

ISABELA PASSOS PEREIRA QUINTAES

FATOR DE CRESCIMENTO EPITELIAL E FASCIOTOMIA TESTICULAR  
DESCOMPRESSIVA PARA CONTROLE DA LESÃO TIPO ISQUEMIA-  
REPERFUSÃO EM RATOS.

UFMG- BELO HORIZONTE – MG

2017

ISABELA PASSOS PEREIRA QUINTAES

FATOR DE CRESCIMENTO EPITELIAL E FASCIOTOMIA TESTICULAR  
DESCOMPRESSIVA PARA CONTROLE DA LESÃO TIPO ISQUEMIA-  
REPERFUSÃO EM 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 obtenção do  
grau de Doutor.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Vívian Resende.

Co- orientador: Prof. Dr. Edson Samesima Tatsuo.

Co-orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Gleide F. de Avelar.

Área de concentração: Fisiopatologia da parede  
abdominal e das distopias testiculares.

Linha de pesquisa: ectopias testiculares.

Q7f Quintaes, Isabela Passos Pereira.  
Fator de crescimento epitelial e fasciotomia testicular descompressiva para controle da lesão tipo isquemia / reperfusão em ratos [manuscrito]. / Isabela Passos Pereira Quintaes. -- Belo Horizonte: 2017.  
122f.: il.  
Orientador: Vivian Resende.  
Coorientador: Edson Samesima Tatsuo, Gleide Fernandes de Avelar.  
Área de concentração: Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia.  
Tese (doutorado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.  
1. Torção do Cordão Espermático. 2. Testículo/cirurgia. 3. Fasciotomia. 4. Fator de Crescimento Epidérmico. 5. Antioxidantes. 6. Ratos Wistar. 7. Dissertações Acadêmicas. I. Resende, Vivian. II. Tatsuo, Edson Samesima. III. Avelar, Gleide Fernandes de. IV. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. V. Título.  
NLN: WJ 780

## **AUTORIDADES DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**Reitor:** Prof. Dr. Jaime Arturo Ramírez

**Vice-Reitora:** Profa. Dra. Sandra Regina Goulart Almeida

**Pró-Reitora de Pós-Graduação:** Profa. Dra. Denise Maria Trombert de Oliveira

**Pró-Reitora de Pesquisa:** Prof. Dr. Ado Jório de Vasconcelos

### **Faculdade de Medicina:**

**Diretor:** Prof. Dr. Tarcizo Afonso Nunes

**Vice-Diretor:** Prof. Dr. Humberto José Alves

**Coordenador do Centro de Pós-Graduação:**

Prof. Dr. Luiz Armando Cunha de Marco

**Subcoordenador do Centro de Pós-Graduação:**

Prof. Dr. Selmo Geber.

**Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia**

Prof. Dr. Túlio Pinho Navarro

**Subcoordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Cirurgia e à Oftalmologia:** Profa. Dra. Vivian Resende

**Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia e Oftalmologia:**

- Prof. Dr. Agnaldo Soares Lima
- Prof. Dr. Alexandre Varella Giannetti
- Prof. Dr. Marcio Bittar Nehemy
- Prof. Dr. Túlio Pinho Navarro
- Prof. Dr. Marco Aurélio Lana Peixoto
- Prof. Dr. Sebastião Cronemberger Sobrinho
- Prof. Dr. Renato Santiago Gomez
- Prof. Dr. Marco Antônio Percope de Andrade
- Prof<sup>a</sup>. Dr. Vivian Resende
- Prof. Dr. Marcelo Magaldi Ribeiro de Oliveira
- Taíse Miriam Cruz Mosso Ramos (representante discente)
- Artur Nicolato (representante discente)



## ATA DA DEFESA DE TESE DA ALUNA ISABELA PASSOS PEREIRA QUINTAES

Realizou-se, no dia 21 de agosto de 2017, às 14:00 horas, SALA 526, 5º ANDAR DA FACULDADE DE MEDICINA, da Universidade Federal de Minas Gerais, a defesa de tese, intitulada *Fator de crescimento epitelial e fasciotomia testicular descompressiva para controle da lesão tipo isquemia-reperfusão em ratos.*, apresentada por ISABELA PASSOS PEREIRA QUINTAES, número de registro 2013655040, graduada no curso de MEDICINA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em CIÊNCIAS APLICADAS À CIRURGIA E À OFTALMOLOGIA, à seguinte Comissão Examinadora: Profa. Vivian Resende - Orientadora (UFMG), Prof. Edson Samesima Tatsuo (UFMG), Prof. Marcelo Eller Miranda (UFMG), Prof. Clécio Piçarro (UFMG), Prof. Lourenço Sbragia Neto (USP-Ribeirão Preto), Prof. José Carlos Soares de Fraga (UFRGS).

A Comissão considerou a tese:

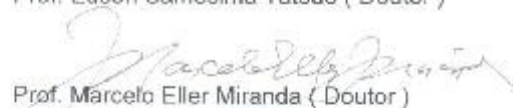
Aprovada

Reprovada

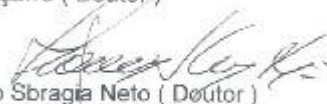
Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da Comissão.  
Belo Horizonte, 21 de agosto de 2017.

  
Profa. Vivian Resende (Doutora)

  
Prof. Edson Samesima Tatsuo (Doutor)

  
Prof. Marcelo Eller Miranda (Doutor)

  
Prof. Clécio Piçarro (Doutor)

  
Prof. Lourenço Sbragia Neto (Doutor)

  
Prof. José Carlos Soares de Fraga (Doutor)



*Prof. Vivian Resende*  
CONFERE COM ORIGINAL  
Centro de Pós-Graduação  
Faculdade de Medicina - UFMG  
SIFPE 2409568 06/09/2017



## FOLHA DE APROVAÇÃO

**Fator de crescimento epitelial e fasciotomia testicular descompressiva para controle da lesão tipo isquemia-reperusão em ratos.**

### ISABELA PASSOS PEREIRA QUINTAES

Tese submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS APLICADAS À CIRURGIA E À OF TALMOLOGIA, como requisito para obtenção do grau de Doutor em CIÊNCIAS APLICADAS À CIRURGIA E À OF TALMOLOGIA.

Aprovada em 21 de agosto de 2017, pela banca constituída pelos membros:

Profª. Vivian Resende - Orientadora  
UFMG

Prof. Edson Sarmegima Talsuo  
UFMG

Prof. Marcelo Eller Miranda  
UFMG

Prof. Clécio Picarro  
UFMG

Prof. Lourenço Sbragia Neto  
USP-Ribeirão Preto

Prof. José Carlos Soares de Fraga  
UPRGS

Belo Horizonte, 21 de agosto de 2017.

Ao meu querido pai, Valmir (1936-2013), com imensa saudade.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pai de infinita bondade, pelas bênçãos recebidas.

À Nossa Senhora pela proteção eterna.

Ao meu marido Marcos e meus filhos Amanda e Guilherme pela compreensão das ausências, apoio e amor incondicional.

À minha mãe por seu apoio, estímulo e carinho a mim sempre dedicados.

Ao professor doutor Edson Samesima Tatsuo pelo exemplo, orientações, incentivos e confiança depositada em mim.

À professora doutora Gleide Fernandes de Avelar pela sua acolhida, confiança e atenção a mim dedicadas.

Ao professor doutor José Carnevale pela eterna amizade e exemplo. Admiro muito a sua paixão pelo saber e capacidade de multiplicá-lo.

À professora da EMESCAM Marcela Souza Lima Paulo pelo auxílio durante os procedimentos experimentais.

Ao funcionário do centro de pesquisas da EMESCAM Magno Pinheiro Gomes, pelos cuidados dispensados aos ratos.

À doutora Jane Santana Castello, pela dedicação e atenção prestada.

À Mara Livia dos Santos pelo companheirismo e colaboração no estudo histológico.

A todos os colegas do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, pelo apoio e companheirismo.

Aos acadêmicos da UFMG e EMESCAM pelo auxílio na realização dos experimentos.

Aos ratos que, pequeninos, prestam grande serviço à humanidade.



“Se não puder voar, corra. Se não puder correr, ande. Se não puder andar, rasteje, mas continue em frente de qualquer jeito.”

Martin Luther King

\* 15/01/1929

+ 04/ 06/1968

## RESUMO

**INTRODUÇÃO:** A torção testicular é uma emergência urológica e importante causa de infertilidade masculina. Estudos recentes demonstram que além da isquemia, o restabelecimento do fluxo sanguíneo cria uma situação deletéria para o testículo. O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da aplicação do fator de crescimento epitelial tópico e sistêmico e sua associação com a fasciotomia testicular na recuperação tecidual do testículo submetido à torção do cordão espermático e as repercussões no testículo contralateral.

**MÉTODO:** A torção do cordão espermático foi induzida em ratos púberes Wistar por um período de 4 horas. Após a destorção, o fator de crescimento epitelial tópico e sistêmico e a fasciotomia testicular descompressiva foram aplicados como alternativas de tratamento. Após 21 dias, os testículos foram examinados macro e microscopicamente.

**RESULTADOS:** Foram avaliadas as variáveis peso e volume e o grau de comprometimento histológico por meio da microscopia óptica. A avaliação da recuperação do tecido testicular mostrou diferenças significantes entre os grupos. Foi observado que nos animais tratados com fator de crescimento epitelial via sistêmica, o peso e volume testiculares foram semelhantes aos animais do grupo controle e tiveram melhor classificação histológica quando comparados a todos os outros grupos. A classificação pelo escore de Johnsen foi significativamente mais alta no grupo com fator de crescimento epitelial e fasciotomia testicular descompressiva em relação ao grupo sem fasciotomia. Não foram observadas mudanças significantes nos testículos contralaterais.

**CONCLUSÃO:** Embora a fasciotomia descompressiva tenha melhorado o grau de espermatogênese, esta melhora foi limitada. A administração do fator de crescimento epitelial sistêmico em combinação com a fasciotomia testicular descompressiva foi mais efetiva para a espermatogênese do que a fasciotomia apenas. A administração do fator de crescimento epitelial após a reperfusão parece potencializar a recuperação dos danos histológicos da torção testicular. A combinação da fasciotomia testicular descompressiva e fator de crescimento epitelial tiveram efeito sinérgico na cicatrização tecidual destes testículos.

**Palavras-chaves:** torção do cordão espermático; testículo /cirurgia, fasciotomia descompressiva, fator de crescimento epitelial/ tratamento antioxidante, ratos.

## ABSTRACT

**BACKGROUND:** Testicular torsion is an urological emergency and an important cause of male infertility. Recent studies have shown that not only ischemia, but restoration of blood flow creates a deleterious situation for the testis. The goal of this research is to evaluate the role of application of topic and systemic epithelial growth factor and its association with decompressive fasciotomy in tissue recovery of the testis suffered the torsion of the spermatic cord.

**METHOD:** The torsion of the spermatic cord was induced in 60 Wistar pubescent testes for a period of 4 hours. At the time of detorsion topic and systemic epithelial growth factor and decompression fasciotomy were applied as treatment alternatives. After 21 days, the testicles were examined macro and microscopically.

**RESULTS:** Variables evaluated were weight, testicular volume and the degree of histological alterations by optical microscopy. The healing rate of testicular torsion showed significance difference between groups. It was noted that the animals treated with systemic epithelial growth factor weight and volume testicular resemble the control group and had better histological classification when compared with the others groups. Mean Johnsen score was significantly higher in the systemic growth factor and decompressive testicular fasciotomy than in the group without fasciotomy. No significant changes were noted in the contralateral testes.

**CONCLUSION:** Although decompressive testicular fasciotomy improved spermatogenesis, recovery was limited. Systemic epidermal growth factor administered in combination with decompressive testicular fasciotomy was more effective for spermatogenesis than fasciotomy alone. Administering epidermal growth factor after reperfusion might have the potential to decrease long- term histologic damage after testicular torsion. The combination of decompressive testicular fasciotomy and epidermal growth factor had synergistic effect on the healing of these testes.

**Key- words:** spermatic cord torsion, testis /surgery, decompressive fasciotomy, epidermal growth factor/ antioxidant treatment, rats.

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Desenho dos grupos e subgrupos experimentais. .....	Página 45
Quadro 2 - Pesos dos animais. .....	Página 101
Quadro 3 - Pesos dos testículos direitos .....	Página 104
Quadro 4 - Pesos dos testículos esquerdos .....	Página 105
Quadro 5 - Volume dos testículos direitos .....	Página 106
Quadro 6 – Volume dos testículos esquerdos .....	Página 107
Quadro 7 - Diâmetro do epitélio seminífero testículos esquerdos .....	Página 108
Quadro 8 - Altura do epitélio seminífero testículos esquerdos .....	Página 109
Quadro 9 - Graduação histológica dos testículos direitos .....	Página 110
Quadro 10 – Quadros do grupo Gelfoam® .....	Página 114
Quadro 11 . Graduação histológica de Johnsen. .....	Página 119

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Fotografias A, B, C, D, E e F dos testículos direitos exposição no campo operatório, com torção, pós destorção, com fasciotomia e aplicação tópica do FCE, respectivamente.

.....Página 42

Figura 2- Fotografias A e B. Fotografia da chave de identificação dos ratos, com a marcação da cauda. Rato de grupo sem FCE e sem fasciotomia (SFCESSF) e com fator de crescimento epitelial tópico e sistêmico com fasciotomia (CFCETOSSCF)

.....Página 44

Figura 3- Fotomicrografias da histologia de ratos. Grupo controle (C), sem FCE e sem fasciotomia (SFCESSF) e sem fator de crescimento epitelial com fasciotomia (SFCECF).

.....Página 69

Figura 4- Fotomicrografias da histologia de ratos. Grupo com FCE tópico e sistêmico sem fasciotomia (CFCETOSSF), com fator de crescimento epitelial tópico e sistêmico com fasciotomia (CFCETOSSCF) e grupo gelfoan (G).

.....Página 70

Figura 5- Fotomicrografias da histologia testicular de ratos. Grupo controle (C), grupo com fator de crescimento epitelial sistêmico (CFCESSF) e grupo com fator de crescimento epitelial sistêmico com fasciotomia (CFCESCF).

.....Página 71

Figura 6- Esquema ilustrativo de uma porção de um túbulo seminífero

.....Página 117

Figura 7- Desenho esquemático da natureza clonal das células germinativas.

.....Página 118

Figura 8 – Fotografia do fator de crescimento epitelial

.....Página 120

## LISTA DAS TABELAS

Tabela 1- Peso dos testículos direitos dos ratos dos grupos sem FCE e sem fasciotomia (SFCEsf), sem FCE com fasciotomia (SFCECF), com FCE tópico e sistêmico sem fasciotomia (CFCETOSSF), com FCE tópico de sistêmico com fasciotomia (CFCETOSCF) e grupo controle (C).

.....Página 51

Tabela 2- Peso dos testículos direitos dos ratos dos grupos sem FCE e sem fasciotomia (SFCEsf), sem FCE com fasciotomia (SFCECF), com FCE sistêmico sem fasciotomia (CFCESSF), com FCE e fasciotomia (CFCESCF) e grupo controle (C).

.....Página 52

Tabela 3- Peso dos testículos esquerdos dos ratos dos grupos sem FCE e sem fasciotomia (SFCEsf), sem FCE com fasciotomia (SFCECF), com FCE tópico e sistêmico sem fasciotomia (CFCETOSSF), com fator de crescimento epitelial sistêmico com fasciotomia (CFCESCF) e grupo controle (C).

.....Página 53

Tabela 4- Peso dos testículos esquerdos dos ratos dos grupos sem FCE e sem fasciotomia (SFCEsf), sem FCE com fasciotomia (SFCECF), com FCE sistêmico sem fasciotomia (CFCESSF), com FCE e fasciotomia (CFCESCF) e grupo controle (C).

.....Página 54

Tabela 5- Volume dos testículos direitos dos ratos dos grupos sem FCE sem fasciotomia (SFCEsf), sem FCE com fasciotomia (SFCECF), com FCE tópico e sistêmico sem fasciotomia (CFCETOSSF), com FCE tópico e sistêmico com fasciotomia (CFCETOSCF), e grupo controle (C).

.....Página 56

Tabela 6- Volume dos testículos direitos dos ratos dos grupos sem FCE sem fasciotomia (SFCE SF), sem FCE com fasciotomia (SFCE CF), com FCE sistêmico sem fasciotomia (CFCESSF), com FCE sistêmico com fasciotomia (CFCE SCF) e grupo controle.

.....Página 57

Tabela 7- Volume testicular esquerdo dos ratos dos grupos sem FCE e sem fasciotomia (SFCE SF), sem FCE e com fasciotomia (SFCE CF), com FCE tópico e sistêmico sem fasciotomia (CFCE TOSSF), com FCE tópico e sistêmico com fasciotomia (CFCE TO SCF) e grupo controle (C).

.....Página 59

Tabela 8- Volume testicular esquerdo dos ratos dos grupos sem FCE sem fasciotomia (SFCE SF), sem FCE com fasciotomia (SFCE CF), com FCE sistêmico sem fasciotomia (CFCESSF), com FCE sistêmico com fasciotomia (CFCE SCF) e grupo controle (C).

.....Página 60

Tabela 9- Diâmetro do epitélio seminífero do testículo esquerdo dos ratos dos grupos sem FCE sem fasciotomia (SFCESSF), sem FCE com fasciotomia (SFCE CF), com FCE tópico e sistêmico sem fasciotomia (CFCE TO SCF) grupo controle (C).

.....Página 61

Tabela 10- Diâmetro do epitélio seminífero do testículo esquerdo dos ratos dos grupos sem FCE sem fasciotomia (SFCE SF), sem FCE com fasciotomia (SFCE CF), com FCE sistêmico sem fasciotomia (CFCE SF), com FCE sistêmico com fasciotomia (CFCE SCF) e grupo controle (C).

.....Página 62

Tabela 11- Espessura do epitélio seminífero do testículo esquerdo dos ratos dos grupos sem FCE e sem fasciotomia (SFCE SF), sem FCE com fasciotomia (SFCE CF), com FCE tópico e sistêmico sem fasciotomia (CFCE TOSSF), com FCE tópico e sistêmico com fasciotomia (CFCE TO SCF) e grupo controle.

.....Página 63

Tabela 12- Espessura do epitélio seminífero do testículo esquerdo dos ratos dos grupos sem FCE e sem fasciotomia (SFCE SF), sem FCE com fasciotomia (SEFCE CF), com FCE sistêmico sem fasciotomia (SFCE S SF), com FCE sistêmico com fasciotomia (CFCE SCF) e grupo controle (C).

.....Página 64

Tabela 13- Graduação histológica dos testículos direitos dos ratos dos grupos sem FCE sem fasciotomia (SFCE SF), sem FCE com fasciotomia (SFCE CF), com FCE tópico e sistêmico sem fasciotomia (CFCE TOSSF), com FCE tópico e sistêmico com fasciotomia (CFCE TO SCF) e grupo controle (C).

.....Página 65

Tabela 14- Graduação histológica dos testículos direitos dos ratos dos grupos sem FCE sem fasciotomia (SFCE SF), sem FCE com fasciotomia (SFCE CF), com FCE sistêmico sem fasciotomia (CFCE S SF), com FCE sistêmico com fasciotomia (CFCE SCF) e grupo controle (C).

.....Página 66

Tabela 15- Graduação histológica dos testículos direitos dos ratos de todos os grupos do experimento.

.....Página 67



## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AES - altura do epitélio seminífero.

ATP - adenosina trifosfato.

C - controle.

CFCE - com fator de crescimento epitelial.

CFCESCF- com fator de crescimento epitelial sistêmico com fasciotomia.

CFCESSF- com fator de crescimento epitelial sistêmico sem fasciotomia.

CFCETOSCF- com fator de crescimento epitelial tópico e sistêmico com fasciotomia.

CFCETOSSF- com fator de crescimento epitelial tópico e sistêmico sem fasciotomia.

cm<sup>3</sup> – centímetro cúbico.

COBEA - Colégio Brasileiro de Experimentação Animal.

DNA- ácido desoxirribonucleico.

DTS – diâmetro do túbulo seminífero.

EMESCAM - Escola de Medicina da Santa Casa de Misericórdia.

FCE- fator de crescimento epitelial.

FDM- fator derivado de macrófagos

G – Gelfoam.

g – grama.

HB-EGF- fator de crescimento ligado a heparina.

ICB- Instituto de Ciências Biológicas.

IGF-I – fator de crescimento derivado de insulina.

Kg – quilograma.

mg – miligrama.

n – número da amostra.

PDGF- fator de crescimento derivado de plaquetas

ROS - substância reativa de oxigênio.

SFCE- sem fator de crescimento epitelial.

SFCECF- sem fator de crescimento epitelial com fasciotomia.

SFCECF- sem fator de crescimento epitelial com fasciotomia.

TGF- $\beta$ - fator de crescimento transformador beta.

TNF $\alpha$ - fator de necrose tumoral alfa.

UFMG- Universidade Federal de Minas Gerais.

$\mu\text{m}$  – micrômetro.

V – volume.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	20
1.1 Objetivos.....	23
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	24
2.1 Torção do cordão espermático.....	24
2.1.1 Fisiopatologia.....	25
2.2 Fator de crescimento epitelial.....	28
2.3 Síndrome compartimental.....	31
3 MÉTODO.....	33
3.1 População e amostra da pesquisa.....	33
3.2 Critérios de inclusão.....	33
3.3 Critérios de exclusão.....	33
3.4 Ambientes de experimentação.....	34
3.5 Grupos de estudo.....	34
3.6 Ato anestésico.....	37
3.7 Preparo e posicionamento dos ratos.....	37
3.8 Torção do cordão espermático.....	38
3.9 Identificação dos ratos.....	43
3.10 Quadro de grupos de ratos.....	45
3.11 Avaliação macroscópica.....	47
3.12 Processamento histológico.....	47
3.13 Histopatologia.....	48
3.14 Análise Estatística .....	49
4 RESULTADOS.....	50
4.1 Idade dos animais.....	50
4.2 Peso dos animais.....	50

4.3 Avaliação macroscópica.....	51
4.3.1 Peso dos testículos direitos.....	51
4.3.2 Peso dos testículos esquerdos.....	53
4.3.3 Volume testicular direito.....	55
4.3.4 Volume testicular esquerdo. ....	58
4.4 Avaliação histopatológica dos testículos esquerdos.....	61
4.5 Graduação histológica dos testículos direitos.....	65
4.6 Graduação histológica dos testículos esquerdos.....	68
4.7 Avaliação grupo gelfoan.....	68
5 DISCUSSÃO.....	72
5.1 Modelo experimental.....	72
5.2 Tratamento da lesão isquemia / reperfusão.....	75
5.3 O FCE na regeneração epitelial.....	77
5.4 O gelfoan.....	79
5.5 O comprometimento do testículo contralateral.....	81
5.6 Fasciotomia testicular descompressiva .....	85
5.7 Limitações do estudo.....	87
6 PERSPECTIVAS.....	88
7 CONCLUSÃO.....	89
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	90
9 APÊNDICES....	101
10 ANEXOS .....	119

## 1 INTRODUÇÃO

A torção testicular é uma emergência urológica que se manifesta como “escroto agudo”<sup>1,2</sup>, termo que caracteriza uma entidade clínica que se apresenta com dor testicular, edema, hiperemia, aumento do volume escrotal, náuseas e vômitos. Esta afecção apresenta uma incidência aproximada de 1:4000 homens antes dos 25 anos de idade.<sup>3,4</sup>

A torção é, na verdade, a rotação do testículo, em conjunto com o epidídimo e o cordão espermático, ao redor do seu eixo longitudinal. A média de idade do paciente que apresenta torção de testículo é 14 anos, faixa etária de importante afirmação psicológica e de início do desenvolvimento dos espermatozoides.<sup>5,6</sup>

As principais lesões do parênquima testicular são causadas pela sua isquemia, as quais são representadas progressivamente pelas diferentes fases da necrose de coagulação. Entretanto, além da isquemia, a reperfusão do parênquima do testículo torcido é também responsável pela produção de substâncias tóxicas à espermatogênese do testículo acometido.<sup>7</sup>

Importante causa de infertilidade masculina, mesmo com a adequada intervenção cirúrgica precoce, até 40% dos testículos podem estar necrosados, e mesmo aqueles considerados viáveis durante a exploração cirúrgica, mais de 25% deles podem evoluir para a atrofia.<sup>4</sup>

Atrasos no diagnóstico e tratamento podem resultar em necrose testicular e consequentes alterações da fertilidade.

O tema torção do funículo espermático tem sido amplamente estudado sob diversos aspectos, como o efeito do fenômeno isquemia / reperfusão, o dano sobre o testículo ipsilateral e o contralateral e os meios de evitar e / ou reduzir as suas consequências.<sup>7,8</sup>

Atualmente, dados clínicos e experimentais sugerem que a isquemia testicular unilateral induzida pela torção do cordão espermático resulta em mudanças histológicas muitas vezes irreversíveis para os testículos. Estas mudanças são proporcionais à duração do processo isquêmico e estão relacionadas à redução da fertilidade subsequente.<sup>9</sup>

A síndrome compartimental é o resultado final de uma variedade de condições que culminam com hipóxia tecidual e posterior morte celular. Geralmente vista após trauma, ocorre por aumento do volume tecidual ou quando uma força externa comprime um compartimento. Esse fenômeno tem sido bem documentado na literatura ortopédica e de trauma e recentemente tem sido descrita em outros órgãos e tecidos. O testículo é um órgão de risco devido a características peculiares da túnica albugínea, que é inelástica.<sup>9,10</sup>

A fasciotomia é o tratamento cirúrgico adequado para a síndrome compartimental. Kolbe<sup>10</sup> introduziu a idéia da síndrome compartimental em um estudo experimental, e apesar dos resultados inconclusivos, a fisiopatologia desta síndrome na torção do cordão espermático foi posteriormente demonstrada por Kutikov e colaboradores<sup>9</sup>. Recentemente publicamos um estudo experimental em que demonstramos que a abertura da albugínea testicular beneficiou os testículos dos animais submetidos à torção por período de 12 horas.<sup>11</sup>

O estresse oxidativo representa um desequilíbrio entre produção de radicais livres e os mecanismos de defesa do organismo. Pesquisas demonstram que a reperfusão do tecido isquêmico promove a sua geração por meio da formação de radicais livres.<sup>12</sup> Estudos com modelos experimentais e o uso de substâncias antioxidantes trouxeram novas informações para melhor entendimento das repercussões locais e sistêmicas do estresse oxidativo induzido pela torção do cordão espermático<sup>7, 12</sup>.

Contudo ainda não existem estudos que comprovem uma redução da resposta inflamatória pós- destorção após a fasciotomia testicular em associação com fatores que possam modular a proliferação celular posteriormente à lesão do tipo isquemia- reperfusão. O estudo qualitativo e quantitativo, proposto nesta pesquisa, da espermatogênese permite avaliar os tipos de respostas morfológicas, bem como a gravidade e frequência de danos oxidativos causados ao parênquima testicular, permitindo detecção mais acurada e sensível dos efeitos adversos provocados pela lesão do tipo isquemia reperfusão.

## 1.1 OBJETIVOS:

1) Avaliar os efeitos macroscópicos e histológicos do testículo de ratos submetidos à torção do cordão espermático e tratados com destorção e aplicação do fator de crescimento epitelial.

1.1 Avaliar os efeitos da aplicação tópica por meio do Gelfoam<sup>®</sup> do fator de crescimento epitelial sobre o testículo, após a destorção do cordão espermático.

1.2 Avaliar os efeitos da aplicação sistêmica via subcutânea do fator de crescimento epitelial após a destorção do cordão espermático.

2) Comparar os animais de diferentes grupos e analisar se o uso da fasciotomia testicular em associação com a aplicação do fator de crescimento epitelial tem efeito benéfico no tratamento.

3) Avaliar os efeitos da lesão do tipo isquemia / reperfusão no testículo contralateral à torção.



## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Torção do Cordão Espermatóico

A torção testicular, ou mais especificamente, torção do cordão espermatóico resulta da rotação anômala do testículo em torno do seu eixo longitudinal, com um impedimento do fluxo sanguíneo ao testículo, resultando em sua isquemia.<sup>4, 13</sup>

Pode ser extravaginal, mais comumente encontrada no período neonatal, quando a rotação ocorre acima da inserção da túnica vaginal, ou intravaginal, responsável por 90% dos casos. Neste tipo de malformação uma túnica vaginal redundante recobre além do testículo e epidídimo, parte do funículo espermatóico. Esta deformidade, conhecida como “badalo de sino”, permite que o testículo gire livremente no interior da túnica vaginal, provocando a torção. A anomalia de fixação testicular é comumente bilateral fazendo que a possibilidade de torção contralateral assincrônica possa ocorrer em até 40% dos casos.<sup>14, 15, 16</sup>

Aproximadamente 15% dos casais são clinicamente inférteis, e a infertilidade do homem é responsável por até metade dos casos. Diversas condições como varicocele, criptorquidia, torção testicular e endocrinopatias podem associar-se à disfunção testicular. Aproximadamente 45% dos homens inférteis apresentam uma destas condições.<sup>17</sup> A torção do cordão espermatóico tem incidência de 1:4000 homens antes dos 25 anos de idade, e é importante causa de infertilidade masculina. Assim, apesar da adequada intervenção cirúrgica precoce até 40% dos testículos podem estar comprometidos e mesmo entre

aqueles considerados viáveis durante a exploração cirúrgica, mais de 25% podem evoluir para atrofia. <sup>4,9</sup>

É uma emergência médica que necessita de diagnóstico e tratamento rápidos, pois atrasos podem resultar em isquemia, necrose testicular e consequentes alterações na fertilidade. A maioria dos testículos considerados viáveis são aqueles cujos pacientes tem história de início dos sintomas até o tratamento entre seis e dez horas <sup>18</sup>. Entretanto, a razão para a perda da função em testículos considerados viáveis é objeto de inúmeras pesquisas. Estudos recentes demonstram que não só a isquemia, mas o restabelecimento do fluxo sanguíneo após uma situação de diminuição do seu aporte cria uma situação denominada fenômeno de isquemia / reperfusão que seria deletério para o tecido testicular. <sup>7</sup>

#### 2.1.1 Fisiopatologia:

A torção do cordão espermático resulta em progressiva oclusão venosa testicular, que leva a um edema parenquimatoso e ruptura vascular com hemorragia intersticial. Posteriormente ocorre o comprometimento arterial por oclusão mecânica, com isquemia generalizada e infarto testicular.

Os distúrbios metabólicos durante a isquemia e hipóxia tissular estão bem estabelecidos, porém evidências clínicas e experimentais demonstram que os principais eventos que levam a disfunção celular e tecidual relacionam-se com a subsequente reperfusão. <sup>19</sup>

Quando o fluxo sanguíneo tissular é interrompido, uma série de processos metabólicos e enzimáticos é afetada. As reservas de adenosina trifosfato (ATP) são rapidamente depletadas, há acúmulo de lactato, a célula se torna

acidótica e são ativadas proteases intracelulares. Além disso, o aumento da permeabilidade capilar colabora para o edema celular. Devido à reversibilidade deste processo relacionar-se diretamente com a duração da isquemia, o objetivo terapêutico principal é restabelecer a reperfusão o mais rápido possível. Embora o benefício da reperfusão precoce seja inquestionável, a reintrodução do oxigênio em um meio isquêmico inicia uma corrente complexa de eventos acarretando lesões tissulares adicionais a um acúmulo intracelular de cálcio.<sup>20,21.</sup>

Muito se têm estudado, nos últimos 35 anos, a respeito da patogênese da lesão de reperfusão, seja sobre o tratamento com o uso de substâncias consideradas antioxidantes, como o alopurinol, ou sobre a síndrome compartimental testicular e maneiras de reversão, conforme estudos de Kolbe e Quintaes. Estes estudos incluem investigações laboratoriais, clínicas, ensaios clínicos e estudos experimentais.<sup>7,9, 10,11</sup>

Em um modelo experimental de torção testicular, em ratos, a perda permanente da espermatogênese foi observada após reparo da torção, apesar do restabelecimento do fluxo sanguíneo e manutenção das funções das células de Leydig e Sertoli. Esta perda da espermatogênese parece ser decorrente da apoptose das células germinativas que ocorre após a lesão isquemia-reperfusão.<sup>22,23</sup>

A apoptose das células germinativas tem papel fundamental em uma variedade de processos fisiológicos durante o desenvolvimento do tecido testicular fetal e de adulto. Ela é necessária no processo de espermatogênese normal e

acredita-se que assegure a homeostasia e mantenha o equilíbrio de balanço entre as células germinativas e de Sertoli.

Apoptose, ou morte celular programada, é um evolucionário processo geneticamente controlado de “suicídio” de células não funcionais. É um processo fisiológico que o corpo dispõe para destruição de células indesejáveis e é o mecanismo mais importante de defesa contra o dano celular. A célula que sofre apoptose é caracterizada por condensação nuclear e fragmentação do DNA, com a membrana celular se mantendo intacta durante os estágios iniciais. Em contraste com a necrose que é um processo de morte acidental, apoptose é considerada o mais especializado evento que culmina com a morte celular.<sup>24</sup>

Após a exploração escrotal precoce e distorção do cordão espermático, o processo inflamatório induzido pela reperfusão é responsável pelo dano tecidual. Esta resposta inflamatória é caracterizada pelo aumento da permeabilidade vascular, recrutamento de neutrófilos e diapedese. Após os neutrófilos migrarem para dentro do interstício do testículo, eles secretam citocinas como fator de necrose tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ) e interleucinas. Contudo, a maior consequência desta resposta inflamatória local é a excessiva produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), os chamados radicais livres e o estresse oxidativo. As ROS podem ser produzidas em grandes quantidades por macrófagos e neutrófilos, mas também por espermatogônias e outros tipos celulares sob condições patológicas. Em circunstâncias normais, há um eficiente sistema de defesa contra os efeitos deletérios das ROS. Contudo, o estresse oxidativo ocorre quando esta produção de radicais livres ultrapassa a capacidade deste sistema de defesa antioxidante.<sup>24</sup> Esta superprodução de

radicais livres é, por si só, um mediador da morte celular por apoptose. Após a lesão do tipo isquemia / reperfusão, estas substâncias geradas pela resposta inflamatória resultam em alterações mitocondriais, fosforilação oxidativa, depleção de ATP, aumento do cálcio intracelular e ativação de enzimas de degradação. Esta sequência de eventos resulta na perda da integridade celular levando conseqüentemente à apoptose de células germinativas. Estas parecem ser o primeiro tipo celular a sofrer apoptose após a lesão do tipo isquemia- reperfusão nos testículos.<sup>25</sup>

## 2.2 Fator de Crescimento Epitelial

A cicatrização de feridas é um complexo processo biológico bem caracterizado do ponto de vista microscópico. Do ponto de vista molecular, dados indicam que os fatores de crescimento e seus receptores regulam este processo.<sup>26</sup>

O processo cicatricial compreende três estágios: inflamatório, proliferativo e o estágio de remodelação. Há uma sobreposição temporal entre estes diferentes estágios, de forma que todo o processo de cicatrização prolonga-se por vários meses. O estágio inflamatório tem duração de alguns dias e é iniciado pelo processo de agregação e degranulação plaquetária.<sup>26</sup> Os grânulos plaquetários contêm diversos fatores de crescimento, incluindo fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento derivado insulina (IGF-I), fator de crescimento epitelial (FCE) e fator de crescimento transformador beta (TGF- $\beta$ ), que são potentes quimiotáticos de células inflamatórias. Estes fatores logo são difundidos na ferida e degradados por proteases; rapidamente ocorre então a migração dos neutrófilos, seguida dos macrófagos. Estes por sua vez, iniciam a secreção e liberação de fatores de

crescimento, agora incluindo os fatores derivados dos macrófagos (FDM), fator de crescimento de fibroblastos beta ( $\beta$ -FGF) e fator de crescimento ligado a heparina (HB-EGF). Estes fatores irão estimular a migração de fibroblastos, células epiteliais e células vasculares endoteliais para a cicatrização tecidual.<sup>27</sup>

À medida que os fibroblastos e outras células migram para a ferida, inicia-se a fase proliferativa, e a celularidade aumenta assim como a formação neocapilar. Com a formação da cicatriz inicial, inicia-se a fase de remodelação, que usualmente perdura vários meses.<sup>25</sup>

O fator de crescimento epitelial (FCE) é um polipeptídeo de 53 aminoácidos que foi isolado inicialmente em glândulas submandibulares de ratos machos. É capaz de ativar o receptor do FCE, e assim modular a proliferação de células epiteliais, endoteliais, fibroblastos e queratinócitos. Embora tenha sido descoberto há mais de trinta anos, o seu papel fisiológico no organismo normal e com enfermidades tem sido objeto de muitas pesquisas atuais.<sup>28</sup>

Quantidades substanciais de fator de crescimento epitelial imunorreativo foram encontradas em uma grande variedade de extratos de tecidos humanos e fluidos corporais como líquido amniótico, leite, saliva, suco gástrico, duodenal, pancreático, urina e sangue. Isto leva a crer que este polipeptídeo pode agir de forma autócrina, parácrina e até mesmo endógena.<sup>29</sup> Além disso, a administração parenteral de FCE em concentrações farmacológicas tem mostrado efeitos profilático e terapêutico em diferentes modelos “in vivo”.<sup>28</sup>

Em modelos animais, o FCE auxilia na cicatrização de úlceras pépticas, efeitos vistos mais claramente quando usado por via sistêmica. Também tem sido usado clinicamente em pacientes com úlceras duodenais e síndrome de

Zollinger - Ellison, pela sua potente ação inibitória do suco gástrico.<sup>30</sup> Três crianças portadoras de atrofia congênita de microvilosidades que foram tratadas com o FCE evoluíram com aumento da população de células crípticas tanto em tamanho como na fração proliferativa. Dados de pesquisas sugerem que a exposição antenatal ao FCE promove a maturação do pulmão fetal e diminui acentuadamente a severidade do desconforto respiratório.<sup>31,32</sup>

Humes e colaboradores, em 1989, foram os primeiros a demonstrar que o FCE acelera o processo de reparo em uma víscera após lesão. Eles avaliaram o efeito da administração de FCE exógeno no processo regenerativo do rim e de sua função após lesão isquêmica em um modelo de experimentação animal em ratos. O tratamento com FCE aumentou a incorporação da timidina renal quando comparada ao grupo de animais não tratados, após 24, 48 e 72 horas da lesão isquêmica. Isto acelerou o processo de replicação do DNA, com queda significativa dos níveis séricos de uréia e creatinina; sendo que a normalização dos níveis de creatinina ocorreu em aproximadamente quatro dias no grupo tratado.<sup>33</sup>

No testículo, a administração exógena do FCE melhora a recuperação frente à lesão do tipo isquemia / reperfusão, mas a sua base molecular ainda não é totalmente conhecida. Estudos experimentais em ratos com lesão testicular causada por isquemia e reperfusão mostram aumento dos níveis endógenos de FCE logo no início da reperfusão. A privação do fator de crescimento epitelial circulante provocada por uma sialoadenectomia agrava a lesão testicular, especialmente em espermátocitos primários em paquíteno, resultando no aumento de apoptose destas células germinativas.<sup>34</sup>

Além disto, o FCE endógeno circulante parece ser indispensável para a manutenção adequada da relação entre as células germinativas e as de Sertoli. A administração parenteral de FCE em concentrações farmacológicas provoca efeitos benéficos significativos na prevenção e tratamento de diversas doenças, como úlceras gástrica e duodenal, enterite necrozante, hepatite, mucosite ulcerativa pós-quimioterapia e outras, conforme estudos experimentais de Acosta.<sup>28</sup>

### 2.3 Síndrome compartimental

A introdução da teoria da síndrome compartimental intratesticular na lesão do tipo isquemia / reperfusão tornou-se um marco nas pesquisas clínicas e experimentais na torção do cordão espermático. Kutikov, em 2008, utilizando um monitor portátil de pressão compartimental comprovou a presença da síndrome compartimental na torção do cordão espermático e demonstrou pelo acompanhamento clínico e ultrassonográfico dos pacientes, que a fasciotomia testicular descomprime o testículo e que a rotação de retalho da túnica vaginal seria importante para proteger os túbulos seminíferos, com aumento da complacência e do volume testicular.<sup>9</sup> Outro estudo clínico foi realizado posteriormente por Figueroa e colaboradores, (2012), que realizaram a mesma técnica em pacientes com torção de testículos que apresentavam viabilidade duvidosa durante o procedimento cirúrgico. Embora com número limitado de pacientes, ocorreu diminuição da taxa de orquiectomia naquele serviço.<sup>35</sup>

Watson e colaboradores, (2015), conseguiram caracterizar a interrupção do fluxo sanguíneo intratesticular, em modelo experimental, como resultado do aumento da pressão intracompartimental do órgão.<sup>36</sup>



Moritoki e colaboradores, (2012), avaliaram, em modelo animal, a correlação existente entre a pressão intratesticular e o aparecimento de alterações da espermatogênese em testículos submetidos à torção do funículo espermático e considerados clinicamente viáveis pós-intervenção. Assim, demonstraram que a baixa redução da pressão intratesticular após a destorção pode ser um fator de risco para distúrbios subsequentes da espermatogênese.<sup>72</sup> Todavia, a sua análise tinha como objetivo determinar parâmetros diagnósticos de inviabilidade testicular e de indicação de ressecção.

Kolbe e colaboradores, (1987), também pioneiros na ideia da síndrome compartimental relataram não haver diferenças significativas nas lesões testiculares histopatológicas em ratos Sprague-Dawley submetidos à capsulotomia testicular. Seus resultados, no entanto, foram inconclusivos devidos uma grande variabilidade histológica encontrada.<sup>10</sup>

Quintaes e colaboradores (2013) publicaram estudo experimental em que demonstraram que a abertura da albugínea testicular beneficiou os testículos dos animais submetidos à torção por período de 12 horas.<sup>11</sup>

### 3 MÉTODO

O manejo e cuidado dos animais seguiram as disposições sobre a criação e o uso de animais para atividades de ensino e pesquisa, preconizadas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA, 1999).

A execução do projeto foi aprovada pelos Comitês de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) (363/2013) e Escola de Medicina da Santa Casa de Misericórdia, (EMESCAM), Vitória /ES (01/2013).

Estudo experimental controlado randomizado.

#### 3.1 População e amostra da pesquisa

Utilizaram-se 60 ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia Mammalia*) procedentes do Biotério Central da EMESCAM e do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG (ICB).

.

#### 3.2 Critérios de inclusão:

Ratos machos jovens com idade entre 60- 70 dias e peso entre 200 a 360 gramas.

#### 3.3 Critérios de exclusão:

Ratos que apresentaram complicações cirúrgicas como infecção ou óbito.

### 3.4 Ambientes de experimentação

Os experimentos foram realizados no Centro de Pesquisa da EMESCAM e no Instituto de Ciências Biológicas da UFMG (ICB). Os ratos foram mantidos em caixas de polipropileno de dimensões padronizadas, com número máximo de quatro animais por caixa, sendo mantidos durante todo o período de observação no biotério em condições padronizadas de laboratório, com ciclo de 12 horas de claridade e 12 horas de escuridão e temperatura entre 20<sup>o</sup> e 24<sup>o</sup>C. Os ratos foram alimentados com ração própria para a espécie (Nuvital nutrientes<sup>®</sup>) e tiveram livre acesso a água potável acondicionada em frascos adequados durante todo o procedimento.

### 3.5 Grupos de estudo

Inicialmente os 60 ratos foram distribuídos de maneira aleatória em oito grupos: com fator de crescimento epitelial, sem fator de crescimento epitelial (e seus respectivos subgrupos), grupo controle e grupo com gelfoan, da seguinte forma:

Grupo SFCE:

Sem fator de crescimento epitelial.

Grupo 1- Ratos submetidos à torção do cordão espermático direito por um período de quatro horas e em seguida destorção e fixação testicular sem aplicação do fator de crescimento epitelial sem fasciotomia testicular descompressiva (SFCEsf) (n=8).

Grupo 2- Ratos submetidos à torção do cordão espermático direito por um período de quatro horas e em seguida destorção e fixação testicular sem aplicação do fator de crescimento epitelial com fasciotomia testicular descompressiva (SFCECF) (n=8).

Grupo CFCETOS:

Com fator de crescimento epitelial tópico e sistêmico.

Grupo 3- Ratos submetidos à torção do cordão espermático direito por um período de quatro horas e em seguida destorção e fixação testicular e aplicação do fator de crescimento epitelial tópico e sistêmico, via subcutânea; sem fasciotomia testicular descompressiva (CFCETOSSF) (n=8).

Grupo 4- Ratos submetidos à torção do cordão espermático direito por um período de quatro horas e em seguida destorção e fixação testicular e aplicação do fator de crescimento epitelial tópico e sistêmico, via subcutânea; e fasciotomia testicular descompressiva (CFCETOSCF) (n=8).

Grupo CFCES:

Com fator de crescimento epitelial sistêmico.

Grupo 5- Ratos submetidos à torção do cordão espermático direito por um período de quatro horas e em seguida destorção e fixação testicular com aplicação do fator de crescimento epitelial sistêmico via subcutânea sem fasciotomia testicular descompressiva (CFCESSF) (n=8).

Grupo 6- Ratos submetidos à torção do cordão espermático direito por um período de quatro horas e em seguida destorção e fixação testicular com aplicação do fator de crescimento epitelial sistêmico via subcutânea e fasciotomia testicular descompressiva. (CFCESCF) (n=8).

Grupo 7 Gelfoam<sup>®</sup>- Ratos submetidos a implante de Gelfoam<sup>®</sup> no testículo direito, sem torção do cordão espermático (G) (n=4).

Grupo 8 Controle- Ratos submetidos à orquiectomia bilateral (C) (n=8).

### 3.6 Ato anestésico

Todos os animais foram pesados no início do procedimento cirúrgico. A anestesia foi obtida com injeção intramuscular de cloridrato de cetamina a 10% (Laboratório Pfizer /Guarulhos, SP, Brasil) no músculo da face anterior da coxa direita. Este medicamento foi administrado na dose de 60mg/Kg de peso corporal, e xilazina a 2% (Laboratório Bayer, São Paulo, SP, Brasil), na dose de 10 mg /Kg de peso corporal. Um quarto a metade da dose foi repetida quando necessário. Após o período de 4 horas de torção do cordão espermático, os animais foram submetidos a outro procedimento anestésico para realização da destorção e o tratamento selecionado para o grupo correspondente.

A hidratação foi realizada com cinco ml de solução salina a 0,9% em dose única subcutânea, a cada 24 horas, por dois dias. <sup>3</sup>

A analgesia pós-operatória foi realizada com cloridrato de nalbufina (10mg/ml, Itapira, SP, Brasil), na dose de 0,1 mg / Kg de peso do animal, injetada no tecido subcutâneo a cada oito horas, totalizando três aplicações por dia durante 3 dias. Dipirona gotas foi acrescentada à água dos animais, na dose de 24 gotas em 400 ml de água do bebedouro durante três dias.

### 3.7 Preparo e posicionamento dos ratos

Os animais foram submetidos à tricotomia inguinoescrotal e posicionados em decúbito dorsal horizontal em prancha metálica, com os quatros membros fixos à mesa cirúrgica com cordão de algodão. A antisepsia foi realizada com solução de polivinilpirrolidona a 10% e foi utilizado campo operatório estéril. Toda a equipe estava devidamente paramentada para procedimento cirúrgico,

usando gorro, máscara, com antissepsia das mãos e antebraços e em uso de capote e luvas estéreis.

### 3.8 Torção do cordão espermático

A via de acesso foi obtida por incisão escrotal longitudinal mediana de dois centímetros de extensão com bisturi de lâmina 15, seccionando-se todos os planos do escroto até a abertura da lâmina parietal da túnica vaginal do testículo direito.

Após a identificação do testículo direito, ele foi exposto no campo operatório (figura 1A), o gubernáculo foi seccionado e o testículo torcido em duas voltas completas de  $720^{\circ}$  em sentido horário, conforme preconizado por Turner (1997) (figura 1B).<sup>38</sup>

A torção foi mantida por meio da fixação com três pontos de fio monofilamentar 6.0 (Nylon<sup>®</sup>, Shalon, Goiânia, Brasil), de agulha cilíndrica, à túnica albuginea e ao dartos. A parede escrotal foi fechada em plano único com fio monofilamentar 5.0 (Nylon<sup>®</sup>, Shalon, Goiânia, GO, Brasil), com pontos simples.

No grupo sem fator de crescimento epitelial e sem fasciotomia (SFCSF), grupo 1, após o período de torção de quatro horas, a incisão foi reaberta e em seguida fez-se a secção dos pontos de fixação testicular, destorção e fixação do testículo ao dartos com três pontos (dois laterais e um inferior), com fio monofilamentar inabsorvível (Nylon<sup>®</sup> 6.0, Shalon Goiânia, GO, Brasil). Síntese da incisão feita em um só plano (figura 1C).

No grupo sem fator de crescimento epitelial e com fasciotomia (SFCECF), grupo 2, após o período de torção de quatro horas, a incisão foi reaberta e em seguida fez-se a secção dos pontos de fixação testicular, destorção, fasciotomia descompressiva por incisão longitudinal da albugínea testicular sobre área menos vascularizada, com bisturi lâmina quinze. A seguir realizou-se rotação de retalho da túnica vaginal, sua sutura e fixação na área cruenta da fasciotomia com fio monofilamentar inabsorvível (Nylon<sup>®</sup> 6.0, Shalon, Goiânia, GO, Brasil). A fixação testicular ao dartos foi feita com o mesmo fio em três pontos. Síntese da incisão realizada em um só plano (figura 1D).

No grupo com fator de crescimento epitelial tópico e sistêmico e sem fasciotomia (CFCETOSSF), grupo 3, após o período de torção de quatro horas, a incisão foi reaberta e em seguida fez-se a secção dos pontos de fixação testicular, destorção do testículo e aplicação de 100 µg/Kg de fator de crescimento epitelial (E9644 Sigma<sup>®</sup>, Darmstadt, Alemanha) com uma pipeta, sobre o Gelfoam<sup>®</sup> (Pfizer, Guarulhos, SP, Brasil) que foi colocado sobre o testículo. A fixação testicular foi realizada com três pontos com fio de Nylon<sup>®</sup> 6.0 (Shalon, Goiânia, GO, Brasil). Síntese feita em um só plano. Os animais deste grupo receberam também 100 µg/ Kg do fator de crescimento epitelial (E9644 Sigma<sup>®</sup>, Darmstadt, Alemanha) via subcutânea, dose única diária por 48 horas, no total de duas doses sistêmicas (figuras 1E e 1F).

No grupo com fator de crescimento epitelial tópico e sistêmico e com fasciotomia (CFCETOSCF), grupo 4, após o período de torção de quatro horas, a incisão foi reaberta e em seguida fez-se a secção dos pontos de fixação testicular, destorção do testículo, fasciotomia descompressiva por incisão longitudinal da albugínea testicular, com bisturi lâmina 15 . A seguir



realizou-se rotação de retalho da túnica vaginal, sua sutura e fixação na área cruenta da fasciotomia com fio monofilamentar inabsorvível (Nylon<sup>®</sup> 6.0, Shalon, Goiânia, GO, Brasil). Foi aplicado então o fator de crescimento epitelial (E9644 Sigma<sup>®</sup>, Darmstadt, Alemanha) na dose de 100 µg/Kg, com uma pipeta, sobre o Gelfoam<sup>®</sup> (Pfizer, Guarulhos, SP, Brasil) colocado sobre o testículo. A fixação testicular foi realizada com três pontos com fio de Nylon<sup>®</sup> 6.0, Shalon, Goiânia, GO, Brasil. Síntese feita em um só plano. Os animais deste grupo receberam também 100µg/ Kg do fator de crescimento epitelial via subcutânea, dose única diária por 48 horas, no total de duas doses sistêmicas.

No grupo com fator de crescimento epitelial sistêmico sem fasciotomia (CFCESSF), grupo 5, após o período de torção de quatro horas, a incisão foi reaberta, e em seguida fez-se a secção dos pontos de fixação testicular, destorção e fixação do testículo ao dartos com três pontos (dois laterais e um inferior), com fio monofilamentar inabsorvível (Nylon<sup>®</sup> 6.0, Shalon, Goiânia, GO, Brasil)). Síntese da incisão feita em um só plano. Os animais deste grupo receberam 100 µg/kg de fator de crescimento epitelial (E9644 Sigma<sup>®</sup>, Darmstadt, Alemanha) via subcutânea, dose única diária, logo após a fixação testicular e por mais 48 horas, no total de três doses sistêmicas.

No grupo com fator de crescimento epitelial sistêmico e com fasciotomia (CFCESCF), grupo 6, após o período de torção de quatro horas, a incisão foi reaberta, e em seguida fez-se a secção dos pontos de fixação testicular, destorção e fasciotomia descompressiva por incisão longitudinal da albugínea testicular, com bisturi lâmina quinze. A seguir realizou-se rotação de retalho da túnica vaginal, sua sutura e fixação na área cruenta da fasciotomia com fio monofilamentar inabsorvível (Nylon<sup>®</sup> 6.0, Shalon, Goiânia, GO, Brasil). A

fixação testicular ao dartos foi feita com o mesmo fio em três pontos. Síntese da incisão feita em um só plano. Os animais deste grupo receberam 100 µg/Kg de fator de crescimento epitelial (E9644 Sigma<sup>®</sup>, Darmstadt, Alemanha) via subcutânea, dose única diária, logo após a fixação testicular e por mais 48 horas, no total de três doses sistêmicas.

No grupo Gelfoam<sup>®</sup> (Pfizer, São Paulo, SP, Brasil) (G), grupo 7, utilizou-se a mesma via de acesso, o testículo direito foi exposto, não foi torcido e foi colocado um fragmento de Gelfoam<sup>®</sup> de 1,0 x 1,0 cm sobre o mesmo e fixado à albuginea com três pontos, utilizando-se o mesmo fio.

No grupo controle (C), grupo 8, os animais foram submetidos à orquiectomia bilateral, sem realização de qualquer outro procedimento cirúrgico.

Em todos os grupos de animais, o testículo esquerdo não foi torcido. Foi realizada a sua ressecção com o testículo direito após os 21 dias de torção e destorção do testículo direito e em seguida foi realizada a sua avaliação macro e microscópica.

O desenho do estudo está demonstrado no quadro um.

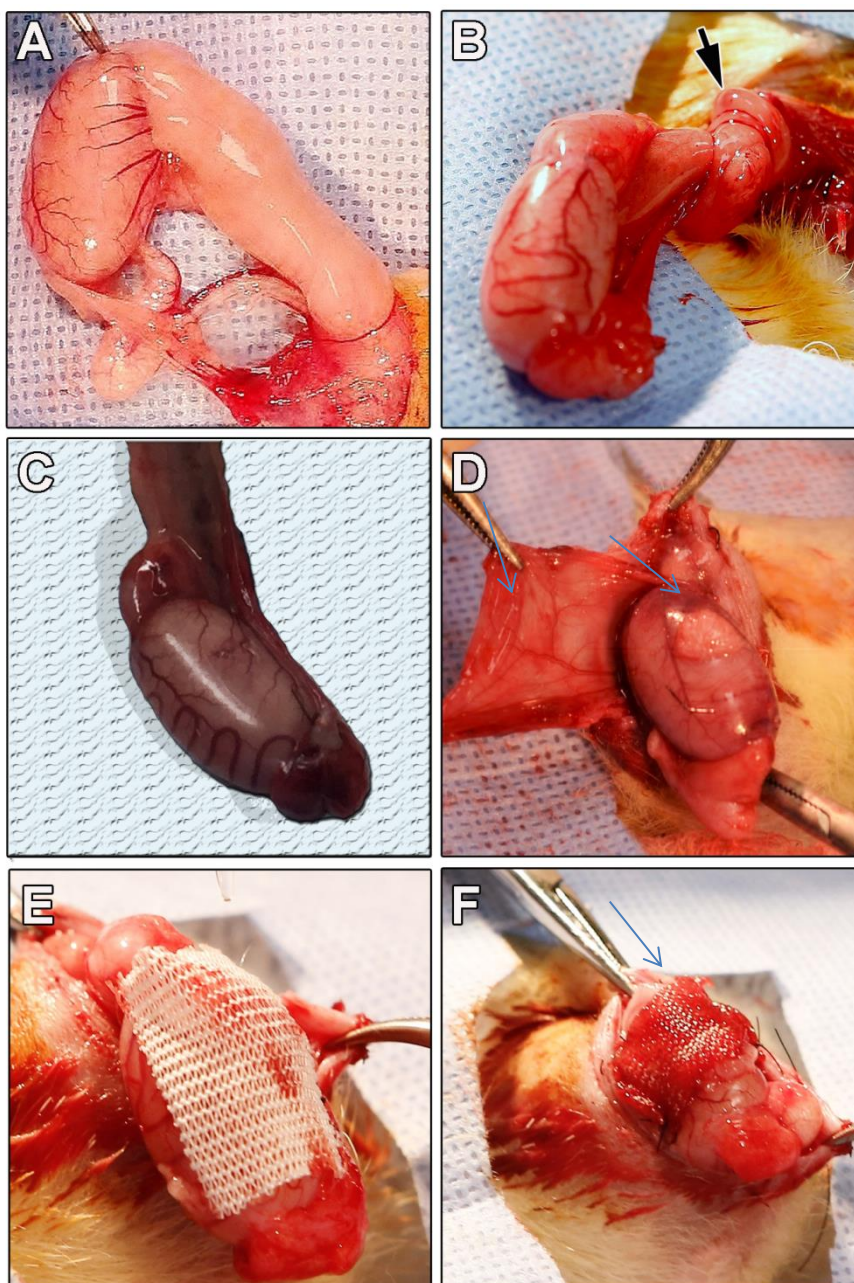


Figura 1. Procedimento de torção e destorção do cordão espermático em rato Wistar. Em A, observe o campo operatório mostrando o testículo direito após secção e abertura da vaginal. Em seguida, o testículo foi submetido à torção do cordão espermático direito em  $720^{\circ}$  no sentido medial por 4 horas (B). O aspecto do testículo direito após a torção por um período de 4 horas pode ser observado em C. Para a realização de fasciotomia testicular descompressiva (D), após a secção da túnica albugínea e exposição dos túbulos seminíferos, (E), após a secção da túnica albugínea e exposição dos túbulos seminíferos,

um retalho da túnica vaginal foi rotacionado e suturado recobrando os túbulos herniados (setas azuis). O Gelfoam<sup>®</sup> foi utilizado como um mecanismo de entrega para o fator de crescimento epitelial usado topicamente (E). Posteriormente, o testículo foi fixado ao dartos (F).

### 3.9 Identificação dos ratos

Foi feita marcação nas caudas dos ratos com caneta hidrográfica permanente (Identipen<sup>®</sup>), com cores e números estabelecidos conforme o grupo pertencente. A marca era reforçada semanalmente até a realização da orquiectomia.

Os ratos foram assim identificados:

1-Grupo sem fator de crescimento epitelial e sem fasciotomia (SFCEFS): cor vermelha (figura 2A).

2-Grupo sem fator de crescimento epitelial e com fasciotomia testicular descompressiva (SFCECF): cor azul.

3-Grupo com fator de crescimento epitelial tópico e sistêmico e sem fasciotomia (CFCETOSSF): cor vermelha e verde.

4-Grupo com fator de crescimento epitelial tópico e sistêmico e com fasciotomia (CFCETOSCF): cor azul e verde (figura 2B).

5-Grupo com fator de crescimento epitelial sistêmico e sem fasciotomia (CFCESSF): cor preta e vermelha.

6-Grupo com fator de crescimento epitelial sistêmico com fasciotomia (CFCESCF): cor preta e azul.

7-Grupo Gelfoam® (G): cor verde.

8-Grupo controle (C): cor preta.

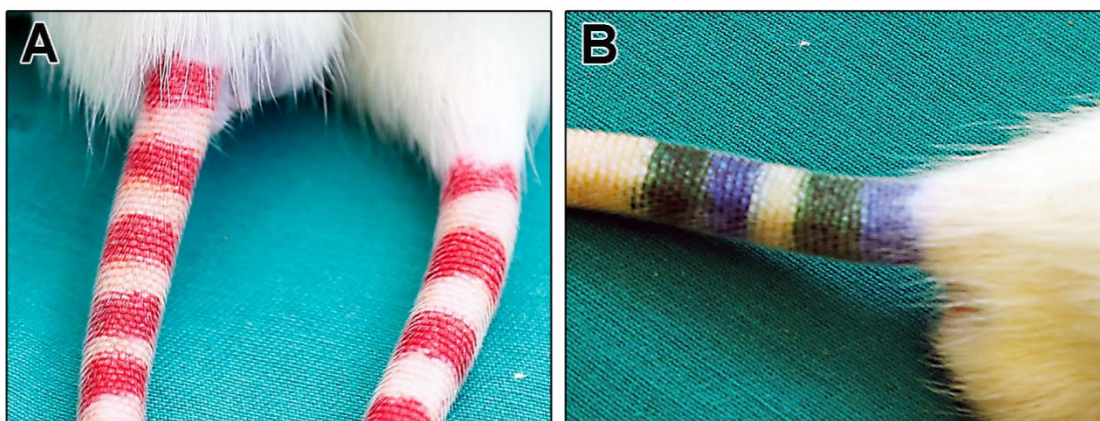


Figura 2. Chave de identificação dos ratos utilizados no presente estudo levando-se em consideração a cor (indica grupo) e o número de anéis na cauda (classificação ordinal dentro do grupo). Em A estão representados dois animais de grupo sem fator de crescimento epitelial e sem fasciotomia testicular descompressiva (cor vermelha). Os ratos do grupo com fator de crescimento epitelial tópico e sistêmico com fasciotomia testicular descompressiva foram identificados com as cores azul e verde (B).

## 3.10 Desenho do estudo dos grupos experimentais

Número e cor	Sigla	FCE Tópico e sistêmico	FCE Sistêmico	Fasciotomia	N	Outros Proced.
1 Vermelho	SFCESF				8	
2 Azul	SFCECF			x	8	
3 Vermelho & verde	CFCETOSSF	x			8	
4 Azul & verde	CFCETOSCF	x		x	8	
5 Vermelho & preto	CFCESSF		x		8	
6 Azul & preto	CFCESCF		x	x	8	
7 Gelfoam <sup>®</sup>	G(Gelfoam <sup>®</sup> )				4	Gelfoam <sup>®</sup> sem torção
8 Preto	C (controle)				8	Orquiectomia bilateral
Total					60	

Depois de 21 dias de observação, os animais foram submetidos à orquiectomia bilateral e os testículos examinados. A orquiectomia foi realizada utilizando-se o mesmo procedimento anestésico da primeira operação. Após a abertura da parede escrotal, o testículo direito foi exposto, seus vasos e canal deferente ligados com fio de Nylon<sup>®</sup> 6.0, Shalon, Goiânia, GO, Brasil, e procedida a remoção do órgão. O mesmo procedimento foi realizado do lado esquerdo. Retirados os testículos, a eutanásia dos ratos foi realizada com uma sobredose de pentobarbital sódico<sup>®</sup> (Penta- Hypnol, Senasa, Peru) intraperitoneal (100mg/Kg).

Para as avaliações macroscópicas e histopatológicas os animais foram alocados em dois grupos e comparados:

- 1- Grupos sem fator de crescimento epitelial (sem e com fasciotomia descompressiva associada) com os grupos com fator de crescimento tópico e sistêmico (sem e com fasciotomia descompressiva associada).
- 2- Grupos sem fator de crescimento epitelial (sem e com fasciotomia descompressiva associada) com os grupos com fator de crescimento epitelial sistêmico (sem e com fasciotomia descompressiva associada).
- 3- Todos os grupos foram comparados com os animais controle.

### 3.11 Avaliação macroscópica

Os testículos retirados, ipsilateral e contralateral, foram fotografados, pesados em uma balança digital (balança Adventurer Ohaus, modelo AR 3130, Colombo PR, Brasil), com precisão de 0,001g e medidos com um paquímetro (Starret, São Paulo, SP, Brasil). O volume total de cada testículo foi calculado utilizando-se a fórmula:

$$V = 0,52 \times \text{comprimento} \times \text{largura} \times \text{espessura} \text{ (cm}^3\text{)}.^{39}$$

### 3.12 Processamento dos testículos

A preparação seguiu os métodos de histotécnicas habituais. Os testículos, logo após a ressecção foram submergidos em uma solução de Bouin por seis horas. Após esta fase de prefixação, as gônadas foram seccionadas no sentido transversal em seis a sete fragmentos com espessura aproximada de cinco milímetros. Os fragmentos obtidos foram mantidos a quatro graus centígrados por 24 horas. Em seguida, as amostras foram desidratadas em sequência crescente de álcoois e incluídas em resina plástica à base de glicol metacrilato para análises histomorfométricas. Cortes histológicos com quatro micrômetros de espessura foram obtidos e corados com azul de toluidina e borato de sódio a 1%. Em seguida, as lâminas foram montadas com Entellan e analisadas em microscópio.



### 3.13 Histopatologia

Os parâmetros histológicos foram analisados por meio da microscopia óptica com o auxílio do microscópio Olympus BX60M, São Paulo, SP, Brasil.

As análises quantitativas dos testículos direitos de medidas do diâmetro e espessura do epitélio seminífero não foram realizadas em decorrência do grande comprometimento histológico dos grupos com fator de crescimento epitelial tóxico e sistêmico sem e com fasciotomia.

As análises quantitativas dos testículos esquerdos foram feitas da seguinte forma. Para a estimativa do diâmetro dos túbulos seminíferos (DTS), foram mensuradas 30 secções transversais de túbulos, em cada testículo, escolhidos de forma aleatória, dando-se preferência aqueles de contorno mais circular possível. Para isto, as fotografias foram feitas sob microscopia de luz, com ocular micrométrica Olympus 10x. Para análise utilizou-se o programa de análise de imagens "Image J" (EUA). Foram usadas duas medidas diametralmente opostas e calculada a média entre elas. Unidade micrômetro.

As mesmas secções dos diâmetros dos túbulos foram utilizadas para a mensuração da altura do epitélio seminífero (AES), a qual foi tomada da túnica própria até o lúmen tubular. O valor encontrado para a altura do epitélio seminífero, em cada túbulo, representou a média de quatro medidas realizadas nos quatro quadrantes do túbulo ( $90^{\circ}$ ,  $180^{\circ}$ ,  $270^{\circ}$  e  $360^{\circ}$ ). Unidade micrômetro.

Os parâmetros da espermatogênese quanto à contagem celular diferencial foram avaliados em ambos os testículos pela graduação de Johnsen. (1970) (ANEXO1).<sup>40</sup>

### 3.14 Análise Estatística

Para a comparação das variáveis entre os grupos, foram aplicados o teste de ANOVA (quando a hipótese de normalidade não foi rejeitada) e o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (quando a hipótese de normalidade foi rejeitada). Para os testes de comparação foi utilizado o nível de 5% (0,05) de significância.

O grupo Gelfoam® (G) não entrou para análise comparativa, mas descritiva.

## 4 RESULTADOS:

Durante um procedimento de torção do cordão espermático, um animal do grupo com fator de crescimento epitelial sistêmico com fasciotomia foi a óbito, por provável depressão respiratória, o qual foi excluído e substituído, seguindo o método de seleção de animais adotado pela pesquisa.

### 4.1 Idades dos animais

A média de idade dos ratos na primeira operação foi de 64 dias e na operação de orquiectomia foi de 85 dias.

### 4.2 Peso dos animais:

Foram avaliados os pesos dos animais na primeira e na operação de orquiectomia, seguindo o critério de distribuição dos grupos. O peso variou de 245 g a 340 g na primeira operação e de 360 g a 380 g na terceira operação. O peso médio na primeira operação foi de 297,35 g e o peso médio na segunda operação foi de 346,03 g.

Os animais dos grupos em que se aplicou o fator de crescimento epitelial sistêmico apresentaram menor peso, na primeira operação e na orquiectomia, quando comparados aos animais dos demais grupos. Os pesos individuais encontram-se no Apêndice um.

### 4.3 Avaliação macroscópica:

Os testículos direitos e esquerdos foram analisados quanto ao peso (g) e volume (cm<sup>3</sup>).

#### 4.3.1 Peso dos testículos direitos:

Tabela 1 – Descrição do peso testicular direito (g) em ratos Wistar, nos grupos sem uso e com uso de FCE tópico e sistêmico, sem fasciotomia, com fasciotomia e no grupo controle.

<b>Grupos</b>	<b>Mediana</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio-padrão</b>	<b>p-valor</b>
SFCESF	1,55	1,52 <sup>A</sup>	0,45	
SFCECF	2,20	2,15 <sup>A, B</sup>	0,62	
CFCETOSSF	2,42	2,84 <sup>B</sup>	1,33	0,002*
CFCETOSCF	2,52	2,40 <sup>B</sup>	0,59	
C (Controle)	1,42	1,41 <sup>A</sup>	0,12	

\*ANOVA, letras (sobre os números das médias) diferentes indicam diferenças estatisticamente significantes pelo teste de Duncan.

Observou-se que os animais do grupo sem fator de crescimento epitelial e sem fasciotomia (SFCESF), foram aqueles de menor peso testicular. Os animais que fizeram uso de fator de crescimento epitelial tópico e sistêmico apresentaram os maiores pesos testiculares. Estes animais apresentaram pesos dos testículos direitos significativamente maiores que dos animais do grupo controle.

Tabela 2 – Descrição do peso (g) do testículo direito em ratos Wistar, nos grupos sem fator de crescimento epitelial e com fator de crescimento epitelial sistêmico; sem fasciotomia, com fasciotomia e grupo controle.

<b>Grupos</b>	<b>Mediana</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio-padrão</b>	<b>p-valor</b>
SFCESF	1,55	1,52 <sup>A</sup>	0,45	
SFCECF	2,20	2,15 <sup>B</sup>	0,62	
CFCESSF	1,16	1,05 <sup>A</sup>	0,45	0,000*
CFCESCF	1,23	1,24 <sup>A</sup>	0,33	
C (Controle)	1,42	1,41 <sup>A</sup>	0,12	

\*ANOVA, letras diferentes (sobre os números das médias) indicam diferenças estatisticamente significantes pelo teste de Duncan.

Os animais do grupo sem fator de crescimento epitelial com fasciotomia (SFCECF) apresentaram médias mais altas do peso testicular direito que os demais grupos. Os animais dos grupos com fator de crescimento epitelial sistêmico sem fasciotomia (CFCESSF) e com fasciotomia (CFCESCF) apresentaram média do peso testicular direito semelhante aos animais do grupo controle.

#### 4.3.2 Peso dos testículos esquerdos

Tabela 3– Descrição do peso (g) do testículo esquerdo em ratos Wistar, nos grupos sem fator de crescimento epitelial, com fator de crescimento epitelial tópico e sistêmico; sem fasciotomia, com fasciotomia e no grupo controle.

Grupos	Mediana	Média	Desvio-padrão	p-valor
SFCESF	1,49	1,55 <sup>B, C</sup>	0,21	
SFCECF	1,63	1,63 <sup>C</sup>	0,12	
CFCETOSSF	1,49	1,48 <sup>A, B</sup>	0,09	0,003*
CFCETOSCF	1,42	1,42 <sup>A</sup>	0,06	
C (Controle)	1,39	1,39 <sup>A</sup>	0,10	

\*ANOVA, letras diferentes (acima dos números das médias) indicam diferenças estatisticamente significantes pelo teste de Duncan.

Os grupos com fator de crescimento epitelial tópico e sistêmico com fasciotomia (CFCETOSCF) e o grupo controle (C) são semelhantes entre si e os que têm menores valores médios do peso do testículo esquerdo.

Os grupos sem fator de crescimento epitelial e sem fasciotomia (SFCESF) e o com fator de crescimento epitelial tópico e sistêmico sem fasciotomia (CFCETOSSF) são grupos intermediários, se assemelham aos outros.

O grupo sem fator de crescimento epitelial com fasciotomia testicular descompressiva (SFCECF) seria o que tem maior média, mas ele se assemelha ao grupo sem fator de crescimento epitelial e sem fasciotomia (SEFESF); sem diferença significativa.

Tabela 4– Descrição do peso (g) do testículo esquerdo em ratos Wistar, nos grupos sem fator de crescimento epitelial e com fator de crescimento epitelial sistêmico; sem fasciotomia, com fasciotomia e no grupo controle.

<b>Grupos</b>	<b>Mediana</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio-padrão</b>	<b>p-valor</b>
SFCESF	1,49 <sup>B, C</sup>	1,55	0,21	
SFCECF	1,63 <sup>C</sup>	1,63	0,12	
CFCESSF	1,45 <sup>A, B</sup>	1,36	0,37	0,0016*
CFCESCF	1,49 <sup>B, C</sup>	1,53	0,11	
C (Controle)	1,39 <sup>A</sup>	1,39	0,10	

\*\* Teste de Kruskal-Wallis, letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significantes pelo teste de Dunn.

Os animais do grupo sem fator de crescimento epitelial sem fasciotomia (SFCESF) tiveram peso testicular esquerdo semelhante aos animais dos grupos sem fator de crescimento epitelial com fasciotomia (SFCECF) e aos animais dos grupos com fator de crescimento epitelial sistêmico sem fasciotomia (CFCESSF) e com fasciotomia (CFCESCF).

Os animais do grupo com fator de crescimento epitelial sistêmico sem fasciotomia (CFCESSF) foram os que apresentaram peso testicular esquerdo semelhante aos animais do grupo controle (C).

Não se observou nenhum grupo que diferisse de todos os demais.

#### 4.3.3 Volume testicular direito

A análise do volume dos testículos direitos dos grupos está descrita nas tabelas 5 e 6. Houve diferenças significantes entre os grupos avaliados. Os animais que receberam fator de crescimento epitelial tópico e sistêmico apresentaram os maiores volumes dos testículos.

Os animais sem fator de crescimento apresentaram os menores volumes testiculares enquanto para aqueles que receberam fator de crescimento sistêmico foram observados maiores volumes, com média muito semelhante aos animais do grupo controle.



Tabela 5 – Descrição do volume (cm<sup>3</sup>) do testículo direito em ratos Wistar, nos grupos sem fator de crescimento epitelial e com fator de crescimento epitelial tópico e sistêmico; sem fasciotomia, com fasciotomia e no grupo controle.

<b>Grupos</b>	<b>Mediana</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio-padrão</b>	<b>p-valor</b>
SFCESF	0,12 <sup>A</sup>	0,14	0,10	
SFCECF	0,15 <sup>A</sup>	0,13	0,06	
CFCETOSSF	0,87 <sup>B</sup>	0,87	0,31	0,000*
CFCETOSCF	0,71 <sup>B</sup>	0,66	0,26	
C (Controle)	0,58 <sup>B</sup>	0,60	0,30	

\*\* Teste de Kruskal-Wallis, letras diferentes (dos números acima das medianas) indicam diferenças estatisticamente significantes pelo teste de Dunn.

Segundo o teste de múltiplas comparações observou-se a distinção de dois subgrupos:

O grupo sem fator de crescimento epitelial sem fasciotomia (SFCESF) e o grupo sem fator de crescimento epitelial com fasciotomia (SFCECF), são semelhantes entre si e com menores valores do volume do testículo direito;

O grupo com fator de crescimento epitelial tópico e sistêmico sem fasciotomia (CFCETOSSF) e o grupo com fasciotomia (CFCETOSCF) são semelhantes entre si e com maiores valores do volume do testículo direito. Os valores foram semelhantes aos animais do grupo controle (C).

Tabela 6 – Descrição do volume (cm<sup>3</sup>) do testículo direito em ratos Wistar, nos grupos sem fator de crescimento epitelial e com fator de crescimento epitelial sistêmico; sem fasciotomia, com fasciotomia e no grupo controle.

<b>Grupos</b>	<b>Mediana</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio-padrão</b>	<b>p-valor</b>
SFCEFS	0,12 <sup>A</sup>	0,14	0,10	
SFCECF	0,15 <sup>A</sup>	0,13	0,06	
CFCESSF	0,60 <sup>B</sup>	0,68	0,33	0,000*
CFCESCF	0,79 <sup>B</sup>	0,71	0,27	
C (Controle)	0,58 <sup>B</sup>	0,60	0,30	

\*\* Teste de Kruskal-Wallis, letras diferentes indicam (acima das medianas) indicam diferenças estatisticamente significantes pelo teste de Dunn.

Segundo o teste de múltiplas comparações pode-se diferenciar dois subgrupos:

O grupo sem fator de crescimento epitelial sem fasciotomia (SFCEFS) e o grupo sem fator de crescimento epitelial com fasciotomia (SFCECF) são semelhantes entre si e com menores valores do volume do testículo direito;

O grupo com fator de crescimento epitelial sistêmico sem fasciotomia (CFCESSF), grupo com fator de crescimento epitelial sistêmico com fasciotomia (CFCESCF) e o grupo controle (C) são semelhantes entre si e com maiores valores do volume do testículo direito.

#### 4.3.4 Volume testicular esquerdo

Observou-se que os grupos sem fator de crescimento epitelial sem fasciotomia e com fasciotomia foram os grupos de menores valores de volume do testículo esquerdo. Os grupos com fator de crescimento epitelial tópico e sistêmico sem fasciotomia e com fasciotomia apresentaram volumes maiores que os grupos que não receberam o fator de crescimento; e os grupos com fator de crescimento epitelial sistêmico, sem e com fasciotomia apresentaram volumes dos testículos esquerdos semelhantes aos animais do grupo controle.

Tabela 7 – Descrição do volume (cm<sup>3</sup>) do testículo esquerdo de ratos Wistar, nos grupos sem fator de crescimento epitelial e com fator de crescimento epitelial tópico e sistêmico; sem fasciotomia, com fasciotomia e no grupo controle.

<b>Grupos</b>	<b>Mediana</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio-padrão</b>	<b>p-valor</b>
SFCESF	0,23 <sup>A</sup>	0,22	0,10	
SFCECF	0,35 <sup>B</sup>	0,47	0,35	
CFCETOSSF	0,69 <sup>C</sup>	0,67	0,15	<b>0,001*</b>
CFCETOSCF	0,69 <sup>C</sup>	0,67	0,21	
C (Controle)	0,74 <sup>C</sup>	0,79	0,33	

\*Teste de Kruskal-Wallis, letras diferentes (acima dos números das medianas) indicam diferenças estatisticamente significantes pelo teste de Dunn.

Segundo o teste de múltiplas comparações, observou-se que:

O grupo sem fator de crescimento epitelial e sem fasciotomia (SFCESF) e o grupo sem fator de crescimento epitelial com fasciotomia testicular descompressiva (SFCECF) apresentaram os menores volumes do testículo esquerdo, sendo que este último grupo apresentou volume testicular maior.

Os grupos com fator de crescimento epitelial tópico e sistêmico sem fasciotomia (CFCETOSSF), com fator de crescimento epitelial tópico e sistêmico com fasciotomia testicular descompressiva (CFCETOSCF) e o grupo controle (C) são semelhantes entre si e apresentaram maiores volumes do testículo esquerdo.

Tabela 8 – Descrição do volume (cm<sup>3</sup>) do testículo esquerdo em ratos Wistar, nos grupos sem fator de crescimento epitelial e com fator de crescimento epitelial sistêmico; sem fasciotomia, com fasciotomia e no grupo controle.

<b>Grupos</b>	<b>Mediana</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio-padrão</b>	<b>p-valor</b>
SFCEFS	0,23 <sup>A</sup>	0,22	0,10	
SFCECF	0,35 <sup>B</sup>	0,47	0,35	
CFCESSF	1,03 <sup>C</sup>	0,99	0,22	0,000*
CFCESCF	0,88 <sup>C</sup>	1,00	0,34	
C (Controle)	0,74 <sup>C</sup>	0,79	0,33	

\*\* Teste de Kruskal-Wallis, letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significantes pelo teste de Dunn.

Segundo teste de múltiplas comparações observou-se que:

O grupo sem fator de crescimento epitelial e sem fasciotomia (SFCEFS) e o grupo sem fator de crescimento epitelial sistêmico com fasciotomia testicular descompressiva (SFCECF) tiveram os menores volumes do testículo esquerdo.

Os grupos com fator de crescimento epitelial sistêmico sem fasciotomia (CFCESSF), com fator de crescimento epitelial sistêmico com fasciotomia (CFCESCF) e o grupo controle (C) foram semelhantes entre si e apresentaram maiores volumes do testículo esquerdo.

#### 4.4 Avaliação histopatológica quantitativa dos testículos esquerdos

Tabela 9 – Descrição do diâmetro tubular ( $\mu\text{m}$ ) do testículo esquerdo em ratos Wistar, nos grupos sem fator de crescimento epitelial e com fator de crescimento epitelial tópico e sistêmico; sem fasciotomia, com fasciotomia e no grupo controle.

<b>Grupos</b>	<b>Mediana</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio-padrão</b>	<b>p-valor</b>
SFCESF	191,38	202,1	10,81	
SFCECF	196,76	200,52	11,42	
CFCETOSSF	174,92	181,62	11,86	0,082*
CFCETOSCF	200,48	207,2	15,60	
C (Controle)	200,16	203,7	6,04	

Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos quanto ao diâmetro do testículo esquerdo.

Tabela 10 – Descrição do diâmetro tubular ( $\mu\text{m}$ ) do testículo esquerdo em ratos Wistar, nos grupos sem fator de crescimento epitelial e com fator de crescimento epitelial sistêmico; sem fasciotomia, com fasciotomia e no grupo controle.

<b>Grupos</b>	<b>Mediana</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio-padrão</b>	<b>p-valor</b>
SFCESF	191,38	202,1	10,81	
SFCECF	196,76	200,52	11,42	
CFCESSF	210,86	209,44	8,88	0,738*
CFCESCF	200,88	212,62	14,03	
C (Controle)	200,16	203,7	6,04	

Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos em relação ao diâmetro tubular do testículo esquerdo.

Tabela 11 – Descrição da altura do epitélio seminífero ( $\mu\text{m}$ ) em testículo esquerdo em ratos Wistar, nos grupos sem fator de crescimento epitelial e com fator de crescimento epitelial tóxico e sistêmico; sem fasciotomia, com fasciotomia e no grupo controle.

<b>Grupos</b>	<b>Mediana</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio-padrão</b>	<b>p-valor</b>
SFCESF	34,26	35,65	4,08	
SFCECF	37,32	37,43	5,50	
CFCETOSSF	31,42	32,45	4,15	0,258*
CFCETOSCF	33,38	34,54	5,35	
C (Controle)	34,65	34,39	1,81	

Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos quanto à altura do epitélio seminífero do testículo esquerdo.



Tabela 12 – Descrição da altura do epitélio seminífero ( $\mu\text{m}$ ) no testículo esquerdo de ratos Wistar sem fator de crescimento epitelial e com fator de crescimento epitelial sistêmico; sem fasciotomia, com fasciotomia e no grupo controle.

<b>Grupos</b>	<b>Mediana</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio-padrão</b>	<b>p-valor</b>
SFCESF	34,26	35,65	4,08	
SFCECF	37,32	37,43	5,50	
CFCESSF	35,48	35,62	3,33	0,624*
CFCESCF	34,30	35,17	3,78	
C (Controle)	34,65	34,39	1,81	

Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos quanto a altura do epitélio seminífero do testículo esquerdo.

#### 4.5 Graduação histopatológica dos testículos direitos

Tabela 13 – Descrição do “Escore de Johnsen” de testículos direitos de ratos Wistar, nos grupos sem fator de crescimento epitelial e com fator de crescimento epitelial tópico e sistêmico; sem fasciotomia, com fasciotomia e no grupo controle.

<b>Grupos</b>	<b>Mediana</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio-padrão</b>	<b>p-valor</b>
SFCESF	1,00 <sup>A</sup>	2,51	3,20	
SFCECF	1,55 <sup>A</sup>	3,76	3,44	
CFCETOSSF	2,13 <sup>A</sup>	2,41	1,23	0,000*
CFCETOSCF	1,89 <sup>A</sup>	2,60	2,09	
C (Controle)	10,00 <sup>B</sup>	10,00	0,01	

\*\* Teste de Kruskal-Wallis, letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significantes pelo teste de Dunn.

Segundo o teste de múltiplas comparações observou-se que:

Os grupos com fator de crescimento epitelial tópico e sistêmico sem fasciotomia (CFCETOSSF) e com fasciotomia (CFCETOSCF) apresentaram menores médias de graduação histopatológica quando comparados aos animais que não receberam o fator de crescimento epitelial sem fasciotomia (SFCESF) e com fasciotomia (SFCECF). (figuras 3B e 3C).

Entre os grupos com fator de crescimento epitelial tópico e sistêmico, o grupo sem fasciotomia (CFCETOSSF) apresentou média mais baixa que o grupo com fasciotomia (CFCETOSCF) (figuras 4A e 4B). Entre estes grupos estudados não houve diferença estatisticamente significante, porém todos eles tiveram média menor que a do grupo controle (C) (figura 3A).

Tabela 14 – Descrição do “Escore de Johnsen” de testículos direitos de ratos Wistar, nos grupos sem fator de crescimento epitelial e com fator de crescimento epitelial sistêmico; sem fasciotomia, com fasciotomia e no grupo controle.

<b>Grupos</b>	<b>Mediana</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio-padrão</b>	<b>p-valor</b>
SFCEFS	1,00 <sup>A</sup>	2,51	3,20	
SFCECF	1,55 <sup>A</sup>	3,76	3,44	
CFCESSF	3,30 <sup>A</sup>	4,12	3,04	0,000*
CFCESCF	8,44 <sup>B</sup>	7,54	2,71	
C (Controle)	10,00 <sup>C</sup>	10,00	0,01	

\*\* Teste de Kruskal-Wallis, letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significantes pelo teste de Dunn.

Segundo o teste de múltiplas comparações observou-se que:

Os grupos sem fator de crescimento epitelial sem fasciotomia (SFCEFS) e o grupo com fasciotomia (SFCECF) apresentaram os menores índices de graduação histopatológica, sendo o primeiro grupo, o de menor graduação em relação a todos os outros quatro; porém sem diferença significativa.

O grupo com fator de crescimento epitelial sistêmico com fasciotomia (CFCESCF) foi o que apresentou o maior índice de graduação histopatológica em relação a todos os outros e o que mais se aproximou do grupo controle (C), com diferença estatisticamente significativa.

Tabela 15 – Descrição do “Escore de Johnsen” de testículos direitos de ratos Wistar, nos grupos sem fator de crescimento epitelial, com fator de crescimento epitelial tópico e sistêmico, com fator de crescimento epitelial sistêmico; sem fasciotomia, com fasciotomia e no grupo controle.

<b>Grupos</b>	<b>Mediana</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio-padrão</b>	<b>p-valor</b>
SFCESF	1,00 <sup>A</sup>	2,51	3,20	
SFCECF	1,55 <sup>A</sup>	3,76	3,44	
CFCETOSSF	2,13 <sup>A</sup>	2,41	1,23	
CFCETOSCF	1,89 <sup>A</sup>	2,60	2,09	0,000*
CFCESSF	3,30 <sup>A</sup>	4,12	3,04	
CFCESCF	8,44 <sup>B</sup>	7,54	2,71	
C (Controle)	10,00 <sup>C</sup>	10,00	0,01	

\*\* Teste de Kruskal-Wallis, letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significantes pelo teste de Dunn.

Segundo o teste de múltiplas comparações, podemos dizer que:

Os grupos com fator de crescimento epitelial tópico e sistêmico sem fasciotomia (CFCETOSSF) e com fasciotomia testicular descompressiva (CFCETOSCF) apresentaram baixos índices de graduação histopatológica.

O grupo sem fator de crescimento epitelial com fasciotomia (SFCECF) apresentou média de graduação histopatológica maior que os grupos supracitados e o grupo sem fator de crescimento epitelial e sem fasciotomia (SFCESF).

Os grupos com fator de crescimento epitelial sistêmico foram os de melhores índices histopatológicos quando comparados a todos os outros, sendo que o grupo com fator de crescimento epitelial e com fasciotomia testicular descompressiva (CFCESCF) apresentou o mais alto índice e o mais próximo dos animais do grupo controle (C) (figura 5A, 5B e 5C).

#### 4.6 Graduação histopatológica dos testículos esquerdos

A média da graduação histológica de Johnsen para os testículos esquerdos dos animais foi de 9,8, sem diferença significativa entre os grupos. Foram avaliados também os diâmetros tubulares e altura do epitélio seminífero. Não houve diferença significativa das variáveis em nenhum dos grupos avaliados.

#### 4.7 Avaliação grupo Gelfoam® (G)

##### 4.7.1 Idade e peso dos animais:

Os animais do grupo Gelfoam® tinham 70 dias de vida. A média de peso entre os animais foi de 232,5 na primeira operação e de 284,5 na segunda operação.

##### 4.7.2 Peso dos testículos

A média de peso dos testículos direitos foi de 0,865 gramas e dos testículos esquerdos de 2,0 gramas

##### 4.7.3 Volume dos testículos:

A média de volume dos testículos direitos foi de 399,1 cm<sup>3</sup> e a média de volume dos testículos esquerdos foi de 920,9 cm<sup>3</sup>.

##### 4.7.4 Avaliação histopatológica dos testículos esquerdos:

A média dos diâmetros dos túbulos seminíferos foi de 183,14 µm e a média da altura do epitélio seminífero foi de 31,43 µm. A graduação histológica pelo escore de Johnsen teve média de 9,75.

#### 4.7.5 Avaliação histopatológica dos testículos direitos:

Na classificação histopatológica dos testículos direitos a média foi de 2,75 pelo escore de Johnsen. (Figura 4C).

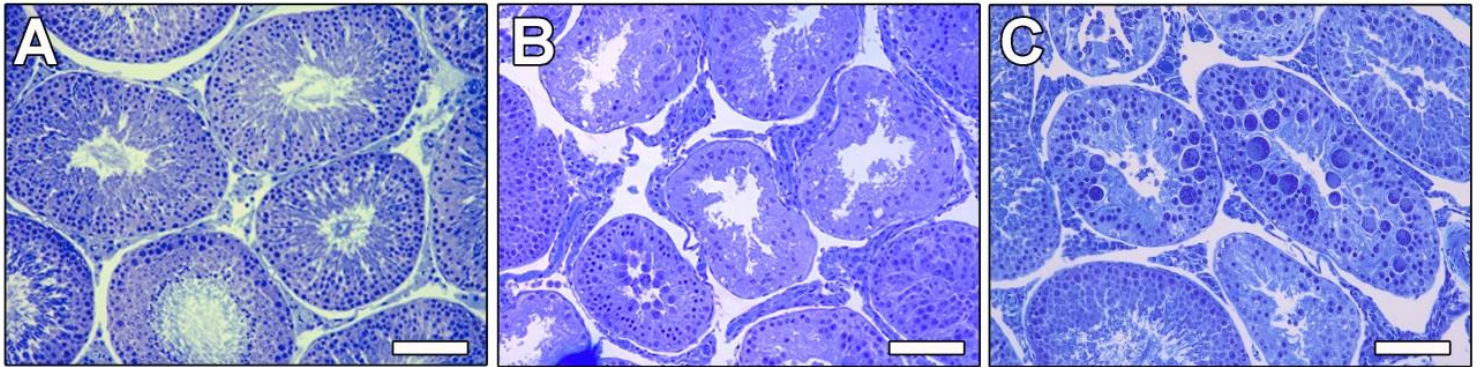


Figura 3. Fotomicrografia do parênquima testicular de ratos Wistar adultos evidenciando o aspecto da espermatogênese após 21 dias da destorção do cordão espermático. Assim, observe em A (grupo controle) túbulos seminíferos preservados e a espermatogênese completa (grau 10). No grupo sem fator de crescimento epitelial e sem fasciotomia (B), ausência de espermatídes e preservação das espermatogônias e espermatócitos (grau 5). Túbulos com vacuolização celular e túbulos com presença de espermatídes arredondadas e alongadas (grau 6) foram identificados no parênquima testicular de animais do grupo sem fator de crescimento epitelial com fasciotomia testicular descompressiva (C).

Barras = 140  $\mu$ m. Coloração azul de toluidina. Classificação de Johnsen.

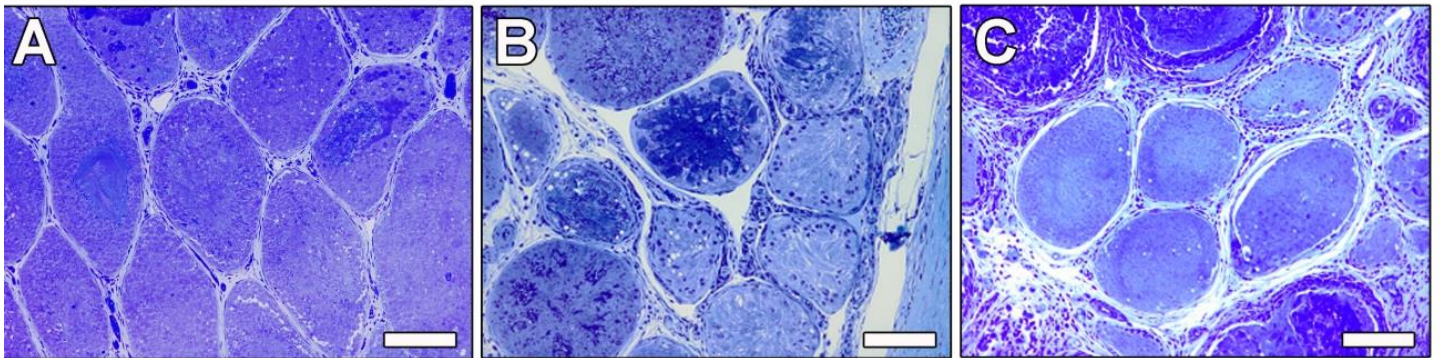


Figura 4. Fotomicrografias do parênquima testicular de ratos Wistar adultos 21 dias após passarem pelos procedimentos de torção e destorção do cordão espermático. Em A, observe a ausência de células germinativas e de Sertoli nos túbulos seminíferos dos animais tratados com fator de crescimento epitelial tópico e sistêmico sem fasciotomia testicular descompressiva (grau1). A realização da fasciotomia descompressiva nos animais tratados tópico e via sistêmica com o fator de crescimento epitelial (B), parece melhorar o ambiente intratesticular, uma vez que apesar do infiltrado inflamatório presente no compartimento intertubular, espermatogônias foram observadas nos túbulos seminíferos (grau3). Conforme pode ser verificada em C, a aplicação do gelfoan sobre o testículo de ratos que não foram submetidos à torção testicular resultou em infiltrado linfocítico, com arquitetura tubular obliterada e ausência de células germinativas e de Sertoli (grau1).

Barra 140um. Coloração azul de toluidina. Classificação de Johnsen.

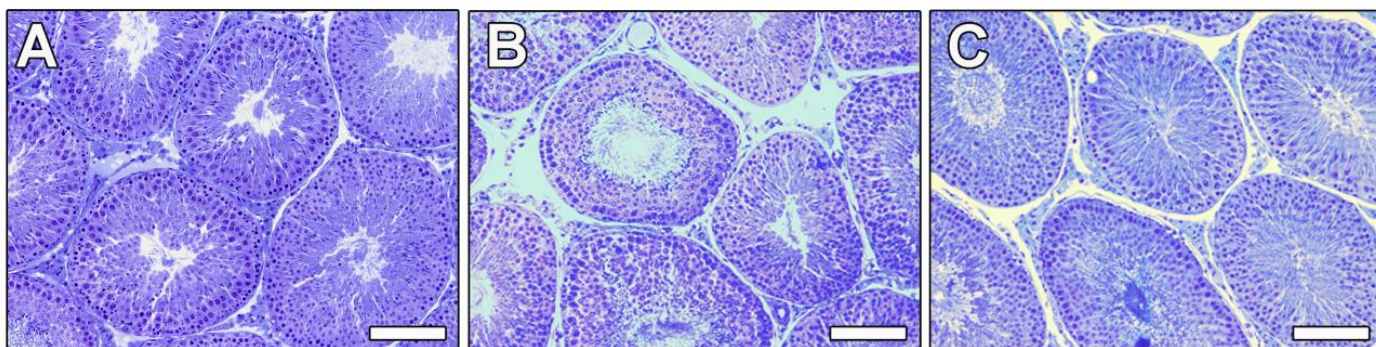


Figura 5. Fotomicrografias do parênquima testicular de ratos Wistar adultos submetidos ou não aos procedimentos de torção e destorção do cordão espermático. Em A (grupo controle sem torção) observe espermatogênese completa, onde todos os elementos somáticos e germinativos estão preservados (grau 10). A aplicação via sistêmica do fator de crescimento epitelial sem fasciotomia resultou na satisfatória recuperação da espermatogênese, uma vez que os espermatozoides estavam presentes na luz tubular (grau 8). Entretanto, a associação da fasciotomia descompressiva melhorou a eficiência do tratamento por via sistêmica com o fator de crescimento epitelial conforme pode ser constatado pela presença de espermatozoides (C). Apesar da leve obliteração do lúmen, este grupo recebeu classificação grau 9, segundo critério de Johnsen.

Barra= 140 um. Coloração azul de toluidina. Classificação de Johnsen.



## 5 DISCUSSÃO

### 5.1 Modelo Experimental

O testículo produz gametas maduros por meio de um complexo processo de proliferação e diferenciação das células tronco germinativas, modulado por um sistema regulatório endócrino e parácrino. O testículo humano é um conhecido alvo de lesões resultantes de enfermidades congênitas e adquiridas <sup>41</sup>. O estudo da torção do funículo espermático em humanos é complexo devido à ampla variabilidade com relação à idade de manifestação, tempo, grau de torção e sucesso do tratamento operatório. Impõe-se, portanto, a necessidade de modelos experimentais, nos quais é possível empregar procedimentos que visam reduzir ou evitar lesões histológicas testiculares. <sup>12 15</sup> O rato é o modelo experimental mais utilizado na avaliação do testículo. Optou-se pelo Wistar por se tratar de um animal de fácil manejo e com volume testicular semelhante ao de outros animais de maior porte.

A puberdade é definida como a idade em que o macho é capaz de reprodução. Ratos com idade inferior a 45 dias são considerados prepúberes e não apresentam a espermatogênese completa. <sup>42,43</sup> Ratos são normalmente férteis e capazes de copular com fêmeas quando atingem a idade de 70, 80 dias. <sup>44</sup> Com fins experimentais de reproduzir as características mais frequentes da torção do cordão espermático do ser humano, o presente estudo empregou ratos considerados jovens. Foram utilizados animais com idade entre 60 e 70 dias, período que corresponderia à fase de adolescência humana.

Segundo Robb e colaboradores, 1978, a maturidade sexual ocorre quando o macho atinge pela primeira vez a sua produção diária máxima de sêmen e isto

nem sempre corresponde com o início da puberdade. Frequentemente ocorre mais tardiamente. A orquiectomia foi realizada 21 dias após a operação de torção do cordão espermático, época em que os animais apresentavam média de idade de 85 dias, período em que já se encontram próximo da sua maturidade sexual, o que nos permitiu uma avaliação da sua capacidade reprodutiva. Ratos com idade superior a 120 dias são considerados adultos.<sup>44</sup>

Diversas são as vias de acesso descritas para abordagem do testículo de ratos: incisão paramediana<sup>45</sup>, abdominoescrotal, ilioinguinal<sup>46</sup>. A laparotomia mediana foi usada por Turner.<sup>18</sup> No presente estudo foi realizado o acesso transescrotal pelo menor risco de morbidade, preservação da cavidade peritoneal e rápida abordagem ao órgão.<sup>5,42</sup>

Alguns autores liberam as aderências epidídimo testiculares, com o intuito de provocar a torção isolada do órgão.<sup>42,47</sup> Optou-se pela torção em conjunto com o epidídimo, forma mais comumente encontrada na prática médica. O gubernáculo, no entanto, foi seccionado para permitir maior mobilidade durante a torção de 720<sup>0</sup> e eliminar possíveis circulações colaterais.<sup>18</sup> A rotação efetuada foi no sentido medial, visto que este tipo de torção ocorre em até dois terços dos casos encontrados em pacientes.<sup>4</sup>

Dois modelos de oclusão vascular testicular têm sido tradicionalmente descritos no estudo da torção do cordão espermático, a ligadura e o clampeamento dos seus elementos. Considerando-se a fisiopatologia da torção testicular em humanos, em quem o comprometimento da circulação venosa ocorre antes do comprometimento da circulação arterial, optou-se, nesta pesquisa, pela torção

em detrimento ao clampeamento, que acarreta oclusão mais completa, porém de forma mais abrupta.<sup>5, 15, 48,</sup>

Segundo Turner e Wilson<sup>49</sup>, em trabalhos experimentais, a torção de 180° do funículo espermático de ratos não produz alterações vasculares visíveis, mesmo em torções com duração de duas horas. A torção de 360° produz um moderado efeito isquêmico, mas ainda com algum fluxo vascular presente. Aumentando o grau de torção para 720°, ocorre a oclusão completa do fluxo sanguíneo testicular. A diminuição do fluxo sanguíneo com a torção de 720° se torna mais acentuada quanto maior é o tempo de permanência de torção, sendo que a vasomotricidade é eliminada durante a manutenção da mesma. Com o intuito de provocar alterações vasculares semelhantes, realizamos a torção de 720° no atual estudo.

Investigações sobre a isquemia testicular induzida por ligadura arterial em ratos demonstraram que períodos crescentes de isquemia, desde minutos até horas, resultam em danos progressivos para o testículo, com efeitos a longo prazo na espermatogênese, mesmo após uma hora de isquemia. Como previsto, quanto maior o tempo de duração da torção, maior a gravidade do dano testicular.<sup>18</sup> A maioria dos trabalhos mostrou lesão testicular com período de torção variando entre uma e quatro horas.<sup>16</sup> Animais submetidos à torção por um período de quatro horas apresentaram retorno do fluxo sanguíneo ao testículo após a operação de destorção do cordão. Como tempos maiores de torção poderia levar ao infarto completo do órgão dificultando o estudo da lesão do tipo isquemia reperfusão, neste experimento manteve-se o cordão espermático torcido por um período de quatro horas.<sup>44,50</sup>

## 5.2 Tratamento da Lesão Isquemia / Reperusão

Utilizando microesferas radioativas, Turner e Brown (em 1993) mediram o fluxo sanguíneo testicular de animais submetidos à torção de 720° do cordão espermático por um período de uma hora. As medidas foram feitas durante a torção e com quatro e 24 horas; dois, sete, 15 e 30 dias após o reparo. O fluxo testicular ipsilateral estava reduzido em 94% durante o período de torção; mas este mesmo fluxo não apresentou valores com diferenças significativas, quando comparado com o fluxo do grupo controle e do testículo contralateral em quatro e 24 horas após o reparo da torção. O aumento do tempo de torção para duas e quatro horas não impediu o retorno deste fluxo ao testículo em mensurações realizadas após 48 horas da destorção. Eles concluíram que se não houver o infarto testicular, o fluxo testicular de ratos retorna ao normal após o reparo da torção, especulando que a lesão testicular ocorra durante o período inicial da reperusão.<sup>18</sup>

Durante o período de reperusão, superóxidos de ânions, radicais hidroxilas, peróxido de hidrogênio, e óxido nítrico, as chamadas espécies reativas de oxigênio são produzidas em excesso e levam ao estresse oxidativo. Estas substâncias causam danos celulares por meio da peroxidação lipídica da membrana celular e desnaturação proteica.<sup>51</sup> Em um estudo clínico prospectivo, Kehinde e colaboradores, em 2003, conseguiram mensurar as alterações bioquímicas séricas que ocorrem durante a reperusão. Eles mediram o nível de malondialdeído sérico, um marcador de danos provocados por radicais livres, antes, 10 minutos, 30 minutos e 24 horas após a destorção. O momento de maior elevação foi após 10 minutos de reperusão e o mesmo retornou para níveis considerados basais após 24 horas em todos os pacientes

estudados.<sup>52</sup> O malondialdeído tem sido usado como marcador bioquímico agudo para determinar a extensão da lesão testicular.

Várias substâncias antioxidantes são utilizadas em estudos experimentais com o intuito de minimizar a lesão do tipo isquemia / reperfusão da torção do funículo espermático: N-acetilcisteína, taurina, trapidil, resveratrol, metilprednisolona, vasodilatadores periféricos como pentofilina e urapidil. Unsal e colaboradores propuseram em 2004 o uso de propofol durante o procedimento anestésico para destorção do cordão espermático como alternativa para atenuar a lesão da reperfusão.<sup>53</sup> Estes agentes são geralmente usados aplicando-se apenas uma dose antes da reperfusão. Yurtçu e colaboradores concluíram em 2009 que os tratamentos com agentes antioxidantes usados com apenas uma dose são eficazes apenas para torções de uma a duas horas de duração e que para torções mais prolongadas, são necessárias doses de manutenção após a destorção.<sup>46</sup>

Neste trabalho utilizou-se o fator de crescimento epitelial logo após o reparo da torção e mantendo-o por mais 48 horas, tempo suficiente para o retorno do fluxo vascular a parâmetros anteriores à torção. Obteve-se resposta satisfatória, do ponto de vista histológico testicular com a administração subcutânea do produto.

Trabalhos mais recentes tem utilizado anti-inflamatórios não hormonais, inibidores da síntese da prostaglandina como alternativa de tratamento. O diclofenaco sódico foi administrado via subcutânea em ratos, em doses diárias, 24, 48 e 72 horas após a destorção; e apesar de não provocar alterações significativas de padrão histopatológico, seu uso mostrou resultados benéficos

à espermatogênese com a diminuição do índice de apoptose das células germinativas dos animais estudados.<sup>54</sup> Em outra publicação, Dokmeci e colaboradores, (2007), utilizaram o ibuprofeno, por até sete dias após a destorção. Os animais tratados mostraram melhoras do padrão histológico estudado.<sup>55</sup>

### 5.3 O Fator de Crescimento na Regeneração Tecidual

Os fatores de crescimento tem um papel regulador nas ações celulares de um tecido em cicatrização por meio de mecanismos autócrinos e parácrinos. Eles são sintetizados por células envolvidas na cicatrização, como plaquetas, e macrófagos ativados. Uma variedade de feridas de animais e de pacientes apresentou uma evolução favorável com o tratamento utilizando-se estes agentes. A regeneração epitelial de lesões por queimaduras de segundo grau em porcos foi acelerada com a aplicação tópica de FCE e fator de crescimento transformador alfa.<sup>56</sup> Em ratos, o fator de crescimento epitelial liberado através de pastilhas, colocadas no tecido subcutâneo, aumentou a extensão do tecido de granulação no sétimo dia de cicatrização, com aumento da neovascularização, organização por fibroblastos e acúmulo de colágeno quando comparado ao grupo placebo.<sup>57</sup> Em outro estudo experimental em ratos diabéticos, após a injeção diária por sete dias de fator de crescimento epitelial, foi observada uma diminuição das mudanças degenerativas no pâncreas provocadas pelo diabetes mellitus.<sup>58</sup> Além disto, infusões contínuas de fator de crescimento epitelial por 14 dias tiveram um efeito trófico na mucosa pancreática e duodenal, sendo que a hiperplasia pareceu estar relacionada à concentração tecidual do fator.<sup>59</sup> Ratos submetidos à insuficiência renal aguda pós- isquemia apresentaram regeneração do tecido

renal após administração do fator de crescimento epitelial, com retorno para níveis normais de creatinina quatro dias antes dos outros animais que não receberam o FCE.<sup>33</sup>

Na lesão testicular do tipo isquemia / reperfusão, estes fatores também tem sido utilizados para sua recuperação. Tunçkiran e colaboradores, (2005), avaliaram a eficácia do fator de crescimento endotelial vascular nos danos histológicos que ocorrem a longo prazo. Estes autores realizaram a injeção do fator de crescimento endotelial vascular intratesticular antes da destorção e estes animais apresentaram a média do diâmetro de túbulos seminíferos e a altura do epitélio maiores que o grupo que não recebeu o fator. O índice de apoptose também foi menor no grupo do fator de crescimento endotelial.<sup>60</sup>

O FCE também é produzido em larga escala pelas glândulas salivares e a ablação destas glândulas pode levar a uma grave diminuição da fertilidade. A privação do fator de crescimento epitelial circulante pela sialoadenectomia agrava a lesão testicular, principalmente do espermatócito, favorecendo a apoptose de células germinativas e resultando no impedimento da diferenciação meiótica após o insulto do tipo isquemia / reperfusão.<sup>34</sup>. Kurokawa e colaboradores, (2005), investigaram o efeito do FCE em combinação com a orquidopexia em ratos com criptorquidia nos quais a deterioração estava parcialmente irreversível, através da perfusão retrógrada pela rede testicular. Os autores concluíram que embora a orquidopexia recupere a espermatogênese, esta recuperação é limitada e que a administração do FCE em combinação com o procedimento cirúrgico foi mais efetiva que a operação de forma isolada<sup>61</sup>.

No presente trabalho utilizou-se o fator de crescimento epitelial tópico e sistêmico ( Anexo II) em um grupo e em outro grupo apenas via sistêmica. No grupo de animais que recebeu o fator de crescimento tópico e sistêmico houve formação de grande processo inflamatório intratesticular, provavelmente provocado pelo Gelfoam<sup>®</sup> colocado sobre o testículo. Este mesmo processo inflamatório foi observado nos testículos dos animais nos quais o Gelfoam<sup>®</sup> foi colocado sobre o testículo sem torção e sem fator de crescimento epitelial. Assim, o aumento do peso e volume testiculares apresentados por estes animais pode ser decorrência da presença de fragmento de Gelfoam<sup>®</sup> não absorvido totalmente e do processo inflamatório adjacente, pois na graduação histológica de Johnsen houve grave comprometimento da espermatogênese destes animais, que apresentaram baixos índices, quando comparados aos grupos de animais que receberam o fator de crescimento epitelial por via sistêmica. Os animais com fator de crescimento tópico e sistêmico não apresentaram melhores índices mesmo com a realização da fasciotomia testicular descompressiva associada. Observou-se uma arquitetura tubular completamente obliterada, substituída por infiltrado histiocítico e linfocítico.

#### 5.4 O Gelfoam<sup>®</sup>

O Gelfoam<sup>®</sup> tem sido utilizado como veículo para o fator de crescimento epitelial no reparo de perfurações crônicas e subagudas da membrana timpânica em chinchilas. Lee e colaboradores, em 1994, aplicaram o fator de crescimento epitelial ao Gelfoam<sup>®</sup> depositado na membrana. O fechamento completo da perfuração ocorreu em 80% dos animais tratados, e em 20% dos não tratados. Após seguimento de nove meses, as membranas timpânicas tratadas estavam todas histologicamente normais. <sup>62</sup> Em outro estudo, também



com chinchilas, foi feita uma análise da ação do fator de crescimento epitelial e em associação com a pentoxilfilina sobre a perfuração subaguda da membrana timpânica. Também foi utilizada uma esponja de Gelfoam<sup>®</sup> na superfície residual da membrana timpânica onde foi instilado o fator de crescimento epitelial em intervalos de 72 horas por um período de 10 dias, quando então a esponja foi retirada. No grupo da associação com a pentoxilfilina, a mesma foi administrada via oral a cada 12 horas pelo mesmo período de 10 dias. Diferenças significativas foram encontradas entre os grupos. O fator de crescimento promoveu a cicatrização ao contrário da pentoxilfilina. Além disso, a combinação da pentoxilfilina e o fator de crescimento epitelial não mostrou efeito sinérgico na cicatrização destas perfurações subagudas.<sup>63</sup>

Uguralp e colaboradores, em 2004, em um trabalho experimental, avaliaram os efeitos da administração tópica do fator de crescimento epitelial na recuperação do tecido testicular bilateral após torção por um período de quatro horas e destorção unilateral. O fator era aplicado sobre um filme de gelatina que envolvia ambos os testículos por um período de sete e de 21 dias; quando então os testículos eram removidos. Tanto na avaliação histológica como na bioquímica, os grupos de animais que receberam o fator de crescimento epitelial apresentaram melhores índices.<sup>47</sup>

No presente trabalho aplicou-se o fator de crescimento tópico, pois a sua aplicabilidade seria mais acessível que a via sistêmica, mas em decorrência da reação inflamatória do tipo corpo estranho, estes testículos evoluíram para a hipotrofia. Neste trabalho, os animais que receberam o fator de crescimento sistêmico apresentaram peso e volume testiculares semelhantes aos animais do grupo controle, sendo que esta semelhança foi mais significativa no grupo

de animais com fator de crescimento epitelial sistêmico e fasciotomia testicular descompressiva. Quanto à graduação histológica, os maiores índices foram observados no grupo de aplicação sistêmica, quando comparados aos demais grupos, e mais uma vez houve predominância do grupo com fasciotomia associada.

### 5.5 Comprometimento do Testículo Contralateral

Diversos trabalhos experimentais sobre a torção do cordão espermático em ratos, coelhos e porcos demonstram controvérsias quanto a evidências de dano testicular contralateral.<sup>42, 43, 45,64</sup> As causas de alterações patológicas das análises espermáticas e a diminuição da fertilidade após a torção unilateral permanecem obscuras. Efeitos a longo prazo também têm sido observados em pacientes adultos como a redução da fertilidade e alterações da espermatogênese, o que parece indicar que diversos mecanismos estão envolvidos. A displasia pré-existente no testículo contralateral pode explicar estes distúrbios. Outros postulam mecanismos autoimunes, desencadeados pela quebra da barreira hematotesticular, secundária ao dano isquêmico, levando à exposição a materiais antigênicos e formação de anticorpos contra elementos testiculares. Outra teoria sugere uma vasoconstricção reflexa nos vasos do testículo contralateral mediada por nervos simpáticos. Este reflexo causaria hipóxia testicular bilateral e seus danos subsequentes.<sup>65</sup>

Estudos feitos para avaliar concentrações plasmáticas de testosterona demonstraram que a torção que leva ao comprometimento da espermatogênese em ratos também leva a uma significativa redução do androgênio testicular a longo prazo.<sup>66,67</sup> Muitos estudos tem demonstrado que

a inibina B sérica reflete a função das células de Sertoli e o estado da espermatogênese. Relatos recentes avaliaram o dano testicular contralateral por meio da dosagem da inibina B sérica. Em um estudo experimental, no grupo de animais submetidos à destorção testicular foi observada uma diminuição da inibina B sérica colhida 30 dias após a operação de reperusão. Estes animais apresentaram graves alterações histopatológicas do testículo ipsilateral, mas não no contralateral. Em todos os grupos os testículos contralaterais estavam normais, segundo o critério de Johnsen.<sup>68</sup> Como marcador das células de Sertoli, a inibina B tem alta sensibilidade como parâmetro de avaliação da subfertilidade em pacientes portadores de varicocele. Também tem sido correlacionada ao volume testicular e a produção de testosterona, o que leva a crer que assim como dados histopatológicos, a sua dosagem se faz necessária para avaliação da função endócrina dos testículos pós-torção.<sup>65</sup>

A maioria dos trabalhos avalia a função exócrina testicular como referência para o comprometimento contralateral. Consentino e colaboradores, (1984), determinaram os efeitos de várias durações de torção de 720<sup>0</sup> do cordão espermático em 60 ratos prépuberes. Ocorreu uma diminuição do diâmetro dos túbulos seminíferos no testículo contralateral relacionado à duração da torção. Além disto, todos os animais submetidos á torção e subsequente orquiectomia permaneceram férteis, independente do tempo de torção. Eles sugeriram que este efeito deletério poder ser minimizado se o testículo danificado for removido ao invés de destorcido e preservado.<sup>69</sup> Kosar e colaboradores, (1997), também indicaram a orquiectomia com a mesma finalidade de limitar danos histopatológicos do testículo contralateral. Eles encontraram diminuição do

volume testicular, e diminuição do diâmetro do túbulo seminífero da gônada contralateral.<sup>70</sup> Achados semelhantes também foram encontrados em coelhos por Aydin e colaboradores em 1977.<sup>64</sup> Eles utilizaram animais adultos para os estudos.

No presente trabalho foram utilizados animais jovens, o que é mais compatível com a idade de torção do cordão espermático encontrada em humanos e não foram encontradas alterações macroscópicas ou mesmo histopatológicas nos testículos contralaterais à torção. Todos os animais dos diversos grupos apresentaram peso, volume testicular e parâmetros histológicos como diâmetro do túbulo e altura do epitélio seminífero com valores semelhantes aos animais do grupo controle, independente do grau de lesão do testículo ipsilateral da torção. Achados semelhantes também foram encontrados por Becker e Turner. Eles sugeriram que haveria diferenças entre os testículos de animais púberes e animais adultos e suas respostas à torção. Eles compararam animais jovens e adultos submetidos a torções de 360<sup>0</sup> e 720<sup>0</sup> por períodos de uma, duas e quatro horas. Avaliaram o peso testicular, dados histológicos e produção espermática diária média de ambos os testículos. Nos animais adultos, independente do tempo de torção, ocorreu uma diminuição significativa do volume do testículo ipsilateral após 30 dias de torção. Foram alteradas também as funções exócrinas e endócrinas. Os animais jovens necessitaram de maior tempo de torção para que estas mesmas alterações fossem encontradas no testículo ipsilateral. Torção de 360<sup>0</sup> não produziu dano testicular para o animal jovem ou adulto. Os testículos contralaterais não foram afetados independentes do grau e da duração da torção.<sup>71</sup>

Saba e colaboradores, (1997) dosaram os níveis de antioxidantes nos testículos de ratos submetidos à torção por períodos de uma e duas horas. Os níveis destas substâncias diminuíram no testículo ipsilateral, mas não no contralateral à torção indicando a ausência do seu comprometimento.<sup>45</sup>

Com o objetivo de determinar se a torção testicular causa efeitos tardios sobre a espermatogênese do testículo contralateral e se a orquiepididimectomia do testículo torcido poderia preveni-los, Lorenzini e colaboradores, (2012), avaliaram o peso testicular, o diâmetro do túbulo seminífero e o escore de Johnsen, além da contagem de células germinativas específicas: espermátides arredondadas, e espermatócitos paquítenos por túbulo seminífero, avaliados nos estágios VII e VIII do ciclo do epitélio seminífero. O tempo de seguimento foi de 90 dias. Eles demonstraram que a torção testicular não causou nenhum efeito tardio no testículo contralateral e que a orquiepididimectomia no testículo torcido não é necessária como método de prevenir supostas alterações na espermatogênese contralateral.<sup>72</sup>

No atual estudo não se encontrou diferenças estatisticamente significantes em relação ao peso testicular e houve pequena diferença quanto ao volume testicular. Os animais que apresentaram maiores volumes foram os que receberam o fator de crescimento epitelial. No entanto, esta diferença encontrada no volume testicular não condiz com os achados histopatológicos, pois não houve diferença significativa na média do diâmetro, altura do epitélio e graduação histopatológica cuja média foi de 9,8 na graduação de Johnsen. Portanto, não houve comprometimento do testículo contralateral. Investigações experimentais adicionais se fazem necessárias para avaliar a dinâmica do fluxo sanguíneo do testículo contralateral à torção.

## 5.6 Fasciotomia Testicular Descompressiva

Recentemente, realizamos trabalho experimental para avaliação da efetividade da fasciotomia descompressiva com rotação do retalho da túnica vaginal, em períodos de torção de seis e 12 horas, com determinação do peso, volume testicular e alterações histológicas. Não se observaram diferenças significativas dos parâmetros avaliados entre o grupo sem e com fasciotomia após seis horas de torção. Por outro lado, no grupo de torção de 12 horas, em que os animais foram submetidos à fasciotomia, o peso e volume testicular foram maiores, assim como alterações histológicas favoráveis foram observadas.<sup>11</sup>

Uma avaliação morfológica e da microcirculação de ratos submetidos à torção e destorção do cordão espermático com capsulotomia foi descrita por Józsa e colaboradores, 2016. Eles realizaram a torção bilateral, por um período de duas horas com ressecção dos testículos no oitavo dia de pós-operatório. Áreas de necrose foram encontradas em ambos os grupos. No entanto, apesar de não encontrar diferenças significativas na média do padrão histológico dos testículos, nos animais com fasciotomia e rotação do retalho da túnica vaginal, as células de Sertoli e as espermatogônias apresentavam maior integridade e escores histológicos individuais maiores.<sup>73</sup>

Neste trabalho, os animais sem fator de crescimento epitelial com fasciotomia descompressiva apresentaram melhores índices de avaliação tanto macroscópicos quanto histológicos quando comparados ao grupo sem fasciotomia. Naqueles animais com fator de crescimento epitelial tóxico e sistêmico, em decorrência do processo inflamatório desencadeado, os pesos e volumes foram maiores que os animais do grupo controle, mas sem

correspondência em relação à graduação histológica de Johnsen. Este foi o segundo grupo de pior classificação. Por outro lado, os animais que receberam o fator de crescimento epitelial sistêmico em associação com a fasciotomia testicular descompressiva foram os que apresentaram peso e volume testiculares mais próximos dos valores do grupo controle e com graduação histológica de Johnsen maior que todos os outros grupos, com exceção do grupo controle. Isto confirma o papel da síndrome compartimental na fisiopatologia das alterações testiculares.

Este foi o primeiro estudo experimental em que se associou no tratamento da síndrome compartimental testicular, a destorção do cordão, fasciotomia descompressiva e substância antioxidante para a recuperação testicular. Embora a fasciotomia melhore a espermatogênese, esta melhora se torna mais efetiva quando em associação com o fator de crescimento epitelial sistêmico, o que corrobora a benéfica associação de tratamento antioxidante na lesão do tipo isquemia / reperfusão após a torção do cordão espermático. O tratamento com o fator de crescimento epitelial sistêmico e a fasciotomia testicular descompressiva teve um efeito sinérgico sobre o processo de recuperação do dano testicular.

### 5.7 Limitações do Estudo

Em relação ao método, o tempo de observação curto, período de 21 dias, limita a avaliação das repercussões do testículo contralateral à lesão após um ciclo completo de espermatogênese do rato.

A avaliação do peso testicular poderia ter sido mais específica, com a retirada do peso da camada albugínea. Assim como o volume poderia ter sido o volume líquido do mesmo, o que não foi possível em virtude do grave processo inflamatório de alguns testículos.



## 6 PERSPECTIVAS:

Baseado no modelo experimental proposto pelo presente trabalho, novas investigações podem ser realizadas. Pesquisas adicionais são necessárias para melhor definir o papel do fator de crescimento epitelial e sua associação com a fasciotomia testicular descompressiva na lesão do tipo isquemia reperfusão testicular ou mesmo em outros órgãos. A mensuração do grau de apoptose das células germinativas após o uso do fator de crescimento epitelial no reparo da torção testicular é importante. Atualmente estamos desenvolvendo este trabalho. Além disso, pode-se fazer o estudo quantitativo da população celular em um determinado estágio do ciclo do epitélio seminífero.

Pesquisas com indicadores bioquímicos sensíveis para a lesão testicular, como o malondialdeído e glutathione podem ser realizadas para determinar o momento preciso além do qual as alterações testiculares se tornam irreversíveis e verificar a aplicabilidade da fasciotomia e FCE.

Estudar o receptor do FCE e aperfeiçoar veículos para o uso efetivo do fator de crescimento tópico em feridas são projetos de pesquisa que podem ser desenvolvidos.

## 7 CONCLUSÕES:

- 1- Não se pode concluir sobre o efeito da aplicação tópica do fator de crescimento epitelial sobre testículo com o Gelfoam<sup>®</sup>. O Gelfoam<sup>®</sup> causou efeitos deletérios no testículo submetido à torção e destorção do cordão espermático. A aplicação sistêmica do fator de crescimento epitelial produziu um efeito protetor na lesão do tipo isquemia / reperfusão nos testículos dos animais estudados.
- 2- A aplicação sistêmica (subcutânea) do fator de crescimento em associação com a fasciotomia testicular teve efeito sinérgico e protetor da lesão do tipo isquemia / reperfusão para os testículos pós-torção- destorção.
- 3- Não houve comprometimento macro ou microscópico do testículo contralateral à torção e destorção, em todos os grupos de animais do estudo durante o período de 21 dias de observação.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

<sup>1</sup> Moharib NH, Krahn HP. Acute scrotum in Children with emphasis on torsion of the Spermatic cord. J Urol 1970 Oct; 104 (4): 601-3.

<sup>2</sup> Romeo C, Impellizeni P, Arrigo T, Antonuccio P, Valenzise M, Mirabelli S et al. Late hormonal function. J Pediatr Surg 2010 Feb; 45(2): 411-3.

<sup>3</sup> Anderson JB, Williason RC. The fate of the human testis following unilateral torsion of the spermatic cord. Br J Urol 1986 Dec; 58(6): 698-704.

<sup>4</sup> Sessions AE, Rabinowitz. Testicular torsion: direction, degree, duration and disinformation. J Urol 2003 Feb; 169(2): 663-5.

<sup>5</sup> Consentino M J et al. Histopathology of prepubertal rat testis subject to various durations of spermatic cord torsion. J Angiolo 1986; 7 (1): 23-33.

<sup>6</sup> Prilaman HM, Turner TT. Rescue of testicular function after acute experimental torsion. J Urol 1997; 157, (1): 340-5.

<sup>7</sup> Silva ACMBA, Ortiz V, Silva RA, Tognini JB. Effect of allopurinol on rat testicles morphology submitted to ischemia for spermatic torsion followed by reperfusion. Acta Cir Bras 2005 Nov - Dec; 20(6): 468- 72.

<sup>8</sup> Turner TT. Acute experimental testicular torsion. No effect on the contralateral testes J Androl 1985; 6(1): 65-72.

<sup>9</sup> Kutikov A, Casale P, White MA, Meyer, Chung A, Gosalbez R, Canning DA. Testicular compartment syndrome: a new approach to conceptualizing and managing testicular torsion. Urol 2008 Oct; 72(4):786-9.

Nota: estilo Vancouver.

- <sup>10</sup> Kolbe A, Sunc CC, Hill JL. Unpredictability of capsulotomy in testicular torsion. *J Pediatr Surg* 1987 Dec; 22:105-9.
- <sup>11</sup> Quintaes IPP, Tatsuo ES, Paulo DNSP, Musso C, Boasquevisque PCR. Decompressive fasciotomy in testicular torsion of the spermatic cord in rats. *Acta Cir Bras* 2013 Jun; 28(6): 423-9.
- <sup>12</sup> Guimarães SB, Aragão AA, Santos JMVS, Kumura OS, Barbosa HU, Vasconcelos PRL. Oxidative stress induced by torsion of the spermatic cord in young rats. *Acta Cir Bras* 2007 Jan-Feb; 22(1): 30-3.
- <sup>13</sup> Williason RC. Torsion of the testis and allied conditions. *Br J Surg* 1976 Jun; 63(6): 465-76.
- <sup>14</sup> Jesus LE. Acute scrotum. *Rev Col Bras Cir* 2000 Jul- Ago 27(4): 271-8.
- <sup>15</sup> Palmer JS, IPlazak LF. Comparison of blood flow and histological changes in rat models of testicular ischemia. *J Urol* 1997 Sep; 158- (3Pt 2): 1138-40.
- <sup>16</sup> Rigdahl E, Teague L. Testicular torsion. *Am Fam Physician* 2006 Nov; 74(10): 1739-43.
- <sup>17</sup> Turner TT, Lysiac J. Oxidative stress: A common factor in testicular dysfunction. *J Androl* 2008 Sep/ Oct; 29(5): 488-98.
- <sup>18</sup> Turner TT, Brown KJ. Spermatic cord torsion: Loss of spermatogenesis despite return of blood flow. *Biol Reprod* 1993; 49: 401-7.
- <sup>19</sup> Evora PRB, Pearson PJ, Seccombe JF, Schaff HV. Lesão de isquemia-reperfusão. Aspectos fisiopatológicos e a importância da função endotelial. *Aq Bras Cardiol* 1996; 66(4): 239-45.

<sup>20</sup> Laude K, Thuillez C, Richard V. Coronary endothelial dysfunction after ischemia and reperfusion: a new therapeutic target? *Braz J Med Biol Res*, 2001; 34(1):1-7.

<sup>21</sup> Hausenloy DJ, Yellon DM. Myocardial ischemia-reperfusion injury: a neglected therapeutic target. *J Clin Invest* 2013 Jan 2. 123 (1): 92-100.

<sup>22</sup> Turner TT , Tung KSK, Tomomasa H, Wilson LW, Acute testicular ischemia results in germ cell- specific apoptosis in the rat. *Biol Reprod* 1997; 57: 1267-74.

<sup>23</sup> Lysiak JJ, Turner SD, Turner TT. Molecular pathway of germ cell apoptosis following ischemia / reperfusion of the rat testis. *Biol Reprod* 2000; 63:1475-82.

<sup>24</sup> Lysiak JJ, Turner SD, Nguyen QAT, Singbartl K, Ley K, Turner TT. Essential role of neutrophils in germ cell- specific apoptosis following ischemia/ reperfusion injury of the mouse testis. *Biol Reprod* 2001; 65: 718-25.

<sup>25</sup> Payabvash S, Kiemehu S, Tavangar SM, Dehpour AR. Ethyl pyruvate reduces germ cell-specific apoptosis and oxidative stress in rat model of testicular torsion/ detorsion. *J Pediatr Surg* 2008 Apr; 43(4); 705-12.

<sup>26</sup> Bennett NT, Schultz GS. Growth factors and wound healing: biochemical properties of growth factors and their receptors. *Am J Surg* 1993; 166:1174-8.

<sup>27</sup> Wahl SM, Wong H, McCartney, Francis N. Role of growth factors in inflammation and repair. *J Cell Biochem* 1989; 40:193-9.

<sup>28</sup> Acosta JB, Lizama CM. Some considerations on the physiological role of epidermal growth factor in relation to its pharmacological applications. *Biotechnol Aplic* , 1998; 15 (3) 65-70.

<sup>29</sup> Bennet NT, Schultz GS. Growth factors and wound healing: Part II. Role in normal and chronic wound healing. *Am J Surg* 1993; 166:74-81.

<sup>30</sup> Konturek PC, Konturek SJ, Brzozowski T, Ernest H. Epidermal growth factor and transforming growth factor-alfa: role in protection and healing of gastric mucosal lesions. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1995; 7(10): 933-7.

<sup>31</sup> Walker- Smith JA, Phillips AD, Walford N, Gregory H, Fitzgerald JD. Intravenous epidermal growth factor /urogastrone increases small- intestine cell proliferation in congenital microvillus atrophy. *Lancet* 1985 Nov; 2(8466): 1239-40.

<sup>32</sup> Drum B, Cuk E, Tomkins KB, Cook D, Hamilton JR, Sherman P. Urogastrone /epidermal growth factor in the treatment of congenital microvillus atrophy. *Lancet* 1988 Jan16;1 (8577):111-2.

<sup>33</sup> Humes HD, Cielinski DA, Coimbra TM, Messana JM, Galvão C. Epidermal growth factor enhances renal tubule cell regeneration and repair and accelerates the recovery of renal function in post- ischemic acute renal failure *J Clin Invest* 1989 Dec; 84(6): 1757-61.

<sup>34</sup> Shun Z, Yi Z, Juan Q, Yaning L, Xiaohong W, Wei L. Endogenous epidermal growth factor (EGF) contributing to the maintenance of the integrity of Sertoli- germ cell anchoring junction, is required for early recovery from acute

testicular ischemia/ reperfusion (IR) injury. *Reproduction* 2012 Dec; 145(2): 177-89.

<sup>35</sup> Figueroa V, Salle JLP, Braga LHP, Romao R, Koyle MA, Bagli DJ, Lorenzo AJ. Comparative analysis of detorsion alone versus detorsion and tunica albuginea decompression (fasciotomy) with tunica vaginalis flap coverage in the surgical management of prolonged testicular ischemia. *J Urol* 2012 Aug; 188 (4): 1417-23.

<sup>36</sup> Watson MJ, Bartkowski, Nelson NC. Intracompartmental pressure as a predictor of intratesticular blood flow: a rat model. *J Urol* 2015 Jun; 193 (6): 12-8.

<sup>37</sup> Moritoki, Y, Kojima Y, Mizuno K, Kamisawa H, Kohri K, Hayashi Y. Intratesticular pressure after testicular torsion as a predictor of subsequent spermatogenesis. *BJU* 2012 Feb; 108(3): 466-70

<sup>38</sup> Turner TT, Miller D W. On the synthesis and secretion of rat seminiferous tubule proteins in vivo acute ischemia and germ cell loss. *Biol Reprod* 1997; 57: 1275-81.

<sup>39</sup> Cimador M, Dipace MR, Castagnetti M, Degarzia E. Predictors of testicular viability in testicular torsion. *J Pediatr Urol* 2007 Oct; 3(5): 387-90.

<sup>40</sup> Johnsen SG. Testicular biopsy score count- a method for registration of spermatogenesis in human testis: normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormones* 1970, Athens; 1(1) 2-25.

<sup>41</sup> Boekelheide K. Damage to fertility by cancer and its treatment. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2005: 34:6-8.

- <sup>42</sup> Becker EJ, Prillaman HM, Turner TT. Microvascular blood flow is altered after repair of testicular torsion in the rat. *J. Urol* 1997 Apr; 157 (4): 1493-8.
- <sup>43</sup> Altay B, Hekimgil M, Kafi A, Cikili N. Histopathological examination of both ipsilateral and contralateral testis with different obstructive models in prepubertal and adult rats. *B. J. Int.* 2001 Jul; 88 (1): 84-9.
- <sup>44</sup> Robb GW, Amann RP, Killian GJ. Daily sperm production and epididymal sperm reserves of pubertal and adult rats. *J Reprod Fert* 1978; 54: 103-7.
- <sup>45</sup> Saba M, Morales CR, De Lamirand E, Gagnon C. Morphological and biochemical changes following acute testicular torsion. *J Urol* 1997 Mar; 157(3): 1149-54.
- <sup>46</sup> Yurtçu M, Abasiyank A, Biçer S, Avundnk MA. Efficacy of antioxidant treatment in the prevention of testicular atrophy in experimental testicular torsion. *J Pediatr Surg* 2009 Sep; 44(9): 1754-8.
- <sup>47</sup> Uguralp S, Karabukent B, Mizrak B, Kaymaz S, Kilzitay S, Harsirci N. The effect of sustained and local administration of epidermal growth factor on improving bilateral testicular tissue after torsion. *Urol Res* 2004; 32: 323-31.
- <sup>48</sup> Guimarães SB, Vasconcelos PRL. In vivo acute changes in ATP and glucose concentrations in the testicles of prepubertal rats following unilateral torsion. *Acta Cir Bras* 2002 Mar/Apr 17 (2): 110-15.
- <sup>49</sup> Turner TT, Wilson LW. Acute testicular ischemia results in germ cell specific apoptosis of the rat testis. *Biol Reprod* 2000; 63: 1475-82.



- <sup>50</sup> Ralitchkova L, Nanov Z, Gotchev D, Hiney A, Libald T, Wolnik R. Experimental testicular torsion- early and late morphological and enzymohistochemical changes. *Z Exp Chir Transplant Kunstliche Organe* 1990; 23 (3): 185-8.
- <sup>51</sup> Dokmeci D. Testicular torsion, oxidative stress and the role of antioxidant therapy. *Folia Med* 2006; 48 (3-4): 16-21.
- <sup>52</sup> Kehinde EO, Mojiminiyi OA, Mahmoud AH, Al-Awadi Ka, Ai-Hunayan, Omu AE. The significance of measuring the time course of serum malondialdehyde concentration in patients with torsion of the testis. *J Urol* 2003; 169 (6): 2177-80.
- <sup>53</sup> Unsal A, Devrim E, Guven C, Eroglu M, Durak I, Bozoklu A, Balbay MD. Propofol attenuates reperfusion injury after testicular torsion and detorsion. *World J Urol* 2004 Dec; 22 (6): 461-5.
- <sup>54</sup> Molginer JG, Lurie M, Coran AG, Nativ O, Shiloni E, Suktonik I. Effect of diclofenac on germ cell apoptosis following testicular ischemia- reperfusion injury in a rat. *Pediatr Surg Int* 2006 Jan; 22 (1): 99-105.
- <sup>55</sup> Dokmeci D, Kanter M, Inan M, Aydogdu N, Basaran UN, Yalcin O, Turan FN. Protective effects of ibuprofen on testicular torsion/ detorsion- induced ischemia/ reperfusion injury in rats. *Ach Toxicol* 2007 Sep; 81(9): 655-63.
- <sup>56</sup> Schultz G, Rotatori DS, Clark W. EGF and TGF-alpha in wound healing and repair. *J Cell Biochem* 1991 Apr; 45(4): 346-52.

- <sup>57</sup> Buckey A, Davidson JM, Kamerath CD, Wolt TB, Woodward SC. Sustained release of epidermal growth factor accelerates wound repair. *Proc Natl Acad Sci* 1985 Nov; 82 (21): 7340-4.
- <sup>58</sup> Gulcin AM, Deniz E, Meryem C, Ozogul C, Ergum M. The effects of epidermal growth factor on pancreas in alloxan- diabetic rats: An ultrastructural study. *Home* 2013; 1(2):566-8.
- <sup>59</sup> Gasslander T, Permet J, Feng W, Adrian TE, Larsson J. Trophic effects by epidermal growth factor on duodenal mucosa and exocrine pancreas in rats. *Eur Surg Res* 1997; 29 (2): 142-9.
- <sup>60</sup> Tunçkiran A, Cayan S, Bozlu M, Yilmaz N, Acar D, Akbay E. Protective effect of vascular endothelial growth factor on histologic changes in testicular ischemia- reperfusion injury. *Fertil Steril* 2005 Aug; 84 (2); 468-73.
- <sup>61</sup> Kurokawa S, Kojima Y, Mizuno K, Nakane A, Hayashi Y, Kohri K. Effect of epidermal growth factor on spermatogenesis in the cryptorchidic rat. *J Urol* 2005 Dec; 174 (6); 2415-9.
- <sup>62</sup> Lee AJ, Jackler RK, Kato BM, Scott NM. Repair of chronic tympanic membrane perforations using epidermal growth factor: progress toward clinical application. *Am J Otol* 1994; 15 (1): 10-8.
- <sup>63</sup> Ramalho JRO, Bento RF. Healing of subacute tympanic membrane perforations in chinchillas treated with epidermal growth factor and pentoxifyline. *Otol Neurol* 2006; 27: 720-27.

<sup>64</sup> Aydin S, Ugras S, Odabas O, Yilmaz Y, Atilla MK, Yegin E. Experimental testicular torsion and its effects on the contralateral testis. *International Urology and nephrology* 29, 1977: 661-5.

<sup>65</sup> Romeo, C, Impellizzeri, Arrigo T, Antonuccio P, Valenzise M, Mirabelli S, Borruto FA, Scalfari G, Arena F, De Luca F. Late hormonal function after testicular torsion. *J Pediatr Surg* 2010; 45: 411-13.

<sup>66</sup> Baker LA, Turner TT. Leydig cell function after experimental testicular torsion despite loss of spermatogenesis. *J Androl* 1995 Jan- Feb; 16 (1): 12-7.

<sup>67</sup> Turner TT, Bang H, Lysiak JJ. Experimental testicular torsion: reperfusion blood flow and subsequent testicular venous plasma testosterone concentrations. *Urol* 2005; 65 (2); 390-4.

<sup>68</sup> Ozkan KU, Kuçukaydin M, Muhtaroglu S, Kontas O. Evaluation of contralateral testicular damage after unilateral testicular torsion by serum inhibin B levels. *J Pediatr Surg* 2001 July; 36 (7): 1050-53.

<sup>69</sup> Consentino M, Rabinowitz R, Valvo JR, Cockett AT. The effect of prepubertal spermatic cord torsion on subsequent fertility in rats. *J Androl* 1984 Mar- Apr; 5 (2): 93-8.

<sup>70</sup> Kosar A, Sarica K, Kupeli B, Alçigir G, Suzer O, Kupeli S. Testicular torsion: evaluation of contralateral histology. *Int Urol Nephro* 1997; 29 (3); 351-6.

<sup>71</sup> Becker EJ, Turner TT. Endocrine and exocrine effects of testicular torsion in the prepubertal and adult rat. *J Androl* 1995 Jul- Aug; 16 (4); 342-51.

- <sup>72</sup> Lorenzini F, Filho RT, Gomes RPX, Andrade AJM, Erdmann TR, Matias 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 Jun; 27 (6): 388-93.
- <sup>73</sup> Józsa T, Klarik Z, Norbert N. Morphological and microcirculatory evaluation of the rats testis after detorsion with or without a capsular release with a tunica vaginalis flap. *Asian J Androl* 2016 May- Jun; 18 (3); 462-6.
- <sup>74</sup> Murta DVF, Gomes VCL, Martinez LCR. A organização celular dos testículos de mamíferos. *Revista eletrônica de medicina veterinária - ISSN: 1679-7353. Ano XI- Número 20 - Jan 2013.*
- <sup>75</sup> França LR, Avelar GF, Almeida FLF. Spermatogenesis and sperm transit through the epididymis in mammals with emphasis on pigs. *Theriogen* 2005; 63:300-18.
- <sup>76</sup> França LR, Russel LD. The testis of domestic animals. In: J Martinez – Garcia, F. (Ed). *Male reproduction. A multidisciplinary overview. Madrid: Churchill Livingstone. 1998, p197-219.*
- <sup>77</sup> Pelletier MR, Vitale LM. Las uniones oclusivas de las barreras hematotesticulares del testículo, epidídimo y conducto deferente. *Sociedad Argentina de Androl* 2003 Dec; Buenos Aires; 12(4):53-72.
- <sup>78</sup> Russel LD, Chermont Y. Degeneration of germ cells in normal hypophysectomized and hormone treated hypophysectomized rats. *Anat Rec* 1977 Mar; 187(3): 347-66.

<sup>79</sup> Junqueira LC, Carneiro Histologia Básica 10<sup>0</sup> edição. Rio de Janeiro, editora Guanabara Koogan, 2004: 100-8.

<sup>80</sup> Panochia MA, Borella MI, Camargo ACM, Gilio JM, Silva CA. Effective strategy of the testis fixation in Wistar rat to evaluate the morphological and morphometric parameters of seminiferous epithelium. *Conscientiae saude*, 2008; 7(2):227-33.

## 9- APÊNDICES

## 9.1 Quadros dos pesos dos animais (g)

Grupo	Ratos	Torção	Orquiectomia
SFCESF			
	R1	282	329
	R2	312	356
	R3	326	373
	R4	313	369
	R5	323	362
	R6	290	339
	R7	309	372
	R8	325	407
SFCECF			
	R1	360	412
	R2	299	345
	R3	313	371
	R4	345	413
	R5	281	334
	R6	280	331
	R7	360	422
	R8	363	423
CFCETOSSF			
	R1	344	373
	R2	345	375
	R3	309	339
	R4	355	399
	R5	336	364
	R6	356	408
	R7	352	395
	R8	300	336
CFCETOSCF			
	R1	314	344
	R2	327	352
	R3	335	381
	R4	360	406
	R5	340	382
	R6	333	375
	R7	328	364
	R8	344	374

Grupo	Ratos	Torção	Orquiectomia
CFCESSF			
	R1	236	258
	R2	230	260
	R3	216	250
	R4	234	260
	R5	246	306
	R6	224	266
	R7	226	306
	R8	238	292
CFCESCF			
	R1	238	302
	R2	258	300
	R3	270	354
	R4	232	260
	R5	252	302
	R6	232	290
	R7	232	310
	R8	250	350
CONTROLE			
	R1		345
	R2		402
	R3		354
	R4		347
	R5		367
	R6		347
	R7		347
	R8		389

Peso dos animais (g)

Descrição do peso dos ratos Wistar (g) – primeira operação, segundo grupos.

<b>Grupos</b>	<b>Menor Valor</b>	<b>Maior Valor</b>	<b>Mediana</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio- padrão</b>
SFCESF	282,00	326,00	312,50	310,00	16,25
SFCECF	280,00	363,00	329,00	325,13	36,01
CFCETOSSF	300,00	356,00	344,50	337,13	21,30
CFCETOSCF	314,00	360,00	334,00	335,13	13,57
CFCESF	216,00	246,00	232,00	231,25	9,32
CFCESCF	232,00	270,00	244,00	245,50	14,25
	-	-	-	-	-

Descrição do peso dos ratos Wistar (g) – orquiectomia, segundo grupos.

<b>Grupos</b>	<b>Menor Valor</b>	<b>Maior Valor</b>	<b>Mediana</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio- padrão</b>
SFCESF	329,00	407,00	365,50	363,38	23,71
SFCECF	331,00	423,00	391,50	381,38	40,59
CFCETOSSF	336,00	408,00	374,00	373,63	26,70
CFCETOSCF	344,00	406,00	374,50	372,25	19,26
CFCESF	250,00	306,00	263,00	274,75	22,85
CFCESCF	250,00	354,00	301,00	296,25	31,79
C (CONTROLE)	345,00	402,00	356,00	363,62	21,22



## 9.2 Quadros dos Pesos dos Testículos Direitos (g)

Ratos	SFCESF	SFCECF	CONTROLE	CFCETOSSF	CFCETOSCF
R1	2,181	2,713	1,506	2,347	2,526
R2	1,068	1,325	1,577	2,369	2,762
R3	1,671	1,576	1,472	4,558	1,757
R4	1,435	2,842	1,444	4,215	3,316
R5	0,971	1,524	1,201	1,872	2,519
R6	1,779	2,036	1,400	4,096	1,459
R7	1,096	2,365	1,312	2,461	2,651
R8	1,93	2,836	1,389	0,772	2,195

Ratos	CFCESSF	CFCESCF	CONTROLE
R1	1,058	1,117	1,506
R2	1,506	0,635	1,577
R3	1,278	1,682	1,472
R4	0,913	1,455	1,444
R5	1,269	1,54	1,201
R6	0,456	1,192	1,400
R7	1,574	1,017	1,312
R8	0,386	1,273	1,389

## 9.3 Quadros dos Pesos dos Testículos Esquerdos (g)

Ratos	SFCESF	SFCECF	C	CFCETOSSF	CFCETOSCF
R1	1,559	1,588	1,416	1,504	1,429
R2	1,447	1,506	1,551	1,522	1,315
R3	1,497	1,512	1,472	1,512	1,372
R4	1,346	1,821	1,443	1,635	1,473
R5	1,488	1,520	1,266	1,347	1,407
R6	1,779	1,673	1,352	1,427	1,384
R7	1,339	1,682	1,274	1,472	1,461
R8	1,937	1,748	1,372	1,381	1,480

Ratos	CFCESSF	CFCESCF	CONTROLE
R1	1,405	1,479	1,416
R2	1,783	1,482	1,551
R3	1,278	1,782	1,472
R4	1,231	1,559	1,443
R5	1,486	1,473	1,266
R6	0,541	1,491	1,352
R7	1,596	1,508	1,274
R8	1,520	1,434	1,372

## 9.4 Quadros dos Volumes dos Testículos Direitos

Volume testicular direito (cm<sup>3</sup>)

Ratos	SFCESF	SFCECF	CONTROLE	CFCETOSSF	CFCETOSCF
R1	0,116	0,081	0,898	0,998	0,732
R2	0,364	0,149	0,858	0,865	0,686
R3	0,163	0,056	0,946	1,185	0,349
R4	0,076	0,187	0,218	0,884	0,848
R5	0,131	0,168	0,371	0,640	0,748
R6	0,149	0,205	0,371	1,331	0,257
R7	0,037	0,038	0,364	0,709	1,048
R8	0,07	0,16	0,786	0,351	0,611

Ratos	CFCESSF	CFCESCF	CONTROLE
R1	0,514	0,858	0,898
R2	0,540	0,278	0,858
R3	0,332	0,780	0,946
R4	0,915	1,060	0,218
R5	0,972	0,338	0,371
R6	0,662	0,873	0,371
R7	1,235	0,720	0,364
R8	0,294	0,800	0,786

## 9.5 Quadros dos Volumes dos Testículos Esquerdos

Volume Testicular esquerdo (cm<sup>3</sup>)

Ratos	SFCESF	SFCECF	CONTROLE	CFCETOSSF	CFCETOSCF
R1	0,249	0,374	0,842	0,514	0,711
R2	0,270	0,174	1,166	0,748	0,491
R3	0,374	0,291	1,185	0,748	0,748
R4	0,299	1,166	0,457	0,869	1,010
R5	0,203	0,832	0,540	0,636	0,589
R6	0,121	0,399	0,640	0,790	0,360
R7	0,109	0,203	0,374	0,599	0,673
R8	0,131	0,332	1,123	0,424	0,524

Ratos	CFCESSF	CFCESCF	CONTROLE
R1	0,748	1,029	0,842
R2	1,060	1,812	1,166
R3	1,123	0,858	1,185
R4	1,038	0,875	0,457
R5	1,304	0,800	0,540
R6	0,608	0,884	0,640
R7	1,029	0,933	0,374
R8	0,972	0,780	1,123

9.6 Quadros dos Diâmetros do Epitélio Seminífero dos Testículos Esquerdos ( $\mu\text{m}$ ):

Ratos	SFCESF	SFCECF	CONTROLE	CFCETOSSF	CFCETOSCF
R1	191,884	237,234	201,234	170,612	251,536
R2	213,804	179,716	195,998	174,044	161,458
R3	250,666	203,778	195,812	155,6	233,23
R4	203,36	181,1	190,708	168,686	238,78
R5	189,444	180,1	202,162	190,71	201,014
R6	190,882	199,324	199,082	183,028	191,936
R7	186,946	194,208	224,714	234,486	199,946
R8	189,766	244,642	219,838	175,79	179,65

Ratos	CFCESSF	CFCESCF	CONTROLE
R1	181,34	249,354	201,234
R2	214,86	247,176	195,998
R3	219,442	192,278	195,812
R4	210,544	201,068	190,708
R5	211,162	240,21	202,162
R6	189,44	184,136	199,082
R7	209,588	200,704	224,714
R8	239,176	186,078	219,838

9.7 Quadros das Medidas das Alturas do Epitélio Seminífero dos Testículos Esquerdos ( $\mu\text{m}$ )

Ratos	SFCESF	SFCECF	CONTROLE	CFCETOSSF	CFCETOSCF
R1	38,165	44,222	35,501	33,802	41,006
R2	33,987	34,923	34,822	31,327	28,103
R3	43,770	43,064	32,251	29,540	40,995
R4	34,542	32,553	33,115	29,384	39,404
R5	32,738	30,107	35,245	34,475	34,506
R6	32,170	42,199	34,476	91,514	31,805
R7	37,957	32,683	32,208	41,266	32,246
R8	31,848	39,722	37,525	28,323	28,264

Ratos	CFCESF	CFCESCF	CONTROLE
R1	29,817	41,429	35,501
R2	37,926	40,133	34,822
R3	34,221	35,038	32,251
R4	33,988	35,345	33,115
R5	38,242	33,313	35,245
R6	33,692	31,404	34,476
R7	36,733	33,563	32,208
R8	40,306	31,155	37,525

## 9.8 Quadros da Graduação Histológica dos Testículos Direitos (Johnsen)

## Grupo SFCESF

GRAU	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
10	144							1
9	6							10
8								5
7								4
6								20
5								16
4								20
3								31
2			1					37
1		150	55	48	150	64	150	6

## Grupo SFCECF

GRAU	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
10	90	0	0	13	23			
9	20	0	0	18	55			
8	40	0	0	0	16			
7	0	0	0	25	16			
6	0	0	0	49	22			
5	0	0	0	25	14			
4	0	0	14	15	0	10		
3	0	15		0	10		10	
2	0	60	33	5	0		40	
1	0	75	103	0	0	140	100	150

## Grupo CFCETOSSF

GRAU	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
10			0					
9			0					
8			13					
7			24					
6			24			7		
5			30		1	11		4
4			19		30	36	2	7
3		3	15		14	20	16	7
2	5	34	23	55	70	18	22	25
1	116	15	2	95	35	15	21	4

## Grupo CFCETOSSCF

GRAU	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
10				10				
9				65				
8				20				
7				10			16	
6				24				
5		34						
4	15	39						
3	15	29	10					
2	27	48	75	21	75		10	
1	0	0	10		75	50	124	150



## Grupo CFCESSF

GRAU	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
10				5	21		3	
9				24	29		46	
8				42	25		34	
7				24	34	4	42	
6				26	17	18	7	
5				25	24	86	8	
4				4		42		
3								
2		75	56					100
1	150	75	94					50

## Grupo CFCESCF

GRAU	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
10	30		27	8	26	1	50	92
9	30		43	41	40	64	58	37
8	30		46	33	12	36	32	7
7	5		9	20	12	10	8	4
6	6		5	17	3	1	4	4
5			3	12	14			6
4				19	1			
3								
2		80						
1		70						



## 9.9 Quadros - Grupo Gelfoam Testículos Direito e Esquerdo

Ratos	Peso Op.1(g)	Peso Op.2 (g)	Peso TD (g)	Volume TD (cm <sup>3</sup> )	Johnsen TD
R1	238	286	0,738	374,4	1
R2	224	278	2,037	858,0	8
R3	238	288	0,475	156,0	1
R4	230	286	0,212	208,0	1

Ratos	Peso TE (g)	Volume TE (cm <sup>3</sup> )	Diâmetro TE (um)	Altura TE (um)	Johnsen TE
R1	2,00	1029,67	187,12	33,29	10
R2	2,09	673,32	175,58	29,88	9
R3	2,14	858,0	196,82	31,68	10
R4	2,03	1123,0	173,12	30,88	10

### 9.10 O Testículo

O testículo é um órgão com função exócrina, relacionada com a produção e transporte de espermatozóides, e função endócrina relacionada com a produção de andrógenos como a testosterona. O conhecimento da estrutura organizacional do testículo é importante para o entendimento da fisiologia, assim como para detecção de anormalidades da gônada masculina.<sup>74</sup>

Este órgão está envolto por uma cápsula esbranquiçada de tecido conjuntivo, denominada túnica albugínea, que emite trabéculas até o mediastino dividindo-o em lóbulos. O órgão é, portanto, subdividido em compartimento tubular, composto pelos cordões seminíferos em cujas paredes são encontradas as células germinativas em diferentes estágios de desenvolvimento, além das células de suporte, denominadas de Sertoli. E o compartimento intertubular composto, sobretudo, pelas células de Leydig, que secretam o hormônio testosterona (Figura 6).<sup>75</sup>

O compartimento tubular representa 70% a 90% do parênquima testicular dos mamíferos eutérios sexualmente maduros e apresenta grande influência sobre a produção espermática e o peso testicular. Os gonócitos são as primeiras células germinativas identificadas nos cordões seminíferos, principalmente próximos à membrana basal.<sup>76</sup>

A espermatogênese é um processo cíclico altamente organizado e complexo que ocorre nos túbulos seminíferos e passa por três fases essenciais: a primeira, a proliferativa, em que células, particularmente as espermatogônias, sofrem sucessivas e rápidas divisões mitóticas; a segunda, a meiótica ou

espermatocitária, na qual o material genético dos espermatócitos é duplicado, recombinado e segregado; e por fim, a espermiogênica, em que células haplóides (espermátides) se diferenciam em espermatozóides, os quais estão adaptados para alcançar e fertilizar o ovócito.<sup>77</sup> As células de Sertoli, elementos somáticos que se localizam junto à membrana basal dos túbulos seminíferos se comunicam com as células adjacentes por junções intercelulares e favorecem o desenvolvimento do processo espermatogênico por fornecerem suporte estrutural e aporte nutricional às células germinativas, atuarem na fagocitose das células em degeneração e dos corpos residuais formados durante a espermiogênese e contribuir para a espermiação e a condução dos espermatozóides até o epidídimo para a maturação. A população de células de Sertoli é estabelecida antes da instalação da puberdade e está diretamente relacionada com a capacidade de produção espermática na maioria dos mamíferos já investigados.<sup>77,78</sup>

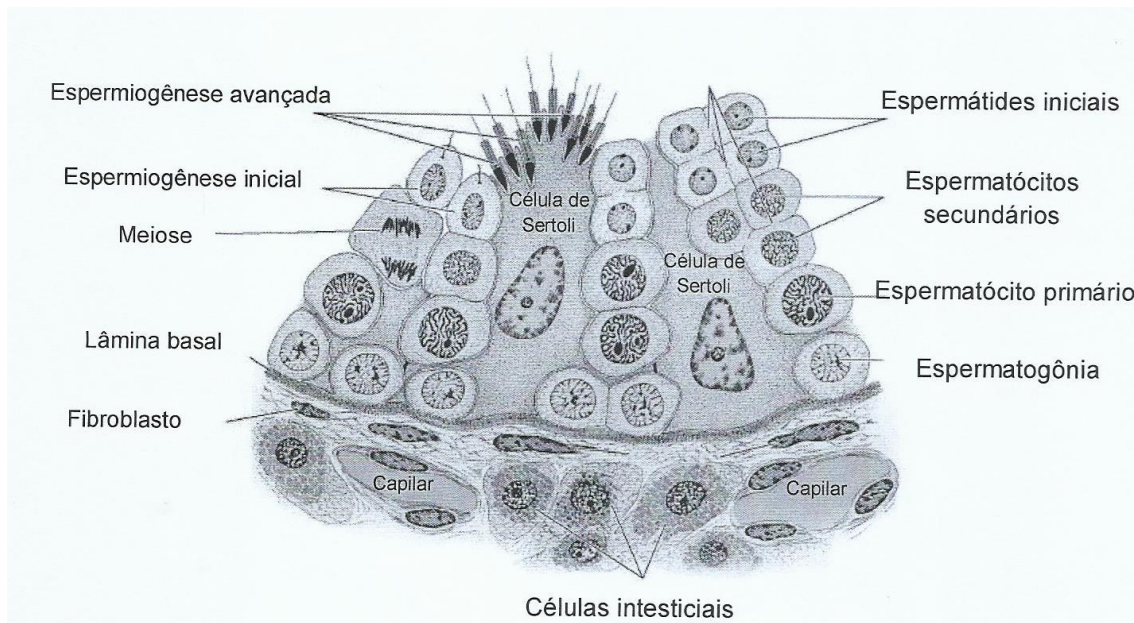


Figura 6. Esquema ilustrando uma porção de um corte de túbulo seminífero.

O epitélio seminífero é formado de duas populações celulares: as células da linhagem espermatogênica e as células de Sertoli. Em torno do túbulo há uma camada de células mióides além de tecido conjuntivo, vasos sanguíneos e células intersticiais<sup>79</sup>. Fonte Junqueira- Histologia Básica- 10<sup>o</sup> ed. 2004.

O processo de espermatogênese começa na puberdade e continua durante toda a vida devido ao grande reservatório de células tronco e a sua renovação cíclica durante a vida do animal. A iniciação da espermatogênese com as multiplicações celulares leva a alterações na estrutura do testículo como o aumento do diâmetro e volume tubular relativo, o que faz aumentar o peso do testículo. Em condições negativas, o testículo responde pela redução da espermatogênese através de diferentes mecanismos como alterações da espermiogênese, indução de apoptoses nas células germinativas, azospermia e até infertilidade (Figura 7).<sup>80</sup>

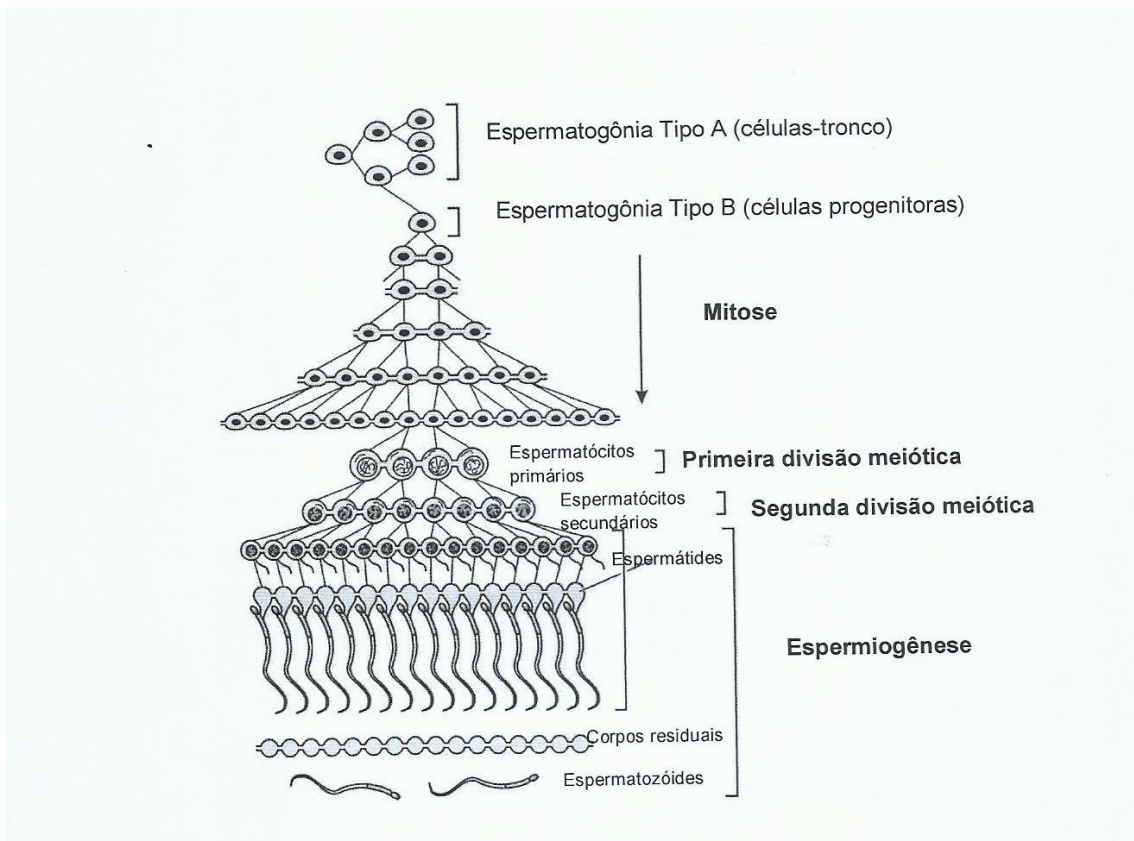


Figura 7. Desenho esquemático mostrando a natureza clonal das células germinativas. Inicialmente, só as espermatogônias tipo A se dividem, produzindo células –filhas que continuam a se dividir. Algumas de suas células-filhas ficam comprometidas com a diferenciação em espermatogônias tipo B e não se separam nas divisões sucessivas, permanecendo presas por pontes citoplasmáticas. Estas células voltam a ser individualizadas após a perda dos corpos residuais e a maturação completa dos espermatozóides. Fonte: Junqueira- Histologia Básica- 10<sup>o</sup> ed. 2004.<sup>80</sup>

## 10 ANEXOS

Anexo I - GRADUAÇÃO HISTOLÓGICA DE JOHNSEN<sup>40</sup>

Grau	Descrição da espermatogênese
1	Ausência de células germinativas e de Sertoli
2	Ausência de células germinativas. Presença de células de Sertoli.
3	As espermatogônias são as únicas células germinativas presentes.
4	Ausência de espermátides. Somente poucos espermatócitos presentes (<5)
5	Ausência de espermátides. Muitos espermatócitos presentes.
6	Ausência de espermatozóides. Somente poucas espermátides presentes (< 5 a 10)
7	Ausência de espermatozóides. Muitas espermátides presentes.
8	Somente poucos espermatozóides presentes (<5 a10)
9	Presença de Muitos espermatozóides. Presença de epitélio germinativo desorganizado com descamação e/ou obliteração do lúmen.
10	Presença de muitos espermatozóides. Espermatogênese completa.



## Anexo II Fator de Crescimento Epitelial





**EMESCAM**

Tradição e Conhecimento em Saúde

**CERTIFICADO**

Certificamos que o Protocolo nº 001/2013, relativo ao projeto intitulado “Síndrome compartimental na torção do cordão espermático. Estudo Experimental em Ratos”, que tem como responsável Isabela Passos Pereira Quintaes 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 21/02/2013. Este certificado expira-se em 21/02/2018.

We hereby certify that the Protocol nº 001/2013, related to the project entitled **Compartmental syndrome in torsion of the spermatic cord. Experimental study in rats**, under the supervision of **Isabela Passos Pereira Quintaes**, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the Ethics Committee in Animal Experimentation (CEUA-EMESCAM), and was approved in 21/02/2013.

*Daniilo Nagib Salomão Paulo*  
 Daniilo Nagib Salomão Paulo  
 Coordenador do CEUA-EMESCAM



**Certificado CEUA**

CEUA  
16/12/2014

Para: [cirpedhufmg@hotmail.com](mailto:cirpedhufmg@hotmail.com)



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**CEUA**

**COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**

**UFMG**

**CERTIFICADO**

Certificamos que o Protocolo nº. 363 / 2013, relativo ao projeto intitulado "Síndrome compartimental na torção do cordão espermático. Estudo experimental em 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 16/12/2014. Este certificado expira-se em 16/12/2019.

**CERTIFICATE**

We hereby certify that the Protocol nº. 363 / 2013, related to the Project entitled "Compartment syndrome and testicular torsion. Experimental study 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 16/12/2014. This certificate expires in 16/12/2019.

Cleuza Maria de Faria Rezende  
Coordenador(a) da CEUA/UFMG  
Belo Horizonte, 16/12/2014.

Atenciosamente.

Sistema CEUA-UFMG

<https://www.ufmg.br/bioetica/cetea/ceua/>

Universidade Federal de Minas Gerais  
Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha  
Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005  
31270-901 – Belo Horizonte, MG – Brasil  
Telefone: (31) 3499-4516 – Fax: (31) 3499-4592  
[www.ufmg.br/bioetica/cetea](http://www.ufmg.br/bioetica/cetea) - [cetea@prpq.ufmg.br](mailto:cetea@prpq.ufmg.br)