



FACULDADE DE PINDAMONHANGABA

**Juliana Aparecida dos Santos Queiroz
Rosimeire Magda de Sousa
Raquel Aparecida Palumino**

**EFEITO DO EXTRUSADO DE *Carica papaya* L NA
PUBERDADE DE RATOS WISTAR**

**Pindamonhangaba-SP
2013**



**Juliana Aparecida dos Santos Queiroz
Rosimeire Magda de Sousa
Raquel Aparecida Palumino**

**EFEITO DO EXTRUSADO DE *Carica papaya* L NA
PUBERDADE DE RATOS WISTAR**

Monografia de conclusão de curso apresentada como parte dos requisitos para obtenção de Diploma de Bacharel pelo curso de Farmácia da Faculdade de Pindamonhangaba.

Orientador: Prof. Dr. Claudemir de Carvalho

**Pindamonhangaba-SP
2013**

Palumino, Raquel Aparecida; Queiroz, Juliana Aparecida dos Santos; Sousa, Rosimeire Magda

O efeito do extrusado de *Carica papaya* L na puberdade de ratos Wistar / Juliana Aparecida dos Santos Queiroz; Raquel Aparecida Palumino; Rosimeire Magda de Sousa / Pindamonhangaba-SP : FAPI-Faculdade de Pindamonhangaba, 2013.
24f. : il

Monografia (Graduação em Farmácia) FAPI-SP.

Orientador: Prof. Dr. Claudemir de Carvalho.

1 *Carica papaya*. 2 Puberdade. 3 Espermatogênese. 4 Patologia espermática.

I O efeito do extrusado de *Carica papaya* L na puberdade de ratos Wistar II Raquel Aparecida Palumino; Juliana Aparecida dos Santos Queiroz; Rosimeire Magda de Sousa.



**JULIANA APARECIDA DOS SANTOS QUEIROZ
ROSIMEIRE MAGDA DE SOUSA
RAQUEL APARECIDA PALUMINO**

**EFEITO DO EXTRUSADO DE *Carica papaya* L NA PUBERDADE DE RATOS
WISTAR**

Monografia de conclusão de curso apresentada
como parte dos requisitos para obtenção do
diploma de Bacharel pelo Curso de Farmácia da
Faculdade de Pindamonhangaba.

Data: 09/12/2013

Resultado: Aprovado

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Claudemir de Carvalho

Faculdade de Pindamonhangaba

Assinatura _____

Profa. Dra. Sandra I. Sprogis dos Santos

Faculdade de Pindamonhangaba

Assinatura _____

Profa. MSc. Heleneide C. Campos Brum

Faculdade de Pindamonhangaba

Assinatura _____

Dedicamos este trabalho aos nossos pais, que nos ensinaram o valor da vida, da honestidade, da amizade e do amor, a nossas irmãs e marido, e a todos que nos ajudaram a transpor os obstáculos ao longo dessa caminhada e a alcançar mais essa vitória. Obrigadas por tudo.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos primeiramente a Deus, nosso Mestre maior, pela sabedoria que nos foi proporcionada não só durante esses quatro anos, mas ao longo de nossas vidas, para que pudéssemos alcançar nosso objetivo.

À Faculdade de Pindamonhangaba pela concessão da bolsa de estudo que permitiu que atingíssemos nosso sonho.

À bióloga Marcela Rosana da Silva Santos pela ajuda e dedicação com os experimentos.

Em especial ao Prof. Dr. Claudemir de Carvalho, pela maneira extraordinária com que orientou nosso trabalho, por repartir seus conhecimentos, vivências, experiências, pela paciência, confiança, amizade e por nos fazer acreditar que somos capazes de transformar sonhos em realidade.

“Que todo o nosso ser louve ao Senhor, e que não esqueçamos nenhuma das suas bênçãos!”

Salmos 103:2

RESUMO

Plantas medicinais vêm sendo utilizadas pela população mundial como matéria-prima para o tratamento informal, cura e prevenção de doenças. *Carica papaya* L popularmente conhecida como mamão, tem sido muito estudada nas últimas décadas pelo seu grande potencial como contraceptivo masculino. Um agente tóxico pode interferir na maturação sexual, na produção e no transporte de gametas, no ciclo espermatogênico, no comportamento sexual e na fertilidade. Este trabalho teve como objetivo investigar os efeitos do extrusado de *Carica papaya* verde sobre o estabelecimento da puberdade em ratos. Foi realizado um modelo experimental com 30 ratos Wistar recém desmamados provenientes do biotério da instituição, divididos em três grupos experimentais e um grupo controle. Os animais experimentais receberam suco de *C papaya* à vontade. Foram realizadas análises histológicas por microscopia óptica de amostras testiculares e epididimárias e análise microscópica de amostras de espermatozoides coletados do epidídimo. Estas análises mostraram que o extrusado de *C papaya* não teve efeitos sobre o estabelecimento da puberdade, ou seja, não impediu a complementação do primeiro ciclo da espermatogênese, o que está evidente pela presença de células espermáticas nos testículos e no epidídimo dos ratos tratados. No entanto, o tratamento com o extrusado de mamão verde causou redução da motilidade espermática e induziu patologias como decapitação e cauda enrolada, fatores que afetam negativamente a fertilidade. Estas alterações foram tempo dependentes e, de acordo com a literatura podem ser reversíveis.

Palavras-chave: *Carica papaya*. Puberdade. Espermatogênese. Patologia espermática.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	8
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	9
3 MÉTODO.....	12
3.1 Animais.....	12
3.2 Preparo e administração do extrusado.....	12
3.3 Pesagem e avaliação de toxicidade aguda.....	12
3.4 Eutanásia, necropsia e coleta de amostras.....	12
3.5 Microscopia óptica.....	13
3.6 Análise espermática.....	13
4 RESULTADOS	14
4.1 Pesagem dos animais, consumo diário de extrusado, avaliação de toxicidade aguda	14
4.2 Massa dos testículos.....	14
4.3 Microscopia dos testículos.....	15
4.4 Análise espermática.....	15
5 DISCUSSÃO	17
6 CONCLUSÃO.....	19
REFERÊNCIAS.....	20

1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais vêm sendo, há muito tempo, utilizadas pela população mundial como matéria-prima para o tratamento informal, cura e prevenção de doenças. A popularidade alcançada pelo tratamento de doenças mediante o uso de plantas, entretanto, aumentou a preocupação dos pesquisadores em relação à eficácia dos tratamentos fitoterápicos e aos reais efeitos que os mesmos possam exercer no organismo.

As plantas servem como fonte natural de substâncias, mas, seu uso, sob o ponto de vista terapêutico, não deve ser indiscriminado. Como preconiza a toxicologia, toda substância, mesmo sendo de origem natural, pode ser considerada um agente tóxico, dependendo das condições de exposição, como dose administrada ou absorvida, tempo e frequência de exposição e vias de administração.¹

Carica papaya L, popularmente conhecida como mamão, tem sido uma espécie de planta muito estudada nas últimas décadas pelo seu grande potencial como contraceptivo masculino. Os efeitos da administração da *C. papaya* no sistema reprodutor masculino são bastante relatados e discutidos. Contudo, por tratar-se de um sistema muito sensível à ação de fatores nocivos, a exposição a determinados agentes pode gerar alterações que comprometem o desempenho reprodutivo do indivíduo.

Um agente tóxico pode interferir na maturação sexual, na produção e no transporte de gametas, no ciclo espermatogênico, no comportamento sexual e na fertilidade.² Por esta razão, neste trabalho objetivou-se investigar os efeitos do extrusado de *C papaya* verde sobre o estabelecimento da puberdade em ratos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A reprodução masculina é um processo multifacetado que envolve testículos, epidídimo, glândulas sexuais acessórias e hormônios associados. Este processo apresenta dois eventos altamente organizados e complexos, chamados espermatogênese e esteroidogênese que são vitais para a perpetuação da vida. Espermatogênese é um processo altamente dinâmico e sincronizado, que ocorre dentro dos túbulos seminíferos do testículo, com o apoio das células somáticas de Sertoli, levando à formação de espermatozóides maduros a partir de células-tronco indiferenciadas.^{3,4} O compartimento intersticial, que compreende as células de Leydig, é o local de esteroidogênese.^{3,5}

A puberdade caracteriza-se como um evento dinâmico e complexo que envolve um conjunto de mudanças físicas, comportamentais e hormonais, através do qual o indivíduo alcança a maturidade sexual e a capacidade reprodutiva.⁶

Na puberdade as células germinativas primordiais são as espermatogônias que aumentam de tamanho e se tornam mitoticamente ativas. Estas células sofrem o processo de espermatogênese, dividida em quatro etapas principais: 1- mitoses para a renovação de espermatogônias, 2- meioses para a formação de espermátides, 3- espermiogênese para o desenvolvimento e diferenciação das espermátides e 4- espermição para separação das espermátides maduras, i.e. espermatozóides, do epitélio seminífero, com fagocitose dos corpos residuais pelas células de Sertoli. Nos mamíferos a espermatogênese ocorre no epitélio seminífero dos testículos. As células de Sertoli são responsáveis por nutrir e dar suporte para o desenvolvimento das células germinativas.⁷

Os testículos são órgãos pares localizados no interior da bolsa escrotal e revestidos externamente por uma cápsula de tecido conjuntivo denso - a túnica albugínea. Externamente e adjacente à túnica albugínea encontra-se uma camada de peritônio visceral denominada túnica vaginal, que também reveste a superfície interna da bolsa escrotal.⁸ Os testículos são compostos por interstício e túbulos seminíferos, responsáveis pela esteroidogênese e espermatogênese, respectivamente.

Cada testículo de rato adulto apresenta, em média, 20 túbulos seminíferos, contém quantidade escassa de tecido conjuntivo e não apresenta lóbulos. Existem pequenas áreas no final de cada túbulo seminífero que apresentam um epitélio de transição.⁹ Em animais adultos, os túbulos seminíferos são constituídos por epitélio germinativo, composto por células de Sertoli e células germinativas (espermatogônias, espermátocitos primários, secundários e espermátides) organizadas em camadas concêntricas.

A célula de Sertoli é uma célula somática que se estende desde a lâmina basal até a luz do túbulo seminífero. Desempenha variadas funções importantes no processo espermatogênico, dentre elas podemos destacar o suporte estrutural e nutricional às células germinativas em desenvolvimento, a formação da barreira hematotesticular através de junções intercelulares, fagocitose, e a secreção de fluido e hormônios.⁹

O interstício é composto por tecido conjuntivo, vasos sanguíneos e linfáticos, nervos, macrófagos e células de Leydig, as quais são responsáveis pela produção de andrógenos, substrato para uma variedade de outros hormônios esteroides. Em ratos, observa-se número reduzido de células de Leydig, que frequentemente se localizam próximo aos espaços linfáticos e se agrupam ao redor de vasos sanguíneos.⁹

Nos testículos, os túbulos seminíferos convergem formando a rede testicular, a qual se continua com os ductos eferentes. Estes ductos, por sua vez, convergem para formar um ducto único e altamente enovelado denominado epidídimo.¹⁰

O epidídimo de ratos é dividido em quatro regiões distinguíveis macroscopicamente: segmento inicial, porção mais proximal do ducto epididimário, diretamente ligada aos ductos eferentes; cabeça, região proximal do ducto epididimário em forma de bulbo; corpo, porção estreita localizada na região média do órgão; e cauda, região mais distal do epidídimo de onde emerge o ducto deferente.¹¹ Ao nascimento, o ducto epididimário apresenta-se revestido internamente por células epiteliais indiferenciadas e, externamente, por células musculares lisas em um interstício de tecido conjuntivo frouxo.¹² A diferenciação do órgão continua durante o desenvolvimento pós-natal e, no rato, divide-se em três fases distintas: período indiferenciado, período de diferenciação e período de expansão.

O período indiferenciado se estende do primeiro dia pós-natal (DPN) ao DPN 15 e caracteriza-se pela proliferação das células epiteliais indiferenciadas, as quais apresentam-se como células colunares sem estereocílios. Durante o período de diferenciação (DPN 16 a 44), as células colunares indiferenciadas originam diversos tipos celulares, tais como células estreitas, claras, principais, apicais, halo e basais. Ao final do período de diferenciação, o ducto epididimário deixa de ser um canal uniforme e passa a apresentar diferenciações regionais altamente especializadas ao longo de sua extensão, decorrentes tanto de mudanças estruturais quanto fisiológicas das células epiteliais.¹³ No período de expansão (DPN 44 até a vida adulta do animal), ocorrem o aparecimento de espermatozóides na luz do ducto epididimário e o aumento do tamanho do órgão em decorrência do aumento da sua extensão e peso.¹⁴ Os mecanismos que regulam o desenvolvimento pós-natal do ducto epididimário ainda não são conhecidos.

Em ratos, um ciclo da espermatogênese dura aproximadamente 12 dias e apresenta-se composto por 14 estágios. Uma espermatogônia necessita de 4,5 ciclos para formar um espermatozóide, o que significa que a espermatogênese completa de rato tem duração de 52 a 53,2 dias, dependendo da linhagem animal avaliada.¹⁵

As alterações espermáticas mais frequentes em espermatozóides são as do tipo gota citoplasmática distal, gota citoplasmática proximal, cauda quebrada, cauda enrolada e cabeça isolada. Estes defeitos espermáticos podem ocorrer devido a alterações primárias (falha na espermatogênese no testículo), secundárias (durante a passagem dos espermatozóides no epidídimo) ou ainda terciárias (HAFEZ, 2004).¹⁶

O processo espermatogênico está sob o controle neuroendócrino do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal e tem início a partir da puberdade, devido a um aumento na secreção de gonadotrofinas: FSH- hormônio folículo-estimulante; LH- hormônio luteinizante. O FSH age nas células de Sertoli estimulando suas funções sobre a espermatogênese, enquanto o LH estimula as células de Leydig a produzirem andrógenos.^{17,18}

Vários ativos biológicos oriundos de plantas, quando introduzidos em nosso corpo, podem desregular o processo de espermatogênese e podem causar alterações tanto morfológicas quanto funcionais no interior das células. Alguns extratos vegetais têm sido relatados como capazes de afetar a espermatogênese por servirem como agentes reguladores da fertilidade interferindo tanto com a produção como a maturação espermática, estocagem de espermatozóides ou mesmo o transporte no trato genital.^{19,20}

Em alguns países orientais como Índia, Tibet e Sirilanka a população utiliza produtos vegetais para regular a fertilidade de homens e mulheres.²¹

Carica papaya é uma planta tropical e subtropical da família Caricaceae, cujas sementes contêm proteínas, carboidratos e ácidos graxos, além de produzirem um óleo contendo ácido oléico, que tem se mostrado um dos principais responsáveis pela causa de infertilidade em ratos machos.²² Possui também vários outros compostos incluindo os alcalóides de piperidina como carpaína e pseudocarpaína,^{23,24} e compostos fenólicos tais como o ácido protocatecólico, p-cumárico, 5,7-dimetoxicumarina, ácido clorogênico, campferol e quercetina na folha,^{23,25} “proteases tais como papaína, quimiopapaína A e B, e de papaína endopeptidase III e IV no látex e outras partes do arbusto,^{26,27} isotiocianato na semente,²⁸ ácidos orgânicos não-voláteis nos frutos²⁹ e os compostos cianogênicos na folha, caule e frutos.^{23,30}

Na década de 2000, foram vários os trabalhos investigando diferentes efeitos e mecanismos de ação dos ativos presentes na *C papaya* sobre a fertilidade de machos.^{31-33,19,34}

No entanto, não foi encontrado relato de investigação sobre os efeitos da *C papaya* sobre o estabelecimento da puberdade em machos.

3 MÉTODO

3.1 Animais

Foi realizado experimento com 30 ratos machos com 30 dias de nascidos, fornecidos e mantidos pelo Biotério da instituição. Estes animais foram separados em três grupos experimentais, com oito animais cada e um grupo controle com seis animais. Os animais experimentais foram mantidos em gaiola de polipropileno (60x50x22 cm), em salas com temperatura controlada (23 ± 2 °C), obedecendo a um ciclo claro/escuro de 12 horas. Receberam ração comercial e extrusado do mamão verde à vontade.

3.2 Preparo e administração do extrusado

Toda manhã foi coletado um mamão verde que depois de lavado foi fragmentado em pequenos cubos; cem gramas destes cubos foram triturados com água filtrada no liquidificador. A solução obtida foi coada em peneira plástica de malha pequena e depois filtrada em funil de vidro com algodão. O volume obtido era completado para um litro.

Este suco foi oferecido à vontade, em mamadeira com 500 mL. Todas as manhãs foi anotado o volume consumido e trocada a mamadeira por outra contendo extrusado recém preparado.

3.3 Pesagem e avaliação de toxicidade aguda

Os animais tratados foram observados nas primeiras 24 horas quanto a possíveis sinais de toxicidade aguda como diarreia, perda de apetite, pelos arrepiados, comprometimento da marcha e da capacidade de prensão.

3.4 Eutanásia, necropsia e coleta de amostras

A eutanásia foi realizada por exsanguinação por punção cardíaca sob anestesia (0,2 mL/100g de peso vivo de uma solução 1:1 de cloridrato de xilasina 2% e cloridrato de quetamina 10%). A necropsia foi realizada por incisão na linha branca e abertura do tórax. Durante a necropsia foram coletados os testículos dos animais de cada grupo e, após pesagem, foram fixados em solução de formaldeído a 10% tamponada, para preparo de cortes histológicos. A cada período de necropsia dois animais do grupo controle foram sacrificados para comparação dos dados.

3.5 Microscopia óptica

Para microscopia foram realizados cortes histopatológicos de 5 µm que foram fixados em lâminas e corados com Hematoxilina e Eosina (HE).

3.6 Análise espermática

Um fragmento de 1,5 cm contendo parte da cauda do epidídimo, local onde os espermatozoides sofrem maturação e são estocados, e do ducto deferente foi cortado e colocado em tubo contendo 1 mL de solução salina fisiológica à temperatura de 37 °C. Após saída dos espermatozoides para a solução uma alíquota deste fluido foi usada para análise da motilidade, viabilidade e anormalidade espermáticas, de acordo com o recomendado no *WHO Laboratory Manual*.³⁵

Foi atribuído escore de 4 a 1 para motilidade, de acordo com a predominância de movimento linear progressivo rápido, movimento linear progressivo lento, movimento vibratório e ausência de movimento, respectivamente.

4 RESULTADO

4.1 Pesagem dos animais, consumo diário de extrusado e avaliação de toxicidade aguda

Não foi observado nenhum sinal de toxicidade aguda assim como não houve variação significativa do peso dos animais durante o experimento. Como os animais foram mantidos em grupo foi calculada a média do volume consumido diariamente: a média individual foi de 26,74 mL para animais do grupo necropsiado aos 50 dias de idade, 40,00 mL para animais do grupo necropsiado aos 60 dias de idade e 38,83 mL para animais do grupo necropsiado aos 110 dias de idade.

4.2 Massa dos testículos

As massas testiculares mensuradas nos dias de necropsia estão apresentadas na tabela abaixo. Não houve variação significativa das médias obtidas para os animais tratados comparados com os controles

Tabela 1- Massa (em gramas) dos testículos de animais tratados com extrusado de mamão verde e controles nas diferentes idades experimentais

Animais	Idade dos animais (em dias)					
	50		60		110	
	TE	TD	TE	TD	TE	TD
Ex. 1	1,31	1,29	1,75	1,59	2,24	2,43
Ex. 2	1,47	1,35	1,73	1,83	2,92	2,85
Ex. 3	1,61	1,49	1,66	1,68	2,98	3,08
Ex. 4	1,85	1,77	1,70	1,69	3,15	2,97
Ex. 5	1,80	1,69	1,78	1,82	2,61	2,45
Ex. 6	1,50	1,41	2,11	2,14	2,42	2,32
Ex. 7	1,76	1,81	2,05	2,14	2,47	2,36
Ex. 8	1,64	1,67	1,73	1,77	2,42	2,50
X	1,61	1,56	1,81	1,83	2,65	2,62
Cont. 1	1,42	1,38	1,78	1,87	2,36	2,50
Cont. 2	1,66	1,67	1,85	1,84	2,35	2,46
X	1,54	1,52	1,81	1,85	2,35	2,48

Ex = experimental; Cont. = controle; TE = testículo esquerdo; TD = testículo direito

4.3 Microscopia dos testículos

Os cortes histopatológicos de testículos e epidídimos dos ratos necropsiados aos 50 dias de idade, portanto, aos 20 dias de tratamento apresentam túbulos seminíferos normais, onde se observam diferentes etapas de meiose e algumas espermátides; observa-se luz tubular normal com células espermáticas imaturas. O número de espermatozóides imaturos na luz dos túbulos seminíferos e epididimários aumentou de acordo com a idade dos animais à necropsia (Figura 1).

4.4 Análise espermática

Já na primeira necropsia observaram-se espermatozóides em concentração condizente com o início da puberdade para a espécie. A concentração aumentou progressivamente em função da idade e da maturidade sexual atingida pelos animais, como era esperado. Quanto à qualidade espermática, observou-se uma diminuição do percentual de espermatozóides com movimentos progressivos rápidos (escores 4 e 5) e um aumento de patologias representadas por espermatozóides decapitados e por espermatozóides com cauda enrolada (Tabela 2, Figura 2).

Tabela 2- Índices de concentração (C), motilidade (Mot.) e patologias (Pat.) observados para amostras de espermatozóides de ratos tratados com extrusado de mamão verde e ratos controles

Animais	Idade dos animais (em dias)								
	50			60			110		
	C	Mot.	Pat.	C	Mot.	Pat.	C	Mot.	Pat.
Ex 1	+	4	A	++	4	A	+++	3	P
Ex 2	+	4	A	++	3	P	++	3	P
Ex 3	+	4	A	++	4	A	+++	4	A
Ex 4	+	3	P	++	3	P	++	2	P
Ex 5	+	4	A	+++	4	A	+++	3	P
Ex 6	++	4	A	+++	4	A	+++	4	A
Ex 7	+	4	A	++	3	P	++	2	P
Ex 8	+	4	A	+++	4	A	+++	4	A
Cont. 1	+	4	A	+++	4	A	+++	4	A
Cont. 2	+	4	A	+++	4	A	+++	4	A

+ = C baixa; ++ = C média; +++ = C alta; 2 = movimento vibratório; 3 = movimento linear progressivo lento; 4 = movimento linear progressivo rápido

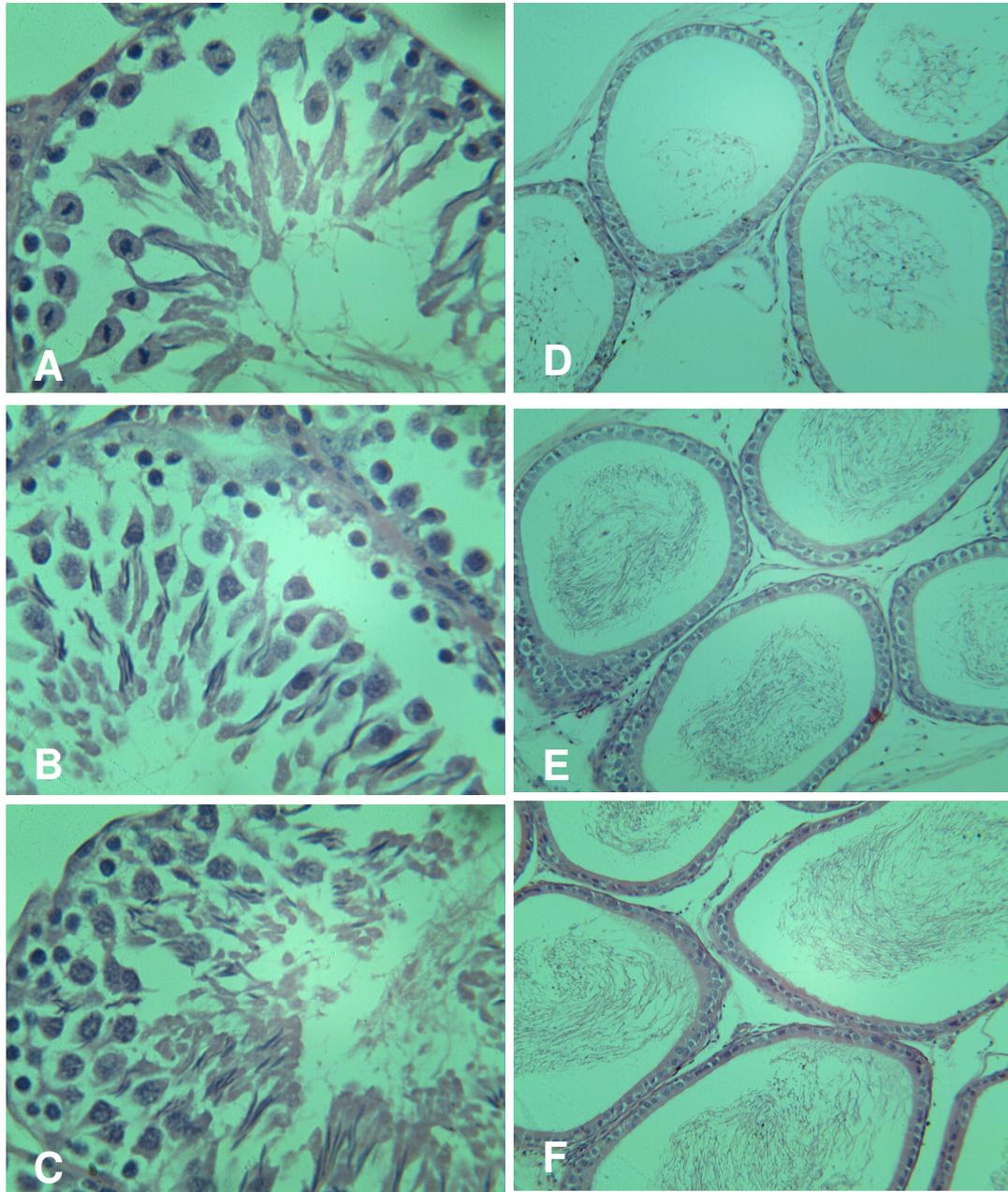


Figura 1- A, B e C apresentam cortes transversais de testículos de ratos jovens tratados com extrusado de mamão verde mostrando túbulos seminíferos. Observar diferentes etapas meióticas e formas jovens na luz dos túbulos: A- aos 50 dias de idade, B- aos 60 dias de idade, C- aos 110 dias de idade. Em D, E, F são apresentados cortes de túbulos do epidídimo nas mesmas idades dos cortes de testículos. Observar que o número de espermatozóides e o estágio de maturidade aumentam de acordo com a idade do animal (H.E. 160x).

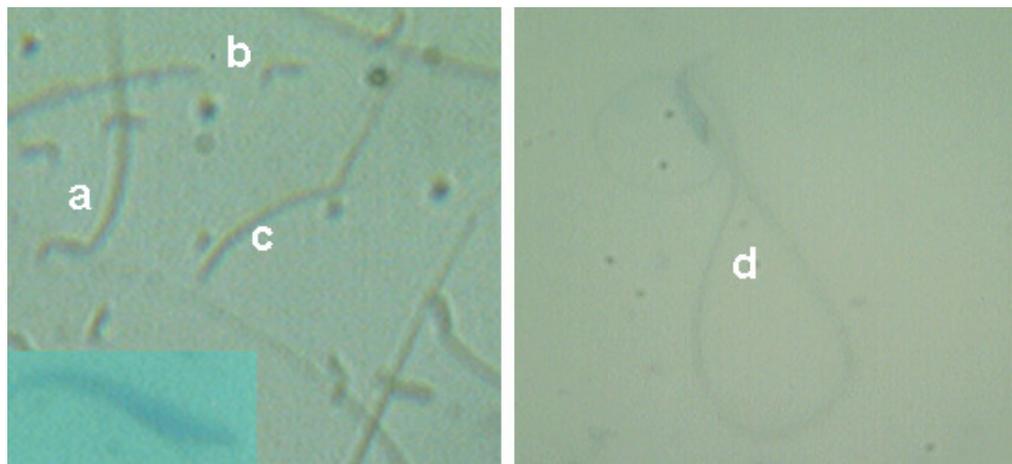


Figura 2- espermatozóides coletados do epidídimo de ratos tratados com extrusado de mamão verde por 110 dias: a- morfologia normal; b-cabeça isolada; c- cauda isolada; d- cauda torcida. No detalhe cabeça isolada (corante de Wright, 400x)

5 DISCUSSÃO

A ausência de alterações nos pesos dos animais e de outros sinais de toxicidade indicam que o extrusado de *C papaya* não representa risco de toxicidade sistêmica, o que foi já constatado por vários pesquisadores que trabalharam com diferentes extratos, sejam eles da semente ou da polpa de mamão verde.^{19,20,31-34,36,37}

Segundo Robb et al.³⁸ citado por Perobelli et al., biologicamente, a puberdade é definida como o momento em que a espermatogênese esteja com o primeiro ciclo completo e os espermatozóides entrem no epidídimo, o que acontece por volta de 50 dias de idade nos ratos. A produção espermática aumenta até os 75 dias de vida e as reservas espermáticas na cauda do epidídimo atingem o grau máximo por volta dos 100 dias.

Zenick et al.³⁹ afirmou que a ocorrência de efeitos na espermatogênese é um dos aspectos de grande importância para a verificação da ação de substâncias no sistema reprodutor. Os cortes histológicos dos testículos e do epidídimo mostram imagens celulares dos túbulos seminíferos testiculares e epididimários dos animais tratados com o extrusado do mamão verde que condizem com os relatos de Robb et al.³⁸ e evidenciam que o tratamento não afetou o estabelecimento da puberdade.

Zenick et al.³⁹ afirmou ainda que a qualidade do gameta produzido é outro aspecto de grande importância para a verificação da ação de substâncias no sistema reprodutor. A motilidade espermática é um parâmetro importante para avaliar a qualidade espermática e o potencial de fertilidade.⁴¹ O presente estudo mostrou diminuição da motilidade de espermatozóides de ratos tratados com extrusado de *C papaya*, efeito relatado por outros autores.³¹⁻³³ Esta diminuição de motilidade observada pode estar relacionada a uma aceleração do trânsito dos espermatozóides pelo epidídimo.⁴¹ No experimento de Perobelli et al.⁴¹ a aceleração do trânsito de espermatozóides pelo epidídimo comprometeu a maturação, ou seja, a motilidade dos espermatozóides e o potencial de fertilização, sendo observadas alterações protéicas na membrana plasmática dos espermatozóides coletados da cauda do epidídimo associadas à baixa qualidade do sêmen.

A subfração metanol de extrato da semente de *C papaya* administrada por tempo prolongado inibiu completamente a motilidade espermática, diminuiu a concentração espermática, a porcentagem de espermatozóides viáveis e acarretou um significativo aumento de patologias espermáticas, além de causar degeneração do epitélio germinativo, vacuolização nas células de Sertoli e proliferação de células germinativas.⁴²

Da Cruz et al.³ relataram redução nuclear e citoplasmática e vacuolização das células de Sertoli em animais tratados com extrato clorofórmio bruto de sementes de *C papaya* em ratos, e degeneração das células de Leydig e presença de vacúolos nos túbulos seminíferos de animais tratados com extrato de sementes maduras. A alteração negativa da motilidade e a detecção de patologias no sêmen dos animais tratados durante 80 dias com o extrusado de *C papaya* sugerem que o uso deste tratamento por mais tempo resultaria em efeitos semelhantes aos narrados por Da Cruz et al.³ confirmando as afirmações de tempo dependência para intensificação dos sinais de toxicidade reprodutiva.

Os tratamentos de curta duração podem ser utilizados para demonstrar a ocorrência de alterações do número e da morfologia de espermatozóides, após a exposição a uma substância tóxica, considerando que durante esse período os espermatozóides sofrem o processo de maturação no epidídimo.⁴³ Neste trabalho, a produção de gametas e a sua morfologia não foram afetadas pelo tratamento nos primeiros 20 dias, considerando que as proporções de gametas normais e anormais foram comparativamente semelhantes entre os animais dos grupos controle e tratado. No entanto, houve efeito indesejado sobre a qualidade ao final do tratamento, reafirmando a relação tempo/dependência.

6 CONCLUSÃO

O extrusado de *C papaya*, da forma como foi utilizado neste trabalho não afetou o estabelecimento da puberdade, mas, exerceu efeito negativo sobre a qualidade espermática reduzindo a motilidade dos espermatozoides e induzindo o surgimento de patologias espermáticas.

REFERÊNCIAS

1. Barros SBM, Davino SC. Avaliação da toxicidade/ Evaluation of toxicity. In: Oga, Seizi. Fundamentos de toxicologia. São Paulo: Atheneu; 1996. p. 59-70.
2. Kimmel GL, Clegg E, Crisp TM. Reproductive toxicity testing: A risk assessment perspective. In: Witorsch, RJ, editor. Reproductive Toxicology. New York: Raven Press; 1995. p. 75-98.
3. D’Cruz SC, Vaithinathan S, Jubendradass R, Mathur PP. Effects of plants and plant products on the testis. *Asian Journal of Andrology*. 2010;12:468–479.
4. Hess RA, Renato de Franca L. Spermatogenesis and cycle of the seminiferous epithelium. *Adv Exp Med Biol*. 2008;636:1–15.
5. Ge R, Chen G, Hardy MP. The role of the Leydig cell in spermatogenic function. *Adv Exp Med Biol*. 2008;636:255–69.
6. Golub MS, Collman GQW, Foster PM, Kimmel CA, Rajpert-De Meyts E, Reiter EO. Public health implications of altered puberty timing. *Pediatrics*. 2008;121(3):S218-30.
7. Li MWM, Mruk DD, Lee WM, Cheng CY. Cytokines and the junction restructuring events during spermatogenesis in the testis: An emerging new concept of regulation. *Cytokine Growth Factor*. 2009 Aug;20(4):329–338. doi:10.1016/j.cytogfr.2009.07.007.
8. Komárek V, Gembardt C, Krinke A, Mahrous T, Schaetti P. Synopsis of the organ anatomy. In: Krinke GJ, editor. *The laboratory rat – The Handbook of Experimental Rats*. London: Academic Press; 2000. p. 283-322.
9. Foley GL. Overview of Male Reproductive Pathology. *Toxicol. Pathol*. 2001;29(1):49-63.
10. Robaire B, Hinton B, Orgebin-Crist MC. The Epididymis. In: Knobil E, Neil JD, (Eds.). *The physiology of reproduction*. New York: Elsevier; 2006. p. 1071-148.
11. Turner TT. On the epididymis and its role in the development of the fertile ejaculate. *J. Androl*. 1995;16(4):292-8.
12. Sun EL, Flickinger CJ. Proliferative activity in the rat epididymis during postnatal development. *Anat. Rec*. 1982;203(2):273-84.

13. Dacheux JL, Castella S, Gatti JL, Dacheux F. Epididymal cell secretory activities and the role of proteins in boar sperm maturation. *Theriogenology*. 2005;63:319-41.
14. Rodríguez CM, Kirby JL, Hinton BT. The development of the epididymis. In: Robaire B, Hinton BT, editors. *The epididymis – from molecules to clinical practice*. New York: Kluwer Academic/ Plenum Publisher; 2002. p. 251–268.
15. Clermont Y. Kinetics of spermatogenesis in mammals: seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. *Physiol. Rev.* 1972;52:198-236.
16. Hafez B, Hafez ESSE (Editores). *Reprodução animal*. 7ª Ed. São Paulo: Manole, 2004
17. Maeda K, Ohkura S, Tsukamura H. Physiology of Reproduction. In: Krinke GJ, editor. *The laboratory rat – The Handbook of Experimental Rats*. London: Academic Press; 2000. p. 145-76.
18. Marty MS, Chapin RE, Parks LG, Thorsrud BA. Development and maturation of the male reproductive system. *Birth Defects Res. B Dev. Reprod. Toxicol.* 2003;68:125-36.
19. Lohiya NK, Manivannan B, Garg S. Toxicological investigations on the methanol sub-fraction of the seeds of *Carica papaya* as a male contraceptive in albino rats. *Reprod Toxicol.* 2006 Oct;22(3):461-8. Epub 2006 Mar 3.
20. Kusemiju TO, Osinubi AA, Noronha CC, Okanlawon AO. Effect of aqueous extract of the bark of *Carica papaya* on testicular histology in Sprague-Dawley rats. *Nig Q J Hosp Med.* 2010 Jul-Sep;20(3):133-7.
21. Lohiya NK, Manivannan B, Goyal S, Ansari AS. Sperm motility inhibitory effect of the benzene chromatographic fraction of the chloroform extract of the seeds of *Carica papaya* in langur monkey, *Presbytis entellus entellus*. *Asian J Androl.* 2008;10(2):298–306. doi:10.1111/j.1745-7262.2008.00331.x.
22. Udoh P, Essien I, Udoh F. Effects of *Carica papaya* (Paw Paw) Seeds Extract on the Morphology of Pituitary– Gonadal Axis of Male Wistar Rats. *Phyther. Res.* 2005;19:1065–1068. doi.10.1002/ptr.1388.
23. Afzan A, Abdullah NR, Halim SZ, Rashid BA, Semail RHR, Abdullah N, et al. Repeated Dose 28-Days Oral Toxicity Study of *Carica papaya* L. Leaf Extract in Sprague Dawley Rats. *Molecules.* 2012;17:4326-4342. doi:10.3390/molecules17044326.

24. Khuzhaev V, Aripova S. Pseudocarpaine from *Carica papaya*. Chem. Nat. Compd. 2000,36:418–418.
25. Canini A, Alesiani D, D'Arcangelo G, Tagliatesta P. Gas chromatography-mass spectrometry analysis of phenolic compounds from *Carica papaya* L. leaf. J. Food Compos. Anal. 2007,20:584–590.
26. Thomás GE, Rodolfo HG, Juan MD, Georgina SF, Luis CG, Ingrid RB, Santiago GT. Proteolytic activity in enzymatic extracts from *Carica papaya* L. cv. Maradol harvest by-products. Process Biochem. 2009,44:77–82.
27. Oliveira JG, Vitoria AP. Papaya: Nutritional and pharmacological characterization and quality loss due to physiological disorders. An overview. Food Res. Int. 2011,44:1306–1313.
28. Nakamura Y, Yoshimoto M, Murata Y, Shimoishi Y, Asai Y, Park EY, Sato K. Papaya seed represents a rich source of biologically active isothiocyanate. J. Agric. Food Chem. 2007,55:4407–4413.
29. Jiao Z, Deng J, Li G, Zhang Z, Cai Z. Study on the compositional differences between transgenic and non-transgenic papaya (*Carica papaya* L.). J. Food Compos. Anal. 2010,23:640–647.
30. Seigler DS, Pauli GF, Nahrstedt A, Leen R. Cyanogenic allosides and glucosides from *Passiflora edulis* and *Carica papaya*. Phytochemistry. 2002,60:873–882.
31. Pathak N, Mishra PK, Manivannan B, Lohiya NK. Sterility due to inhibition of sperm motility by oral administration of benzene chromatographic fraction of the chloroform extract of the seeds of *Carica papaya* in rats. Phytomedicine. 2000 Jul;7(4):325-33.
32. Verma RJ, Chinoy NJ. Effect of papaya seed extract on contractile response of cauda epididymal tubules. Asian J Androl. 2002 Mar;4(1):77-8.
33. Kusemiju O, Noronha C, Okanlawon A. The effect of crude extract of the bark of *Carica papaya* on the seminiferous tubules of male Sprague-Dawley rats. Niger Postgrad Med J. 2002 Dec;9(4):205-9.
34. Ortega-Pacheco A, Jimenez-Coello M, Acosta-Viana KY, Guzman-Marin E, Gutierrez-Blanco E, Luna-Flores WS, et al. Effects of papaya seeds extract on the sperm characteristics of dogs. Anim Reprod Sci. 2011 Nov;129(1-2):82-8. doi: 10.1016/j.anireprosci.2011.10.002. Epub 2011 Oct 10.

35. World Health Organisation. WHO Laboratory Manual for Examination of the Human Semen and Sperm-Cervical Mucus Interaction. New York: Cambridge University Press; 1999.
36. Souza CRC, Santos MRS, Pelóggia NCC, Carvalho C. Uso contraceptivo de extrato aquoso de *Carica papaya* L. em camundongos machos. In: Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e XI Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba
37. Moreira NCM, Gardelli NC, Santos MRS, Carvalho C. Efeito da papaína na reprodução de ratos wistar. Efeito da papaína na reprodução de ratos wistar. In: XV Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e XI Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba.
38. Robb GW, Amman RP, Killian GJ. Daily sperm production and epididymal sperm reserves of puberal and adult rats. J Reprod Fertil. 1978,54:103–7 apud Perobelli JE, Alves TR, Toledo FC, Fernandez CB, Anselmo-Franci JA, Klinefelter GR, et al. Impairment on sperm quality and fertility of adult rats after antiandrogen exposure during prepuberty. Reproductive Toxicology. 2012,33:308–315.
39. Zenick H. et al. Assessment of male reproductive toxicity: a risk assessment approach In: Hayes AW, editor. Principles and Methods of Toxicology. 3rd ed. New York: Raven Press; 1994. p. 937-988.
40. Mangelsdorf I, Buschmann J, Orthen B. Some aspects relating to the evaluation of the effects of chemicals on male fertility. Regul Toxicol Pharmacol. 2003,37:356–69.
41. Perobelli JE, Alves TR, Toledo FC, Fernandez CB, Anselmo-Franci JA, Klinefelter GR, et al. Impairment on sperm quality and fertility of adult rats after antiandrogen exposure during prepuberty. Reproductive Toxicology. 2012,33:308–315.
42. Manivannan B, Ruchi R, Goyal S, Ansari AS, Lohiya NK. Sperm characteristics and ultrastructure of testes of rats after long-term treatment with the methanol subfraction of *Carica papaya* seeds. Asian Journal of Andrology. 2009,11:583–599.
43. Linder RE et al. Acute spermatotoxic effects of bromoacetic acids. Fundamental Applied Toxicology, 1994;22:422-30.