Resultados

Os valores médios da proporção volumétrica para os núcleos das células de Leydig não diferiram estatisticamente entre os tratamentos com *Anemopaegma arvense* e *Heteropterys aphrodisiaca*. Entretanto, somente os animais tratados com *H. aphrodisiaca* nas duas concentrações utilizadas (grupos III e V) apresentaram valores estatisticamente maiores àqueles observados no grupo-controle (Tab. 1).

Os valores médios da proporção volumétrica para o citoplasma das células de Leydig no parênquima testicular não apresentaram variações significativas entre os animais tratados com *A. arvense* e com *H. aphrodisiaca* nas concentrações utilizadas. Porém, estes valores foram maiores e estatisticamente significativos apenas quando comparados com o grupo-controle (Tab. 1).

O valor médio obtido para a proporção volumétrica de vasos sanguíneos não diferiu estatisticamente entre os grupos.

Os maiores valores observados para a proporção volumétrica de vasos linfáticos foram registrados no grupo-controle. Esta proporção não diferiu estatisticamente entre os tratamentos com *A. arvense* e *H. aphrodisiaca*. Entretanto, somente os animais tratados com as duas concentrações de extrato de *H. aphrodisiaca* (grupos III e V), apresentaram valores médios estatisticamente menores aos observados para o grupo-controle (Tab. 1).

Tab. 1 – Proporção volumétrica (%) dos elementos do componente intertubular no testículo de ratos Wistar em idade reprodutiva após tratamento com extratos de raízes de *H. aphrodisiaca* e *A. arvensis*

Tratamentos	Núcleo de células de Leydig	Citoplasma de células de Leydig	Vasos sanguíneos	Vasos linfáticos	Tecido conjuntivo
Grupo I CV	7,763±0,14 <b>a</b> (1,87)	20,819±0,75 <b>a</b> (3,62)	20,510±0,74 <b>a</b> (3,64)	45,69±0,46 <b>a</b> (1,02)	5,20±0,12 <b>a b</b> (2,37)
Grupo II CV	8,626±1,55 <b>a b</b> (17,98)	24,386±4,37 <b>b</b> (17,93)	19,634±3,04 <b>a</b> (15,52)	42,25±7,71 <b>a b</b> (18,26)	5,09±0,92 <b>a b</b> (17,70)
Grupo III CV	9,029±0,57 <b>b</b> (6,41)	25,568±3,23 <b>b</b> (12,65)	20,137±3,67 <b>a</b> (18,24)	39,81±5,56 <b>b</b> (13,96)	5,45±0,92 <b>a</b> (16,90)
Grupo IV CV	8,786±1,97 <b>a b</b> (22,47)	24,386±5,03 <b>b</b> (20,64)	19,915±3,32 <b>a</b> (16,68)	42,32±9,09 <b>a b</b> (21,48)	4,57±0,65 <b>b</b> (14,25)
Grupo V CV	9,247±2,08 <b>b</b> (22,60)	25,219±3,09 <b>b</b> (12,29)	21,232±3,84 <b>a</b> (18,11)	39,33±6,76 <b>b</b> (17,19)	4,96±0,78 <b>a b</b> (15,79)

Médias seguidas por letras iguais nas colunas, não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ).

Dados expressos em médias  $\pm$  s.d . CV = coeficiente da variação.

Grupo I – controle: tratado com 0,5 mL/dia de solução salina; Grupo II - tratado com 0,5 mL/dia de *A. arvensis* (menor concentração); Grupo III – tratado com 0,5 mL/dia de *H. aphrodisiaca* (menor concentração); Grupo IV – tratado com 0,5 mL/dia de *A. arvensis* (maior concentração) e Grupo V – tratado com 0,5 mL/dia de *H. aphrodisiaca* (maior concentração).

O maior valor observado para a proporção volumétrica de tecido conjuntivo foi registrado nos animais tratados com *H. aphrodisiaca* em sua menor concentração (grupo III), e o menor foi nos animais tratados com *A. arvensis* em sua maior concentração (grupo IV). Estes valores médios extremos diferiram significativamente entre si, porém, não foram diferentes entre os demais grupos pesquisados (Tab. 1).

Os valores médios para o volume de núcleos e citoplasma de células de Leydig em ambos os testículos (Tab. 2), foram estatisticamente maiores nos grupos tratados com *H. aphrodisiaca* (grupos III e V), que nos demais grupos, porém, não diferiram significativamente entre si. Para os mesmos parâmetros, os animais tratados com *A. arvensis*, embora tenham apresentado valores médios superiores ao grupo-controle, não diferiram significativamente deste.

O volume ocupado pelos vasos sanguíneos no parênquima testicular, foi maior nos grupos tratados com *H. aphrodisiaca* nas duas concentrações (grupos III e V), embora não tenham diferido entre si. Apenas o grupo V apresentou-se significativamente maior que os demais grupos (Tab. 2).

Em relação ao volume ocupado pelos vasos linfáticos, não foi encontrada qualquer alteração significativa entre os grupos estudados (Tabela 2).

Tab. 2 – Volumes dos elementos do intertúbulo (mL) após 56 dias de tratamento com extratos de raízes de *Heteropterys aphrodisiaca* e *Anemopaegma arvense* aplicados a ratos Wistar em idade reprodutiva

Tratamentos	Núcleo de célula de Leydig	Citoplasma de célula de Leydig	Vasos sanguíneos	Vasos Linfáticos	Tecido Conjuntivo	Total do componente intertubular
Grupo I CV	0,035±0,013 a (37,14)	0,094±0,034 a (37,02)	0,092±0,03 a (36,05)	0,206±0,07 a (36,55)	0,023±0,008 a (37,62)	0,451±0,16a (36,53)
Grupo II CV	0,040±0,008 a (21,31)	0,114±0,022 a (19,95)	0,092±0,01 a (16,04)	0,198±0,03 a (19,61)	0,023±0,004 a (17,56)	0,469±0,03 a (6,51)
Grupo III CV	0,054±0,008 b (15,63)	0,154±0,028 b (18,32)	0,120±0,02 a b (20,52)	0,238±0,04 a (16,77)	0,032±0,006 b (20,53)	0,601±0,07 b c (11,89)
Grupo IV CV	0,042±0,011 a (27,19)	0,117±0,030 a (26,31)	0,095±0,02 a (23,53)	0,214±0,09 a (42,51)	0,022±0,005 a (26,08)	0,491±0,14 b c (29,72)
Grupo V CV	0,059±0,015 b (25,40)	0,163±0,039 b (24,14)	0,137±0,04 b (30,04)	0,270±0,12 a (44,58)	0,032±0,010 b (31,53)	0,663±0,20 c (31,38)

Médias seguidas por letras iguais nas colunas, não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ).

Dados expressos em médias  $\pm$  s.d. CV = coeficiente da variação.

Grupo I – controle: tratado com 0,5 mL/dia de solução salina; Grupo II – tratado com 0,5 mL/dia de *A. arvense* (menor concentração); Grupo III – tratado com 0,5 mL/dia de *H. aphrodisiaca* (menor concentração); Grupo IV – tratado com 0,5 mL/dia de *A. arvense* (maior concentração) e Grupo V – tratado com 0,5 mL/dia de *H. aphrodisiaca* (maior concentração).

Os valores referentes ao volume ocupado pelo tecido conjuntivo no parênquima testicular foram significativamente maiores nos grupos tratados com *H. aphrodisiaca* que nos demais grupos (Tab. 2).

As médias encontradas para o diâmetro dos núcleos de células de Leydig nos grupos tratados foram significativamente maiores que o diâmetro médio registrado nos animais do grupo-controle (Tab. 3). Os grupos tratados com as duas concentrações de *H. aphrodisiaca* (grupos III e V) apresentaram os maiores valores registrados para o diâmetro nuclear de células de Leydig, sendo que o grupo III, apresentou valor maior que todos os demais grupos, diferindo estatisticamente dos animais do grupo-controle e também dos grupos II e IV tratados com as duas concentrações de *A. arvense*. O grupo V não diferiu estatisticamente dos demais grupos tratados (Tab. 3).

A relação nucleoplasmática da célula de Leydig não foi estatisticamente diferente entre os grupos estudados.

Os valores médios do volume de uma célula de Leydig foram estatisticamente maiores nos grupos tratados quando comparados ao grupo-controle. Considerando somente os animais tratados, observou-se que aqueles submetidos aos extratos de *H. aphrodisiaca* (grupos III e V) apresentaram volumes individuais de células de Leydig



Tab. 3 – Diâmetro do núcleo ( $\mu\text{m}$ ), volume de células de Leydig (mL) e número de células de Leydig por testículo e por grama de testículo em ratos Wistar, em idade reprodutiva após tratamento com extratos de raízes de *H. aphrodisiaca* e *A. arvensis*

Tratamentos	Diâmetro do núcleo da célula de Leydig	Relação nucleoplasmática (%)	Volume de uma célula de Leydig ( $10^3$ )	Nº de célula de Leydig por testículo ( $10^6$ )	Nº de célula de Leydig por/g de testículo ( $10^6$ )	Volume total de células de Leydig
Grupo I CV	6,59 $\pm$ 0,10 a (1,58)	27,17 $\pm$ 0,83 a (3,07)	5,53 $\pm$ 2,61 a (4,72)	233,4 $\pm$ 83,45 a (35,74)	81,3 $\pm$ 28,01 a (34,43)	0,129 $\pm$ 0,04 a (36,99)
Grupo II CV	6,91 $\pm$ 0,23 b (3,40)	26,20 $\pm$ 2,62 a (10,00)	6,70 $\pm$ 1,06 b (15,86)	235,1 $\pm$ 48,35 a (20,56)	80,8 $\pm$ 14,76 a (18,27)	0,155 $\pm$ 0,02 a (19,27)
Grupo III CV	7,50 $\pm$ 0,07 c (1,00)	26,28 $\pm$ 1,95 a (7,42)	8,45 $\pm$ 0,48 c (5,73)	246,2 $\pm$ 37,81 a (15,36)	83,1 $\pm$ 9,51 a (11,44)	0,208 $\pm$ 0,03 b (17,41)
Grupo IV CV	6,92 $\pm$ 0,34 b (5,02)	26,49 $\pm$ 3,12 a (11,78)	6,71 $\pm$ 1,46 b (21,86)	241,6 $\pm$ 56,79 a (23,50)	79,4 $\pm$ 16,67 a (20,99)	0,159 $\pm$ 0,04 a (25,64)
Grupo V CV	7,22 $\pm$ 0,46 b c (6,38)	26,64 $\pm$ 3,29 a (12,36)	7,50 $\pm$ 1,20 b c (16,03)	304,8 $\pm$ 93,69 a (30,74)	95,4 $\pm$ 26,02 a (27,28)	0,222 $\pm$ 0,05 b (23,29)

Médias seguidas por letras iguais nas colunas, não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ).

Dados expressos em médias  $\pm$  s.d. CV = coeficiente da variação.

Grupo I – controle: tratado com 0,5 mL/dia de solução salina; Grupo II - tratado com 0,5 mL/dia de *A. arvensis* (menor concentração); Grupo III - tratado com 0,5 mL/dia de *H. aphrodisiaca* (menor concentração); Grupo IV - tratado com 0,5 mL/dia de *A. arvensis* (maior concentração) e Grupo V - tratado com 0,5 mL/dia de *H. aphrodisiaca* (maior concentração).

superiores aos observados nos grupos tratados com os extratos de *A. arvensis* (grupos II e IV). Aumento estatisticamente significativo foi registrado no grupo III quando comparado aos grupos II e IV, mas a diferença não foi significativa quando este grupo foi comparado ao grupo V. Os grupos II e IV, não diferiram significativamente entre si (Tabela 3).

As médias encontradas para o número de células de Leydig por testículo não variaram significativamente entre os grupos estudados, porém, o grupo tratado com a maior concentração de *H. aphrodisiaca* (grupo V), apresentou aumento substancial (30,59%) em relação aos demais grupos (Tab. 3). Comportamento semelhante foi observado para o número de células de Leydig por grama de testículo, onde as médias encontradas não mostraram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos estudados, com os animais do grupo V apresentando os maiores valores registrados para este parâmetro (Tab. 3).

Os valores observados para o volume total de células de Leydig em ambos os testículos apresentaram comportamento semelhante ao observado para o diâmetro do núcleo e para o volume individual da célula de Leydig, em que os animais submetidos aos tratamentos com *H. aphrodisiaca* (grupos III e V) apresentaram maiores valores em relação aos demais grupos. Porém neste caso, os resultados

foram estatisticamente significativos se comparados ao grupo-controle e aos grupos II e IV (Tab. 3).

#### 4. Discussão

A porção endócrina do testículo de mamíferos é representada pelas células de Leydig que juntamente com células conjuntivas, leucócitos, vasos sanguíneos e linfáticos, formam o espaço intertubular ou tecido intertubular. O arranjo e a proporção destes componentes variam nas diferentes espécies de mamíferos e mantêm o nível de testosterona, principal produto da célula de Leydig, que é duas a três vezes maior no fluido intersticial que nos vasos sanguíneos testiculares, e de 40 a 250 vezes maior que no sangue periférico (Sharpe, 1994).

Durante o desenvolvimento testicular, mais precisamente na puberdade, e durante a recrudescência testicular em animais sazonais, a célula de Sertoli, principal reguladora do processo espermatogênico, deixa de ser modulada unicamente pelo hormônio folículo estimulante (FSH) para ser modulada pela testosterona (Means et al., 1976; Jégou et al., 1983; Sharpe, 1994). Assim, como preparação para esta substituição, as células de Leydig devem ser numérica e fisiologicamente adequadas para dar suporte ao novo requerimento de testosterona, apesar do FSH parecer influenciar diretamente no desenvolvimento desta população celular (Sharpe, 1994).

Os animais utilizados no presente experimento foram animais em idade reprodutiva. Desta forma, já apresentavam estabelecidas as populações de células de Leydig requeridas para o pleno funcionamento do processo espermatogênico. O extrato de *H. aphrodisiaca* (grupos III e V) influenciou significativamente a proporção volumétrica (grupo III) e o volume total de tecido intertubular (grupo V) em relação aos demais grupos. Com exceção do volume de vasos linfáticos, todos os demais componentes do tecido intertubular responderam de maneira significativa ao tratamento com *H. aphrodisiaca*.

Além do já conhecido controle endócrino através do eixo hipotálamo-hipófise-testículo, um elaborado sistema de comunicação intercelular é desenvolvido no testículo para assegurar o perfeito funcionamento do processo espermatogênico (Roser, 2000). Assim, as células envolvidas direta ou indiretamente na produção dos gametas masculinos como células de Sertoli, células germinativas, células de Leydig, células mióides peri-tubulares e leucócitos mantêm um sistema autócrino/parácrino

que modula esta intrincada rede de interação celular, que é fundamental para o perfeito funcionamento do testículo (Schlatt, 1997). A contribuição da célula de Leydig na comunicação parácrina no testículo envolve a produção de grande quantidade de substâncias (Lejeune et al., 1997; Roser, 2000).

Inúmeros fatores podem influir na quantidade de células de Leydig por animal, dentre os quais podem ser destacados a quantidade de LH disponível, o número de receptores de LH por célula, a 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 por meio de vasos linfáticos, vasos sangüíneos e fluido seminal, o volume sangüíneo do animal, e a taxa de metabolismo da testosterona (Russell et al., 1994; Russell, 1996).

Estudos correlacionando estrutura e função das células de Leydig em várias espécies de mamíferos mostraram que, variações na secreção de testosterona, resultam mais da capacidade individual desta célula em secretar andrógeno do que de diferenças do volume total das mesmas no testículo (Ewing et al., 1979). Para Zirkin et al. (1980), a capacidade produtiva da célula de Leydig está altamente associada com a quantidade de retículo endoplasmático liso presente na célula de Leydig. Porém, Castro et al. (2002) descrevem, que em coelhos existe uma correlação altamente significativa do percentual volumétrico do núcleo e do número de células de Leydig por grama de testículo, com os níveis plasmáticos e testiculares de testosterona.

No presente trabalho, os animais tratados com *H. aphrodisiaca* apresentaram proporções volumétricas de núcleos e de citoplasma de células de Leydig significativamente maiores que nos animais do grupo-controle. A proporção volumétrica total das células de Leydig no testículo dos animais tratados com ambas as plantas foi significativamente maior que o controle o que refletiu em um comportamento semelhante para o volume total ocupado pelas células de Leydig nos testículos, porém de forma significativa apenas nos grupos tratados com *H. aphrodisiaca*. Uma vez que o número total de células de Leydig por testículo e por grama de testículo não variou estatisticamente entre os grupos estudados, o aumento volumétrico descrito só se justifica com a hipertrofia individual destas células, o que foi constatado estatisticamente, tanto entre os grupos tratados com *A. arvensis* e *H. aphrodisiaca* quanto destes com o grupo-controle. Esta hipertrofia ocorreu significativamente para o volume individual e diâmetro nuclear de células de

Leydig. 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. Assim, pode-se supor que principalmente nos animais tratados com *H. aphrodisiaca*, os níveis plasmático e testicular de testosterona apresentem-se mais elevados que no grupo-controle.

Estudos com *Barleria prionitis* mostraram que o extrato da raiz dessa planta é capaz de reduzir significativamente a área do núcleo e citoplasma das células de Leydig de ratos albinos, o que segundo tais estudos poderiam indicar que a baixa produção de andrógenos interferiu na fertilidade dos animais (Gupta et al., 2000). O mesmo foi encontrado em estudos com extrato das folhas de *Colebrookia oppositifolia* (Gupta et al., 2001). O diâmetro nuclear das células de Leydig de ratos tratados com extrato de *Abrus precatorius* reduziu com o tempo de tratamento (Sinha, 1990), e o de ratos tratados com piperina, reduziu com o aumento da dose administrada (Malini et al., 1999).

## 5. Conclusões

Extratos das raízes das espécies *Heteropterys aphrodisiaca* e *Anemopaegma arvense*, administradas cronicamente a ratos Wistar adultos, em duas dosagens distintas, por meio de gavagem, influenciaram significativamente os aspectos quantitativos e morfológicos do espaço intertubular. Assim, a proporção volumétrica do citoplasma das células de Leydig, o diâmetro nuclear e o volume de uma célula de Leydig aumentaram em relação ao grupo-controle. Entretanto, a proporção volumétrica do núcleo de células de Leydig, os volumes do núcleo e do citoplasma das células de Leydig, o volume total dessas células, bem como o volume de tecido conjuntivo, apresentaram-se maiores somente nos animais tratados com *Heteropterys aphrodisiaca* nas duas concentrações utilizadas. Por outro lado, os valores obtidos para proporção de vasos linfáticos apresentaram-se significativamente menores nos dois grupos tratados com extratos de *Heteropterys aphrodisiaca* em relação ao grupo-controle. Portanto, *Heteropterys aphrodisiaca* e *Anemopaegma arvense* foram capazes de produzir efeitos positivos na maioria dos parâmetros avaliados.

## Referências Bibliográficas

- Baumbusch, F., Papp, G. K., Kpa, Z. S., 1995. Treatment for potency problems with Afrodor 2000. *Acta Chirurgica Hungarica* 35(1-2), 87-92.
- Briganti, A., Salonia, A., Gallina, A., Suardi, N., Rigatti, P., Montorsi, F., 2004. Emerging oral drugs for erectile dysfunction. *Expert Opinion on Emerging Drugs* 9(1), 179-189.
- Castro, A.C.S., Berndtson, W.E., Cardoso, F.M., 2002. Plasma and testicular testosterone levels, volume density and number of Leydig cells and spermatogenic efficiency of rabbits. *Brazilian Journal of Medicine and Biological Research* 35, 493-498.
- Cooper, A.J., Smith, C.G., Ismail, A.A., Loraine, J.A., 1973. A controlled trial of Potensan Forte ("aphrodisiac" and testosterone combined) in impotence. *Journal of Medicine Science* 142(4), 155-161.
- Eskeland, B., Thom, E., Svendsen, K. O., 1997. Sexual desire in men: effects of oral ingestion of a product derived from fertilized eggs. *The Journal of International Medical Research* 25(2), 62-70.
- Ewing, L. L., Zirkin, B.R., Cochran, R. C., Kromann, N., Peters, C., Ruiz-Bravo, N., 1979. Testosterone secretion by rat, rabbit, guinea pig, dog and hamster testes perfused in vitro: correlation with Leydig cell mass. *Endocrinology* 105(5), 1135-1142.
- Gaines, K.K., 2004. Tadalafil (Cialis) and vardenafil (Levitra) recently approved drugs for erection dysfunction. *Urologic Nursing* 24(1), 46-48.
- Galvão, S.M.P., Marques, L.C., Oliveira, M.G.M., Carlini, E.A., 2002. *Heteropterys aphrodisiaca* (extract BST0289): a Brazilian plant that improves memory in aged rats. *Journal of Ethnopharmacology* 79, 305-311.
- Guarim Neto, G., 1996. *Plantas Medicinais do Estado de Mato Grosso*. Associação Brasileira de Educação Agrícola Superior, UFMT. Instituto de Biociências. ABEAS. Brasília. 72 p.
- Gupta, R.S., Kumar, P., Dixit, V.P., Dobhal, M.P., 2000. Antifertility studies of the root extract of the *Barleria prionitis* Linn in male albino rats with special reference to testicular cell population dynamics. *Journal of Ethnopharmacology* 70, 111-117.
- 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.
- Hafez, B., Hafez, E.S., 2004. Andropause: endocrinology, erectile dysfunction and prostate pathophysiology. *Archives of Andrology* 50(2), 45-68.

- Jégou, B., Le Gac, F., Irby, D.C., De Krestser, D.M., 1983. Studies on seminiferous tubule fluid production in the adult rat: effect of hypophysectomy and treatment with FSH, LH and testosterone. *Journal of Andrology* 6, 249-260.
- Johnson, L., Petty, C.S., Neves, W.B., 1981. A new approach to qualification of spermatogenesis and its application to germinal cell attrition during human spermatogenesis. *Biology Reproduction* 25, 217-226.
- Kloner, R. A., 1998. Viagra: what every physician should know. *Ear Nose Throat Journal* 77(9), 783-786.
- Kunzfeld, M., 1966. Trials with "Pasuma" of the Cascan Company, Wiesbaden. Preliminary report. *Zeitschrift Fur Haut-und Geschlechtskrankheiten* 41(4), 156-157.
- Lejeune, H., Chuzel, F., Sanchez, P., Durand, P., Mather, J.P., Saez, J.M., 1997. Stimulation of both recombinant inhibin A and activin A on immature Leydig cell function in vitro. *Endocrinology* 138, 4783-4791.
- Lorenzi, H., Matos F.J.A., 2002. *Plantas Mediciniais do Brasil – Nativas e Exóticas*. São Paulo. Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda., Editora Nova Odessa. 512 p.
- 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.
- Means, A.R., Fakunding, J. L., Huckins, C., Tindall, D.J., Vitale, R., 1976. Follicle-stimulating hormone, the Sertoli cell and spermatogenesis. *Recent Progress Hormone Research* 32, 477-527.
- Mendis-Handagama, S.M., Zirkin, B.R., Ewing, L.L., 1988. Comparison of components of the testis interstitium with testosterone secretion in hamster, rat, and guinea pig testes perfused in vitro. *American Journal of Anatomy* 181(1), 12-22.
- Miller, W.W. Jr., 1968. Afrodex in the treatment of male impotence: a double-blind cross-over study. *Current Therapeutic Research Clinical Experimental* 10(7), 354-359.
- Pelliniemi, L.J., Kuopio, T., Fröjdman, K., 1996. The cell biology and function of the fetal Leydig cell. In: Payne, A.H., Hardy, M.P., Russell, L.D. (Eds.), *The Leydig cell*. Ed. Viena. Cache River Press. Cap. 5, 143-157.
- Pott, A., Pott, V.J., 1994. *Plantas do Pantanal*. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária do Pantanal – Corumbá, MS: Embrapa-SPI. 320 p.
- Roser, J.F., 2000. Reproductive endocrinology of the stallion. In: Samper, J.C. (Ed.), *Equine Breeding Management and Artificial Insemination*. Saunders Company, Philadelphia 41-52.

- Russell, L.D., 1996. Mammalian Leydig cell structure. In: Payne, A.H., Hardy, M.P., Russell, L. D. (Ed.), *The Leydig cell*. Cache River Press. Vienna, IL. 802 p.
- Russell, L.D., Chandrashekar, V., Bartke, A., Sinha-Hikim, A.P., 1994. The hamster Sertoli cell in early testicular regression and early recrudescence: a stereological and endocrine study. *International Journal of Andrology* 17(2), 93-106.
- Sandroni, P., 2001. Aphrodisiacs past and present: a historical review. *Clinical Autonomic Research* 11(5), 303-307.
- Scheen, A.J., 2003. Medication of the month. Vardenafil (Levitra). *Revue Medicale Liege* 58(9), 576-579.
- Schlatt, S., Meinhardt, A., Nieschlag, E., 1997. Paracrine regulation of cellular interactions in the testis: factors in search of a function. *European Journal of Endocrinology* 137, 107-117.
- Sharpe, R.M., 1994. Regulation of spermatogenesis. In: Knobil, E, Neill, J.D. (Eds.). *The physiology of reproduction*, ed.2, New York: Raven Press, 1, Cap. 22, 1363-1434.
- Sinha, R., 1990. Post-testicular antifertility effects of *Abrus precatorius* seed extract in albino rats. *Journal of Ethnopharmacology* 28, 173-181.
- Sobotka, J.J., 1969. An evaluation of Afrodex in the management of male impotency: a double-blind crossover study. *Current Therapeutic Research Clinical Experimental* 11(2), 87-94.
- Stark, S., Sachse, R., Liedl, T., Hensen, J., Rohde, G., Wensing, G., Horstmann, R., Schrott, K.M., 2001. Vardenafil increases penile rigidity and tumescence in men with erectile dysfunction after a single oral dose. *European Urology* 40(2), 181-188.
- Weinbauer, G.F., Wessels, J., 1999. Paracrine control of spermatogenesis. *Andrology* 31, 149-262.
- Zirkin, B.R., Ewing, L.L., Kromann, N., Cochran, R.C., 1980. Testosterone secretion by rat, rabbit, guinea pig, dog, and hamster testes perfused in vitro: Correlation with Leydig cell ultrastructure. *Endocrinology* 107, 1867-1874.
- Zirkin, B.R., Awoniyi, C., Griswold, M.D., Russell, L.D., Sharpe, R., 1994. Is FSH required for adult spermatogenesis? *Journal of Andrology* 15, 273-276.
- Wagner, C., 2001. Apomorphine SL (Uprima): a new treatment for the management of erectile dysfunction. *International Journal of Impotence Research* 13(3), 51-52.

## 2. CONCLUSÕES GERAIS

Extratos de raízes das espécies *Heteropterys aphrodisiaca* e *Anemopaegma arvense*, administrados cronicamente a ratos Wistar adultos, em duas dosagens distintas, por meio de gavagem influenciaram significativamente aspectos biométricos corporais e quantitativos do parênquima testicular, quando comparados com o grupo-controle.

1 - O peso corporal apresentou-se maior nos animais tratados com *Heteropterys aphrodisiaca*, e no grupo de animais tratados com maior concentração de *Anemopaegma arvense*.

2 - O peso dos testículos e do parênquima testicular aumentou em todos os tratamentos, porém de forma mais acentuada, nos animais tratados com a maior concentração de *Heteropterys aphrodisiaca*.

3 - A espessura do epitélio seminífero e o diâmetro tubular aumentaram em todos os tratamentos em relação ao grupo-controle.

4 - A proporção volumétrica do citoplasma das células de Leydig, o diâmetro nuclear e o volume de uma célula de Leydig aumentaram em relação ao grupo-controle em todos os grupos, em ambas as concentrações utilizadas.



5 - A proporção volumétrica de células de Leydig e os volumes do núcleo e do citoplasma dessas células apresentaram aumentos mais acentuados nos animais tratados com *Heteropterys aphrodisiaca* nas duas concentrações utilizadas, quando comparados com os animais do grupo-controle.

6 - Os produtos obtidos das raízes das espécies *Heteropterys aphrodisiaca* e *Anemopaegma arvense* promoveram aumentos na maioria dos parâmetros analisados, sendo mais expressivos nos animais submetidos ao extrato de *Heteropterys aphrodisiaca*.