

ATHANASE BILLIS

ALTERAÇÕES ANATOMOPATOLÓGICAS DO TESTÍCULO
DO COELHO APÓS COLAPSO ORTOSTÁTICO

ESTUDOS QUALITATIVO E QUANTITATIVO

Tese de Doutorado
apresentada à FCM da
UNICAMP

CAMPINAS, 1976

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Aos meus pais

A minha esposa

Aos meus filhos

Este trabalho é em homenagem aos dez anos de fundação do Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP e ao seu fundador,

Prof. Dr. José Lopes de Faria,

a quem devo todos os meus conhecimentos de Anatomia Patológica, a orientação, a motivação e as bases da pesquisa científica.

Minha mais sincera gratidão.

Meus profundos agradecimentos à inestimável ajuda na realização deste trabalho de

Ismael Vêncio,
na preparação técnica do material

Maria José Ottoni Bueno da Silva,
no trabalho de datilografia

Marco Antonio Gongora,
no serviço de fotografia

Antonio Carlos Galvan,
na manutenção do biotério

Walter Pinto Júnior, dileto amigo e colega de turma, na revisão da análise estatística.

ÍNDICE

	pág.
INTRODUÇÃO	1
MATERIAL E MÉTODOS	5
RESULTADOS	10
A) Peso, comprimento e maior largura do tes- tículo no dia do sacrifício	10
B) Estudo microscópico qualitativo do tes- tículo e respectivo epidídimo	11
C) Estudo microscópico quantitativo do tes- tículo	35
DISCUSSÃO	41
RESUMO E CONCLUSÕES	50
REFERÊNCIAS	52
GRÁFICOS E TABELAS	60

INTRODUÇÃO

O colapso ou choque ortostático do coelho é conhecido desde a segunda metade do século passado (RAYNARD, 1868 e SALATHÉ, 1877). Este tipo de colapso é obtido colocando-se o animal em posição vertical após fixá-lo pelas patas e cabeça.

Depois de algum tempo (cerca de 20 a 30 minutos), variável de animal para animal, a circulação deixa de vencer a resistência da gravidade, o sangue se acumula na metade inferior do corpo e há oligoemia com as suas conseqüências para os parênquimas (EPPINGER, KAUNITZ & POPPER, 1935).

Os efeitos lesivos da oligoemia sobre os parênquimas são conhecidos desde os trabalhos de BÜCHNER (1932, 1933). Este autor observou lesões necróticas do miocárdio em coelhos agudamente anemiados. Lesões necróticas do miocárdio e de outros órgãos foram descritas por MEESEN (1937, 1939) no colapso ortostático do coelho.

MEESEN notou lesões necróticas no miocárdio e fígado (44, 45) referindo-se superficialmente a alterações em vasos do miocárdio, fígado e pulmões. A oligoemia grave que ocorre no cérebro foi observada por MEESEN (46) diretamente no fundo de olho do coelho e documentada fotograficamente.

KREUZIGER et al. (1953) e MOELLER & GABEL (1954) estudaram os distúrbios funcionais renais no colapso ortostático do coelho.

Em 1955, LOPES DE FARIA descreveu necrose da camada média da aorta após colapso ortostático do coelho. Este trabalho trouxe grande contribuição para o estudo da etiologia e patogênese da medionecrose idiopática da aorta humana. Neste trabalho o autor estudou as alterações na camada média da aorta produzidas 24 horas e até 3 meses após colapso ortostático. Em 1958, LOPES DE FARIA estudou as alterações observadas imediatamente após e até 18 horas após este colapso. Os trabalhos de LOPES DE FARIA foram confirmados por BARONE & D'AQUINO (1957), RICEVUTI (1967) e CAVALLERO, TUROLLA & RICEVUTI (1969).

HOLLMANN (1956) estudou o rim no colapso ortostático e descreveu lesões necróticas principalmente nos túbulos coletores, admitindo que estas lesões são o substrato morfológico das alterações funcionais descritas por KREUZIGER et al. (1953).

BRITO & MONTENEGRO (1960) estudaram o rim e o fígado. As lesões necróticas no rim foram acentuadas 24 horas após o colapso ortostático enquanto que no fígado 72 horas após.

Em 1962, LOPES DE FARIA estudou em coelhos as lesões nas coronárias 2 horas até 13 meses após o colapso ortostático, observando lesões necróticas na camada média. Fibrose da média e espessamentos hiperplásticos da íntima, semelhantes ao que ocorre na aterosclerose humana, foram vistos tardiamente. Em 6 destes animais foi utilizada uma dieta com gema de ovo e em 1 deles foi observada deposição lipídica na íntima.

NIKLOWITZ (1962), em estudo ultraestrutural, mostrou alterações nas mitocôndrias das células de Purkinje semelhantes às descritas em outros parênquimas quando ocorre isquemia aguda temporária.

Em 1963, POKK observou que as lesões parenquimatosas do miocárdio e fígado, após colapso ortostático, eram mais graves quando o animal era anestesiado com aminasina e menos graves quando anestesiados com uretana.

KORB et al. (1969) estudaram as alterações no fígado e miocárdio observando elevação de transaminases no soro dos coelhos cujo pico máximo era 12 a 24 horas após o colapso ortostático.

HUTH, BILS & GOLONBEK (1969) estudaram em ultramicroscopia as alterações renais registrando alterações hidrópi - cas no endotélio de capilares, comparáveis às vistas em rim de choque humano. Foi preciso submeter o animal a mais de 10 colapsos ortostáticos para haver necrose do epitélio tubular.

GOLONBEK, BILS & HUTH (1969) estudaram, também em ultramicroscopia, após o colapso, as alterações renais e descreveram sucintamente alterações no miocárdio, fígado, pulmões, baço, cérebro, tronco cerebral e cerebelo.

Em 1970, LOPES DE FARIA estudou a origem das células musculares lisas nos espessamentos da íntima após o colapso ortostático. Este autor admite que estas células sejam originárias de células indiferenciadas subendoteliais semelhantes a fibroblastos.

CAIN & KRAUS (1971) analisaram o aparelho justaglomerular. Empregando o índice de granulação justaglomerular observaram, após colapsos leves, uma queda inicial e 24 horas após, uma elevação para quase o dobro dos valores iniciais. O índice de granulação justaglomerular volta ao normal cerca de 4 dias após o colapso ortostático. SEYBERTH, HAACK & MIKSCHE (1971) mostraram que a atividade plasmática de renina está significativamente aumentada após o colapso ortostático do coelho.

ZAPRIAGAEV, em 1971, estudou as alterações no miocárdio após colapso ortostático, mostrando que o mesmo apresenta pontencialidade de regeneração de fibras isoladas ou em pequenos focos.

Em 1973, LOPES DE FARIA & SOKEI estudaram as alterações na adeno-hipófise e LOPES DE FARIA & TREVISAN na mucosa gástrica. Na adeno-hipófise, LOPES DE FARIA E SOKEI observaram lesões necróticas de células isoladas ou em pequenos grupos que eram mais evidentes 6 a 24 horas após o colapso ortostático. Regeneração completa da adeno-hipófise ocorreu 2 meses após. Na mucosa gástrica, LOPES DE FARIA & TREVISAN observaram lesões necróticas 4 até 72 horas após o colapso ortostático. Regeneração ocorreu a partir de 48 horas e era completa 8 dias após o colapso. As lesões na mucosa gástrica assemelham-se às vistas no choque humano.

Admite-se que as lesões necróticas observadas nos parênquimas dos diferentes órgãos sejam conseqüentes a um distúrbio nutritivo no qual a deficiência de oxigênio desempenha um fator fundamental. A deficiência de oxigênio seria causada pela oligoemia geral que ocorre neste tipo de colapso (5,26,28,36,37,38,39,40,41,44,45,50).

A alteração vacuolar celular que é vista precocemente em diferentes parênquimas (5,37,38) também apóia esta patogênese das lesões necróticas. A alteração vacuolar é atribuída à anóxia (BÜCHNER, 1959).

A utilização deste tipo de colapso experimental para o estudo das lesões parenquimatosas é de grande utilidade pelo fato de não haver trauma, hemorragia ou introdução no organismo do animal de substâncias exógenas, que poderiam interferir na patogênese das lesões.

Na revisão da literatura que realizamos não encontramos trabalho algum que estudasse as lesões do testículo do

coelho no colapso ortostático.

Considerando que este modelo experimental é excepcional para o estudo de lesões parenquimatosas decorrentes de distúrbios nutritivos e principalmente de anóxia, achamos que o estudo do testículo nesta condição experimental seria de grande interesse e poderia contribuir para o estudo da reprodução de um modo geral.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizamos 44 coelhos maduros de raça Norfolk Cross e 6 de raça Norfolk 2000 num total de 50 animais. Destes 50 coelhos, 1 lote de 10 animais serviu como controle e foi denominado lote C. Os animais-testes (40 coelhos) foram divididos em 9 lotes sacrificados em tempos diversos após o colapso: 6 (5 coelhos), 12 (5 coelhos), 24 (5 coelhos) e 48 horas (5 coelhos); 4 (4 coelhos), 7 (4 coelhos), 15 (4 coelhos), 30 (4 coelhos) e 45 dias (4 coelhos). Os lotes foram denominados respectivamente 6h, 12h, 24h, 48h, 4d, 7d, 15d, 30d e 45d (Tab. 1, pág. 61). Um único coelho (nº C-32/75) foi sacrificado 55 dias após o colapso ortostático e foi incluído no lote 45d.

Nos coelhos-controles, o peso e a idade variaram respectivamente de 2500 a 5550g e de 156 a 540 dias (Tab.1, pág. 61).

Nos coelhos-testes, o peso e a idade, no dia do colapso ortostático, variaram respectivamente de 2500 a 5500g e de 155 a 570 dias. (Tab.1, pág.61). No dia do sacrifício, o peso e a idade variaram respectivamente de 2500 a 5500g e de 155 a 571 dias.

No Gráf.1 (pág.63) estão contidos os dados sobre o peso no dia do sacrifício e no Gráf.2 (pág.64) os dados sobre a idade, também no dia do sacrifício, dos coelhos Norfolk Cross. Os coelhos de raça Norfolk 2000 não foram representados nestes gráficos por serem de pesos e idades muito diferentes dos de raça Norfolk Cross.

Em todos os animais foram considerados os seguintes parâmetros: a) peso, comprimento e maior largura do testículo direito no dia do sacrifício; b) estudo microscópico qualitativo do testículo direito e respectivo epidídimo; e c) estudo microscópico quantitativo do testículo direito.

O colapso foi provocado de acordo com o método descrito por LOPES DE FARIA (1955), uma única vez para cada animal. Este era deitado de costas sobre uma goteira de madeira, os membros e a cabeça distendidos e amarrados. A goteira com o animal distendido era colocada em posição vertical (Fig.1). Os animais eram mantidos em colapso durante 30 minutos e, de acordo com a gravidade do colapso, alternavam-se as posições: em vertical, semivertical e horizontal. A entrada do animal em colapso ortostático era reconhecida através do aparecimento de respiração superficial (inicialmente taquipnéia e a seguir bradipnéia), taquicardia com hipofonese das bulhas, redução ou ausência do reflexo óculo-palpebral, perda do tônus muscular dos membros, abdome e cianose das orelhas e lábios.

O intervalo de tempo para a entrada em colapso variou de 5 a 94 minutos sendo, em média, 37 minutos e o tempo total em posição ortostática variou de 35 a 124 minutos sendo, em média, 56 minutos (Tab.2, pág.62). A intensidade do colapso, em graus leve, moderado e intenso, era avaliada por sinais clínicos. Tiveram colapso, em graus leve, moderado e grave, respectivamente 12, 18 e 10 coelhos (Tab.2, pág.62).

O sacrifício foi realizado através de pancada na nuca seguida imediatamente de sangramento por secção dos vasos do pescoço. Dentre os coelhos que morreram espontaneamente durante ou após o colapso ortostático, apenas 1 foi incluído no presente trabalho, pelo fato de ter sido necropsiado imediatamente após a morte. Este coelho de nº C-36/75 morreu espontaneamente cerca de 6 horas após o colapso ortostático e foi incluído no lote 6h.

Na necrópsia, o testículo direito e o respectivo epidídimo eram retirados por via abdominal. O epidídimo era facilmente separado do testículo por meio de tesoura e colocado em fixador de Bouin. O testículo era pesado, medido e imediatamente colocado em fixador de Bouin.

Após cerca de 3 a 4 horas de fixação o testículo era dividido em 3 porções através de cortes transversais: superior, médio e inferior. As porções eram recortadas, obtendo-se fragmentos com a espessura média de 0,5 cm, e fixados por mais 24

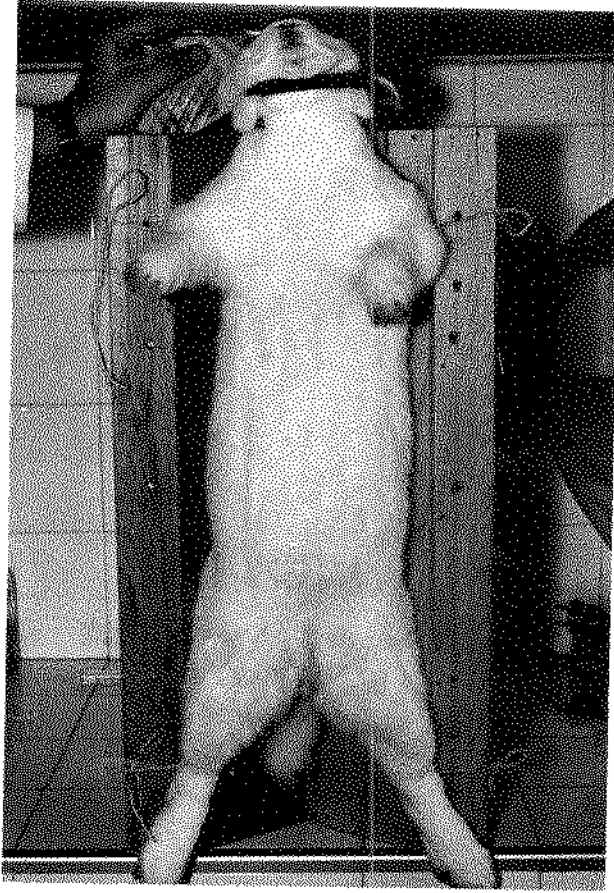


Fig. 1 Coelho em posição ortostática. Está amarrado sobre uma goteira de madeira através das patas dianteiras e traseiras. A cabeça é firmemente presa por uma argola de metal.

horas em Bouin (Fig.2).

Também após cerca de 3 a 4 horas de fixação, o epidídimo era dividido em 3 porções através de cortes transversais: cabeça, corpo e cauda. Estes eram recortados obtendo-se fragmentos com a espessura média de 0,3 cm na cabeça e cauda, e 0,1 cm no corpo, e fixados por mais 24 horas. O fragmento de cauda incluía também o ducto deferente (Fig. 2). Após fixação os fragmentos eram processados e incluídos em parafina. Os cortes de 6 μ foram corados pela hematoxilina e eosina.

Para o estudo microscópico qualitativo, foi examinado um corte de todos os fragmentos obtidos. Para o estudo quantitativo, foi utilizado apenas o corte do fragmento superior do testículo. Neste corte observaram-se, em cada coelho, os primeiros 100 ou mais túbulos seminíferos em corte transversal. Deste total de túbulos examinados determinou-se a percentagem daqueles com: a) os diferentes estádios do ciclo da espermatogênese; b) células necróticas; c) espermatócitos de primeira ordem de núcleos hipertróficos; d) espermatídes de núcleos arredondados hipertróficos; e) espermatídes bi ou multinucleadas de núcleos arredondados; f) espermatozóides multinucleados ou não de núcleos condensados mas não alongados; g) o estádio do ciclo da espermatogênese não reconhecido por causa das diferentes alterações acima referidas; e h) figuras de mitose nas espermatogônias.

No estudo microscópico do epidídimo foram observadas apenas as células presentes na luz do túbulo epididimário.

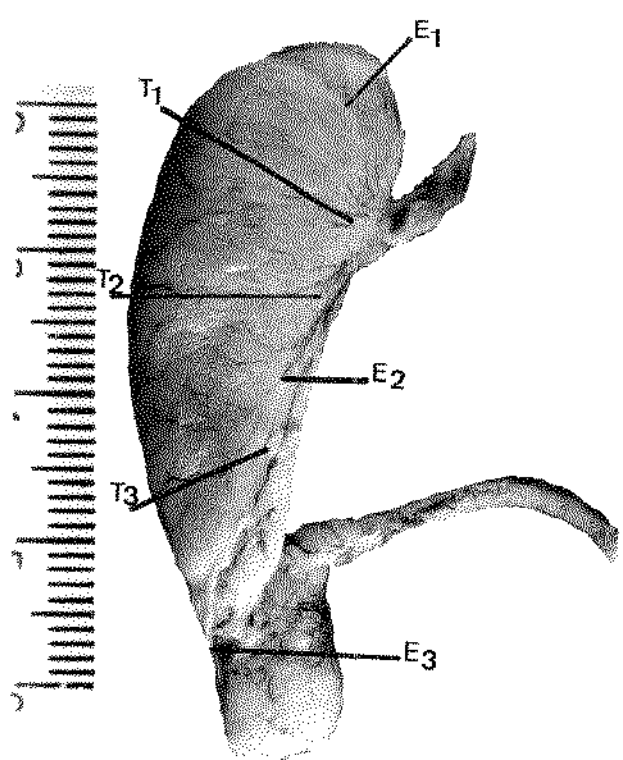


Fig. 2 Testículo e epidídimo direitos do coelho. Os fragmentos do testículo para exame foram retirados das porções superior, média e inferior, indicadas pelas linhas T₁, T₂ e T₃. Para o epidídimo, examinaram-se fragmentos retirados da cabeça, corpo e cauda, respectivamente E₁, E₂ e E₃.

RESULTADOS

A) PESO, COMPRIMENTO E MAIOR LARGURA DO TESTÍCULO DIREITO NO DIA DO SACRIFÍCIO.

O peso do testículo direito dos coelhos de raça Norfolk Cross variou de 1340 a 3480mg. O comprimento e maior largura do testículo direito dos coelhos de raça Norfolk Cross, no dia do sacrifício, variaram respectivamente de 22 a 40 mm e de 10 a 16 mm. Não foram pesados e nem medidos os testículos dos coelhos de raça Norfolk 2000.

No Gráf.3 (pág.65) estão contidos os dados sobre o peso do testículo direito dos coelhos Norfolk Cross no dia do sacrifício. No Gráf.4 (pág.66) estão contidos os dados sobre o comprimento e maior largura do testículo direito dos coelhos Norfolk Cross no dia do sacrifício.

B) ESTUDO MICROSCÓPICO QUALITATIVO DO TESTÍCULO DIREITO E RESPECTIVO EPIDÍDIMO.

A- ANIMAIS-CONTROLES (LOTE C).

O aspecto histológico dos fragmentos examinados foi muito uniforme para todos os animais inclusive nos 2 coelhos de raça Norfolk 2000 que eram mais idosos. Nos cortes transversais de túbulos seminíferos todos os estádios do ciclo da espermatogênese estavam presentes e eram facilmente reconhecidos. A frequência dos diferentes estádios do ciclo é apresentada no Gráf. 5 (pág.67).

Faremos a seguir uma breve descrição de cada um dos estádios do ciclo baseando-nos no trabalho, em coelho, de SWIESTRA & FOOTE (1963). Utilizamos para ilustração dos estádios, além dos casos-controles, dois coelhos submetidos a colapso ortostático.

Estádio 1 (Fig.3). Neste estágio estão presentes no epitélio seminífero 4 tipos de células, além das células de Sertoli: espermatogônias do tipo A, espermatócitos de primeira ordem ou citos I em fase de leptóteno, espermatócitos de primeira ordem em fase de paquíteno e espermatídes de núcleos arredondados. As espermatogônias do tipo A apresentam núcleo arredondado, volumoso e com cromatina frouxa e difusamente distribuída. Os espermatócitos de primeira ordem em leptóteno apresentam cromatina intensamente corada. Os espermatócitos de primeira ordem em paquíteno apresentam núcleo mais volumoso que os em leptóteno e a cromatina se apresenta em forma de filamentos grosseiros e difusamente distribuídos. Sua membrana nuclear não é nítida. Os espermatócitos em leptóteno ocupam uma posição mais basal em relação aos em paquíteno. As células de Sertoli são vistas em todos os estádios do ciclo e não mais serão mencionadas. Apresentam o citoplasma mal delimitado, núcleo de forma geralmente piramidal, o nucleoplasma claro e o nucléolo muito evidente.

Estádio 2 (Fig.4). Neste também estão presentes 4 tipos de células: espermatogônias do tipo A, espermatócitos de primeira ordem em leptóteno, espermatócitos de primeira ordem em paquíteno e espermatídes de núcleos em alongamento. O início e término do alongamento nuclear das espermatídes caracteriza este estágio. À medida que o alongamento prossegue, há uma condensação cada vez maior da cromatina nuclear.

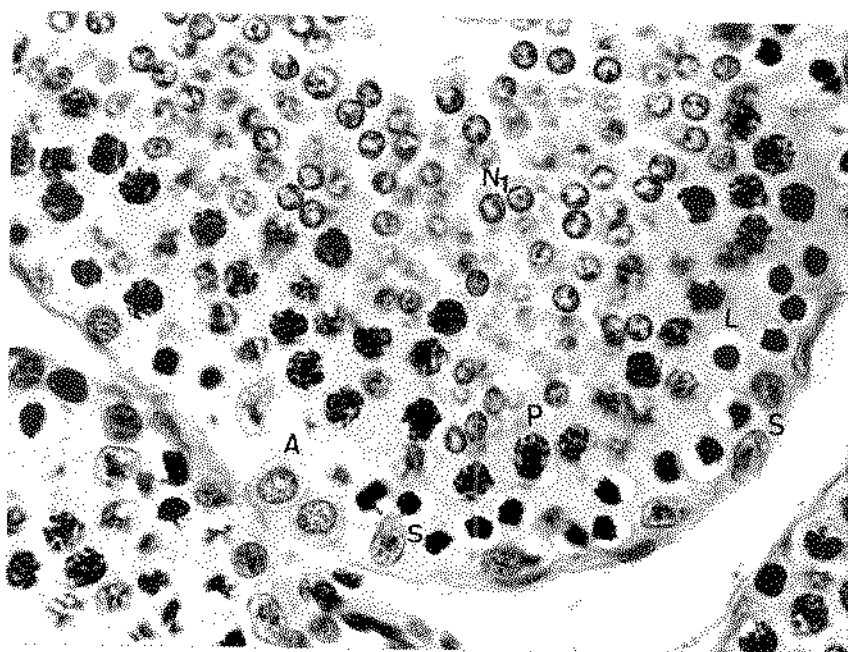


Fig. 3 Coelho controle nº C-69/75. Túbulo seminífero em estágio 1 do ciclo da espermatogênese. Neste estágio o epitélio seminífero é constituído por espermatogônias do tipo A (A), citos I em leptóteno (L) e em paquíteno (P) e espermatídes de núcleos arredondados (N_1). As células de Sertoli (S) estão dispostas ao longo da membrana basal. Notar o citoplasma bem delimitado das espermatogônias em contraste com o das células de Sertoli. (H.E. 600x)

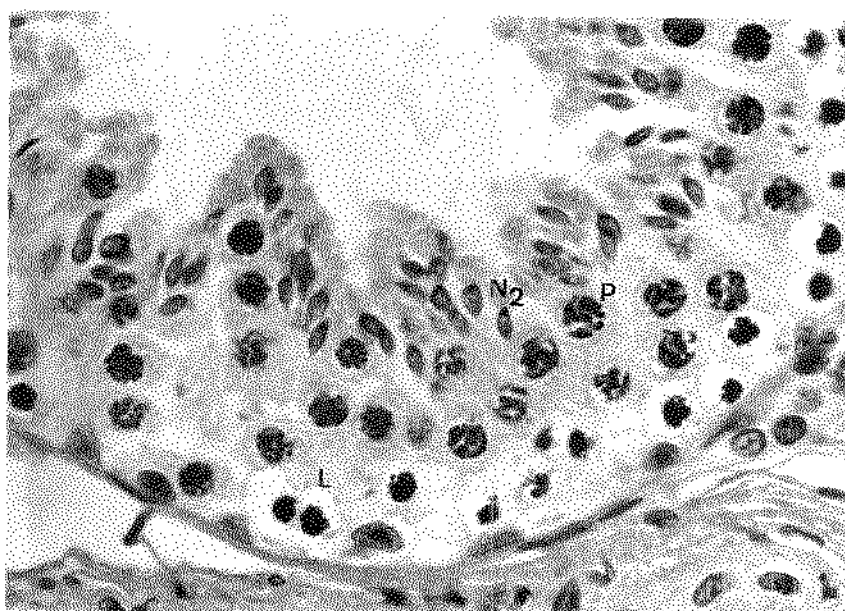


Fig. 4 Coelho controle nº C-66/75. Túbulo seminífero em estágio 2 do ciclo da espermatogênese. Neste estágio há alongamento e condensação dos núcleos das espermatídes (N_2). Na figura também podem ser vistos citos I em leptóteno (L) e em paquíteno (P). (H.E. 600x)

Estádio 3 (Fig.5). Neste estágio as células do epitélio seminífero são as mesmas do estágio anterior, porém as espermatídes já mostram núcleos alongados e totalmente condensados. Além disso, os espermatócitos de primeira ordem em leptóteno atingem a fase de zigóteno. Morfologicamente, esta última não é distinta da fase de leptóteno.

Estádio 4 (Figs.6 e 7). Este é um estágio de fácil reconhecimento porque nele ocorrem as duas divisões da meiose. Na primeira, reducional, os espermatócitos de primeira ordem em diploteno e diacinese dão origem aos espermatócitos de segunda ordem ou citos II. Na segunda, equacional, os espermatócitos de segunda ordem dão origem às espermatídes. Ainda neste estágio vê-se um novo tipo de espermatogônia, denominada tipo intermediário (In) e proveniente de divisão mitótica de espermatogônias do

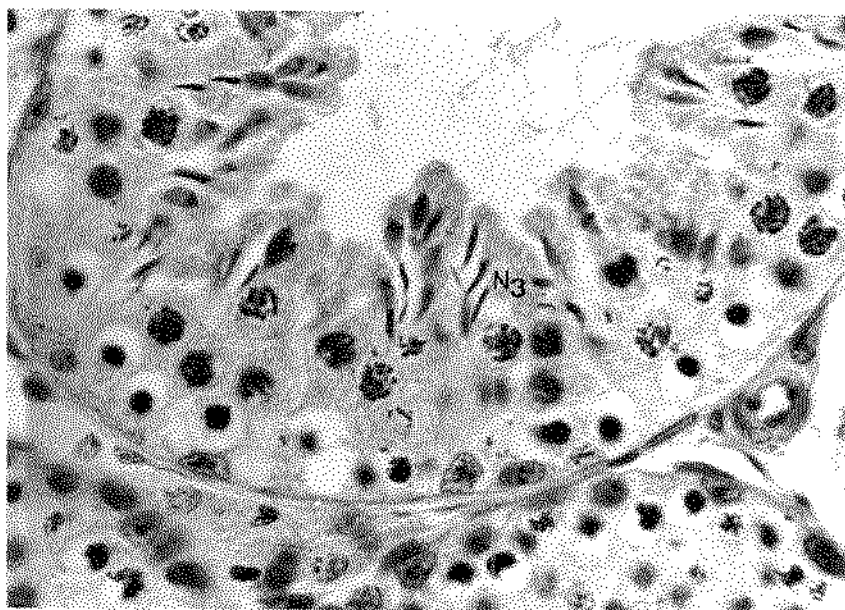


Fig. 5 Coelho controle nº C-66/75. Estádio 3 do ciclo da espermatoxênese. Neste estágio os núcleos das espermatídes já estão alongados e totalmente condensados (N_3). (H.E. 600x)

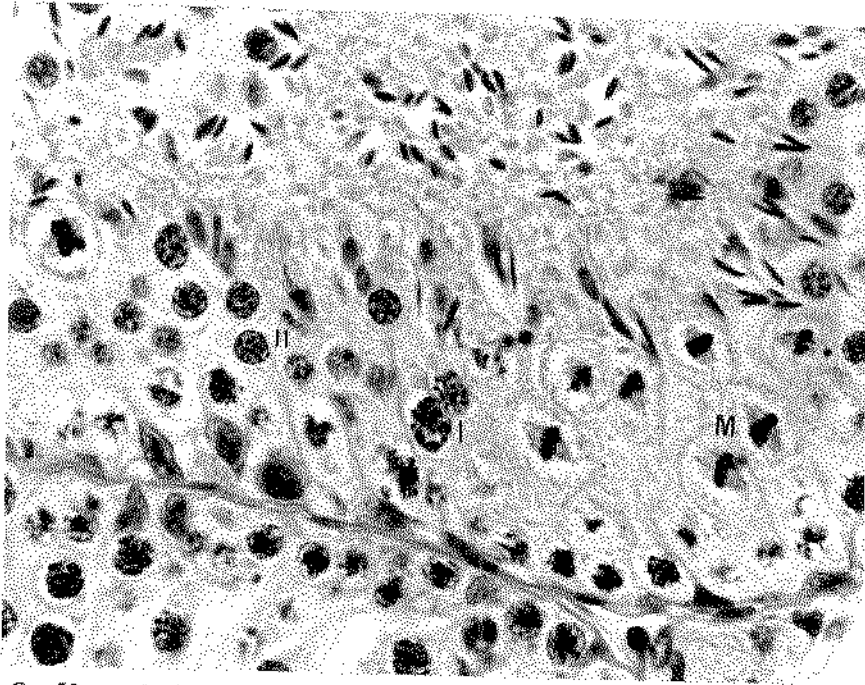


Fig. 6 Coelho nº C-64/75, sacrificado 7 dias após o colapso ortostático. Estádio 4 do ciclo da espermatogênese. A figura mostra a primeira divisão da meiose. À direita, observar fusos meióticos (M) de espermatócitos de primeira ordem (I) e à esquerda, espermatócitos de segunda ordem (II). Comparar a membrana nuclear dos citos I e II. (H.E. 600x)

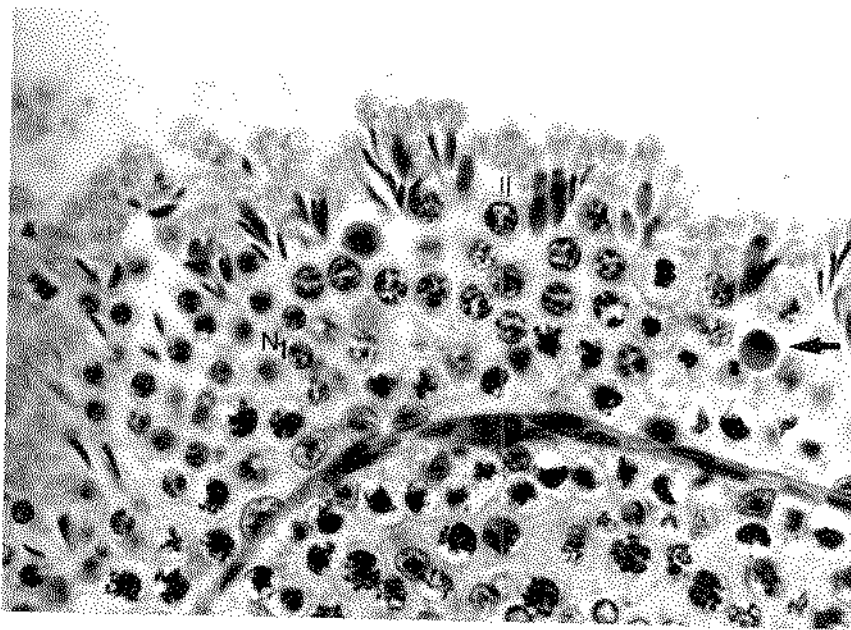


Fig. 7 Coelho controle nº C-47/75. Estádio 4 do ciclo da espermatogênese. No centro da figura vêem-se espermatócitos de segunda ordem (II) e a esquerda espermatídes jovens de núcleos arredondados (N_1). Notar o volume menor dos núcleos das espermatídes em relação aos citos II. A ponta de seta mostra célula necrótica isolada. (H.E. 600x)

tipo A. A morfologia das espermatogônias intermediárias será descrita no estágio 5. Como há formação de uma nova geração de espermátides, as já existentes e de núcleos alongados e condensados passam a ser denominadas de espermatozoides. Os espermatozoides de primeira ordem em diplôteno e diacinese são semelhantes aos em paquíteno, porém de núcleo pouco mais volumoso. Os espermatozoides de segunda ordem são pouco frequentes pelo fato da segunda divisão da meiose ser muito rápida. Os citos II diferenciam-se das espermátides por apresentarem núcleos mais volumosos (Fig.7) e dos espermatozoides de primeira ordem por apresentarem membrana nuclear nítida (Fig.6). Neste estágio frequentemente vêem-se células necróticas isoladas. Na maioria das vezes estas células necróticas são espermatozoides de primeira ordem.

Estádio 5 (Fig.8). Neste estágio há associação de 5 tipos de células: espermatogônias do tipo A e intermediário (In), espermatozoides de primeira ordem em paquíteno, espermátides de núcleos arredondados e espermatozoides. Vemos neste estágio que os espermatozoides de primeira ordem estão numa única fase (paquíteno) ao contrário do que ocorria nos 4 estádios anteriores. A espermatogônia do tipo In caracteriza-se por apresentar núcleo ovalado e com o maior eixo paralelo à membrana basal. A cromatina nuclear é mais densa em relação à espermatogônia do tipo A.

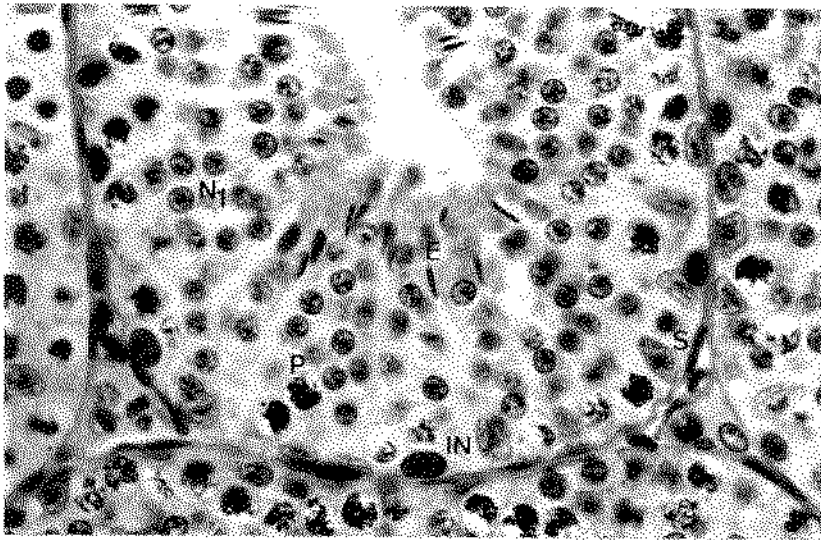


Fig. 8 Coelho nº C-37/75, sacrificado 48 horas após o colapso ortostático. Estádio 5 do ciclo da espermatogênese. O epitélio seminífero apresenta espermatozoides de primeira ordem em paquíteno (P), espermátides de núcleos arredondados (N₁) e espermatozoides (E). Forrando a membrana basal vêem-se espermatogônias do tipo intermediário (IN) e células de Sertoli. (H.E. 600x)

Estádio 6 (Fig.9). Neste, a associação celular é a mesma do estágio anterior. A diferença está no fato de, neste estágio, os espermatozoides migrarem em direção aos núcleos das células de Sertoli. Portanto, neste estágio os núcleos dos espermatozoides estão numa posição mais basal, em relação à luz, comparativamente aos outros estádios do ciclo.

Estádio 7 (Fig.10). Neste estágio há o encontro de um novo tipo de espermatogônia denominado tipo B e proveniente de divisão mitótica de espermatogônias intermediárias. Aquela caracteriza-se por apresentar núcleo arredondado, membrana nuclear muito nítida e cromatina disposta em grumos. Além disso, os espermatozoides estão retornando em direção à luz tubular.

Estádio 8 (Fig.11). Este estágio é de fácil reconhecimento. Nele encontram-se os tres tipos de espermatogônias além de espermatócitos de primeira ordem em paquíteno, espermátides de núcleos arredondados e espermatozoides, estes últimos com os núcleos situados na porção mais apical do epitélio seminífero. As espermatogônias do tipo B, por divisão mitótica, dão origem a espermatócitos de primeira ordem em pré-leptóteno. Os citos I em pré-leptóteno diferenciam-se das espermatogônias do tipo B por apresentarem núcleos de cromatina mais frouxa e membrana nuclear pouco nítida. É particularmente no estágio 8 que se vêem, com maior frequência, figuras de mitose nas espermatogônias. Ainda no estágio 8 há formação dos corpos residuais de Regaud.

Na Tab.3 (pág.68) mostramos, esquematicamente, os diferentes tipos de células que constituem cada estágio do ciclo da espermatogênese. Da análise da tabela observamos que são precisos 4 ciclos para que haja a espermatogênese completa, isto é, haver formação de espermatozoides a partir de espermatogônias do tipo A. SWIEBstra & FOOTE (1965), empregando timidina marcada constataram que cada ciclo, no coelho, se faz em aproximadamente 11 dias, de modo que a espermatogênese completa far-ze-ia em aproximadamente 44 dias.

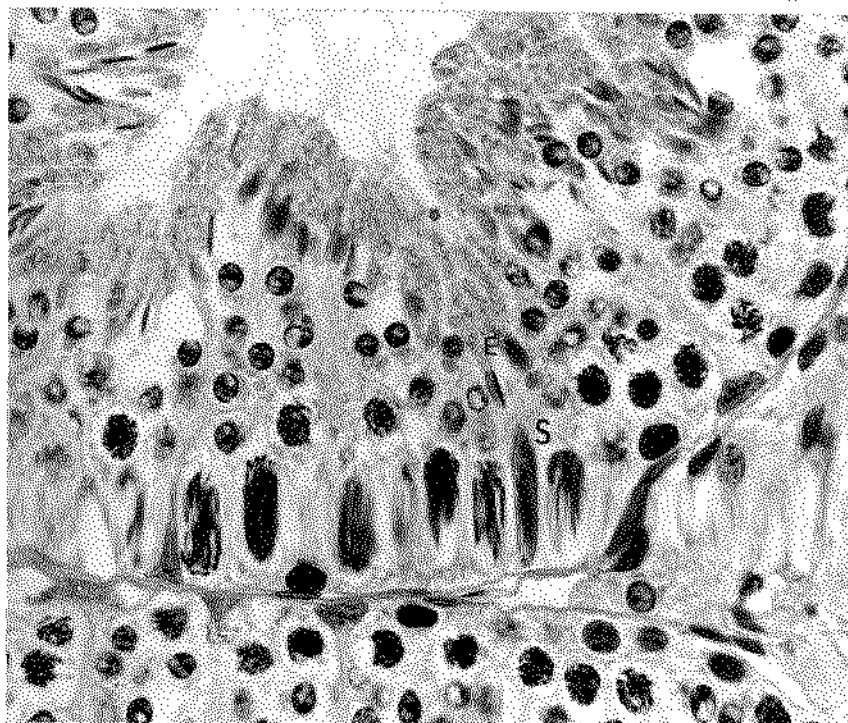


Fig. 9 Coelho controle nº C-66/75. Estádio 6 do ciclo da espermatozoidese. Notar espermatozoidese (E) muito próximo a núcleo de célula de Sertoli (S) e a acentuada ondulação da porção mais superficial do epitélio seminífero. (H.E. 600x)



Fig. 10 Coelho controle nº C-66/75. Estádio 7 do ciclo da espermatozoidese. A membrana basal é forrada por numerosas espermatogônias do tipo B (B). O restante do epitélio seminífero é constituído por espermatócitos de primeira ordem em paquíteno (P), espermatídes de núcleos arredondados (N_1) e espermatozoides (E). (H.E. 600x)

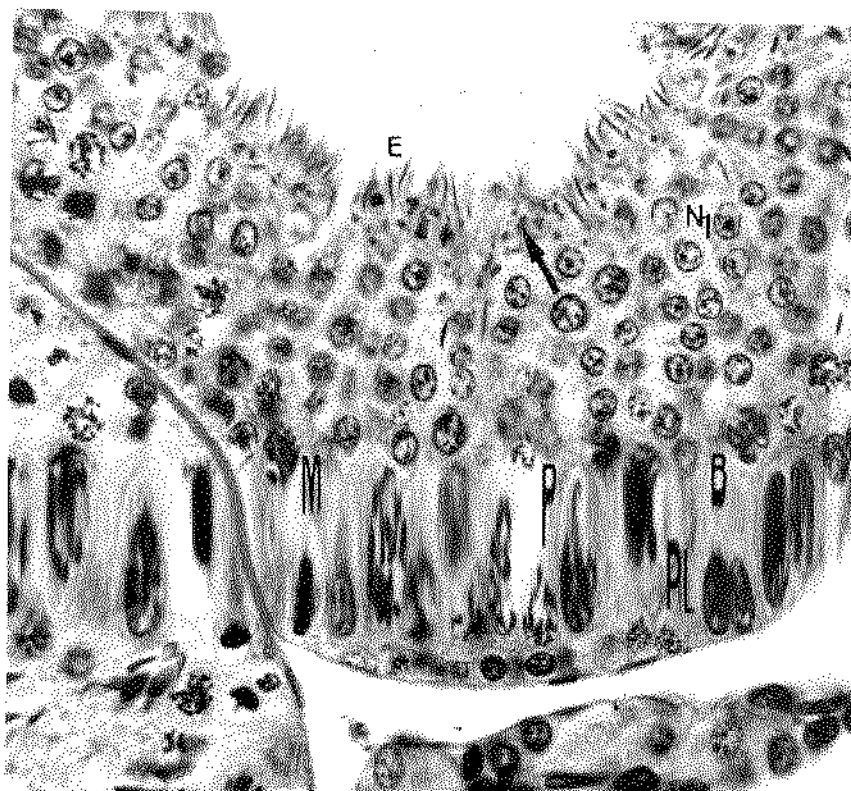


Fig. 11 Coelho controle nº C-47/75. Estádio 8 do ciclo da es-
permatogênese. Os espermatozóides (E) situam-se na
porção mais superficial do epitélio seminífero e es-
tão prestes a serem lançados na luz. Imediatamente a
baixo vêem-se pontos escuros que constituem os cor-
pos residuais de Regaud (ponta de seta). A porção cen-
tral do epitélio seminífero é constituído por esper-
mátides de núcleos arredondados (N_1) e logo abaixo si-
tuam-se os espermatócitos de primeira ordem em paquí-
teno (P). Forrando a membrana basal podem ser reconhe-
cidos: espermatócito de primeira ordem em pré-leptóte-
no (PL), espermatogônia do tipo B (B) e uma figura de
mitose em espermatogônia (M).
(H.E. 500x)

Além do encontro de células necróticas isoladas no estágio 4 do ciclo da espermatogênese, foram vistas nos cortes transversais, em frequência decrescente (apresentada no Gráf.6, pág.69), as seguintes alterações: a) espermatozóides de núcleos condensados mas não alongados; b) espermatozóides multinucleados de núcleos condensados mas não alongados; c) espermátides de núcleos arredondados hipertróficos; d) espermátocitos de primeira ordem de núcleos hipertróficos; e) espermátides multinucleadas de núcleos arredondados; f) espermátides binucleadas de núcleos arredondados; e g) epitélio seminífero de estágio não reconhecido por causa destas diversas alterações.

Em cortes transversais, os túbulos seminíferos do coelho apresentam uma única associação de tipos de células constituindo um estágio do ciclo. Em nenhum corte transversal pudemos observar mais de um estágio do ciclo.

É digno de nota o achado em 5 animais (50%), de grupos de túbulos seminíferos, às vezes ocupando áreas extensas, com epitélio muito reduzido de espessura (Fig.12). Nestes túbulos, os diferentes tipos de células estão muito reduzidos em número dificultando, às vezes, o reconhecimento do estágio do ciclo da espermatogênese.

No epidídimo, a luz dos túbulos estava preenchida por grande número de espermatozóides (Fig.13). Raras células descamadas do epitélio seminífero, íntegras ou necróticas, também podiam ser vistas. Entre as células íntegras, as mais frequentemente encontradas foram espermátocitos de primeira ordem e espermátides de núcleos arredondados. Este último tipo de célula descamada, não raro, apresenta a cromatina agrupada junto à membrana nuclear de modo que o núcleo assume um aspecto de anel.

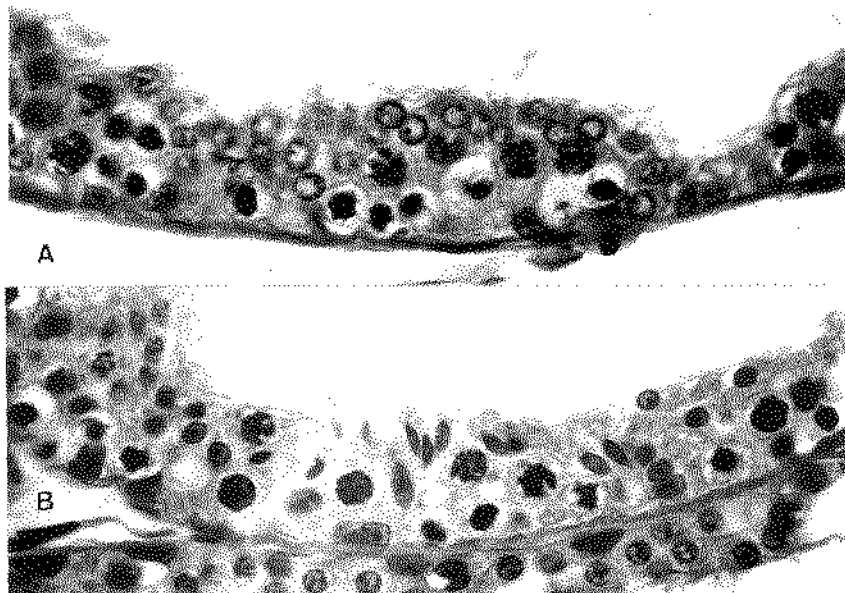


Fig. 12 Túbulo seminíferos com epitélio muito reduzido de espessura. Estádio 1 do ciclo da espermatogênese em A (coelho controle nº C-47/75) e estágio 2 do ciclo em B (coelho controle nº C-67/75). Comparar com a espessura do epitélio das Figs. 3 e 4. (H.E. 600x)

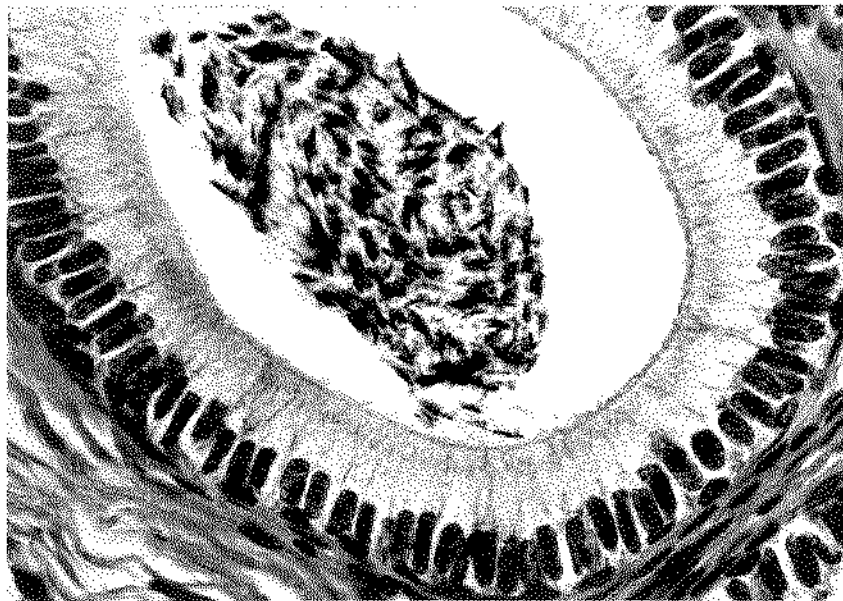


Fig. 13 Coelho controle nº C-27/75. Notar numerosos espermatozoides na luz do túbulo epididimário. Nenhuma célula descamada é vista neste campo. (H.E. 600x)

B- ANIMAIS SUBMETIDOS AO COLAPSO ORTOSTÁTICO
(LOTES 6h-45d)

- a) Lote 6h (animais sacrificados 6 horas após o colapso ortostático).

Neste grupo de animais chamou a atenção apenas a maior frequência, em relação aos controles, de células necróticas. Da mesma forma que nos controles, as células necróticas foram vistas na grande maioria das vezes no estágio 4 do ciclo, porém frequentemente agrupadas e, mais raramente, isoladas.

- b) Lote 12h (animais sacrificados 12 horas após o colapso ortostático).

As lesões necróticas foram mais acentuadas em intensidade e frequência em relação ao lote 6h (Figs.14 e 15). As células necróticas, principalmente espermatócitos de primeira ordem, foram vistas com maior frequência no estágio 4 do ciclo, porém também nos estádios 1 e 8, e mais raramente nos demais. Necrose de espermatídes de núcleos arredondados foi também notada, porém mais raramente.

A necrose celular era acompanhada de descamação, mais evidente na luz do túbulo epididimário do que na luz dos túbulos seminíferos. No coelho nº C-7/75, particularmente, a necrose e a descamação eram acentuadas havendo grande número de cortes transversais em que não foi possível o reconhecimento do estágio do ciclo da espermatogênese.

Não raro viam-se túbulos seminíferos com espermatócitos de primeira ordem em leptóteno ou em paquíteno de núcleos volumosos (Fig.16). Estas células apresentavam nucléolo hipertrofico e muito evidente, destacando-se nitidamente da cromatina nuclear.

Não raro também, viam-se espermatídes de núcleos arredondados multinucleadas. Com certa frequência os espermatozoides apresentavam núcleos condensados mas não alongados (Fig.17), algumas vezes formando células multinucleadas.

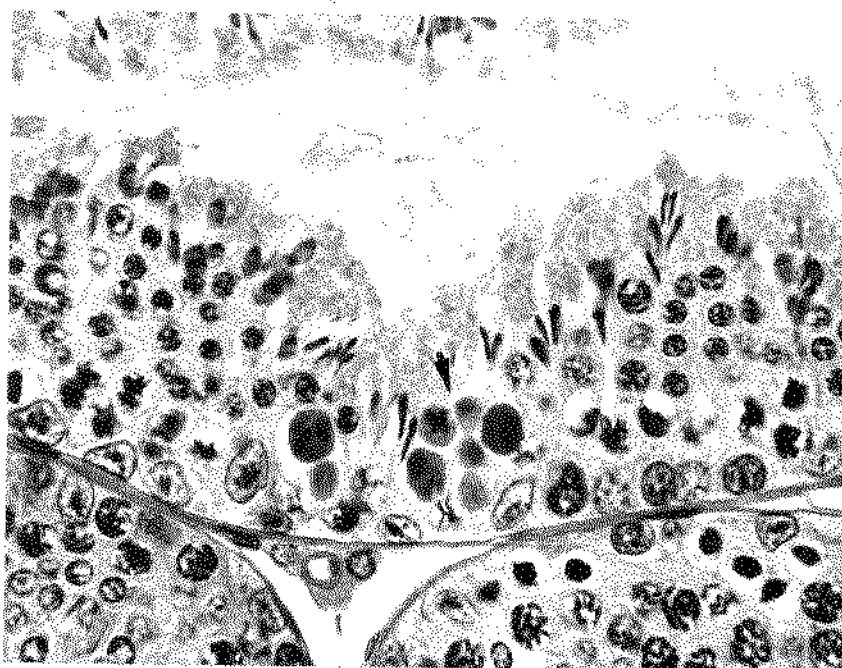


Fig. 14 Coelho nº C-45/75, sacrificado 12 horas após o colapso ortostático. Estádio 6 do ciclo. Notar na porção central da figura, células necróticas agrupadas (seta). (H.E. 600x)

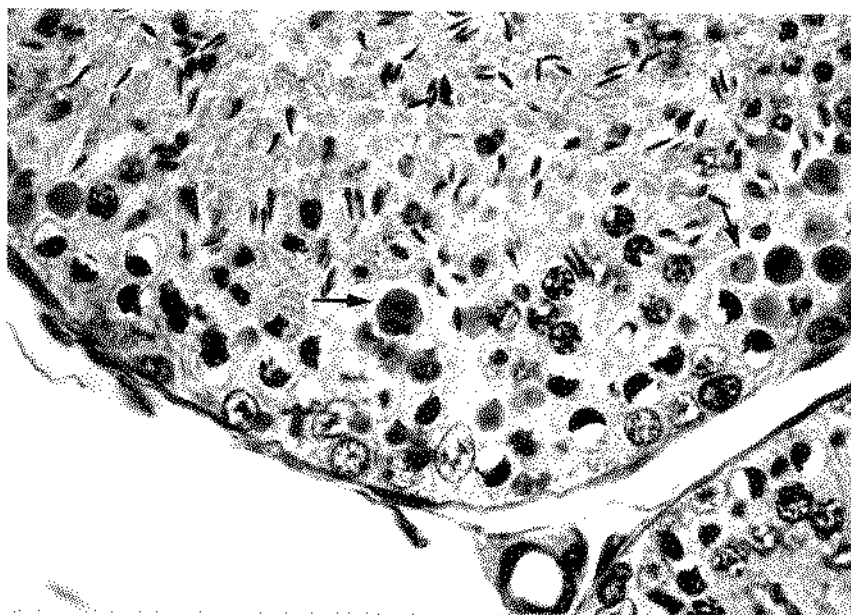


Fig. 15 Coelho nº C-45/75, sacrificado 12 horas após o colapso ortostático. Estádio 4 do ciclo. Notar células necróticas (setas) mais numerosas que na figura anterior e distribuídas por toda a extensão do epitélio seminífero. (H.E. 600x)

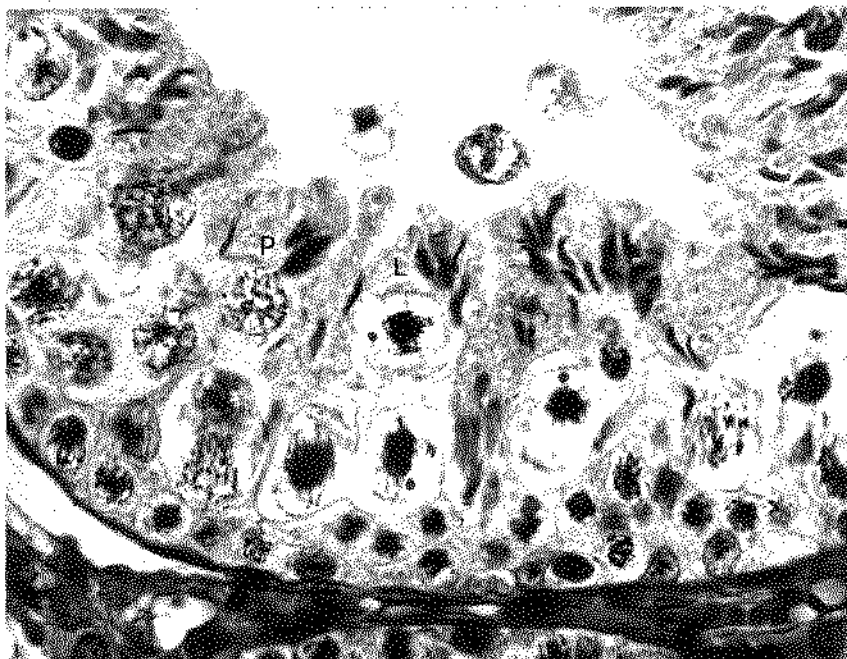


Fig. 16 Coelho nº C-21/75 sacrificado 12 horas após o colapso ortostático. Estádio 3 do ciclo. Espermatócitos de primeira ordem em paquíteno (P) e em leptóteno (L) com núcleos hipertróficos. Notar o nucléolo muito evidente nos espermatócitos de primeira ordem em leptóteno (L). (H.E. 600x)

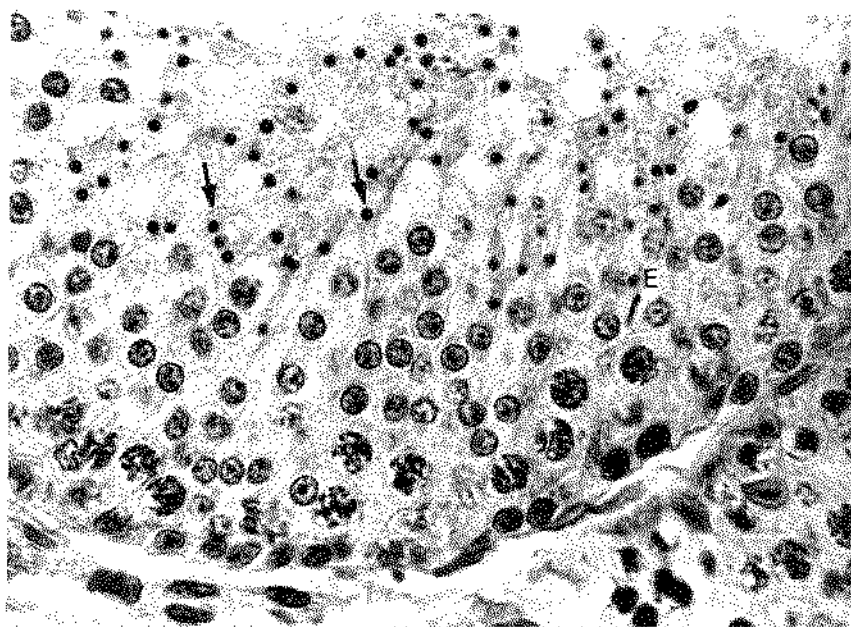


Fig. 17 Coelho nº C-65/75, sacrificado 12 horas após o colapso ortostático. Estádio 5 do ciclo. As setas mostram espermatozóides de núcleos condensados mas não alongados. A figura mostra 1 único espermatozóide (E) de núcleo normalmente alongado. (H.E. 600x)

c) Lote 24h (animais sacrificados 24 horas após o colapso ortostático)

A necrose e a descamação são máximas neste lote de animais, em intensidade e frequência. Um grande número de túbulos seminíferos não permitem o reconhecimento do estágio do ciclo da espermatogênese (Figs.18 e 19). Não raro viam-se cortes transversais de túbulos seminíferos formados só por células de Sertoli e espermatogônias. Não foram vistos túbulos seminíferos formados só por células de Sertoli ou sem epitélio seminífero. Por causa da descamação viam-se, com frequência, espaços vazios de permeio ao citoplasma das células de Sertoli (Figs.18 e 19).

É neste lote de animais, em relação aos demais, que com maior frequência foram vistos espermatócitos de primeira ordem de núcleos hipertróficos, espermatídes de núcleos arredondados hipertróficos (Fig.20) e espermatozóides de núcleos condensados mas não alongados.

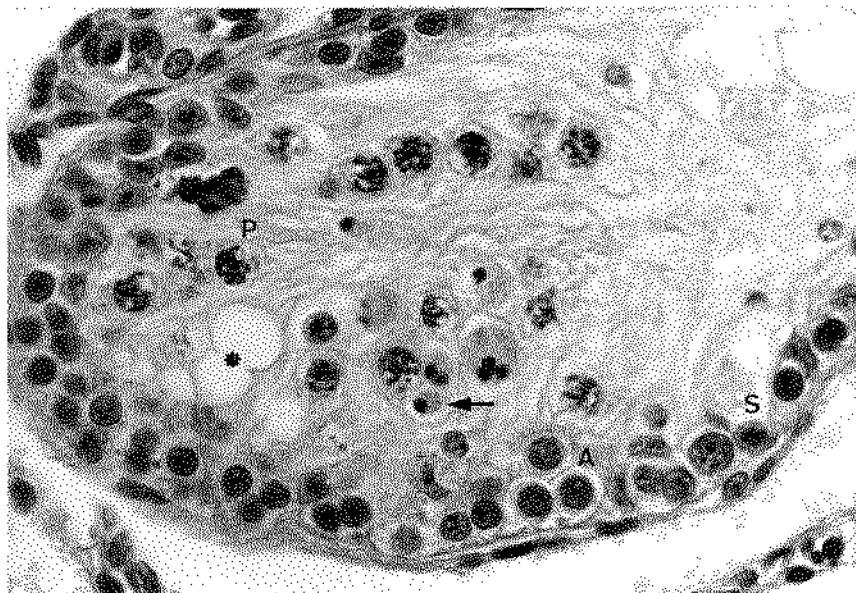


Fig. 18 Coelho nº C-18/73, sacrificado 24 horas após o colapso ortostático. Não é possível o reconhecimento do estágio do ciclo. Junto da membrana basal vêem-se espermatogônias do tipo A (A) e células de Sertoli (S). Mais superficialmente vêem-se citos I em paquíteno (P), espermatozóides de núcleos condensados mas não alongados (seta) e espaços vazios delimitados pelo citoplasma das células de Sertoli (as terisco). (H.E. 600x)

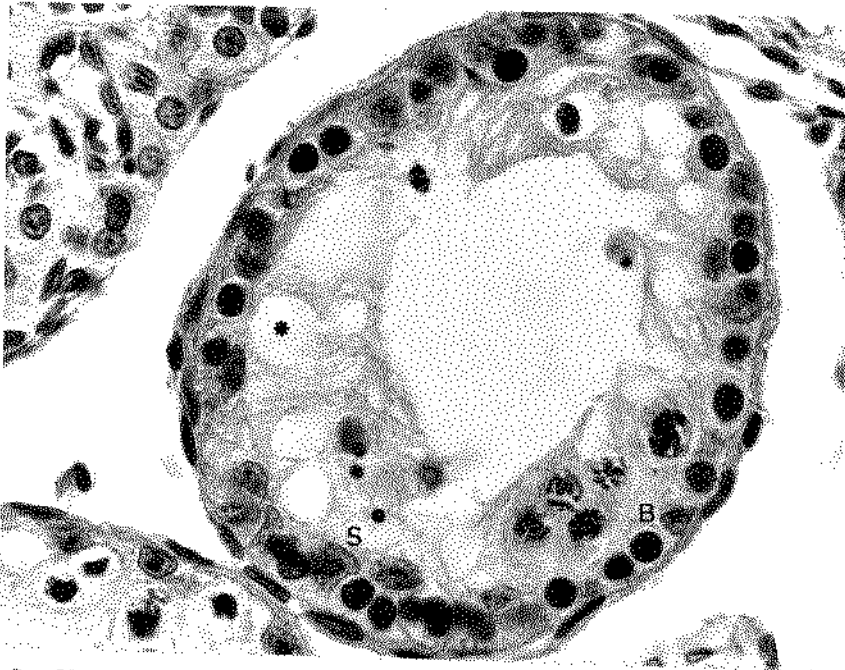


Fig. 19 Coelho nº C-18/73, sacrificado 24 horas após o colapso ortostático. Não é possível o reconhecimento do estágio do ciclo. O túbulo é formado por numerosas espermatogônias do tipo B (B) e células de Sertoli (S). Notar os numerosos espaços claros delimitados pelo citoplasma das células de Sertoli (asterisco). (H.E. 600x)

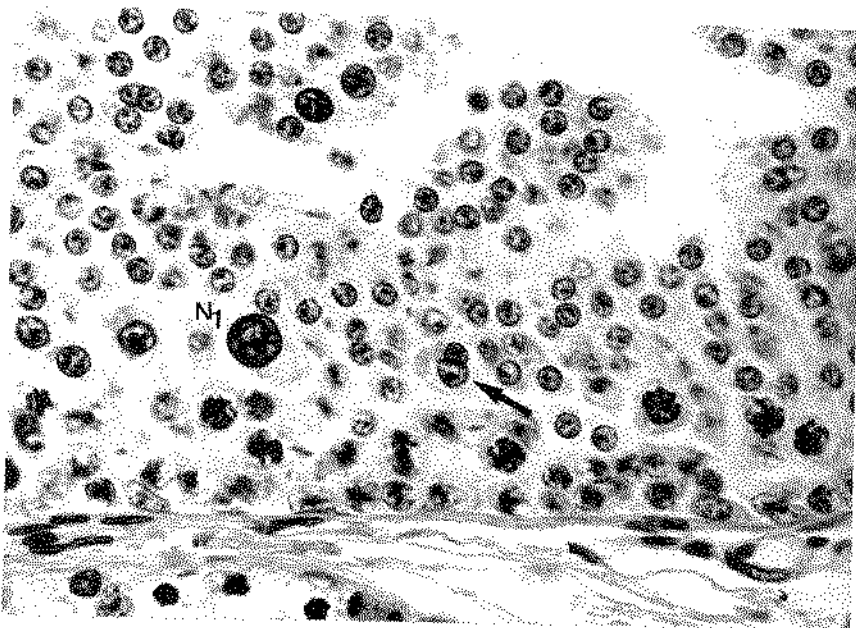


Fig. 20 Coelho nº C-16/73, sacrificado 24 horas após o colapso ortostático. Estádio I do ciclo. A figura mostra espermatíde de núcleo arredondado (N_1) hipertrófico. Mais à direita vê-se espermatíde de núcleo arredondado binucleada (ponta de seta). Nestas células binucleadas, geralmente, os núcleos são facetados. (H.E. 600x)



Fig. 21 Coelho n^o C-18/73, sacrificado 24 horas após o colapso ortostático. Ausência de espermatozoides na luz do túbulo epididimário vendo-se apenas numerosas células descamadas. Comparar com a Fig. 13. (H.E. 600x)

No epidídimo, a descamação é máxima em relação aos demais lotes de animais, havendo também acentuada redução numérica dos espermatozoides (Fig.21). As diferentes lesões descritas foram mais intensas e frequentes nos coelhos de números C-17/75 e C-18/73.

d) Lote 48h (animais sacrificados 48 horas após o colapso ortostático).

As lesões necróticas e descamativas assemelham-se às dos animais do lote 12h, em intensidade e frequência.

Neste lote e no 4d as espermátides multinucleadas de núcleos arredondados eram muito frequentes (Fig.22). Não raro podiam ser contados mais de 30 núcleos para cada célula, muitos apresentando condensação da cromatina junto à membrana nuclear de modo a assumir a forma de anel. Este aspecto do núcleo também foi visto, com certa frequência, em espermátides não multinucleadas em animais deste lote (Fig.23).

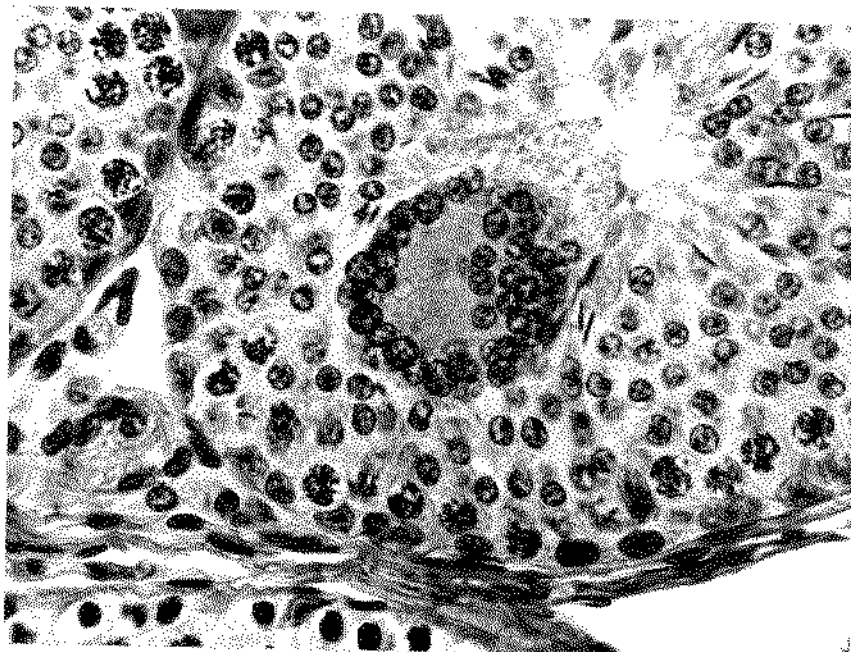


Fig. 22 Coelho nº C-37/75, sacrificado 48 horas após o colapso ortostático. Estádio 5 do ciclo. Notar a volumosa espermatide multinucleada de núcleos arredondados. (H.E. 600x)

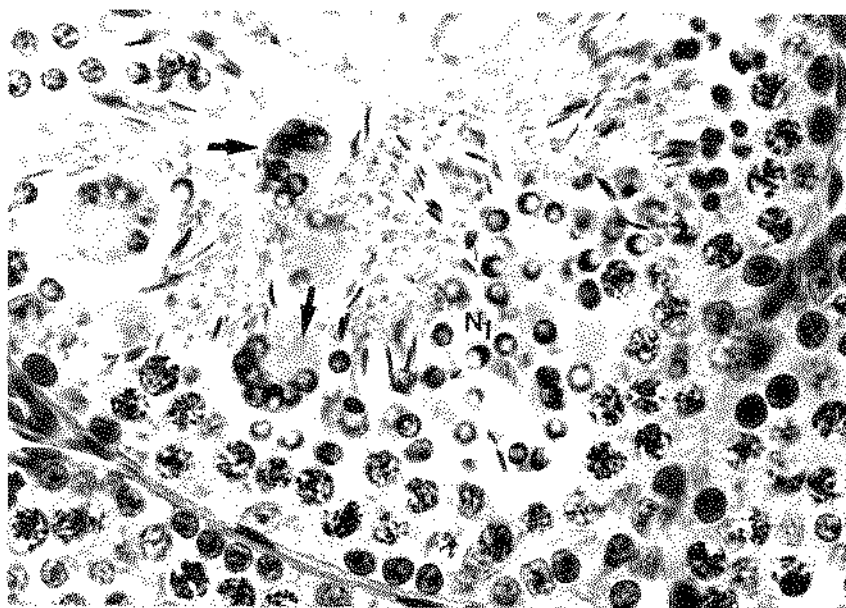


Fig. 23 Coelho nº C-37/75, sacrificado 48 horas após o colapso ortostático. Estádio do ciclo de difícil reconhecimento (estádio 6?). À esquerda, espermatides multinucleadas de núcleos arredondados (pontas de seta) e, à direita, espermatides (N_1) de núcleos arredondados com condensação da cromatina junto à membrana nuclear assumindo forma de anel. (H.E. 600x)

Espermatozoides multinucleados, ou não, de núcleos condensados mas não alongados e espermatides binucleadas de núcleos arredondados eram freqüentes. Os espermatozoides multinucleados porém eram muito mais freqüentes do que nos animais dos outros lotes (Fig.24).

e) Lote 4d (animais sacrificados 4 dias após o colapso ortostático).

As lesões necróticas e descamativas também se assemelham às dos animais do lote 12h, em freqüência e intensidade. Não permitem, muitas vezes, o reconhecimento do estágio do ciclo da espermatogênese (Fig.25).

Espermatides de núcleos arredondados hipertróficos eram freqüentes, não raro com aspecto de anel (Fig.26). Espermatides bi ou multinucleadas de núcleos arredondados apresentavam freqüência máxima em relação aos animais dos outros lotes. Particularmente no coelho nº C-26/75 espermatides multinucleadas de núcleos arredondados estavam presentes em grande número de túbulos seminíferos.

Espermatozoides de núcleos condensados mas não alongados, multinucleados ou não foram também freqüentes.

No coelho nº C-13/75 chamou a atenção o fato de o epitélio seminífero ser constituído apenas por células de Sertoli, espermatogônias e espermatócitos de primeira ordem em todos os cortes dos túbulos. No epidídimo deste coelho havia ausência total de espermatozoides na luz do túbulo epididimário.

f) Lote 7d (animais sacrificados 7 dias após o colapso ortostático).

As lesões necróticas nos animais deste lote e nos dos dois seguintes (15d e 30d) eram pouco menos freqüentes do que no lote 6h, entretanto a descamação, evidenciada na luz do túbulo epididimário era mais acentuada.

O encontro de espermatócitos de primeira ordem de núcleos hipertróficos e de espermatides de núcleos arredondados hipertróficos foi freqüente. Também freqüente foi o encontro de



* Fig. 24 Coelho nº C-15/75, sacrificado 48 horas após o colapso ortostático. Estádio 8 do ciclo. À esquerda, o epitélio seminífero apresenta intensa pobreza celular; À direita, vêem-se espermatozoides (E) normais. A ponta de seta, à esquerda mostra espermatozoides de núcleos condensados, não alongados e agrupados, de modo a formar uma célula multinucleada. (H.E. 600x)

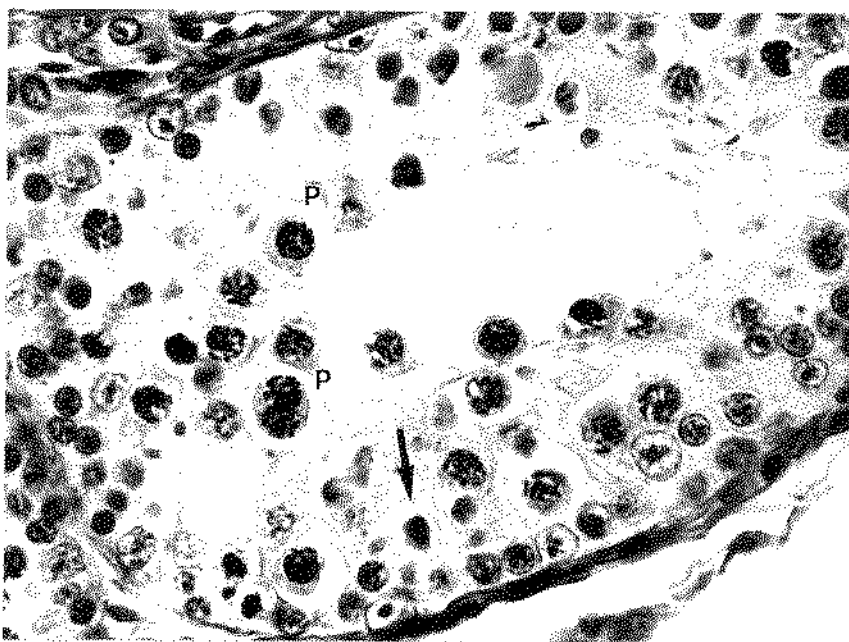


Fig. 25 Coelho nº C-26/75, sacrificado 4 dias após o colapso ortostático. Não é possível o reconhecimento do estágio do ciclo. Notam-se células necróticas (seta) e espermatócitos de primeira ordem em paquíteno (P) em descamação, um deles binucleado. (H.E. 600x)

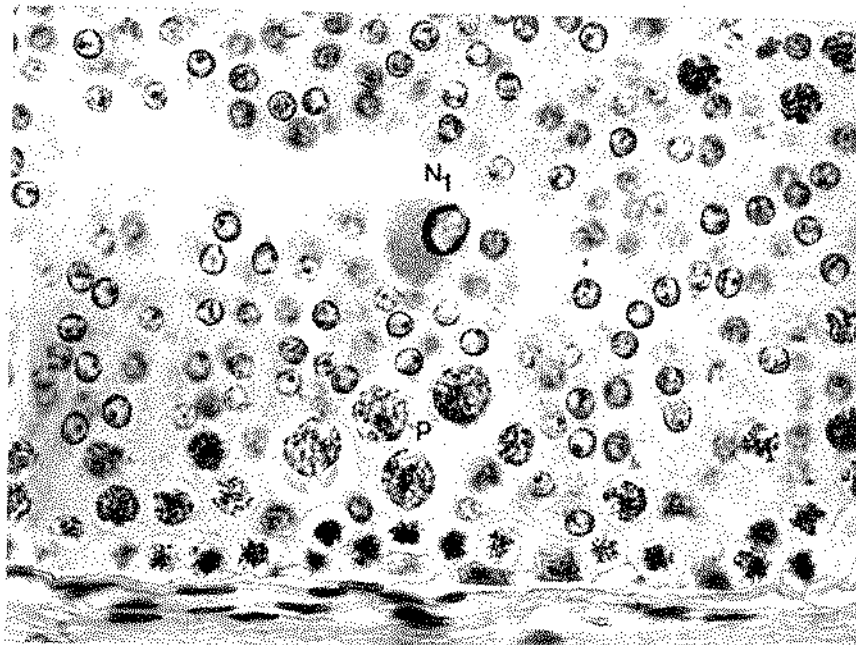


Fig. 26 Coelho nº C-59/75, sacrificado 4 dias após o colapso ortostático. Estádio I do ciclo. A figura mostra espermátide de núcleo arredondado (N_1) hipertrófico com condensação de cromatina junto à membrana nuclear e espermatócitos de primeira ordem em paquíteno (P) de núcleos também hipertróficos. (H.E. 600x)

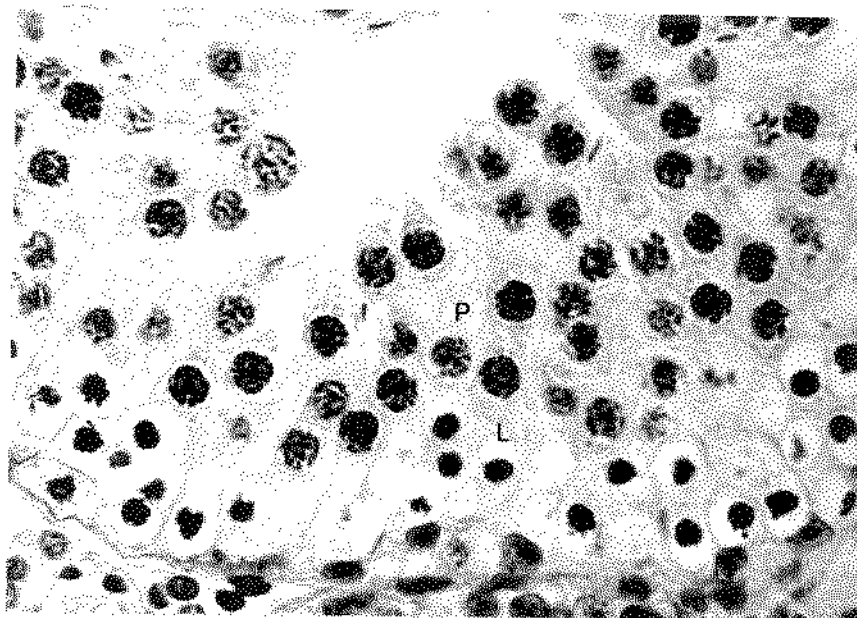


Fig. 27 Coelho nº C-64/75, sacrificado 7 dias após o colapso ortostático. Na figura vemos apenas células de Sertoli e espermatócitos de primeira ordem em leptoteno (L) e em paquíteno (P). (H.E. 600x)

espermátides bi ou multinucleadas de núcleos arredondados e espermatozóides multinucleados ou não de núcleos condensados mas não alongados.

Alguns túbulos seminíferos eram constituídos apenas por espermatogônias, células de Sertoli e espermatócitos de primeira ordem em leptóteno e em paquíteno (Fig.27).

Neste lote, como também no 15d, chamou a atenção, em alguns raros túbulos seminíferos em estágio 1 do ciclo da espermatogênese, o encontro de espermatozóides na porção mais superficial do epitélio seminífero (Fig.28).

g) Lote 15d (animais sacrificados 15 dias após o colapso ortostático).

As lesões necróticas e descamativas assemelham-se às descritas nos animais do lote 7d.

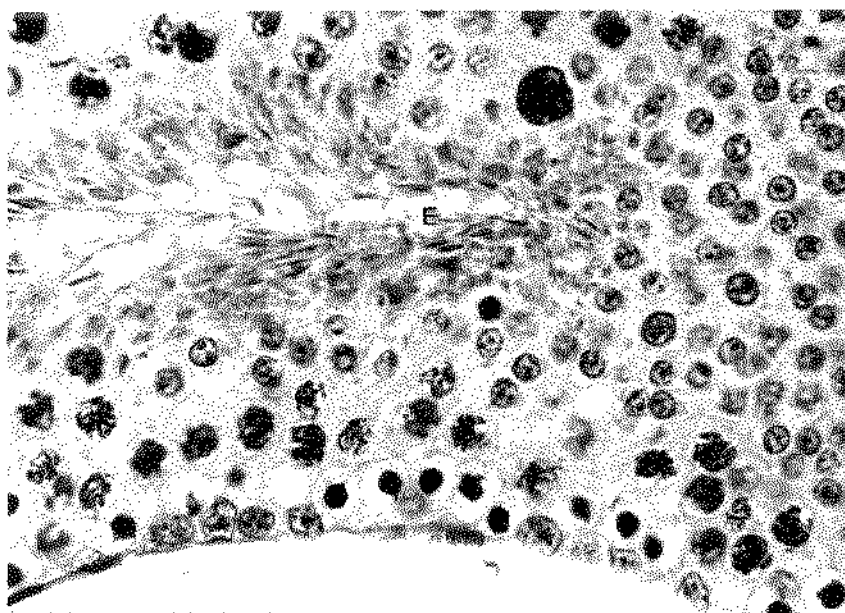


Fig. 28 Coelho nº C-64/75, sacrificado 7 dias após o colapso ortostático. Estádio 1 do ciclo. Notar o grande número de espermatozóides (E) na porção mais superficial do epitélio seminífero. Normalmente neste estágio não se vê nenhum espermatozóide. (H.E. 600x)

O encontro de espermatócitos de primeira ordem de núcleos hipertróficos e espermatídes de núcleos arredondados hipertróficos foi muito raro. Pouco freqüente foi o encontro de espermatozóides multinucleados ou não de núcleos condensados mas não alongados.

Espermatídes multinucleadas de núcleos arredondados eram freqüentes e as binucleadas muito freqüentes.

Alguns raros túbulos seminíferos em estágio 1 do ciclo da espermatogênese apresentavam espermatozóides na porção mais superficial do epitélio seminífero.

h) Lote 30d (animais sacrificados 30 dias após o colapso ortostático).

As lesões necróticas e descamativas assemelham-se às descritas nos animais do lote 7d.

Espermatócitos de primeira ordem de núcleos hipertróficos eram muito raros. Espermatídes de núcleos arredondados hipertróficos eram pouco freqüentes. Espermatídes bi ou multinucleadas de núcleos arredondados e espermatozóides multinucleados ou não de núcleos condensados mas não alongados, foram freqüentes.

Neste lote de animais chamou a atenção o encontro, em alguns túbulos seminíferos, de duas ou mais associações celulares caracterizando 2 ou mais estádios do ciclo da espermatogênese num único corte transversal (Fig.29).

i) Lote 45d (animais sacrificados 45 dias após o colapso ortostático).

Nos animais deste lote os achados histopatológicos assemelham-se aos controles em intensidade e freqüência com exceção da maior freqüência de espermatídes bi ou multinucleadas de núcleos arredondados e espermatozóides multinucleados de núcleos condensados mas não alongados.

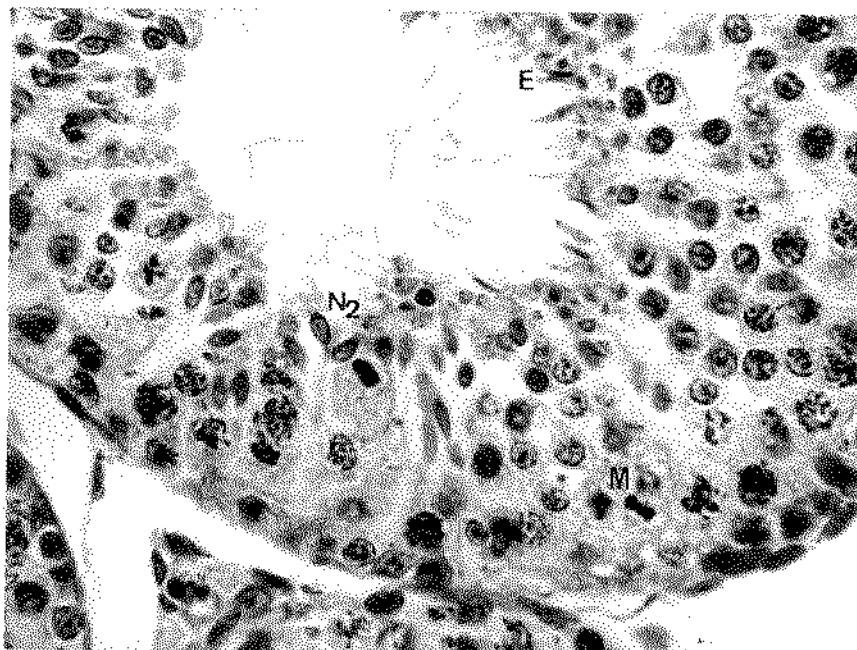


Fig. 29 Coelho nº C-54/75, sacrificado 30 dias após o colapso ortostático. A figura mostra, à esquerda, espermatídeos de núcleos em alongamento (N₂) caracterizando o estágio 2 do ciclo. À direita e em baixo, vê-se a divisão celular (M) de espermatócito de primeira ordem caracterizando o estágio 4 do ciclo e, em cima, espermatozoides (E) caracterizando o estágio 8. (H.E. 600x)

A frequência das diversas alterações descritas nos lotes testes, em comparação ao lote controle, é apresentada de forma sintética no Gráf.7, pág.70.

j) Alguns aspectos gerais.

As espermatogônias não apresentaram alterações nos diferentes lotes de animais.

As células de Sertoli nada apresentaram de especial nos animais dos diferentes lotes. Havia, entretanto, espaços claros entre si, decorrentes da descamação celular.

Também as células de Leydig nada revelaram de especial nos animais dos diferentes lotes. É digno de nota apenas o encontro de 3 figuras de mitose destas células em animais do lote 12h e 5 figuras de mitose noutros do lote 15d. Em nenhum outro lote, inclusive controle, foram vistas outras figuras de mitose.

Os túbulos seminíferos que apresentam epitélio de espessura muito reduzida descritos nos controles, estavam presentes em apenas 10 coelhos-testes (25%). É digno de nota o fato de ocuparem, em geral, áreas menores comparativamente aos controles.

Espermatócitos de primeira ordem bi ou multinucleados foram vistos muito raramente (Fig.25) e principalmente em animais sacrificados em tempos mais curtos após o colapso ortostático.

C) ESTUDO MICROSCÓPICO QUANTITATIVO DO TESTÍCULO DIREITO.

A Tab.4 (pág.71) apresenta os dados numéricos a partir dos quais foi calculada a frequência, em percentagem, dos diferentes achados considerados.

A- ANIMAIS-CONTROLES (Lote C).

Neste lote de animais o estudo quantitativo baseou-se na contagem de 1107 túbulos seminíferos, transversalmente cortados, de um total de 10 animais. Para cada animal contaram-se 100 ou mais túbulos:

A análise quantitativa abrangeu:

1) A frequência dos diferentes estádios do ciclo da espermatogênese, cujos resultados estão contidos no Gráf.5 (pág. 67).

2) A percentagem de túbulos seminíferos com alterações várias: a) células necróticas; b) espermatozóides de núcleos condensados mas não alongados; c) espermatozóides multinucleados de núcleos condensados mas não alongados; d) espermátides de núcleos arredondados hipertróficos; e) espermátocitos de primeira ordem de núcleos hipertróficos; f) espermátides multinucleadas de núcleos arredondados; g) espermátides binucleadas de núcleos arredondados; e h) epitélio seminífero de estágio não reconhecido por causa destas diversas alterações.

Os resultados estão apresentados no Gráf.6(pág.69).

B- ANIMAIS SUBMETIDOS AO COLAPSO ORTOSTÁTICO
(Lotes 6h-45d)

Nestes lotes, o estudo baseou-se na contagem de 4593 túbulos seminíferos de um total de 40 animais. Contaram-se 558, 627, 589, 600, 423, 447, 447, 436 e 466 cortes transversais respectivamente dos lotes 6h, 12h, 24h, 48h, 4d, 7d, 15d, 30d e 45d. Para cada animal contaram-se 100 ou mais túbulos seminíferos.

A análise quantitativa abrangeu:

1) A percentagem de túbulos seminíferos com células

necróticas nos animais dos diferentes lotes.

Os resultados são vistos no Gráf.8 (pág.72) e os valores do X^2 resultantes da comparação dos diferentes lotes testes com o lote controle na Tab.5 (pág.73).

O número de túbulos seminíferos com células necróticas está significativamente aumentado, em relação ao lote controle, nos lotes: 6h, 12h, 24h, 48h, 4d, 7d, 15d e 30d. A significância é máxima no lote 24h.

2) A percentagem de túbulos seminíferos com epitélio de estágio não reconhecido por causa de alterações várias nos animais dos diferentes lotes.

Os resultados são vistos no Gráf.9 (pág.74) e os valores do X^2 resultantes da comparação dos diferentes lotes testes com o lote controle na Tab.6 (pág.75).

O número de túbulos seminíferos com epitélio de estágio não reconhecido está significativamente aumentado, em relação ao lote controle, nos lotes: 12h, 24h, 48h, 4d, 7d, 15d, 30d e 45d. A significância é máxima no lote 24h.

3) A percentagem de túbulos seminíferos com espermátócitos de primeira ordem de núcleos hipertróficos nos animais dos diferentes lotes.

Os resultados são vistos no Gráf.10 (pág.76) e os valores do X^2 resultantes da comparação dos diferentes lotes testes com o lote controle na Tab.7 (pág.77).

O número de túbulos seminíferos com espermátócitos de primeira ordem de núcleos hipertróficos está significativamente aumentado, em relação ao lote controle, nos lotes: 24h e 7d. A significância é máxima no lote 24h. O número de túbulos com espermátócitos de primeira ordem de núcleos hipertróficos está significativamente diminuído no lote 45d.

4) A percentagem de túbulos seminíferos com espermátides de núcleos arredondados hipertróficos nos animais dos diferentes lotes.

Os resultados são vistos no Gráf.11 (pág.78) e os valores do X^2 resultantes da comparação dos diferentes lotes testes com o lote controle na Tab.8 (pág.79).

O número de túbulos seminíferos com espermátides de

núcleos arredondados hipertróficos está significativamente aumentado, em relação ao lote controle, nos lotes: 24h e 7d. A significância é máxima no lote 24h. O número de túbulos seminíferos com espermatídides de núcleos arredondados hipertróficos está significativamente diminuído no lote 6h.

5) A percentagem de túbulos seminíferos com espermatozoides de núcleos condensados mas não alongados nos animais dos diferentes lotes.

Os resultados são vistos no Gráf.12 (pág.80) e os valores do X^2 resultantes da comparação dos diferentes lotes testes com o lote controle na Tab.9 (pág.81).

O número de túbulos seminíferos com espermatozoides de núcleos condensados mas não alongados está significativamente aumentado, em relação ao lote controle, nos lotes: 24h, 48h, 4d, 7d e 30d. A significância é máxima no lote 24h.

6) A percentagem de túbulos seminíferos com espermatozoides multinucleados de núcleos condensados mas não alongados nos animais dos diferentes lotes.

Os resultados são vistos no Gráf.13 (pág.82) e os valores do X^2 resultantes da comparação dos diferentes lotes testes com o lote controle na Tab.10 (pág.83).

O número de túbulos seminíferos com espermatozoides multinucleados de núcleos condensados mas não alongados está significativamente aumentado, em relação ao lote controle, nos lotes: 48h e 4d. A significância é máxima no lote 48h.

7) A percentagem de túbulos seminíferos com espermatídides multinucleadas de núcleos arredondados nos animais dos diferentes lotes.

Os resultados são vistos no Gráf.14 (pág.84) e os valores do X^2 resultantes da comparação dos diferentes lotes testes com o lote controle na Tab.11 (pág.85).

O número de túbulos seminíferos com espermatídides multinucleadas de núcleos arredondados está significativamente aumentado, em relação ao lote controle, nos lotes: 12h, 48h, 4d, 7d, 15d e 30d. A significância é máxima no lote 4d.

8) A percentagem de túbulos seminíferos com espermatídides

tides binucleadas de núcleos arredondados nos animais dos diferentes lotes.

Os resultados são vistos no Gráf.15 (pág.86) e os valores do X^2 resultantes da comparação dos diferentes lotes testes com o lote controle na Tab.12 (pág.87).

O número de túbulos seminíferos com espermátides binucleadas de núcleos arredondados está significativamente aumentado, em relação ao lote controle, nos lotes: 4d, 7d, 15d, 30d e 45d. A significância é máxima no lote 4d.

9) A percentagem de túbulos seminíferos com presença de figuras de mitose nas espermatogônias nos animais dos diferentes lotes.

Os resultados são vistos no Gráf.16 (pág.88) e os valores do X^2 resultantes da comparação dos diferentes lotes testes com o lote controle na Tab.13 (pág.89).

O número de túbulos seminíferos com figuras de mitose nas espermatogônias está significativamente diminuído, em relação ao lote controle, no lote 24h e aumentado, mas não significativamente, no lote 30d.

10) A percentagem de túbulos seminíferos em estádio 1 do ciclo da espermatogênese nos animais dos diferentes lotes.

Os resultados são vistos no Gráf.17 (pág.90) e os valores do X^2 resultantes da comparação dos diferentes lotes testes com o lote controle na Tab.14 (pág.91).

O número de túbulos seminíferos em estágio 1 do ciclo da espermatogênese está significativamente diminuído, em relação ao lote controle, no lote 24h e significativamente aumentado no lote 45d.

11) A percentagem de túbulos seminíferos em estádio 2 do ciclo da espermatogênese nos animais dos diferentes lotes.

Os resultados são vistos no Gráf.18 (pág.92) e os valores do X^2 resultantes da comparação dos diferentes lotes testes com o lote controle na Tab.15 (pág.93).

O número de túbulos seminíferos em estágio 2 do ciclo está significativamente aumentado, em relação ao lote controle, no lote 6h.

12) A percentagem de túbulos seminíferos em estádio 3 do ciclo da espermatogênese nos animais dos diferentes lotes.

Os resultados são vistos no Gráf.19 (pág.94) e os valores do X^2 resultantes da comparação dos diferentes lotes testes com o lote controle na Tab.16 (pág.95).

Não houve significância na análise comparativa.

13) A percentagem de túbulos seminíferos em estádio 4 do ciclo da espermatogênese nos animais dos diferentes lotes.

Os resultados são vistos no Gráf.20 (pág.96) e os valores do X^2 resultantes da comparação dos diferentes lotes testes com o lote controle na Tab.17 (pág. 97).

O número de túbulos seminíferos em estádio 4 do ciclo da espermatogênese está significativamente diminuído no lote 24h.

14) A percentagem de túbulos seminíferos em estádio 5 do ciclo da espermatogênese nos animais dos diferentes lotes.

Os resultados são vistos no Graf.21 (pág.98) e os valores do X^2 resultantes da comparação dos diferentes lotes testes com o lote controle na Tab.18 (pág.99).

O número de túbulos seminíferos em estádio 5 do ciclo está significativamente diminuído, em relação ao lote controle, nos lotes: 6h, 24h, 7d e 15d.

15) A percentagem de túbulos seminíferos em estádio 6 do ciclo da espermatogênese nos animais dos diferentes lotes.

Os resultados são vistos no Gráf.22 (pág.100) e os valores do X^2 resultantes da comparação dos diferentes lotes testes com o lote controle na Tab.19 (pág.101).

O número de túbulos seminíferos em estádio 6 do ciclo está significativamente diminuído, em relação ao lote controle, nos lotes: 12h, 24h, 4d e 45d.

16) A percentagem de túbulos seminíferos em estádio 7 do ciclo da espermatogênese nos animais dos diferentes lotes.

Os resultados são vistos no Gráf.23 (pág.102) e os valores do X^2 resultantes da comparação dos diferentes lotes testes com o lote controle na Tab.20 (pág. 103).

O número de túbulos seminíferos em estádio 7 do ci-

clo está significativamente diminuído, em relação ao lote controle, nos lotes: 24h, 4d e 15d.

17- A percentagem de túbulos seminíferos em estádio 8 do ciclo da espermatogênese nos animais dos diferentes lotes.

Os resultados são vistos no Gráf.24 (pág.104) e os valores do X^2 resultantes da comparação dos diferentes lotes testes com o lote controle na Tab.21 (pág.105).

O número de túbulos seminíferos em estágio 8 do ciclo da espermatogênese está significativamente diminuído, em relação ao lote controle, no lote 12h.

DISCUSSÃO

A) ANIMAIS-CONTROLES

A frequência dos diferentes estádios do ciclo da espermatoogênese no coelho (Gráf.5, pág.67) é semelhante a apresentada por SWIERSTRA & FOOTE (1963). Há variações na frequência dependendo da espécie animal, assim por exemplo, a frequência do coelho é semelhante a do carneiro e a do touro mas não a do rato (70).

A presença de células necróticas na espermatogênese normal é observada no coelho (70), rato (62) e camundongo (51). Necrose celular ocorre mais frequentemente durante as duas divisões da meiose e explicaria o fato de haver uma redução do número teórico de espermátides, esperado a partir de um determinado número de espermatócitos de primeira ordem. Esta redução numérica é da ordem de 13% no camundongo (51), 22% no rato (62) e 24% no coelho (70).

Outras alterações como, por exemplo, espermátides multinucleadas de núcleos arredondados também são descritas em animais-controles de diversas espécies como o coelho (55,56), o camundongo (7, 8, 29) e no próprio homem (43).

No nosso material quase todas as alterações observadas nos animais de experimentação também estavam presentes nos controles, porém sempre em frequência muito menor (Gráf.6, pág.69). Acreditamos que o nosso trabalho é o primeiro a estudar minuciosamente coelhos-controles normais e o primeiro a apresentar a frequência das diversas alterações neles encontradas utilizando-se o método quantitativo proposto.

É digno de nota o achado em 50% dos animais de áreas, extensas em alguns coelhos, com túbulos seminíferos de epitélio de espessura muito reduzida (Fig.12). Nestas áreas, quando for possível o reconhecimento do estádio do ciclo, observamos que os diferentes tipos de células estão muito reduzidos de número. Na literatura há menção de túbulos seminíferos sem espermatogênese ativa no porco e no homem (61) normais. Estes túbulos por nós observados podem representar áreas em repouso ou de espermatogênese pouco ativa.

B) ANIMAIS SUBMETIDOS A COLAPSO ORTOSTÁTICO

1- Lesões necróticas

A necrose celular mais precoce foi notada 6 horas após o colapso ortostático, fenômeno este visto principalmente em espermátócitos de primeira ordem e mais freqüentemente durante as duas divisões da meiose (estádio 4 do ciclo da espermatogênese). Parece-nos que nesta fase precoce estaria ocorrendo apenas uma acentuação do processo de perda celular normal. Mais tarde a necrose acentua-se, sendo máxima 24 horas após o colapso ortostático. A célula mais lesada é o espermátócito de primeira ordem em todos os estádios do ciclo da espermatogênese, mais freqüentemente no estágio 4, sendo também lesadas as espermátides e os espermatozóides.

A necrose celular é também máxima, 24 horas após o colapso ortostático, na aorta (36,37), adeno-hipófise (40), mucosa gástrica (41), fígado (32) e rim (5).

A célula do epitélio seminífero mais suscetível à necrose, frente a diversos agentes lesivos, é motivo de controvérsias na literatura.

O espermátócito de primeira ordem é a célula mais lesada no criptorquidismo experimental do coelho (56), isquemia temporária do testículo do rato (53), hipertermia do testículo do rato (14) e na doença de Chagas experimental do cobaio (18).

Na avitaminose E do rato (42), após administração de colchicina no cobaio (20) e após administração de cádmio e outras substâncias tóxicas no rato (59) as células mais lesadas são as mais diferenciadas ou seja, em ordem decrescente de comprometimento, espermatozóides, espermátides, espermátócitos e espermatogônias. RIBELIN (1963) admite que, qualquer que seja o agente lesivo, o comprometimento do epitélio seminífero sempre se faz na ordem apresentada.

Outros autores admitem que cada agente lesivo age especificamente num determinado tipo de célula. As espermatogônias do tipo A seriam preferencialmente lesadas após administração de um agente alquilante no rato (68), as espermatogônias dos tipos B e In após irradiação do testículo do camundongo (52) e os espermátócitos de primeira ordem na hipertermia a 43°C do testículo do rato (14).

Outras vezes, frente a um mesmo agente lesivo, os resultados obtidos são diversos. Na isquemia temporária do testículo do rato a célula mais lesada é o espermatócito de primeira ordem de acordo com OETTLÉ & HARRISON (1952), enquanto que para STEINBERGER & TJIOE (1969), em estudo qualitativo, e TJIOE & STEINBERGER (1970), em estudo quantitativo, é a espermatogônia do tipo A. No criptorquidismo experimental do coelho, PLOEN (1973b) descreve que a célula mais lesada é o espermatócito de primeira ordem, as espermatogônias sendo raramente comprometidas, enquanto que estas últimas células são descritas como frequentemente lesadas por ASDELL & SALISBURY (1941).

De acordo com os resultados do nosso trabalho, no colapso ortostático do coelho, a célula mais precoce, freqüente e intensamente lesada é o espermatócito de primeira ordem vindo a seguir as espermatídes e os espermatozóides. As espermatogônias, células de Sertoli e células de Leydig não são comprometidas.

As células de Sertoli são descritas como as mais resistentes na avitaminose E do rato (42), após administração de colchicina no cobaio (20), na isquemia temporária do testículo do rato (53), após administração de cádmio e outras substâncias tóxicas no rato (59) e após irradiação do testículo do coelho (27).

2- Descamação celular

As células necróticas são descamadas para a luz dos túbulos seminíferos. A descamação é máxima 24 horas após o colapso ortostático. A necrose, a descamação e a presença de outras lesões são a causa do elevado número de túbulos seminíferos de estágio não determinado no lote de animais sacrificados naquele tempo (Gráf.9, pág.74). Os espaços vazios delimitados pelo citoplasma das células de Sertoli eram anteriormente ocupados pelas células necróticas que descamaram. (Fig.19).

O citoplasma das células de Sertoli estende-se por toda a altura do epitélio seminífero à maneira de uma rede em cujas malhas se dispõem as células germinativas. Em ultramicroscopia (17) observam-se, próximo à membrana basal, junções do tipo estreito entre as células de Sertoli. As espermatogônias e os espermatócitos de primeira ordem em pré-leptóteno localizar-

-se-iam abaixo destas junções (compartimento basal) e as demais células germinativas acima (compartimento superior). Estas junções teriam importância na difusão seletiva de substâncias entre os dois compartimentos (17).

É digno de nota o fato de as células descamadas serem raramente vistas na luz dos túbulos seminíferos sendo muito freqüentes na luz do túbulo epididimário. (Fig.21).

Normalmente a passagem dos espermatozoides do epitélio seminífero para o epidídimo é muito rápida (4) sendo raramente vistos na luz dos túbulos seminíferos. Esta passagem faz-se passivamente, estando em jogo contração de células mióides da túnica própria dos túbulos e da cápsula testicular (3).

O fato de as células descamadas serem vistas raramente na luz dos túbulos seminíferos sugere que o mecanismo passivo de transporte dos espermatozoides, como também de outras células que atingem a luz tubular, não esteja comprometido ou mesmo pode estar acentuado no colapso ortostático do coelho.

3- Espermátides bi ou multinucleadas de núcleos arredondados.

É lesão freqüente (Figs.20 e 22) e aparece pela ação de vários agentes lesivos: criptonquidismo experimental do coelho (55,56), hipertermia testicular do rato (14,30), pneumonia no homem (48), administração de colchicina no cobaio (20), avitaminose E do rato (42), isquemia temporária do testículo do rato (53) e administração de cádmio e outras substâncias tóxicas no rato (59).

A lesão é descrita, de um modo geral, como de aparecimento mais tardio. Isto está de acordo com os nossos achados. As espermátides bi ou multinucleadas de núcleos arredondados estavam presentes em freqüência máxima em animais sacrificados 4 dias após o colapso ortostático (Gráfs.14 e 15, págs.84 e 86). Além da freqüência maior mais tardia, persistem também por mais tempo. Espermátides binucleadas de núcleos arredondados ainda eram freqüentes nos animais sacrificados 45 dias após o colapso ortostático (Gráf.15, pág.86).

Admite-se que a gênese destas células seja por coa-

lescência (7,8), alargamento das ligações intercelulares (15) ou a partir de espermátocitos de primeira ordem bi ou multinucleados nos quais há cariocinese sem citocinese (55).

DYM & FAWCETT (1971), em estudo de ultramicroscopia, mostram a existência de ligações intercelulares não apenas em espermátides como também em espermátocitos e em espermátogônias no rato, cobaio, hamster, chinchila, gato, macaco, touro e carneiro. Admitem estes autores que as células multinucleadas podem ser formadas por alargamento das ligações intercelulares em casos de hidratação e/ou transformação de gel em sol do citoplasma.

Nos casos em particular de anóxia, a entrada de água para o interior da célula pode ocorrer por causa das trocas iônicas, havendo a entrada dos íons Na e Ca e a saída dos íons K e Mg (74).

A origem a partir de espermátocitos de primeira ordem bi ou multinucleados, no nosso material, parece-nos pouco provável por causa da extrema raridade no encontro destas células.

4- Espermatozóides multinucleados ou não de núcleos condensados mas não alongados.

Esta lesão (Figs.17 e 24) é também descrita no criptorquidismo experimental do coelho (54,55,56), administração de cádmio e outras substâncias tóxicas no rato (59) e na isquemia temporária do testículo do rato (53).

PLÖEN (1973a), em ultramicroscopia, estudou muito pormenorizadamente este tipo de lesão e observou que a cromatina condensada é morfológicamente anômala. Estes espermatozóides portanto, além de não alongados, podem ser considerados como apresentando núcleos em degeneração. Quando vistos no estágio 3 do ciclo devem ser denominados espermátides de núcleos condensados, mas não alongados.

No colapso ortostático tais espermatozóides de núcleos não alongados foram observados precocemente (12 horas após o colapso) apresentando frequência máxima 24 horas após, e os multinucleados 48 horas após.

A frequência do estágio 2 do ciclo está aumentada significativamente, em relação aos controles, no lote de anima-

is sacrificados 6 horas após o colapso ortostático (Gráf.18,pág. 92) sugerindo um retardamento no alongar das espermatídes, de manifestação muito precoce. Algumas espermatídes podem não sofrer alongamento algum e dar origem a este tipo de lesão.

5- Outras lesões

O encontro de espermátócitos de primeira ordem de núcleos hipertróficos (Fig.16) é descrito na isquemia temporária do testículo do rato (53), após administração de mostardas nitrogenadas no camundongo (35) e na hipertermia do testículo do rato (30).

Espermatídes de núcleos arredondados hipertróficos (Fig.20) foram descritos no criptorquidismo experimental do coelho (55) e na isquemia temporária do testículo do rato (53). OETTLÉ & HARRISON (1952) admitem que estas células se originam da fusão de espermatídes binucleadas de núcleos arredondados. Argumentam a favor desta hipótese o fato de terem visto frequentemente espermatídes binucleadas próximas a espermatídes de núcleos hipertróficos (macrócitos para os autores). Baseando-se nos nossos resultados esta hipótese não nos parece provável, apesar de a Figura 20 mostrar uma espermatíde de núcleo hipertrófico próxima a uma espermatíde com dois núcleos facetados. Espermatídes de núcleos arredondados hipertróficos aparecem e predominam precocemente (24 horas após o colapso ortostático) enquanto que espermatídes binucleadas predominam 4 dias após o colapso e ainda são freqüentes 45 dias após (Gráfs.11 e 15, págs. 78 e 86). Se a hipótese de OETTLÉ & HARRISON (1952) fosse correta esperaríamos encontrar o inverso.

Espermatídes de núcleos arredondados com condensação da cromatina junto à membrana nuclear e aspecto de anel (Fig. 23) são descritas na avitaminose E do rato (42), criptorquidismo experimental do coelho (56) e isquemia temporária do testículo do rato (53).

Túbulos seminíferos (Fig.29) com associações celulares correspondentes a vários estádios do ciclo (dessincronização) foram descritos no criptorquidismo experimental do coelho (55) e na isquemia temporária do testículo do rato (53).

Retenção de espermatozóides no estágio 1 do ciclo da espermatogênese (Fig.28) foi encontrada no criptorquidismo ex-

perimental do coelho (56).

Espermatócitos de primeira ordem bi ou multinucleados (Fig.25) foram vistos na avitaminose E do rato (42), após isquemia temporária do testículo do rato (53), no criptorquidismo experimental do coelho (55), na hipertermia do testículo do rato (14), após administração de mostardas nitrogenadas no camundongo (35) e após administração de cádmio e outras substâncias tóxicas no rato (59).

No colapso ortostático do coelho e encontro de túbulos com associações celulares de vários estádios do ciclo (des-sincronização) e túbulos com retenção de espermatozoides no estágio 1 do ciclo foi raro e tardio. A presença de espermatócitos de primeira ordem bi ou multinucleadas foi muito rara e precoce.

6- Regeneração

No lote de animais sacrificados 45 dias após o colapso ortostático há regeneração completa do epitélio seminífero. Da análise do nosso material evidencia-se que a regeneração se dá de forma a ultrapassar em alguns parâmetros os próprios animais controles.

Após queda acentuada, máxima 24 horas após o colapso, a frequência do estágio 1 do ciclo volta progressivamente aos valores dos animais controles ultrapassando-os, porém, de modo significativo no lote de animais sacrificados 45 dias após (Gráf. 17, pág.90). Este achado sugere maior produção de espermátides de núcleos arredondados (espermátides jovens).

Após queda acentuada, máxima 24 horas após o colapso, a frequência de figuras de mitose nas espermatogônias, volta paulatinamente aos valores dos animais controles ultrapassando-os, porém, consideravelmente, no lote de animais sacrificados 30 dias após (Gráf.16, pág.88).

Após queda inicial, máxima 4 dias após o colapso, a média do peso do testículo direito nos animais sacrificados 15 dias após o colapso é a maior em comparação com os demais lotes. (Gráf.3, pág.65). Este achado é significativo uma vez que no lote 15d os animais não são os mais pesados (Gráf.1, pág.63) nem tampouco os mais idosos (Gráf.2, pág.64) em relação aos demais.

A hiperregeneração ("rebound") testicular frente a

um agente lesivo é conhecida com o uso do propionato de testosterona e tem aplicação clínica no tratamento da oligospermia idiopática (23,24,34,63). O propionato de testosterona tem ação lesiva no epitélio seminífero (22). Logo após o início do tratamento com esta droga, os pacientes oligospérmicos tornam-se azospérmicos, porém, alguns meses após a supressão da mesma, em alguns casos, os valores do espermograma não só voltam aos valores anteriores como também os pacientes tornam-se normospérmicos. Numa pequena percentagem de casos, entretanto, os pacientes permanecem azospérmicos para sempre.

Acreditamos que no colapso ortostático do coelho possa haver o fenômeno do "rebound" na resposta testicular. Esta resposta poderia ser obtida também muito provavelmente, com qualquer outro agente lesivo desde que este seja de intensidade leve ou moderada e que não lese as espermatogônias.

Parece-nos também lógico supor que os túbulos de epitélio de espessura reduzida (Fig.12), admitindo-se que sejam áreas de reserva, possam estar implicados neste mecanismo. Na fase de regeneração estes túbulos apresentariam espermatogênese ativa. Reforça esta hipótese o fato de estes túbulos serem vistos em 50% dos animais-controles, geralmente em áreas extensas, enquanto que nos animais-testes em apenas 25%, e geralmente em pequenos focos.

7- Considerações gerais

Admitindo-se que no colapso ortostático do coelho as lesões observadas sejam conseqüentes a um distúrbio nutritivo no qual a deficiência de oxigênio desempenha um fator fundamental (5,26,28,36,37,38,39,40,41,44,45,50), interessou-nos comparar os nossos achados com os obtidos na isquemia temporária do testículo.

Vários trabalhos foram encontrados na literatura(6, 25,31,47,53,66,67,69,72,73) porém apenas o de OETTLÉ & HARRISON (1952) faz um estudo anatomopatológico minucioso. Estes autores provocaram isquemia total testicular temporária em ratos. Após intervalos de isquemia, variáveis de 10 minutos a 6 horas, sacrificaram os animais em tempos variáveis de 1 hora até 32 semanas.

É muito significativo o fato de as lesões encontra-

das em animais submetidos a 30 minutos de isquemia total serem muito semelhantes às obtidas no colapso ortostático do coelho.

As células mais suscetíveis à necrose foram os espermatócitos de primeira ordem. A necrose, intensa 24 horas após a isquemia, era acompanhada de descamação celular, causa do aspecto vacuolado do epitélio seminífero. Alguns túbulos eram forrados por apenas células de Sertoli e espermatogônias. Estes dois tipos de células eram as mais resistentes nesta condição experimental havendo restituição completa do epitélio seminífero 32 semanas após. Além destas lesões, os autores descrevem o encontro de espermatócitos de primeira ordem de núcleos hipertróficos (lesão precoce), espermátides de núcleos arredondados hipertróficos (denominados de macrócitos pelos autores), espermátides bi ou multinucleadas de núcleos arredondados (lesão vista precoce e tardiamente), espermátides de núcleos arredondados com aspecto de anel, espermatócitos de primeira ordem multinucleados (lesão pouco freqüente) e túbulos com associações celulares de vários estádios do ciclo.

Do exposto acima vemos que há um paralelismo muito estreito entre as lesões pelo colapso ortostático do coelho e as da isquemia temporária de 30 minutos do testículo do rato. Com períodos de isquemia de 10-20 minutos as lesões foram denominadas de leves, de 30 minutos moderadas, de 40-60 minutos graves e de mais de 60 minutos irreversíveis com destruição das espermatogônias.

Este estudo comparado é altamente sugestivo de que no colapso ortostático do coelho as lesões testiculares devam ser conseqüentes fundamentalmente de um distúrbio nutritivo no qual a falta de oxigênio desempenha o papel fundamental.

Devemos considerar, entretanto, que não há uma lesão específica no colapso ortostático do coelho como também não há na isquemia temporária do testículo do rato. Todas as lesões por nós descritas também podem ser vistas em outras condições experimentais por agentes lesivos os mais diversos.

Parece-nos verdadeira a afirmação de vários autores (35,53,59) de que o testículo responde de modo inespecífico e uniforme a agentes lesivos diversos e também a de HARRISON (1956) dizendo que isto seria devido a um fator comum, muito provavelmente, a isquemia ou anóxia.

RESUMO E CONCLUSÕES

As alterações anatomopatológicas do testículo foram estudadas em 40 coelhos maduros submetidos a colapso ortostático. Um lote de 10 coelhos serviu como controle. Os animais-tes-tes foram divididos em 9 lotes, sacrificados em tempos diversos após o colapso: 6 (5 coelhos), 12 (5 coelhos), 24 (5 coelhos) e 48 horas (5 coelhos); 4 (4 coelhos), 7 (4 coelhos), 15 (4 coelhos), 30 (4 coelhos) e 45 dias (4 coelhos).

O colapso ortostático foi provocado uma única vez e mantido o animal em colapso durante 30 minutos.

Realizaram-se estudos histopatológicos qualitativo e quantitativo em microscopia óptica comum. O estudo quantitativo foi feito analisando-se num corte do testículo direito de cada coelho 100 ou mais túbulos seminíferos, em cortes transversais, num total de 5700 túbulos examinados para os 50 animais. Deste total determinou-se, em cada lote, a frequência dos diversos estádios do ciclo da espermatogênese, a percentagem de túbulos com figuras de mitose nas espermatogônias e a percentagem de túbulos com diversas lesões.

Os resultados do trabalho, baseados nos estudos qualitativo e quantitativo das alterações, permitem as seguintes conclusões:

1- Coelhos submetidos a colapso ortostático apresentam lesões necróticas no epitélio seminífero, máximas 24 horas após o colapso. A necrose é explicada principalmente pela anóxia ocorrente nos parênquimas durante o colapso.

2- A célula mais suscetível à necrose é o espermatócito de primeira ordem, seguindo-se as espermatídes e os espermatozoides. As espermatogônias, as células de Sertoli e as células de Leydig não são comprometidas.

3- À necrose celular segue-se a descamação, máxima 24 horas após o colapso, podendo ser vistos túbulos seminíferos com epitélio constituído apenas por espermatogônias e células de Sertoli.

4- Além da necrose observam-se outras alterações a pós o colapso ortostático: a) espermatócitos de primeira ordem de núcleos hipertróficos; b) espermatídes de núcleos arredondados hipertróficos; c) espermatozóides de núcleos condensados mas não alongados; d) espermatozóides multinucleados de núcleos condensados mas não alongados; e e) espermatídes bi ou multinucleadas de núcleos arredondados. As alterações a, b e c apresentam frequência máxima às 24 horas; a alteração d 48 horas; e a e 4 dias após o colapso ortostático.

5- Há restituição completa do epitélio seminífero nos coelhos sacrificados 45 dias após o colapso.

6- As lesões testiculares observadas no colapso ortostático do coelho são semelhantes as encontradas pela ação de agentes lesivos os mais diversos.

REFERÊNCIAS

- 1- ASDELL,S.A. & SALISBURY,G.W. - The rate at which spermatogenesis occurs in the rabbit. Anat Rec 80: 145-153,1941.
- 2- BARONE,P. & D'AQUINO,S. - La patogenesi della aortopatia sperimentale del coniglio da agenti ipertensivi ed ipotensivi. Rapporti con la medionecrosi aortica dell'uomo. Arch Ital Anat Istol Pat 31:306-324,1957.
- 3- BEDFORD,J.M. - Maturation, transport, and fate of spermatozoa in the epididymis. In: Handbook of Physiology, Sect 7, vol V, Baltimore, Williams & Wilkins, 1975, p.303-317.
- 4- BISHOP,M.W.H. & WALTON,A. - Spermatogenesis and the structure of mammalian spermatozoa. In: Marshall's Physiology of Reproduction, vol 1, part 2, London, Longmans, 1960, p.1-129.
- 5- BRITO,T.de & MONTENEGRO,M.R. - Hepatic and renal lesions in rabbits submitted to orthostatic collapse. Pathol Microbiol 23:46-61,1960.
- 6- BRUNETTI,A. - Alterazioni istologiche ed istochimiche del testicolo ischemico. Fracastoro 62:485-493,1969.
- 7- BRYAN,J.H.D. - Spermatogenesis revisited. I.On the presence of multinucleate spermatogenic cells in the seminiferous epithelium of the mouse. Z Zellforsch Mikrosk Anat 112:333-349, 1971.
- 8- BRYAN,J.H.D. & WOLOSEWICK,J.J. - Spermatogenesis revisited. II.Ultrastructural studies of spermiogenesis in multinucleate spermatids of the mouse. Z Zellforsch Mikrosk Anat 138:155-169,1973.
- 9- BÜCHNER,F. - Die Rolle des Herzmuskels bei der Angina pectoris. Beitr Path Anat 89:644-667,1932.

- 10- BÜCHNER, F. - Das morphologische Substrat der Angina pectoris im Tierexperiment. Beitr Path Anat 92:311-328, 1933.
- 11- BÜCHNER, F. - Allgemeine Pathologie, 3 Aufl, München und Berlin, Urban & Schwarzenberg, 1959, p. 155.
- 12- CAIN, H. & KRAUS, B. - Funktions- und Formwandel der Gefäßwandzellen des juxtaglomerulären Apparates der Niere beim Kaninchen. Virchows Arch [Zellpathol] 7:160-173, 1971.
- 13- CAVALLERO, C.; TUROLLA, E. & RICEVUTTI, G. - Lésions artérielles par choc orthostatique chez le lapin. Rev Atheroscler (Paris) 11:10-15, 1969.
- 14- CHOWDHURY, A.K. & STEINBERGER, E. - A quantitative study of the effect of heat on germinal epithelium of rat testis. Am J Anat 115:509-524, 1964.
- 15- DYM, M. & FAWCETT, D.W. - Further observations on the numbers of spermatogonia, spermatocytes, and spermatids connected by intercellular bridges in the mammalian testis. Biol Reprod 4:195-215, 1971.
- 16- EPPINGER, H.; KAUNITZ, H. & POPPER, H. - apud LOPES de FARIA, J., 1955.
- 17- FAWCETT, D.W. - Ultrastructure and function of the Sertoli cell. In: Handbook of Physiology, Sect 7, vol V, Baltimore, Williams & Wilkins, 1975, p. 21-55.
- 18- FERREIRA, A.L. & ROSSI, M.A. - Pathology of the testis and epididymis in the late phase of experimental Chagas's disease. Am J Trop Med Hyg 22:699-704, 1973.
- 19- GOLONBEK, M.; BILS, R.F. & HUTH, F. - Estudios histopatológicos y ultraestructurales en el colapso ortostático con particular consideración de las modificaciones renales. Arch Fund Roux-Ocefa 3:49-65, 1969.

- 20- GUIEYSSE-PELLISSIER,A. - Action de la colchicine sur le testicule dy cobaye. Bull d'Histol appliq à la Physiol 19:81-94,1942.
- 21- HARRISON,R.G. - Factors influencing the process of spermatogenesis in the experimental animal. Br J Urol 28:422-425, 1956.
- 22- HECKEL,N.J. - The influence of testosterone-propionate upon benign prostatic hypertrophy and spermatogenesis: A clinical and pathological study in the human. J Urol 43:286-308,1940.
- 23- HECKEL,N.J.; ROSSO,W.A. & KESTEL,L. - Spermatogenic rebound phenomenon after administration of testosterone propionate. J Clin Endocrinol 11:235-245,1951.
- 24- HELLER,C.G.; NELSON,W.O.; HILL,I.B.; HENDERSON,E.; MADDOCK, W.O.; JUNGCK,E.C.; PAULSEN,C.A. & MORTIMER,G.E. - Improvement in spermatogenesis following depression of the human testis with testosterone. Fertil Steril 1:415-422,1950.
- 25- HINMAN,F. & SMITH,G.I. - Spermatogenesis following experimental testicular ischemia. Fertil Steril 6:443-449,1955.
- 26- HOLLMANN,K.H. - Nierenveränderungen nach orthostatischem Kollaps beim Kaninchen. Frankfurt Z Path 67:210-219,1956.
- 27- HU,C.K. & FRAZIER,C.N. - Atrophy of germinal epithelium of the rabbit's testis induced by roentgen rays. Proc Soc Exp Biol Med 48:44-48,1941.
- 28-HUTH,F.; BILS,R.F. & GOLONBEK,M. - Elektronen-mikroskopische Befunde an Kaninchennieren nach orthostatischem Kollaps. Virchows Arch [Pathol Anat] 348:36-50,1969.
- 29- JOHNSON,D.R. - Multinucleate spermatids in the mouse. A quantitative electron microscope study. Cell Tissue Res 150: 323-329,1974.

- 30- KANWAR,K.C.; BAWA,S.R. & SINGAL,P.K. - Mode of formation of giant cells in testicular hyperthermia. Fertil Steril 22: 778-783,1971.
- 31- KAYA,M. & HARRISON,R.G. - An analysis of the effect of ischemia on testicular ultrastructure. J Pathol 117:105-117,1975.
- 32- KORB,G.; MÜLLER,R.; GEDIGK,P. & HELLWIG,K. - "Über die Entstehung und Abheilung von Lebernekrosen nach einem einmaligen Schock. Virchows Arch [Pathol Anat] 348:374-393,1969.
- 33- KREUZIGER,H.; ASTEROTH,H.; HILLENBRECHT,J. & MEISEL,M. - "Veränderungen im Blut, Harn und Elektrokardiogramm nach orthostatischem Kollaps bei Kaninchen. Z Kreislaufforsch 42:694-705,1953.
- 34- LAMENSDORF,H.; COMPERE,D. & BEGLEY,G. - Testosterone rebound therapy in the treatment of male infertility. Fertil Steril 26:469-472,1975.
- 35- LANDING,B.H.; GOLDIN,A. & NOE,H.A. - Testicular lesions in mice following parenteral administration of nitrogen mustards. Cancer 2:1075-1082,1949.
- 36- LOPES de FARIA,J. - Medianekrose der grossen und mittelgrossen Arterien nach orthostatischem Kollaps des Kaninchens. Beitr Path Anat 115:373-404,1955.
- 37- LOPES de FARIA,J. - Medianecrosis aortae after collapse in rabbits. Schweiz Z Path Bakt 21:103-114,1958.
- 38- LOPES de FARIA,J. - Histopathological changes in the coronary arteries of rabbits after orthostatic collapse with arteriosclerotic features. Pathol Microbiol (Basel) 25:1-12,1962.
- 39- LOPES de FARIA,J. - On the origin of smooth muscle cells in the intimal thickening of rabbits aorta following orthostatic collapse. Beitr Path Anat 140:333-344,1970.

- 40- LOPES de FARIA,J. & SOKEI,E.L. - Necrotic changes of the rabbit adenohypophysis following orthostatic collapse. Beitr Pathol 150:400-405,1973.
- 41- LOPES de FARIA,J. & TREVISAN,M.A.S. - Necrosis of gastric mucosa following orthostatic collapse in rabbits. Virchows Arch [Pathol Anat] 358:105-112,1973.
- 42- MASON,K.E. - Testicular degeneration in albino rats fed a purified food ration. J Exp Zool 45:159-229,1926.
- 43- MATANO,Y. - Ultrastructural study on human binucleate spermatids. J Ultrastruct Res 34:123-134,1971.
- 44- MEESEN,H. - "Über Coronarinsuffizienz nach Histamincollaps und orthostatischem Kollaps. Beitr Path Anat 99:329-350, 1937.
- 45- MEESEN,H. - Experimentelle Untersuchungen zum Collapsproblem. Beitr Path Anat 102:191-267,1939.
- 46- MEESEN,H. & SCHMIDT,R. - "Über Durchblutungsstörungen der Netzhautgefäße bei experimentellem Kollaps. Arch Kreislaufforsch 10:255-262,1942.
- 47- MELMAN,E.P.; MINTS,S.M.; GRITSULYAK,B.V. & ZBIRAK,N.P. - Histopathology and activity of some oxidative enzymes of the testicle under conditions of its experimental ischemia. Arkh Patol 31:71-75,1969.
- 48- MILLS,R.G. - The pathological changes in the testes in epidemic pneumonia. J Exp Med 30:505-529,1919.
- 49- MOELLER,J.L. & GABEL,H. - "Kreislaufabhängige tubuläre Insuffizienz bei Kaninchen. Z Ges Exp Med 123:453-464,1954.
- 50- NIKLOWITZ,W. - Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Struktur der normalen und kollaps["]geschädigten Purkinje-Zelle. Beitr Path Anat 127:424-449,1962.

- 51- OAKBERG,E.F. - A description of spermiogenesis in the mouse and its use in analysis of the cycle of the seminiferous epithelium and germ cell renewal. Am J Anat 99:391-413,1956.
- 52- OAKBERG,E.F. - Effects of radiation on the testes. In: Handbook of Physiology, Sect 7, vol V, Baltimore, Williams & Wilkins, 1975, p.233-243.
- 53- OETTLÉ,A.G. & HARRISON,R.G. - The histological changes produced in the rat testis by temporary and permanent occlusion of the testicular artery. J Path Bact 64:273-297,1952.
- 54- PLOEN,L. - An electron microscope study of the immediate effects on spermateleosis of a short-time experimental cryptorquidism in the rabbit. Virchows Arch [Zellpathol] 10:293-309,1972.
- 55- PLOEN,L. - An electron microscope study of the delayed effects on rabbit spermateleosis following experimental cryptorquidism for twenty-four hours. Virchows Arch [Zellpathol] 14:159-184,1973a.
- 56- PLOEN,L. - A light microscope study of the immediate and delayed effects on rabbit spermatogenesis following experimental cryptorquidism for twenty-four hours. Virchows Arch [Zellpathol] 14:185-196,1973b.
- 57- POKK,L.R. - The appearance of orthostatic collapse and morphological changes in the organs of rabbits during action on the central nervous system. Arkh Patol 25:26-35,1963.
- 58- RAYNARD - apud HUTH,F.; BILS,R.F. & GOLONBEK,M., 1969.
- 59- RIBELIN,W.E. - Atrophy of rat testis as index of chemical toxicity. Arch Pathol 75:229-235,1963.

- 60- RICEVUTI,G.P. - Aspecti iniziali delle lesioni aortiche da collasso ortostatico nel coniglio. Boll Soc Ital Biol Sper 43:1675-1677,1967.
- 61- ROOSEN-RUNGE,E.C. - Kinetics of spermatogenesis in mammals. Ann NY Acad Sci 55:574-584,1952.
- 62- ROOSEN-RUNGE,E.C. - Untersuchungen über die Degeneration samenzellbildender Zellen in der normalen Spermatogenese der Ratte. Z Zellforsch Mikrosk Anat 41:221-235,1955.
- 63- ROWLEY,M.J. & HELLER,C.G. - The testosterone rebound phenomenon in the treatment of male infertility. Fertil Steril 23: 498-504,1972.
- 64- SALATHÉ - apud HUTH,F.; BILS,R.F. & GOLONBEK,M., 1969.
- 65- SEYBERTH,H.W.; HAACK,D. & MIKSCHE,L. - Der Einfluss von Methylprednisolon auf das Renin-Angiotensin-System im Endotoxin-Schock und während orthostatischer Belastung beim Kaninchen. Z Ges Exp Med 156:129-138,1971.
- 66- SMITH,G.I. - Cellular changes from graded testicular ischemia. J Urol 73:355-362,1955.
- 67- SONDA,L.P. & LAPIDES,J. - Experimental torsion of the spermatic cord. Surg Forum 12:502-504,1961.
- 68- STEINBERGER,E. - A quantitative study of the effect of an alkylating agent (triethylenemelamine) on the seminiferous epithelium of rats. J Reprod Fertil 3:250-259,1962.
- 69- STEINBERGER,E. & TJIOE,D.Y. - Spermatogenesis in the rat testes after experimental ischemia. Fertil Steril 20:639-649,1969.
- 70- SWIERSTRA,E.E. & FOOTE,R.H. - Cytology and kinetics of spermatogenesis in the rabbit. J Reprod Fertil 5:309-322,1963.

- 71- SWIERSTRA,E.E. & FOOTE,R.H. - Duration of spermatogenesis and spermatozoan transport in the rabbit based on cytological changes, DNA synthesis and labeling with tritiated thymidine. Am J Anat 116:401-412,1965.
- 72- SZARVAS,F. & KOVÁCS,K. - Früh- und Spätfolgen temporärer Kreislaufblockierung im Rattenhoden. Pathol Microbiol (Basel) 33:14-22,1969.
- 73- TJIOE,D.Y. & STEINBERGER,E. - A quantitative study of the effect of ischaemia on the germinal epithelium of rat testes. J Reprod Fertil 21:489-494,1970.
- 74- TRUMP,B.F.; LAIHO,K.A.; MERGNER,W.J. & ARSTILA,A.U. - Studies on the subcellular pathophysiology of acute lethal cell injury. Beitr Pathol 152:243-271,1974.
- 75- ZAPRIAGAEV,V.V. - Reparative regeneration of the myocardium after focal injury following orthostatic collapse. Arkh Anat Gistol Embriol 60:74-80,1971.

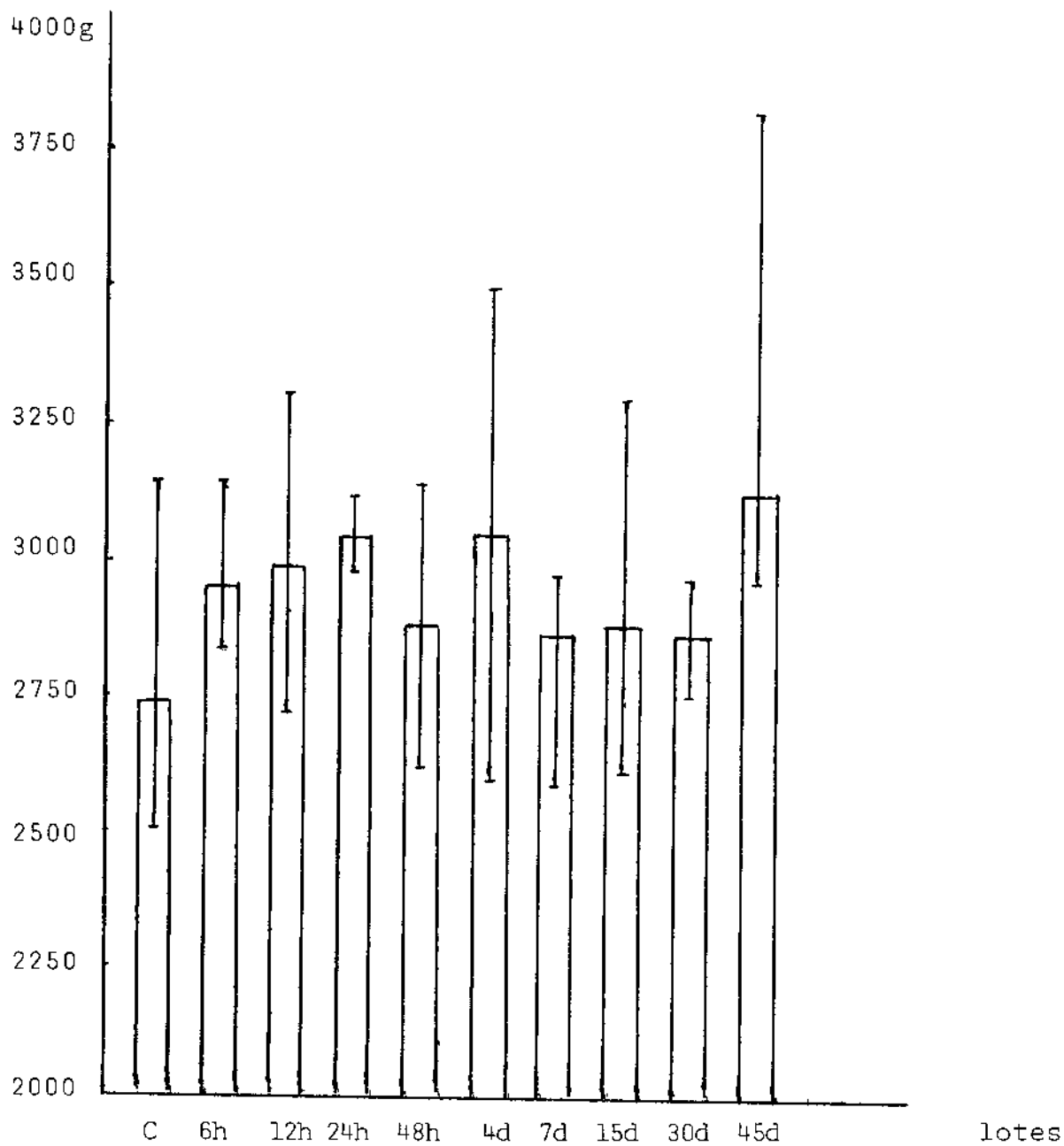
GRÁFICOS E TABELAS

Tab. 1 Denominação e número de animais em cada lote; número, raça, peso e idade de cada coelho no dia do colapso; e intervalo de tempo entre o colapso ortostático e o sacrifício.

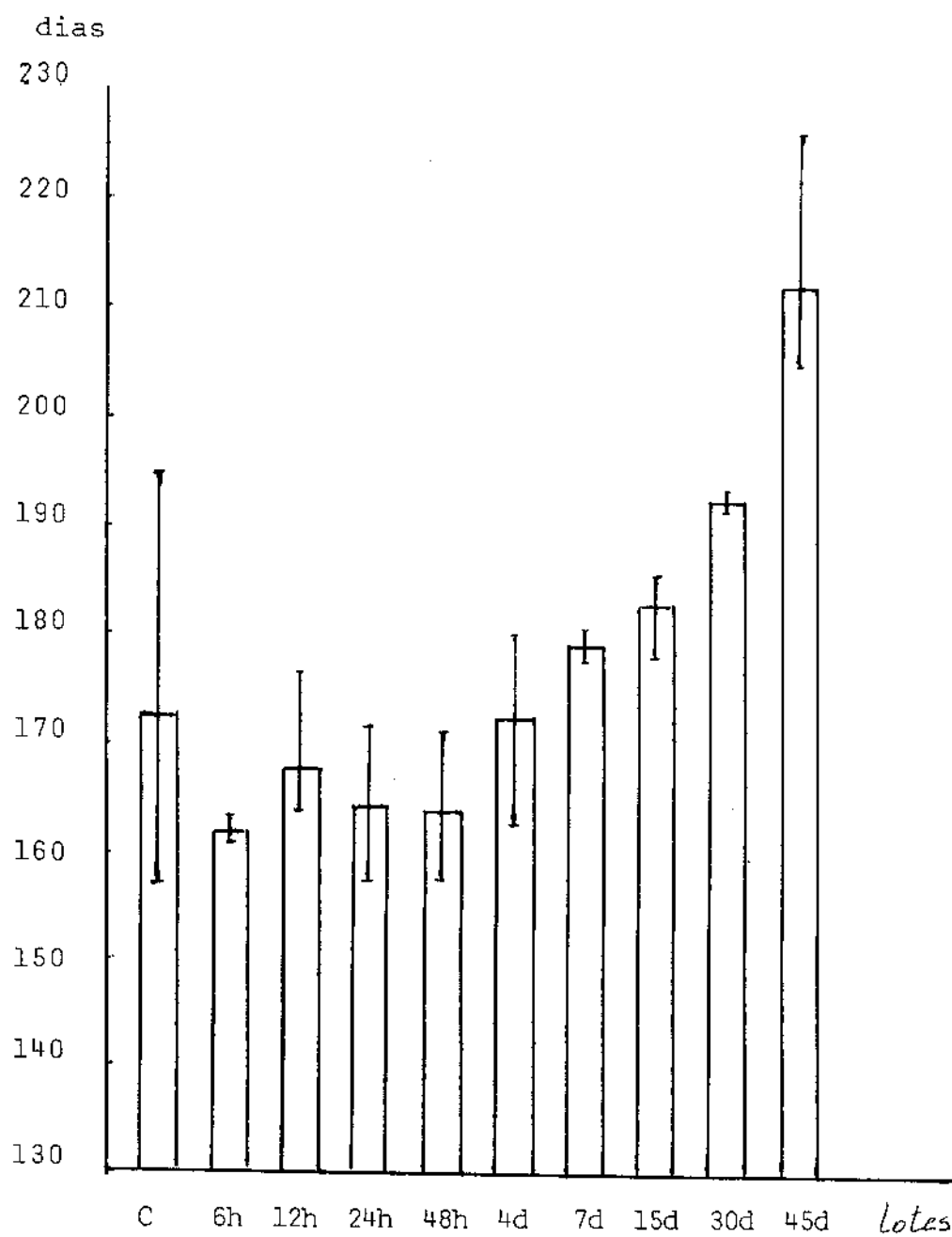
Denominação do lote	Número de animais	Coelho nº	Raça	Peso em gramas	Idade em dias	Intervalo de tempo entre o colapso e sacr
C	10	C- 9/73	Norfolk 2000	5550	540	controles
		C-13/73	Norfolk 2000	5000	540	
		C-14/75	Norfolk Cross	2700	156	
		C-27/75	Norfolk Cross	3100	178	
		C-40/75	Norfolk Cross	2950	158	
		C-39/75	Norfolk Cross	2550	160	
		C-47/75	Norfolk Cross	3150	167	
		C-66/75	Norfolk Cross	2500	181	
		C-69/75	Norfolk Cross	2500	188	
		C-67/75	Norfolk Cross	2500	195	
6h	5	C-12/73	Norfolk 2000	4900	540	6 horas
		C-41/75	Norfolk Cross	3150	161	
		C-42/75	Norfolk Cross	2900	161	
		C-38/75	Norfolk Cross	2850	162	
		C-36/75	Norfolk Cross	2850	162	
12h	5	C-18/75	Norfolk Cross	3300	163	12 horas
		C- 7/75	Norfolk Cross	2850	168	
		C-21/75	Norfolk Cross	3300	168	
		C-45/75	Norfolk Cross	2800	166	
		C-65/75	Norfolk Cross	2700	176	
24h	5	C-16/73	Norfolk 2000	5500	570	24 horas
		C-11/73	Norfolk 2000	4800	540	
		C-18/73	Norfolk 2000	5000	570	
		C-17/75	Norfolk Cross	2950	156	
		C-23/75	Norfolk Cross	3100	170	
48h	5	C-15/75	Norfolk Cross	2900	155	48 horas
		C-22/75	Norfolk Cross	3150	169	
		C-37/75	Norfolk Cross	2750	160	
		C-35/75	Norfolk Cross	2650	161	
		C-29/75	Norfolk Cross	3000	161	
4d	4	C-19/75	Norfolk Cross	3500	157	4 dias
		C-13/75	Norfolk Cross	2900	163	
		C-26/75	Norfolk Cross	3100	172	
		C-59/75	Norfolk Cross	2600	176	
7d	4	C-24/75	Norfolk Cross	3100	171	7 dias
		C-25/75	Norfolk Cross	2950	171	
		C-57/75	Norfolk Cross	2600	175	
		C-64/75	Norfolk Cross	2900	172	
15d	4	C-60/75	Norfolk Cross	2900	164	15 dias
		C-62/75	Norfolk Cross	3000	164	
		C-63/75	Norfolk Cross	2600	173	
		C-68/75	Norfolk Cross	2600	173	
30d	4	C-54/75	Norfolk Cross	2700	162	30 dias
		C-55/75	Norfolk Cross	2700	162	
		C-56/75	Norfolk Cross	2700	163	
		C-58/75	Norfolk Cross	2700	163	
45d	4	C-48/75	Norfolk Cross	2700	160	45 dias
		C-32/75	Norfolk Cross	3100	173	
		C-52/75	Norfolk Cross	2500	161	
		C-53/75	Norfolk Cross	2700	161	

Tab. 2 Intervalo de tempo para entrada em colapso, tempo total em posição ortostática e intensidade do colapso para cada coelho nos diferentes lotes.

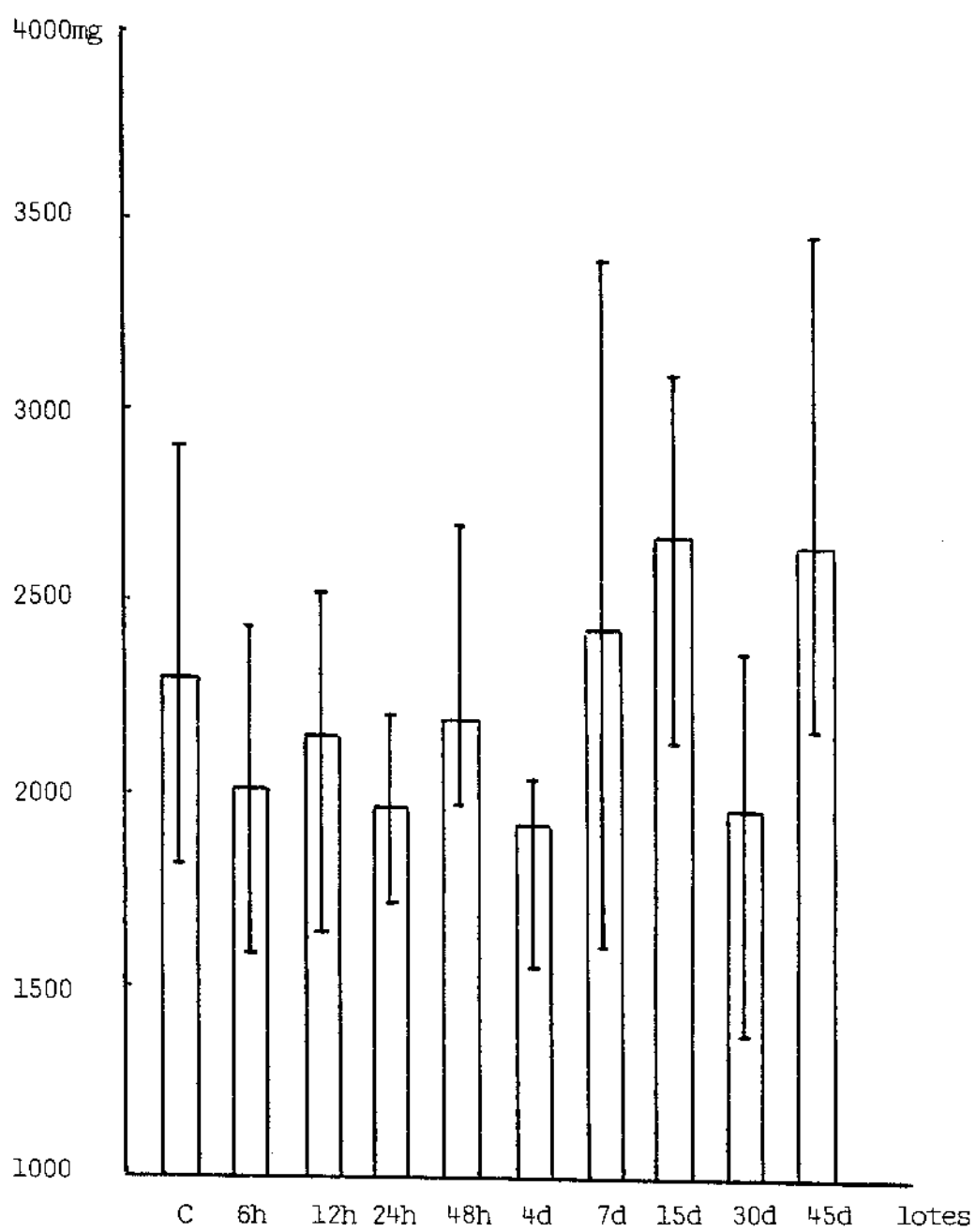
Lote	Coelho nº	Intervalo de tempo para entrada em colapso (minutos)	Tempo total em posição ortostática (minutos)	Intensidade do colapso
6h	C-12/73	16	46	grave
	C-41/75	55	85	grave
	C-42/75	48	78	moderado
	C-38/75	30	60	leve
	C-36/75	36	66	moderado
12h	C-18/75	23	53	leve
	C- 7/75	45	75	leve
	C-21/75	20	50	leve
	C-45/75	16	46	moderado
	C-65/75	28	58	moderado
24h	C-16/73	11	41	leve
	C-11/73	12	42	grave
	C-18/73	14	44	leve
	C-17/75	45	75	leve
	C-23/75	14	44	moderado
48h	C-15/75	13	43	moderado
	C-22/75	15	45	leve
	C-37/75	55	85	moderado
	C-35/75	40	70	moderado
	C-29/75	54	84	moderado
4d	C-19/75	30	60	moderado
	C-13/75	35	65	moderado
	C-26/75	18	48	leve
	C-59/75	20	50	moderado
7d	C-24/75	18	48	grave
	C-25/75	21	51	moderado
	C-57/75	20	50	leve
	C-64/75	35	65	grave
15d	C-60/75	94	124	leve
	C-62/75	13	43	grave
	C-63/75	18	48	moderado
	C-68/75	14	44	moderado
30d	C-54/75	20	50	moderado
	C-55/75	20	50	moderado
	C-56/75	8	38	moderado
	C-58/75	13	43	grave
45d	C-48/75	35	65	leve
	C-32/75	5	35	grave
	C-52/75	16	46	grave
	C-53/75	6	36	grave



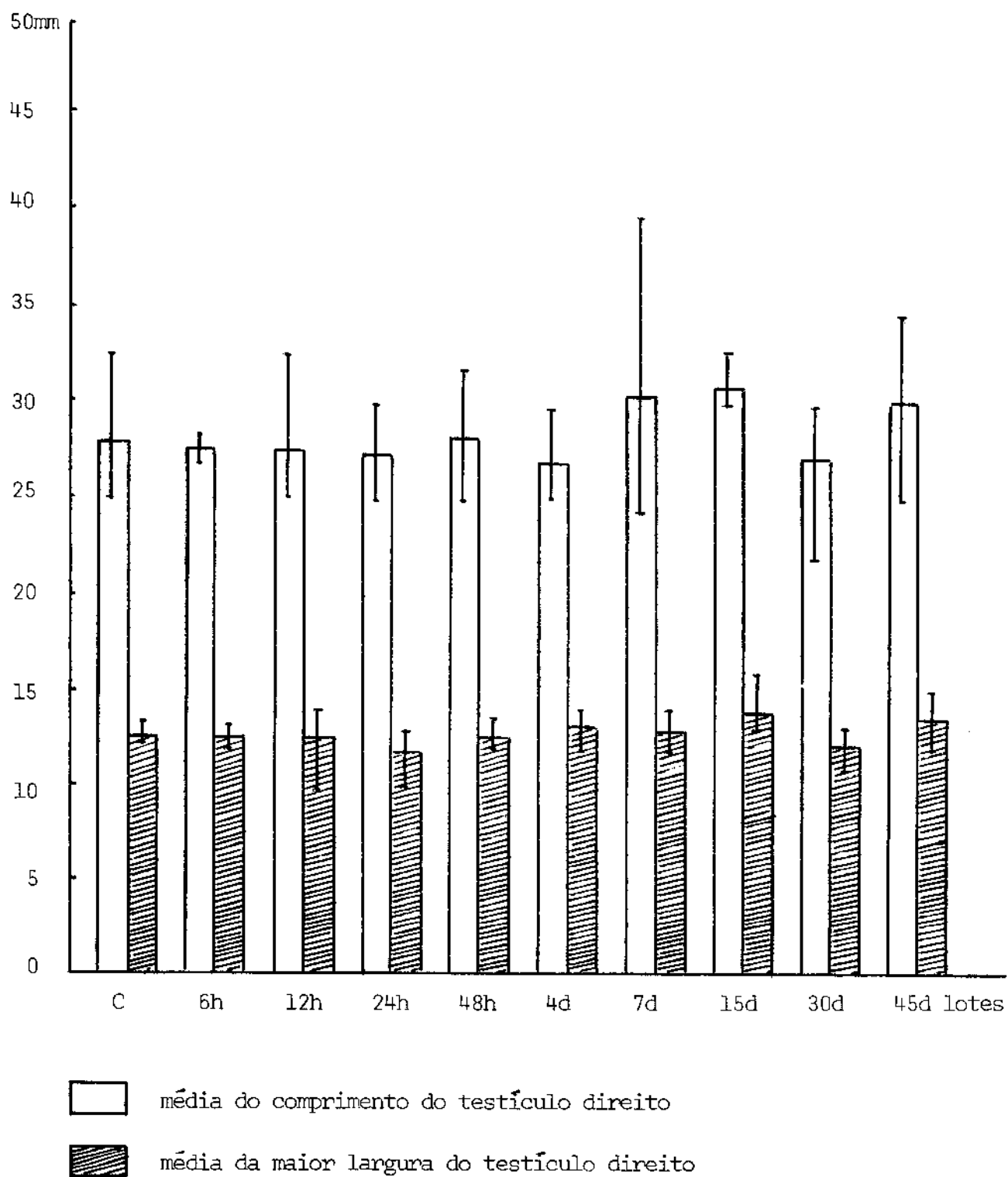
Gráf.1 Média e desvios máximo e mínimo dos pesos corporais nos diferentes lotes de coelhos Norfolk Cross no dia do sacrifício.



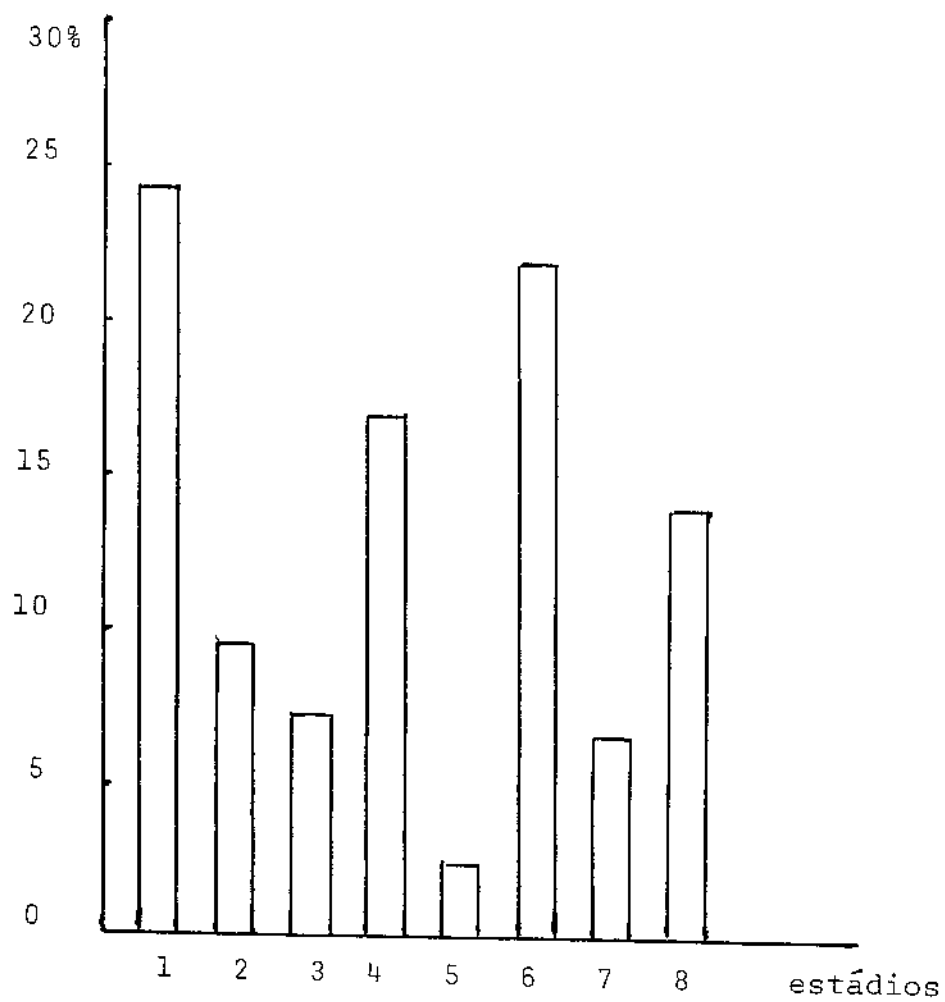
Gráf. 2 Média e desvios máximo e mínimo das idades nos diferentes lotes de coelhos Norfolk Cross no dia do sacrifício.



Gráf. 3 Média e desvios máximo e mínimo do peso do testículo direito nos diferentes lotes de coelhos Norfolk Cross no dia do sacrifício.



Gráf. 4 Média e desvios máximo e mínimo do comprimento e maior largura do testículo direito nos diferentes lotes de coelhos Norfolk Cross.



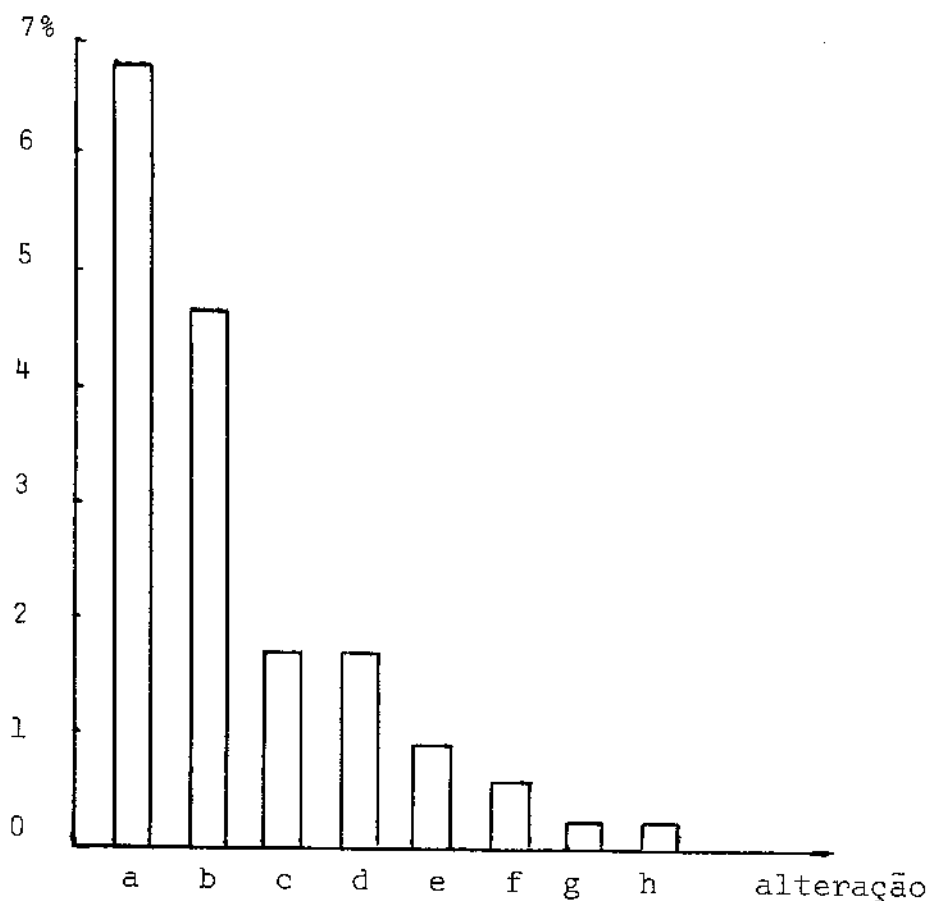
Gráf.5 Percentagem dos diferentes estádios do ciclo da espermatogênese em 10 coelhos controles num total de 1107 túbulos contados.

Tab. 3 Diagrama da espermatogênese no coelho mostrando os tipos de células nos 8 estádios representados por colunas verticais e a espermatogênese completa em 4 ciclos indicados por linhas transversais aa', bb', cc' e dd'. As linhas grossas verticais indicam divisão celular.

Tipo de célula	ESTÁDIO DO CICLO							
	1	2	3	4	5	6	7	8
<u>Espermatogônias</u>								
tipo A	A	A	A	A	A	A	A	A
tipo In				In	In	In	In	In
tipo B							B	B
<u>Espermatócitos de primeira ordem</u>								
PL								PL
L	L	L						
Z			Z					
P	P	P	P	P	P	P	P	P
D				D				
<u>Espermatócitos de segunda ordem</u>								
R					R			
<u>Espermátides</u>								
N ₁	N ₁				N ₁	N ₁	N ₁	N ₁
N ₂		N ₂						
N ₃			N ₃					
<u>Espermatozóides</u>				E	E	E	E	E

PL pré-leptóteno
 L leptóteno
 Z zigóteno
 P paquíteno
 D diplóteno e diacinese

N₁ espermátides de núcleos arredondados
 N₂ espermátides de núcleos em alongamento
 N₃ espermátides de núcleos alongados

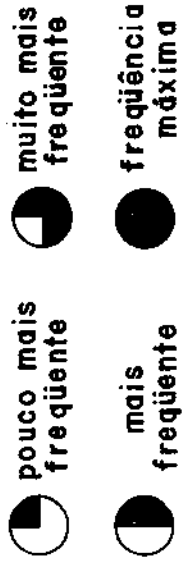


Gráf. 6 Frequência de alterações várias nos túbulos seminíferos (a-h), encontradas em 10 coelhos controles (contagem baseada em 1107 túbulos).

- a) células necróticas
- b) espermatozoides de núcleos condensados mas não alongados
- c) espermatozoides multinucleados de núcleos condensados mas não alongados
- d) espermátides de núcleos arredondados hipertróficos
- e) espermatócitos de primeira ordem de núcleos hipertróficos
- f) espermátides multinucleadas de núcleos arredondados
- g) espermátides binucleadas de núcleos arredondados
- h) epitélio seminífero de estágio não reconhecido por causa destas diversas alterações

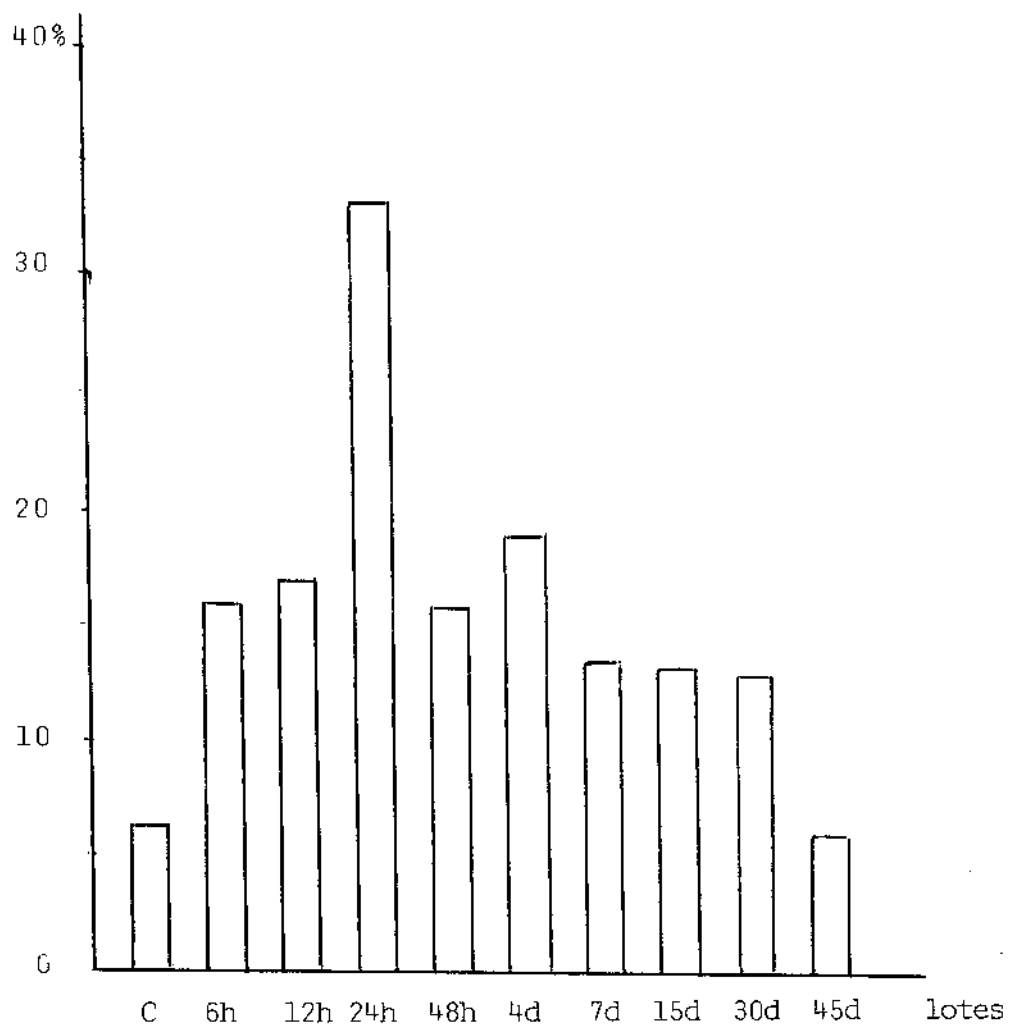
TÚBULOS SEMINÍFEROS COM:	LOTES									
	6 h	12 h	24 h	48 h	4 d	7 d	15 d	30 d	45 d	
1 - CÉLULAS NECRÓTICAS										
2 - EPITÉLIO SEMINÍFERO DE ESTÁDIO NÃO RECONHECIDO										
3 - ESPERMATÓCITOS DE PRIMEIRA ORDEM DE NÚCLEOS HIPERTRÓFICOS										
4 - ESPERMÁTIDES DE NÚCLEOS ARREDONDADOS HIPERTRÓFICOS										
5 - ESPERMATOZOÍDES COM NÚCLEOS CONDENSADOS MAS NÃO ALONGADOS										
6 - ESPERMATOZOÍDES MULTINUCLEADOS COM NÚCLEOS CONDENSADOS MAS NÃO ALONGADOS										
7 - ESPERMÁTIDES MULTINUCLEADAS DE NÚCLEOS ARREDONDADOS										
8 - ESPERMÁTIDES BINUCLEADAS DE NÚCLEOS ARREDONDADOS										

Gráf. 7 - Avaliação da frequência das alterações 1,2,3,4,5,6,7 e 8, nos animais submetidos a colapso dos diferentes lotes, em comparação ao lote controle. Os quadrados vazios indicam que a frequência das alterações é semelhante a do lote controle.



Tab. 4 Número de cortes transversais de túbulos seminíferos com os achados indicados na primeira coluna.

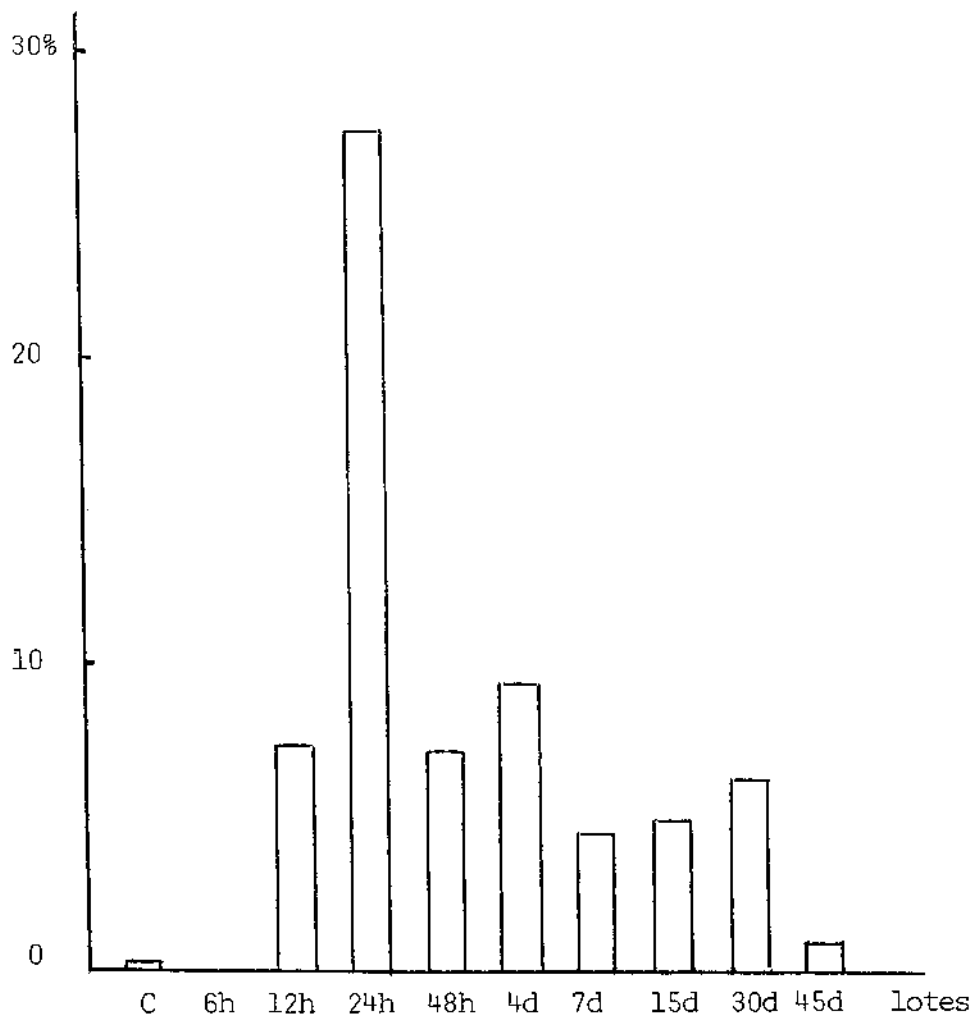
Cortes transversais com presença de:	LOTES										
	C	6h	12h	24h	48h	4d	7d	15d	30d	45d	
Células necróticas	77	94	111	198	95	82	61	58	54	24	
Epitélio seminífero de estágio não reconhecido	2	0	47	163	42	39	18	20	29	5	
Citos I de núcleos hipertróficos	10	5	9	25	5	2	12	1	1	0	
Espermatídes de núcleos arredondados hipertróficos	20	3	9	29	8	13	16	6	11	6	
Espermatozoides com núcleos condensados mas não along.	52	21	41	110	76	40	42	25	60	18	
Espermatozoides mult. de núcleos cond. mas não along.	20	13	16	18	35	17	14	10	15	12	
Espermatídes multinucleadas de núcleos arredondados	7	4	14	6	35	27	13	17	14	7	
Espermatídes binucleadas de núcleos arredondados	1	0	0	1	3	6	4	6	5	4	
Figuras de mitose nas espermatogônias	28	7	8	6	13	9	8	11	18	9	
Epitélio seminífero em estágio 1 do ciclo	269	129	156	111	126	72	117	119	88	139	
Epitélio seminífero em estágio 2 do ciclo	106	78	65	42	68	43	40	55	46	55	
Epitélio seminífero em estágio 3 do ciclo	82	51	36	44	39	28	26	26	21	25	
Epitélio seminífero em estágio 4 do ciclo	139	78	87	39	81	31	71	52	63	64	
Epitélio seminífero em estágio 5 do ciclo	24	4	8	4	7	3	2	3	9	9	
Epitélio seminífero em estágio 6 do ciclo	248	109	111	93	125	53	85	84	78	75	
Epitélio seminífero em estágio 7 do ciclo	76	34	51	23	36	12	21	16	33	21	
Epitélio seminífero em estágio 8 do ciclo	161	75	66	70	76	42	67	72	69	73	
Total de cortes transversais examinados	1107	558	627	589	600	423	447	447	436	466	



Gráf. 8 Percentagem de túbulo seminíferos com células necróticas, nos diferentes lotes de animais.

Tab. 5 Células necróticas nos túbulos seminíferos. Análise comparativa, expressa pelo X^2 , entre os valores do lote controle e os dos lotes testes.

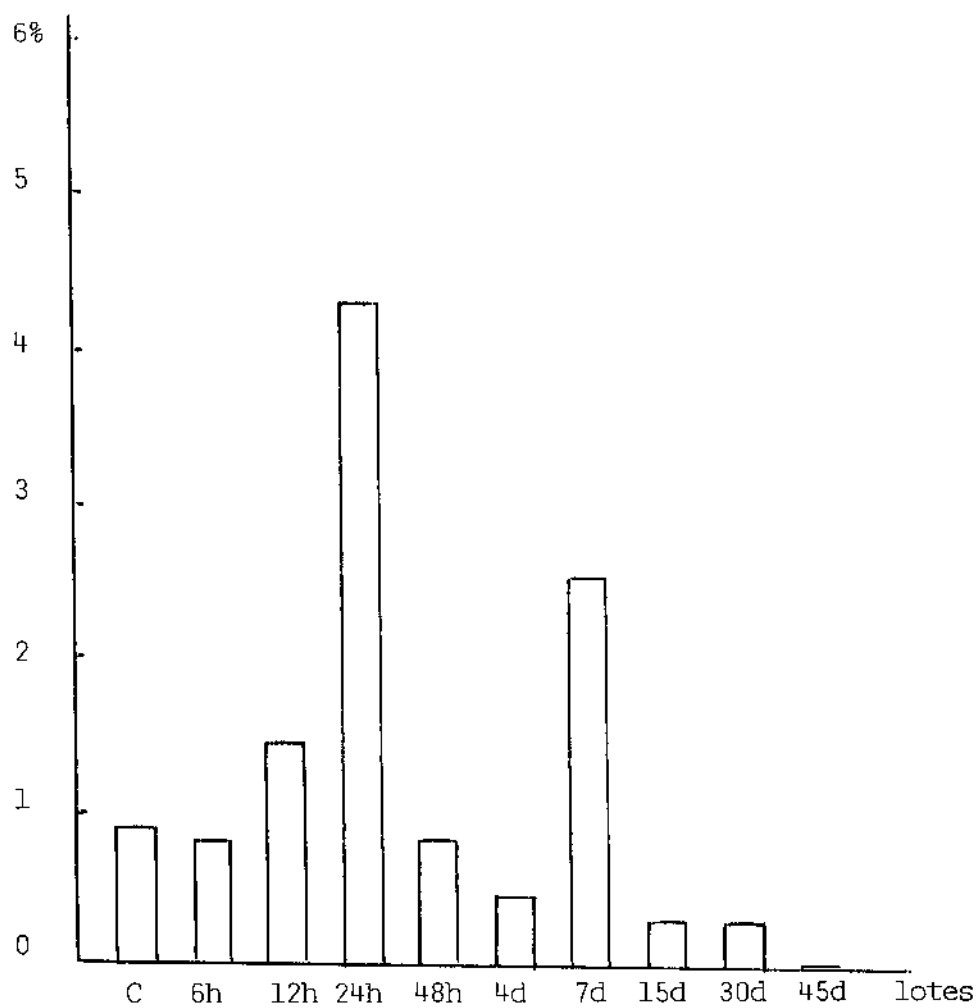
Lote controle versus lotes testes	X^2 (GL=1)	probabilidade
C x 6h	39,378	$p < 0,01$
C x 12h	47,832	$p < 0,01$
C x 24h	201,141	$p < 0,01$
C x 48h	33,844	$p < 0,01$
C x 4d	50,776	$p < 0,01$
C x 7d	17,616	$p < 0,01$
C x 15d	14,545	$p < 0,01$
C x 30d	11,869	$p < 0,01$
C x 45d	1,779	$0,10 < p < 0,20$



Gráf. 9 Percentagem de túbulo seminíferos de estágio não reconhecido, nos diferentes lotes de animais.

Tab. 6 Túbulos seminíferos de estágio não reconhecido. Análise comparativa, expressa pelo χ^2 , entre os valores do lote controle e os dos lotes testes.

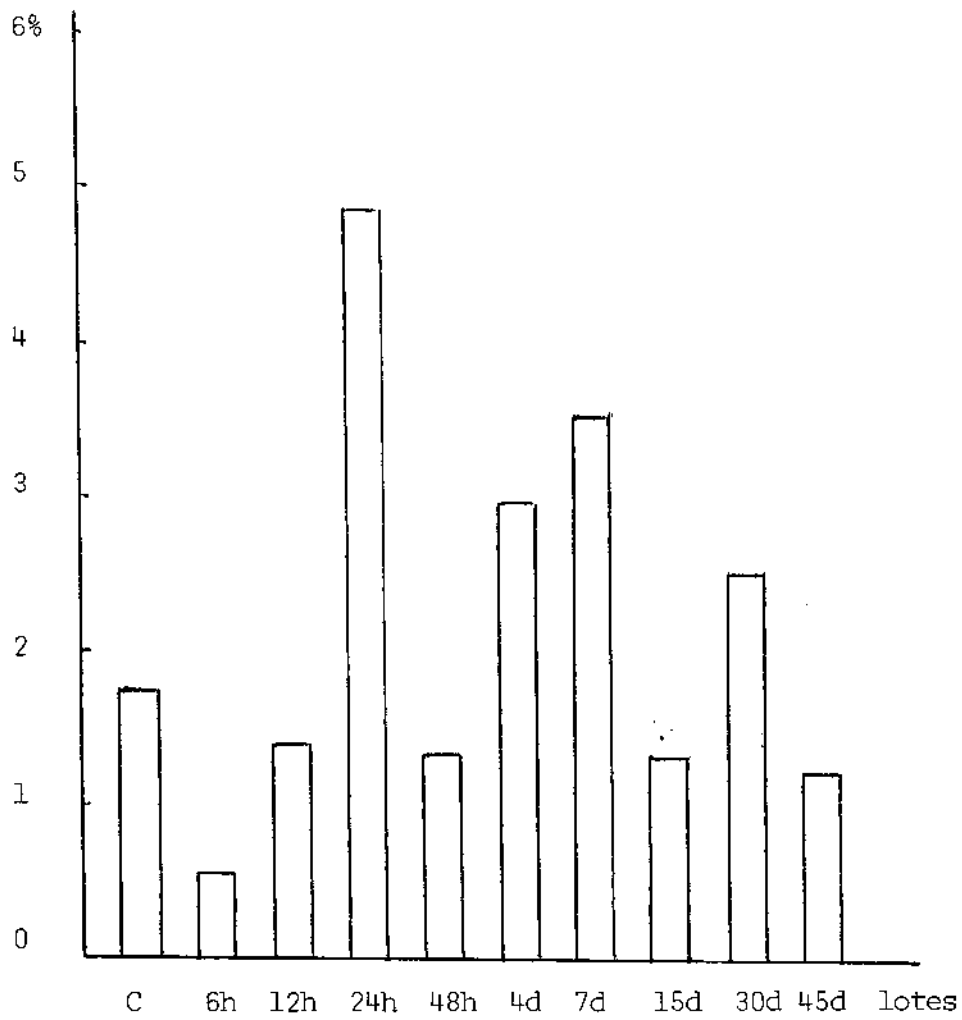
Lote controle versus lotes testes	χ^2 (GL=1)	probabilidade
C x 6h	1,009	$0,30 < p < 0,50$
C x 12h	78,007	$p < 0,01$
C x 24h	330,891	$p < 0,01$
C x 48h	72,056	$p < 0,01$
C x 4d	95,887	$p < 0,01$
C x 7d	37,077	$p < 0,01$
C x 15d	42,059	$p < 0,01$
C x 30d	66,525	$p < 0,01$
C x 45d	5,893	$0,01 < p < 0,05$



Gráf. 10 Percentagem de túbulos seminíferos com espermatozoides de primeira ordem de núcleos hipertroáficos, nos diferentes lotes de animais.

Tab. 7 Espermatócitos de primeira ordem de núcleos hipertróficos nos túbulos seminíferos. Análise comparativa, expressa pelo X^2 , entre os valores do lote controle e os dos lotes testes.

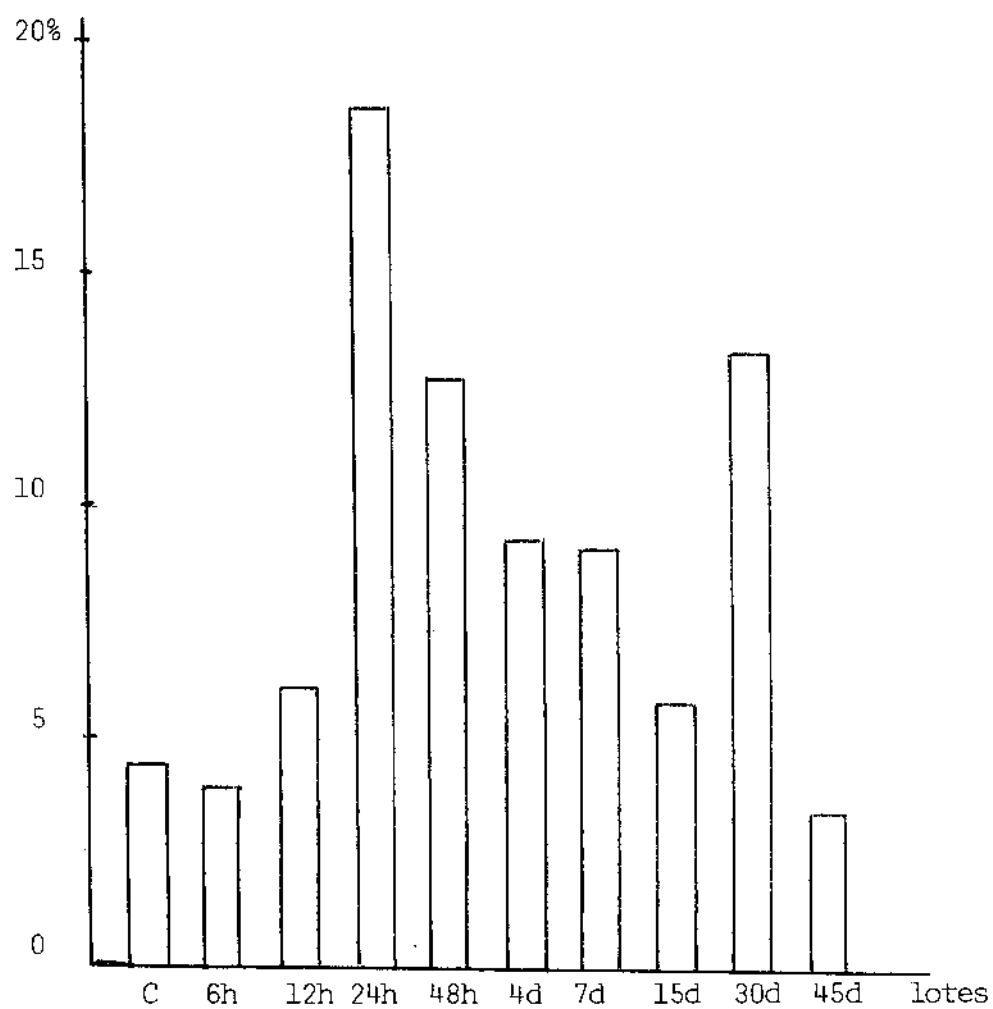
Lote controle versus lotes testes	X^2 (GL=1)	probabilidade
C x 6h	0,0002	$p > 0,95$
C x 12h	1,045	$0,30 < p < 0,50$
C x 24h	21,234	$p < 0,01$
C x 48h	0,021	$0,70 < p < 0,90$
C x 4d	0,729	$0,30 < p < 0,50$
C x 7d	7,238	$p < 0,01$
C x 15d	2,092	$0,10 < p < 0,20$
C x 30d	2,007	$0,10 < p < 0,20$
C x 45d	4,236	$0,01 < p < 0,05$



Gráf. 11 Percentagem de túbulos seminíferos com espermatídes de núcleos arredondados hipertróficos, nos diferentes lotes de animais.

Tab. 8 Espermatides de núcleos arredondados hipertróficos nos túbulos seminíferos. Análise comparativa, expressa pelo X^2 , entre os valores do lote controle e os dos lotes testes.

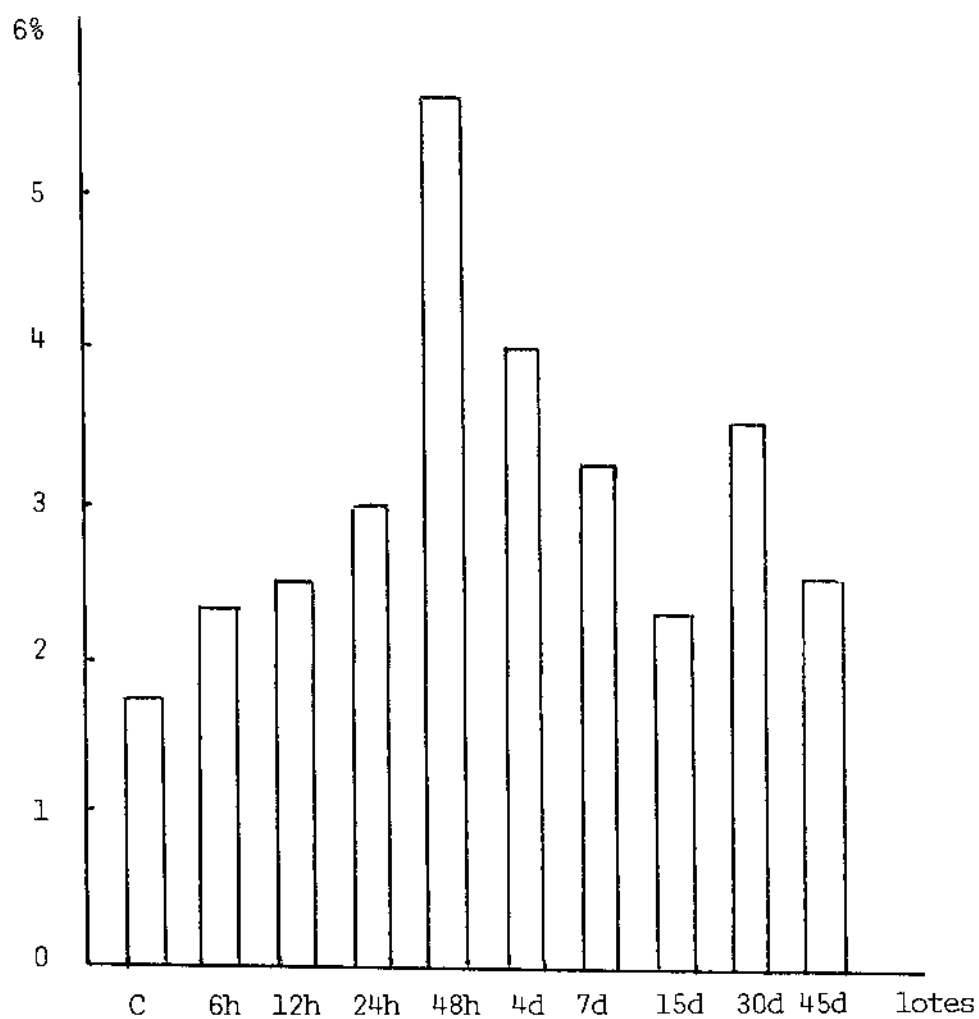
Lote controle versus lotes testes	X^2 (GL=1)	probabilidade
C x 6h	4,385	$0,01 < p < 0,05$
C x 12h	0,335	$0,50 < p < 0,70$
C x 24h	13,312	$p < 0,01$
C x 48h	0,540	$0,30 < p < 0,50$
C x 4d	2,326	$0,10 < p < 0,20$
C x 7d	4,422	$0,01 < p < 0,05$
C x 15d	0,417	$0,50 < p < 0,70$
C x 30d	0,815	$0,30 < p < 0,50$
C x 45d	0,543	$0,30 < p < 0,50$



Gráf. 12 Percentagem de túbulos seminíferos com espermatozoides de núcleos condensados mas não alongados, nos diferentes lotes de animais.

Tab. 9 Espermatozoides de núcleos condensados mas não alongados nos túbulos seminíferos. Análise comparativa expressa pelo X^2 , entre os valores do lote controle e os dos lotes testes.

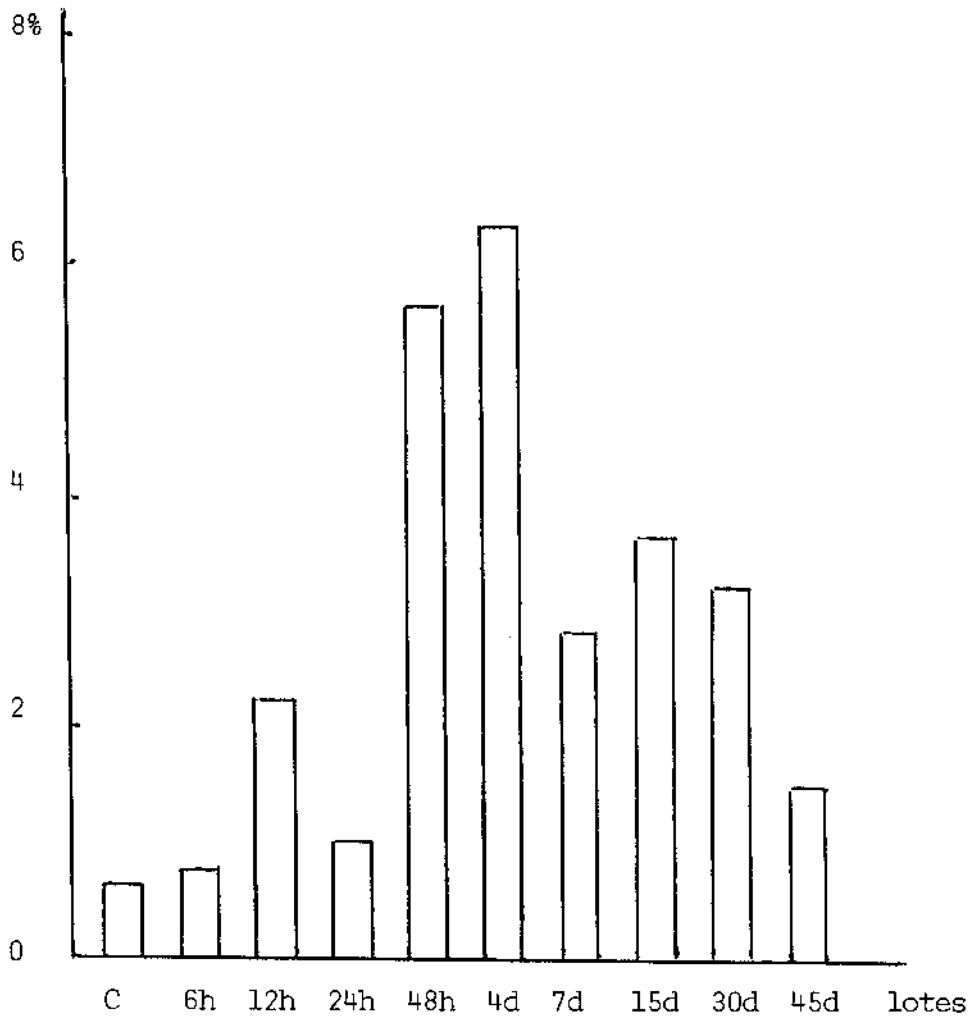
Lote controle versus lotes testes	X^2 (GL=1)	probabilidade
C x 6h	0,771	$0,30 < p < 0,50$
C x 12h	2,674	$0,10 < p < 0,20$
C x 24h	86,948	$p < 0,01$
C x 48h	35,626	$p < 0,01$
C x 4d	12,264	$p < 0,01$
C x 7d	12,369	$p < 0,01$
C x 15d	0,542	$0,30 < p < 0,50$
C x 30d	38,176	$p < 0,01$
C x 45d	0,537	$0,30 < p < 0,50$



Gráf. 13 Percentagem de túbulo seminíferos com espermatozoides multinucleados de núcleos condensados mas não alongados, nos diferentes lotes de animais.

Tab. 10 Espermatozoides multinucleados de núcleos condensados mas não alongados nos túbulos seminíferos. Análise comparativa, expressa pelo X^2 , entre os valores do lote controle e os dos lotes testes.

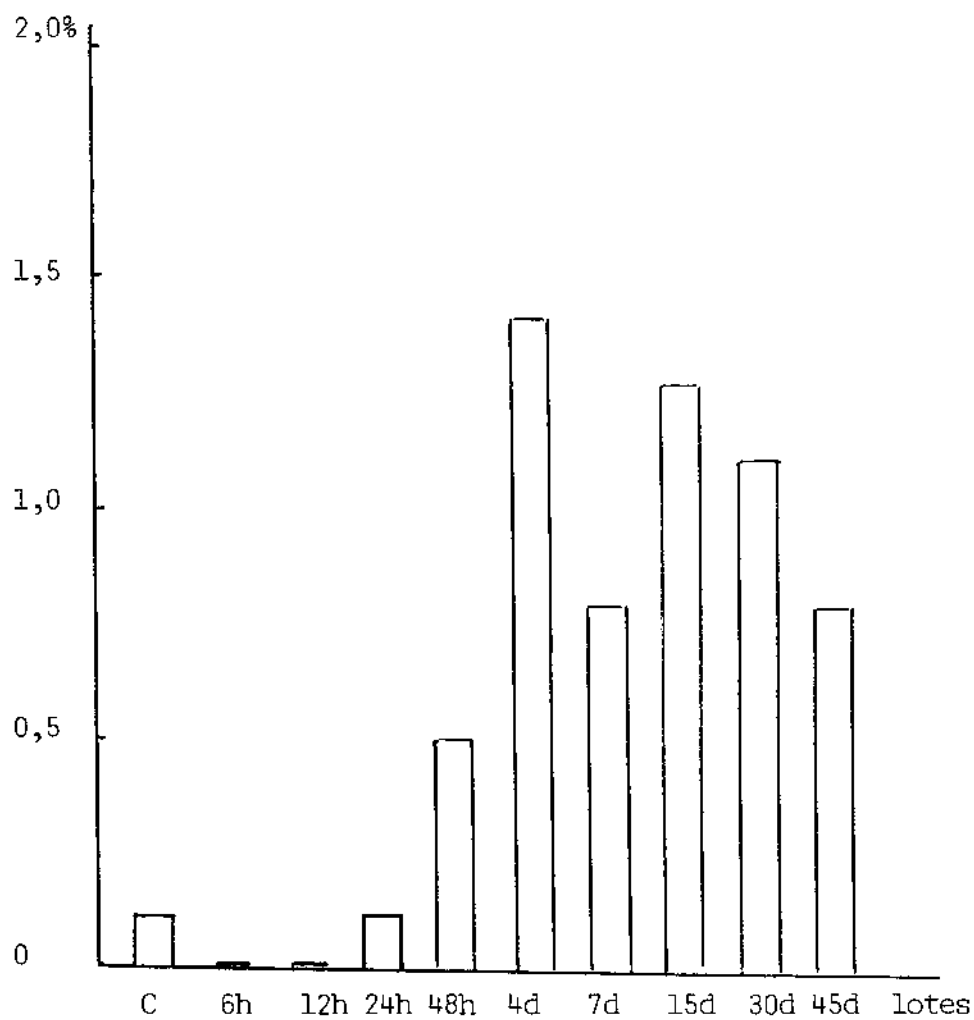
Lote controle versus lotes testes	X^2 (G.L.=1)	probabilidade
C x 6h	0,522	$0,30 < p < 0,50$
C x 12h	1,093	$0,20 < p < 0,30$
C x 24h	2,739	$0,05 < p < 0,10$
C x 48h	20,232	$p < 0,01$
C x 4d	6,347	$0,01 < p < 0,05$
C x 7d	2,613	$0,10 < p < 0,20$
C x 15d	0,311	$0,50 < p < 0,70$
C x 30d	3,765	$0,05 < p < 0,10$
C x 45d	0,971	$0,30 < p < 0,50$



Gráf. 14 Percentagem de túbulos seminíferos com espermatídes multinucleadas de núcleos arredondados, nos diferentes lotes de animais.

Tab. 11 Espermátides multinucleadas de núcleos arredondados nos túbulos seminíferos. Análise comparativa, expressa pelo χ^2 , entre os valores do lote controle e os dos lotes testes.

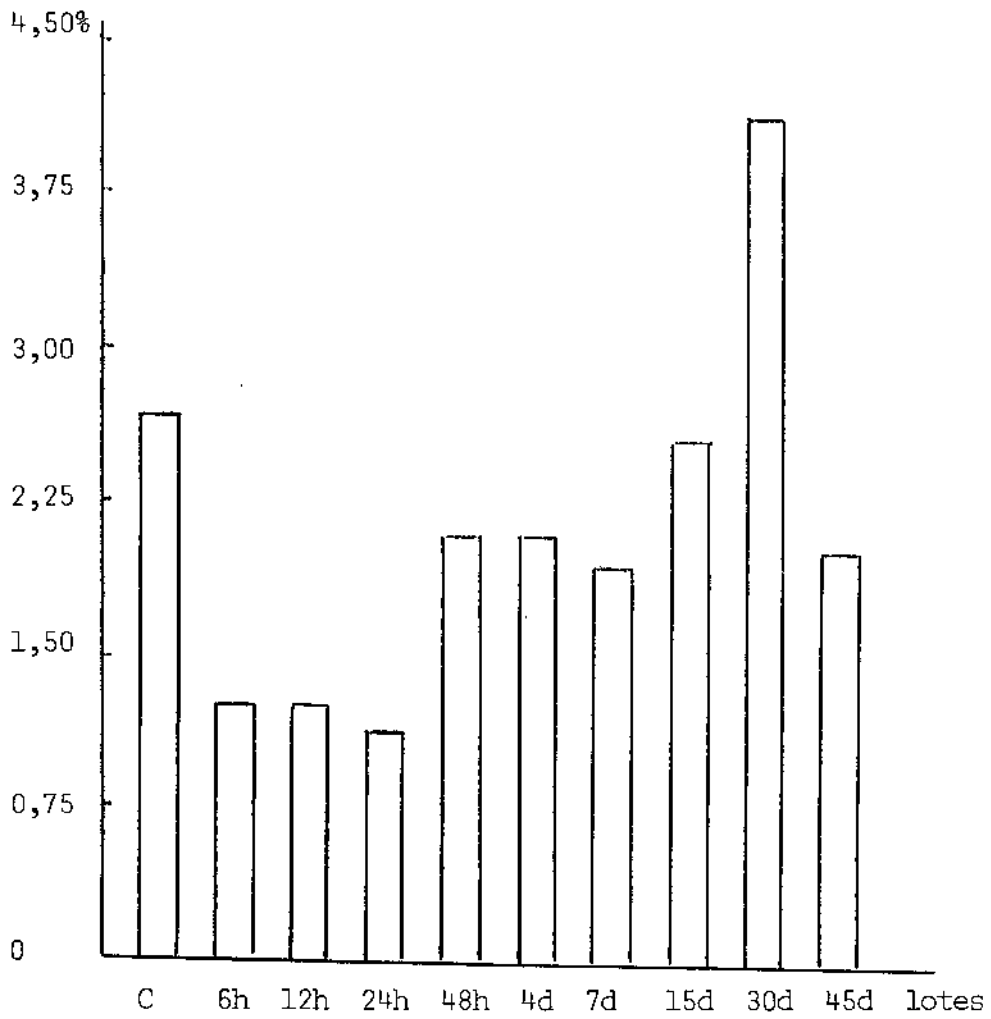
Lote controle versus lotes testes	χ^2 (GL=1)	probabilidade
C x 6h	0,040	$0,70 < p < 0,90$
C x 12h	8,570	$p < 0,01$
C x 24h	1,143	$0,20 < p < 0,30$
C x 48h	43,857	$p < 0,01$
C x 4d	46,580	$p < 0,01$
C x 7d	12,982	$p < 0,01$
C x 15d	21,054	$p < 0,01$
C x 30d	15,493	$p < 0,01$
C x 45d	2,812	$0,05 < p < 0,10$



Gráf. 15 Percentagem de túbulos seminíferos com espermátides binucleadas de núcleos arredondados, nos diferentes lotes de animais.

Tab. 12 Espermatídes binucleadas de núcleos arredondados nos túbulos seminíferos. Análise comparativa, expressa pelo X^2 , entre os valores do lote controle e os dos lotes testes.

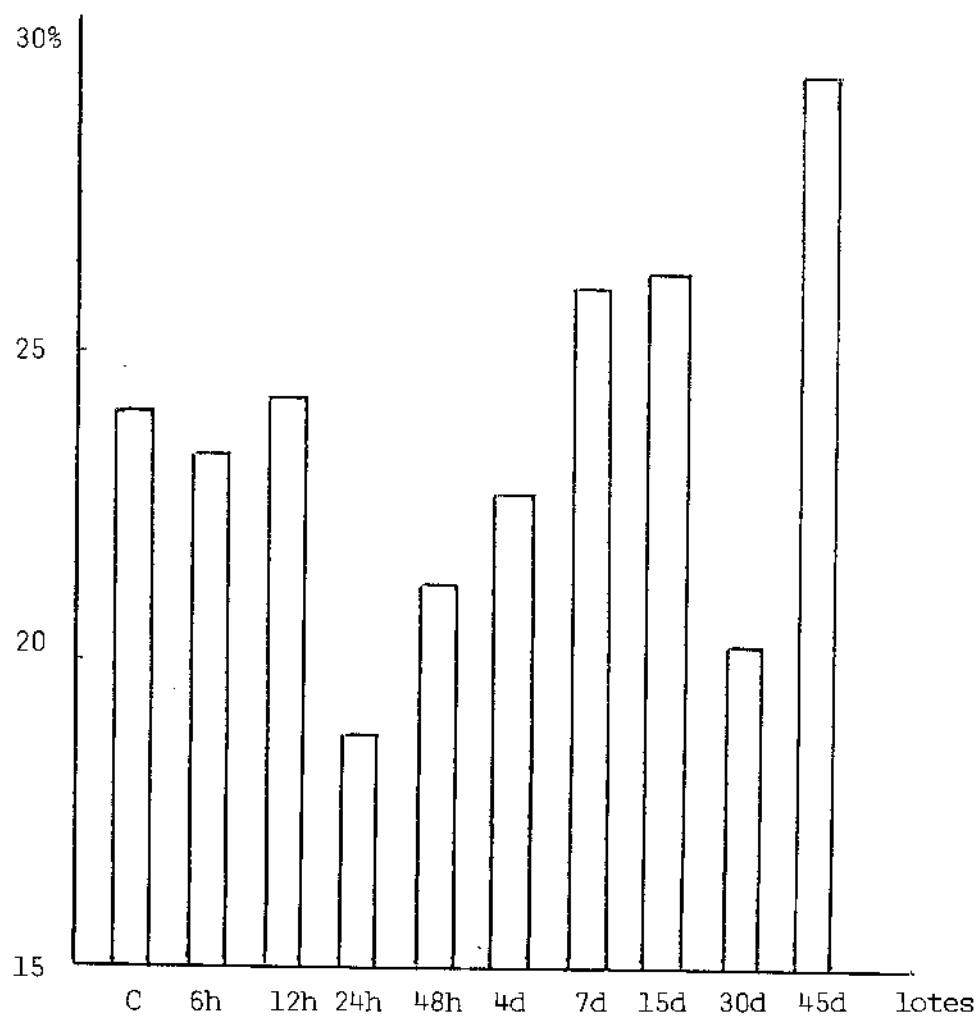
Lote controle versus lotes testes	X^2 (GL=1)	probabilidade
C x 6h	0,504	$0,30 < p < 0,50$
C x 12h	0,566	$0,30 < p < 0,50$
C x 24h	0,206	$0,50 < p < 0,70$
C x 48h	2,793	$0,05 < p < 0,10$
C x 4d	11,853	$p < 0,01$
C x 7d	6,426	$0,01 < p < 0,05$
C x 15d	11,129	$p < 0,01$
C x 30d	9,013	$p < 0,01$
C x 45d	6,105	$0,01 < p < 0,05$



Gráf. 16 Percentagem de túbulos seminíferos com figuras de mitose nas espermatogônias, nos diferentes lotes de animais.

Tab. 13 Túbulos seminíferos com figuras de mitose nas espermatogônias. Análise comparativa, expressa pelo X^2 , entre os valores do lote controle e os dos lotes testes.

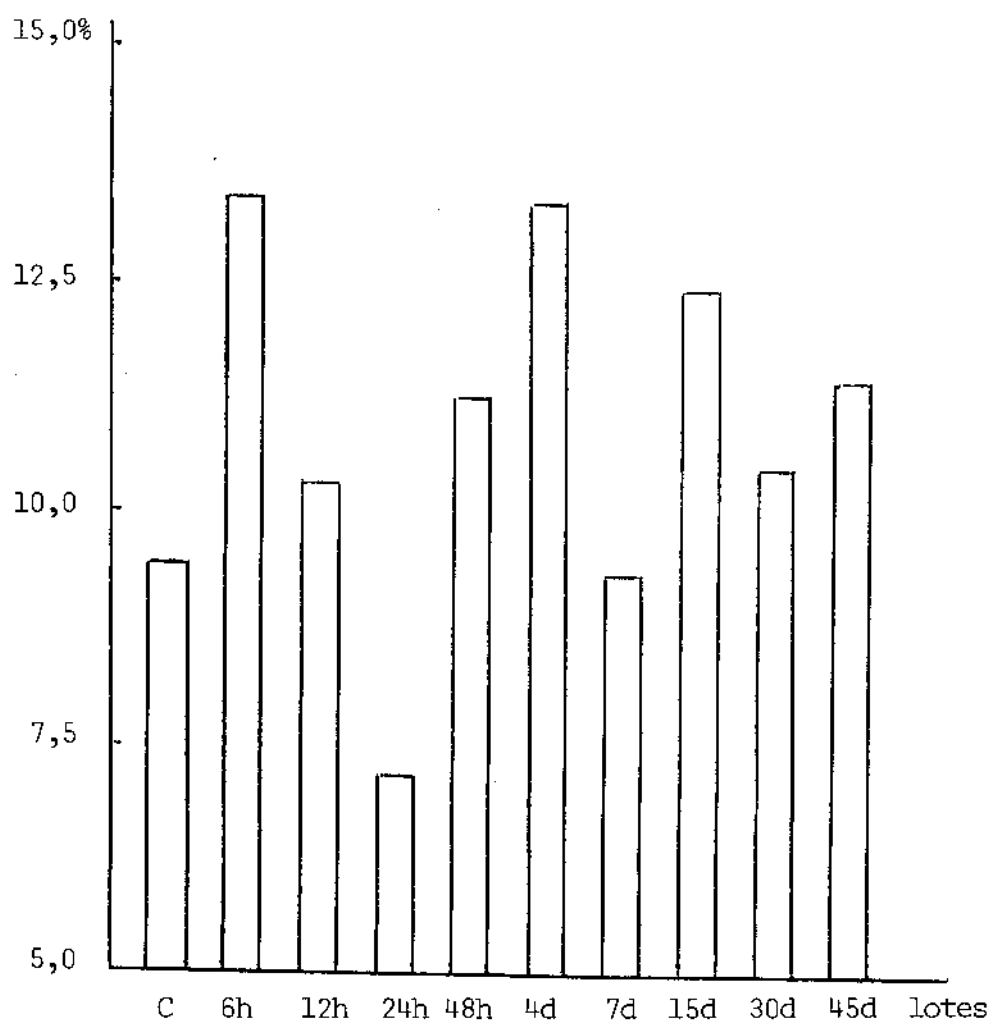
Lote controle versus lotes testes	X^2 (GL=1)	probabilidade
C x 6h	2,930	$0,05 < p < 0,10$
C x 12h	3,093	$0,05 < p < 0,10$
C x 24h	4,466	$0,01 < p < 0,05$
C x 48h	0,218	$0,50 < p < 0,70$
C x 4d	0,209	$0,50 < p < 0,70$
C x 7d	0,769	$0,30 < p < 0,50$
C x 15d	0,006	$0,90 < p < 0,95$
C x 30d	2,765	$0,05 < p < 0,10$
C x 45d	0,510	$0,30 < p < 0,50$



Gráf. 17 Percentagem de túbulos seminíferos em estágio 1 do ciclo da espermatogênese, nos diferentes lotes de animais.

Tab. 14 Estádio 1 do ciclo. Análise comparativa, expressa pelo X^2 , entre os valores do lote controle e os dos lotes testes.

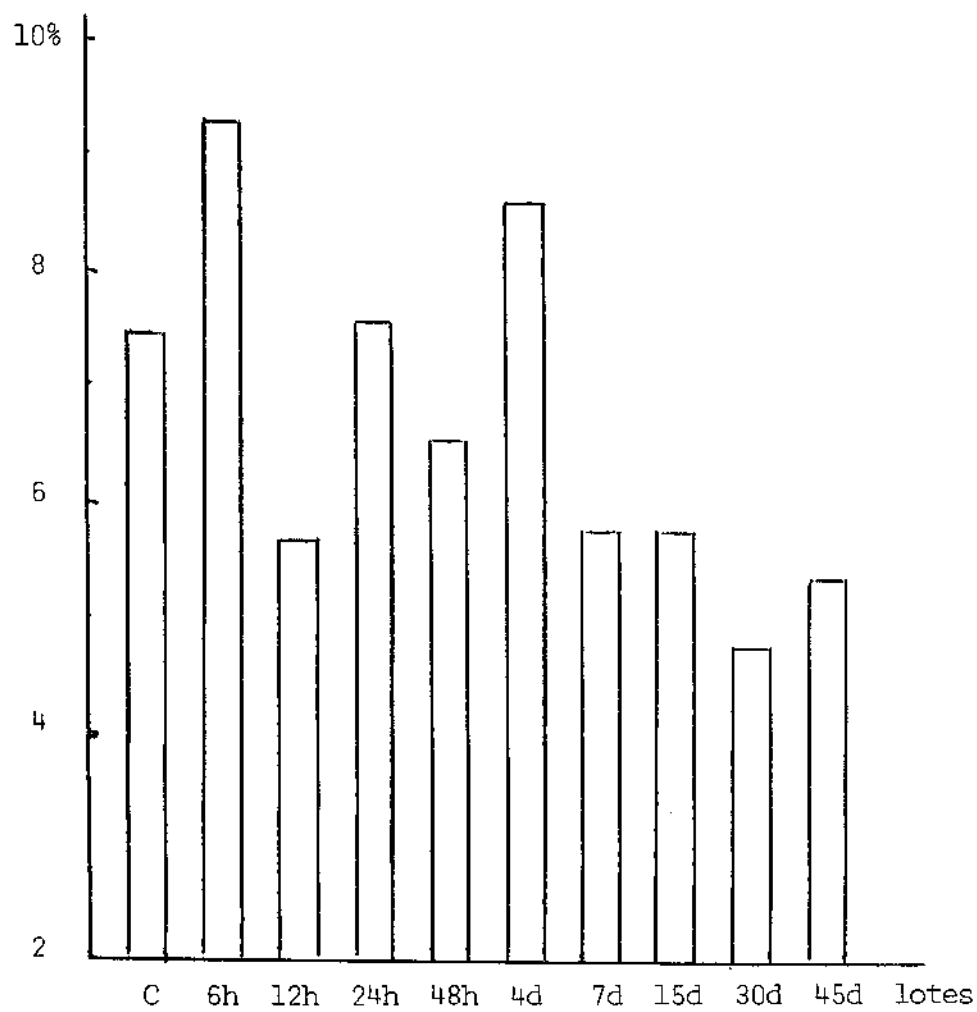
Lote controle versus lotes testes	X^2 (GL=1)	probabilidade
C x 6h	0,284	$0,50 < p < 0,70$
C x 12h	0,072	$0,70 < p < 0,90$
C x 24h	6,578	$0,01 < p < 0,05$
C x 48h	2,382	$0,10 < p < 0,20$
C x 4d	0,555	$0,30 < p < 0,50$
C x 7d	0,596	$0,30 < p < 0,50$
C x 15d	0,916	$0,30 < p < 0,50$
C x 30d	2,980	$0,05 < p < 0,10$
C x 45d	5,217	$0,01 < p < 0,05$



Gráf. 18 Percentagem de túbulos seminíferos em estágio 2 do ciclo da espermatogênese, nos diferentes lotes de animais.

Tab. 15 Estádio 2 do ciclo. Análise comparativa, expressa pelo χ^2 , entre os valores do lote controle e os dos lotes testes.

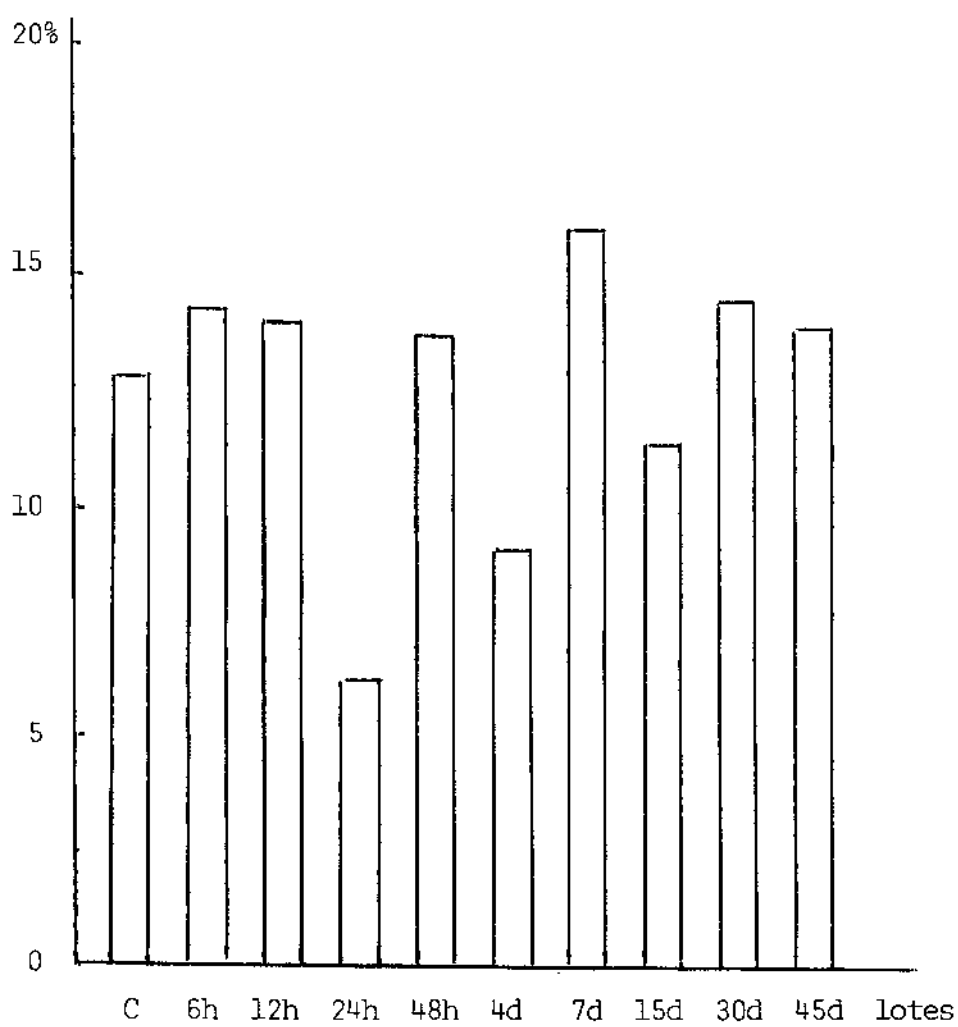
Lote controle versus lotes testes	χ^2 (GL=1)	probabilidade
C x 6h	7,317	$p < 0,01$
C x 12h	0,282	$0,50 < p < 0,70$
C x 24h	2,884	$0,05 < p < 0,10$
C x 48h	1,313	$0,20 < p < 0,30$
C x 4d	3,741	$0,05 < p < 0,10$
C x 7d	0,147	$0,70 < p < 0,90$
C x 15d	2,553	$0,10 < p < 0,20$
C x 30d	0,334	$0,50 < p < 0,70$
C x 45d	1,770	$0,10 < p < 0,20$



Gráf. 19 Percentagem de túbulos seminíferos em estágio 3 do ciclo da espermatogênese, nos diferentes lotes de animais.

Tab. 16 Estádio 3 do ciclo. Análise comparativa, expressa pelo X^2 , entre os valores do lote controle e os dos lotes testes.

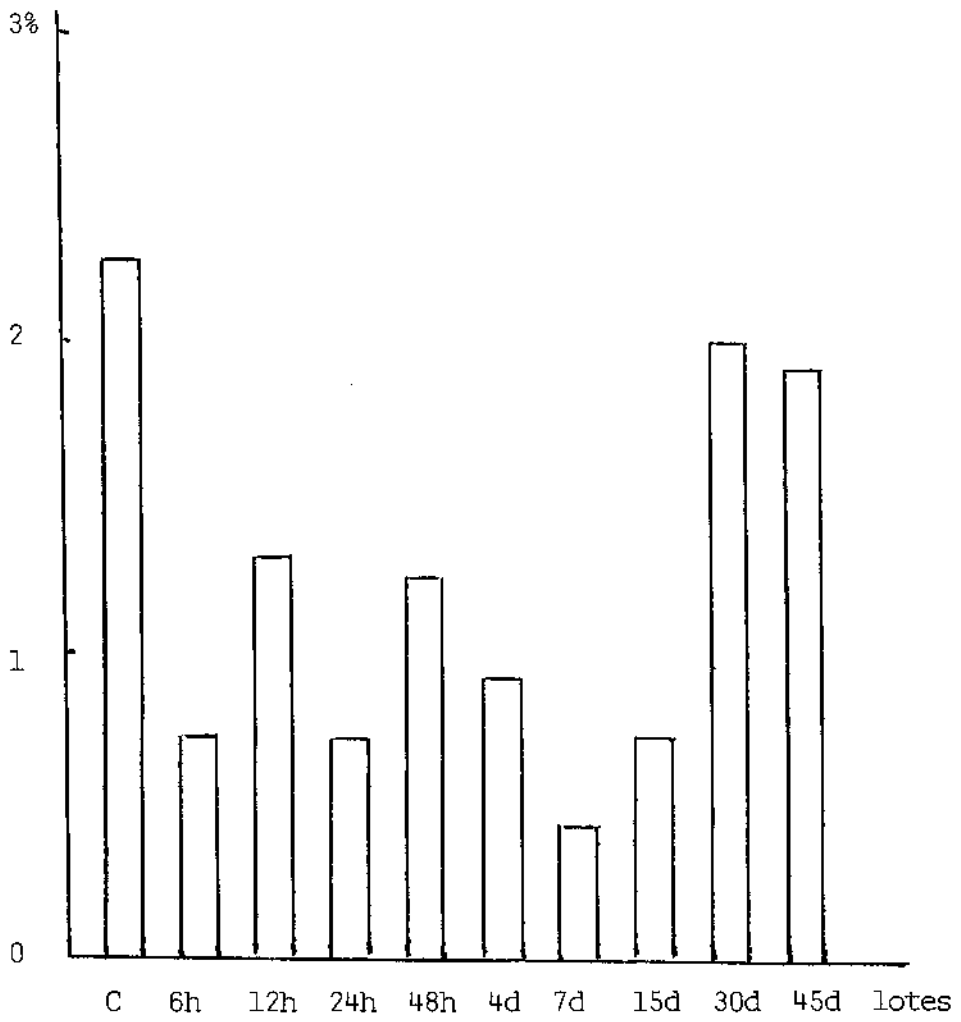
Lote controle versus lotes testes	X^2 (GL=1)	probabilidade
C x 6h	1,514	$0,20 < p < 0,30$
C x 12h	1,751	$0,10 < p < 0,20$
C x 24h	0,002	$p > 0,95$
C x 48h	0,486	$0,30 < p < 0,50$
C x 4d	0,560	$0,30 < p < 0,50$
C x 7d	1,246	$0,20 < p < 0,30$
C x 15d	1,246	$0,20 < p < 0,30$
C x 30d	3,370	$0,05 < p < 0,10$
C x 45d	2,158	$0,10 < p < 0,20$



Gráf. 20 Percentagem de túbulos seminíferos em estágio 4 do ciclo da espermatogênese, nos diferentes lotes de animais.

Tab. 17 Estádio 4 do ciclo. Análise comparativa, expressa pelo X^2 , entre os valores do lote controle e os dos lotes testes.

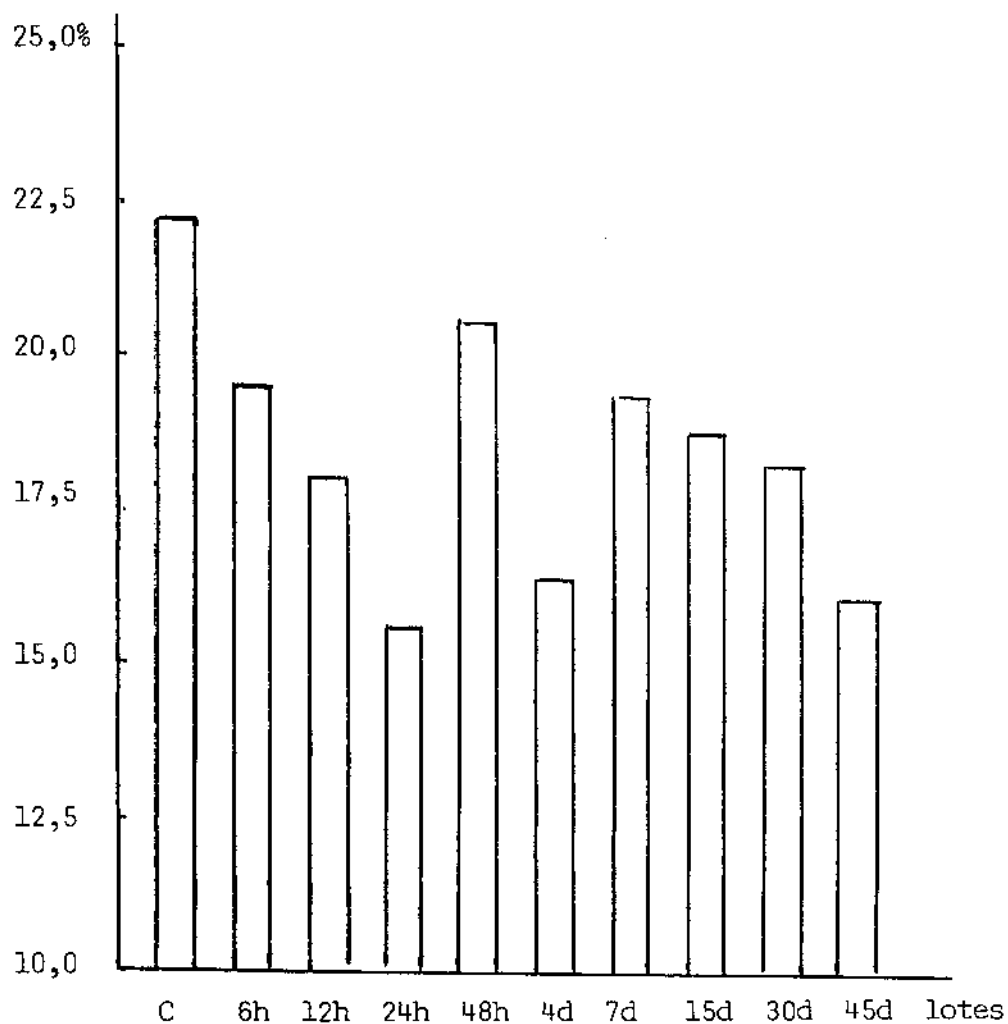
Lote controle versus lotes testes	X^2 (GL=1)	probabilidade
C x 6h	0,661	$0,30 < p < 0,50$
C x 12h	0,614	$0,30 < p < 0,50$
C x 24h	14,416	$p < 0,01$
C x 48h	0,308	$0,50 < p < 0,70$
C x 4d	2,089	$0,10 < p < 0,20$
C x 7d	3,016	$0,05 < p < 0,10$
C x 15d	0,251	$0,50 < p < 0,70$
C x 30d	0,985	$0,30 < p < 0,50$
C x 45d	0,404	$0,50 < p < 0,70$



Gráf. 21 Percentagem de túbulos seminíferos em estágio 5 do ciclo da espermatogênese, nos diferentes lotes de animais.

Tab. 18 Estádio 5 do ciclo. Análise comparativa, expressa pelo X^2 , entre os valores do lote controle e os dos lotes testes.

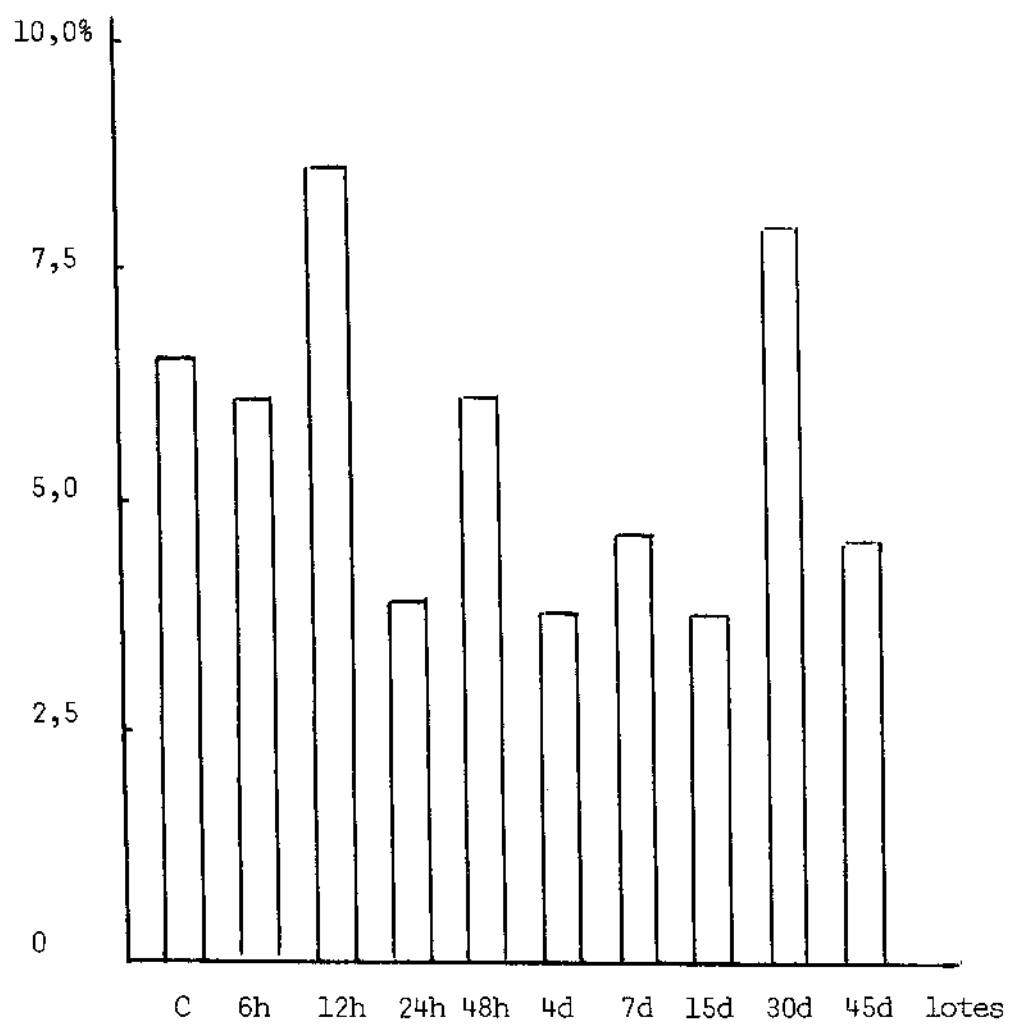
Lote controle versus lotes testes	X^2 (GL=1)	probabilidade
C x 6h	4,725	$0,01 < p < 0,05$
C x 12h	1,758	$0,10 < p < 0,20$
C x 24h	5,248	$0,01 < p < 0,05$
C x 48h	2,188	$0,10 < p < 0,20$
C x 4d	2,072	$0,10 < p < 0,20$
C x 7d	5,730	$0,01 < p < 0,05$
C x 15d	4,179	$0,01 < p < 0,05$
C x 30d	0,016	$p > 0,90$
C x 45d	0,089	$0,70 < p < 0,90$



Gráf. 22 Percentagem de túbulos seminíferos em estágio 6 do ciclo da espermatogênese, nos diferentes lotes de animais.

Tab. 19 Estádio 6 do ciclo. Análise comparativa, expressa pelo X^2 , entre os valores do lote controle e os dos lotes testes.

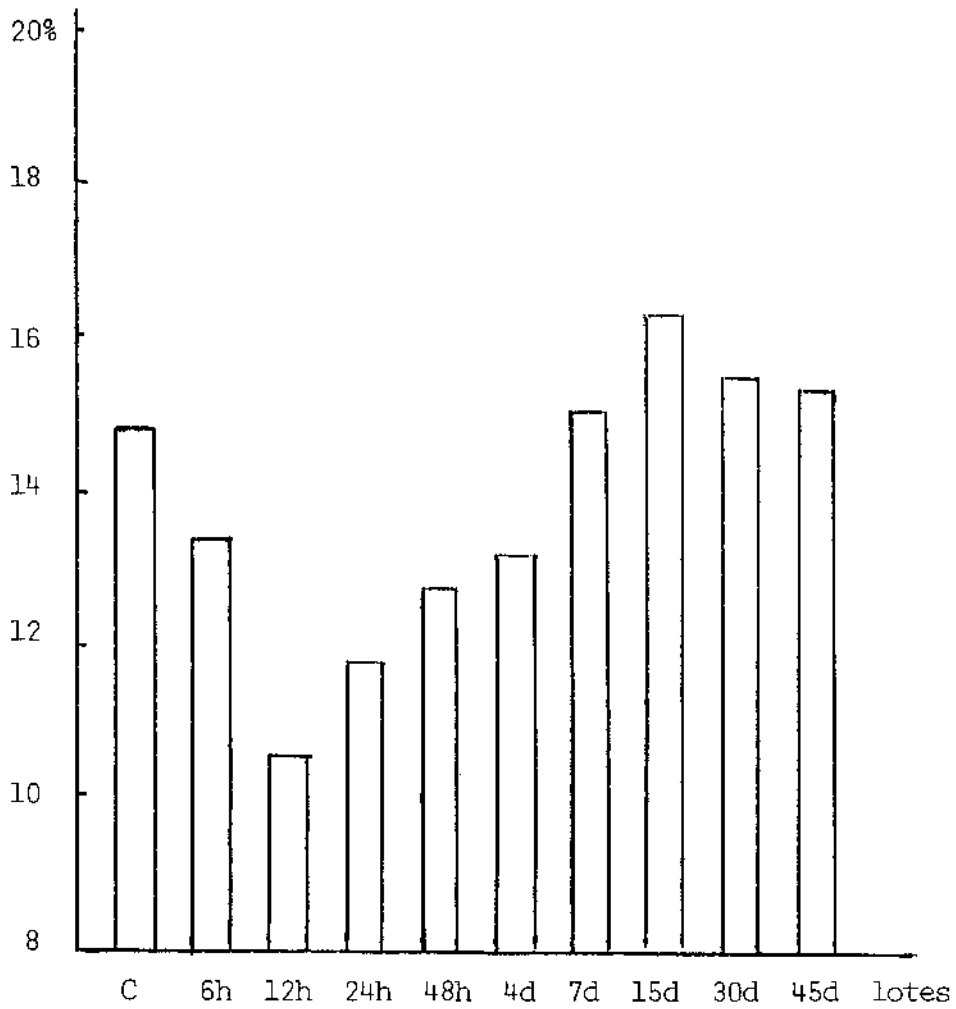
Lote controle versus lotes testes	X^2 (GL=1)	probabilidade
C x 6h	1,812	$0,10 < p < 0,20$
C x 12h	5,384	$0,01 < p < 0,05$
C x 24h	10,467	$p < 0,01$
C x 48h	0,561	$0,30 < p < 0,50$
C x 4d	5,406	$0,01 < p < 0,05$
C x 7d	2,169	$0,10 < p < 0,20$
C x 15d	2,471	$0,10 < p < 0,20$
C x 30d	3,823	$0,05 < p < 0,10$
C x 45d	7,998	$p < 0,01$



Gráf. 23 Percentagem de túbulos seminíferos em estágio 7 do ciclo da espermatogênese, nos diferentes lotes de animais.

Tab. 20 Estádio 7 do ciclo. Análise comparativa, expressa pelo X^2 , entre os valores do lote controle e os dos lotes testes.

Lote controle versus lotes testes	X^2 (GL=1)	probabilidade
C x 6h	0,358	$0,50 < p < 0,70$
C x 12h	0,949	$0,30 < p < 0,50$
C x 24h	6,130	$0,01 < p < 0,05$
C x 48h	0,475	$0,30 < p < 0,50$
C x 4d	4,296	$0,01 < p < 0,05$
C x 7d	2,555	$0,10 < p < 0,20$
C x 15d	6,173	$0,01 < p < 0,05$
C x 30d	0,235	$0,50 < p < 0,70$
C x 45d	3,153	$0,05 < p < 0,10$



Gráf. 24 Percentagem de túbulos seminíferos em estágio 8 do ciclo da espermatogênese, nos diferentes lotes de animais.

Tab. 21 Estádio 8 do ciclo. Análise comparativa, expressa pelo X^2 , entre os valores do lote controle e os dos lotes testes.

Lote controle versus lotes testes	X^2 (GL=1)	probabilidade
C x 6h	0,370	$0,50 < p < 0,70$
C x 12h	5,678	$0,01 < p < 0,05$
C x 24h	2,310	$0,10 < p < 0,20$
C x 48h	1,146	$0,20 < p < 0,30$
C x 4d	0,487	$0,30 < p < 0,50$
C x 7d	0,050	$0,70 < p < 0,90$
C x 15d	0,610	$0,30 < p < 0,50$
C x 30d	0,405	$0,50 < p < 0,70$
C x 45d	0,325	$0,50 < p < 0,70$