

Efeito do chá verde sobre a manutenção da cinética de espermatozoides de ratos Wistar*Effect of green tea in the maintenance of Wistar rats sperm kinetics***Kamila Giffoni Sales Michiles*, Joane Isis Travassos Vieira, Aline Helena Albuquerque da Silva, Ellen Cordeiro Bento da Silva**

Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brasil.

*E-mail: kamilagiffone@hotmail.com

As células testiculares, assim como as demais células do corpo, são produtoras de espécies reativas de oxigênio (ROS) como produto final de seu metabolismo. Quando em excesso, estas são deletérias, uma vez que desencadeiam o estresse oxidativo. Em oposição, componentes do chá verde são conhecidos pelo alto potencial antioxidante, com redução da geração e ação nociva das ROS. Dentre estes, ocupa posição de destaque a (-)-epigallocatequina galato (EGCG), principal e mais potente catequina do chá verde. Dessa forma, objetivou-se os parâmetros de cinética dos espermatozoides de ratos Wistar submetidos a ingestão de extrato de chá verde. O experimento foi realizado no biotério do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal (DMFA) e nos laboratórios de Fisiologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE – Sede). Para isso, 10 ratos adultos, com 120 dias de idade, foram mantidos em gaiolas com água e ração *ad libitum*. Os mesmos foram divididos em dois grupos, os quais receberam diariamente, por 30 dias, 100mg/Kg de solução aquosa de extrato de chá verde (G1) ou o mesmo volume de água destilada (G2), via gavagem. Ao final dos 30 dias de tratamento, os animais foram eutanasiados e os espermatozoides recuperados pela técnica de flotação dos epidídimos, em seguida, alíquotas do meio com os espermatozoides foram avaliadas quanto a motilidade (0-100%) e o vigor (0-5) espermático em microscópio óptico (100X), de forma subjetiva. Os resultados obtidos foram submetidos ao teste estatístico ANOVA e Tukey, com nível de significância 5%. Não foram observadas diferenças estatísticas ($P < 0,05$) entre os grupos experimentais para a motilidade ($G1=86,25 \pm 4,79$; $G2=82,50 \pm 8,66$) e para o vigor ($G1=3,00 \pm 0,91$; $G2=3,13 \pm 0,48$). Tal fato demonstra que, apesar dos relatos sobre os benefícios do chá verde, este não foi capaz de favorecer a espermatogênese e a qualidade seminal de ratos Wistar na dose e tempo em que foi administrado. Conclui-se que a administração oral de 100mg/Kg de extrato de chá verde, ao longo de 30 dias, não melhora a cinética de espermatozoides de ratos Wistar.

Palavras-chave: antioxidante, catequinas, espermatozoides.**Keywords:** *antioxidant, catechins, spermatozoa.*



Efeitos reprodutivos da exposição oral a efluentes de curtume em camundongos machos

Reproductive effects of oral exposure to tannery effluents in male mice

**Bárbara Schmitt, Evandro da Silva Barros, Manoela Pasini, Ana Micaela Camini,
Anna Flávia Tischer da Silva, Ivan Cunha Bustamante Filho***

Laboratório de Biotecnologia, Universidade do Vale do Taquari - UNIVATES, Lajeado, RS, Brasil.

*E-mail: ivanbustamante@univates.br

Os efluentes provenientes das indústrias de curtume possuem elevada carga poluidora, geralmente contendo substâncias capazes de provocar alterações significativas na dinâmica das populações de pequenos mamíferos, bem como alterações drásticas na saúde de seres humanos que possam ter contato com esse tipo de resíduo. Apesar da severa legislação, é frequente seu descarte sem tratamento em corpos d'água. Recentemente, foi demonstrado que o contato com efluentes de curtume (EC) em concentração maior que 5% causa degeneração testicular em ratos. Estes dados são um importante indicativo da toxicidade reprodutiva deste contaminante, contudo é importante definir se concentrações ainda menores, e mais próximas da realidade ambiental causam o mesmo efeito. Da mesma forma, os atuais e novos sistemas de tratamento devem ser testados para verificar sua eficácia com relação à redução de sua toxicidade. Assim, esta pesquisa tem objetivo de avaliar os efeitos na fisiologia reprodutiva de camundongos machos expostos de forma crônica (30 dias) a efluente bruto (ECB). Para isso, foram utilizados 20 (vinte) camundongos machos distribuídos em 04 (quatro) grupos experimentais conforme o grau de contaminação da água de beber, a saber: 0% (controle), 0,1%, e 5%, de ECB. Após o período de 30 dias, os machos foram pareados com fêmeas (n = 20) para avaliação de parâmetros de fertilidade. Em seguida, foram eutanasiados para avaliações morfológicas, celulares e moleculares nos tecidos reprodutivos. Para tanto, foram avaliados parâmetros de qualidade seminal, buscando confirmar o efeito de desregulação endócrina. Para tais análises, foram verificados os seguintes parâmetros: peso dos animais, testículos, epidídimo e fígado; motilidade espermática total e progressiva; morfologia espermática; defeitos na cabeça, peça intermediária e cauda. A exposição por 30 dias às concentrações de efluentes testadas não tiveram impacto significativo nos parâmetros fisiológicos testados. O único parâmetro que apresentou alteração foi o aumento de alterações morfológicas na cabeça dos espermatozoides em concentrações acima de 0,5% ($P < 0,05$). Estes resultados diferem dos encontrados em ratos expostos a efluentes de curtume, o que pode ser atribuído ao tempo de exposição inferior ao ciclo espermatogênico em camundongos. Conclui-se que a exposição a efluentes de curtume em concentrações menores que 5% não afetam significativamente os parâmetros reprodutivos de camundongos machos.

Palavras-chave: efluente de curtume, espermatozoide, camundongo, fertilidade.

Keywords: *tannery effluent, endocrine, spermatozoa, mouse, fertility.*



Avaliação estrutural por citometria de fluxo de espermatozoides da cauda do epidídimo de camundongos expostos a efluente de curtume

Structural evaluation by means of flow cytometry of cauda epididymis spermatozoa from mice exposed to tannery effluent

Anna Flávia Tischer da Silva, Evandro da Silva Barros, Bárbara Schmitt, Manoela Pasini, Ana Micaela Camini, Ivan Cunha Bustamante Filho*

Laboratório de Biotecnologia, Universidade do Vale do Taquari - UNIVATES, Lajeado, RS, Brasil.

*Email: ivanbustamante@univates.br

A cadeia produtiva do couro possui grande importância econômica em diferentes regiões do Brasil. Contudo, muitas vezes os efluentes gerados pelos curtumes são ilegalmente despejados em corpos d'água, causando importante impacto ambiental. O efluente de curtume não tratado possui altas quantidades de cromo, fosforo, sódio, cloretos e fitalatos, elementos que podem levar a impactos reprodutivos significativos tanto em animais como em humanos que tenham os recursos hídricos contaminados como fonte de consumo. O objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos da exposição de camundongos machos por 30 dias a diferentes concentrações de efluentes de curtume bruto (ECB) na estrutura de espermatozoides obtidos da cauda do epidídimo. Foram utilizados 20 camundongos machos distribuídos em 4 grupos experimentais conforme o grau de contaminação da água de beber: 0% (controle), 0,1%, e 5%, de ECB. Após o período de 30 dias de exposição, os machos foram eutanasiados para coleta de espermatozoides do epidídimo. Os testículos e epidídimos foram dissecados com auxílio de lupa, e a região da cauda foi separada do restante do epidídimo. A amostra foi seccionada diversas vezes em vidro de relógio com PBS aquecido a 36°C. Após, as amostras foram centrifugadas, e os espermatozoides foram avaliados por citometria de fluxo (BD Accuri C6), utilizando as sondas fluorescentes FITC-PSA para avaliação da integridade acrossomal (reagido ou não) e iodeto de propídio, que indica lesão de membrana plasmática. Foram avaliados 10.000 eventos, excluindo aqueles não marcados pela sonda fluorescente Syto59 (controle interno celular). Após a análise, os espermatozoides foram classificados como acrossoma íntegro e membrana íntegra (AIMI), acrossoma reagido e membrana íntegra (ARMI), acrossoma íntegro e membrana lesionada (AIML) e acrossoma reagido e membrana lesionada (ARML). Foi observada uma baixa integridade nas amostras avaliadas, com a subpopulação espermática ARML apresentando uma média geral de $57,09 \pm 19,18$ %, significativamente maior que a média geral de AIMI, de $10,71 \pm 13,49$ %. Quando avaliado o efeito efluente em cada subpopulação, observou-se uma redução da população AIML a exposição ao efluente independente da concentração ($P < 0,001$) . Um efeito inverso foi observado na população ARMI ($P < 0,001$). Pode-se concluir que a exposição ao efluente de curtume induz a uma reação prematura do acrossoma, contudo não altera a integridade da membrana plasmática.

Palavras-chave: efluente de curtume, espermatozoide, camundongo, fertilidade.

Keywords: *tannery effluent, spermatozoa, mouse, fertility.*

Parâmetros morfométricos da próstata ventral de gerbilos (*Meriones unguiculatus*) tratados com óleo de coco

*Morphometric parameters of the ventral prostate of gerbils (*Meriones unguiculatus*) treated with coconut oil*

Fernanda Costa Jubilato^{1,*}, Nayara Fernanda da Costa Castro², Luiz Henrique Alves Guerra², Luiz Roberto Falleiros-Júnior², Sebastião Roberto Taboga³, Patricia Simone Leite Vilamaior³

¹Aluna de Doutorado do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista – IBILCE/UNESP, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil; ²Departamento de Biologia Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista – IBILCE/UNESP, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil; ³Professores e pesquisadores do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista – IBILCE/UNESP, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil.

*E-mail: ferjubilato@yahoo.com.br

A próstata é uma glândula acessória do aparelho reprodutor masculino responsável pela secreção e armazenamento da maior fração do fluido seminal, sua secreção fornece aos espermatozoides condições ideais de sobrevivência e motilidade durante e após a ejaculação. O aumento dos níveis circulantes de testosterona e seus metabólitos na próstata promovem o aumento do volume da glândula que caracteriza a hiperplasia prostática benigna (HPB). Alguns estudos demonstram que os ácidos graxos desempenham um papel na inibição de atividade da enzima 5 α redutase, sendo o ácido láurico o mais eficaz dentre eles. O óleo de coco possui em sua composição ácidos graxos, especialmente os ácidos láurico e mirístico, e ácidos graxos insaturados como ácidos oleico e linoleico, que são constituintes importantes das células, desempenhando papéis importantes na função celular e podem atuar como substratos da síntese de reguladores do processo inflamatório. Sendo assim, o óleo de coco pode disponibilizar componentes bioativos que podem atuar como desreguladores endócrinos causando alterações nos tecidos da próstata. O objetivo deste estudo foi avaliar os parâmetros morfométricos na próstata ventral de gerbilos tratados com óleo de coco. Os animais foram distribuídos em dois grupos (6 gerbilos cada), um grupo controle (C) que não recebeu nenhum tratamento e o outro grupo (CO) foi tratado por via oral com óleo de coco (0,1ml) diariamente por 30 dias. Posteriormente os animais foram eutanasiados e as próstatas ventrais foram removidas, pesadas e processadas para microscopia de luz. Em seguida foram seccionadas e coradas com Picrossírius, as imagens histológicas foram digitalizadas com uso de microscópio Olympus BX-60 acoplado à câmera digital e ao sistema analisador de Imagens - *Image-Pro-Plus* ©Media Cybernetics. Os cortes histológicos foram submetidos à medida da altura (μm) das células epiteliais secretoras, espessura (μm) da camada muscular e área do núcleo (μm^2). Para cada uma dessas análises foram coletadas 200 medidas de cada grupo experimental. A análise estatística foi realizada em planilhas e gráficos do software *GraphPad Prism 6.00* e foram utilizados os testes *Kruskal-Wallis* seguido do teste *Mann Whitney* (dados não paramétricos). Os resultados foram apresentados em termos da média \pm desvio padrão e os valores de $p \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes. A partir dessas análises, foi possível observar o aumento significativo da camada muscular no grupo CO em relação ao grupo C. Já a altura do epitélio em C, apresentou-se maior que CO e a área do núcleo em CO mostrou-se maior que em C, porém esses resultados não foram estatisticamente significantes. Nossos resultados contribuem para o maior entendimento da ação do óleo de coco na próstata ventral de gerbilos e que outras análises serão necessárias para avaliar a atividade endócrina dos componentes desse óleo. CEUA protocol. No. 175/2017. Suporte financeiro: CAPES.

Palavras-chave: próstata, gerbilos, óleo de coco, hiperplasia.

Keywords: prostate, gerbils, coconut oil, hyperplasia.

Efeitos inibitórios da Geléia Real sobre o trato reprodutivo da rata *Inhibitory effects of Royal Jelly on reproductive tract of the female rat*

Camila Oliveira Cruz¹, Saulo Moreira Mendes¹, Vinicius Novaes Rocha², Virgínia Mara Pereira^{2,*}

¹Graduandos de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG; ²Professores do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Brasil.

*E-mail: virginia.pereira@ufjf.edu.br

Royal Jelly (RJ), produced in the hypopharyngeal and mandibular glands of worker honeybees, is the exclusive food of the queen honeybees, and contains proteins, free amino acids, lipids, vitamins and sugars. RJ is known to have some diverse nutritional and pharmacological functions in humans and animals, such as antioxidant, antiinflammatory and antiproliferative activities. In the reproductive system, the precise effect of RJ is unclear yet. An estrogenic activity was demonstrated in vitro using human breast cancer cell line MCF-7. In vivo studies had shown discrepant results about reproductive performance and it seems to be related to animal species, and dose and time of treatment. In ewes, RJ treatment increased plasma progesterone and pregnancy rate, but in female mice RJ has none effect on embryo quality. In previous studies performed in adult ovariectomized female rats, our group demonstrated a marked inhibitory effect of RJ upon uterine weight. The aim of this present study was to investigate the effects of RJ on follicular development in immature female rats using the superovulation model. Forty two female Wistar immature rats (22-24 days old) were divided in six groups and receiving different substances by intraperitoneal injection, as followed: 1) Control (n=7): saline solution 0,9%; 2) eCG (n=6): 20 IU; 3) RJ100 (n=7): royal jelly 100 mg/kg; 4) RJ250 (n=7): royal jelly 250 mg/kg; 5) eCG+RJ100 (n=7): eCG 20 IU + RJ 100 mg/kg; 6) eCG+RJ250 (n=7): eCG 20 IU + RJ 250 mg/kg. 48 hours after, rats were submitted to vaginal smears and then euthanized. Through laparotomy, ovaries and uterus were immediately removed, cleaned, weighed and immersed in paraformaldehyde. After, skulls are opened and pituitary glands were removed and weighed. The weight of the glands was standardized to 100 mg. Statistical analysis was made by ANOVA followed by Student Newman-Keuls. The efficiency of the animal model was confirmed by the increase of ovarian weight with the ECG treatment, a known response due to FSH activity from eCG. Our results demonstrated that the administration of RJ alone do not change the uterine, ovarian and pituitary weight. However, RJ in the concentration of 100 mg/kg when administered simultaneously with eCG, it reduced significantly ($p < 0.05$) the weight of right ovaries (102.7 ± 11.1) and left ovaries (107.5 ± 9.6) compared to eCG treatment (122.3 ± 14.3 and 130.6 ± 13.1 , respectively). Also, RJ in the concentration of 250 mg/kg administered simultaneously with eCG, showed more evident inhibitory effect ($p < 0.01$) upon the right (83.5 ± 10.9) and left ovaries (86.6 ± 12.7) compared to eCG group. Data from vaginal smears shown the estrogenic effect promoted by eCG treatment, with the cytology consistent to estrous phase, however, in the group of RJ 250/kg we observed that only 3 rats presented cells from estrus phase, and 3 of them do not present vaginal opening. In conclusion, these recent data show an inhibitory effect of RJ upon the rat ovary in response to eCG treatment. These preliminary findings could be suggests a possible apoptotic effect of RJ on the follicular development in this specie. Further investigations, as the histological analyses of ovarian slices may help us to clarify the role of RJ compounds in the female reproductive system.

Palavras-chave: Geléia Real, ovário, foliculogênese, rata.

Keywords: *Royal Jelly, ovary, folliculogenesis, rat.*

Desenvolvimento gestacional de ratas Wistar submetidas á aplicação de Propil e Butilparabeno

Gestation development in Wistar rats with application of Propil and Butilparaben

**Suzane Brochine^{1,*}, Viviane Maria Codognoto¹, Edjalma Rodrigues da Silva Junior¹,
Ariane Dantas², Rogério Antônio de Oliveira³, Leticia Cristina Salgado¹,
Stella Maris Teobaldo Tironi¹, Nayara Fernanda Silva Marques¹, Cristiano Sousa Bouéres¹,
Eunice Oba¹**

¹Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil; ²Escola Técnica Dona Sebastiana de Barros, São Manuel, SP, Brasil; ³Departamento de Bioestatística, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil.

*E-mail: brochine.suzane@gmail.com

Os desreguladores endócrinos são químicos encontrados no ambiente e podem ser considerados substâncias contaminantes. Dentre eles, o propil e butilparabeno são utilizados como conservantes de produtos industrializados, alimentícios e farmacêuticos. Entretanto, a toxicidade desses conservantes químicos podem influenciar a fertilidade e desenvolvimento gestacional, dependendo da concentração e via de exposição. Porém, há uma variabilidade significativa entre os experimentos relacionados aos conservantes mencionados. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar a influência de diferentes concentrações do Propil e butilparabeno sob o peso do útero gravídico de ratas Wistar. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética do Uso de Animais, da FMVZ, UNESP - Botucatu (Protocolo nº 0145/2018). Utilizou-se 24 ratas Wistar (50 dias de idade) com peso médio de 180 gramas, 3 fêmeas alocadas por caixa, à temperatura ($22^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) e umidade controlada. O fotoperíodo estabelecido (claro-escuro) foi de 12/12 horas e alimentação controlada (Nuvilab[®]) e água *ad libitum*. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro tratamentos (n= 6), submetidos à administração diária por via subcutânea (mg/kg de peso corporal/dia) de Propil e Butilparabeno (propyl 4hydroxybenzoate e butyl 4-hydroxybenzoate). Considerando-se os grupos: Controle (óleo de milho como veículo de administração), Tratamento 1 (10 mg/kg), Tratamento 2 (100 mg/kg) e Tratamento 3 (200 mg/kg) com duração experimental de 90 dias. Para a fertilidade, as fêmeas foram acasaladas no 70º dia e no 20º dia eutanasiadas com à inalação de CO₂, seguido por decapitação. Posteriormente, foi realizada a laparotomia para exposição, retirada e pesagem do útero gravídico, fetos e placentas isoladas. Utilizou-se análise de variância (ANOVA) com diferença significativa quando $P < 0,05$. Não houve diferença entre os tratamentos para o peso do útero gravídico e dos fetos ($P > 0,05$). O peso médio da placenta diferiu entre os grupos, sendo as ratas do tratamento 2 as que apresentaram os maiores valores ($P = 0,0368$). O parabeno é metabolizado na placenta podendo apresentar efeito sobre o seu desenvolvimento, todavia, sugere-se que tal influência possa não ser dose dependente, justificando os resultados encontrados para as fêmeas que receberam uma dosagem intermediária do químico (Tratamento 2). Portanto, o parabeno e seus metabólitos podem atravessar a barreira transplacentária e afetar a circulação fetal. Há possíveis efeitos prejudiciais sobre o feto e sua vida pós-natal, porém, mais estudos são necessários para o entendimento da fisiologia placentária.

Palavras-chave: desregulador endócrino, fêmeas, placenta.

Keywords: *endocrine disruptor, female, placenta.*

Análise morfométrica da próstata de ventral de gerbilos (*Meriones unguiculatus*) adultos suplementados pela testosterona

*Morphometric analysis of the ventral prostate of adult gerbils (*Meriones unguiculatus*) after testosterone supplementation*

Nayara Fernanda da Costa Castro^{1,*}, Fernanda Costa Jubilato², Luiz Henrique Alves Guerra², Luiz Roberto Falleiros-Júnior², Sebastião Roberto Taboga³, Patrícia Simone Leite Vilamaior³

¹Aluna de Doutorado do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista – IBILCE/UNESP, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil; ²Departamento de Biologia Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista – IBILCE/UNESP, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil; ³Professores e pesquisadores do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista – IBILCE/UNESP, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil.

*E-mail: nayaracastro2011@gmail.com

A próstata é uma glândula acessória do sistema genital dos mamíferos composta por dois compartimentos distintos, o epitelial e o estromal. Tem se atribuído grande importância científica a esta glândula uma vez que, o câncer de próstata é a neoplasia maligna mais prevalente entre homens e o segundo câncer que mais leva a óbito nas sociedades ocidentais. O desenvolvimento prostático é mediado pela regulação hormonal, primeiramente, por andrógenos que são hormônios esteroides responsáveis por induzir a diferenciação e maturação do sistema reprodutor masculino e por atuar no desenvolvimento das características sexuais secundárias masculinas. Além disso, alguns estudos mostram que a próstata é uma glândula muito suscetível às alterações nos níveis dos andrógenos, que podem desempenhar um importante papel no desenvolvimento do câncer de próstata. Dessa forma, o presente trabalho teve por objetivo avaliar os parâmetros morfométricos da próstata ventral de gerbilos adultos (*Meriones unguiculatus*) expostos a testosterona no período imediato e tardio. Assim, foram utilizados gerbilos machos adultos divididos nos grupos: Controle intacto (C), Testosterona Imediato (TI) – receberam injeções subcutâneas de Cipionato de Testosterona em dias alternados durante 30 dias e imediatamente eutanasiados após a suplementação pelo hormônio, Testosterona Tardio (TT) – receberam injeções subcutâneas de Cipionato de Testosterona em dias alternados, durante 1 mês e foram eutanasiados 30 dias após a suplementação. Após a eutanásia a próstata ventral foi retirada, pesada, fixada em paraformoldeído 4% e incluída em Paraplast (Sigma). Os órgãos foram seccionados a 4 µm e corados pelas técnicas de *Hematoxilina-Eosina (HE)* e *Picrossírius*. Foram realizadas análises morfológicas e morfométricas. A morfometria foi realizada para se obter a altura e espessura das células epiteliais e das células musculares lisas, respectivamente. Foram realizadas, 240 medidas por grupo obtidas a partir de 8 imagens capturadas de uma lâmina de cada animal, coradas pela técnica de *Picrossírius*, com o auxílio do Sistema Analisador de Imagens, com o programa *Image-Pro-Plus (Media Cybernetics)*. A análise estatística foi realizada em planilhas e gráficos do software *GraphPad Prism 6.00*. Para a comprovação da significância dos resultados foram utilizados os testes de one-way ANOVA e Kruskal-Wallis para comparações múltiplas. O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$). As análises biométricas mostraram o aumento significativo no peso relativo da próstata ventral nos grupos expostos a testosterona comparado ao controle. A morfometria permitiu verificar o aumento estatisticamente significativo da espessura das células musculares lisas e da altura do epitélio nos grupos TI e TT em relação ao controle. Essas alterações indicam que a testosterona exógena influencia no funcionamento da próstata e foi suficiente para induzir a hiperplasia prostática benigna e os efeitos desse hormônio permanecem mesmo após 30 dias do término da suplementação, como pode ser observado no grupo TT em relação ao TI.

Palavras-chave: próstata, gerbilos, testosterona.

Keywords: prostate, gerbils, testosterone.

Determinação e comparação de parâmetros reprodutivos do rato Wistar em diferentes fases reprodutivas

Determination and comparison of reproductive parameters of the Wistar rat in different reproductive phases

Marcos Gomides Carvalho^{1,*}, Fabiana Ferreira da Silva Souza¹, Kelry Mayara da Silva¹, Viviana Helena Vallejo Aristizábal¹, Pablo Eduardo Ocampo Ortiz¹, Suzane Brochine¹, Luiz Jerônimo Ferreira Gruppi³, Simone Acrani²

¹Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Unesp, Botucatu, São Paulo; ²Instituto de Ciências Exatas, Naturais e Educação, Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, UFTM, Uberaba, Minas Gerais.

*E-mail: marcosmides@hotmail.com

O sistema reprodutor masculino na maioria dos mamíferos é composto pelos testículos, epidídimos, ductos deferentes, próstata e vesículas seminais e pênis. A função do sistema reprodutor masculino é regulada por hormônios. O hormônio luteinizante (LH) que estimula a secreção de testosterona pelas células de Leydig que em conjunto com o hormônio folículo estimulante (FSH), estimulam as células de Sertoli, culminando com a produção e maturação das células germinativas. Poucos estudos são realizados relacionando os diferentes parâmetros ao longo das fases da vida. O presente trabalho possuiu como objetivo comparar alguns destes, em ratos machos Wistar em 3 diferentes estágios. Foram utilizados 15 animais divididos em três diferentes fases reprodutivas: púberes (44 dias), adultos jovens (100 dias) e adultos plenos (271 dias). Cada grupo foi composto por 5 animais, aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Triângulo Mineiro. Os animais foram eutanasiados, pesados e a laparotomia realizada. O testículo e o epidídimo direito foram retirados para as análises da produção espermática diária (PED) e trânsito espermático (TE), respectivamente. Para a análise da PED o testículo direito foi pesado, a túnica albugínea retirada e o parênquima colocado em um tubo de ensaio de 15 ml, acrescentando-se 5 mL de solução de STM (0,9% de NaCl, 0,01% de thimerosal e 0,05% de Triton X-100), sendo homogeneizado. Em seguida, amostras de 100 µL foram retiradas e diluída em 900 µL de solução STM. As espermátides resistentes à homogeneização (estágio 19 da espermatogênese) foram contadas em câmara de Neubauer. Para análise do tempo de trânsito epididimário - TE, o epidídimo direito foi dividido em duas unidades, cabeça-corpo e cauda, que foram pesadas e homogeneizadas para a determinação da PED. Aliquotas de 50 µL foram diluídas em 950 µL de solução STM e logo após realizou-se as contagens dos espermatozoides em câmara de Neubauer. O tempo de trânsito através do epidídimo (cabeça-corpo e cauda) foi obtido dividindo-se o número de espermatozoides presentes em cada uma destas regiões pelo PED. Para a avaliação da morfologia dos espermatozoides, o canal deferente foi seccionado nas suas extremidades e lavado com o auxílio de uma seringa acoplada a agulha com 1,5ml de solução formol-salina 10%. Para as análises, uma gota de cada lavado foi colocada sobre uma lâmina histológica, sendo recoberta por lamínula e foram analisados 200 espermatozoides por animal considerando-se anormalidades da cabeça e cauda espermática. As comparações entre os resultados dos três diferentes grupos foram realizadas de duas em duas, pelo teste estatístico não-paramétrico t-Student com $p^{A,B,C} \leq 0,05$. Os resultados apontaram uma correlação positiva com o aumento da idade (puberdade até idade adulta). A partir da puberdade a capacidade reprodutiva se intensifica, até atingir valores máximos na idade adulta. Conhecer esses parâmetros reprodutivos é de fundamental importância para se entender a fisiologia e a manutenção da homeostasia deste eixo, sendo explorado para um melhor delineamento experimental.

Palavras-chave: reprodução, morfofisiologia reprodutiva, macho.

Keywords: reproduction, reproductive morphophysiology, male.



Protective effect of gallic acid against cisplatin-induced gonadotoxicity in female mice
Efeito protetor do ácido gálico contra a gonadotoxicidade induzida pela cisplatina em camundongos fêmeas

**Bruna Bortoloni Gouveia¹, Ricássio de Sousa Barberino¹, Vanúzia Gonçalves Menezes¹,
Thae Lanne Barbosa Gama Lins¹, Alane Pains Oliveira do Monte¹, Raimundo Campos Palheta Jr²,
Maria Helena Tavares de Matos^{1,*}**

¹Nucleus of Biotechnology Applied to Ovarian Follicle Development, Federal University of São Francisco Valley, Petrolina-PE, Brazil; ²Laboratory of Veterinary Pharmacology, Department of Veterinary Medicine, Federal University of São Francisco Valley, Petrolina-PE, Brazil.

*E-mail: helenamatos@univasf.edu.br

Cisplatin is a chemotherapeutic drug widely used in the treatment of cancer, but it has a proven gonadotoxicity by increasing reactive oxygen species (ROS) generation. Thus, the pretreatment with an antioxidant agent could be effective in the prevention of this toxicity. One of the most active antioxidants available is gallic acid. The aim of this study was to evaluate the effects of pretreatment with gallic acid before cisplatin chemotherapy on ovarian follicle morphology, apoptosis, cell proliferation, oxidative stress markers (ROS and glutathione [GSH] levels) and metabolically active mitochondria in mice. The adult female mice (n=25) were divided into five groups: the first group acting as a control, received orally by gavage (p.o.) saline solution (0.15 M, 0.3 mL/mouse) and after 1 h, intraperitoneal injection (i.p.) of saline solution (0.15 M, 0.15 mL/mouse). The second group received cisplatin (5 mg/kg body weight, i.p.) at 1 h after saline solution treatment (0.15 M, 0.3 mL/mouse; p.o.). The third group was a positive control, which received *N*-acetylcysteine (150 mg/kg body weight, p.o.) 1 h before cisplatin treatment (5 mg/kg body weight, i.p.). For the fourth and fifth groups, mice received gallic acid at 50 or 100 mg/kg body weight (p.o.), respectively, once daily, and after 1 h, mice received cisplatin (5 mg/kg body weight, i.p.). All groups were treated once daily for 3 days. The ovaries were harvested from the mice 24 h after the last pharmacological administration and destined to histological (follicular morphology), immunohistochemical (apoptosis and cell proliferation) and fluorescence (ROS, GSH, and active mitochondria levels) analyses. The percentages of normal follicles (total or in the different developmental stages), apoptotic follicles and proliferating cells were submitted to the Chi-square test. Data from ROS, GSH, and mitochondrial activity were compared by Kruskal-Wallis nonparametric and Student Newman-Keuls tests ($p < 0.05$). The results showed that cisplatin treatment decreased ($p < 0.05$) the percentage of normal follicles (30%) in comparison to the control (72.12%) and *N*-acetylcysteine (67.33%) groups. Pretreatment with both concentrations of gallic acid (50 mg/Kg: 62.42%; 100 mg/kg: 44%) prevented ($p < 0.05$) a reduction in the percentage of normal follicles induced by cisplatin, but only the concentration of 50 mg/Kg gallic acid maintained this percentage similar ($p > 0.05$) to control and *N*-acetylcysteine groups. Cisplatin treatment also decreased ($p < 0.05$) the percentage of normal primordial, secondary and antral follicles compared to the control, *N*-acetylcysteine and 50 mg/kg gallic acid groups. Mice treated with cisplatin alone showed an increase ($p < 0.05$) in the percentage of apoptotic follicles and a decrease ($p < 0.05$) in the percentage proliferating cells compared to the control, *N*-acetylcysteine and 50 mg/Kg gallic acid groups. In addition, pretreatment with both *N*-acetylcysteine and 50 mg/Kg gallic acid prevented ($p < 0.05$) the oxidative stress and mitochondrial damages induced by cisplatin. However, gallic acid at 100 mg/kg did not prevent it ($p > 0.05$). No differences ($p > 0.05$) were observed between control and 50 mg/kg gallic acid group for ROS and GSH levels. In conclusion, the gallic acid may attenuate the ovarian damage caused by the cisplatin treatment.

Keywords: Antioxidant, oxidative stress, ovary, phenolic acid.

Palavras-chave: *Antioxidante, estresse oxidativo, ovário, ácido fenólico.*