

USO CONTRACEPTIVO DE EXTRATO AQUOSO DE *CARICA PAPAYA* L. EM CAMUNDONGOS MACHOS

Celso Ribeiro Cavalcante de Souza¹, Marcela Rosana da Silva Santos¹, Naira Correia Cusma Pelóggia², Claudemir de Carvalho¹

¹Faculdade de Pindamonhangaba-Fapi / Biotério, Rodov. Presidente Dutra Km 99, s/n, Pindamonhangaba-SP, claudemirdec@yahoo.com

²Universidade de Taubaté-Unitau / Departamento de Medicina, Campus do Bom Conselho, cusmapelógia@gmail.com

Resumo- Em busca de contraceptivos masculinos eficazes, pesquisadores, principalmente os asiáticos investigam o extrato de algumas plantas, especialmente *Carica papaya* L. Neste trabalho foi investigada a ação contraceptiva do extrato aquoso bruto obtido da semente presente no fruto da *C. papaya*. Foram tratados 3 camundongos machos adultos da linhagem Balb/C e 3 da linhagem Swiss, com 0,5 mg/Kg de extrato administrado via intramuscular. Após 7 dias de tratamento, cada macho foi colocado para acasalar com 3 fêmeas de mesma linhagem, com as quais permaneceram até a detecção do tampão cervical. A ação contraceptiva do extrato foi avaliada pela presença ou ausência de parição até 24 dias após o acasalamento. Quatro das nove fêmeas da linhagem Swiss pariram indicando que o protocolo adotado foi parcialmente eficaz para os machos dessa linhagem e sugerindo variação individual, enquanto que para a linhagem Balb/C observou-se ausência de partos, sugerindo variação também entre linhagens. Estes resultados sugerem ainda que o efeito contraceptivo do extrato aquoso de sementes de *C. papaya* L. pode ser dependente de um tempo mínimo de tratamento, superior ao empregado.

Palavras-chave: *Carica papaya* L. Contraceptivo Masculino. Fertilidade de Camundongos.

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas

Introdução

Tradicionalmente as mulheres assumiram a responsabilidade da contracepção, porém um terço dos casais em todo o mundo emprega uma forma de contracepção masculina como preservativo ou vasectomia, devido ao fato de muitas mulheres não poderem fazer uso de contraceptivos hormonais. A vasectomia na maioria dos casos é irreversível e o uso prolongado de preservativo está associado com uma taxa relativamente alta de falhas, resultando em gestação inesperada (CORNIA; NAWALT, 2004).

Visando a obtenção de contraceptivos masculinos eficazes, com ou sem efeitos indesejáveis e com resultados reversíveis após suspensão do uso, diversos protocolos com *Carica papaya* foram descritos na literatura. Lohiya e Goyal (1992) investigaram a ação do extrato clorofórmico bruto das sementes; Lohiya et al. (1994) pesquisaram a ação do extrato bruto aquoso; Lohiya et al. (2000) estudaram a ação antiespermatogênica e a imobilização espermática pelo uso da fração benzeno do extrato clorofórmico obtido também das sementes do mamão; Monti et al. (2000) purificaram a papaína

a partir do látex fresco obtido de frutos verdes de *C. papaya*; Kusemiju; Noronha; Okanlawon (2002) avaliaram o potencial contraceptivo do extrato bruto obtido da casca do fruto; Manivannan et al. (2004) avaliaram alterações na ultra-estrutura de testículos de ratos submetidos a tratamento com extrato aquoso bruto obtido da semente de papia. Por essa razão, o objetivo deste trabalho foi avaliar a ação contraceptiva do extrato aquoso obtido da semente de *Carica papaya* L. em camundongos machos.

Material e Métodos

O extrato aquoso de *Carica papaya* L. foi obtido das sementes do fruto maduro, que foram secas em estufas de ar quente circulante à temperatura de 42 °C, pulverizadas e tamisadas em tamis nº 20. O pó obtido foi submetido à extração por "Soxhlet" por 5 horas, na proporção de 50 mg de pó para 100 mL de água bi-distilada. O produto obtido foi evaporado inicialmente em rotaevaporador e finalizado em banho-maria à 42 °C, até a obtenção de um extrato seco totalmente solúvel e estável em água. O volume utilizado foi de 150 mg de pó das sementes em 300 mL de água para obtenção de 58,5 mg de extrato seco

(VERMA; CHINOY, 2001 - modificado). Um volume de 3,6 mg de extrato seco foi suspenso em 24 mL de água bi-destilada e conservada sob refrigeração para aplicação nos animais. Os procedimentos de obtenção do extrato foram realizados no Laboratório de Farmacognosia da FAPI.

Os grupos experimentais foram compostos por 3 camundongos machos, adultos, da linhagem Balb/C, com peso médio de 75 g (Grupo I) e 3 camundongos machos, adultos, da linhagem Swiss, com peso médio de 35 g (Grupo II), tratados com aplicação intramuscular diária de 0,5 mg de extrato seco por quilo de peso vivo. Estes animais foram produzidos e mantidos no Biotério da instituição, em gaiolas de polipropileno (capacidade para 6 animais), em salas com temperatura controlada a 22 ± 2 °C, em regime de claro escuro de 12 horas, com água e ração apropriada à vontade.

Para a indução de prenhez, após 7 dias de tratamento cada macho foi colocado separadamente em gaiolas, na presença de 3 fêmeas de mesma linhagem, com as quais foram mantidos até que todas apresentassem tampão cervical, indicativo de acasalamento. Após este período, os machos foram retirados e as fêmeas retidas para observação da possível parição até 24 dias após o acasalamento.

Resultados

Para a linhagem Balb/C, das fêmeas mantidas na presença dos machos tratados (3 fêmeas para cada macho; n = 9), nenhuma apresentou prenhez, representando 100% de eficácia do tratamento para machos desta linhagem, conforme mostra a tabela 1.

Tabela 1- Índice de contracepção para camundongos Balb/C, tratados por 7 dias com 0,5 mg de extrato de semente de *C. papaya* L.

	Machos Tratados		
	M 1	M 2	M 3
Fêmea 1	0	-	-
Fêmea 2	0	-	-
Fêmea 3	0	-	-
Fêmea 4	-	0	-
Fêmea 5	-	0	-
Fêmea 6	-	0	-
Fêmea 7	-	-	0
Fêmea 8	-	-	0
Fêmea 9	-	-	0
Contracepção	100%	100%	100%

Para a linhagem Swiss, das fêmeas acasaladas com machos tratados (3 fêmeas para cada macho; n = 9), 2 pariram, conforme tabela 2

Tabela 2- Índice de contracepção observado para camundongos Swiss, tratados por 7 dias com 0,5 mg de extrato de semente de *C. papaya* L.

	Machos Tratados		
	Macho 1	Macho 2	Macho 3
Fêmea 1	0	-	-
Fêmea 2	0	-	-
Fêmea 3	0	-	-
Fêmea 4	-	0	-
Fêmea 5	-	P	-
Fêmea 6	-	P	-
Fêmea 7	-	-	0
Fêmea 8	-	-	P
Fêmea 9	-	-	P
Contracepção	100%	33,33%	33,33%

P = prenhez/parto

Discussão

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (2006), a maioria dos países registra baixos índices de uso de métodos masculinos de contracepção. No Brasil, preservativos e vasectomia representam menos de 4% do uso total de contraceptivos.

Há algum tempo, pesquisadores em todo o mundo, principalmente nos países asiáticos, têm dedicado esforços no sentido de buscar o desenvolvimento de contraceptivos de baixo custo, eficazes, naturais, e que interferissem o mínimo possível no controle hormonal da reprodução masculina (CHINOY; GEORGE, 1983; LOHIYA; GOYAL, 1992; LOHYIA et al. 1994; UDOH; KEHINDE, 1999; PATHAK et al. 2000; VERMA; CHINOY, 2001; LOHIYA et al. 2002; ADEBIYI; ADAIKAN; PRASAD, 2002; UDOH; ESSIEN; UDOH, 2005; LOHIYA; MANIVANNAN; GARG, 2006 entre outros).

Todos os pesquisadores citados obtiveram sucesso em demonstrar o efeito contraceptivo dos diferentes extratos obtidos de diferentes partes da *C. papaya*, seja pela imobilização dos espermatozoides, pela ação dos compostos impedindo a diferenciação de células espermáticas jovens, ou a maturação espermiática ou, ainda, por alterações na ultra-estrutura dos testículos e do epidídimo levando a uma diminuição da concentração espermiática e alteração de pH dos fluidos seminiais.

Os resultados obtidos com o protocolo adotado neste experimento não condizem, em parte, com os apresentados pela literatura consultada, muito provavelmente em função do tempo de tratamento que foi de apenas 7 dias, protocolo semelhante ao de Verma e Chinoy em 2001. Lohiya et al. (1994) trataram ratos albinos com injeções intramusculares de 0,1 e 1,0 mg/Kg de peso vivo, por período de 15 e 30 dias e obtiveram motilidade espermática igual a zero apenas para a maior concentração no maior período de tratamento empregado. Provavelmente, no tempo empregado para tratamento se fizesse necessária uma dose maior que a utilizada. No entanto, não existem na literatura dados relativos a possíveis efeitos colaterais decorrentes do uso de altas concentrações dos extratos de *C. papaya*.

Em contrapartida, em 2001, Verma e Chinoy avaliaram o efeito do extrato aquoso da semente de *C. papaya* no microambiente da cauda do epidídimo de ratos machos adultos após administração intramuscular de 0,5 mg do extrato por um período de 7 dias. Os resultados obtidos com este protocolo revelaram que o tratamento causou significativa redução no conteúdo de proteína total e de ácido siálico, tanto no fluido epididimário quanto nos aglomerados (*clusters*) de espermatozoides. Também foi observada uma baixa atividade de fosfatase ácida nesses *clusters*. O tratamento causou ainda, significativa redução no nível de fósforo inorgânico do fluido epididimário, mostrando que o extrato aquoso da semente de papaia altera o microambiente da cauda do epidídimo.

Os resultados por nós obtidos também sugerem, uma necessidade de adequação de protocolo (dose/tempo de administração) à espécie/linhagem trabalhada, uma vez que para a linhagem Swiss o protocolo adotado não resultou em contracepção para 2 dos machos tratados e apenas 1 não apresentou habilidade para a fertilização das fêmeas. A literatura disponível não apresenta relatos nem discute a variação individual ou entre linhagens.

Lohiya et al. (2002) utilizaram extrato clorofórmico obtido da semente de *C. papaya* em macacos (*Presbytis entellus entellus*) machos adultos, por via oral durante 360 dias, assim como Lohiya e Goyal (1992) usaram este extrato para ratos machos albinos. Ambos os estudos sugeriram diminuição gradativa da concentração de espermatozoides, sendo que no experimento de 2002, a inibição total da motilidade espermática foi entre os 30-60 dias de tratamento e para o protocolo de 1992, a redução total da fertilidade dos machos se deu aos 40-60 dias de tratamento. Esses resultados sugerem que os efeitos contraceptivos do extrato clorofórmico da semente de *C. papaya* são devidos principalmente a

eventos pós-testiculares, sem influência toxicológica e sem interferir na libido dos animais. O protocolo de 2002 ainda demonstrou que com a finalização do tratamento houve recuperação gradual da concentração espermática e reversão dos valores alterado 150 dias após a interrupção do tratamento.

Os pesquisadores consultados são unânimes em afirmar, baseados em seus resultados experimentais, que o efeito contraceptivo dos diferentes extratos de *C. papaya* é dose dependente, ou seja, algum tempo após a interrupção do tratamento os efeitos dos compostos presentes nos extratos cessam, sem prejuízo posterior da fertilidade dos machos tratados. Isso explica o crescente interesse dos pesquisadores pelo tema, já que permitiria ao homem recuperar sua fertilidade quando assim desejasse.

Conclusão

Os resultados obtidos permitem concluir que o extrato aquoso bruto obtido da semente de *C. papaya* L. administrado por 7 dias na dose de 0,5 mg/kg de peso vivo apresentou efeito contraceptivo para camundongos das duas linhagens tratadas, embora não totalmente eficaz para camundongos da linhagem Swiss.

Como os resultados demonstram variação individual e entre linhagens, fica patente a necessidade de novos e progressivos estudos, com pesquisas clínicas sistematicamente conduzidas, para se pensar no uso do extrato de *C. papaya*, ou de qualquer um de seus compostos, em diferentes formas e formulações farmacêuticas, para homens.

Referências

-ADEBIYI, A.; ADAIKAN, P.G; PRASAD, R.N.V. Papaya (*Carica papaya*) consumption is unsafe in pregnancy: fact or fable? Scientific evaluation of a common belief in some parts of Asia using a rat model. **British Journal of Nutrition**. v.88, p.199-203, 2002.

-CHINOY, N.J.; GEORGE, S.M. Induction of functional sterility in male rats by low dose Carica Papaya seed extract treatment. **Acta Eur Fertil**. v.14, n.6, p.425-432. Nov.-Dec.,1983.

CORNIA, P.B.; ANAWALT, B.D. Male hormonal contraception. **Expert Opin Emerg Drugs**. v.9, n. 2, p.335-344, Nov., 2004.

-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.**, v. 9, n.4, p.205-209. Dec., 2002.

-LOHIYA, N.K.; GOYAL, R.B. Antifertility investigations on the crude chloroform extract of *Carica papaya* Linn. Seeds in male albino rats. **Indian J. Exp. Biol.** v.30, n.11, p.1051-1055. Nov., 1992.

-LOHIYA, N.K. et al. Antifertility effects of aqueous extract of *Carica papaya* seeds in male rats. **Planta Med**, v.60, n.5, p.400-404. Oct., 1994.

-LOHIYA, N.K. et al. Human sperm immobilization effect of *Carica papaya* seed extracts: a vitro study. **Asian J. Androl**, v.2, p.103-109. Jun., 2000.

-LOHIYA, N.K. et al. Chloroform extract of *Carica papaya* seeds induces long-term reversible azoospermia in langur monkey. **Asian J. Androl.** v.4, n.1, p.17-26. Mar., 2002.

-LOHIYA, N.K.; MANIVANNAN, B.; GARG, S. Toxicological investigations on the methanol subfraction of the seeds of *Carica papaya* as a male contraceptive in albino rats. **Reprod. Toxicol**, v.1, Mar., 2006.

-MANIVANNAN, B. et al. Ultrastructural changes in the testis and epididymis of rats following treatment with the benzene chromatographic fraction of the chloroform extract of the seeds of *Carica papaya*. **Phytother Res.** v.18, n.4, p.285-289, Apr., 2004.

-MONTI, R. et al. Purification of Papain from Fresh Latex of *Carica Papaya*. **Brazilian Archives of Biology and Technology.** v.43, n.5, p.501-507, 2000.

-ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAUDE; Nofertil; Disponível em: <http://inventabrasilnet.com.br/nofertil.htm>. Acesso em: 29 de Agosto de 2006.

-PATHAK, N. et al. 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**, v.7, n.4, p.325-333. Jul., 2000.

-UDOH, P.; KEHINDE, A. Studies on antifertility effect of pawpaw seeds (*Carica papaya*) on the gonads of male albino rats. **Phytother Res.** v.13, n.3, p.226-228. May, 1999.

-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. **Phytother Res.** v.19, n.12, p.1065-1068., Dec., 2005.

-VERMA, R.J.; CHINOY, N.J. Effect of papaya seed extract on microenvironment of cauda epididymis. **Asian J. Androl**, v.3, p.143-146, 2001.