

**Ação do extrato hidroalcoólico da polpa
de juçara (*Euterpe edulis* Martius) sobre a
espermatogênese de ratos Wistar adultos**

Kyvia Lugate Cardoso Costa

Dalaine Demissi da Costa

Marcela Nascimento Sertório

João Paulo Viana Leite

Sérgio Luis Pinto da Mata

1 Introdução

A espécie *Euterpe edulis* Mart. é uma palmeira pertencente à família *Arecaceae*, cujos frutos são pequenos, arredondados e de coloração roxo-escura em função da presença de pigmentos naturais denominados de antocianinas. É conhecida popularmente por “palmeira juçara”, “içara”, “palmito-doce”, “palmito-juçara”, “palmiteiro”, “ensarova” e “ripeira” (LORENZI *et al.*, 2010). Devido à intensa exploração da palmeira Juçara para a obtenção de palmito, o que impede a rebrota da planta, esta encontra-se atualmente na lista de espécies ameaçadas de extinção (MMA, 2008). A colheita do seu fruto tornou-se uma alternativa viável para utilização da planta sem ameaçar a existência da espécie, visto que a polpa de Juçara apresenta propriedades semelhantes às do Açaí da Amazônia (*Euterpe oleracea*) (SCHULZ *et al.*, 2016; CARDOSO *et al.*, 2018).

Mundialmente tem ocorrido um crescimento do consumo de produtos naturais, principalmente à base de extratos vegetais, com propósito de tratamento e profilaxia de doenças (FÉRES; TAGLIATI, 2009). As frutas, vegetais e grãos têm despertado interesse científico, uma vez que, além de conterem nutrientes essenciais e micronutrientes, como minerais, fibras e vitaminas, apresentam também diversos compostos secundários de natureza fenólica denominados polifenóis (HARBORNE; WILLIAMS, 2000).

Os compostos fenólicos encontrados em frutos de Juçara têm sido associados à sua elevada capacidade antioxidante, sendo as antocianinas as principais responsáveis por essa característica (BICUDO *et al.*, 2014; CARDOSO *et al.*, 2018). Os frutos de *Euterpe Edulis* são ricos em antocianinas, como a cianidina-3-glicosídeo (1358mg/100g de peso seco) e a cianidina-3-rutinosídeo (1565mg/100g de peso seco) (BRITO *et al.*, 2007; ROSSO *et al.*, 2008). Estas antocianinas têm apresentado um grande potencial farmacológico, que incluem propriedades antioxidantes (GARCIA-ALONSO *et al.*, 2009), anti-inflamatórias (XIA *et al.*, 2009), inibição da oxidação da lipoproteína de baixa densidade (CHANG *et al.*, 2006), diminuição dos riscos de doenças cardiovasculares (TOUFEKTSIAN *et al.*, 2008) e atividade antitumoral (CHEN *et al.*, 2006). Recentemente, uma revisão descreveu 25 artigos sobre a caracterização fitoquímica e atividades biológicas da Juçara. Dentre as atividades biológicas mencionadas, destacam-se a melhora da atividade antioxidante *in vitro*, benefícios aos perfis lipídico e glicêmico e modulação do estado inflamatório em estudos experimentais com animais (CARDOSO *et al.*, 2018).

No entanto, não há registros de experimentação científica que avalie a ação dos frutos de *E. edulis* sobre parâmetros reprodutivos masculinos.

Atualmente existe grande interesse em extratos vegetais que possam atuar na melhora da qualidade espermática (ARAFÁ *et al.*, 2019, DIAS *et al.*, 2019). O testículo é um órgão produtor de espermatozoides e andrógenos, sendo dividido funcionalmente em dois compartimentos: o tubular, ou espermatogênico, e o intertubular, ou androgênico. No epitélio seminífero do túbulo, ocorre o processo de espermatogênese, sob a regência da célula de Sertoli (FRANÇA; RUSSELL, 1998). A avaliação qualitativa e quantitativa desse compartimento, após administração de determinada substância, é capaz de fornecer respostas sobre a sua ação positiva ou negativa no processo espermatogênico e conseqüentemente na produção espermática (RUSSELL, 1990). Em um tecido como o testículo, com suas altas taxas de metabolismo e replicação celular, o estresse oxidativo pode ser especialmente danoso, sendo assim, é importante que esse órgão possua elevada capacidade antioxidante (LYSIAK; TURNER, 2008). Nesse sentido, o consumo de alimentos ricos em antioxidantes poderia contribuir para a melhora da capacidade reprodutiva.

Sabe-se que a alimentação assume papel relevante nos fenômenos reprodutivos, dada sua ação dirigida na formação da célula espermática e, conseqüentemente, na espermatogênese. A ingestão adequada de antioxidantes ou a sua suplementação podem ter um impacto significativo na fertilidade masculina (GTUSZEK; SULIGA, 2019).

Assim, dietas ricas em antioxidantes poderiam funcionar como grandes aliadas frente ao processo reprodutivo, promovendo a melhora do desempenho reprodutivo masculino. Neste contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar a influência do extrato hidroalcoólico da polpa de Juçara nos parâmetros reprodutivos masculinos de ratos Wistar adultos.

2 Metodologia

2.1 Obtenção e beneficiamento dos frutos de *Euterpe edulis* (Martius)

Os frutos do *E. edulis* foram obtidos no município de Viçosa, Minas Gerais. A coleta foi realizada no período de floração e frutificação de *E. edulis*, entre os meses de agosto a novembro (FISCH *et al.*, 2000). Os frutos foram despulpados no prazo máximo de 24 horas após a colheita devido à sua alta perecibilidade.

Os frutos foram imersos em água para a retirada de impurezas e, para facilitar o despolpamento, foram colocados na água a 50°C, por um período de 10 minutos. Para esterilização dos frutos, foi utilizado 35 ppm de cloro ativo, por cerca de 10 minutos, sendo posteriormente retirado por meio da lavagem com água potável. Essas etapas são importantes para evitar a contaminação microbiológica dos frutos (NOGUEIRA, 2005; NOVELLO *et al.*, 2015).

Para extração da polpa, foram pesados 100g do fruto e adicionados 50 mL de álcool 70% (proporção fruto: solvente 2:1) acrescidos de 0,3g de ácido cítrico, como agente acidulante, a fim de manter o pH < 4,0, o que é importante para a estabilização das moléculas de antocianinas (NOGUEIRA, 2005; NOVELLO *et al.*, 2015). Em seguida, a preparação foi transferida para despulpadeira industrial e homogeneizada durante 4 minutos. Finalmente, o extrato hidroalcoólico da polpa do fruto foi liofilizado em liofilizador (Liotop lyophilizer, Brasil), acondicionado em potes de polietileno revestido com folha de alumínio para impedir a passagem da luz e armazenado em temperatura de -20°C (NOVELLO *et al.*, 2015). Todo o processo foi realizado com as luzes apagadas devido à fotossensibilidade das antocianinas.

2.2 Animais e grupos experimentais

Os procedimentos experimentais utilizados neste trabalho foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Viçosa (CEUA/UFV), protocolo 69/2010.

Foram utilizados 24 ratos Wistar machos em idade reprodutiva (100 dias), provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Viçosa. Os animais foram mantidos em temperatura controlada de 22±2°C e iluminação com ciclos claro/escuro de 12 horas, com livre acesso a água e ração. Todos os animais passaram por um período de aclimação correspondente a 30 dias antes do início do experimento. O período experimental durou 120 dias

consecutivos, correspondente à duração de dois ciclos do epitélio seminífero em ratos (RUSSEL *et al.*, 1990).

2.3 Tratamentos

Os animais foram pesados, colocados individualmente em caixas de polipropileno e distribuídos em 4 grupos experimentais (n = 6) da seguinte maneira: o grupo 1 (controle) recebeu diariamente 1,5 mL de água destilada; o grupo 2 recebeu 1,5mL de extrato hidroalcoólico de Juçara (EJ) na dose de 200mg/kg; o grupo 3 recebeu 1,5mL de EJ na dose de 400mg/kg; e o grupo 4 recebeu 1,5mL de EJ na dose de 600mg/kg. Em todos os grupos, o tratamento foi fornecido através do método de gavagem (administração oral), e as soluções foram calculadas com base no peso corporal de cada animal (PC).

2.4 Estudos histológicos

2.4.1 Coleta dos testículos e preparação histológica

Ao término do período experimental, os animais foram pesados e eutanasiados por inalação de CO₂. Os testículos foram rapidamente removidos e pesados em balança de precisão (BEL Mark 160 classe 2-0,001g).

O peso do parênquima testicular foi obtido subtraindo-se a massa ocupada pela albugínea do peso total dos testículos, obtendo-se, assim, o peso líquido da porção funcional do

órgão. O índice gonadossomático (IGS), definido pela razão entre peso corporal e testicular, foi calculado por meio da fórmula $PG/PC \times 100$ (PG = peso total das gônadas e PC = peso corporal (AMANN, 1970).

Após fixação em Karnovsky durante 24 horas (KARNOVSKY, 1965), os testículos foram transferidos para álcool 70%, desidratados em série etanólica crescente e incluídos em glicol metacrilato (Historesin®, Leica). Secções de 3 μm de espessura foram obtidas em micrótomo rotativo (Reichert-Jung, Alemanha) por meio de navalhas de vidro. Para evitar a repetição das análises de uma mesma região, as secções foram obtidas de modo semisseriado, respeitando-se intervalos de 40 μm , e colocadas em lâminas histológicas. Finalmente, as secções foram coradas com azul de toluidina/borato de sódio 1% e hematoxilina-eosina para análises morfológicas e morfométricas. As preparações foram montadas com Entellan® (Merck, Frankfurt, Alemanha). Imagens do parênquima testicular foram obtidas por meio de microscópio Olympus AX-70 e analisadas com o auxílio do *software* Image-Pro Plus® (v. 6.0 – Media Cybernetics).

2.4.2 Análises morfométricas do compartimento tubular

As densidades volumétricas (V.v.) de túbulo seminífero e intertúbulo foram obtidas através de uma grade que contém 266 pontos projetados sobre 10 imagens digitalizadas do parênquima testicular, totalizando 2.660 pontos por

animal. Foram registrados os pontos coincidentes sobre túbulo seminífero (túnica própria, epitélio seminífero e lúmen) e intertúbulo e, em seguida, calculado o percentual dos pontos sobre cada componente. O volume (mL) de cada componente testicular foi estimado a partir da fórmula: % túbulo (ou seus constituintes) / 100 x volume total do parênquima testicular. Como a densidade do testículo de mamíferos é em torno de 1, a massa do testículo foi considerada igual ao seu volume (JOHNSON, 1981). Baseado nos volumes de túbulos seminíferos e nos pesos corporais, foi calculado o índice tubulossomático (ITS) a partir da fórmula: $VT/PC \times 100$ (VT = volume de túbulo seminífero e PC = peso corporal).

O diâmetro tubular médio foi obtido a partir de 20 secções transversais de túbulo seminífero para cada animal. As secções escolhidas foram as mais circulares possíveis, independentes do estágio em que se encontravam. A altura do epitélio seminífero foi mensurada na mesma secção transversal em que seria aferido o diâmetro dos túbulos seminíferos. Neste caso, foi considerada a distância desde a túnica própria até a borda luminal, tomando-se duas medidas diametralmente opostas em cada secção transversal, sendo considerada como medida representativa a média das duas. O diâmetro do lúmen foi obtido subtraindo-se o diâmetro tubular das duas alturas obtidas para o epitélio seminífero.

O comprimento total (metros) dos túbulos seminíferos foi estimado a partir do volume ocupado pelos túbulos seminíferos nos testículos e do diâmetro tubular médio obtido

para cada animal, empregando-se a fórmula $CT = VTS / \pi R^2$ (VTS = volume total dos túbulos seminíferos; πR^2 = área da secção transversal dos túbulos seminíferos; R = diâmetro tubular/2). O comprimento dos túbulos seminíferos por grama de testículo foi calculado dividindo-se o comprimento total pelo peso bruto dos testículos.

As populações de células germinativas e de células de Sertoli foram estimadas pela contagem de 10 secções transversais de túbulos seminíferos no estágio 1, segundo o método da morfologia tubular (BERNDTSON, 1977). Os seguintes tipos celulares serão contados: espermatogônias do tipo A (SGA), espermatócitos primários em preleptóteno/leptóteno (PLL) e paquíteno (PQ), espermatídes arredondadas (AR) e células de Sertoli (CS) com nucléolos bem evidentes. Os diâmetros nucleares e nucleolares médios, os últimos somente para células de Sertoli, foram obtidos pela mensuração de 20 núcleos ou nucléolos em cada tipo celular supracitado. Devido a variações no tamanho, a contagem dos diferentes tipos celulares foi corrigida pela fórmula proposta por Abercrombie (1946), modificada por Amann e Almquist (1962). Baseado em valores corrigidos, foi possível quantificar os seguintes coeficientes: mitose espermatogonial (PLL/SGA), rendimento meiótico (AR/PQ), rendimento geral da espermatogênese (AR/SGA), índice de célula de Sertoli (AR/CS) e capacidade total de suporte da célula de Sertoli ((SGA + PLL + PQ + AR)/CS). O número total de células de Sertoli foi determinado pelo número corrigido de nucléolos de célula de Sertoli por secção transversal de túbulo seminífero e o comprimento total de túbulos seminíferos. A partir deste cálculo e do peso bruto de um

testículo, foi estimado o número de células de Sertoli por grama de testículo.

A produção espermática diária (PED) foi calculada de acordo com Amann e Almquist (1962) e Amann (1970). A duração do ciclo do epitélio seminífero em ratos Wistar é de 12,8 dias (RUSSELL *et al.*, 1990), sendo esta uma constante biológica espécie-específica. Para se calcular a produção espermática diária por grama de testículo, a produção espermática diária total foi dividida pelo peso bruto dos testículos. Os resultados foram expressos em produção diária de espermátides total e por grama de testículo.

A reserva espermática do testículo (RET) foi calculada com base na população de AR, adaptando-se a fórmula descrita por Amann (1970) e Berndtson (1977), na qual $RET = (\text{comprimento total dos túbulos seminíferos/espessura do corte}) \times (\text{número corrigido de AR})$. Para se calcular a reserva espermática por grama de testículo, a reserva espermática por testículo foi dividida pelo peso bruto dos testículos.

2.5 Análise estatística

Análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de Student Newman-Keuls (SNK), foi usada para comparar médias entre os grupos experimentais. Todos os resultados foram expressos em média \pm desvio padrão. O nível de significância considerado foi de $p \leq 0,05$.

3 Resultados

3.1 Parâmetros biométricos

Os resultados das características biométricas analisadas encontram-se na Tabela 1. Não foram observadas variações significativas entre os grupos controle e tratados quanto ao peso corporal, peso testicular, peso do parênquima testicular, peso da albugínea, assim como para o índice gonadossomático (IGS).

Tabela 1: Parâmetros biométricos corporais, testiculares e índice gonadossomático (IGS) de ratos Wistar adultos controle e tratados com extrato de *Euterpe edulis* (média \pm desvio padrão; n=6)

Parâmetros	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
Peso corporal(g)	490 \pm 40,82 ^a	477 \pm 24,01 ^a	469 \pm 34,08 ^a	462 \pm 38,02 ^a
Peso testicular(g)	3,78 \pm 0,59 ^a	3,68 \pm 0,19 ^a	3,65 \pm 0,17 ^a	3,68 \pm 0,24 ^a
Peso do parênquima(g)	3,73 \pm 0,59 ^a	3,63 \pm 0,19 ^a	3,60 \pm 0,17 ^a	3,63 \pm 0,24 ^a
Peso da albugínea(g)	0,05 \pm 0,01 ^a	0,05 \pm 0,00 ^a	0,05 \pm 0,01 ^a	0,05 \pm 0,01 ^a
IGS(%)	0,78 \pm 0,12 ^a	0,77 \pm 0,06 ^a	0,78 \pm 0,06 ^a	0,80 \pm 0,08 ^a

Letras iguais na linha indicam que as médias não diferem significativamente entre si ($p > 0,05$). Grupo I: controle;

Grupo II: EJ 200 mg/kg; Grupo III: EJ 400 mg/kg; Grupo IV: EJ 600 mg/kg.

3.2 Análises morfométricas do compartimento tubular

As médias referentes à proporção (%) e volume de túbulos seminíferos (mL), bem como comprimento total de túbulo (m) e índice tubulossomático não sofreram variações significativas ($p > 0,05$) e encontram-se na TABELA 2. Houve uma redução no comprimento de túbulo por grama de testículo (m/g) nos animais do grupo 2 em relação ao controle.

Tabela 2: Parâmetros morfométricos tubulares do parênquima testicular de ratos Wistar adultos controle e tratados com extrato de *Euterpe edulis* (média \pm desvio padrão; n=6)

Parâmetros	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
TS (%)	82,93 \pm 1,56 ^a	79,71 \pm 4,36 ^a	82,99 \pm 2,78 ^a	82,43 \pm 1,24 ^a
TP (%)	1,93 \pm 0,46 ^a	1,49 \pm 0,16 ^b	1,69 \pm 0,19 ^b	1,48 \pm 0,11 ^a
ES (%)	62,17 \pm 3,08 ^a	55,29 \pm 3,33 ^a	56,90 \pm 2,40 ^a	56,52 \pm 4,17 ^a
LT (%)	18,82 \pm 2,56 ^a	22,93 \pm 2,21 ^a	24,40 \pm 2,83 ^a	24,44 \pm 4,16 ^a
TS (mL)	3,09 \pm 0,50 ^a	2,89 \pm 0,12 ^a	2,99 \pm 0,17 ^a	2,99 \pm 0,20 ^a

Parâmetros	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
CT/T (m)	46,36±8,22 ^a	39,07±3,17 ^a	45,82±4,28 ^a	45,87±6,79 ^a
CT/gT(m/g)	12,24±0,62 ^a	10,61±0,68 ^b	12,55±0,98 ^a	12,45±1,45 ^a
ITS (%)	0,63±0,10 ^a	0,61±0,05 ^a	0,64±0,06 ^a	0,65±0,07 ^a

Letras iguais na linha indicam que as médias não diferem significativamente entre si ($p>0,05$). Grupo I: controle; Grupo II: EJ 200 mg/kg; Grupo III: EJ 400 mg/kg; Grupo IV: EJ 600 mg/kg. TS: Túbulo seminífero; TP: Túnica própria; ES: Epitélio seminífero; LT: lúmen tubular; CT/T: Comprimento total de túbulos seminíferos por testículo; CT/g T: Comprimento total de túbulos seminíferos por grama de testículo; ITS: índice tubulossomático.

Os resultados referentes ao diâmetro tubular, altura do epitélio seminífero e diâmetro do lúmen tubular encontram-se, respectivamente, nas FIGURAS 1, 2 E 3. Houve aumento no diâmetro tubular ($307,00\pm 8,03$) e no diâmetro do lúmen ($101,00\pm 11,22$) nos animais que receberam 200 mg/kg do extrato de *E. edulis* em relação ao controle ($291,93\pm 4,9$; $87,54\pm 3,0$) (FIGURA 1 E FIGURA 3). Não houve variação significativa na altura do epitélio seminífero entre os grupos experimentais (FIGURA 2).

Figura 1: Diâmetro do túbulo seminífero de ratos Wistar adultos controle e tratados com diferentes doses do extrato de *Euterpe edulis*. Letras iguais indicam que as médias não diferem significativamente entre si ($p>0,05$)

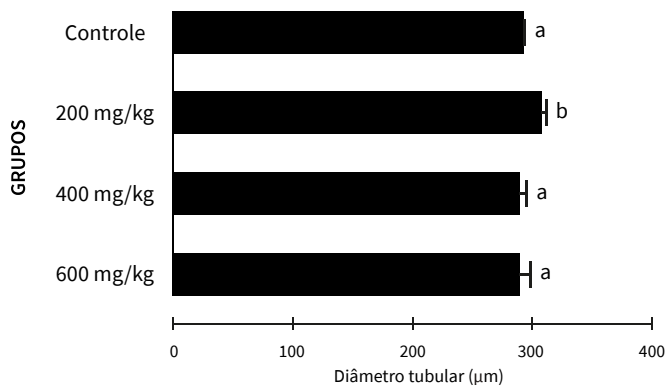


Figura 2: Altura do epitélio seminífero de ratos Wistar adultos controle e tratados com diferentes doses do extrato de *Euterpe edulis*. Letras iguais indicam que as médias não diferem significativamente entre si ($p>0,05$)

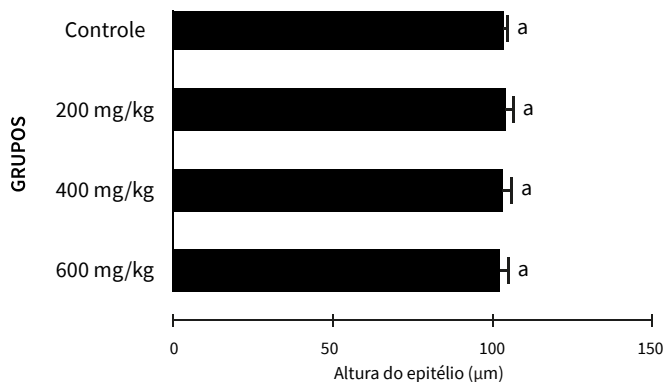
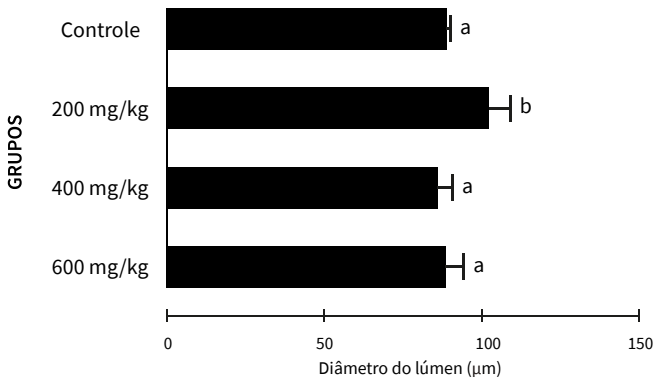


Figura 3: Diâmetro do lúmen dos túbulos seminíferos de ratos Wistar adultos controle e tratados com diferentes doses do extrato de *Euterpe edulis*. Letras iguais indicam que as médias não diferem significativamente entre si ($p>0,05$)



O número corrigido de células germinativas e de células de Sertoli por secção de túbulo no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero não sofreu alterações e encontram-se, respectivamente, nas FIGURAS 4 E 5.

Figura 4: Número corrigido de células germinativas de ratos Wistar controle e tratados com diferentes doses do extrato de *Euterpe edulis*. Letras iguais indicam que as médias não diferem significativamente entre si ($p>0,05$)

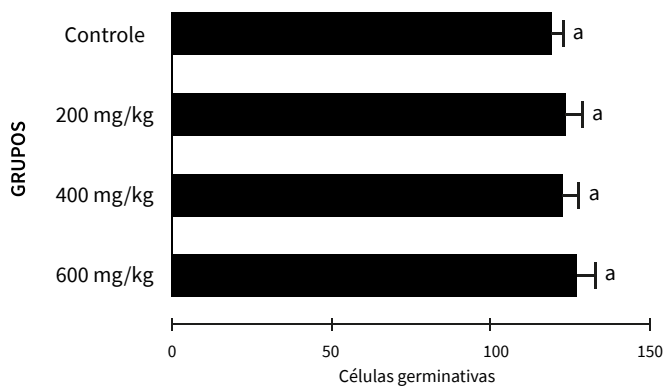
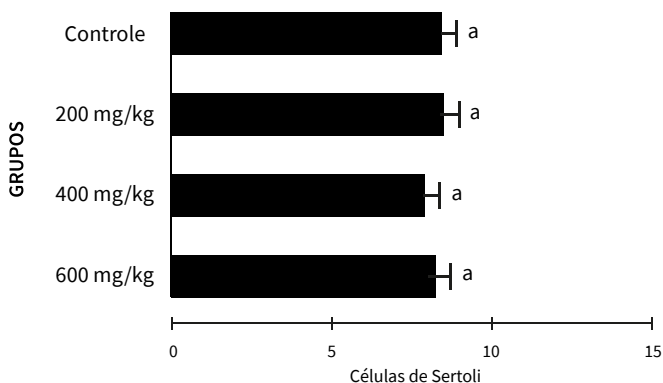


Figura 5: Número corrigido de células de Sertoli de ratos Wistar controle e tratados com diferentes doses do extrato de *Euterpe edulis*. Letras iguais indicam que as médias não diferem significativamente entre si ($p>0,05$)



As razões entre os números celulares para avaliação do processo espermatogênico e das células de Sertoli encontram-se na TABELA 3. Os índices calculados (índice mitótico, índice meiótico, rendimento geral da espermatogênese, número de células de Sertoli por testículo e por grama de testículo, produção espermática diária total e por grama de testículo, reserva espermática por testículo e por grama de testículo) não apresentaram variação significativa entre os tratamentos.

Tabela 3: Razões entre os números celulares, índice de célula de Sertoli, produção e reserva espermática do testículo de ratos Wistar adultos controle e tratados com diferentes doses do extrato de *E. edulis* (média \pm desvio padrão; n=6)

Parâmetro	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
CEME	16,74 \pm 3,74 ^a	13,63 \pm 0,91 ^a	15,57 \pm 3,39 ^a	13,17 \pm 2,99 ^a
RM	3,00 \pm 0,30 ^a	2,83 \pm 0,22 ^a	3,12 \pm 0,11 ^a	3,27 \pm 0,26 ^a
RGE	50,37 \pm 11,93 ^a	44,25 \pm 5,76 ^a	53,83 \pm 10,36 ^a	48,54 \pm 10,93 ^a
CS/T	63,98 \pm 9,82 ^a	54,42 \pm 5,88 ^a	59,10 \pm 10,18 ^a	61,59 \pm 10,21 ^a
CS/g T	34,11 \pm 4,86 ^a	29,70 \pm 4,04 ^a	32,27 \pm 4,33 ^a	33,60 \pm 6,12 ^a
PED	85,06 \pm 17,83 ^a	74,25 \pm 8,93 ^a	89,48 \pm 9,45 ^a	93,98 \pm 11,63 ^a

Parâmetro	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
PED/g T	22,41±1,97 ^a	20,16±2,11 ^a	24,52±2,48 ^a	25,62±3,45 ^a
RET	1088,75±228,23 ^a	950,34±114,27 ^a	1145,33±121,00 ^a	1202,89±148,92 ^a
RET/g	286,86±25,27 ^a	258,06±27,03 ^a	313,81±31,77 ^a	327,96±44,20 ^a

Letras iguais na linha indicam que as médias não diferem significativamente entre si ($p > 0,05$). Grupo I: controle; Grupo II: EJ 200 mg/kg; Grupo III: EJ 400 mg/kg; Grupo IV: EJ 600 mg/kg. CEME: Coeficiente de eficiência de mitose espermatogonial; RM: Rendimento meiótico; RGE: Rendimento geral da espermatogênese; CS/T: Número de célula de Sertoli por testículo ($\times 10^6$); CS/g T: Número de célula de Sertoli por grama de testículo ($\times 10^6$); PED: Produção espermática diária ($\times 10^6$); PED/g T: Produção espermática diária por grama de testículo ($\times 10^6$); RET: Reserva espermática por testículo ($\times 10^6$); RET/g: Reserva espermática por grama de testículo ($\times 10^6$).

Os resultados relativos ao índice de eficiência da célula de Sertoli e capacidade total de suporte da célula de Sertoli encontram-se, respectivamente, nas FIGURAS 6 E 7, não apresentando variação significativa entre os tratamentos.

Figura 6: Índice de células de Sertoli de ratos Wistar controle e tratados com diferentes doses de *Euterpe edulis*. Letras iguais indicam que as médias não diferem significativamente entre si ($p>0,05$)

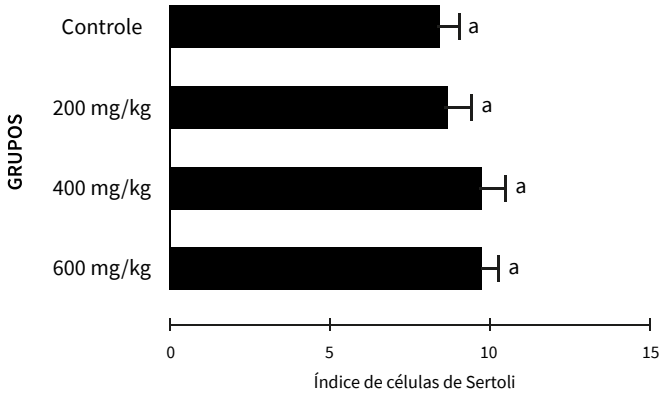
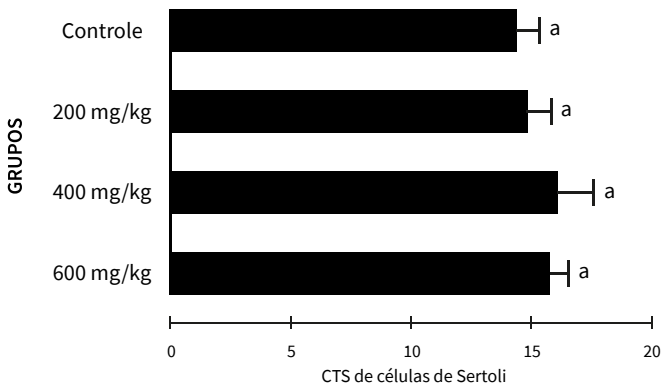


Figura 7: Capacidade total de suporte de células de Sertoli de ratos Wistar controle e tratados com diferentes doses de *Euterpe edulis*. Letras iguais indicam que as médias não diferem significativamente entre si ($p>0,05$)



4 Discussão

Não foram observadas variações significativas entre o peso corporal dos animais dos grupos controle e tratados com extrato hidroalcoólico de Juçara (EJ). Novello *et al.* (2015) também relataram ausência de alteração neste parâmetro em camundongos tratados com 2% e 6% de EJ.

O parênquima testicular consiste na parte funcional dos testículos e apresenta dois compartimentos: o tubular e o intersticial ou intertubular (RUSSELL *et al.*, 1990). O compartimento tubular constitui a maior parte do testículo, ocupando, na grande maioria dos mamíferos, de 60% a 80% do parênquima testicular (FRANÇA; RUSSELL, 1998). No presente estudo, os grupos experimentais não apresentaram alterações no peso testicular, bem como no peso do parênquima testicular, albugínea e índice gonadossomático (IGS). A ausência de alterações nesses parâmetros indica que não houve comprometimento da massa testicular dos animais nos diferentes tratamentos, além de não terem sido evidenciadas quaisquer alterações na morfologia dos testículos dos animais entre os grupos experimentais.

O índice tubulossomático (ITS) é um parâmetro que visa quantificar o investimento em túbulos seminíferos em relação à massa corporal (FRANÇA; RUSSEL, 1998). Os grupos experimentais não diferiram significativamente entre si em relação a este parâmetro, sugerindo que o investimento em massa tubular também não sofreu alterações entre os diferentes tratamentos.

A mensuração tubular é uma das abordagens utilizadas como indicadores da atividade espermatogênica em experimentos relacionados à função testicular. Assim, alterações no processo espermatogênico podem ser constatadas a partir da mensuração do diâmetro tubular e altura do epitélio seminífero (FRANÇA; RUSSEL, 1998). Houve aumento no diâmetro dos túbulos seminíferos e no diâmetro do lúmen tubular nos animais expostos a menor dose do EJ. Porém, sabe-se que a altura do epitélio seminífero é uma mensuração mais efetiva para avaliação da produção espermática por ser este um elemento dinâmico do túbulo seminífero (RUSSELL *et al.*, 1990). Como não houve alterações neste parâmetro, pode-se sugerir que o tratamento EJ não interferiu no processo espermatogênico. Tal afirmação foi confirmada pela ausência de alterações no número de células de Sertoli e células germinativas no epitélio seminífero de ratos expostos a diferentes doses do EJ.

Parâmetros estruturais, como volume testicular, diâmetro tubular e proporção volumétrica dos túbulos seminíferos, estão intimamente relacionados ao comprimento total dos túbulos seminíferos (RUSSELL *et al.*, 1990). Como houve alterações no diâmetro tubular, o comprimento total de túbulos por grama de testículo também foi afetado, sofrendo redução significativa nos animais que receberam 200 mg/Kg do extrato EJ em relação ao controle. Apesar das alterações observadas, a ausência de alterações na altura do epitélio seminífero, bem como na população celular dos túbulos seminíferos neste grupo sugerem que o EJ não interferiu no processo espermatogênico.

As interações entre as células de Sertoli e as células germinativas são cruciais para a manutenção da produção espermática normal. A população de células de Sertoli manteve-se constante nos grupos experimentais, estando de acordo com França e Russell (1998), que consideram que as células de Sertoli não mais se dividem após o período perinatal na maioria dos animais. A capacidade total de suporte da célula de Sertoli (número de células germinativas suportadas por uma célula de Sertoli) é o melhor reflexo da eficiência funcional desta célula, além de ser muito variada e constante para cada espécie (FRANÇA; RUSSELL, 1998). Os índices da célula de Sertoli avaliados não mostraram diferença significativa entre os grupos experimentais. Estes dados confirmam que o EJ não afetou as fases de desenvolvimento das células germinativas e a relação destas com a célula de Sertoli.

As razões entre os diferentes tipos de células germinativas constituem um modo bastante seguro de se analisar a eficiência do processo espermatogênico. Os principais índices utilizados, baseados nas razões celulares, são o coeficiente de eficiência de mitoses espermatogoniais (CEME), o rendimento meiótico (RM) e o rendimento geral da espermatogênese (RGE), os quais correspondem, respectivamente, ao grau de perdas celulares na fase espermatogonial ou proliferativa, à eficiência das duas divisões meióticas e à eficiência do processo espermatogênico como um todo (FRANÇA; RUSSELL, 1998). As razões entre os números celulares calculadas para avaliação do processo espermatogênico no presente estudo não variaram entre os grupos experimentais.

A eficiência da espermatogênese é medida através da produção espermática diária (PED) total e por grama de testículo. Em ratos Wistar, considerada espécie com alta eficiência espermatogênica, a PED por grama de testículo é de 20 a 24×10^6 espermátides (JOHNSON, 1995). Os resultados da PED por grama de testículo, nos diferentes tratamentos, estão dentro dos padrões de normalidade para a espécie. Portanto, o EJ não apresentou efeito estimulador nem inibidor do processo espermatogênico.

A reserva espermática testicular (RET) quantifica o número potencial de espermatozoides em produção no testículo ou por grama de testículo a cada ciclo do epitélio seminífero (FRANÇA; RUSSELL, 1998), constituindo um parâmetro útil em experimentações que envolvam a produção espermática. Neste trabalho, a RET por testículo e por grama de testículo não sofreram alterações entre os grupos experimentais.

5 Considerações finais

Os dados sugerem que a ingestão diária de extrato hidroalcoólico de Juçara não influenciou de forma significativa os parâmetros biométricos e morfométricos testiculares, não sendo observadas variações que indicassem comprometimento do processo espermatogênico. Apesar de não promover a estimulação das células espermatogênicas, o extrato de *E. Edulis* também não foi capaz de induzir efeitos tóxicos no testículo, mostrando-se seguro para o consumo nas doses testadas.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Programa Institucional de Apoio à Pesquisa (PAPq/UEMG) pela concessão da bolsa de iniciação científica e a Universidade Federal de Viçosa (UFV) pela parceria e apoio no desenvolvimento do trabalho.

Referências

- ABERCROMBIE, M. Estimation of nuclear populations from microtome sections. **Anatomical Record**, v. 94, p. 238-248, 1946.
- AMANN, R. P. Sperm production rates. A. D. Johnson, W. R. Gomes, N. L. Van Demark (Ed.) **The Testis**. New York: Academic Press, vol. 1, p. 433, 1970.
- AMANN, R. P., ALMQUIST, J. O. Reproductive capacity of dairy bulls, VIII. Direct and indirect measurement of testicular sperm production. **Journal of Dairy Science**, v. 45, p.774-781, 1962.
- ARAF, M. H. *et al.* Protective effects of tribulus terrestris extract and angiotensin blockers on testis steroidogenesis in copper overloaded rats. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 178, p. 113-122, 2019.
- BERNDTSON, W. E. Methods for quantifying mammalian spermatogenesis: a review. **Journal of Animal Science**, v. 44, p. 818-883, 1977.
- BICUDO, M. O. P. *et al.* Anthocyanins, Phenolic Acids and Antioxidant Properties of Jucara Fruits (*Euterpe edulis* M.) Along the On-tree Ripening Process. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 69, n. 2, p. 142-147, 2014.
- BRITO, E. S. *et al.* Anthocyanins present in selected tropical fruits: acerola, jabolão, jussara, and guajiru. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 9389-9394, 2007.
- CARDOSO, A. L. *et al.* An Update on the Biological Activities of *Euterpe edulis* (Juçara). **Planta Medica**, v.84, n.8, p. 487-499, 2018.
- CHANG, Y. C. *et al.* *Hibiscus* anthocyanins-rich extract inhibited LDL oxidation and oxLDL-mediated macrophages apoptosis. **Food and Chemical Toxicology**, v. 44, p. 1015-1023, 2006.
- CHEN, P. N. *et al.* Black rice anthocyanins inhibit cancer cells invasion via repressions of MMPs and u-PA expression. **Chemico - Biological Interactions**, v.163, p. 218-229, 2006.

DIAS, F. C. R. *et al.* Hydroalcoholic extract of *Pfaffia glomerata* alters the organization of the seminiferous tubules by modulating the oxidative state and the microstructural reorganization of the mice testes. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 233, p.179-189, 2019.

FISCH, S. T. V. *et al.* Fenologia reprodutiva de *Euterpe edulis* Mart. na Mata Atlântica (Reserva Ecológica do Trabiju , Pindamonhangaba – SP). *Revista Brasileira de Biociências*, v. 6, p. 31–37, 2000.

FRANÇA, L. R.; RUSSELL, L. D. The testis of domestic mammals. *In: Male reproduction: a multidisciplinary overview*. Madrid, Churchill Communications, cap 16,198-219, 1998.

GARCIA-ALONSO, M. *et al.* 2009. Red wine anthocyanins are rapidly absorbed in humans and affect monocyte chemoattractant protein 1 levels and antioxidant capacity of plasma. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 20, n. 7, p. 521-529.

HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C.A. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, v. 55, p. 481-504, 2000.

JOHNSON, L. Efficiency of spermatogenesis. *Microscopy Research and Technique*, v. 32, p. 385-422, 1995.

JOHNSON L. *et al.* A new approach to quantification of spermatogenesis and its application to germinal cell attrition during human spermatogenesis. *Biology Reproduction*, v. 25, p. 217-226, 1981.

KARNOVSKY, M. J. J. A Formaldehyde-Glutaraldehyde Fixative of High Osmolality for Use In Electron Microscopy. *The Journal of Cell Biology*, v. 27, p. 137–138, 1965.

LORENZI, H. *et al.* *Flora Brasileira – Arecaceae* (Palmeiras). Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2010. 384 p.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE (MMA). **Instrução Normativa nº. 6, de 23 de setembro de 2008**. Espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção e com deficiência de dados, Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 24 set. 2008. Seção 1, p.75-83, 2008.

NOGUEIRA, Oscar Lameira. **Açaí**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2005.

NOVELLO, A. A. *et al.* Chemical characterization, antioxidant and antiatherogenic activity of anthocyanin-rich extract from *Euterpe edulis* mart in mice. **Journal of Food and Nutrition Research**, v. 54, p. 101–112, 2015.

RUSSELL, L. D. *et al.* Mammalian spermatogenesis. *In*: RUSSELL, L. D.; ETTLIN, R. A.; SINHA, H. A. P.; CLEGG, E. D.(eds). **Histological and histopathological evaluation of the testis**. Cache River Press, Saint Louis, pp 1-40, 1990.

SCHULZ, M. *et al.* Juçara fruit (*Euterpe edulis* Mart.): sustainable exploitation of a source of bioactive compounds. **Food Research International**, v. 89, p. 14-26, 2016.

SULIGA, E.; GŁUSZEK, S. 2019. Diet, energy balance and fertility in men. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, p. 1-13, 2019.

TAGLIATI, C. A.; FÉRES, C. A. O. Pesquisas toxicológicas e farmacológicas. *In*: LEITE, J. P. V. **Fitoterapia: Bases Científicas e Tecnológicas**. 1. Ed. São Paulo: Atheneu, p. 119-140, 2009.

TOUFEKTSIAN, M.C. *et al.* Chronic dietary intake of plant-derived anthocyanins protects the rat heart against ischemia reperfusion injury. **The Journal of Nutrition**, v. 138, p. 747–752, 2008.

TURNER, T. T.; LYSIAK, J. J. Oxidative stress: a common factor in testicular dysfunction. **Journal of Andrology**, v. 29, p. 488–498, 2008.

XIA, M. *et al.* Anthocyanin attenuates CD40-mediated endothelial cell activation and apoptosis by inhibiting CD40-induced MAPK activation. **Atherosclerosis**, v.1, p. 41–47, 2009.