

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Medicina

SALOMÃO BRÊTAS

**EFEITOS DA TRAÇÃO NO
FUNÍCULO ESPERMÁTICO SOBRE O TESTÍCULO,
EPIDÍDIMO E DUCTO DEFERENTE DE RATOS**

Belo Horizonte
2015

SALOMÃO BRÊTAS

**EFEITOS DA TRAÇÃO NO FUNÍCULO ESPERMÁTICO
SOBRE O TESTÍCULO, EPIDÍDIMO E DUCTO
DEFERENTE DE RATOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Medicina.

Área de concentração: Cicatrização.

Linha de pesquisa: Estudo clínico e experimental dos defeitos da parede abdominal e das distopias testiculares.

Orientador: Prof. Dr. Edson Samesima Tatsuo.

Coorientador: Prof. Dr. Danilo Nagib Salomão Paulo.

Belo Horizonte

Faculdade de Medicina - UFMG

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Reitor: Prof. Dr. Jaime Arturo Ramírez

Vice-Reitora: Prof.^a Dr.^a Sandra Goulart Almeida

Pró-Reitor de Pós-Graduação: Prof. Dr. Rodrigo Antônio de Paiva Duarte

Pró-Reitor de Pesquisa: Prof.^a Dr.^a Adelina Martha dos Reis

FACULDADE DE MEDICINA

Diretor: Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes

Vice-Diretor: Prof. Dr. Humberto José Alves

CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO

Coordenador: Prof. Dr. Luiz Armando Cunha de Marco

Subcoordenadora: Prof.^a Dr.^a Ana Cristina Côrtes Gama

Chefe do Departamento de Cirurgia: Prof. Dr. Renato Santiago Gomez

Chefe do Departamento de Oftalmologia e Otorrinolaringologia: Prof.^a Dr.^a
Ana Rosa Pimentel de Figueiredo

COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À CIRURGIA E À OFTALMOLOGIA

Prof. Dr. Edson Samesima Tatusuo (**Coordenador**)

Prof. Dr. Túlio Pinho Navarro (**Subcoordenador**)

Prof.^a Dr.^a Maria Isabel Toulson Davisson Correa

Prof. Dr. Marcelo Dias Sanches

Prof. Dr. Marco Aurélio Lana Peixoto

Prof. Dr. Márcio Bittar Nehemy

José Carlos Souza Vilela (representante discente)

Aos meus queridos pais,
José e Aurita,
pelo maravilhoso exemplo de vida.

Aos meus irmãos,
Simone, Sérgio, Synara e Sabryna,
pela solidariedade e pela convivência harmoniosa.

À minha esposa,
Monica,
aos meus filhos,
Caroline, Daniel e Matheus,
pelo carinho, compreensão
e por vibrarem junto comigo a cada conquista.

AGRADECIMENTOS

A todos aqueles que, de alguma forma, colaboraram na execução deste trabalho e contribuíram para a minha formação profissional, meu respeito e gratidão.

Ao Prof. Dr. Edson Samesima Tatsuo, Professor Titular do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Chefe do Serviço de Cirurgia Pediátrica do Hospital das Clínicas da UFMG, pela orientação desta pesquisa, alavancagem, confiança, incentivo à carreira universitária e por me trazer serenidade nesta jornada.

Ao Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes, Diretor da Faculdade de Medicina da UFMG, pelo estímulo.

Ao Prof. Simônides da Silva Bacelar, Professor Colaborador pelo Ministério da Saúde, disciplina Pediatria Cirúrgica, Hospital Universitário de Brasília, Universidade de Brasília (UnB), pelos ensinamentos linguísticos.

Ao Prof. Dr. Clécio Piçarro, Professor Adjunto do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da UFMG, pela solicitude.

Ao Prof. Dr. Marcelo Eller Miranda, Professor Associado do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da UFMG, pela presteza.

Ao médico Leonardo José Rocha, cirurgião-pediatra, pela participação como 1º auxiliar nas operações do experimento e pela substituição na minha escala de serviço durante o período em que estive assistindo às aulas na UFMG.

À médica Jane Sant'Ana Castello, anatomopatologista e citopatologista, Hospital Estadual Infantil Nossa Senhora da Glória (HEINSG), por ter feito os exames anatomopatológicos.

Ao Sr. Coronel Carlos Augusto Ribeiro, Diretor de Saúde da Polícia Militar do Espírito Santo, pelo apoio incondicional.

Ao Prof. Dr. Marcelo Militão Abrantes, Professor de Epidemiologia e Estatística da Faculdade de Medicina de Barbacena e à Luciana Mara dos Santos Chaves, Estatística, graduada no curso de Estatística da UFMG, pelo suporte estatístico.

Ao Prof. Dr. Antônio José Gonçalves e Leal, Professor Adjunto do Departamento de Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Espírito Santo, pela solicitude.

À médica Marisa Gonçalves Leal, cirurgiã-pediatra, que sempre me incentivou, e pela substituição na minha escala de serviço durante o período em que estive assistindo às aulas na UFMG.

Ao Prof. Dr. Danilo Nagib Salomão Paulo, Professor Titular de Fundamentos da Cirurgia, Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória (EMESCAM), pela atenção junto ao Comitê de Ética no Uso de Animais.

À médica veterinária Roberta Miranda de Araújo Mendes, do Laboratório de Experimentação Animal, Centro de Pesquisa, EMESCAM, pela sensibilidade com os animais e pelo empenho no experimento.

Aos graduandos do curso de Medicina da EMESCAM: Caroline Oliveira Brêtas, Guilherme Posses Bridi, Rafael Falk Zanello, Augusto Ribeiro de Jesus Oliveira, Luisa Carvalho Benedito, Murilo Silva Andrade e Gustavo Dias Santiago de Amorim, pela participação no experimento.

Aos meus ex-preceptores, Carlos Alberto de Oliveira, Carlos Roberto Carvalho Cordeiro, Clodualdo de Yuan, Ennio Gabriel (*in memoriam*), Harold José Magosso Martinelli, Jean Jacques Marie Caris e Prof. Dr. João Baptista Correia Ormonde Filho, pela orientação, ensinamento e amizade durante a minha especialização no Serviço de Cirurgia Pediátrica do Hospital da Lagoa, RJ.

Aos animais de laboratório, que com suas vidas proporcionam notória contribuição ao desenvolvimento de novas técnicas e tratamentos médicos, convergindo significativamente para o avanço da ciência e trazendo benefício para a saúde dos seres humanos.

“Deus nos fez perfeitos e não escolhe os capacitados,
capacita os escolhidos.
Fazer ou não fazer algo só depende
de nossa vontade e perseverança”.

Albert Einstein.

RESUMO

A hérnia inguinal indireta e a criptorquia são doenças cujo tratamento cirúrgico envolve a tração intraoperatória do funículo espermático. O objetivo do experimento foi estudar as lesões que podem ocorrer no testículo, epidídimo e ducto deferente decorrentes da tração no funículo espermático de ratos. Os 40 ratos adultos, machos, *Wistar* foram alocados randomicamente em quatro grupos de 10 animais. Foi aplicada força de tração no funículo espermático direito de 1,6 Newton (N) no grupo I e de 1 N no grupo II. O grupo III foi utilizado para operação simulada e o grupo IV foi o controle. O volume testicular foi mensurado antes e após a aplicação da força de tração por exame ultrassonográfico e pelo paquímetro. As comparações das variáveis e dos grupos foram feitas a partir dos testes F (ANOVA) e Kruskal-Wallis. Foi utilizado nível de significância de 5%. Quando o testículo direito foi examinado pela classificação histológica de Kolbe, o grupo I apresentou maior graduação que os demais (II, III e IV) e o grupo IV apresentou menor graduação que os grupos II e III. O lado esquerdo teve os grupos III e IV com menor graduação histológica de Kolbe que os grupos I e II. O volume testicular final do lado direito medido pelo paquímetro no grupo IV foi maior que nos grupos I, II, e III. No lado esquerdo, esse volume do grupo I foi menor que nos grupos III e IV. No exame ultrassonográfico, o volume testicular final no lado direito do grupo IV foi maior que dos grupos I e III. Houve concordância razoável e correlação positiva que foram significantes em relação à redução percentual do volume testicular direito pelo exame ultrassonográfico e pelo paquímetro, nos ratos dos grupos I, II e III. Foi encontrada necrose testicular direita em 50% dos ratos do grupo I e em 40% dos ratos do grupo III. O peso testicular final no lado direito foi maior nos ratos do grupo IV que nos demais grupos. No epidídimo direito, em 71,8% dos ratos houve redução dos espermatozoides intraluminais e 5% ausência de espermatozoides. Quanto ao epidídimo esquerdo, 37,5% dos ratos tiveram redução dos espermatozoides no lúmen. No testículo foi evidenciada redução do número de células de Sertoli, necrose e redução das células germinativas nos túbulos seminíferos. Houve diminuição do volume testicular final. Houve diminuição do peso testicular final no lado direito. No epidídimo houve redução do número de espermatozoides. No ducto deferente não foi evidenciado redução da espessura da camada muscular, processo inflamatório, ruptura e nem dano na mucosa. A tração do funículo espermático ocasionou comprometimento da estrutura e da função do testículo e do epidídimo de ratos. No intraoperatório, é fundamental a manipulação delicada do funículo espermático, do testículo e do epidídimo, para evitar dano nessas estruturas.

Palavras-chave: Tração. Testículo. Epidídimo. Ducto Deferente. Ratos.

ABSTRACT

The surgical treatment of indirect inguinal hernias and cryptorchidism involve intraoperative traction on the spermatic cord. The aim of the present experiment was to investigate the lesions that may occur in the testis, epididymis and vas deferens as a result of traction applied to the spermatic cord of rats. Forty adult male Wistar rats were randomly allocated into four groups of 10 animals. A traction force of 1.6 N and 1 N was applied to the right spermatic cord of the animals in group I and II, respectively. Group III was the sham, and group IV served as the control. Testicular volume was measured before and after the application of traction using ultrasonographic and caliper measurements. Comparisons of variables and between groups were done using the F (ANOVA) and Kruskal-Wallis tests with the level of significance set at 5%. The evaluation of right testes according to Kolbe's histological grading showed higher histological grades for group I compared to the other groups, with group IV exhibiting lower histological grades than groups II and III. For the left-side testes, both groups III and IV showed lower histological grade lesions than groups I and II. Final right testicular volume in group IV as measured by the calipers was greater than in groups I, II, and III. On the left side, testicular volume was smaller in group I than in groups III and IV. Ultrasonography revealed that final testicular volume on the right side was greater in group IV than in groups I and III. There was moderate agreement and a positive correlation, which were both significant regarding the percent reduction in right testicular volume on ultrasound and by caliper measurements in the rats of groups I, II, and III. Right-side testicular necrosis was identified in 50% of the rats in group I and 40% of those in group III. Final right testicular weight was greater in the group IV rats than that for the other groups. In the right epididymis, 71.8% of the rats showed reduced intraluminal sperm, which was absent in 5% of the animals. In the left epididymis, 37.5% of the rats showed a reduction in intraluminal sperm. Fewer Sertoli cells, necrosis, and decreased germ cells in the seminiferous tubules were found in the testes. Final testicular volume was reduced. Final weight of the right testis was decreased. Epididymal sperm count was reduced. No muscle layer thickness reduction, inflammation, rupture, or mucosal injury were found in the vas deferens. Traction to the spermatic cord compromised the structure and function of the testicle and epididymis of rats. Intraoperatively, gentle handling of the spermatic cord, testicle, and epididymis is critical to prevent injury to those structures.

Keywords: Traction. Testicle. Epididymis. Vas deferens. Rats.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

%	Percentual
µm	Micrômetro
1ºQ	Primeiro quartil
3ºQ	Terceiro quartil
ANOVA	Análise da Variância
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
DP	Desvio-padrão
EMESCAM	Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória
GE	<i>General Electric</i>
HE	Hematoxilina-eosina
HEINSG	Hospital Estadual Infantil Nossa Senhora da Glória
IC _{95%}	Intervalo de 95% de confiança
Kg	Quilograma
Kgf	Quilograma-força
LEA	Laboratório de Experimentação Animal
mg	Miligrama
mm	Milímetro
N	Newton
n	Número de observações
n*	Sem informação
r	Coeficiente de correlação de Pearson
SBCAL	Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UnB	Universidade de Brasília
VT	Volume testicular
VTD	Volume testicular direito
VTE	Volume testicular esquerdo

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Parâmetros usados no cálculo do tamanho da amostra.....	27
TABELA 2 - Descrição do peso dos testículos.....	47
TABELA 3 - Descrição de espermatozoides no lúmen dos epidídimos.....	49
TABELA 4 - Descrição da necrose testicular histológica.....	49
TABELA 5 - Comparação entre os grupos e o volume inicial e final do testículo e variação do volume testicular direito em relação à medição do paquímetro.....	50
TABELA 6 - Comparação entre os grupos e o volume final do testículo esquerdo em relação à mensuração pelo paquímetro.....	51
TABELA 7 - Comparação entre os grupos e o volume testicular direito calculado por exame ultrassonográfico.....	54
TABELA 8 - Comparação entre a variação do volume testicular em ambos os lados e o grupo segundo o exame ultrassonográfico.....	55
TABELA 9 - Comparação entre os volumes testiculares mensurados pelo paquímetro e pelo exame ultrassonográfico em relação a ambos os lados.....	56
TABELA 10 - Comparação entre os grupos e o peso testicular final.....	57
TABELA 11 - Comparação do diâmetro externo, diâmetro luminal e espessura muscular da parede do ducto deferente em relação ao lado direito segundo a região distal por grupo.....	58
TABELA 12 - Comparação da avaliação dos testículos direitos pela classificação histológica de Kolbe entre grupos.....	59
TABELA 13 - Comparação entre os grupos e a graduação pela classificação histológica de Kolbe do testículo direito na forma quantitativa.....	61
TABELA 14 - Comparação entre os grupos e os espermatozoides no lúmen dos epidídimos do lado direito.....	62
TABELA 15 - Comparação entre necrose testicular histológica e os grupos do lado direito.....	64
TABELA 16 - Comparação entre os grupos e avaliação do testículo esquerdo pela classificação histológica de Kolbe.....	66

TABELA 17 - Comparação da graduação, pela classificação histológica de Kolbe, do testículo esquerdo entre grupos.....	66
TABELA 18 - Comparação entre espermatozoides no lúmen dos epidídimos do lado esquerdo e os grupos.....	68
TABELA 19 - Descrição das perdas de volume testicular.....	70
TABELA 20 - Redução percentual do volume testicular direito pelo exame ultrassonográfico e pelo paquímetro, nos ratos dos grupos I, II e III.....	71
TABELA 21 - Correlação entre a redução do volume testicular direito avaliada pelo exame ultrassonográfico e pelo paquímetro.....	71
TABELA 22 - Comparação da variação do volume testicular em relação ao inicial entre os grupos.....	72
TABELA 23 - Descrição da avaliação dos testículos pela classificação histológica de Kolbe.....	100
TABELA 24 - Comparação entre os grupos e o volume testicular do lado esquerdo segundo o exame ultrassonográfico.....	102
TABELA 25 - Comparação entre os grupos e as dimensões das regiões proximais da parede do ducto deferente do lado direito.....	105
TABELA 26 - Comparação entre os grupos, dois a dois: avaliação do testículo direito pela classificação histológica de Kolbe.....	106
TABELA 27 - Comparação entre os grupos, de dois a dois: necrose testicular histológica do lado direito.....	106
TABELA 28 - Comparação entre os grupos e as regiões proximais da parede do ducto deferente do lado esquerdo.....	107
TABELA 29 - Comparação entre os grupos e as dimensões das regiões distais da parede do ducto deferente do lado esquerdo.....	109
TABELA 30 - Comparação entre os grupos, de dois a dois: avaliação do testículo esquerdo pela classificação histológica de Kolbe.....	110
TABELA 31 - Comparação entre os grupos, de dois a dois: espermatozoides no lúmen dos epidídimos do lado esquerdo.....	111
TABELA 32 - Apresentação da redução percentual do volume testicular final em relação ao volume inicial.....	112

LISTAS DE ILUSTRAÇÕES

Figuras

FIGURA 1 - Orquiopexia.....	22
FIGURA 2 - Funículo espermático e testículo do rato <i>Wistar</i>	30
FIGURA 3 - O anzol foi introduzido na janela criada no funículo espermático direito do rato <i>Wistar</i>	31
FIGURA 4 - Dinamômetro tubular com fixação magnética e capacidade de 2 Newton, EQ007.2NM, CIDEPE®.....	32
FIGURA 5 - O dinamômetro e a polia estão fixados em uma placa magnética, TBF-106, MINIPA® e montados em uma estrutura de demonstração multiuso, TBF-100, MINIPA®, com prateleira TBF-101, MINIPA®.....	32
FIGURA 6 - Tração intraoperatória do funículo espermático direito do rato <i>Wistar</i>	33
FIGURA 7 - Funículo espermático, testículo e epidídimo direitos após exérese na segunda operação.....	34
FIGURA 8 - Funículo espermático, testículo e epidídimo esquerdos após exérese na segunda operação.....	35
FIGURA 9 - Fotomicrografia da região proximal da parede ducto deferente do rato <i>Wistar</i>	39
FIGURA 10 - Fotomicrografia da região distal da parede do ducto deferente do rato <i>Wistar</i>	40
FIGURA 11 - Exame ultrassonográfico do testículo direito do rato nº 9 do grupo I, feito no pré-operatório da primeira operação.....	52
FIGURA 12 - Exame ultrassonográfico do testículo direito do rato nº 9 do grupo I, feito no pré-operatório da segunda operação.....	52
FIGURA 13 - Fotomicrografia do testículo direito do rato nº 9 do grupo II, evidenciando acentuada redução do número de células germinativas nos túbulos seminíferos.....	60
FIGURA 14 - Fotomicrografia do testículo direito do rato nº 4 do grupo IV.	61
FIGURA 15 - Fotomicrografia do epidídimo direito do rato nº 1 do grupo I, mostrando ausência de espermatozoides intraluminais.....	63

FIGURA 16 - Fotomicrografia do epidídimo direito do rato nº 8 do grupo IV, exibindo abundância de espermatozoides intraluminais.....	63
FIGURA 17 - Fotomicrografia do testículo direito do rato nº 1 do grupo I, exibindo múltiplos túbulos seminíferos com necrose.....	64
FIGURA 18 - Fotomicrografia do testículo direito do rato nº 7 do grupo III, mostrando intensa redução das células germinativas nos túbulos seminíferos e necrose focal e esparsa.....	65
FIGURA 19 - Herniorrafia inguinal indireta na criança.....	96
FIGURA 20 - Anzol de pesca em aço carbono Kenzaki Release 11 [®] , sem farpas na haste e sem barbela.....	96
FIGURA 21 - Cronômetro Vollo [®] , modelo VL 510, utilizado para cronometrar o tempo de tração.....	97
FIGURA 22 - Paquímetro digital IP54, 150 mm, leitura 0,01 mm, 100.179G DIGIMESS [®]	97
FIGURA 23 - Aparelho de ultrassom portátil Logic E da GE [®] , com transdutor microconvexo 8C, utilizado para fazer as mensurações testiculares.....	98
FIGURA 24 - Fotomicrografia da região proximal do ducto deferente do rato nº 4 do grupo IV.....	98
FIGURA 25 - Fotomicrografia da região distal do ducto deferente do rato nº 4 do grupo IV.....	99
FIGURA 26 - Fotomicrografia do testículo direito do rato nº 4 do grupo IV.	100
Gráficos	
GRÁFICO 1 - <i>Interval-plot</i> do volume testicular final do lado direito por grupos segundo o paquímetro.....	101
GRÁFICO 2 - <i>Interval-plot</i> do volume testicular final do lado esquerdo por grupos em relação à medição do paquímetro.....	101
GRÁFICO 3 - <i>Box-plot</i> do VTD final por grupos segundo o exame ultrassonográfico.....	101
GRÁFICO 4 - <i>Interval-plot</i> da variação do VTD por grupos segundo o exame ultrassonográfico.....	101
GRÁFICO 5 - <i>Interval-plot</i> da variação do VTD em relação à medida inicial por grupos segundo o exame ultrassonográfico.....	102

GRÁFICO 6 - <i>Interval-plot</i> da variação do volume testicular do grupo I para o lado direito e esquerdo segundo o exame ultrassonográfico.....	103
GRÁFICO 7 - <i>Interval-plot</i> da variação do volume testicular do grupo III para o lado direito e esquerdo segundo o exame ultrassonográfico.....	103
GRÁFICO 8 - <i>Interval-plot</i> do volume testicular inicial do lado direito para o exame ultrassonográfico e paquímetro.....	103
GRÁFICO 9 - <i>Interval-plot</i> da variação do volume testicular do lado direito para o exame ultrassonográfico e paquímetro.....	103
GRÁFICO 10 - <i>Interval-plot</i> da variação do volume testicular em relação à medida inicial do lado direito para o exame ultrassonográfico e paquímetro.....	104
GRÁFICO 11 - <i>Interval-plot</i> do volume final do lado esquerdo para o exame ultrassonográfico e paquímetro.....	104
GRÁFICO 12 - <i>Interval-plot</i> do peso testicular final do lado direito.....	104
GRÁFICO 13 - <i>Interval-plot</i> do diâmetro luminal da parede do ducto deferente do lado direito segundo a região distal.....	105
GRÁFICO 14 - <i>Box-plot</i> da espessura muscular da parede do ducto deferente do lado direito em relação à região distal.....	105
GRÁFICO 15 - <i>Interval-plot</i> da graduação pela classificação histológica de Kolbe do testículo direito entre os grupos.....	106
GRÁFICO 16 - <i>Interval-plot</i> do diâmetro luminal da parede do ducto deferente do lado esquerdo em relação às regiões proximais.....	108
GRÁFICO 17 - <i>Interval-plot</i> da espessura muscular da parede do ducto deferente do lado esquerdo em relação às regiões distais.....	109
GRÁFICO 18 - <i>Interval-plot</i> da graduação pela classificação histológica de Kolbe do testículo esquerdo entre os grupos.....	110
GRÁFICO 19 - <i>Interval-plot</i> da variação no volume testicular direito avaliado pelo exame ultrassonográfico entre os grupos.....	113
Quadro	
QUADRO 1 - Avaliação do Kappa.....	45

SUMÁRIO¹

1 INTRODUÇÃO.....	20
1.1 Justificativa.....	22
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	23
3 OBJETIVOS.....	25
4 MÉTODO.....	26
4.1 População e amostra da pesquisa.....	26
4.1.1 Critérios de exclusão.....	27
4.1.2 Ambiente de experimentação e cuidados dispensados aos animais.....	27
4.1.3 Constituição dos grupos de animais.....	28
4.2 Procedimentos.....	28
4.2.1 Ato anestésico.....	28
4.2.2 Preparo e posicionamento dos ratos.....	29
4.2.3 Operações e mensurações testiculares.....	29
4.2.4 Exame ultrassonográfico.....	35
4.2.5 Eutanásia dos animais.....	36
4.2.6 Avaliação macroscópica.....	36
4.2.7 Cálculo do volume testicular.....	36
4.2.8 Processamento histológico.....	37
4.2.9 Estudo histológico.....	37
4.2.10 Análise estatística.....	40
4.2.10.1 Análise descritiva.....	43
4.2.10.2 Comparações entre as características de interesse.....	43
4.2.10.3 Comparações entre tempos e lados.....	45
4.2.10.4 Comparações da redução percentual avaliada pelo exame ultrassonográfico e pelo paquímetro.....	45

¹ Este trabalho foi revisado de acordo com as novas regras ortográficas aprovadas pelo Acordo Ortográfico assinado entre os países que integram a Comunidade de Países de Língua Portuguesa (CPLP), em vigor no Brasil desde 2009. E foi formatado de acordo com a ABNT NBR 14724 de 17.04.2011, tendo as referências seguido as normas de Vancouver.

5 RESULTADOS.....	47
5.1 Exclusão de animais.....	47
5.2 Peso dos animais.....	47
5.3 Análise descritiva.....	47
5.4 Comparações das características - parte I.....	50
5.4.1 Comparações do volume testicular por paquímetro.....	50
5.4.2 Comparações do volume testicular por exame ultrassonográfico.....	51
5.4.3 Comparação entre os volumes testiculares direito e esquerdo mensurados pelo paquímetro e pelo exame ultrassonográfico.....	55
5.4.4 Comparações do peso testicular entre os grupos e os lados.....	57
5.5 Comparações das características - parte II.....	57
5.5.1 Comparações do lado direito.....	57
5.5.1.1 Dimensões das regiões proximais da parede do ducto deferente entre os grupos.....	57
5.5.1.2 Dimensões das regiões distais da parede do ducto deferente entre os grupos.....	58
5.5.1.3 Avaliação dos testículos pela classificação histológica de Kolbe entre os grupos.....	59
5.5.1.4 Espermatozoides no lúmen dos epidídimos entre os grupos.....	61
5.5.1.5 Necrose testicular histológica entre os grupos.....	64
5.5.2 Comparações do lado esquerdo.....	65
5.5.2.1 Avaliação dos testículos pela classificação histológica de Kolbe entre os grupos.....	65
5.5.2.2 Espermatozoides no lúmen dos epidídimos entre os grupos.....	67
5.5.2.3 Necrose testicular histológica entre os grupos.....	68
5.6 Comparações das características - parte III.....	68
5.6.1 Descrição das perdas de volume testicular.....	68
5.6.2 Apresentação objetiva dos resultados estatísticos.....	72
6 DISCUSSÃO.....	76
6.1 Literatura.....	76
6.2 Modelo animal.....	76
6.3 Incisão cirúrgica.....	77

6.4 Mensuração e alteração do volume testicular.....	77
6.5 Ducto deferente: aspectos anatômicos e histológicos.....	79
6.6 Etiologia das lesões encontradas no testículo, no ducto deferente e no epidídimo dos ratos.....	81
6.7 Graduação histológica utilizada para examinar e classificar os testículos.....	81
6.8 Lesão dos órgãos contralaterais.....	82
6.9 Necrose testicular histológica.....	83
6.10 Peso testicular.....	83
6.11 Lesões anatomopatológicas no ducto deferente.....	84
6.12 Considerações finais.....	86
7 CONCLUSÕES.....	87
REFERÊNCIAS.....	88
ANEXOS E APÊNDICE.....	94

1 INTRODUÇÃO

As operações urológicas são frequentemente feitas em crianças. Na realização de procedimentos inguinoescrotais, a tração do funículo espermático faz parte da operação.

O funículo espermático dos seres humanos inicia-se no anel inguinal profundo, lateralmente aos vasos epigástricos inferiores, atravessa o canal inguinal, sai no anel inguinal superficial e termina no escroto na margem posterior do testículo. Os componentes do funículo espermático são:

- a) Ducto deferente;
- b) artéria testicular;
- c) artéria do ducto deferente;
- d) artéria cremastérica;
- e) plexo venoso pampiniforme;
- f) fibras nervosas simpáticas e parassimpáticas;
- g) ramo genital do nervo genitofemoral;
- h) vasos linfáticos;
- i) vestígios do processo vaginal¹.

Entre as enfermidades em que o tratamento cirúrgico requer a manipulação e a tração intraoperatória do funículo espermático e do testículo, destacam-se a hérnia inguinal indireta e a criptorquia.

A hérnia pode ser definida como a protusão de um órgão ou de parte de um órgão ou tecido através de uma abertura anormal na parede da cavidade que o contém. No caso da hérnia inguinal indireta, essa protusão se faz por dentro de um saco herniário², no funículo espermático.

As hérnias são comuns, com incidência de 1 a 3% entre as crianças. Em prematuros essa incidência varia de 3 a 5%. Em 11,5% dos pacientes há história de outra hérnia na família. Entretanto, não há qualquer fator hereditário definido documentado. Nas diversas estatísticas, a relação gênero masculino/feminino varia de 6:1 a 9:1. Cerca de 40 a 80% dos casos são observados abaixo dos seis

meses de idade. Em relação à lateralidade: 60% à direita, 25% à esquerda e 15% bilaterais. As hérnias inguinais são do tipo indireta em 99 a 99,5% dos casos e apenas 0,5 a 1% é do tipo direta². O diagnóstico da hérnia inguinal é clínico.

O tratamento das hérnias inguinais na infância é cirúrgico, por meio da herniorrafia, indicada assim que é feito o diagnóstico (FIG. 19, APÊNDICE A).

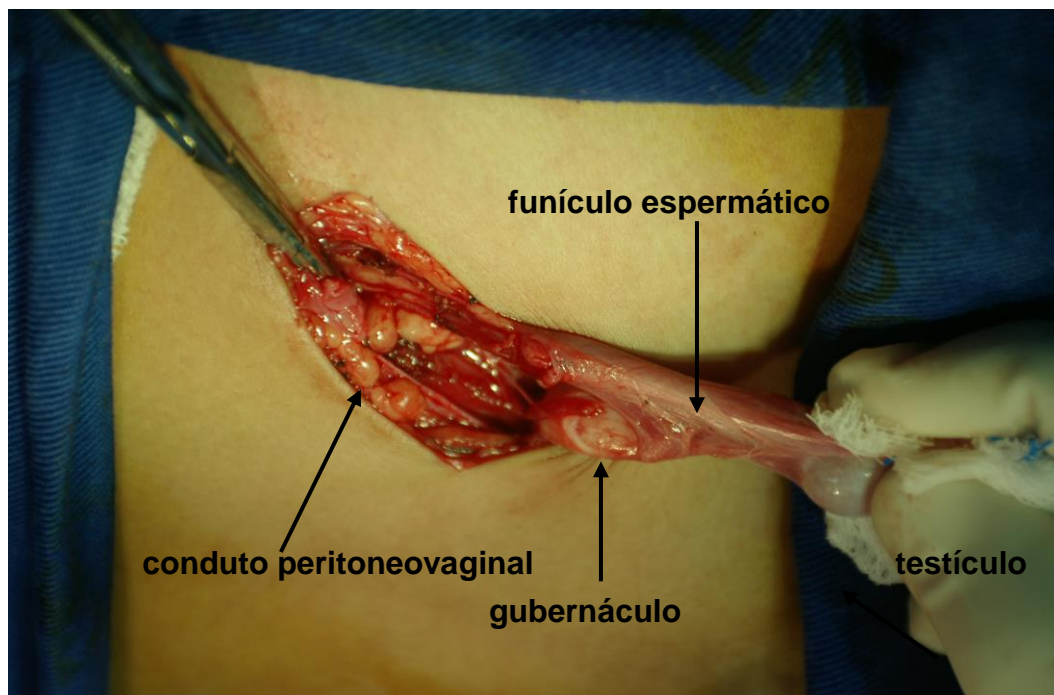
As complicações da herniorrafia inguinal são a recidiva da hérnia (0,5 a 1%); infecção da ferida operatória (1%); lesão do ducto deferente, edema e hematoma da região inguinal, criptorquia iatrogênica, hipotrofia testicular em hérnia encarcerada (10 a 15%); e ressecção de alça intestinal em hérnia encarcerada com insucesso na redução manual (10%)³.

A palavra criptorquia deriva do grego (*kriptós*, escondido + *órchis*, testículo) e, traduzida literalmente, significa “testículo escondido ou oculto”. Trata-se de uma condição em que o testículo não atingiu sua posição anatômica dentro do escroto, porém está no trajeto normal de descida da gônada².

É uma das enfermidades urológicas mais frequentes na criança, manifestando-se em 1,8 a 4% de todos os recém-nascidos a termo e com peso superior a 2,5 kg. Nos recém-nascidos prematuros, a criptorquia é mais frequente, com incidência média de 30%. Em criança com 12 meses de idade a incidência dessa enfermidade é de 0,8%. A criptorquia é unilateral em 90% dos casos e o lado direito é o mais acometido (70%)⁴⁻⁶. A etiologia da criptorquia ainda não está esclarecida⁷.

O tratamento cirúrgico da criptorquia consiste em fazer a orquiopexia⁸⁻¹⁰. Cirurgicamente, o fator limitador para colocar o testículo no escroto é o comprimento dos vasos espermáticos¹¹ (FIG. 1).

FIGURA 1 - Orquiopexia



O funículo espermático da criança está sendo tracionado e dissecado para permitir a mobilização do testículo até o escroto. O conduto peritoneovaginal foi ligado e reparado. O gubernáculo ainda não foi seccionado.
 Fonte: do autor.

As complicações da orquiopexia são: lesão dos vasos espermáticos com atrofia testicular, torção dos elementos do funículo espermático ao ser fixado no escroto, infecção da ferida operatória, lesão do ducto deferente (<1%) e retração do testículo na região inguinal (5%)¹².

A finalidade deste trabalho foi estudar as lesões no testículo, no epidídimo e no ducto deferente ocasionadas pela tração no funículo espermático de ratos, com mensuração da força aplicada pelo dinamômetro.

1.1 Justificativa

O presente estudo justificou-se porque existe também a possibilidade de ocorrer dano nos componentes do funículo espermático, no testículo e no epidídimo durante o tratamento cirúrgico de afecções nas regiões retroperitoneal, inguinal, pélvica e escrotal dos humanos. Vale destacar que a mensuração da parede do ducto deferente foi feita levando-se em consideração as distintas regiões da parede desse órgão e que foram averiguadas as lesões no epidídimo ocasionadas pela tração no funículo espermático de ratos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

A lesão do ducto deferente pode não ser identificada no momento do dano e raramente é relatada. A incidência de dano dessa estrutura é de 0,3% durante a herniorrafia inguinal em adultos e de 0,8 a 2% durante a inguilotomia cirúrgica pediátrica¹³. Partrick *et al.* (1998) ressaltaram que a incidência de lesão do ducto deferente na população pediátrica operada foi de 0,13%¹⁴.

A manipulação intraoperatória do ducto deferente deve ser mínima e limitada a manobras digitais. Em estudo experimental em ratos, o pinçamento com clampe vascular *bulldog* e a manipulação causaram apenas discreta reação inflamatória nessa estrutura. No entanto, segurar o ducto deferente com pinça hemostática de Halstead ou pinça de Adson sem dente ocasiona significativa ruptura muscular^{15,16}.

Lee *et al.* (2000)¹⁷ demonstraram as lesões testiculares que ocorreram após inguilotomia exploradora unilateral e manipulação do funículo espermático de ratos *Wistar*. A amostra constituiu-se de 24 ratos pré-púberes que foram distribuídos em dois grupos de 12 animais. Efetuou-se incisão cirúrgica inguinoescrotal. No grupo I, que foi o *sham* (operação simulada), o funículo espermático dos animais foi apenas exposto. No grupo II, o funículo espermático dos animais foi dissecado. Todos os animais foram acasalados com 120 dias de vida. Após três semanas de acasalamento, os testículos e os ductos deferentes foram retirados e os animais foram submetidos à eutanásia. Nenhuma alteração anatomopatológica foi encontrada na parede do ducto deferente. Esses autores concluíram que a manipulação cirúrgica do funículo espermático de ratos pré-púberes ocasionou pequenas alterações no tamanho testicular, porém sem danos ao desenvolvimento testicular e à fertilidade dos animais.

Ceylan *et al.* (2003)¹⁸ relataram os efeitos da tração temporária no funículo espermático sobre o testículo e o ducto deferente de ratos *Wistar*. A amostra foi constituída de 40 ratos adultos que foram distribuídos em quatro grupos de 10 animais. Esses autores não mensuraram o volume testicular. O funículo espermático direito dos animais foi exteriorizado através de uma incisão supraescrotal direita. Uma janela foi criada no funículo espermático direito, entre o

ducto deferente e os vasos testiculares. Um dispositivo do tipo gancho foi introduzido nessa janela, a fim de ajudar no mecanismo de tração. A força de tração mensurada por dinamômetro foi aplicada no funículo espermático direito durante 60 segundos. O lado esquerdo do escroto não foi manipulado. No grupo I foi aplicada força de tração de 1,25 N e no grupo II, de 0,75 N. No grupo III (*sham*), os animais foram submetidos à primeira operação, porém não foi criada janela nem foi aplicada força de tração no funículo espermático direito. O grupo IV foi o grupo-controle. No 28º dia de pós-operatório, todos os animais foram submetidos à segunda operação, para a exérese dos testículos e dos ductos deferentes e na sequência fez-se a eutanásia. Esses autores concluíram que houve redução da espessura muscular da parede do ducto deferente e atrofia testicular dos animais nos grupos em que foi aplicada força de tração no funículo espermático direito.

Choi *et al.* (2009)¹⁹ estudaram os efeitos da compressão, tração e da dissecação romba no funículo espermático sobre o crescimento testicular e a fertilidade de ratos *Sprague-Dawley*. A amostra constituiu-se em 44 ratos com três semanas de vida, que foram distribuídos em três grupos. Efetuou-se incisão cirúrgica oblíqua na região inguinal direita. No grupo I (n=14), o funículo espermático direito foi identificado e ao redor dessa estrutura colocou-se um dispositivo do tipo alça. Na sequência, fez-se simultaneamente a compressão e tração no funículo espermático direito durante 10 minutos. No grupo II (n=15), realizou-se a dissecação do funículo espermático direito dos animais. No grupo III (n=15), o funículo espermático direito dos animais foi somente identificado. Todos os animais foram acasalados com oito semanas de idade. Após quatro semanas de acasalamento, os testículos foram retirados e os animais foram submetidos à eutanásia. Esses autores concluíram que a manipulação cirúrgica influenciou o crescimento testicular, porém sem comprometimento da espermatogênese e da fertilidade dos animais.

3 OBJETIVOS

- a) Indicar as alterações anatomopatológicas no testículo.
- b) Relatar se houve alteração do volume testicular após a aplicação da força de tração no funículo espermático direito.
- c) Comparar os métodos utilizados para mensurar o volume testicular.
- d) Verificar se houve diferença do peso testicular final.
- e) Estabelecer as alterações anatomopatológicas no epidídimo.
- f) Descrever as alterações anatomopatológicas no ducto deferente.

4 MÉTODO

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Experimentação Animal (LEA), Centro de Pesquisa, Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória (EMESCAM), Espírito Santo, no período compreendido entre março e outubro de 2012. A manipulação dos ratos seguiu os procedimentos para uso científico de animais, preconizados pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório/Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (SBCAL/COBEA).

A execução do projeto foi aprovada pelos Comitês de Ética no Uso de Animais (CEUA) da EMESCAM com protocolo nº 013/2011 e da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) com o protocolo nº 86/2012.

4.1 População e amostra da pesquisa

Utilizaram-se 40 ratos adultos, machos, com média de idade de $128,8 \pm 3,5$ dias, da linhagem *Wistar (Rattus norvegicus albinus, Rodentia Mammalia)*, provenientes do Biotério de Produção Animal, Centro de Pesquisa, EMESCAM.

Calcularam-se quatro amostras, uma para cada variável diferente de um experimento similar, de Ceylan *et al.* (2003)¹⁸, para mostrar que um contingente de 40 ratos é necessário para provar se há ou não diferenças entre os grupos ou, então, entre as variáveis do estudo.

O poder do teste escolhido foi de 0,8%. Esse foi o valor mínimo para que o erro do tipo II¹⁸ (β) (consiste em não rejeitar a hipótese nula quando esta, na realidade, é falsa) não aumentasse o nível escolhido de significância (α) (consiste em rejeitar a hipótese nula quando esta, na realidade, é verdadeira), que foi de 0,05%. As suposições ficaram em torno da menor diferença entre as médias e desvio-padrão (medida de dispersão estatística, raiz quadrada da variância), que foram estimados valendo-se do estudo de Ceylan *et al.* (2003)¹⁸.

As variáveis utilizadas para os cálculos foram: espessura muscular (μm), diâmetro externo (μm), diâmetro luminal (μm) do ducto deferente e peso (g) do

testículo direito. O programa utilizado foi o *Action*, com o sistema desenvolvido sob a plataforma R. Os dois são programas livres (TAB. 1).

TABELA 1 - Parâmetros usados no cálculo do tamanho da amostra

Informações	Espessura do ducto deferente (μm)	Diâmetro externo do ducto deferente (μm)	Diâmetro do ducto luminal do deferente (μm)	Peso do testículo direito (g)
Número de grupos	4	4	4	4
Observações por grupo	10	10	10	7
Menor diferença a ser detectada	50	115	40	0,02
Erro-padrão	31,8	73	24,4	0,01
Poder do teste	0,8	0,8	0,8	0,8
Nível de significância	0,05	0,05	0,05	0,05

4.1.1 Critérios de exclusão

Ratos que durante todo o período experimental apresentassem qualquer evidência de doença ou complicações pós-operatórias, como deiscência de sutura, infecção ou óbito.

4.1.2 Ambiente de experimentação e cuidados dispensados aos animais

Os experimentos foram realizados no LEA, Centro de Pesquisa, EMESCAM. Os animais foram confinados no total de 13 gaiolas, sendo que em 12 delas havia três ratos e em uma havia quatro ratos. As gaiolas eram de polipropileno, com dimensões padronizadas, devidamente identificadas e mantidas em gabinetes Biotério STD 5[®] (Grupo Vidy, São Paulo, Brasil), em condições adequadas à espécie em estudo. Esses gabinetes são climatizados com controle de temperatura (20 a 22°C), ventilação e luminosidade (ciclo de 12 horas de claridade e 12 horas de escuridão). Receberam ração própria para rato

(Nuvilab CR-1, autoclavável, Nuvital®) e água *ad libitum* em todas as fases do experimento.

4.1.3 Constituição dos grupos de animais

Os 40 ratos foram alocados randomicamente por sorteio em quatro grupos de 10 animais. A marcação na cauda dos ratos foi feita com caneta permanente Iidenti Pen Sakura®, com listras circulares e números coloridos, estabelecidos conforme o grupo pertencente. O retoque das marcas foi feito semanalmente. Os grupos foram assim constituídos:

- a) **Grupo I (n=10):** a cauda dos ratos deste grupo foi marcada com a cor vermelha. O funículo espermático direito desses animais foi submetido a uma força de tração intraoperatória de 1,6 N.
- b) **Grupo II (n=10):** a cauda dos ratos deste grupo foi marcada com a cor preta. O funículo espermático direito desses animais foi submetido a uma força de tração intraoperatória de 1 N.
- c) **Grupo III (n=10):** a cauda dos ratos deste grupo foi marcada com a cor verde. Este foi o grupo *sham* (operação simulada). Esses ratos foram submetidos à 1ª operação, porém não foi criada janela nem foi aplicada força de tração no funículo espermático direito. Todavia, o funículo espermático, o testículo e o epidídimo direitos desses animais ficaram expostos fora da cavidade abdominal durante cinco minutos.
- d) **Grupo IV (n=10):** a cauda dos ratos deste grupo foi marcada com a cor azul. Este foi o grupo-controle. Esses animais não foram submetidos à primeira operação, portanto, não foi aplicada qualquer força de tração sobre o funículo espermático direito.

4.2 Procedimentos

4.2.1 Ato anestésico

Todos os ratos foram pesados no início do procedimento em balança eletrônica de alta precisão da marca Filizola®, modelo MF-6, cuja sensibilidade é

de 1 g. A anestesia dos animais foi feita por médico veterinário do LEA, Centro de Pesquisa, EMESCAM. Esse procedimento foi obtido com injeção intramuscular de cloridrato de ketamina a 10%, na dose de 60 mg/kg de peso corporal, e com cloridrato de xilazina a 2%, na dose de 10 mg/kg de peso corporal, via intramuscular.

4.2.2 Preparo e posicionamento dos ratos

Os animais foram submetidos à tricotomia nas regiões inferior do abdome e inguinoescrotal, posicionados em decúbito dorsal, horizontal, em uma prancha operatória, com os quatro membros fixos com cordão de algodão. Antissepsia foi feita com solução de polivinilpirrolidona a 10% e foi utilizado campo operatório estéril.

4.2.3 Operações e mensurações testiculares

Na programação cirúrgica desse experimento efetuaram-se duas operações. No pré-operatório, um médico veterinário, especialista em diagnóstico por imagem de animal, fez o exame ultrassonográfico dos testículos direito e esquerdo e calculou o volume testicular de todos os ratos. O volume testicular calculado no pré-operatório da primeira operação foi denominado volume testicular inicial e o volume testicular calculado no pré-operatório da segunda operação foi denominado volume testicular final.

Na primeira operação o acesso cirúrgico foi feito por meio de uma incisão supraescrotal, longitudinal, paramediana, direita, de aproximadamente 2 centímetros (cm) de extensão, com lâmina de bisturi nº 15. O lado direito do escroto foi padronizado como o de escolha para o procedimento. O lado esquerdo do escroto não foi manipulado. O funículo espermático, testículo e epidídimo direitos foram expostos através dessa incisão. Uma janela foi criada no funículo espermático direito, entre o ducto deferente e os vasos testiculares, nas proximidades do epidídimo (FIG. 2). Um anzol de pesca em aço carbono Kenzaki Release 11[®], sem farpas na haste e sem barbela foi introduzido nessa janela (FIG. 3). Esse tipo de anzol foi utilizado com o objetivo de não traumatizar os elementos do funículo espermático (FIG. 20, APÊNDICE A). Fio de náilon

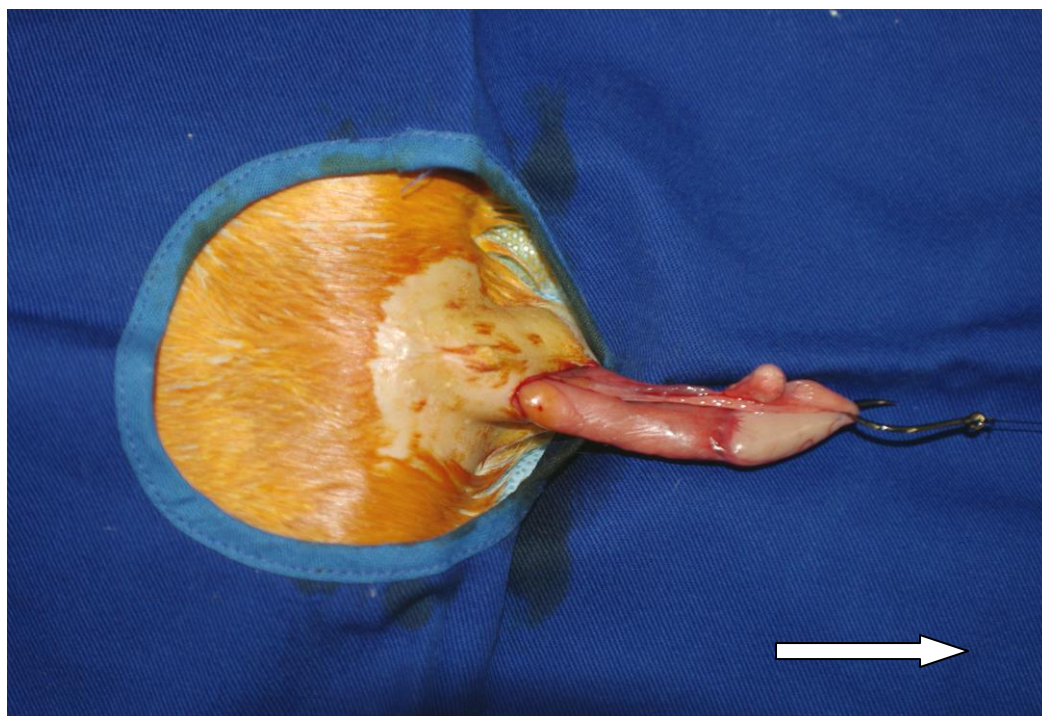
monofilamentar 2.0 com 1 metro de extensão serviu para fixar o anzol no dinamômetro, passando previamente por uma polia simples com fixação nifebo (EQ008.56, CIDEPE®).

FIGURA 2 - Funículo espermático e testículo do rato *Wistar*



A seta identifica o local onde foi criada a janela no funículo espermático direito.
Fonte: do autor.

FIGURA 3 - O anzol foi introduzido na janela criada no funículo espermático direito do rato *Wistar*



A seta indica a direção da força de estiramento.
Fonte: do autor.

O dinamômetro (FIG. 4) e a polia foram fixados em uma placa magnética com 46,5 x 62 cm, TBF-106, MINIPA[®] e montados em uma estrutura de demonstração multiuso com 97 x 85 x 34 cm, TBF-100, MINIPA[®], com prateleira de 93 x 32 cm, TBF-101, MINIPA[®] (FIG. 5). Força de tração no sentido horizontal e contínuo foi aplicada no funículo espermático direito, em direção distal, durante cinco minutos (FIG. 6). Esse tempo foi marcado por um cronômetro Vollo[®], modelo VL 510 (FIG. 21, APÊNDICE A). A força de tração aplicada foi mensurada por um dinamômetro com sensibilidade para esses pequenos animais. O dinamômetro é um dispositivo que mede a força usando uma mola. A força aplicada deforma a mola, movendo um ponteiro ao longo de uma escala que indica a sua intensidade.

FIGURA 4 - Dinamômetro tubular com fixação magnética e capacidade de 2 Newton, EQ007.2NM, CIDEPE®



Fonte: CIDEPE²⁰.

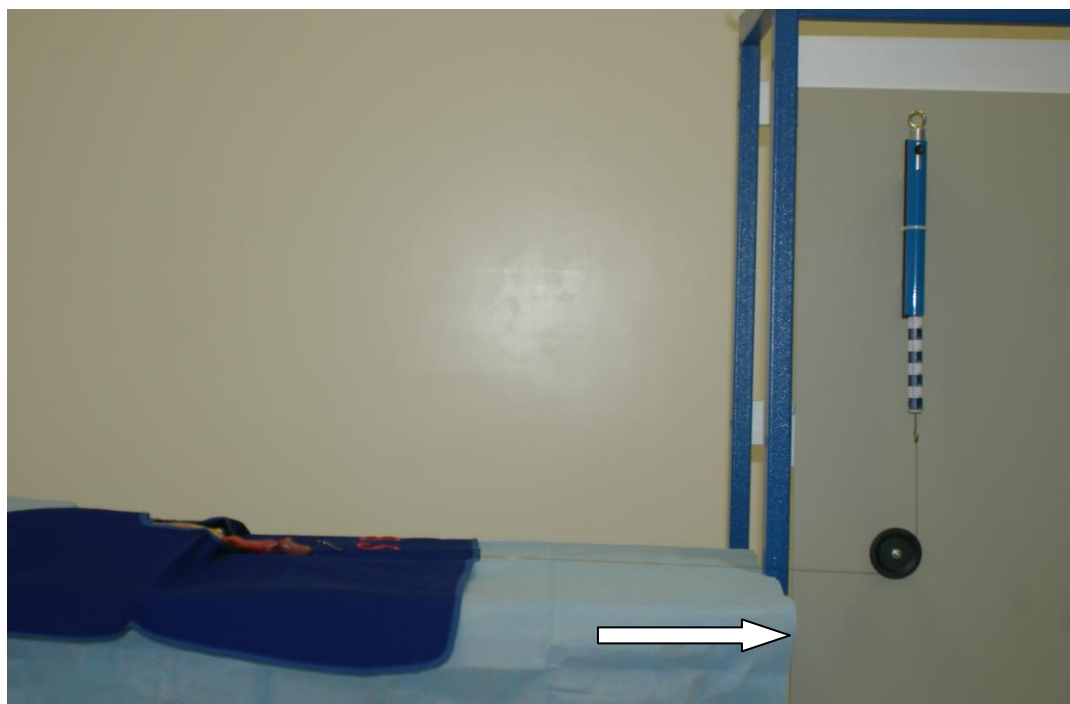
FIGURA 5 - O dinamômetro e a polia estão fixados em uma placa magnética, TBF-106, MINIPA® e montados em uma estrutura de demonstração multiuso, TBF-100, MINIPA®, com prateleira TBF-101, MINIPA®



Fonte: do autor.

A força foi medida em Newton (N), conforme preceitua o Sistema Internacional de Unidades. O valor de 1 N equivale a 0,10197 quilograma-força (kgf). O gubernáculo não foi seccionado na primeira operação. Posteriormente, o funículo espermático direito, juntamente com o testículo e epidídimo homolaterais, foi reposicionado no escroto e efetuou-se a síntese da ferida operatória com fio de náilon monofilamentar 4.0, sendo que a parede muscular e o peritônio foram fechados em plano único, com sutura tipo chuleio simples contínuo e a pele com pontos separados. O funículo espermático esquerdo dos ratos não foi objeto de manipulação operatória na primeira operação, portanto, não foi submetido à força de tração.

FIGURA 6 - Tração intraoperatória do funículo espermático direito do rato *Wistar*



A seta indica a direção do estiramento.
Fonte: do autor.

No intraoperatório da primeira operação, antes de ser aplicada a força de tração no funículo espermático direito, os membros da equipe cirúrgica mensuraram as dimensões do testículo direito com paquímetro digital IP54, 150 mm, leitura 0,01 mm, 100.179G DIGIMESS® (FIG. 22, APÊNDICE A), dos animais dos grupos I, II e III com o objetivo de calcular outro volume testicular inicial. Nos animais do grupo IV não foi calculado esse outro volume testicular inicial, porque os animais desse grupo-controle não foram submetidos à primeira operação. Na

analgésia pós-operatória utilizou-se cloridrato de nalbufina (0,1 mg/kg) via subcutânea, de 12 em 12 horas, durante três dias; e dipirona via oral, administrada na água do bebedouro dos animais por três dias.

A partir do 28º dia após a primeira operação, todos os animais submeteram-se à segunda operação. A incisão cirúrgica foi supraescrotal, longitudinal, paramediana, bilateral, de aproximadamente 2 cm de extensão. No intraoperatório da segunda operação, os membros da equipe cirúrgica mensuraram as dimensões dos testículos direito e esquerdo com paquímetro digital, dos animais dos grupos I, II, III e IV com o objetivo de calcular outro volume testicular final. Na sequência, foi feita a remoção dos testículos, epidídimos e dos ductos deferentes direitos e esquerdos. Todos esses órgãos foram fotografados (FIG. 7 e 8). Os testículos direito e esquerdo após dissecação do epidídimo e excisão foram pesados. Os órgãos retirados foram acondicionados em recipientes identificados com etiquetas, contendo formol tamponado a 10% e encaminhados para o serviço de patologia. A seguir, todos os animais submeteram-se à eutanásia.

FIGURA 7 - Funículo espermático, testículo e epidídimo direitos após exérese na segunda operação



Fonte: do autor.

FIGURA 8 - Funículo espermático, testículo e epidídimo esquerdos após exérese na segunda operação



Fonte: do autor.

4.2.4 Exame ultrassonográfico

Para a realização dos 160 exames ultrassonográficos testiculares, utilizou-se o mesmo protocolo anestésico. Posicionaram-se os animais em decúbito dorsal e aplicaram-se gel condutor e álcool a 70% na região escrotal. Foram feitas imagens em tempo real nos planos sagital e transversal utilizando-se o aparelho de ultrassom portátil Logic E da GE[®], com transdutor microconvexo 8C à frequência de 6 MHz a 10 MHz (FIG. 23, APÊNDICE A), com leve pressão para evitar distorção das medidas. Cursores foram posicionados na borda da túnica albugínea, excluindo-se o epidídimo, e as medidas realizadas nos cortes longitudinal, transversal e anteroposterior no maior diâmetro para a realização do cálculo de volume.

4.2.5 Eutanásia dos animais

No término da segunda operação, o médico veterinário do LEA do Centro de Pesquisa, EMESCAM, fez a eutanásia dos animais. Utilizou-se o método por sobredose de anestésico, ou seja, três vezes a dose convencional. Portanto, o pentobarbital sódico foi administrado na dose de 150 mg/kg, via intraperitoneal. E, ainda, foi administrado 0,6 mL de cloreto de potássio a 10%, via intracardíaca, com o animal em plano anestésico profundo.

4.2.6 Avaliação macroscópica

Os ductos deferentes, testículos e epidídimos foram fotografados juntos em uma única peça. Os testículos foram dissecados, retirados, pesados isoladamente em uma balança digital Adventurer OHAUS[®], modelo AR 3130 e com precisão de 0,001 g.

Foram seccionados os 3 cm iniciais do ducto deferente a partir de sua origem na cauda do epidídimo, em seis a oito níveis de 4 mm de espessura, obtendo-se seis a oito cortes transversais. O epidídimo foi seccionado em cortes transversais e longitudinais obtendo-se quatro cortes de 3 mm de espessura. O testículo foi seccionado em cortes transversais obtendo-se quatro a seis cortes de 3 mm de espessura.

4.2.7 Cálculo do volume testicular

O volume testicular foi calculado por duas maneiras distintas:

- a) Pelo exame ultrassonográfico, utilizando-se o aparelho de ultrassom portátil Logic E da GE[®], que mediu as dimensões testiculares e calculou automaticamente o volume testicular usando a fórmula $0,5236 \times \text{comprimento} \times \text{largura} \times \text{espessura}$.
- b) Usando as dimensões testiculares mensuradas por paquímetro no intraoperatório e a fórmula de cálculo de volume de um corpo sólido elipsoide triaxial, conforme experienciado por Nistal (1985)²¹, Love (1991)²² e Carlson (2010)²³:

$$4\pi abc/3$$

Essa fórmula foi utilizada considerando-se o valor do π igual a 3,14. E:

a = metade da altura

b = metade da largura

c = metade do comprimento

4.2.8 Processamento histológico

A preparação histológica seguiu os métodos de histotécnicas habituais²⁴. Os funículos espermáticos, os testículos e os epidídimos foram fixados em formol tamponado a 10% por 24h²⁵⁻²⁸. A seguir, foram submetidos a processamento histológico por meio de desidratação com álcool etílico em concentrações progressivas de 70 a 100%, diafanizados com xilol, incluídos em parafina a 60°C. Na sequência, foi constituído o bloco. Depois, os blocos foram submetidos a cortes de 4 μ m de espessura e as lâminas obtidas foram coradas com hematoxilina-eosina (HE).

4.2.9 Estudo histológico

O estudo dos parâmetros histológicos foi efetuado por meio de microscopia óptica, com o auxílio do microscópio Nikon Eclipse E200[®] (Nikon, Tóquio, Japão) e de um retículo de microscópio, Holtermann[®], que tem escala de 0 a 10 mm, cujo valor de cada divisão é 0,05 mm²⁹. As lâminas histológicas foram fotografadas utilizando-se o microscópio Laborana, modelo LAB 1000T[®], e o programa de computador TSView. As amostras foram examinadas em aumentos variáveis de 40 a 400 vezes. A análise e a interpretação anatomopatológica foram realizadas de forma cega pelo médico anatomopatologista, sem conhecimento prévio dos grupos de animais em estudo.

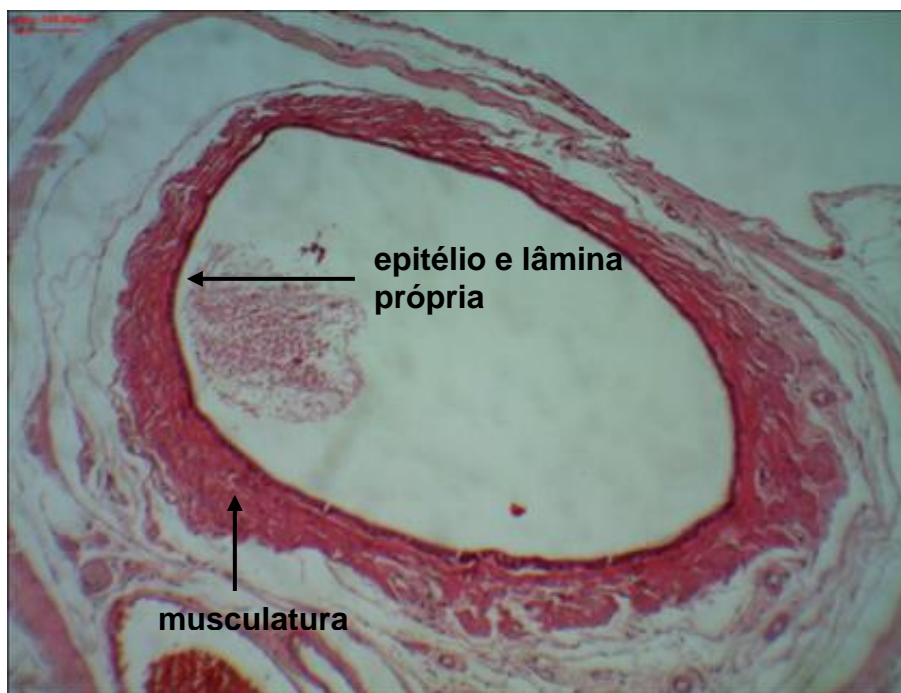
Os testículos foram examinados e classificados pela classificação histológica de Kolbe (1987)³⁰:

- a) **Grau 0:** abundantes espermatozoides intraluminais. Epitélio germinativo composto de células espermatogênicas normais. Degeneração tubular ocasional, usualmente próxima do hilo.

- b) **Grau 1:** ausência de espermatozoides intraluminais. Degeneração e perda do epitélio germinativo, com persistência das células de Sertoli. Alterações na arquitetura histológica são notadas em 5 a 50% da área de secção transversal do testículo.
- c) **Grau 2:** mudanças do grau 1 são verificadas em 50 a 100% da área da secção transversal do testículo.
- d) **Grau 3:** perda completa do epitélio germinativo e células de Sertoli. Túbulos contendo debris amorfos eosinofílicos. Mudanças são verificadas em 0 a 50% da área da secção transversal do testículo.
- e) **Grau 4:** mudanças do grau 3 são verificadas em 50 a 100% da área da secção transversal do testículo.
- f) **Grau 5:** arquitetura tubular completamente obliterada e substituída por infiltrado histiocítico e linfocítico. Mudanças verificadas em 0 a 50% da área de secção transversal do testículo.
- g) **Grau 6:** mudanças do grau 5 são notadas em 50 a 100% da área de secção transversal do testículo.

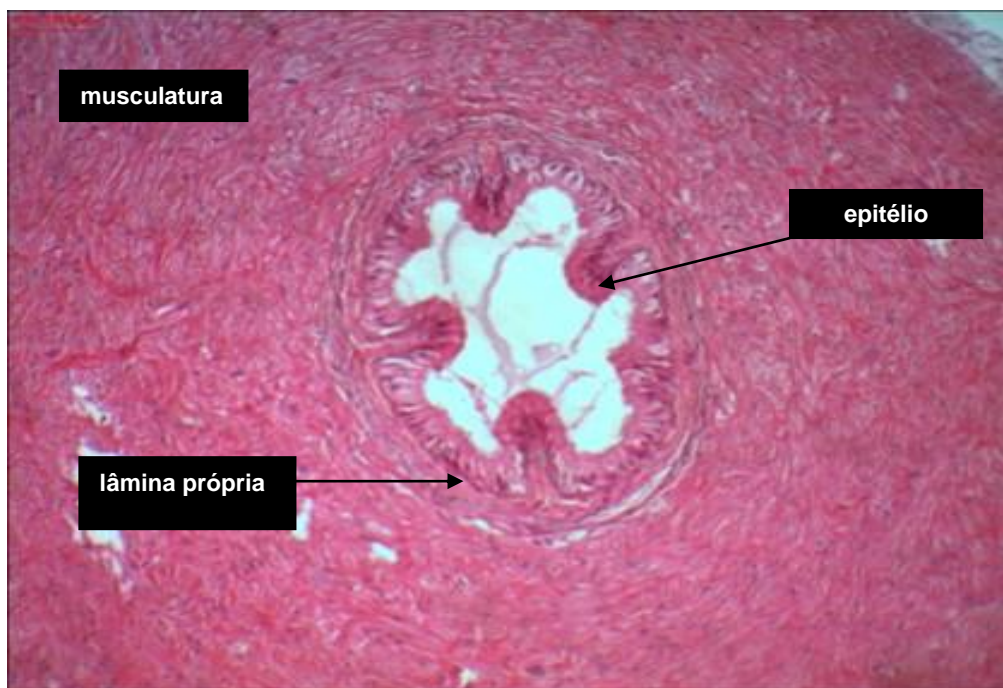
Em relação ao ducto deferente, em cada secção observaram-se seis a oito níveis de corte. O ducto deferente de ratos sofre alterações em sua estrutura ao longo de sua extensão, por conseguinte, para medir o diâmetro externo, a espessura da camada muscular e o diâmetro luminal desse órgão, consideraram-se as características histológicas das suas regiões proximal, juncional, distal e terminal³¹ (FIG. 9 e FIG. 10). Desse modo, mensuraram-se níveis de corte de parede de ducto deferente com características histológicas regionais semelhantes. Para mensurar o ducto deferente da região distal, selecionaram-se quatro níveis de corte (P1, P2, P3 e P4) e para o ducto deferente da região proximal escolheram-se dois níveis de corte (P1 e P2). O diâmetro luminal foi medido do ápice da célula colunar de um lado ao ápice da célula colunar do outro lado no maior eixo. O diâmetro externo foi mensurado no maior eixo das secções. A espessura muscular foi medida da base do epitélio até o ponto mais externo da musculatura, em dois pontos de cada nível escolhido, considerando-se o ponto de maior e o de menor espessura da parede muscular. Averiguou-se a possibilidade de ter ocorrido processo inflamatório, ruptura e dano na mucosa.

FIGURA 9 - Fotomicrografia da região proximal da parede ducto deferente do rato *Wistar*



O epitélio colunar é baixo. A dimensão da lâmina própria é tão reduzida que fica imperceptível. A camada muscular é delgada. O diâmetro luminal é grande. (HE-40x).
Fonte: do autor.

FIGURA 10 - Fotomicrografia da região distal da parede do ducto deferente do rato *Wistar*



O epitélio colunar é alto com dobras de mucosa. O diâmetro da lâmina própria está aumentado. A camada muscular é espessa. O diâmetro luminal está reduzido. Nota-se o aspecto estrelado do lúmen. (HE-40x).

Fonte: do autor.

No epidídimo analisaram-se os critérios de abundância, redução ou ausência de espermatozoides no lúmen, necrose e processo inflamatório intersticial.

4.2.10 Análise estatística

O objetivo da análise estatística foi avaliar as características estudadas em relação aos grupos, lados e momentos (inicial e final), dependendo da situação.

As informações coletadas foram digitadas em vários bancos de dados desenvolvidos no Excel®. Inicialmente, foram incluídas no estudo as avaliações de 40 ratos, 10 em cada grupo estudado. Porém, um rato do grupo IV (controle) era portador de orquite granulomatosa no testículo direito, sendo excluído da pesquisa.

Vale ressaltar que, para as regiões distais da parede do ducto deferente, avaliaram-se as médias das dimensões dos quatro níveis de corte selecionados (P1, P2, P3 e P4) e para as regiões proximais da parede do ducto deferente

avaliaram-se as médias das dimensões dos dois níveis de corte selecionados (P1 e P2).

Este trabalho foi dividido em três partes. A parte I consistiu em:

a) Comparações do volume testicular (VT) por paquímetro:

- Volume testicular direito (VTD) inicial entre os grupos;
- volume testicular direito final entre os grupos;
- variação do volume testicular direito (final - inicial) entre os grupos;
- variação do volume testicular direito em relação ao inicial $[(\text{final-inicial})/\text{inicial}] \times 100$ entre os grupos;
- volume testicular esquerdo final entre os grupos.

b) Comparações do volume testicular por exame ultrassonográfico:

- Volume testicular direito inicial entre os grupos;
- volume testicular direito final entre os grupos;
- variação do volume testicular direito (final-inicial) entre os grupos;
- variação do volume testicular direito em relação ao inicial $[(\text{final-inicial})/\text{inicial}] \times 100$ entre os grupos;
- volume testicular esquerdo (VTE) inicial entre os grupos;
- volume testicular esquerdo final entre os grupos;
- variação do volume testicular esquerdo (final-inicial) entre os grupos;
- variação do volume testicular esquerdo em relação ao inicial $[(\text{final-inicial})/\text{inicial}] \times 100$ entre os grupos;
- comparação da variação do volume testicular direito e variação do volume testicular esquerdo por cada grupo.

c) Comparação entre os volumes testiculares direitos mensurados pelo paquímetro e os volumes testiculares direitos mensurados pelo exame ultrassonográfico.

d) Comparação entre os volumes testiculares esquerdos mensurados pelo paquímetro e os volumes testiculares esquerdos mensurados pelo exame ultrassonográfico.

e) Comparações do peso dos testículos:

- Peso do testículo final do lado direito entre os grupos;
- peso do testículo final do lado esquerdo entre os grupos.

As análises de variação só foram feitas considerando-se os grupos em que ocorreram diferentes medidas entre os tempos.

A parte II consistiu em:

a) Para o lado direito, foram realizadas as comparações entre:

- Diâmetro externo das regiões proximais da parede do ducto deferente entre os grupos;
- diâmetro luminal das regiões proximais da parede do ducto deferente entre os grupos;
- espessura muscular das regiões proximais da parede do ducto deferente entre os grupos (média entre as duas medições);
- diâmetro externo das regiões distais da parede do ducto deferente entre os grupos;
- diâmetro luminal das regiões distais da parede do ducto deferente entre os grupos;
- espessura muscular das regiões distais da parede do ducto deferente entre os grupos (média entre as duas medições);
- avaliação dos testículos pela classificação histológica de Kolbe³⁰ entre os grupos;
- espermatozoides no lúmen dos epidídimos entre os grupos;
- necrose testicular histológica entre os grupos.

b) Para o lado esquerdo, foram realizadas as comparações entre:

- Diâmetro externo das regiões proximais da parede do ducto deferente entre os grupos;
- diâmetro luminal das regiões proximais da parede do ducto deferente entre os grupos;
- espessura muscular das regiões proximais da parede do ducto deferente entre os grupos (média entre as duas medições);
- diâmetro externo das regiões distais da parede do ducto deferente entre os grupos;
- diâmetro luminal das regiões distais da parede do ducto deferente entre os grupos;

- espessura muscular das regiões distais da parede do ducto deferente entre os grupos (média entre as duas medições);
- avaliação dos testículos pela classificação histológica de Kolbe³⁰ entre os grupos;
- espermatozoides no lúmen dos epidídimos entre os grupos;
- necrose testicular histológica entre os grupos.

A parte III consistiu em:

- a) Descrição das perdas de volume testicular;
- b) apresentação objetiva dos resultados estatísticos.

As análises foram realizadas nos programas R versão 2.15.0 e EpiInfo versão 6.04, ambos de domínio público^{32,33}. Foi utilizado nível de significância de 5%.

4.2.10.1 Análise descritiva

Todas as características em estudo foram descritas, isoladamente ou conjuntamente às comparações entre as características. Estes resultados foram obtidos utilizando-se frequências e percentagens para as características categóricas e medidas de tendência central (média e mediana) e de dispersão (desvio-padrão) para a quantitativa.

Nas tabelas, n corresponde ao número de observações, n* aos casos sem informação, DP ao desvio-padrão, 1ºQ a primeiro quartil e 3ºQ a terceiro quartil.

4.2.10.2 Comparações entre as características de interesse

As comparações das características avaliadas e dos grupos foram realizadas a partir do teste F(ANOVA) quando as suposições usuais do modelo (normalidade e homocedasticidade) foram atendidas e Kruskal-Wallis caso contrário. As suposições da F(ANOVA) foram verificadas utilizando-se o teste de Shapiro-Wilk para normalidade e o de Levene para homocedasticidade³⁴.

Quando foi constatada diferença significativa na comparação entre os grupos, realizaram-se comparações entre os grupos dois a dois com o objetivo de

localizar as diferenças. Utilizou-se o método Tukey nos casos em que se aplicou a F(ANOVA) ou o teste Mann-Whitney nos casos em que se adotou o Kruskal-Wallis, corrigindo também o nível de significância pelo método de Bonferroni.

O método de Bonferroni, empregado neste trabalho nas comparações não paramétricas, consistiu em dividir o valor de significância usual (0,05) pelo número de comparações dois a dois. O resultado foi valor-p de 0,008 (0,05/6), diferença só considerada estatisticamente significativa se o valor-p fosse igual ou inferior a 0,008 para cada comparação entre dois grupos. Quando se utilizou esse teste, foram apresentadas as diferenças entre as medianas nas tabelas.

O método Tukey foi usado nas comparações paramétricas. Nesses casos, as decisões foram tomadas a 5% de significância, tendo o próprio teste corrigido o nível de significância. Quando se empregou esse teste, foram obtidas as diferenças entre as médias nas tabelas.

As diferenças entre os grupos foram ilustradas por gráficos *box-plots* quando foram comparadas as medianas (testes não paramétricos) e por gráficos tipo *interval-plot* quando as médias foram comparadas (testes paramétricos). Nos *box-plots* os asteriscos indicam observações consideradas valores extremos, muito diferentes dos valores apresentados pelas outras observações. O início da caixa representa o primeiro quartil, com 25% das observações abaixo desse valor. A linha central representa a mediana, indicando que 50% dos valores estão acima e outros 50% abaixo desse valor. O fim da caixa representa o terceiro quartil, que indica que 75% das observações estão abaixo desse valor³⁴. No *interval-plot* foram apresentados a média (indicada pelo círculo) e o intervalo de 95% de confiança (IC_{95%}).

As comparações entre duas características qualitativas realizaram-se por meio do teste exato de Fisher (caso existissem frequências esperadas inferiores a 5), teste qui-quadrado com correção de Yates (para tabelas 2 x 2) e qui-quadrado de Pearson (para tabelas maiores que 2 x 2). As comparações dois a dois realizaram-se por meio do teste exato de Fisher ou com correção de Yates, dependendo da situação, utilizando também a correção de Bonferroni, nos mesmos padrões mencionados anteriormente.

4.2.10.3 Comparações entre tempos e lados

As características avaliadas tiveram as comparações entre os tempos (início e final) e entre os lados (direito e esquerdo) realizadas a partir do teste t-pareado (paramétrico) ou Wilcoxon (não paramétrico), a ser definido. A suposição de normalidade foi avaliada pelo teste Shapiro-Wilk.

4.2.10.4 Comparações da redução percentual avaliada pelo exame ultrassonográfico e pelo paquímetro

A concordância da classificação da redução percentual do volume testicular entre o exame ultrassonográfico e o paquímetro foi analisada por meio do coeficiente Kappa³⁵. A avaliação do coeficiente Kappa é apresentada no Quadro 1. A partir dos valores amostrais, foi estimado o Kappa, assim como seu respectivo intervalo de 95% de confiança e o valor-p.

QUADRO 1 - Avaliação do Kappa

Kappa	Avaliação
< 0,20	Pobre
0,21 a 0,40	Razoável
0,41 a 0,60	Moderada
0,61 a 0,80	Boa
0,80 a 1,00	Muito boa

A correlação entre a redução percentual do volume testicular avaliado no exame ultrassonográfico e no paquímetro do lado direito, na forma quantitativa, foi realizada a partir do cálculo do coeficiente de correlação de Pearson (caso paramétrico). A suposição de normalidade foi avaliada a partir do teste Shapiro-Wilk.

O coeficiente de correlação de Pearson (r) fornece uma medida da força de relacionamento linear entre duas variáveis contínuas e varia de -1 a +1, passando pelo zero. Assim, valores próximos de +1 indicam correlação positiva forte e de -1 indicam correlação negativa forte. Já valores de r próximos de zero indicam falta de associação entre as variáveis.

Vale destacar que somente se consideraram nesta análise o volume testicular direito dos ratos dos grupos I, II e III (30 ratos), mensurados pelos dois métodos.

5 RESULTADOS

5.1 Exclusão de animais

O rato nº 7 do grupo IV foi excluído em decorrência de orquite granulomatosa diagnosticada no testículo direito no exame histopatológico. Encontrou-se necrose microscópica nesse testículo, que foi causada por essa afecção^{36,37}. Por conseguinte, consideraram-se 39 ratos neste estudo. O grupo IV ficou com nove animais.

5.2 Peso dos animais

O peso inicial dos ratos foi, em média, de 424,7 g (desvio-padrão de 37,9 g, mediana de 418, mínimo de 361 g e máximo de 530 g), o peso final foi, em média, de 456,9 g (desvio-padrão de 39,4 g, mediana de 454, mínimo de 366 g e máximo de 564 g) e a variação do peso foi, em média, de 32,2 g (desvio-padrão de 21,4 g, mediana de 34, mínimo de -39 g e máximo de 71 g).

5.3 Análise descritiva

A TAB. 2 mostra a descrição do peso dos testículos. Em relação ao peso final, em média, o peso do testículo direito foi de 1,5 g (desvio-padrão de 0,6 g e mediana de 1,5) e o peso do testículo esquerdo foi, em média, de 2 g (desvio-padrão de 0,2 g e mediana 1,9).

TABELA 2 - Descrição do peso dos testículos

Peso dos testículos	n	Média	DP	Mínimo	1ºQ	Mediana	3ºQ	Máximo
Peso final direito (g)	39	1,5	0,6	0,3	0,9	1,5	2,0	2,4
Peso final esquerdo (g)	39	2,0	0,2	1,6	1,8	1,9	2,2	2,4

Nesta tabela não foi feito algum teste estatístico, porque se apresentou apenas a descrição dos dados.

Realizaram-se a descrição e comparação da avaliação dos testículos pela classificação histológica de Kolbe³⁰ entre os lados (TAB. 23, APÊNDICE A). Verificou-se que 13 (33,3%) ratos tiveram padrão histológico normal no testículo direito e 26 (66,7%) apresentaram lesões histopatológicas testiculares com intensidade progressiva. Constatou-se que 21 (53,9%) ratos apresentaram padrão histológico normal do testículo esquerdo e 18 (46,1%) exibiram lesões histopatológicas testiculares com intensidade progressiva. Não se observou associação (valor-p = 0,110) entre a avaliação dos testículos pela classificação histológica de Kolbe e o lado, ou seja, não há diferença de proporção de lesões entre os lados direito e esquerdo.

A TAB. 3 traz a descrição dos espermatozoides no lúmen dos epidídimos em relação a ambos os lados.

Houve associação entre a redução dos espermatozoides intraluminais e os lados (valor-p = 0,006). Quantificando esse achado, a chance de redução dos espermatozoides intraluminais no epidídimo do lado direito foi quatro vezes a chance do epidídimo esquerdo (IC_{95%}: 1,43 a 11,79).

Verificou-se associação entre abundância de espermatozoides intraluminais no epidídimo e os lados (valor-p = 0,002). Quantificando este achado, tem-se que a chance de abundância de espermatozoides intraluminais no lado esquerdo foi 5,3 vezes (*odds ratio* = 1/0,19) a chance do lado direito (IC_{95%}: 1,82 a 16,7).

Não existiu associação entre ausência e os lados (valor-p = 0,494).

TABELA 3 - Descrição de espermatozoides no lúmen dos epidídimos

Características	Epidídimo do lado direito		Epidídimo do lado esquerdo		Valor-p	Odds ratio e Intervalo 95% de confiança
	n	%	n	%		
	Redução dos espermatozoides intraluminais					
Sim	28	71,8	15	38,5	0,006¹	4,00 (1,43 a 11,79)
Não	11	28,2	24	61,5		
Abundância de espermatozoides intraluminais						
Sim	9	23,1	24	61,5	0,001¹	0,19 (0,06 a 0,55)
Não	30	76,9	15	38,5		
Ausência de espermatozoides intraluminais						
Sim	2	5,1	0	0,0	0,494 ²	-
Não	37	97,9	39	100		

1: Teste exato de Fisher; 2: Qui-quadrado com correção de Yates.

A descrição de necrose testicular histológica avaliada nos lados direito e esquerdo é mostrada na TAB. 4.

Houve diferença significativa (valor-p=0,005) entre necrose testicular histológica e os lados. Porém, essa associação não pode ser quantificada, devido à presença de casela nula.

TABELA 4 - Descrição da necrose testicular histológica

Características	Lado				Valor-p
	Direito		Esquerdo		
	n	%	n	%	
Necrose testicular					0,005¹
Sim	9	23,1	0	0,0	
Não	30	76,9	39	100,0	

1: Teste exato de Fisher.

5.4 Comparações das características - parte I

5.4.1 Comparações do volume testicular por paquímetro

As comparações entre o volume testicular do lado direito por paquímetro e os grupos são apresentadas na TAB. 5.

Constatou-se diferença significativa (valor-p $\leq 0,05$) para o volume testicular final, uma vez que pelo menos dois dos grupos diferiram em relação a essa característica. Localizando as diferenças, verificou-se diferença do grupo IV em relação aos grupos I, II e III, com o grupo IV apresentando volume testicular final maior que os grupos I, II e III. Estes resultados são ilustrados no GRÁF. 1 (APÊNDICE A).

As demais características não diferiram entre os grupos.

Ressalta-se que o grupo IV não apresentou VTD inicial e por isso foi excluído de algumas comparações (inicial e variações).

TABELA 5 - Comparação entre os grupos e o volume inicial e final do testículo e variação do volume testicular direito em relação à medição do paquímetro

Características	Grupos	Diferenças	Valor-p	
Volume testicular inicial direito (cm ³)	I. 1,2 ± 0,1 (1,2)	-	-	
	II. 1,2 ± 0,2 (1,2)	-	-	
	III. 1,3 ± 0,2 (1,3)	-	-	
Volume testicular final direito (cm ³)	I. 0,8 ± 0,2 (0,8)	IV - I = 0,8	<0,001¹	
	IV. 1,6 ± 0,3 (1,5)	II. 0,9 ± 0,2 (0,9)	IV - II = 0,7	<0,001¹
	III. 1,0 ± 0,4 (1,0)	IV - III = 0,6	0,001¹	
Variação do volume testicular direito (cm ³)	I. -0,4 ± 0,3 (-0,3)	-	-	
	II. -0,3 ± 0,1 (-0,3)	-	-	
	III. -0,3 ± 0,5 (-0,3)	-	-	
Variação do VTD em relação à medida inicial (%)	I. -31,2 ± 21,3 (-26,6)	-	-	
	II. -24,5 ± 10,0 (-24,0)	-	-	
	III. -20,9 ± 37,4 (-25,5)	-	-	

1: Teste Tukey (nível de significância = 0,05); VTD: volume testicular direito.

As comparações entre o volume final do testículo esquerdo por paquímetro e os grupos estão apresentadas na TAB. 6. Houve diferença significativa (valor-p

$\leq 0,05$) nessa comparação - pelo menos dois grupos diferiram em relação ao VTE por paquímetro.

Assim, tem-se que o grupo I apresentou diferença em relação aos grupos III e IV, com volume final do testículo esquerdo menor que os grupos III e IV (GRÁF. 2, APÊNDICE A).

TABELA 6 - Comparação entre os grupos e o volume final do testículo esquerdo em relação à mensuração pelo paquímetro

Característica	Grupos	Diferenças	Valor-p
Volume testicular final esquerdo (cm ³)	I. $1,2 \pm 0,2$ (1,2)	III. $1,6 \pm 0,2$ (1,6)	I - III = -0,4 0,008 ¹
		IV. $1,5 \pm 0,2$ (1,6)	I - IV = -0,3 0,018 ¹

1: Teste Tukey (nível de significância = 0,05).

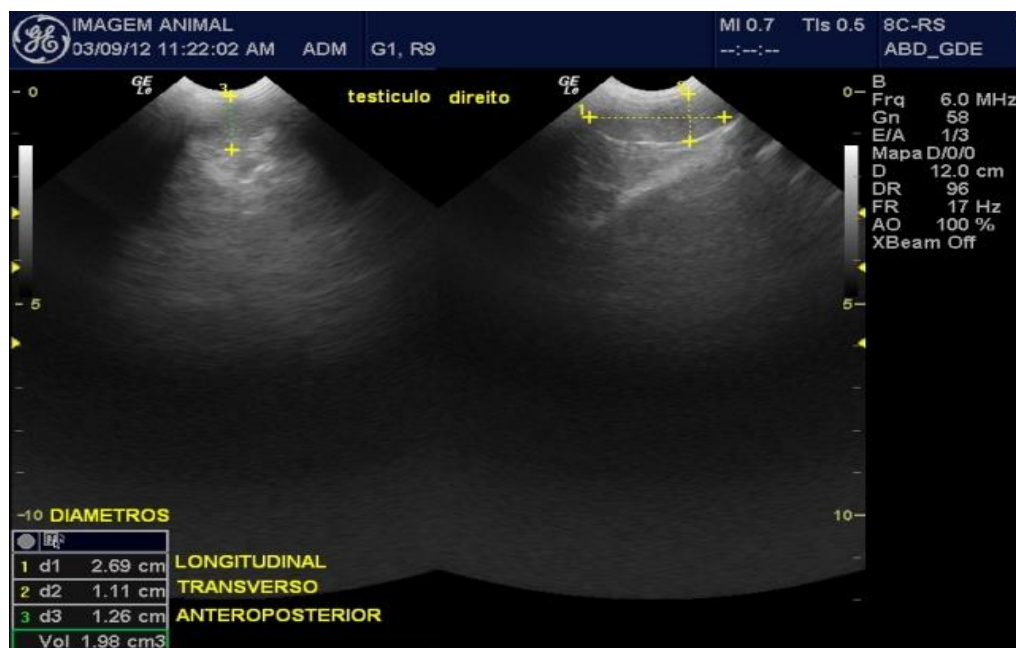
É importante acentuar que as comparações entre o grupo e o volume testicular inicial, variação do volume testicular e variação do volume testicular em relação à medida inicial não foram realizadas, pois não se obtiveram informações do volume testicular inicial esquerdo mensurado pelo paquímetro para os grupos I, II, III e IV.

Salienta-se que as comparações relacionadas à variação do volume testicular entre os lados não foram realizadas devido à ausência de informação sobre a variação do lado esquerdo.

5.4.2 Comparações do volume testicular por exame ultrassonográfico

Foram feitos 160 exames ultrassonográficos (FIG. 11 e 12). As comparações entre os grupos e o volume testicular direito calculado pelo exame ultrassonográfico são apresentadas na TAB. 7. Detectou-se diferença significativa (valor-p $\leq 0,05$) para o volume testicular final, variação do volume testicular e variação do volume testicular em relação à medida inicial, sendo que pelo menos dois grupos diferiram em relação a essas características.

FIGURA 11 - Exame ultrassonográfico do testículo direito do rato nº 9 do grupo I, feito no pré-operatório da primeira operação



O volume testicular inicial direito foi de 1,98 cm³.
Fonte: do autor.

FIGURA 12 - Exame ultrassonográfico do testículo direito do rato nº 9 do grupo I, feito no pré-operatório da segunda operação



O volume testicular final direito foi de 0,41 cm³.
Fonte: do autor.

Destaca-se que a variação no volume testicular é a diferença entre o volume final menos o inicial. Os resultados negativos indicam redução do volume. E também a variação percentual em relação à medida inicial, ou seja, a variação corresponde a tantos por cento da medida inicial.

O volume testicular inicial do lado direito não diferiu entre os grupos (valor- $p=0,088$).

As medianas do volume testicular final entre os grupos foram diferentes. Verificou-se diferença do grupo IV em relação aos grupos I e III; o grupo IV exibiu volume testicular final, segundo o exame ultrassonográfico, maior que os grupos I e III.

Em relação à variação do volume testicular do lado direito, houve diferença do grupo I em relação aos grupos II e IV e, ainda, diferença entre o grupo III e o grupo IV. Ou seja, no grupo I a variação do volume testicular direito foi maior que nos grupos II e IV e no grupo III constatou-se mais variação que no grupo IV (maior diferença entre os momentos, desconsiderando-se o sinal).

Quanto à variação do VTD em relação à medida inicial, notou-se diferença entre o grupo IV em relação aos grupos I e III. Isso significa que o grupo IV apresentou menos variação do volume segundo o exame ultrassonográfico do que os grupos I e III (menor diferença entre os momentos).

Estes resultados são ilustrados nos GRÁF. 3, 4 e 5 (APÊNDICE A).

TABELA 7 - Comparação entre os grupos e o volume testicular direito calculado por exame ultrassonográfico

Características	Grupos		Diferenças	Valor-p
Volume testicular inicial direito (cm ³)	I. 1,7 ± 0,3 (1,6)		-	-
	II. 1,5 ± 0,2 (1,5)		-	-
	III. 1,4 ± 0,2 (1,4)		-	-
	IV. 1,7 ± 0,4 (1,6)		-	-
Volume testicular final direito (cm ³)	I. 1,0 ± 0,4 (1,0)	IV. 1,4 ± 0,3 (1,4)	I - IV = -0,4	0,001 ¹
	III. 0,9 ± 0,4 (0,9)		III - IV = -0,5	0,003 ¹
Variação do volume testicular direito (cm ³)	I. -0,8 ± 0,5 (-0,6)	II. -0,3 ± 0,2 (-0,3)	I - II = -0,5	0,023 ²
		IV. -0,1 ± 0,3 (-0,1)	I - IV = -0,7	0,001 ²
	III. -0,6 ± 0,4 (-0,6)	IV. -0,1 ± 0,3 (-0,1)	III - IV = -0,5	0,038 ²
Variação do VTD em relação à medida inicial (%)	I. -47,3 ± 25,3 (-35,0)	IV. -5,5 ± 15,3 (-4,2)	I - IV = -41,8	0,001 ²
	III. -41,0 ± 30,3 (-39,1)		III - IV = -35,5	0,007 ²

1: Método de Bonferroni (nível de significância = 0,05/6=0,008); 2: Teste Tukey (nível de significância = 0,05); VTD: volume testicular direito.

Nas comparações entre os grupos com o volume testicular inicial esquerdo, volume testicular final esquerdo, variação do volume testicular esquerdo e variação percentual do volume testicular esquerdo em relação à medida inicial (valor-p>0,05), não foram detectadas diferenças com significância estatística. Isso significa que os grupos não diferiram no que diz respeito às características avaliadas (TAB. 24, APÊNDICE A).

As comparações das variações dos volumes testiculares em ambos os lados de cada grupo, segundo o exame ultrassonográfico, são mostradas na TAB. 8. Observou-se diferença da variação do volume testicular do lado direito em relação ao esquerdo para os grupos I e III (valor-p ≤ 0,05).

Analisando os resultados do grupo I, os ratos exibiram, em média, variação do volume testicular direito de -0,8 cm³ e a variação do lado esquerdo, em média, de -0,4 cm³. Dessa forma, a variação do volume testicular direito foi mais acentuada que a do testicular esquerdo (maior diferença entre os momentos, independentemente do sinal).

Considerando o grupo III, em média os ratos mostraram variação do volume testicular direito de -0,6 cm³ e a variação do lado esquerdo, em média, de -0,1 cm³, sendo a variação do volume testicular direito maior que a do testículo esquerdo.

Destaca-se que a variação com sinal negativo só indica que a medida final é menor que a inicial. Estes resultados são ilustrados nos GRÁF. 6 e GRÁF. 7 (APÊNDICE A).

TABELA 8 - Comparação entre a variação do volume testicular em ambos os lados e o grupo segundo o exame ultrassonográfico

Grupos	Variação do volume testicular (cm ³)						Valor-p
	Direito			Esquerdo			
	Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana	
Grupo I	-0,8	0,5	-0,6	-0,4	0,5	-0,4	0,004 ¹
Grupo II	-0,3	0,2	-0,3	-0,3	0,3	-0,2	0,611 ¹
Grupo III	-0,6	0,4	0,6	-0,1	0,2	-0,1	0,006 ¹
Grupo IV	-0,1	0,3	-0,1	-0,2	0,2	-0,3	0,252 ¹

1: Teste t-pareado.

5.4.3 Comparação entre os volumes testiculares direito e esquerdo mensurados pelo paquímetro e pelo exame ultrassonográfico

A comparação entre o volume testicular mensurado pelo paquímetro e pelo exame ultrassonográfico em relação aos lados direito e esquerdo encontram-se na TAB. 9. Encontrou-se diferença significativa (valor-p \leq 0,05) para o volume testicular inicial do lado direito, variação do volume testicular direito e volume testicular final do lado esquerdo. Os métodos de mensurar os volumes diferiram, portanto, em relação a essas características.

No tocante ao volume testicular inicial do lado direito, verificou-se diferença nos valores mensurados pelo paquímetro e pelo exame ultrassonográfico, sendo o volume testicular medido pelo exame ultrassonográfico maior que o volume medido pelo paquímetro.

Para a variação do volume testicular e para a variação do volume testicular em relação à medida inicial do lado direito, houve diferença dos valores mensurados pelo paquímetro e pelo exame ultrassonográfico. A variação do volume testicular mensurado pelo exame ultrassonográfico foi maior que o volume medido pelo paquímetro, o que implica que a diferença entre as medidas finais e iniciais foi maior quando avaliadas por esse instrumento. A variação do volume

testicular em relação à medida inicial mensurada pelo exame ultrassonográfico foi de 11,4% [-36,9-(-25,5)] maior que a medida feita pelo paquímetro. Esse valor pode variar de 4 a 18,7% (IC_{95%}: 4,0 a 18,7).

Quanto ao volume testicular final do lado esquerdo, verificou-se diferença dos valores mensurados pelo paquímetro e pelo exame ultrassonográfico, cujo volume testicular à ultrassonografia foi maior que o medido pelo paquímetro.

Detectaram-se valores maiores para o volume testicular direito inicial e volume testicular esquerdo final avaliados pelo exame ultrassonográfico. Percebeu-se também maior variação para volume testicular direito e variação em relação à medida inicial nesse instrumento.

Estes resultados estão demonstrados nos GRÁF. 8, 9, 10 e 11 (APÊNDICE A).

TABELA 9 - Comparação entre os volumes testiculares mensurados pelo paquímetro e pelo exame ultrassonográfico em relação a ambos os lados

Características	Volumes testiculares (cm ³)								Valor-p
	Paquímetro				Exame ultrassonográfico				
	n	Média	DP	Mediana	n	Média	DP	Mediana	
Lado direito									
Volume testicular inicial	30	1,2	0,2	1,2	30	1,5	0,3	1,6	<0,001²
Volume testicular final	39	1,1	0,4	1,0	39	1,1	0,4	1,1	0,611 ²
Variação do volume testicular	30	-0,3	0,3	-0,3	30	-0,6	0,4	-0,5	0,004¹
Variação do volume testicular em relação à medida inicial (%)	30	-25,5	25,0	-25,8	30	-36,9	25,8	-30,5	0,004²
Lado esquerdo									
Volume testicular final	39	1,4	0,2	1,4	39	1,6	0,3	1,6	0,002²

1: Teste de Wilcoxon; 2: Teste *t*-pareado.

5.4.4 Comparações do peso testicular entre os grupos e os lados

As comparações entre o grupo e o peso testicular, em ambos os lados, podem ser notadas na TAB. 10.

Encontrou-se diferença significativa (valor-p \leq 0,05) apenas para o peso testicular final do lado direito. Houve diferença do grupo IV em relação aos grupos I, II e III, uma vez que o grupo IV apresentou peso testicular maior que os demais grupos (GRÁF. 12, APÊNDICE A).

Evidenciou-se que o peso testicular final do lado esquerdo não diferiu entre os grupos.

TABELA 10 - Comparação entre os grupos e o peso testicular final

Características	Grupos	Diferenças	Valor-p
Peso testicular final direito (g)	I. $1,2 \pm 0,6$ (1,0)	I - IV = -0,9	<0,001²
	II. $1,5 \pm 0,4$ (1,5) IV. $2,1 \pm 0,2$ (2,1)	II - IV = -0,6	0,033²
	III. $1,1 \pm 0,5$ (1,1)	III - IV = -1,0	<0,001²
Peso testicular final esquerdo (g)	I. $1,9 \pm 0,2$ (1,9)	-	-
	II. $2,0 \pm 0,2$ (2,1)	-	-
	III. $1,9 \pm 0,2$ (1,9)	-	-
	IV. $2,0 \pm 0,2$ (2,1)	-	-

2: Teste Tukey (nível de significância = 0,05).

5.5 Comparações das características - parte II

5.5.1 Comparações do lado direito

5.5.1.1 Dimensões das regiões proximais da parede do ducto deferente entre os grupos

Não houve diferença significativa entre os grupos na avaliação do diâmetro externo, do diâmetro luminal e da espessura muscular das regiões proximais da parede do ducto deferente direito (TAB. 25, APÊNDICE A).

5.5.1.2 Dimensões das regiões distais da parede do ducto deferente entre os grupos

As comparações entre os grupos e as dimensões das regiões distais da parede do ducto deferente do lado direito (diâmetro externo, diâmetro luminal e espessura muscular) são representadas na TAB. 11. Encontrou-se diferença significativa ($p \leq 0,05$) para o diâmetro luminal e espessura muscular, já que pelo menos dois grupos diferiram em relação a essas características. O diâmetro externo não diferiu entre os grupos ($p=0,253$).

Em relação ao diâmetro luminal das regiões distais do lado direito, registrou-se diferença do grupo IV em relação aos grupos I, II e III, cujo grupo IV teve o maior diâmetro luminal.

Para a espessura muscular das regiões distais do lado direito, o grupo I exibiu-a maior que o grupo IV.

Estes resultados estão demonstrados nos GRÁF. 13 e 14 (APÊNDICE A).

TABELA 11 - Comparação do diâmetro externo, diâmetro luminal e espessura muscular da parede do ducto deferente em relação ao lado direito segundo a região distal por grupo

Regiões distais direitas	Grupos	Diferenças	Valor-p	
Diâmetro externo (μm)	I. 1477,5 \pm 130,4 (1481,3)	-	-	
	II. 1383,8 \pm 176,9 (1381,3)	-	-	
	III. 1400,0 \pm 127,7 (1418,8)	-	-	
	IV. 1347,2 \pm 130,0 (1375,0)	-	-	
Diâmetro luminal (μm)	I. 386,3 \pm 70,3 (387,5)	IV - I = 99,8	0,023 ²	
	IV. 486,1 \pm 42,1 (487,5)	II. 350,0 \pm 90,5 (331,3)	IV - II = 136,1	0,001 ²
		III. 391,3 \pm 73,4 (375,0)	IV - III = 94,8	0,033 ²
Espessura muscular (μm)	IV. 366,7 \pm 63,7 (386,8)	I. 473,8 \pm 96,8 (453,1)	IV - I = -66,3	0,006 ¹

1: Método de Bonferroni (nível de significância = $0,05/6=0,008$); 2: Teste Tukey (nível de significância = 0,05).

5.5.1.3 Avaliação dos testículos pela classificação histológica de Kolbe entre os grupos

A comparação entre os grupos e a avaliação dos testículos direitos pela classificação histológica de Kolbe³⁰ encontra-se na TAB. 12. Observou-se associação entre as características (valor- $p < 0,001$).

Na avaliação dos testículos direitos dos ratos pela classificação histológica de Kolbe³⁰ entre grupos, detectou-se diferença do grupo I em relação aos grupos II e IV (FIG. 13 e 14). Porém, essa associação não pôde ser quantificada devido à presença de casela zero (grupo I e classificação normal), o que impossibilitou o cálculo.

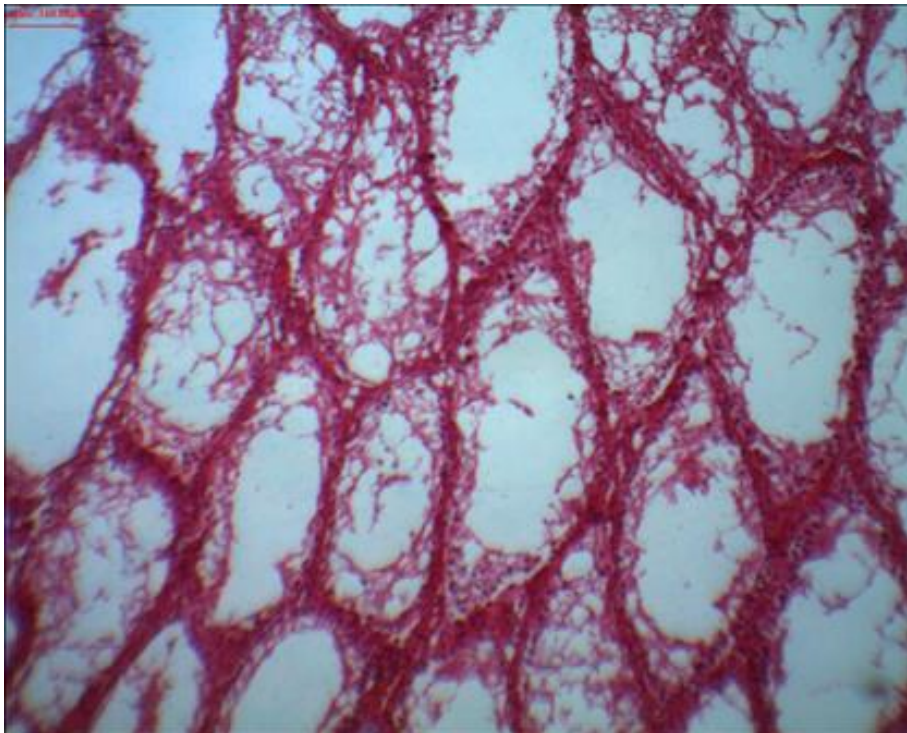
A partir da avaliação visual dos resultados da TAB. 12, notou-se que o grupo I possuía mais lesão que os grupos II e IV (comparação dois a dois na TAB. 26, APÊNDICE A).

TABELA 12 - Comparação da avaliação dos testículos direitos pela classificação histológica de Kolbe entre grupos

Características	Classificação histológica de Kolbe				Valor-p
	Normal		Lesão		
	n	%	n	%	
Lado direito					
Grupo I	0	0,0	10	100,0	<0,001¹
Grupo II	2	20,0	8	80,0	
Grupo III	3	30,0	7	70,0	
Grupo IV	8	88,9	1	11,1	

1: Teste exato de Fisher.

FIGURA 13 - Fotomicrografia do testículo direito do rato nº 9 do grupo II, evidenciando acentuada redução do número de células germinativas nos túbulos seminíferos



Grau 1 na classificação histológica de Kolbe. (HE-40x).
Fonte: do autor.

A comparação entre os grupos e a graduação pela classificação histológica de Kolbe³⁰ no testículo direito na forma quantitativa encontra-se na TAB. 13. Encontrou-se associação entre as características.

Comparando os grupos dois a dois, tem-se que o grupo I foi diferente na comparação com os grupos II, III e IV, com maior graduação do lado direito pela classificação histológica de Kolbe³⁰.

Percebeu-se também diferença significativa entre o grupo IV em relação aos grupos II e III; os ratos do grupo IV apresentaram menor graduação pela classificação histológica de Kolbe³⁰ do lado direito que os ratos dos grupos II e III.

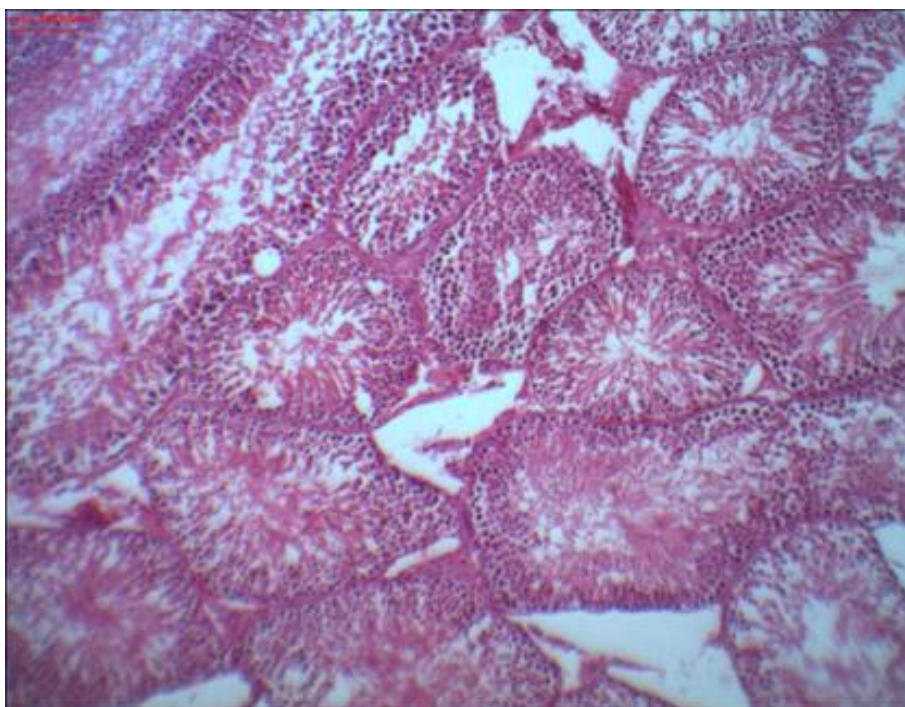
Os resultados são ilustrados no GRÁF. 15 (APÊNDICE A).

TABELA 13 - Comparação entre os grupos e a graduação pela classificação histológica de Kolbe do testículo direito na forma quantitativa

Característica	Grupos	Diferenças	Valor-p
Classificação de Kolbe	II. 1,1 ± 0,7 (1,0)	I - II = 1,5	0,001²
	I. 2,6 ± 0,8 (3,0)	I - III = 1,3	0,005²
	III. 1,3 ± 1,1 (1,5)	I - IV = 2,5	<0,001²
	IV. 0,1 ± 0,3 (0,0)	II - IV = 1,0	0,050²
	III. 1,3 ± 1,1 (1,5)	III - IV = 1,2	0,013²

2: Teste Tukey (nível de significância = 0,05)

FIGURA 14 - Fotomicrografia do testículo direito do rato nº 4 do grupo IV



O padrão histológico está preservado, com células germinativas e de Sertoli em quantidade habitual. Grau 0 na classificação histológica de Kolbe. (HE-100x).

Fonte: do autor.

5.5.1.4 Espermatozoides no lúmen dos epidídimos entre os grupos

A comparação entre os grupos e espermatozoides no lúmen dos epidídimos do lado direito encontra-se na TAB. 14. Os grupos não diferiram para ausência de espermatozoides intraluminais (FIG. 15). Todavia, detectou-se diferença significativa (valor-p \leq 0,05) para redução e para abundância dos espermatozoides intraluminais (FIG. 16), sendo que pelo menos dois grupos diferiram em relação a essas características.

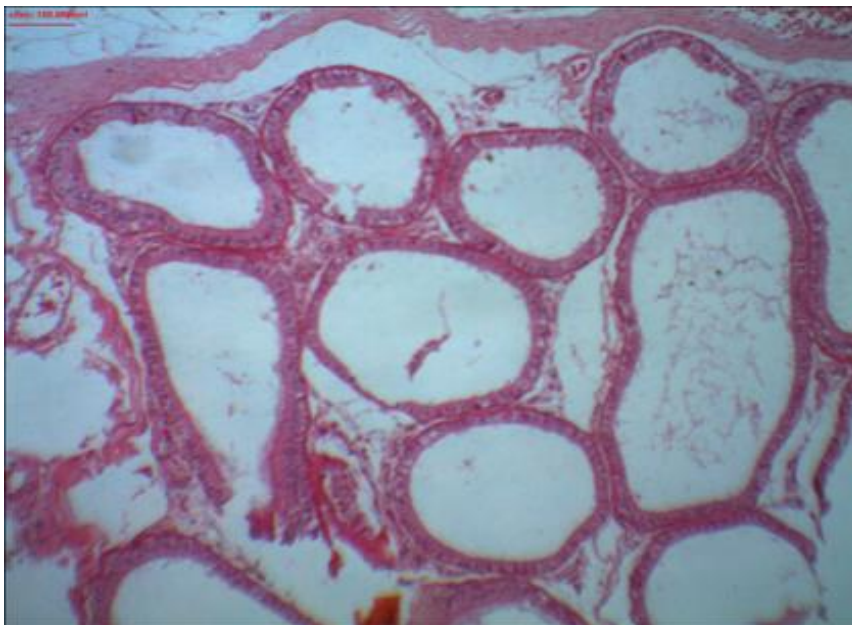
Devido ao alto número de caselas zero, não foi possível quantificar a associação. Entretanto, observando-se as frequências, identificou-se que o grupo IV diferiu dos demais.

TABELA 14 - Comparação entre os grupos e os espermatozoides no lúmen dos epidídimos do lado direito

Características	Espermatozoides no lúmen dos epidídimos				Valor-p
	Sim		Não		
	n	%	n	%	
Redução dos espermatozoides intraluminais					
Grupo I	9	90,0	1	10,0	<0,001¹
Grupo II	10	100,0	0	0,0	
Grupo III	9	90,0	1	10,0	
Grupo IV	0	0,0	9	100,0	
Abundância de espermatozoides intraluminais					
Grupo I	0	0,0	10	100,0	<0,001¹
Grupo II	0	0,0	10	100,0	
Grupo III	0	0,0	10	100,0	
Grupo IV	9	100,0	0	0,0	
Ausência de espermatozoides intraluminais					
Grupo I	1	10,0	9	90,0	1,000 ¹
Grupo II	0	0,0	10	100,0	
Grupo III	1	10,0	9	90,0	
Grupo IV	0	0,0	9	100,0	

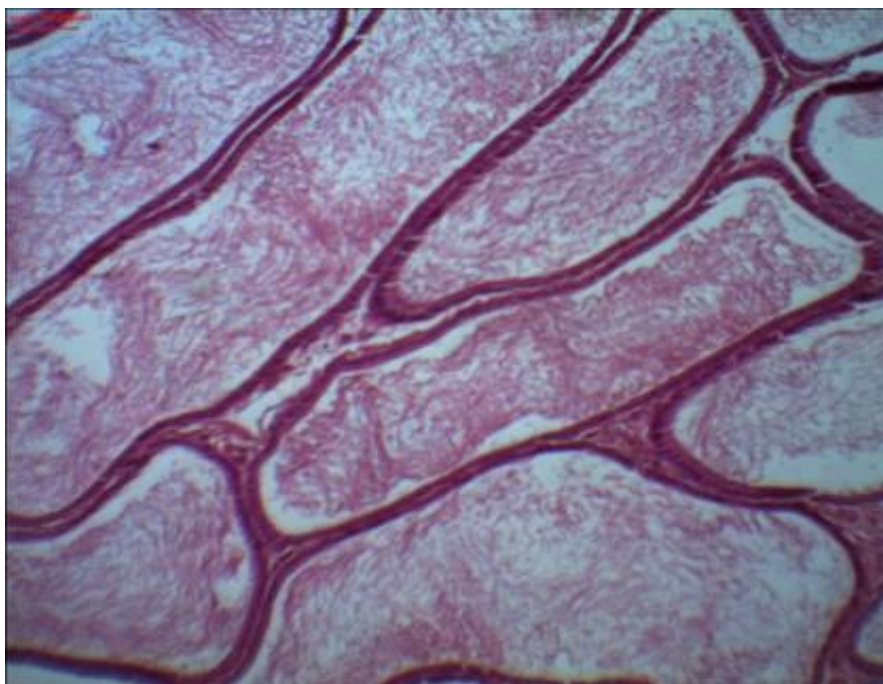
1: Teste exato de Fisher.

FIGURA 15 - Fotomicrografia do epidídimo direito do rato nº 1 do grupo I, mostrando ausência de espermatozoides intraluminais



(HE-100x).
Fonte: do autor.

FIGURA 16 - Fotomicrografia do epidídimo direito do rato nº 8 do grupo IV, exibindo abundância de espermatozoides intraluminais



(HE-100x).
Fonte: do autor.

5.5.1.5 Necrose testicular histológica entre os grupos

A comparação entre os grupos e a necrose testicular histológica do lado direito está demonstrada na TAB. 15.

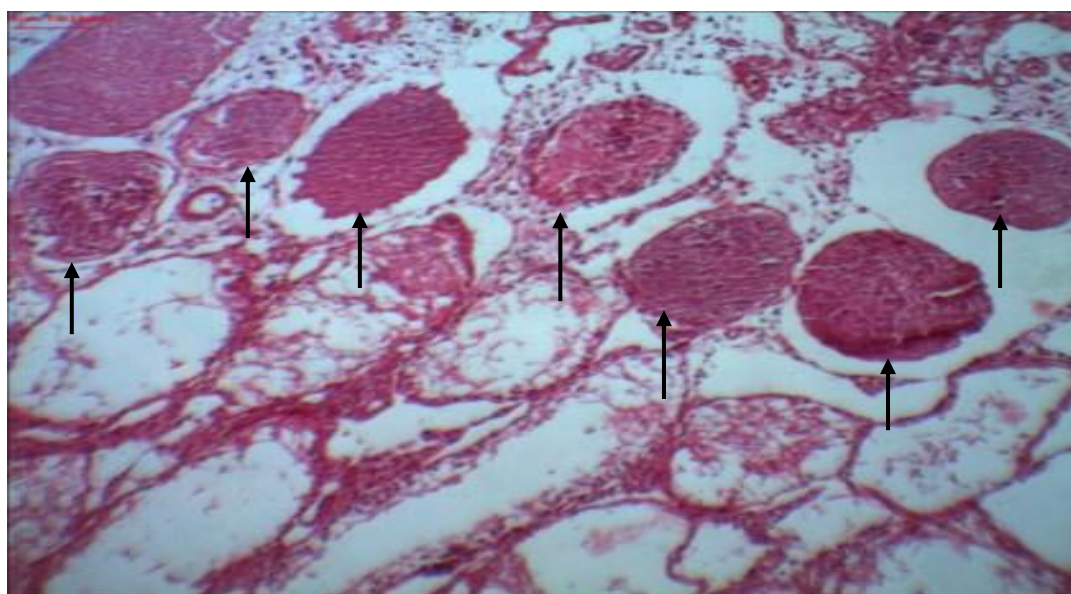
Assim, observou-se por que a necrose testicular histológica do lado direito diferiu ($p \leq 0,05$) entre os grupos (FIG. 17 e 18). Entretanto, a diferença não pôde ser localizada, devido à utilização do método Bonferroni, que é uma técnica conservadora, e à existência de caselas zero, que podem ter impulsionado esses resultados (TAB. 27, APÊNDICE A).

TABELA 15 - Comparação entre necrose testicular histológica e os grupos do lado direito

Grupos	Necrose testicular histológica				Valor-p
	Sim		Não		
	n	%	n	%	
Grupo I	5	50,0	5	50,0	0,005¹
Grupo II	0	0,0	10	100,0	
Grupo III	4	40,0	6	60,0	
Grupo IV	0	0,0	9	100,0	

1: Teste exato de Fisher.

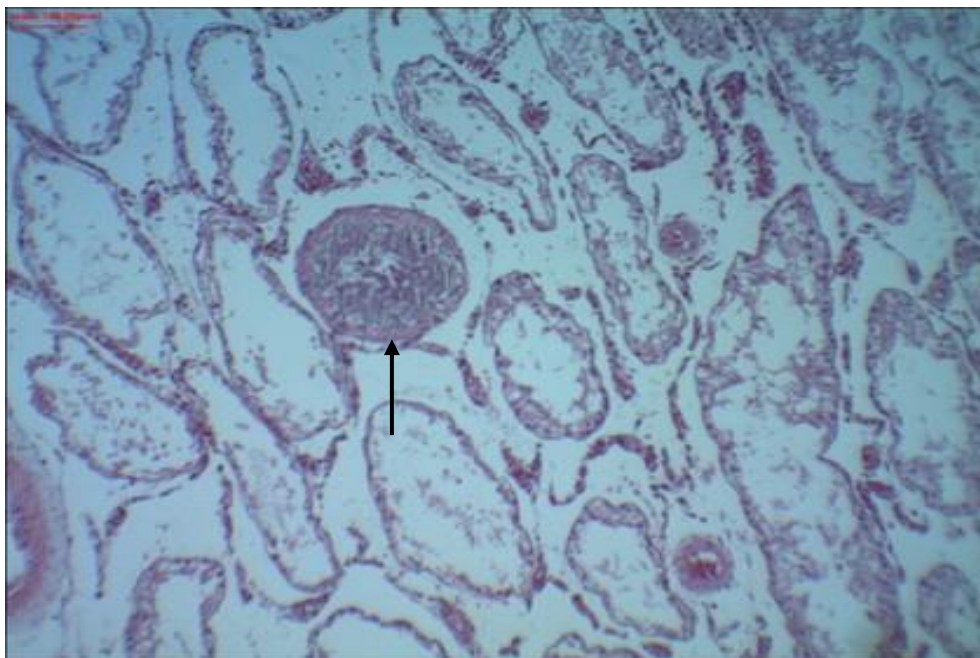
FIGURA 17 - Fotomicrografia do testículo direito do rato nº 1 do grupo I, exibindo múltiplos túbulos seminíferos com necrose



(HE-100x).

Fonte: do autor.

FIGURA 18 - Fotomicrografia do testículo direito do rato nº 7 do grupo III, mostrando intensa redução das células germinativas nos túbulos seminíferos e necrose focal e esparsa



(HE-100x).

Fonte: do autor.

5.5.2 Comparações do lado esquerdo

5.5.2.1 Avaliação dos testículos pela classificação histológica de Kolbe entre os grupos

A comparação entre os grupos e avaliação dos testículos pela classificação histológica de Kolbe³⁰ do lado esquerdo está representada na TAB. 16.

A avaliação dos testículos esquerdos pela classificação histológica de Kolbe³⁰ diferiu (valor- $p \leq 0,05$) em relação aos grupos.

Constatou-se diferença do grupo I em relação aos grupos III e IV e diferença entre os grupos II e IV. Houve associação ($p \leq 0,05$), mas devido às frequências nulas, não foi possível quantificá-las (TAB. 30, APÊNDICE A).

A partir da avaliação visual dos resultados da TAB. 16, percebeu-se que o grupo I manifestou mais lesões que os grupos III e IV e que no grupo II elas foram mais numerosas que no grupo IV. Os demais não diferiram.

TABELA 16 - Comparação entre os grupos e avaliação do testículo esquerdo pela classificação histológica de Kolbe

Características	Classificação histológica de Kolbe				Valor-p
	Normal		Lesão		
	n	%	n	%	
Lado esquerdo					
Grupo I	0	0,0	10	100,0	<0,001 ¹
Grupo II	3	30,0	7	70,0	
Grupo III	9	90,0	1	10,0	
Grupo IV	9	100,0	0	0,0	

1: Teste exato de Fisher.

A comparação entre os grupos e a graduação do testículo esquerdo pela classificação histológica de Kolbe³⁰ do testículo esquerdo está representada na TAB. 17. Houve associação entre as características (valor-p<0,001).

Encontrou-se diferença do grupo I em relação aos grupos III e IV, ou seja, os ratos do grupo I tiveram maior graduação pela classificação histológica de Kolbe³⁰ do que os grupos III e IV.

Notou-se também diferença do grupo II em relação aos grupos III e IV, já que os ratos do grupo II tiveram maior graduação pela classificação histológica de Kolbe³⁰ que os ratos dos grupos III e IV (GRÁF. 18, APÊNDICE A).

TABELA 17 - Comparação da graduação, pela classificação histológica de Kolbe, do testículo esquerdo entre grupos

Características	Grupos	Diferenças	Valor-p
Classificação histológica de Kolbe	I. 1,0 ± 0,0 (1,0)	III. 0,1 ± 0,3 (0,0)	I - III = 0,9
		IV. 0,0 ± 0,0 (0,0)	I - IV = 1,0
	II. 0,7 ± 0,5 (1,0)	III. 0,1 ± 0,3 (0,0)	II - III = 0,6
		IV. 0,0 ± 0,0 (0,0)	II - IV = 0,7

1: Teste Tukey (nível de significância = 0,05).

5.5.2.2 Espermatozoides no lúmen dos epidídimos entre os grupos

A comparação entre os grupos e a existência de espermatozoides no lúmen dos epidídimos do lado esquerdo está apresentada na TAB. 18. Constatou-se diferença significativa (valor-p \leq 0,05) para a redução e abundância dos espermatozoides intraluminais, ou seja, pelo menos dois grupos diferiram em relação a essas características (TAB. 31, APÊNDICE A).

Em relação à redução dos espermatozoides intraluminais, inferiu-se diferença do grupo I no tocante aos grupos III e IV. Os ratos do grupo I tiveram 27,3 vezes mais a chance de apresentar a redução do que o grupo III (IC_{95%}: 2,1 a 1740,1). Houve associação entre o grupo I e IV (valor-p \leq 0,05), mas devido à frequência nula ela não foi quantificada.

Quanto à abundância de espermatozoides intraluminais, constatou-se diferença do grupo I em relação aos grupos III e IV. Os ratos do grupo III tiveram 36 vezes a chance de apresentar abundância dos espermatozoides intraluminais que o grupo I (IC_{95%}: 2,0 a 1536,6). Houve associação entre o grupo I e IV, mas devido à frequência nula não foi possível quantificá-la.

Vale destacar que não foi possível a realização da comparação relacionada à ausência de espermatozoides intraluminais, porque não houve registros de casos sem espermatozoides no lúmen dos epidídimos do lado esquerdo nessa característica.

TABELA 18 - Comparação entre espermatozoides no lúmen dos epidídimos do lado esquerdo e os grupos

Características	Espermatozoides no lúmen dos epidídimos				Valor-p
	Sim		Não		
	n	%	n	%	
Redução dos espermatozoides					
Grupo I	8	80,0	2	20,0	<0,001¹
Grupo II	6	60,0	4	40,0	
Grupo III	1	10,0	9	90,0	
Grupo IV	0	0,0	9	100,0	
Abundância de espermatozoides					
Grupo I	2	20,0	8	80,0	<0,001¹
Grupo II	4	40,0	6	60,0	
Grupo III	9	90,0	1	10,0	
Grupo IV	9	100,0	0	0,0	

1: Teste Qui-Quadrado de Pearson.

5.5.2.3 Necrose testicular histológica entre os grupos

Não se encontrou necrose testicular à esquerda nos testículos examinados.

5.6 Comparações das características - parte III

5.6.1 Descrição das perdas de volume testicular

Calculou-se a redução percentual no volume testicular esquerdo pelo exame ultrassonográfico e no volume testicular direito pelo exame ultrassonográfico e pelo paquímetro para cada animal desse estudo experimental (TAB. 32, APÊNDICE A).

A perda do volume foi calculada da seguinte forma: $[(\text{final}-\text{inicial})/\text{inicial}] \times 100$, resultando na redução (em percentagem) do volume testicular. Vale destacar que os casos descritos como “sem perda” foram aqueles que tiveram percentagem positiva do volume testicular. Os casos inferiores a 10 são aqueles entre -9,9 e -0,01.

Por exemplo, o animal nº 1 do grupo I teve redução no volume testicular direito, quando avaliado pelo exame ultrassonográfico maior que 50%, mesmo resultado quando avaliado pelo paquímetro. E a redução no volume testicular esquerdo foi entre 30 e 50. Já o animal nº 9 do grupo IV não teve redução dos volumes testiculares direito e esquerdo, quando avaliado pelo exame ultrassonográfico. Não se registrou a informação sobre a classificação pelo paquímetro em relação aos ratos do grupo IV, porque o volume testicular inicial dos animais desse grupo não foi mensurado pelo paquímetro.

Na TAB. 19 apresentam-se os dados agrupados pela redução do volume testicular em relação ao inicial segundo o grupo (colunas), método de avaliação (exame ultrassonográfico ou paquímetro) nas linhas destacadas e percentual de redução também nas linhas.

Em relação à variação do volume testicular direito em relação ao inicial pelo exame ultrassonográfico, na linha identificada como “sem perda” aparecem quantos animais não tiveram redução do volume testicular. Não tiveram perda de volume testicular um animal do grupo II, um animal do grupo III e três animais do grupo IV.

Existe outro subgrupo no qual os animais foram identificados pela variação do volume testicular direito em relação ao inicial avaliado pelo paquímetro. A coluna do grupo IV está toda marcada com X, porque os animais desse grupo não tiveram o volume testicular inicial avaliado pelo paquímetro, portanto, não foram incluídos nesta análise. Na linha “sem perda” percebe-se que nenhum animal do grupo I e do grupo II apresentou essa classificação e que quatro animais do grupo III a apresentaram.

Houve diferença significativa entre os grupos na redução do volume testicular direito avaliado pelo exame ultrassonográfico e pelo paquímetro (valores-p iguais a 0,047 e 0,001, respectivamente). Entretanto, essa associação não pôde ser localizada e quantificada, devido ao alto número de caselas nulas. Visualmente, observam-se mais casos com menor redução na variação do volume testicular direito no grupo IV quando realizado o exame ultrassonográfico. Pelo paquímetro, têm-se mais casos sem perda no grupo III que nos demais.

Quando o volume testicular esquerdo foi avaliado pelo exame ultrassonográfico, não se constatou diferença significativa (valor-p = 0,427).

TABELA 19 - Descrição das perdas de volume testicular

Características	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV	Total	Valor-p
Variação do volume testicular direito pelo exame ultrassonográfico (%)						0,047¹
Sem perda	0	1	1	3	5	
< 10	0	0	0	2	2	
10 a 29,9	3	7	3	3	16	
30 a 50	4	2	2	1	9	
> 50	3	0	4	0	7	
Variação do volume testicular direito pelo paquímetro (%)						0,001¹
Sem perda	0	0	4	X	4	
< 10	1	0	1	X	2	
10 a 29,9	5	8	0	X	13	
30 a 50	1	2	3	X	6	
> 50	3	0	2	X	5	
Variação do volume testicular esquerdo pelo exame ultrassonográfico(%)						0,427 ¹
Sem perda	2	1	2	2	7	
< 10	1	2	5	2	10	
10 a 29,9	4	6	3	5	18	
30 a 50	3	1	0	0	4	

1: Teste Exato de Fisher.

Na TAB. 20 apresenta-se a concordância da redução percentual do volume do testículo direito em relação ao inicial nos 30 animais dos grupos I, II e III. Vale destacar que não houve casos com perda inferior a 10 para o exame ultrassonográfico. Desta forma, para que os cálculos pudessem ser realizados, foram agrupadas as categorias “sem perda” e “<10”.

Na primeira linha da tabela, identificada como sem perda, observou-se que dos dois animais (total da linha) sem perda na classificação feita pelo exame ultrassonográfico (identificação da primeira coluna), um foi classificado pelo paquímetro como sem perda ou redução inferior a 10% (segunda coluna) e um foi classificado como redução entre 10 e 29,9%.

O coeficiente Kappa foi calculado para avaliar a concordância entre o resultado obtido pelo paquímetro e pelo exame ultrassonográfico. O coeficiente igual a 0,292 indica concordância razoável e significativa (valor-p = 0,006) entre os tipos de exames.

TABELA 20 - Redução percentual do volume testicular direito pelo exame ultrassonográfico e pelo paquímetro, nos ratos dos grupos I, II e III

Características	Redução na classificação do paquímetro (%)				Total	Valor-p
	Sem perda ou < 10	10 a 29,9	30 a 50	> 50		
Redução na classificação pelo exame ultrassonográfico (%)						0,006
Sem perda ou < 10	1	1	0	0	2	
10 a 29,9	4	8	1	0	13	
30 a 50	1	4	2	1	8	
> 50	0	0	3	4	7	

Kappa = 0,292 (IC95%: 0,082 a 0,503).

O coeficiente de correlação de Pearson obtido entre a percentagem de redução do volume testicular direito avaliada pelo exame ultrassonográfico e pelo paquímetro apresentado na TAB. 21 foi igual a 0,696, com valor-p inferior a 0,001. Estes resultados indicam correlação positiva e significativa, ou seja, se a redução encontrada no exame ultrassonográfico for baixa, a redução obtida pelo paquímetro também tende a ser. Da mesma forma, se a redução encontrada no exame ultrassonográfico for alta, a redução obtida pelo paquímetro também o será.

TABELA 21 - Correlação entre a redução do volume testicular direito avaliada pelo exame ultrassonográfico e pelo paquímetro

Característica	Coefficiente	Valor-p
Redução em % nos dois exames	0,696	<0,001 ¹

1: Correlação de Pearson.

Na TAB. 22 descreveram-se os dados da variação do volume testicular em relação à medida inicial entre os grupos, na forma quantitativa.

Interpretando os resultados da variação do volume testicular direito em relação ao inicial avaliado pelo exame ultrassonográfico do grupo I, como exemplo, foi observada, em média, variação em relação ao volume inicial de -47,3%, desvio-padrão de 25% e mediana de -35%. O sinal negativo indica redução.

O valor-p de 0,001 indica associação entre a variação do volume testicular direito em relação ao inicial pelo exame ultrassonográfico e os grupos. Verificou-se que a redução na variação do volume testicular direito nos grupos I e III foi maior que no grupo IV (GRÁF. 19, APÊNDICE A).

Quando se consideraram os valores da variação do volume testicular esquerdo em relação ao inicial avaliado pelo exame ultrassonográfico e do volume testicular direito em relação ao inicial pelo paquímetro, não se obteve diferença com significância estatística entre os grupos.

A principal diferença entre as TAB. 19 e 22 é que naquela a variação do volume testicular foi avaliada na forma qualitativa e nesta foi analisada na forma quantitativa.

TABELA 22 - Comparação da variação do volume testicular em relação ao inicial entre os grupos

Características	Grupos	Diferenças	Valor-p
Variação do volume testicular direito pelo exame ultrassonográfico (%)	I. $-47,3 \pm 25,3$ (-35,0)	I - IV = -41,8	0,001²
	IV. $-5,5 \pm 15,3$ (-4,2)		
Variação do volume testicular esquerdo pelo exame ultrassonográfico (%)	III. $-41,0 \pm 30,3$ (-39,1)	III - IV = -35,5	0,007²
	I. $-18,2 \pm 21,0$ (-18,5)	-	-
Variação do volume testicular direito pelo paquímetro (%)	II. $-12,5 \pm 13,2$ (-12,2)	-	-
	III. $-2,6 \pm 15,4$ (-4,3)	-	-
	IV. $-9,7 \pm 11,2$ (-13,0)	-	-
	I. $-31,2 \pm 21,3$ (-26,6)	-	-
Variação do volume testicular direito pelo paquímetro (%)	II. $-24,5 \pm 10,0$ (-24,0)	-	-
	III. $-20,9 \pm 37,4$ (-25,5)	-	-
		-	-

2: Teste Tukey (nível de significância = 0,05)

5.6.2 Apresentação objetiva dos resultados estatísticos

Nesta seção sintetizaram-se os comentários feitos durante o trabalho. Vale ressaltar que foram comentados e destacados os resultados com significância estatística (valor-p \leq 0,05).

- **Sobre o volume testicular (direito e esquerdo) por paquímetro**

O grupo IV apresentou volume testicular final do lado direito maior que os grupos I, II e III e o volume final do testículo esquerdo do grupo I foi menor que dos grupos III e IV.

- **Sobre o volume testicular (direito e esquerdo) por exame ultrassonográfico**

O VTD final do grupo IV foi maior que dos grupos I e III; a variação do VTD do grupo I foi maior que dos grupos II e IV; o grupo III exibiu mais variação do VTD que o grupo IV; e a variação do VTD em relação à medida inicial do grupo IV foi menor que dos grupos I e III (menor diferença entre os momentos). Não houve diferença entre os grupos no que diz respeito a essas características avaliadas no lado esquerdo. Verificou-se que a variação do volume testicular do lado direito foi maior que do lado esquerdo para os grupos I e III, ou seja, para o lado direito observou-se maior diferença entre os dois momentos avaliados. Para os grupos II e IV não se detectou diferença significativa.

- **Sobre o volume testicular (direito, esquerdo, inicial, final e variação) avaliado por paquímetro e exame ultrassonográfico**

O volume testicular inicial do lado direito, a variação do volume testicular do lado direito, a variação do volume testicular em relação à medida inicial do lado direito e o volume final do testículo esquerdo foram maiores quando mensurados pelo exame ultrassonográfico do que pelo paquímetro.

- **Sobre o peso testicular (direito e esquerdo)**

O peso testicular final no lado direito foi maior nos ratos do grupo IV que nos demais grupos. O peso testicular final do lado esquerdo não diferiu.

- **Sobre as dimensões das regiões proximais e distais da parede do ducto deferente; avaliação dos testículos pela classificação**

histológica de Kolbe; quantidade de espermatozoides intraluminais no epidídimo e necrose testicular histológica do lado direito

Não se verificou diferença significativa nas dimensões das regiões proximais da parede do ducto deferente em relação ao diâmetro externo, luminal e espessura muscular no lado direito entre os grupos. Considerando-se as regiões distais, o diâmetro luminal no lado direito do grupo IV foi superior ao dos demais grupos. Já a espessura muscular no lado direito dos ratos do grupo I foi maior que do grupo IV. Constatou-se diferença na graduação dos testículos pela classificação histológica de Kolbe³⁰ do lado direito: o grupo I apresentou maior graduação em relação aos grupos II, III e IV; e o grupo IV apresentou menor graduação que os grupos II e III. Em relação à quantidade de espermatozoides intraluminais no epidídimo, o grupo IV manifestou menor frequência de redução de espermatozoides intraluminais e maior frequência de casos com abundância de espermatozoides intraluminais (lado direito). Constatou-se que houve associação entre a necrose testicular histológica do lado direito e os grupos, entretanto, devido às baixas frequências, não foi possível localizar a associação.

- **Sobre as dimensões das regiões proximais e distais da parede do ducto deferente; avaliação dos testículos pela classificação histológica de Kolbe; quantidade de espermatozoides intraluminais no epidídimo e necrose testicular histológica do lado esquerdo**

Considerando-se as regiões proximais do lado esquerdo, o diâmetro luminal dos ratos do grupo II foi menor que dos grupos I e IV. Já em relação às porções distais do lado esquerdo, os ratos do grupo I apresentaram mais altos valores para espessura muscular que os grupos II e IV. Não foi possível quantificar a associação. Constatou-se diferença na graduação dos testículos pela classificação histológica de Kolbe³⁰ no lado esquerdo: o grupo I apresentou maior graduação em relação aos grupos III e IV; e o grupo II apresentou maior graduação que os grupos III e IV. Em relação à quantidade de espermatozoides intraluminais no epidídimo, o grupo I teve 27,3 vezes mais a chance de redução dos espermatozoides intraluminais do lado esquerdo que o grupo III (IC_{95%}: 2,1 a 1740,1). Quanto à abundância de espermatozoides intraluminais, o grupo III teve

36 vezes mais a chance de apresentar abundância de espermatozoides intraluminais que os ratos do grupo I (IC_{95%}: 2,01 a 1536,6). Em ambos os casos houve associação entre os grupos I e IV, mas não foi possível quantificá-la devido à existência de caselas nulas.

- **Sobre as perdas do volume testicular**

Percebeu-se associação entre a redução do volume testicular avaliada na forma qualitativa do lado direito e os grupos. No exame ultrassonográfico têm-se mais casos com mais redução nos grupos I, II e III em relação ao IV; e no paquímetro, mais casos com mais redução nos grupos I e II em relação ao IV.

A concordância foi razoável (Kappa = 0,292) e significativa (valor-p = 0,006) entre a redução percentual testicular do paquímetro e do exame ultrassonográfico (forma qualitativa).

Houve correlação positiva e significativa (valor-p<0,001) entre a percentagem de redução avaliada pelo paquímetro e pelo exame ultrassonográfico (forma quantitativa).

6 DISCUSSÃO

6.1 Literatura

Em relação ao objeto proposto nesta pesquisa, foi possível encontrar na literatura três relevantes artigos, cujos autores foram: Lee *et al.* (2000)¹⁷, Ceylan *et al.* (2003)¹⁸ e Choi *et al.* (2009)¹⁹. Entretanto, somente Ceylan *et al.* (2003)¹⁸ mensuraram a força de tração aplicada no funículo espermático dos ratos *Wistar*.

No presente estudo experimental, também se mensurou a força de tração aplicada no funículo espermático dos ratos *Wistar* durante cinco minutos. Porém, diferentemente de Ceylan *et al.* (2003)¹⁸, aplicou-se a força de tração de 1,6 N e de 1 N no funículo espermático direito dos animais dos grupos I e II, respectivamente. E, ainda, foram agregadas outras variáveis. A medição do volume testicular foi efetuada antes e após a aplicação dessa força de tração, a fim de avaliar as alterações no volume desse órgão. A mensuração do volume testicular foi feita pelo exame ultrassonográfico e pelo paquímetro com uma fórmula que levou em consideração o formato desse órgão. A perda de volume testicular foi avaliada empregando-se o volume do mesmo testículo em momentos diferentes. O testículo contralateral (esquerdo) não foi manipulado, porque havia a expectativa de ocorrer lesão nesse órgão, ocasionada por dano testicular unilateral (direito). A mensuração das dimensões da parede do ducto deferente foi feita com base nas características topográficas e histológicas das quatro distintas regiões da parede desse órgão. E foram também averiguadas as lesões no epidídimo ocasionadas pelo estiramento no funículo espermático.

6.2 Modelo animal

Os ratos constituem modelo animal amplamente utilizado em experimentos envolvendo o funículo espermático e o testículo. Várias linhagens podem ser utilizadas, incluindo *Long-Evans*, *Sprague-Dawley* e *Wistar*. Empregaram-se neste estudo ratos da linhagem *Wistar*, devido aos seguintes motivos: a) são de pequeno porte, o que facilita a padronização, obtenção e manipulação em

laboratório; b) custo acessível; c) possuem volume testicular semelhante a modelo de animais de maior porte; d) há grande conhecimento de sua anatomia, fisiologia e embriologia^{38,39}. O rato serve como modelo para estudo de fenômenos relacionados ao ducto deferente de seres humanos⁴⁰.

6.3 Incisão cirúrgica

Diversas vias de acesso podem ser utilizadas para abordar o funículo espermático de ratos: laparotomia mediana⁴¹, incisão inguinal^{19,42}, inguinoescrotal¹⁵, supraescrotal^{18,40} e escrotal⁴³. Optou-se, neste estudo, pelo acesso supraescrotal direito, a fim de evitar-se a manipulação inadvertida do conteúdo escrotal no lado esquerdo, para reduzir a possibilidade de aderência do testículo na parede escrotal e para diminuir o edema, o processo inflamatório e a pressão intraescrotal no pós-operatório⁴⁴.

6.4 Mensuração e alteração do volume testicular

Para medir as dimensões e o volume testicular, podem ser utilizados vários instrumentos: régua, orquidômetro, paquímetro e o aparelho de ultrassonografia. Os principais fatores que podem influenciar a acurácia dessas medidas são: a inclusão de parte ou de todo o epidídimo, a variabilidade da espessura e da elasticidade da pele do escroto, a compressão do conteúdo escrotal e a experiência do examinador⁴⁵.

Considerando que existem várias fórmulas para mensurar o volume testicular, podem ocorrer alterações nesse valor, de acordo com a que for utilizada. Acredita-se que seja conveniente usar as três dimensões obtidas desse órgão para fazer o cálculo do volume^{23,40,45,46}.

Não há consenso sobre qual é a melhor fórmula que deve ser usada para calcular o volume testicular^{46,47}. O volume testicular tende a ser superestimado pela fórmula de Lambert e subestimado pelas fórmulas do elipsoide prolato e de Hansen^{46,48,49}.

O uso do paquímetro e do orquidômetro para mensurar o volume testicular pelo escroto é incorreto, porque inclui a pele, a tela subcutânea e pode incluir o epidídimo, superestimando o volume testicular^{45,46,50-52}. A mensuração do volume

testicular com o paquímetro pelo escroto pode superestimar o volume testicular em $69\pm 27\%$ ⁴⁵. Portanto, o uso desses instrumentos para medir as dimensões do testículo através do escroto somente se justificaria na prática clínica pelo baixo custo e principalmente quando a determinação absoluta do volume testicular não for necessária^{47,51,53}.

Todavia, é válido o uso do paquímetro para medir as dimensões testiculares no intraoperatório⁵⁴. O uso desse dispositivo requer exímia sensibilidade do examinador. Para mensurar as dimensões testiculares com o paquímetro, recomenda-se que esse órgão fique um pouco suspenso, porque até mesmo o repouso do testículo sobre a mesa operatória distorce o seu formato, ocasionando variações na mensuração⁴⁵. Stegani *et al.* (2008)⁵⁵ e Quintaes *et al.* (2013)⁵⁶ mediram as dimensões testiculares de ratos com paquímetro e utilizaram a fórmula do elipsoide prolato para mensurar o volume testicular desses animais.

Considerando que o testículo tem o formato de um elipsoide triaxial²¹, está justificado o uso da fórmula matemática para o cálculo do volume de um corpo sólido elipsoide triaxial. Portanto, neste trabalho escolheu-se introduzir essa fórmula para calcular o volume testicular dos ratos *Wistar*, utilizando-se as dimensões testiculares mensuradas pelo paquímetro. Essa fórmula consta nos registros do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia do Departamento de Comércio dos Estados Unidos²³ e já foi usada para calcular o volume testicular de equinos e seres humanos^{21,22,57}.

O exame ultrassonográfico do testículo foi introduzido em 1970⁵², sendo reconhecido como o método mais preciso para mensurar o volume testicular *in situ*^{45,46}. Trata-se de um exame não invasivo e que permite diagnosticar ampla variedade de afecções testiculares^{50,58}. A fórmula mais comumente utilizada para calcular o volume testicular é a do elipsoide prolato⁴⁵. Os aparelhos de ultrassonografia da linha Logic da *General Electric* (GE) adotam essa fórmula para fazer o cálculo do volume.

Quando se mensuram as dimensões testiculares, é preciso saber que a confiabilidade das medidas demonstra sua consistência obtida por um instrumento ou por um examinador nas mesmas condições de avaliação. A confiabilidade intraexaminador é a consistência das medidas realizadas por um único examinador nas mesmas condições de avaliação em dois momentos diferentes. Isso minimiza a possibilidade de variações no cálculo do volume. A

confiabilidade interexaminador vincula-se à consistência das medidas realizadas por examinadores diferentes. Pode-se encontrar erro de aproximadamente 16% na medição do tamanho testicular feita por múltiplos examinadores com o uso do orquidômetro de Prader⁵⁹.

Nesta pesquisa houve concordância razoável e correlação positiva, que foram significantes em relação à redução percentual do volume testicular direito pelo exame ultrassonográfico e pelo paquímetro nos ratos dos grupos I, II e III. Evidenciou-se redução do volume testicular final nos grupos em que houve manipulação e aplicação da força de tração no funículo espermático, tendo isso sido também relatado por outros autores^{17,19}.

6.5 Ducto deferente: aspectos anatômicos e histológicos

Quando se usa o ducto deferente do rato como modelo para estudo de fenômenos relacionados ao ducto deferente de seres humanos, é fundamental que se tenha conhecimento das peculiaridades anatômicas e histológicas desse órgão.

O ducto deferente do rato adulto tem 4,5 a 6 cm de comprimento, originando-se proximalmente no término da cauda do epidídimo no escroto e terminando distalmente no ducto ejaculatório na pelve. Trata-se de um tubo muscular que possui três camadas de musculatura lisa dispostas da seguinte forma: a camada média é circular e as camadas externa e interna são longitudinais^{31,60,61}. O ducto deferente contrai-se unidirecionalmente durante a ejaculação, lançando o líquido seminal no ducto ejaculatório. Essa atividade contrátil é bifásica nos roedores e mediada pelo sistema nervoso autônomo⁶². O ducto deferente de ratos está suspenso por um mesentério que mantém continuidade com o epidídimo. No ducto deferente, podem-se distinguir as seguintes regiões: proximal, juncional, distal e terminal, que possuem características histológicas diferentes, como se segue:

Na região proximal, o ducto deferente possui musculatura delgada que permite a visualização intraluminal do seu conteúdo esbranquiçado. Em decorrência disso, o ducto deferente nessa localização é mais estreito quando comparado ao ducto deferente da região distal. A topologia do lúmen nessa região é de um cilindro afunilado, por conseguinte, o diâmetro luminal é grande,

diminuindo progressivamente da região proximal em direção à região distal do ducto deferente. O epitélio colunar é baixo e a lâmina própria é estreita, dispondo de pouca vascularização. Essa notável redução luminal é decorrente do aumento progressivo da altura da célula epitelial ao longo do ducto deferente e das variações nos diâmetros epitelial e da lâmina própria, que estão aumentados no segmento distal e diminuídos no segmento proximal dessa estrutura.

Na região juncional localizada entre as regiões proximal e distal do ducto deferente, o epitélio tem aspecto ameado, lembrando os pequenos parapeitos denteados que guarnecem o alto das torres, fortificações ou castelos e que protegem os atiradores. Esse sinal é o início da formação das dobras de mucosa, característico da região distal desse órgão.

Na região distal, a musculatura do ducto deferente é espessada, o que não permite a visibilização do seu conteúdo intraluminal. O epitélio colunar é alto, com dobras de mucosa e a lâmina própria é espessada. No animal vivo, a região distal é cor-de-rosa, devido à maior vascularização quando comparada com a região proximal. Por conseguinte, ocorre grande mudança na geometria do lúmen, que exibe uma forma estrelada. Não se sabe se o lúmen do ducto deferente aumenta durante a ejaculação.

Na região terminal do ducto deferente, antes da sua confluência com o ducto da glândula seminal para formar o ducto ejaculatório, o típico epitélio da região distal é substituído por um epitélio simples contendo ninhos de células que fagocitam espermatozoides. Não é reconhecida uma óbvia região ampolar no ducto deferente³¹.

O conhecimento das características histológicas das quatro distintas regiões da parede do ducto deferente do rato *Wistar* ajuda na mensuração e na comparação das dimensões desse órgão.

Nos seres humanos, as variações regionais do ducto deferente são diferentes daquelas relatadas no rato. Foi observada em seres humanos progressiva diminuição no desenvolvimento epitelial e muscular ao longo da extensão do ducto deferente. Isso provavelmente significa que as regiões proximal e média desse órgão nos seres humanos podem ser consideradas similares às porções média e distal dessa estrutura nos ratos. Os seres humanos não possuem segmento equivalente à região proximal dos ratos⁶³.

6.6 Etiologia das lesões encontradas no testículo, no ducto deferente e no epidídimo dos ratos

A causa da lesão testicular e do ducto deferente está provavelmente relacionada ao comprometimento vascular. Foi demonstrado experimentalmente que a mobilização do ducto deferente com dissecação da artéria do ducto deferente em ratos resultou em significativa redução da fertilidade e da fecundidade e ainda provocou alterações histológicas no testículo e no epidídimo. Isso provavelmente aconteceu em decorrência da denervação simpática do ducto deferente, com consequente perda da motilidade e obstrução funcional desse órgão ou possivelmente devido à alteração na função testicular. A aplicabilidade clínica dessa teoria está relacionada ao fato de que na orquiopexia, em seres humanos, pode ser necessária extensa mobilização do ducto deferente com lesão da artéria do ducto deferente⁶⁴.

Em outro experimento evidenciou-se que a ablação do plexo mesentérico inferior, em ratos, resultou no aumento do número de espermatozoides no epidídimo, sem aumento no número de espermatozoides presentes no ducto deferente. Acredita-se que a contratilidade peristáltica é o principal mecanismo de movimentação dos espermatozoides do epidídimo para o ducto deferente. O epidídimo é inervado pelo plexo mesentérico inferior, enquanto a inervação autonômica do ducto deferente é feita pelos nervos espermáticos inferiores. A obstrução funcional do ducto deferente pode ser responsável pelo aumento do número de espermatozoides no epidídimo, realçando o papel do sistema nervoso autônomo no transporte de espermatozoides no aparelho reprodutor masculino. O número de espermatozoides no epidídimo pode ser influenciado por: modificações na função testicular, alterações no fluxo sanguíneo e na temperatura do epidídimo, perda do tônus simpático tubular e obstrução no trânsito dos espermatozoides⁶⁵.

6.7 Graduação histológica utilizada para examinar e classificar os testículos

Neste estudo, os testículos foram examinados e classificados pela classificação histológica de Kolbe que está alicerçada na avaliação do túbulo seminífero e nas alterações do epitélio germinativo testicular³⁰. A classificação

histológica de Kolbe³⁰ fornece um indicador sensível de isquemia, porque foi elaborada com fundamentação nas modificações histológicas que ocorreram no testículo de ratos após oclusão temporária e permanente da artéria testicular, conforme relatado por Oettlé e Harrison (1952)⁶⁶. Quintaes *et al.* (2013)⁵⁶ utilizaram essa classificação histológica para examinar testículos de ratos submetidos à fasciotomia descompressiva após torção testicular. A classificação histológica de Johnsen⁶⁷ também tem sido utilizada para avaliar testículos de ratos^{17,19,55,68}. Todavia, essa classificação histológica foi idealizada inicialmente para registrar a espermatogênese em testículos de seres humanos, permitindo fazer a correlação entre as doenças endocrinológicas e o comprometimento da função testicular⁶⁷.

6.8 Lesão dos órgãos contralaterais

Em relação às lesões dos órgãos contralaterais, neste experimento verificou-se que os ratos exibiram lesões histopatológicas testiculares progressivas na avaliação dos testículos esquerdos pela classificação histológica de Kolbe³⁰. Quando se observou a redução de espermatozoides intraluminais nos epidídimos esquerdos, houve redução nos grupos I, II e III. O volume testicular esquerdo final dos ratos do grupo I mensurado pelo paquímetro foi menor que os grupos III e IV. Portanto, ocorreu lesão contralateral nos órgãos dos animais pertencentes aos grupos em que foi aplicada força de tração no funículo espermático direito (grupos I e II) e no grupo em que houve manipulação do funículo espermático direito (grupo III). Choi *et al.* (2009)¹⁹ encontraram no lado esquerdo aumento da média do diâmetro dos túbulos seminíferos, redução do número de células de Sertoli e redução no volume testicular. Ceylan *et al.* (2003)¹⁸ não encontraram alterações anatomopatológicas no testículo e no ducto deferente esquerdos.

Um dos aspectos mais controversos é a lesão do testículo contralateral ocasionada por dano testicular unilateral. A exata etiologia dessa lesão ainda não está esclarecida. A regulação neurovascular do fluxo sanguíneo para os testículos e a possibilidade de lesão por reperfusão após comprometimento vascular contralateral são algumas das teorias que tentam explicar esse fato. A vasomotricidade da microcirculação do rato é caracterizada por um padrão rítmico

de dilatação e constrição arteriolar. Acredita-se que essa vasomotricidade esteja envolvida na regulação da oferta de nutrientes e troca de fluidos dentro do testículo. Na torção de testículo, a amplitude da vasomotricidade aumenta aproximadamente 120% na microcirculação testicular contralateral. Essa reação fisiológica adaptativa restringe os efeitos deletérios da diminuição do fluxo total nesse testículo, porque diminui a resistência vascular^{18,19,44,69-80}.

Demonstrou-se em experimentos de torção testicular em ratos que o fluxo sanguíneo diminui 43% na artéria espermática interna contralateral e 73% na artéria espermática interna homolateral. Essas alterações na microcirculação do testículo contralateral constituem uma resposta adaptativa para manter o fluxo local e preservar a função testicular quando ocorre diminuição do fluxo total. No entanto, obteve-se aumento significativamente maior no fluxo sanguíneo bilateral após a distorção testicular em porcos. E essas modificações no fluxo sanguíneo estão correlacionadas com anormalidades anatomopatológicas^{70,80}. Outra teoria aventada é que o possível dano contralateral é de causa imunológica. No entanto, parece que a autoimunização em seres humanos é causa improvável, pelo menos a longo prazo, de lesão testicular contralateral⁶⁹.

6.9 Necrose testicular histológica

Evidenciou-se, nesse experimento, necrose testicular do lado direito, principalmente nos ratos do grupo em que foi aplicada a maior força de tração no funículo espermático. No grupo III (*sham*), ocorreu necrose testicular do lado direito, porém foi focal e esparsa. Ceylan *et al.* (2003)¹⁸ também relataram ter ocorrido necrose testicular do lado direito nos ratos dos grupos em que foi aplicada força de tração no funículo espermático direito. Choi *et al.* (2009)¹⁹ não constataram necrose testicular nos ratos. A necrose testicular está provavelmente relacionada ao comprometimento vascular, em decorrência da aplicação da força de tração e da manipulação do funículo espermático^{17,55}.

6.10 Peso testicular

Em relação ao peso testicular final do lado direito, nesta pesquisa houve diferença do grupo IV (controle) em relação aos grupos I, II e III, uma vez que o

grupo IV apresentou peso testicular maior que os demais grupos. O peso testicular final do lado esquerdo não diferiu entre os grupos. Ceylan *et al.* (2003)¹⁸ relataram que a média do peso testicular direito nos grupos I e II foi menor quando comparada aos grupos III (*sham*) e IV (controle). E, ainda, que não houve diferença no peso testicular esquerdo entre os grupos. Choi *et al.* (2009)¹⁹ não descreveram diferença entre os pesos testiculares. Portanto, houve redução do peso testicular final do lado direito em relação ao grupo-controle, principalmente daqueles grupos em que foi aplicada força de tração no funículo espermático direito.

6.11 Lesões anatomopatológicas no ducto deferente

Neste estudo experimental não foi evidenciada redução da espessura da camada muscular, processo inflamatório, ruptura, nem dano na mucosa do ducto deferente.

Ceylan *et al.* (2003)¹⁸ relataram diminuição do espessamento muscular na parede do ducto deferente no grupo em que foi aplicada a maior força de tração no funículo espermático direito. Esses autores alegaram que o aumento um pouco maior no diâmetro luminal do ducto deferente nos animais desse grupo poderia ser resultado de significativa diminuição da espessura muscular da parede desse órgão. Mencionaram que a redução da espessura da parede muscular do ducto deferente dos ratos desse grupo foi encontrada nas mensurações feitas em cortes obtidos do ducto deferente a 2 cm distal ao epidídimo.

A diminuição da espessura muscular e o aumento do diâmetro luminal na parede do ducto deferente, relatados por Ceylan *et al.* (2003)¹⁸, merecem algumas considerações.

Primeiramente, não houve menção na parte textual desse artigo às diferenças histológicas entre as quatro distintas regiões da parede do ducto deferente, portanto, provavelmente não foram utilizadas como parâmetro metodológico.

Considerando o comprimento do ducto deferente de ratos, que varia de 4,5 a 6 cm, e as alterações que ocorrem na estrutura desse órgão ao longo de sua extensão, o corte feito pelo médico anatomopatologista no ducto deferente, durante a avaliação macroscópica, obrigatoriamente não especifica se se

encontra no estudo em tela padrão histológico de uma ou mais regiões dessa estrutura.

Além disso, a dimensão do lúmen não está concatenada com significativa diminuição da espessura da parede muscular, conforme sugerido por esses autores. A diminuição progressiva do diâmetro do lúmen da região proximal para a região distal do ducto deferente é decorrente do aumento progressivo da altura da célula epitelial ao longo do ducto deferente e das alterações nos diâmetros epitelial e da lâmina própria que, somados, estão aumentados no segmento distal e diminuídos no segmento proximal dessa estrutura (FIG. 24 e 25, APÊNDICE A). O diâmetro luminal na parede do ducto deferente é maior na região proximal e menor na região distal³¹.

Ceylan *et al.* (2003)¹⁸ relataram que os ratos do grupo em que foi aplicada a maior força de tração no funículo espermático direito possuíam o diâmetro luminal um pouco maior e a espessura muscular menor quando foi comparado com os outros grupos. Isso sugere que talvez os níveis de corte do ducto deferente nas lâminas histológicas examinadas possuíssem características histológicas de diferentes regiões da parede desse órgão.

Por fim, em relação à suposta redução de espessura muscular, há na literatura informação de que no segundo centímetro proximal do ducto deferente já existe espessamento da musculatura da parede desse órgão⁶¹. Portanto, é muito provável que os níveis do corte do ducto deferente examinados nas lâminas histológicas por esses autores possuíssem características histológicas, das regiões proximal e juncional do ducto deferente. Nessa área, provavelmente foram encontrados ductos deferentes com lúmen um pouco maior, com algumas ameias e musculatura espessada, mesclados com ductos deferentes com diâmetro luminal grande e musculatura delgada.

Em experimento sobre os efeitos causados no ducto deferente de ratos pós-púberes, após dano previamente provocado nesse órgão em ratos pré-púberes, foram descritas variações no diâmetro e na estrutura do ducto deferente ao longo de sua extensão. No entanto, os autores desse experimento explicitaram que parte das suas mensurações não foram significantes, em decorrência do pequeno tamanho da amostra⁴⁰.

6.12 Considerações finais

As evidências desta pesquisa trazem um alerta para que o cirurgião, ao fazer o tratamento de afecções na região inguinoescrotal, principalmente em crianças de tenra idade, utilize instrumental cirúrgico apropriado e faça o manuseio delicado e cuidadoso do funículo espermático, do testículo e do epidídimo, a fim de evitar dano nessas estruturas.

Baseado no modelo experimental proposto neste estudo, outras investigações podem ser realizadas. Pode-se efetuar a tração bilateral no funículo espermático de ratos *Wistar* e avaliar o comprometimento da fertilidade dos animais, gerando novos projetos de pesquisa.

7 CONCLUSÕES

Baseado nos resultados obtidos nesta pesquisa, pôde-se concluir que a tração no funículo espermático de ratos causou os seguintes efeitos:

- a) No testículo evidenciou-se redução do número de células de Sertoli, necrose e redução das células germinativas nos túbulos seminíferos.
- b) Houve diminuição do volume testicular final.
- c) Houve concordância razoável e correlação positiva, ambas significantes em relação à redução percentual do volume testicular direito, pelo exame ultrassonográfico e pelo paquímetro.
- d) Houve diminuição do peso testicular final no lado direito.
- e) No epidídimo houve redução do número de espermatozoides.
- f) No ducto deferente não foram evidenciados redução da espessura da camada muscular, processo inflamatório, ruptura nem dano na mucosa.

REFERÊNCIAS

1. Moore KL, Dalley AF, Agur AMR. (editors). *Abdome: anatomia orientada para a clínica*. 6. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2010. Cap. 2, p. 181-323.
2. Tubino P, Alves E. (editores). *Anomalias da posição testicular. Pediatria cirúrgica: diagnóstico e tratamento*. Brasília: Universidade de Brasília; 2003. Cap. 4, p. 93-121.
3. Souza JCK. Hérnia inguinal. *In: Souza JCK, Salle JLP. (organizadores). Cirurgia Pediátrica: teoria e prática*. 1. ed. São Paulo: Roca; 2007. Cap. 59, p. 321-329.
4. Besner GE. Testicular problems and varicoceles. *In: Glick PL, Pearl RH, Irish MS, Caty MG. (editors). Pediatric surgery secrets*. Philadelphia Hanley & Belfus; 2001. Cap. 52, p. 209-213.
5. Bica DTG, Braz MP. Criptorquidia. *In: Macedo Júnior A, Lima SVC, Streit D, Barroso Júnior U. (editores). Urologia pediátrica*. 2. ed. São Paulo: Roca; 2004. Cap. 18, p. 227-236.
6. Pryor JL, Mills ST, Howards SS. Injury to the pre-pubertal vas deferens. I. Histological analysis of pre-pubertal human vas. *J Urol*. 1991; 146:473-476.
7. Lanna JCBD, Lanna Sobrinho JMD. Distopias testiculares. *In: Maksoud JG. (editor). Cirurgia pediátrica*. 2. ed., Rio de Janeiro: Revinter; 2003. Cap. 61, p. 717-733.
8. Gapany C, Frey P, Cahat FG, Jichlinski P, Meyrat BJ, Ramseyer P, *et al.* Management of cryptorchidism in children: guidelines. *Swiss Med Wkly*. 2008; 17(5):492-498.
9. Snodgrass WT. Undescended Testes. *In: Snodgrass WT. (editor). Pediatric Urology: Evidence for Optimal Patient Management*. 1. ed., New York: Springer; 2013. Cap. 5, p. 67-80.
10. Hutson JM, Balic A, Nation T, Southwell B. Cryptorchidism. *Semin Pediatr Surg*. 2010; 19(3):215-224.
11. Rowe IM, O'Neill Jr JA, Grosfeld JL, Fonkalsrud EW, Coran AG. (editors). *Inguinal and scrotal disorders. Essentials of pediatric surgery*. St. Louis: Mosby Year Book; 1995. Cap. 49, p. 446-461.
12. Chan PTK, De Souza JCK. Criptorquidia. *In: De Souza JCK, Salle JLP. (organizadores). Cirurgia pediátrica: teoria e prática*. 1. ed. São Paulo: Roca; 2007. Cap. 113, p. 576-582.
13. Sheynkin YR, Hendin BN, Schlegel PN, Goldstein M. Microsurgical repair of iatrogenic injury to the vas deferens. *J Urol*. 1998; 159:139-141.

14. Partrick DA, Bensard DD, Karrer FM, Ruyle SZ. Is routine pathological evaluation of pediatric hernias sacs justified? *J Pediatr Surg.* 1998; 33(7):1090-1094.
15. Janik JS, Shandling B. The vulnerability of the vas deferens (II): the case against routine bilateral inguinal exploration. *J Pediatr Surg.* 1982; 17(5):585-588.
16. Abasiyanik A, Guvenç H, Yavuzer D, Peker O, Ince U. The effect of iatrogenic vas deferens injury on fertility in an experimental rat model. *J Ped Surg.* 1997; 32(8):1144-1146.
17. Lee SL, DuBois JJ, Rishi M. Testicular damage after surgical groin exploration for elective herniorrhaphy. *J Pediatr Surg.* 2000; 35(2):327-330.
18. Ceylan H, Karakok M, Guldur E, Cengiz B, Bagci C, Mir E. Temporary stretch of the testicular pedicle may damage the vas deferens and the testis. *J Pediatr Surg.* 2003; 38(10):1530-1533.
19. Choi SE, Kook MC, Kim CH, Lee SC, Park KW, Junk SE, *et al.* Effects of compression/stretching of the spermatic cord and blunt dissection on testicular growth and fertility. *J Pediatr Surg.* 2009; 44:2163-2167.
20. CIDEPE. Dinamômetro tubular com fixação magnética, EQ007.2NM, CIDEPE®. Disponível em: <http://www.cidepe.com.br/>.
21. Nistal M, Paniagua R, Queizán A. Histologic lesions in undescended ectopic testes. *Ferti Steril.* 1985; 43(3):455-462.
22. Love CC, Garcia MC, Riera FR, Kenney RM. Evaluation of measures taken by ultrasonography and caliper to estimate testicular volume and predict daily sperm output in the stallion. *J Reprod Fert.* 1991; 44:99-105.
23. Carlson BC. Elliptic integrals. *In:* Olver FWJ, Lozier DW, Boisvert RF, Clark CW. (editors). *NIST Handbook of Mathematical Functions.* 1. ed., New York: Cambridge University Press; 2010. Cap. 19, p. 485-522.
24. Tolosa EMC, Rodrigues CJ, Behmer OA, Freitas Neto AG. (editores). *Manual de técnicas para histologia normal e patológica.* 2. ed. São Paulo: Manole; 2003.
25. Grizzle WE, Fredenburgh JL, Myers RB. Fixation of Tissues. *In:* Bancroft JD, Gamble M. (editors). *Theory and practice of histological techniques.* 6. ed., Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier; 2008. Cap. 4, p. 53-74.
26. Gatta LB, Cadei M, Balzarini P, Castriciano S, Paroni R, Verzeletti A, *et al.* Application of alternative fixatives to formalin in diagnostic pathology. *Eur J Histochemistry.* 2012; 56(e12):63-70.
27. Buesa RJ. Histology without formalin? *Ann Diagnostic Pathol.* 2008; 12:387-396.

28. Antonio CR, Tímpano DL, Garcia AG. Biópsia. Rev Bras Med. 2010; 67:22-32.
29. Maia V. Técnica de microscopia: técnica histológica. São Paulo: Atheneu; 1979. Cap. 3, p. 37-69.
30. Kolbe A, Chen-Chih JS, Hill L. Unpredictability of capsulotomy in testicular torsion. J Ped Surg. 1987; 22(12):1105-1109.
31. Hamilton DW, Cooper TG. Gross and histological variations along the length of the rat vas deferens. Anat Rec. 1978; 190:795-810.
32. Dean AG, Dean JA, Coulombier D, Brendel KA, Smith DC, Burton AH, *et al.* Epi Info, Version 6.04a: a word processing database, and statistics program for public health on IBM-compatible microcomputers. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention; 1996.
33. R Development Core Team. 2008. R: A language and environment for statistical computing. Version 2.7.1. User's guide and application published. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>.
34. Triola, MF. Introdução à estatística. 9. ed. Rio de Janeiro: LTC – Livros Técnicos e Científicos; 2005. Cap. 2, p. 52-54.
35. Koch GG, Landis JR. The measurement of observer agreement for categorical data. Biometrics. 1977; 33(1):159-174.
36. Roy S, Hooda S, Parwani AV. Idiopathic granulomatous orchitis. Pathol Res Pract. 2011; 207:275-278.
37. Jesus LE, Rocha KLM, Caldas MLR, Fonseca E. Granulomatous orchitis in a pre-pubertal school-aged child: Differential diagnosis dilemmas. J Pediatr Urol. 2012: 51-54.
38. Lima JRR, Martins JL. Avaliação macro e microscópica dos testículos em modelo experimental de criptorquidia pela secção do *gubernaculum testis* em ratos. Rev Col Bras Cir. 2003; 30(2):114-121.
39. Romero FR, Gomes RPX, Lorenzini F, Erdmann TR, Tambara Filho R. Necrose e atrofia do testículo ipsilateral após torção de 1080 graus do cordão espermático em ratos. Acta Cir Bras. 2009; 24(2):118-123.
40. Benge BN, Jordan GH. Prepubertal vasal injury: its effect on postpubertal vas deferens. J Urol. 1993; 149:906-909.
41. Flickinger CJ, Herr JC, Baran ML, Howards SS. Testicular development and formation of spermatic granulomas of the epididymis after obstruction of the vas deferens in immature rats. J Urol. 1995; 154:1539-1544.

42. Chehval MJ, Martin SA, Alexander NJ, Winkelmann T. The effect of unilateral injury to the vas deferens on the contralateral testis in immature and adult rats. *J Urol.* 1995; 153:1313-1315.
43. Consentino MJ, Nishida M, Rabinowitz R, Cockett ATK. Histopathology of prepubertal rat testes subjected to various durations of spermatic cord torsion. *J Androl.* 1986; 7:23-31.
44. Turner TT. On unilateral testicular and epididymal torsion: no effect on the contralateral testis. *J Urol.* 1987; 138:1285-1290.
45. Gouletsou PG, Galatos AD, Leontides LS. Comparison between ultrasonographic and caliper measurements of testicular volume in the dog. *Animal Reprod Sci.* 2008; 108:1-12.
46. Chih-Chieh L, Huang WJS, Kuang-Kuo C. Measurement of testicular volume in smaller testes: how accurate is the conventional orchidometer? *J Androl.* 2009; 30(6):685-689.
47. Sakamoto H, Saito K, Oohta M, Inoue K, Ogawa Y, Yoshida H. Testicular volume measurement: comparison of ultrasonography, orchidometry and water displacement. *Urology.* 2007; 69(1):152-157.
48. Taskinen S, Taavitsainen M, Wikstrom S. Measurement of testicular volume: comparison of 3 different methods. *J Urol.* 1996; 155:930-933.
49. Diamond DA, Paltiel HJ, DiCanzio J, Zurakowski D, Bauer SB, Atala A, *et al.* Comparative assessment of pediatric testicular volume: orchidometer versus ultrasound. *J Urol.* 2000; 164:1111-1114.
50. Fuse H, Takahara M, Ishii H, Sumiya H, Shimazaki J. Measurement of testicular volume by ultrasonography. *Int J Androl.* 1990; 13:267-272.
51. Shiraishi K, Takihara H, Kamiryo Y, Naito K. Usefulness and limitation of punched-out orchidometer in testicular volume measurement. *Asian J Androl.* 2005; 7(1):77-80.
52. Behre HM, Naschan D, Nieschlag E. Objective measurement of testicular volume by ultrasonography: evaluation of the technique and comparison with orchidometer estimates. *Int J Androl.* 1989; 12:395-403.
53. Sakamoto H, Yajima T, Nagata M, Okumura T, Suzuki K, Ogawa Y. Relationship between testicular size by ultrasonography and testicular function: measurement of testicular length, width and depth in patients with infertility. *Int J Urol.* 2008; 15:529-533.
54. Ariturk E, Ozates M. Measurement of testicular volume by ultrasonography. *Turk J Pediatr.* 1993; 177-180.

55. Stegani MM, Agulham MA, Ioshii SO. Testicular morphological damage in young rats after inguinoscrotomy with vascular trauma. *J Pediatr Surg.* 2008; 43(9):1705-1710.
56. Quintaes IPP, Tatsuo ES, Paulo DNS, Musso C, Boasquevisque PCR. Decompressive fasciotomy in testicular torsion of the spermatic cord in rats. *Acta Cir. Bras.* 2013; 28(6):413-429.
57. Rosito NC, Koff WJ, Oliveira TLS, Cerski CT, Salle JLP. Volumetric and histological findings in intra-abdominal testes before and after division of spermatic vessels. *J Urol.* 2004; 171:2430-2433.
58. Abdel-Razek AK, Ali A. Developmental changes of bull (*Bos taurus*) genitalia as evaluated by caliper and ultrasonography. *Reprod Dom Anim.* 2005; 40:23-27.
59. Carlsen E, Anne-Grethe A, Buchreitz L, Jorgensen N, Magnus O, Matulevicius V, *et al.* Inter-observer variation in the results of the clinical andrological examination including estimation of testicular size. *Int J Androl.* 2000; 23:248-253.
60. Shandling B, Janik JS. The vulnerability of the vas deferens. *J Ped Surg.* 1981; 16(4):461-464.
61. Kennedy SW, Heidger Jr. PM. Fine structural studies of the rat vas deferens. *Anat Rec.* 1979; 194:159-180.
62. Pampal A, Ozen IO, Ekingen G, Demirogullari B, Helvacioğlu F, Take G. The morphological evaluation of ipsilateral and contralateral vasa deferentia in a rat model of unilateral spermatic cord torsion. *Pediatr Surg Int.* 2010; 26:287-292.
63. Paniagua R, Regadera J, Nistal M, Abaurrea MA. Histological, histochemical and ultrastructural variations along the length of human vas deferens before and after puberty. *Acta Anat.* 1981; 111:190-203.
64. Smith EM, Beverly BD, Elder JS. Influence of vas deferens mobilization on rat fertility: implications regarding orchiopexy. *J Urol.* 1993; 150:663-666.
65. Billups KL, Tillman S, Chang TSK. Ablation of the inferior mesenteric plexus in rat: alteration of sperm storage in the epididymis and vas deferens. *J Urol.* 1990; 143:625-629.
66. Oettlé AG, Harrison RG. The histological changes produced in the rat testis by temporary and permanent occlusion of the testicular artery. *J Pathol Bact.* 1952; 64:273-297.
67. Johnsen SG. Testicular biopsy score count - a method for registration of spermatogenesis in human testis: normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormones, Athens,* 1970; 1(1):2-25.

68. Lorenzini F, Tambara Filho R, Gomes RPX, Martino-Andrade AJ, Erdmann TR, Matinas JEF. Long-term effects of the testicular torsion on the spermatogenesis of the contralateral testis and the preventive value of the twisted testis orchiepididymectomy. *Acta Cir. Bras.* 2012; 27(6):388-395.
69. Jesus LE. Escroto agudo. *Rev Col Bras Cirurgiões.* 2000; 27(4):271-278.
70. Nguyen L, Lievano G, Ghosh L, Radhakrishnan J, Fornell L, John E. Effect of unilateral testicular torsion on blood flow and histology of contralateral testes. *J Pediatr Surg.* 1999; 34(5):680-683.
71. Hadziselimovic F, Geneto R, Emmons LR. Increased apoptosis in the contralateral testis in patients with testicular torsion. *The Lancet.* 1997; 350:118.
72. Tanyel FC, Buyukpamukçu N, Hiçsonmez A. Contralateral testicular blood flow during unilateral testicular torsion. *Br J Urol.* 1989; 63:522-524.
73. Barkley C, York JP, Badalament RA, Nesbitt JA, Smith JJ, Drago JR. Testicular torsion and its effects on contralateral testicle. *Urology.* 1993; 4(2):192-194.
74. York JP, Drago JR. Torsion and the contralateral testicle. *J Urol.* 1985; 133:294-297.
75. Nagler HM, deVere White R. The effect of testicular torsion on the contralateral testis. *J Urol.* 1982; 128:1343-1348.
76. Consentino MJ, Nishida M, Rabinowitz R, Cockett ATK. Histological changes occurring in the contralateral testes of prepubertal rats subjected to various durations of unilateral spermatic cord torsion. *J Urol.* 1985; 133:906-911.
77. Andiran F, Okur DH, Kiliç A, Gedikoglu G, Kiliç K, Tanyel FC. Do experimentally induced ipsilateral testicular torsion, vas deferens obstruction, intra-abdominal testis or venous obstruction damage the contralateral testis through a common mechanism? *BJU Int.* 2000; 85:330-335.
78. Tanyel FC, Ayhan A, Buyukpamukçu N, Hiçsonmez A. Subsequent testicular histology: fertility and fecundity of rats subjected to unilateral incarcerated inguinal hernia during the prepubertal period. *J Pediatr Surg.* 1991; 26(2):204-206.
79. Anderson JB, Williamson RCN. Fertility after torsion of the spermatic cord. *Br J Urol.* 1990; 65:225-230.
80. Kolettis PN, Stowe NT, Inman SR, Thomas Jr. AJ. Acute spermatic cord torsion alters the microcirculation of the contralateral testis. *J Urol.* 1996; 155:350-354.

ANEXOS E APÊNDICE

ANEXO A - Certificado de Aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais da UFMG



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)**

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 86 / 2012, relativo ao projeto intitulado “Efeitos da Tração no Funículo Espermático de Ratos”, que tem como responsável Edson Samesima Tatsuo, está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFMG), tendo sido aprovado na reunião de 07/05/2012. Este certificado expira-se em 07/05/2017.

CERTIFICATE

We hereby certify that the Protocol nº 86 / 2012, related to the Project entitled “Effects of Traction of the Spermatic Cord in Rats”, under the supervision of Edson Samesima Tatsuo, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the Ethics Committee in Animal Experimentation (CEUA/UFMG), and was approved in 07/05/2012. This certificate expires in 07/05/2017.


Marcelo Resende de Souza
Coordenador do CEUA/UFMG
Belo Horizonte, 07/05/2012

Atenciosamente,

Sistema CEUA-UFMG
<http://www.ufmg.br/bioetica/cetea/ceua/>

Universidade Federal de Minas Gerais
Avenida Antônio Carlos, 6.627, Campus Pampulha,
Unidade Administrativa II, 2º andar, sala 2005, CEP 31270-901, Belo
Horizonte, MG, Brasil. Telefone: (31) 3499-4516, Fax: (31) 3499-4592
www.ufmg.br/bioetica/cetea - cetea@prpq.ufmg.br

ANEXO B - Certificado de Aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais da EMESCAM




EMESCAM
Tradição e Conhecimento em Saúde

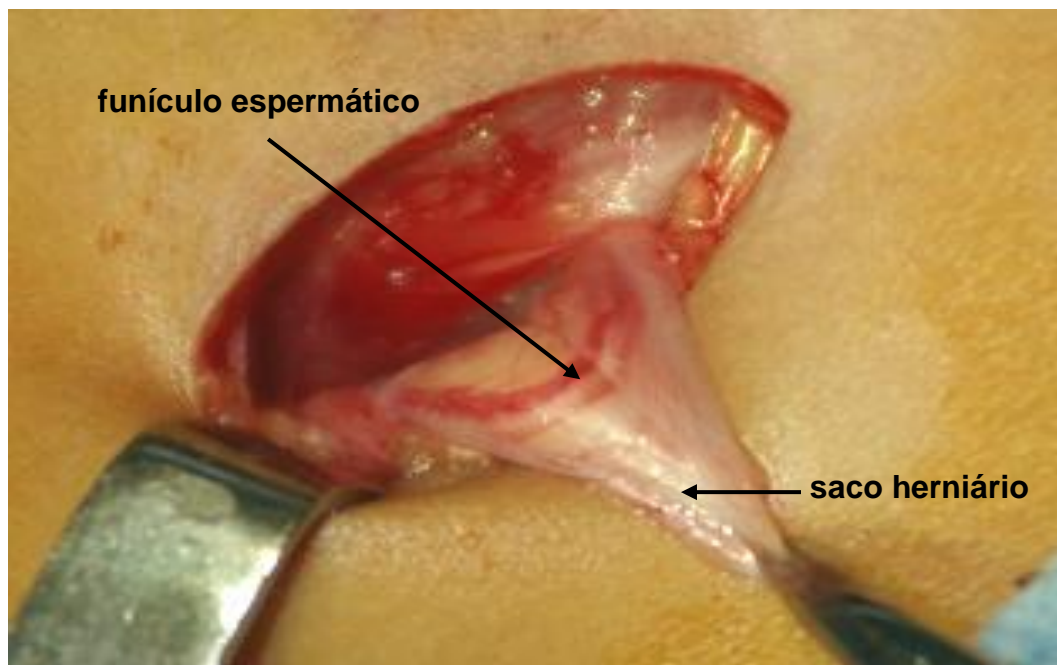
CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 013/2011, relativo ao projeto intitulado **“Efeitos da Tração no Funículo Espermático de Ratos”**, que tem como responsável **Danilo Nagib Salomão Paulo** está de acordo com os princípios Éticos da Experimentação Animal, Adotados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA-EMESCAM), tendo sido aprovado na reunião ordinária de 01/12/2011. Este certificado expira-se em 01/12/2015.

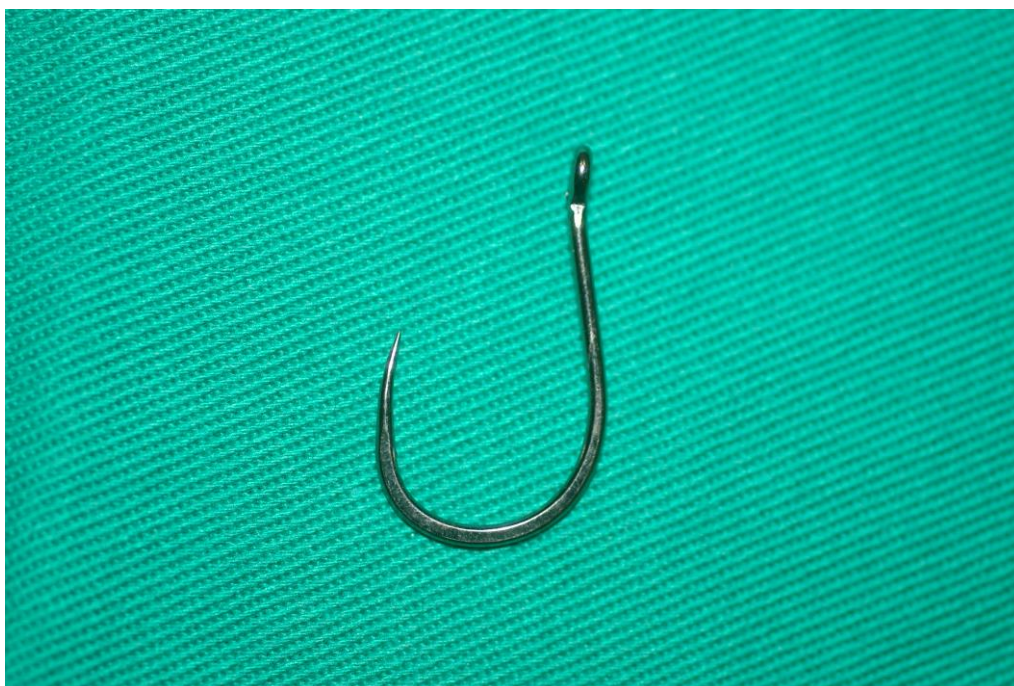
We hereby certify that the Protocol nº 013/2011, related to the project entitled **Effects of Traction of the Spermatic Cord in Rats**, under the supervision of **Danilo Nagib Salomão Paulo**, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the Ethics Committee in Animal Experimentation (CEUA-EMESCAM), and was approved in 01/12/2011.


Marcela Souza Lima Paulo
Coordenadora Adjunta do CEUA-EMESCAM



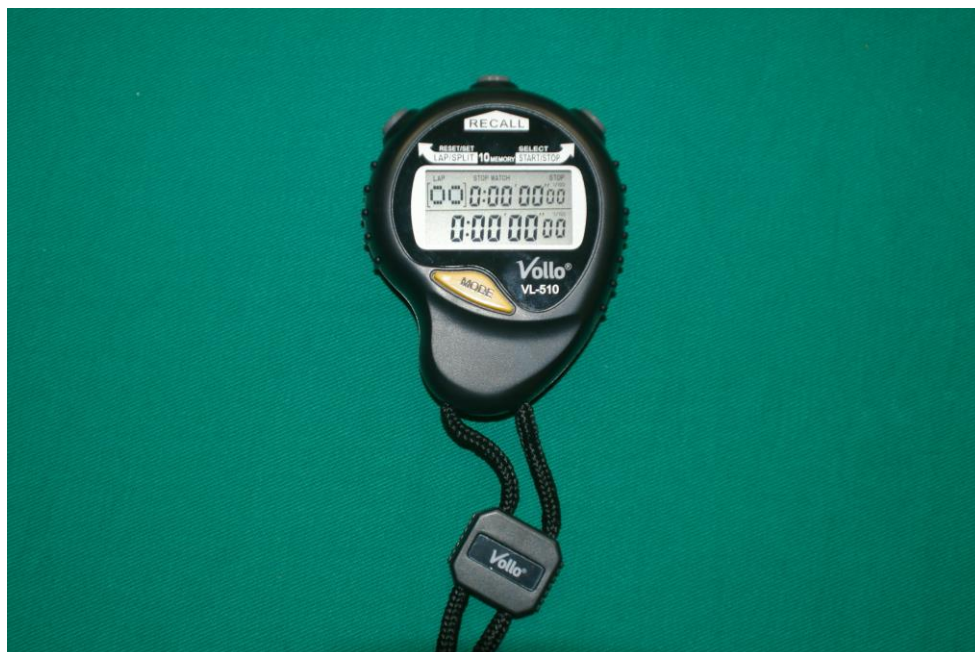
APÊNDICE A - FIGURAS**FIGURA 19 - Herniorrafia inguinal indireta na criança**

O saco herniário está sendo tracionado juntamente com o funículo espermático, a fim de ser dissecado e ligado no nível do anel inguinal profundo.
Fonte: do autor.

FIGURA 20 - Anzol de pesca em aço carbono Kenzaki Release 11[®], sem farpas na haste e sem barbela

Não há segmento cortante na haste nem na garganta do anzol.
Fonte: do autor.

FIGURA 21 - Cronômetro Vollo[®], modelo VL 510, utilizado para cronometrar o tempo de tração



Fonte: do autor.

FIGURA 22 - Paquímetro digital IP54, 150 mm, leitura 0,01 mm, 100.179G DIGIMESS[®]



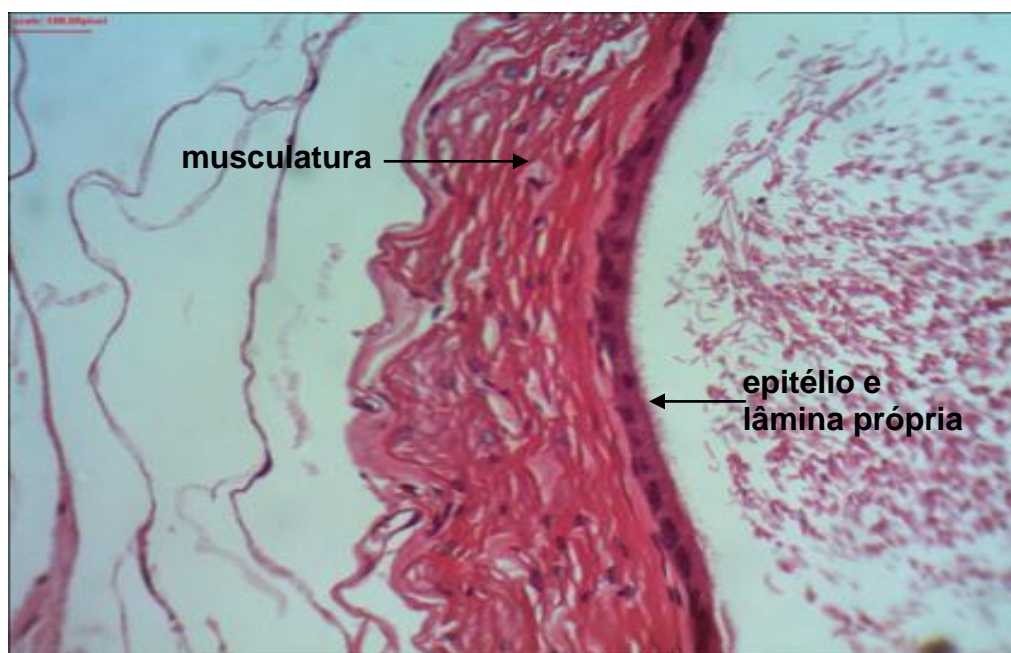
Fonte: do autor.

FIGURA 23 - Aparelho de ultrassom portátil Logic E da GE®, com transdutor microconvexo 8C, utilizado para fazer as mensurações testiculares



Fonte: do autor.

FIGURA 24 - Fotomicrografia da região proximal do ducto deferente do rato nº 4 do grupo IV



O diâmetro do epitélio e da lâmina própria estão reduzidos. A dimensão da lâmina própria está tão reduzida que fica imperceptível. A musculatura é delgada. (HE-400x).

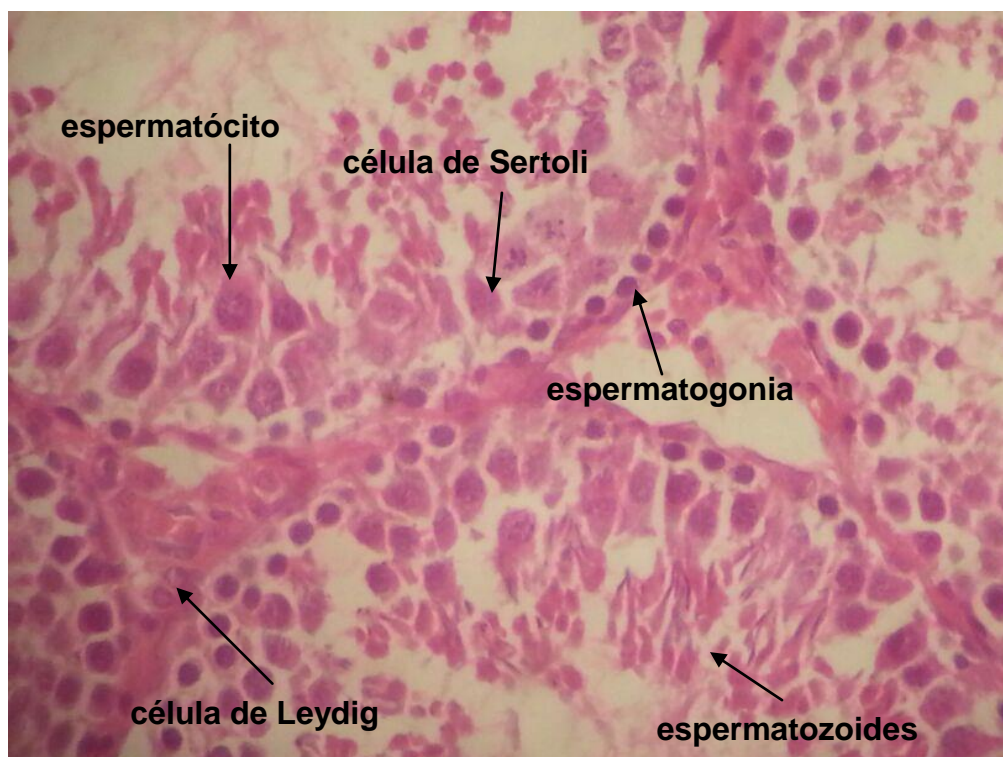
Fonte: do autor.

FIGURA 25 - Fotomicrografia da região distal do ducto deferente do rato nº 4 do grupo IV



Observa-se o diâmetro aumentado do epitélio e da lâmina própria. A musculatura é espessada. (HE-400x).
Fonte: do autor.

FIGURA 26 - Fotomicrografia do testículo direito do rato nº 4 do grupo IV



O padrão histológico está preservado, com células germinativas e de Sertoli em quantidade habitual. Grau 0 na graduação histológica de Kolbe. (HE-400x).
Fonte: do autor.

TABELA 23 - Descrição da avaliação dos testículos pela classificação histológica de Kolbe

Características	Lado				Valor-p
	Direito		Esquerdo		
	n	%	n	%	
Avaliação dos testículos pela classificação histológica de Kolbe					
Normal	13	33,3	21	53,9	0,110 ¹
Lesões	26	66,7	18	46,1	

1: Qui-quadrado com correção de Yates.

GRÁFICO 1 - *Interval-plot* do volume testicular final do lado direito por grupos segundo o paquímetro

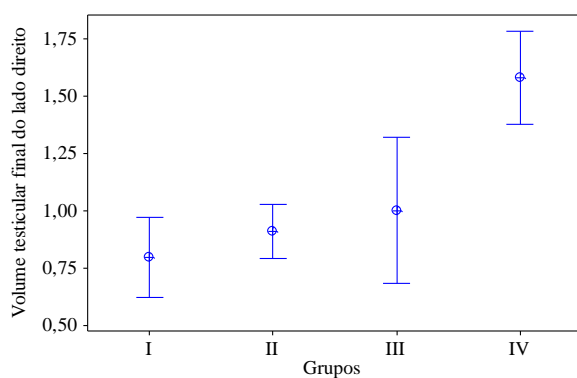


GRÁFICO 2 - *Interval-plot* do volume testicular final do lado esquerdo por grupos em relação à medição do paquímetro

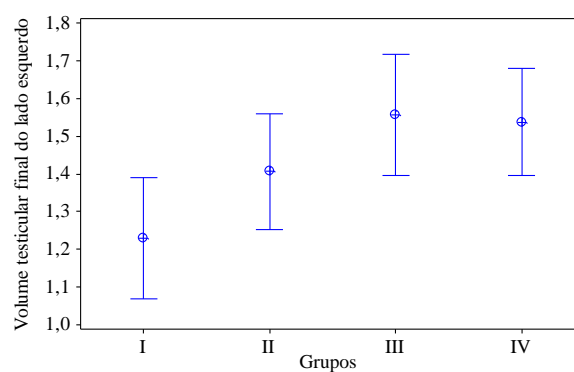


GRÁFICO 3 - *Box-plot* do VTD final por grupos segundo o exame ultrassonográfico

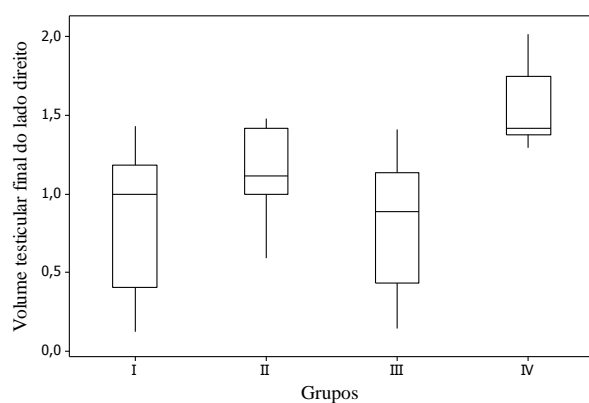


GRÁFICO 4 - *Interval-plot* da variação do VTD por grupos segundo o exame ultrassonográfico

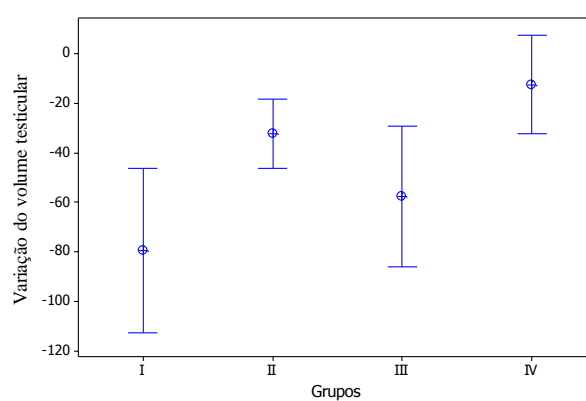


GRÁFICO 5 - *Interval-plot* da variação do VTD em relação à medida inicial por grupos segundo o exame ultrassonográfico

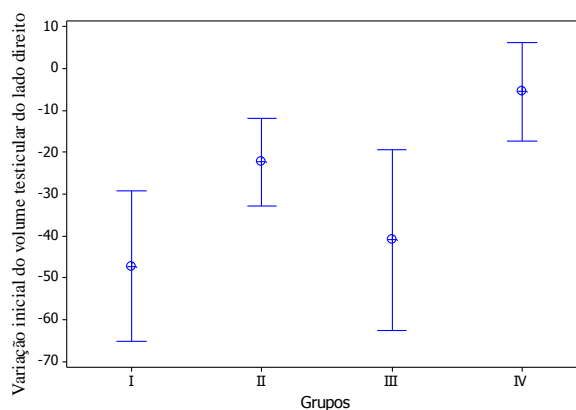


TABELA 24 - Comparação entre os grupos e o volume testicular do lado esquerdo segundo o exame ultrassonográfico

Características	Grupos	Valor-p
Volume testicular inicial esquerdo (cm ³)	I. 2,0 ± 0,4 (2,0)	0,115 ¹
	II. 1,9 ± 0,2 (1,9)	
	III. 1,6 ± 0,3 (1,7)	
	IV. 1,9 ± 0,3 (1,7)	
Volume testicular final esquerdo (cm ³)	I. 1,6 ± 0,3 (1,5)	0,490 ¹
	II. 1,7 ± 0,2 (1,7)	
	III. 1,6 ± 0,3 (1,6)	
	IV. 1,7 ± 0,2 (1,7)	
Variação do volume testicular esquerdo (cm ³)	I. -0,4 ± 0,5 (-0,4)	0,159 ²
	II. -0,3 ± 0,3 (-0,2)	
	III. -0,1 ± 0,2 (-0,1)	
	IV. -0,2 ± 0,2 (-0,3)	
Variação do VTE em relação à medida inicial (%)	I. -18,2 ± 21,0 (-18,5)	0,192 ²
	II. -12,5 ± 13,2 (-12,2)	
	III. -2,6 ± 15,4 (-4,3)	
	IV. -9,7 ± 11,2 (-13,0)	

1: Kruskal-Wallis; 2: F(ANOVA); VTE: volume testicular esquerdo.

GRÁFICO 6 - *Interval-plot* da variação do volume testicular do grupo I para o lado direito e esquerdo segundo o exame ultrassonográfico

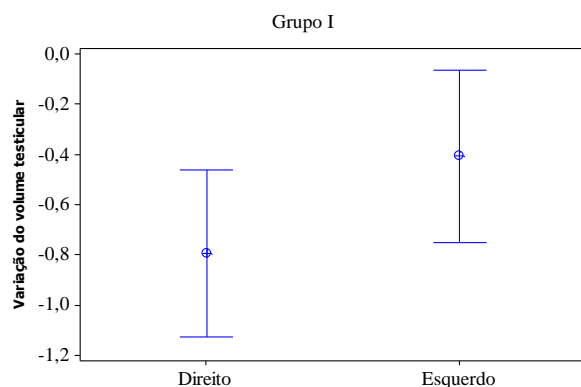


GRÁFICO 7 - *Interval-plot* da variação do volume testicular do grupo III para o lado direito e esquerdo segundo o exame ultrassonográfico

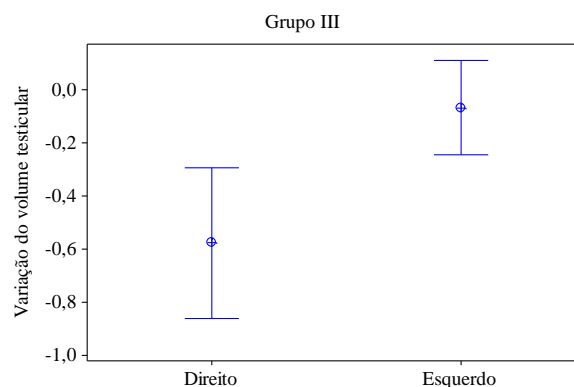


GRÁFICO 8 - *Interval-plot* do volume testicular inicial do lado direito para o exame ultrassonográfico e paquímetro

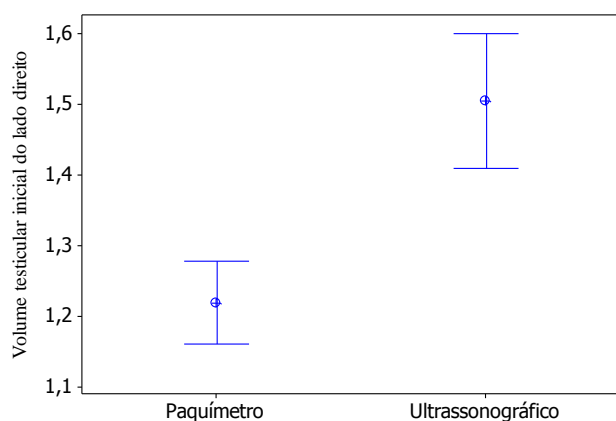


GRÁFICO 9 - *Interval-plot* da variação do volume testicular do lado direito para o exame ultrassonográfico e paquímetro

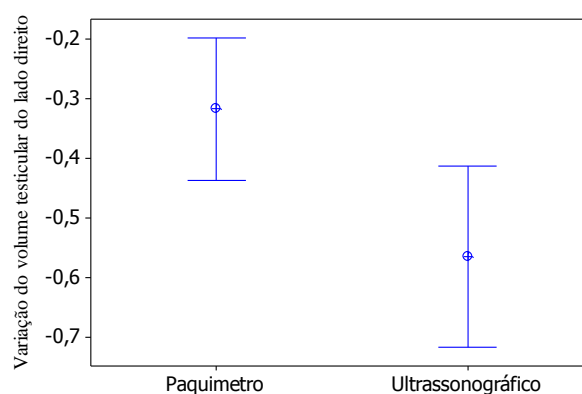


GRÁFICO 10 - *Interval-plot* da variação do volume testicular em relação à medida inicial do lado direito para o exame ultrassonográfico e paquímetro

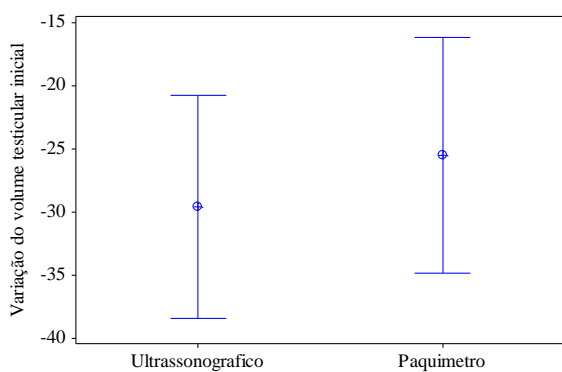


GRÁFICO 11 - *Interval-plot* do volume final do lado esquerdo para o exame ultrassonográfico e paquímetro

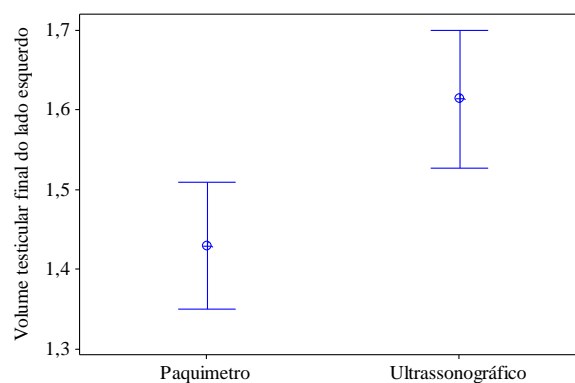


GRÁFICO 12 - *Interval-plot* do peso testicular final do lado direito

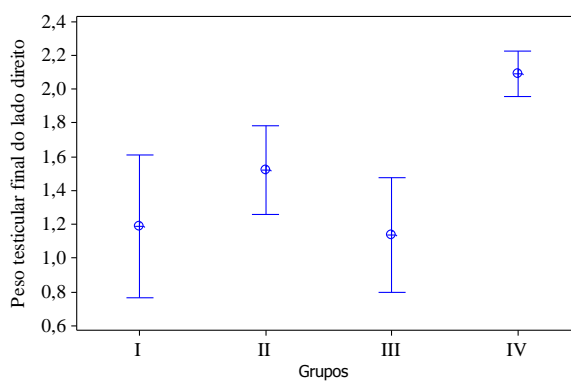


TABELA 25 - Comparação entre os grupos e as dimensões das regiões proximais da parede do ducto deferente do lado direito

Regiões proximais direitas	Grupos	Valor-p
Diâmetro externo (μm)	I. 970,0 \pm 149,4 (937,5)	0,104 ¹
	II. 800,0 \pm 139,4 (800,0)	
	III. 917,5 \pm 123,6 (862,5)	
	IV. 897,2 \pm 188,9 (900,0)	
Diâmetro luminal (μm)	I. 460,0 \pm 113,8 (450,0)	0,390 ²
	II. 377,5 \pm 92,4 (400,0)	
	III. 430,0 \pm 188,9 (425,0)	
	IV. 488,9 \pm 167,3 (475,0)	
Espessura muscular (μm)	I. 207,5 \pm 97,2 (175,0)	0,535 ¹
	II. 186,3 \pm 60,2 (162,5)	
	III. 217,5 \pm 78,7 (206,3)	
	IV. 180,6 \pm 105,0 (150,0)	

1: Kruskal-Wallis; 2: F(ANOVA).

GRÁFICO 13 - *Interval-plot* do diâmetro luminal da parede do ducto deferente do lado direito segundo a região distal

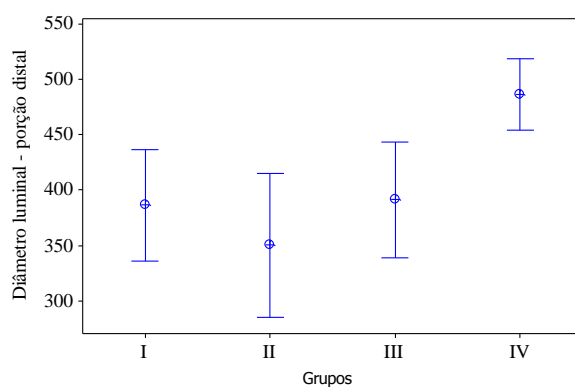


GRÁFICO 14 - *Box-plot* da espessura muscular da parede do ducto deferente do lado direito em relação à região distal

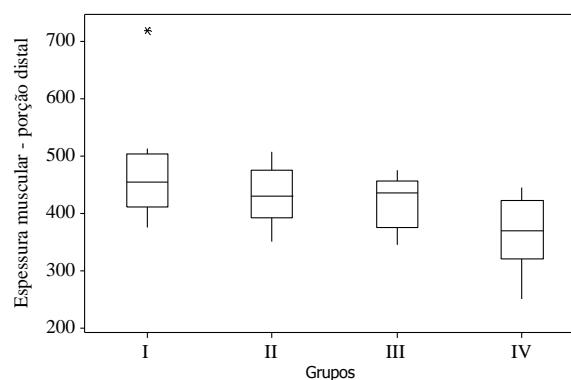


TABELA 26 - Comparação entre os grupos, dois a dois: avaliação do testículo direito pela classificação histológica de Kolbe

Comparação dos grupos	Classificação histológica de Kolbe
Grupo I x Grupo II	<0,001 ¹
Grupo I x Grupo III	0,211 ¹
Grupo I x Grupo IV	0,001 ¹
Grupo II x Grupo III	0,070 ¹
Grupo II x Grupo IV	1,000 ¹
Grupo III x Grupo IV	0,019 ¹

Bonferroni (nível de significância = 0,05/6=0,008).

GRÁFICO 15 - *Interval-plot* da graduação pela classificação histológica de Kolbe do testículo direito entre os grupos

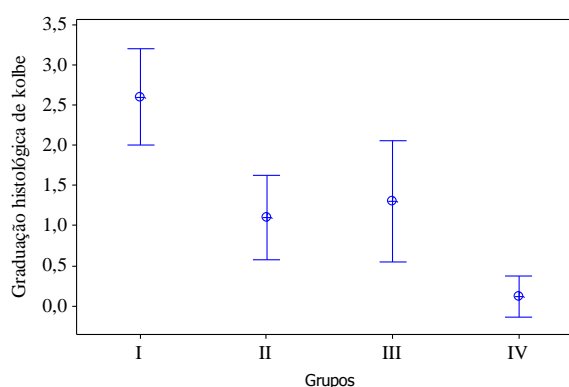


TABELA 27 - Comparação entre os grupos, de dois a dois: necrose testicular histológica do lado direito

Comparação dos grupos	Necrose testicular histológica
Grupo I x Grupo II	0,033 ¹
Grupo I x Grupo III	1,000 ¹
Grupo I x Grupo IV	0,033 ¹
Grupo II x Grupo III	0,087 ¹
Grupo II x Grupo IV	1,000 ¹
Grupo III x Grupo IV	0,087 ¹

1: Bonferroni (nível de significância = 0,05/6=0,008).

COMPARAÇÕES DO LADO ESQUERDO

Dimensões das regiões proximais da parede do ducto deferente entre os grupos

As comparações entre os grupos e as dimensões das regiões proximais da parede do ducto deferente do lado esquerdo (diâmetro externo, diâmetro luminal e espessura muscular) são representadas na TAB. 28.

Constatou-se diferença com significância estatística (valor-p $\leq 0,05$) apenas para o diâmetro luminal, ou seja, pelo menos dois grupos diferiram em relação a essa característica. Houve diferença do grupo II em relação aos grupos I e IV. O grupo II apresentou menor diâmetro luminal que os ratos dos grupos I e IV (GRÁF. 16).

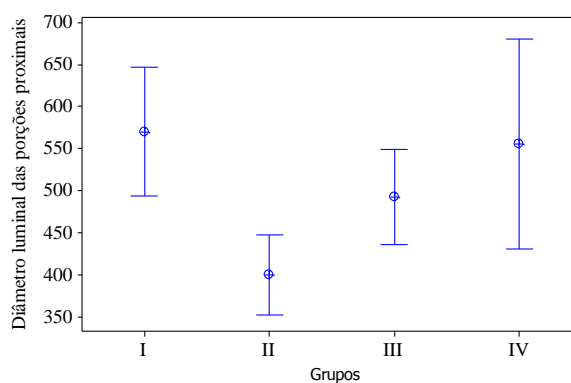
O diâmetro externo e a espessura muscular não diferiram entre os grupos.

TABELA 28 - Comparação entre os grupos e as regiões proximais da parede do ducto deferente do lado esquerdo

Regiões proximais esquerdas	Grupos	Diferenças	Valor-p
Diâmetro externo (μm)	I. 892,5 \pm 100,0 (887,5)	-	-
	II. 860,0 \pm 167,6 (850,0)	-	-
	III. 810,0 \pm 132,9 (837,5)	-	-
	IV. 980,6 \pm 119,1 (950,0)	-	-
Diâmetro luminal (μm)	I. 570,0 \pm 107,2 (550)	II - I = -170,0	0,007 ¹
	II. 400,0 \pm 66,7 (400)	IV. 555,6 \pm 162,9 (550)	II - IV = -155,6 0,018 ¹
Espessura muscular (μm)	I. 147,5 \pm 55,8 (131,3)	-	-
	II. 203,8 \pm 67,7 (187,5)	-	-
	III. 157,5 \pm 43,8 (150,0)	-	-
	IV. 166,7 \pm 50,4 (150,0)	-	-

1: Teste Tukey (nível de significância = 0,05).

GRÁFICO 16 – *Interval-plot* do diâmetro luminal da parede do ducto deferente do lado esquerdo em relação às regiões proximais



DIMENSÕES DAS REGIÕES DISTAIS DA PAREDE DO DUCTO DEFERENTE ENTRE OS GRUPOS

As comparações entre os grupos e as dimensões das regiões distais da parede do ducto deferente do lado esquerdo (diâmetro externo, diâmetro luminal e espessura muscular) são apresentadas na TAB. 29. Detectou-se diferença com significância estatística ($p \leq 0,05$) para a espessura muscular das regiões distais, pois pelo menos dois grupos diferiram em relação a essa característica.

Observou-se diferença do grupo I em relação aos grupos II e IV. No grupo I a espessura muscular das regiões distais foi maior do que nos grupos II e IV (GRÁF. 17).

TABELA 29 - Comparação entre os grupos e as dimensões das regiões distais da parede do ducto deferente do lado esquerdo

Regiões distais esquerda	Grupos	Diferenças	Valor-p
Diâmetro externo (μm)	I. 1522,5 \pm 108,5 (1556,3)	-	-
	II. 1372,5 \pm 140,7 (1362,5)	-	-
	III. 1392,5 \pm 170,5 (1387,5)	-	-
	IV. 1398,6 \pm 113,8 (1450,0)	-	-
Diâmetro luminal (μm)	I. 470,0 \pm 71,5 (462,5)	-	-
	II. 445,0 \pm 57,8 (443,8)	-	-
	III. 436,3 \pm 63,6 (443,8)	-	-
	IV. 444,4 \pm 89,9 (425,0)	-	-
Espessura muscular (μm)	I. 460,6 \pm 40,2 (478,1)	II. 380,0 \pm 33,6 (378,1)	I - II = 80,6 0,002¹
		IV. 397,2 \pm 28,8 (400,0)	I - IV = 63,4 0,029¹

1: Teste Tukey (nível de significância = 0,05).

GRÁFICO 17 – *Interval-plot* da espessura muscular da parede do ducto deferente do lado esquerdo em relação às regiões distais

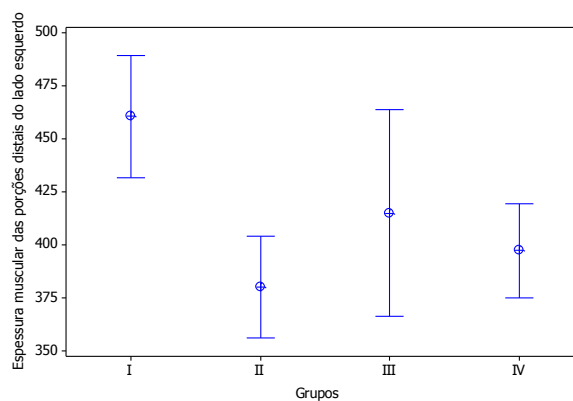


TABELA 30 - Comparação entre os grupos, de dois a dois: avaliação do testículo esquerdo pela classificação histológica de Kolbe

Comparação dos grupos	Classificação histológica de Kolbe
Grupo I x Grupo II	0,211 ¹
Grupo I x Grupo III	<0,001 ¹
Grupo I x Grupo IV	<0,001 ¹
Grupo II x Grupo III	0,019 ¹
Grupo II x Grupo IV	0,003 ¹
Grupo III x Grupo IV	1,000 ¹

1: Método de Bonferroni (nível de significância = $0,05/6=0,008$).

GRÁFICO 18 - *Interval-plot* da graduação pela classificação histológica de Kolbe do testículo esquerdo entre os grupos

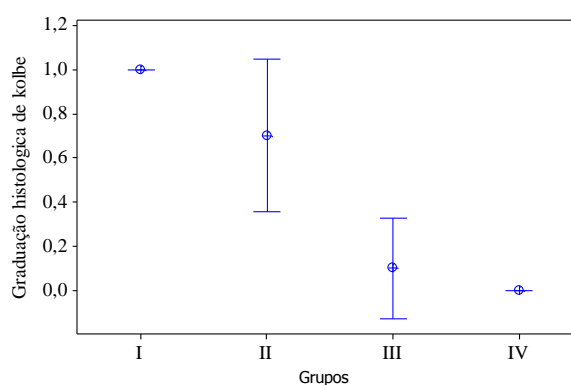


TABELA 31 - Comparação entre os grupos, de dois a dois: espermatozoides no lúmen dos epidídimos do lado esquerdo

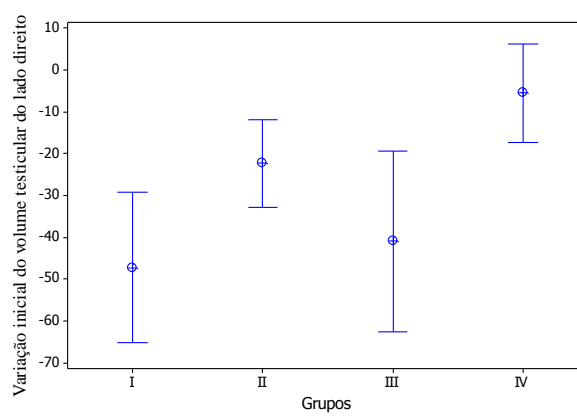
Comparação dos grupos	Redução dos espermatozoides intraluminais	Abundância de espermatozoides intraluminais
Grupo I x Grupo II	0,628 ²	0,628 ²
Grupo I x Grupo III	0,005²	0,005²
Grupo I x Grupo IV	<0,001²	<0,001²
Grupo II x Grupo III	0,057 ²	0,057 ²
Grupo II x Grupo IV	0,011 ²	0,011 ²
Grupo III x Grupo IV	1,000 ²	1,000 ²

2: Bonferroni (nível de significância = 0,05/6=0,008)

TABELA 32 - Apresentação da redução percentual do volume testicular final em relação ao volume inicial

Grupo	Animal	Redução no volume testicular direito		Redução no volume testicular esquerdo
		Classificação pelo exame ultrassonográfico	Classificação pelo paquímetro	Classificação pelo exame ultrassonográfico
1	1	> 50	> 50	30 a 50
1	2	30 a 50	> 50	10 a 29,9
1	3	30 a 50	10 a 29,9	< 10
1	4	> 50	30 a 50	30 a 50
1	5	10 a 29,9	< 10	10 a 29,9
1	6	30 a 50	10 a 29,9	Sem perda
1	7	10 a 29,9	10 a 29,9	10 a 29,9
1	8	30 a 50	10 a 29,9	10 a 29,9
1	9	> 50	> 50	30 a 50
1	10	10 a 29,9	10 a 29,9	Sem perda
2	1	10 a 29,9	10 a 29,9	Sem perda
2	2	30 a 50	10 a 29,9	< 10
2	3	10 a 29,9	10 a 29,9	< 10
2	4	10 a 29,9	10 a 29,9	30 a 50
2	5	10 a 29,9	10 a 29,9	10 a 29,9
2	6	10 a 29,9	10 a 29,9	10 a 29,9
2	7	30 a 50	30 a 50	10 a 29,9
2	8	10 a 29,9	30 a 50	10 a 29,9
2	9	Sem perda	10 a 29,9	10 a 29,9
2	10	10 a 29,9	10 a 29,9	10 a 29,9
3	1	> 50	30 a 50	Sem perda
3	2	> 50	30 a 50	10 a 29,9
3	3	30 a 50	Sem perda	< 10
3	4	> 50	> 50	10 a 29,9
3	5	10 a 29,9	Sem perda	< 10
3	6	Sem perda	< 10	Sem perda
3	7	30 a 50	30 a 50	< 10
3	8	10 a 29,9	Sem perda	10 a 29,9
3	9	10 a 29,9	Sem perda	< 10
3	10	> 50	> 50	< 10
4	1	30 a 50	-	10 a 29,9
4	2	< 10	-	Sem perda
4	3	10 a 29,9	-	10 a 29,9
4	4	Sem perda	-	< 10
4	5	< 10	-	10 a 29,9
4	6	10 a 29,9	-	< 10
4	8	10 a 29,9	-	10 a 29,9
4	9	Sem perda	-	Sem perda
4	10	Sem perda	-	10 a 29,9

GRÁFICO 19 - *Interval-plot* da variação no volume testicular direito avaliado pelo exame ultrassonográfico entre os grupos



APÊNDICE B – Artigo publicado, do autor deste estudo

4 – ORIGINAL ARTICLE EXPERIMENTAL UROLOGY

Effects of traction on the spermatic cord of rats¹

Salomão Brêtas^I, Edson Samesima Tatsuo^{II}, Jane Sant'Ana Castello^{III}

DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-86502014000800004>

^IFellow Master degree, Postgraduate Program in Sciences Applied to Surgery and Ophthalmology, School of Medicine, Federal University of Minas Gerais (UFMG), Brazil. Conception, design and scientific content of the study, surgical procedures, drafting of the manuscript.

^{II}PhD, Associate Professor, Department of Surgery, School of Medicine, UFMG, Minas Gerais-MG, Brazil. Conception, design and scientific content of the study, drafting of the manuscript, critical review.

^{III}Physician, Anatomopathologist and Cytopathologist, Nossa Senhora da Glória State Children's Hospital, Vitoria-ES, Brazil. Macroscopic and histopathological examinations.

ABSTRACT

PURPOSE: To determine whether tension in the spermatic cord of rats causes lesions in the testis, epididymis or vas deferens.

METHODS: Forty Wistar rats were randomly allocated into four groups. A traction force of 1.6 Newton (N) in group I and 1 N in group II was applied to the right spermatic cord. Group III was the sham, and group IV served as the control.

RESULTS: Testicular lesions occurred on the right side in 66.7% of the rats and on the left side in 46.1% of the rats. The testes showed a decreased number of Sertoli cells, necrosis and a decreased number of germ cells in the seminiferous tubules. Anatomopathological changes in the vas deferens were not identified. There was no decrease in the thickness of the muscle wall of the vas deferens. In the right epididymis, 71.8% of the animals showed a reduction and 5% showed an absence of intraluminal sperm. In the left epididymis, 37.5% of the rats showed a reduction. The volume and the final testicular weight of the right side in group IV was different from those in the other groups.

CONCLUSIONS: Anatomopathological lesions were found in the testis and epididymis.

Key words: Spermatic Cord. Vas Deferens. Testis. Orchiopexy. Hernia, Inguinal. Rats.

Brêtas S *et al.*

Introduction

Diseases in which the surgical treatment involves handling and intraoperative traction of the spermatic cord and of the testis include indirect inguinal hernias and cryptorchidism.

Hernias may be defined as the protrusion of an organ or part of an organ or tissue through an abnormal opening in the wall of the cavity containing them. In the case of indirect inguinal hernias, this protrusion is formed inside a hernia sac in the spermatic cord. For repair of indirect inguinal hernias, the hernia sac is pulled along with the spermatic cord in order to be dissected and ligated at the level of the deep inguinal ring.

Cryptorchidism is a condition in which the testis has not completely descended to its anatomical position within the scrotum; however, it has not deviated from the normal path for descent of the gonad. In orchidopexy, the spermatic cord is pulled and dissected to allow testicular mobilization to the scrotum. From a surgical point of view, the limiting factor to place the testis in the scrotum is the length of the spermatic vessels. If the testis is fixed under tension, these vessels may be damaged and may cause testicular atrophy¹.

The aim of this study was to determine whether tension in the spermatic cord of rats causes lesion in the testis, epididymis or vas deferens.

Methods

This study was approved by the Animal Research Ethics Committee of the Federal University of Minas Gerais (UFMG), with protocol number 86/2012. Animal handling followed the guidelines recommended by the Brazilian College of Animal Experimentation (COBEA). Forty adult male albino Wistar rats (128.8 ± 3.5 days), weighing on average 424.7 ± 37.9 g, were used and randomly allocated into four groups of 10 animals. The animals were fed a specific diet (Nuvital®) and water *ad libitum*.

The animals were anesthetized with intramuscular injections of 10% ketamine hydrochloride at a dose of 60 mg/kg of body weight and xylazine at a dose of 10 mg/kg of body weight.

Surgical access was made through a suprascrotal incision. The right side was chosen for the procedure and the left side for the control. The right spermatic cord, testis and epididymis were exposed through this incision. A window was created in the right spermatic cord between the vas deferens and the testicular vessels, near the epididymis. A Kenzaki Release 11® carbon steel fishing hook with a barbless shank and a barbless point was introduced into this window. A 1-m-long thread of 2.0 monofilament nylon

was used to tie the hook to the dynamometer (Figure 1), first passing through a simple pulley (EQ008.56, CIDEPE®).



FIGURE 1 - The hook was introduced into the window created in the right spermatic cord and is tied to surgical thread in order to help with the traction process.

The dynamometer and the pulley were fixed on a 46.5 cm x 62 cm magnetic board (TBF-106, MINIPA®) and assembled on a 97 cm x 85 cm x 34 cm multiuse demonstration structure (TBF-100, MINIPA®) with a 93 cm x 32 cm shelf (TBF-101, MINIPA®). A traction force measured through the dynamometer was continuously applied to the right spermatic cord distally and in the horizontal direction for five minutes (Figure 2). The gubernaculum was not sectioned. Subsequently, the organs were repositioned in the scrotum, and the surgical wound was closed with 4.0 monofilament nylon thread. The left spermatic cord of the rats was not surgically manipulated in the 1st surgery and therefore, not subjected to traction force.

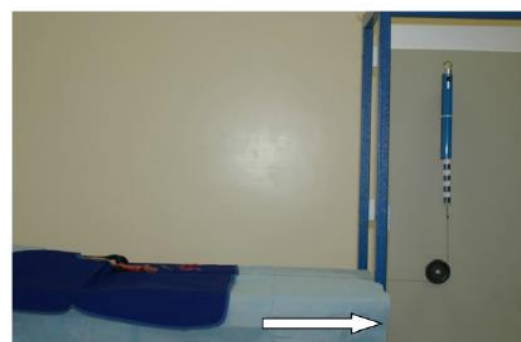


FIGURE 2 - Preoperative traction of the right spermatic cord. The arrow indicates the direction of the stretching force.

In group I (n=10), a perioperative traction force of 1.6 Newton (N) was imposed on the right spermatic cord. In group II (n=10), a traction force of 1 N was applied to the right spermatic cord. The value of 1 N equals 0.10197 kilograms-force (kgf). Group III (n=10) served as the sham group and was subjected to the aforementioned procedures; however, no traction force was applied to the right spermatic cord. Group IV (n=10) was used as the control group and did not undergo the 1st surgical intervention; hence, this group's right spermatic cord was not tractioned.

The dimensions and the initial volume of the right and left testes were measured using ultrasonography during the preoperative period before starting the surgery by a veterinarian specialized in diagnostic imaging using a portable GE® Logic E ultrasound device.

Another measurement of the dimensions and the final volume of each testis using ultrasound was performed in all rats from group I 24 to 36 days after the 1st surgery, when the traction force was applied to the right spermatic cord. Then, 28 to 36 days after the 1st operation, all animals from group I were subjected to a second surgery. The testes, epididymis and vas deferens were removed from their origin in the cauda epididymis in this surgery. The left and right testes were weighed after dissection and excision of the epididymis. Subsequently, the animals were euthanized with an overdose of anesthetic that was three times the conventional dose; sodium pentobarbital was administered at a dose of 150 mg/kg intraperitoneally.

The organs were fixed in 10% buffered formalin. Paraffin blocks were sectioned to yield 4 µm-thick slices, and the slides obtained were stained with hematoxylin and eosin (HE).

The study of histological parameters was performed using light microscopy and a Holtermann® microscope reticle with a scale of 0 to 10 mm with 0.05 mm divisions. The anatomopathological analysis and interpretation were performed by a physician specialized in anatomic pathology and cytopathology.

Each testis was examined and given a histological grade from zero to six, based on the seminiferous tubule assessment method described by Kolbe *et al.*².

The initial 3 cm of the vas deferens from its origin in the cauda epididymis was sectioned, and six to eight cut levels were observed in each section. The vas deferens of rats undergoes changes in its structure over its entire length; therefore, the histological characteristics of its proximal, junctional, distal and terminal regions³ were examined to measure the external diameter, the thickness of the muscle layer and the luminal diameter of this organ. Thus, cut levels of the vas deferens wall with similar regional histology characteristics were measured. Four and two

levels of cuts were selected to measure the vas deferens of the distal and proximal regions, respectively. It is noteworthy that the means of P1, P2, P3 and P4 were evaluated for the distal regions and the means between P1 and P2 for the proximal regions. The luminal diameter was measured from the apex of the columnar cell from one side to the apex of columnar cell of the other side on the longer axis. The external diameter was measured on the longest axis of the sections. Muscle thickness was measured from the base of the epithelium to the outermost point of the muscle at two points of each level chosen, considering the larger and thinner points of the muscle wall.

The criteria for abundance, reduction or absence of sperm in the lumen, presence of microabscesses, necrosis and interstitial inflammation were analyzed in the epididymis.

A significance level of 5% was used. Comparisons of the characteristics evaluated and of the groups were performed using the F test (ANOVA) when the usual model assumptions were met and Kruskal-Wallis when they were not. When a significant difference between groups was found, one of several techniques for multiple comparisons between means was used to find the differences. Was calculated the testicular volume variation (final testicular volume - initial testicular volume) and variation in the testicular volume compared to the initial measurement [(final testicular volume - initial testicular volume) / initial testicular volume].

Results

One animal from group IV was excluded due to granulomatous orchitis diagnosed in the right testis on histopathological examination. Therefore, 39 rats were considered in this study. Group IV had nine rats.

Testicular volume measured using ultrasonography

A significant difference was observed when comparing the testicular volume between groups only for the right side, p-value ≤ 0.05 for Tukey's test and $0.05/6 = 0.008$ for the Bonferroni test (Table 1). Thus, at least two groups differed with respect to this characteristic. The ANOVA F statistic showed no significance for the initial testicular volume.

TABLE 1 - Comparisons between the groups (two by two) of the right testicular volume based on ultrasound.

	Testicular volume (cm ³)		Difference between group means	p-value
	Groups			
Initial testicular volume	I (1.7 ± 0.3)		-	-
	II (1.5 ± 0.2)		-	-
	III (1.4 ± 0.2)		-	-
	IV (1.7 ± 0.4)		-	-
Final testicular volume	I (1.0 ± 0.4)	IV (1.4 ± 0.3)	I - IV = -0.4	0.001 ¹
	III (0.9 ± 0.4)	IV (1.4 ± 0.3)	III - IV = -0.5	0.003 ¹
Testicular volume variation	I (-0.8 ± 0.5)	II (-0.3 ± 0.2)	I - II = -0.5	0.023 ²
	III (-0.6 ± 0.4)	IV (-0.1 ± 0.3)	I - IV = -0.7	0.001 ²
Variation in RTV compared to the initial measurement	I (-47.3 ± 25.3)	IV (-5.5 ± 15.3)	I - IV = -41.8	0.001 ²
	III (-41.0 ± 30.3)	IV (-5.5 ± 15.3)	III - IV = -35.5	0.007 ²

¹Bonferroni test (significance level = 0.05/6 = 0.008); ²Tukey's test (0.05); the median was used for final testicular volume; not shown because the test revealed no differences between groups; RTV = right testicular volume.

Group IV had a higher final testicular volume than groups I and III and smaller (disregarding the sign) changes in testicular volume variation and variation in the right testicular volume (RTV) compared to the initial measurement than groups I and III. Moreover, the testicular volume variation in group I (-0.8 ± 0.5) was higher than in group II (-0.3 ± 0.2).

Testicular weight

A significant difference (p-value ≤ 0.05) was found between groups for the testicular weight on the right side (Table 2). Thus, at least two groups differed with respect to this characteristic. The final testicular weight of the left side did not differ between groups.

TABLE 2 - Comparison between the groups and the final testicular weight on the right side.

Right final testicular weight (g)	Difference between the means of the groups	p-value ¹
Groups		
I (1.2 ± 0.6) IV (2.1 ± 0.2)	I - IV = -0.9	<0.001
II (1.5 ± 0.4) IV (2.1 ± 0.2)	II - IV = -0.6	0.033
III (1.1 ± 0.5) IV (2.1 ± 0.2)	III - IV = -1	<0.001

¹Tukey's test (significance level = 0.05).

Tukey's test showed that the final testicular weight on the right side in group IV was significantly higher than in the other groups (I, II, III).

Evaluation of the testes according to Kolbe's histological grading

Thirteen (33.3%) rats showed normal histology in the right testis, and 26 (66.7%) had testicular histopathological lesions with progressive severity (Figure 3). Twenty-one (53.9%) rats had normal histology of the left testis, and 18 (46.1%) showed testicular histopathological lesions with progressive severity.

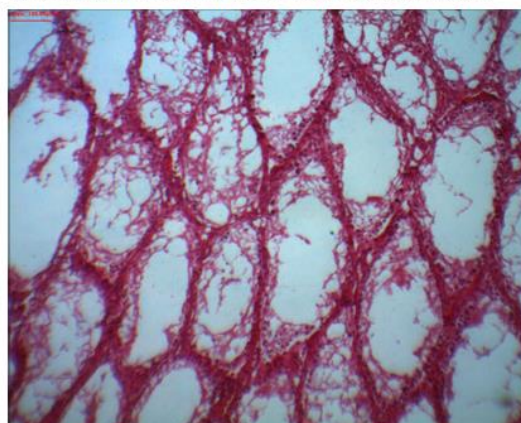


FIGURE 3 – Right testicle of rat 9 from group II showing a reduction in the number of germ cells in the seminiferous tubules. Note the presence of Sertoli cells. Grade 1 according to Kolbe's histological classification. HE Staining. x40 magnification.

In the comparison between the groups and the classification of the testes between the two sides according to Kolbe's histological grading (Table 3), the ANOVA F statistic was statistically significant ($p \leq 0.05$); thus, Tukey's test was used to determine the differences between each group two by two. When the right testis was classified according to Kolbe's histological grading, group I (2.6 ± 0.8) had a higher classification than the other groups (II, III and IV), and groups II (1.1 ± 0.7) and III (1.3 ± 1.1) had a higher classification than group IV (0.1 ± 0.3).

TABLE 3 - Comparison between the groups two by two: classification of the right and left testes according to Kolbe's histological grading.

	Classification according to Kolbe's histological grading		Difference between the group means	P-value ¹
	Groups			
Right side	I (2.6 ± 0.8)	II (1.1 ± 0.7)	I - II = 1.5	0.001
		III (1.3 ± 1.1)	I - III = 1.3	0.005
	II (1.1 ± 0.7)	IV (0.1 ± 0.3)	I - IV = 2.5	<0.001
		IV (0.1 ± 0.3)	II - IV = 1.0	0.050
Left side	I (1.0 ± 0.0)	III (0.1 ± 0.3)	I - III = 0.9	<0.001
		IV (0.0 ± 0.0)	I - IV = 1.0	<0.001
	II (0.7 ± 0.5)	III (0.1 ± 0.3)	II - III = 0.6	<0.001
		IV (0.0 ± 0.0)	II - IV = 0.7	<0.001

¹Tukey's test (significance level = 0.05).

On the left side, group I (1.0 ± 0.0) had a higher classification than groups III (0.1 ± 0.3) and IV (0.0 ± 0.0). Group II (0.7 ± 0.5) also obtained a higher classification than groups III (0.1 ± 1.1) and IV (0.0 ± 0.0).

Histological testicular necrosis

The comparison of histological testicular necrosis on the right side between the groups is shown in Table 4. None of the 39

rats showed testicular necrosis on the left side; therefore, it was not possible to compare them. However when evaluating the right side, 50% of rats showed necrosis in group I (Figure 4), 40% of rats showed focal and sparse necrosis in group III, and groups II and IV showed no cases of necrosis.

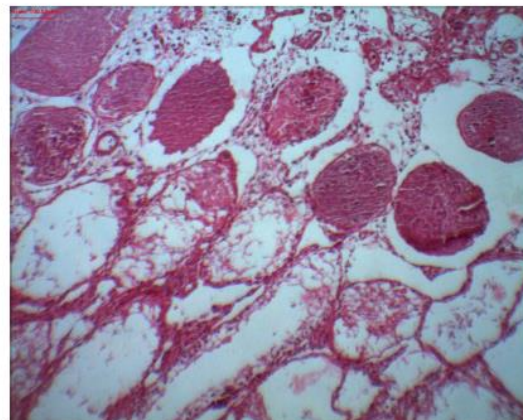


FIGURE 4 - Right testicle of rat 1 from group I showing multiple seminiferous tubules with grade 4 necrosis according to Kolbe's histological classification. HE Staining. x100 magnification.

Presence of sperm in the lumen of the epididymis

The comparison of the presence of sperm in the lumen of the epididymis on the right and left sides between the groups is shown in Table 5. There was a significant difference (p -value ≤ 0.05) in the abundance and reduction of intraluminal sperm on both sides.

TABLE 4 - Comparison of histological testicular necrosis between groups.

Groups	Histological testicular necrosis									
	Left side				p-value	Right side				
	Yes	No				Yes	No			
n	%	n	%	n	%	n	%	p-value ¹		
I	0	0.0	10	100.0	-	5	50.0	5	50.0	0.005
II	0	0.0	10	100.0		0	0.0	10	100.0	
III	0	0.0	10	100.0		4	40.0	6	60.0	
IV	0	0.0	9	100.0		0	0.0	9	100.0	

¹Fisher's exact test; test was not performed because one category did not obtain frequency.

TABLE 5 - Comparison of the presence of sperm in the epididymal lumen between the groups and sides.

Characteristics	Groups	Sperm in the epididymal lumen									
		Left side				p-value ¹	Right side				p-value ²
		Yes		No			Yes		No		
		n	%	n	%		n	%	n	%	
Reduction in intraluminal sperm	I	8	80.0	2	20.0	<0.001	9	90.0	1	10.0	<0.001
	II	6	60.0	4	40.0		10	100.0	0	0.0	
	III	1	10.0	9	90.0		9	90.0	1	10.0	
	IV	0	0.0	9	100.0		0	0.0	9	100.0	
Abundance of intraluminal sperm	I	2	20.0	8	80.0	<0.001	0	0.0	10	100.0	<0.001
	II	4	40.0	6	60.0		0	0.0	10	100.0	
	III	9	90.0	1	10.0		0	0.0	10	100.0	
	IV	9	100.0	0	0.0		9	100.0	0	0.0	
Absence of intraluminal sperm	I	0	0.0	10	100.0	-	1	10.0	9	90.0	1.000
	II	0	0.0	10	100.0		0	0.0	10	100.0	
	III	0	0.0	10	100.0		1	10.0	9	90.0	
	IV	0	0.0	9	100.0		0	0.0	9	100.0	

¹Pearson's chi-square test; ²Fisher's exact test; test was not performed because one category did not obtain frequency.

Groups I (80%) and II (60%) had the largest reduction in intraluminal sperm on the left side. On the right side, groups I (90%), II (100%) and III (90%) had the greatest reductions (Figure 5). Group IV remained constant, i.e., there was no sperm reduction. The abundance of intraluminal sperm is similarly interpreted.

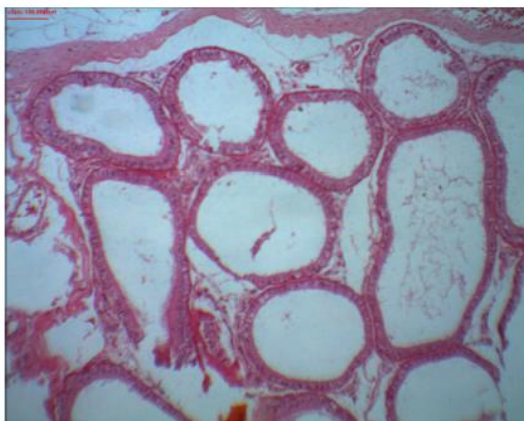


FIGURE 5 - Right epididymis of rat 1 from group I showing the absence of intraluminal sperm. HE staining, x100 magnification. Microabscess, necrosis and interstitial inflammation were not found in the epididymis.

An association of the absence of intraluminal sperm on the left side could not be quantified due to the high number of zeros, and the right side was not statistically significant at the 5% alpha level.

Dimensions of the vas deferens wall

No statistical significance was observed in the proximal region of the right side; however, the group IV showed greater luminal diameter of the distal region of the right side than groups I, II and III. Group I (453.1 ± 96.8) exhibited greater muscle thickness of the distal region of the right side than group IV (386.8 ± 63.7).

There was a difference in the luminal diameter of the proximal region of the left side in group II in relation to groups I and IV. Group II (400.0 ± 66.7) showed a lower luminal diameter than the rats in groups I (570.0 ± 107.2) and IV (555.6 ± 162.9). There was a difference in the muscle thickness of the distal region of the left side in group I in relation to groups II and IV, revealing that the muscle thickness in group I was higher than in these two other groups (Table 6).

TABLE 6 – Comparison of the dimensions of the proximal and distal regions of the vas deferens walls between the groups.

		Groups		Difference between the groups means	p-value	
Right side	Distal region	Luminal diameter (μm)	I (386.3 \pm 70.3)	IV (486.1 \pm 42.1)	I - IV = - 99.8	0.023 ²
			II (350.0 \pm 90.5)	IV (486.1 \pm 42.1)	II - IV = - 136.1	0.001 ²
			III (391.3 \pm 73.4)	IV (486.1 \pm 42.1)	III - IV = - 94.8	0.033 ²
		Muscle thickness (μm)	I (453.1 \pm 96.8)	IV (386.8 \pm 63.7)	I - IV = 66.3	0.006 ¹
Left side	Proximal region	Luminal diameter (μm)	I (570.0 \pm 107.2)	II (400.0 \pm 66.7)	I - II = 170	0.007 ²
			II (400.0 \pm 66.7)	IV (555.6 \pm 162.9)	II - IV = - 155.6	0.018 ²
	Distal region	Muscle thickness (μm)	I (460.6 \pm 40.2)	II (380.0 \pm 33.6)	I - II = 80.6	0.002 ²
				IV (392.2 \pm 28.8)	I - IV = 68.4	0.029 ²

¹Bonferroni test (significance level = 0.05/6 = 0.008); ²Tukey's test (0.05); the median was used for muscle thickness on the right side.

Discussion

There is a high incidence of surgical diseases in the retroperitoneal, inguinal, pelvic and scrotal regions of human beings, and in some cases, their treatment may inadvertently cause damage to the constituents of the spermatic cord, to the testis and to the epididymis. Surgeons know that they should delicately handle these structures; however, they do not know the intensity of the traction force being applied during the intraoperative period.

The traction imposed on the right spermatic cord changed the final testicular volume. To verify this fact, testicular ultrasonography was used because this exam is recognized as the most accurate method for measuring testicular volume *in situ*^{4,5}. Testicular volume reflects spermatogenesis, because approximately 70 to 80% of testicular mass consists of seminiferous tubules, and such structures are correlated with sperm count, sperm motility, sperm morphology and the daily production of sperm⁴.

To measure the wall of the vas deferens in the rat, it is necessary to know their histological peculiarities. The vas deferens of the adult rat is 4.5 to 6 cm long, originates proximally from the end of the cauda epididymis in the scrotum and ends distally in the ejaculatory duct in the pelvis. It is a muscular tube that has three layers of smooth muscle arranged as follows: the middle layer is circular and the outer and inner layers are longitudinal^{3,6,7}. The vas deferens contracts unidirectionally during ejaculation, releasing the seminal fluid in the ejaculatory duct. This contractile activity is biphasic in rodents and is mediated by the autonomic nervous system⁸. The vas deferens of rats is suspended by a mesentery that is continuous with the epididymis. In the vas deferens, the following regions can be differentiated: proximal, junctional, distal and terminal. These regions have different histological characteristics:

a) In the proximal region, the vas deferens has thin muscle, which allows the intraluminal visualization of its whitish content. As a result, the vas deferens in this location is narrower compared to the vas deferens of the distal region. The topology of the lumen in this region is a tapered cylinder; therefore, the lumen diameter is large, but gradually decreases from the proximal portion towards the distal portion of the vas deferens. The columnar epithelium is thin and the lamina propria is narrow, offering little vascularization. This remarkable luminal reduction is due to the progressive increase in epithelial cell height along the vas deferens and the variations in the diameters of the epithelium and lamina propria, which are increased in the distal segment and decreased in the proximal segment of the vas deferens.

b) In the junctional region, which is located between the proximal and distal regions of the vas deferens, the epithelium has a crenellated appearance, resembling small jagged parapets built on top of towers, forts or castles protecting the shooters. This signals the beginning of the formation of the mucosal folds, which are characteristic of the distal region of the organ.

c) In the distal region, the musculature of the vas deferens is thickened, which does not allow the visualization of its intraluminal content. The columnar epithelium is tall with mucosal folds and thickened lamina propria. In the living animal, the distal region is colored pink due to the increased vascularization when compared with the proximal region. Thus, a dramatic change occurs in the lumen geometry, which displays a stellate shape. It is not known if the lumen of the vas deferens increases during ejaculation.

d) In the terminal region of the vas deferens, before its confluence with the duct of the seminal vesicle to form the ejaculatory duct, the typical epithelium of the distal region is replaced with a simple epithelium containing nests of cells that

Brêtas S *et al.*

phagocytose the sperm. An obvious ampullary region is not observed in the vas deferens³.

The cause of testicular and vas deferens lesions is most likely related to vascularization. Experiments have shown that mobilization of the vas deferens with dissection of the artery of the vas deferens in rats resulted in a significant reduction in fertility and fecundity and also caused histological changes in the testis and epididymis. This most likely happened due to sympathetic denervation of the vas deferens, with consequent loss of motility and functional obstruction of the organ or possibly due to changes in testicular function. The clinical applicability of this theory is related to the fact that, in orchidopexy in humans, an extensive mobilization of the vas deferens may be required, resulting in lesions in the artery of the vas deferens⁹.

A change in the number of sperm in the epididymis may be influenced by: changes in testicular function, changes in blood flow and temperature of the epididymis, loss of tubular sympathetic tone and obstruction of the transit of sperm¹⁰.

Lesions in the contralateral testis caused by unilateral testicular damage are one of the most controversial aspects. The exact etiology of these lesions is still unclear. The neurovascular regulation of blood flow to the testicles and the possibility of reperfusion lesions after contralateral vascular compromise are hypotheses that attempt to explain this phenomenon. Another theory is that possible contralateral damage is immunological. However, it seems that autoimmunization in humans is an unlikely cause, at least in the long term, of contralateral testicular lesion¹¹⁻¹⁶.

Blunt dissection of the spermatic cord in rats causes greater changes in testicular volume than the compression and stretching of this structure¹².

Ceylan *et al.*¹¹ published the earliest reference found on the effects of stretching of the spermatic cord with traction force on the testis and vas deferens measured by a dynamometer. These authors reported having found decreased muscle thickening in the vas deferens wall of rats in group I in their experiment. They argued that the slightly greater increase in luminal diameter of the vas deferens in the animals of this group may have resulted in a significant decrease in wall muscle thickness of the organ. They mentioned that the reduced thickness of the muscular wall of the vas deferens in rats from group I was found in measurements performed on sections obtained from the vas deferens 2 cm distal to the epididymis.

However, these changes may not have actually occurred, given the following:

a) The histological differences between the four distinct regions of the vas deferens wall were not mentioned in the article

reporting that study; therefore, they were most likely not used as a methodological parameter;

b) Considering that the length of the vas deferens of rats ranges from 4.5 to 6 cm and structural changes occur over its length, sectioning of the vas deferens by the anatomic pathologist during the macroscopic examination does not necessarily specify whether the histological pattern of one or more regions of this structure can be found in the study;

c) The size of the lumen is not concatenated with a significant decrease in the thickness of the muscle wall, as suggested by these authors. The gradual narrowing of the lumen of the proximal region to the distal region of the vas deferens is due to a progressive increase in epithelial cell height along the vas deferens and to changes in the epithelial and lamina propria diameters, which together are increased in the distal segment and decreased in the proximal segment of this structure. The luminal diameter of the vas deferens wall is greatest in the proximal region and smallest in the distal region³;

d) That author reports that the group I rats have a slightly larger luminal diameter and thinner muscles compared with the other groups. This suggests that the cut levels of the vas deferens in the examined histological slides may have histological characteristics of different regions of the wall of this organ;

e) Regarding the alleged reduction in muscle thickness, there is information in the literature that in the second proximal centimeter of the vas deferens, the muscle wall of this organ is already thickened⁷. Therefore, it is very likely that the cut levels of the vas deferens examined in the histological slides by these authors have histological characteristics of the proximal and junctional regions of the vas deferens. In this area, the vas deferens most likely has a slightly larger lumen with some crenellations and thick muscles, merged with the portion of the vas deferens that has greater luminal diameter and thin muscles. If there is no previously established histological criteria, measurement and comparison of the dimensions of the vas deferens wall without observing the histological characteristics of its four distinct regions, depending on the proposed objectives, constitute a methodological flaw. Thus, it is essential to consider all of the aforementioned evidence to avoid an erroneous result.

Variations in the diameter and in the structure of the vas deferens along its length have been described in an experiment on the effects on the vas deferens of post-pubertal rats after they had previously been damaged when the rats were prepubertal. However, the authors of this study explained that some of their measurements were not statistically significant due to the small size of the sample¹⁷.

Conclusions

The traction force applied to the right spermatic cord of rats caused injury in the testis and the epididymis. Anatomopathological changes were not identified in the vas deferens, and there was no decrease in the muscle wall thickness of this organ.

References

1. Thorup J, Haugen S, Kollin C, Lindahl S, Läckgren G, Nordenskjöld A, Taskinen S. Surgical treatment of undescended testes. *Acta Paediatr*. 2007 May;96(5):631-7. PMID:17381472.
2. Kolbe A, Sun CC, Hill JL. Unpredictability of capsulotomy in testicular torsion. *J Pediatr Surg*. 1987 Dec;22(12):1105-9. PMID:3440895.
3. Hamilton DW, Cooper TG. Gross and histological variations along the length of the rat vas deferens. *Anat Rec*. 1978 Apr;190(4):795-809. PMID:637322.
4. Gouletsou PG, Galatos AD, Leontides LS. Comparison between ultrasonographic and caliper measurements of testicular volume in the dog. *Anim Reprod Sci*. 2008 Oct;108(1-2):1-12. PMID:17723281.
5. Lin CC, Huang WJ, Chen KK. Measurement of testicular volume in smaller testes: how accurate is the conventional orchidometer? *J Androl*. 2009 Nov-Dec;30(6):685-9. doi: 10.2164/jandrol.108.006460.
6. Shandling B, Janik JS. The vulnerability of the vas deferens. *J Pediatr Surg*. 1981 Aug;16(4):461-4. PMID:7277139.
7. Kennedy SW, Heidger PM Jr. Fine structural studies of the rat vas deferens. *Anat Rec*. 1979 May;194(1):159-79. PMID:355773.
8. Pampal A, Ozen IO, Ekingen G, Demirogullari B, Helvacioğlu F, Take G. The morphological evaluation of ipsilateral and contralateral vasa deferentia in a rat model of unilateral spermatic cord torsion. *Pediatr Surg Int*. 2010 Mar;26(3):287-92. doi: 10.1007/s00383-009-2533-5.
9. Smith EM, Dahms BB, Elder JS. Influence of vas deferens mobilization on rat fertility: implications regarding orchiopexy. *J Urol*. 1993 Aug;150(2 Pt 2):663-6. PMID:8100864.
10. Billups KL, Tillman S, Chang TS. Ablation of the inferior mesenteric plexus in rat: alteration of sperm storage in the epididymis and vas deferens. *J Urol*. 1990 Mar;143(3):625-9. PMID:2304184.
11. Ceylan H, Karakok M, Guldur E, Cengiz B, Bagci C, Mir E. Temporary stretch of the testicular pedicle may damage the vas deferens and the testis. *J Pediatr Surg*. 2003 Oct;38(10):1530-3. PMID:14577081.
12. Choi SE, Kook MC, Kim CJ, Lee SC, Park KW, Jung SE, Kim WK. Effects of compression/stretching of the spermatic cord and blunt dissection on testicular growth and fertility. *J Pediatr Surg*. 2009 Nov;44(11):2163-7. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2009.03.025.
13. Turner TT. On unilateral testicular and epididymal torsion: no effect on the contralateral testis. *J Urol*. 1987 Nov;138(5):1285-90. PMID:3499519.
14. Jesus LE. Acute scrotum. *Rev Col Bras Cir*. 2000 Jul-Aug;27(4):271-8. doi.org/10.1590/S0100-6991200000400008.
15. Nguyen L, Lievano G, Ghosh L, Radhakrishnan J, Fornell L, John E. Effect of unilateral testicular torsion on blood flow and histology of contralateral testes. *J Pediatr Surg*. 1999 May;34(5):680-3. PMID:10359163.
16. Kolettis PN, Stowe NT, Inman SR, Thomas AJ Jr. Acute spermatic cord torsion alters the microcirculation of the contralateral testis. *J Urol*. 1996 Jan;155(1):350-4. PMID:7490885.
17. Bengt BN, Jordan GH. Prepubertal vasal injury: its effect on postpubertal vas deferens. *J Urol*. 1993 Apr;149(4):906-9. PMID:8455272.

Acknowledgements

To Prof. Dr. Danilo Nagib Salomão Paulo, Professor of the Fundamentals of Surgery, College of Sciences of Santa Casa de Misericórdia of Vitória, Espírito Santo and the following medical students from College of Sciences of Santa Casa de Misericórdia of Vitória, Caroline Oliveira Brêtas, Guilherme Posses Bridi, Rafael Falk Zanello, Augusto Ribeiro de Jesus Oliveira, Luisa Carvalho Benedito, Murilo Silva Andrade and Gustavo Dias Santiago de Amorim for their participation in the experiment.

Correspondence:

Salomão Brêtas
Rua Eugenio Netto, 488/703
29.055-270 Vitória – ES Brasil
Tel.: (55 27)32277606 / 999826782
sbrêtas@gmail.com

Received: Mar 25, 2014

Review: May 22, 2014

Accepted: Jun 24, 2014

Conflict of interest: none

Financial source: none

¹Research performed at Laboratory of Animal Experimentation, Research Center, College of Sciences of Santa Casa de Misericórdia de Vitória, Espírito Santo, Brazil. Part of Master degree thesis, Postgraduate Program in Sciences Applied to Surgery and Ophthalmology, School of Medicine, Federal University of Minas Gerais (UFMG), Brazil. Tutor: Edson Same-sima Tatsuo.