

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCIECIA ANIMAL

GIAN CARLO D'ANGELO DE QUEIROZ

EFEITOS PREVENTIVOS E/OU RESTAURADORES DA  
PENTOXIFILINA SOBRE A ESPERMATOGÊNESE DE RATOS  
WISTAR ADULTOS SUBMETIDOS A CHOQUE TÉRMICO  
TESTICULAR.

RECIFE-PE  
Julho/2010

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCIEŒNCIA ANIMAL

GIAN CARLO D'ANGELO DE QUEIROZ

PENTOXIFILINA:  
EFEITOS PREVENTIVOS E/OU RESTAURADORES SOBRE A  
ESPERMATOGÊNESE DE RATOS WISTAR SUBMETIDOS A CHOQUE  
TÉRMICO TESTICULAR.

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Biociência Animal da  
Universidade Federal Rural de Pernambuco,  
como pré-requisito parcial para a obtenção  
do grau de Mestre em Biociência Animal.

Orientador:  
Prof. Dr. Valdemiro Amaro de Silva Júnior  
Co-Orientador:  
Prof. Dr. Joaquin Evêncio Neto

RECIFE-PE  
Julho/2010

GIAN CARLO D'ANGELO DE QUEIROZ

PENTOXIFILINA:  
EFEITOS PREVENTIVOS E/OU RESTAURADORES SOBRE A  
ESPERMATOGÊNESE DE RATOS WISTAR SUBMETIDOS A CHOQUE  
TÉRMICO TESTICULAR

Dissertação de Mestrado

Aprovada em     /     /2010

BANCA EXAMINADORA

---

Prof Dr. Ademar Afonso de Amorim Júnior (Anatomia-UFPE)

---

Prof Dr. Frederico Celso Lyra Maia (Patologia-UFRPE)

---

Prof. Dr. Fábio de Souza Mendonça (Histologia-UFRPE)

---

Prof. Dr. Valdemiro Amaro da Silva Junior (Orientador)

---

Prof. Dr. Joaquin Evêncio Neto (Suplente; Histologia/UFRPE)

Dedico:

Aos meus pais que sempre estiveram ao meu lado e ainda hoje, acompanham em minha jornada que junto com minha irmã, filha e especialmente, minha esposa, amiga e companheira, juntos contribuíram para mais uma vitória, em minha vida...

#### Agradecimentos:

Aos que contribuíram de maneira direta ou indiretamente na execução desta pesquisa: Vinicius, Othavio, Sandra e Bruno da UFRPE obrigado! Ao amigo e orientador, Prof.Dr. Valdemiro Amaro da Silva Junior, por sua paciência e dedicação com minha pessoa, obrigado pela excepcional amizade, consideração e auxílio nos momentos difíceis, muitíssimo obrigado por tudo!

“A dor de uma jornada é passageira e rende orgulho quando concluímos, porém a desistência da mesma é uma dor eterna...”

Lance Armstrong.

## Lista de tabelas

<b>Tabela 1.</b> Peso corporal em gramas de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média ± desvio padrão).....	48
<b>Tabela 2.</b> Peso testicular (g), de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média ± desvio padrão).....	49
<b>Tabela 3.</b> Peso epididimário (g) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média ± desvio padrão).....	51
<b>Tabela 4.</b> Peso da Próstata (g) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média ± desvio padrão).....	52
<b>Tabela 5.</b> Peso da Glândula Seminal (g) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós choque térmico (Média ± desvio padrão).....	54
<b>Tabela 6.</b> Volume total das células de Leydig (µL) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média ± desvio padrão).....	55
<b>Tabela 7.</b> Volume total de epitélio seminífero (µL) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média ± desvio padrão).....	56
<b>Tabela 8.</b> Lúmen tubular (µL) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós choque térmico (Média ± desvio padrão).....	57
<b>Tabela 9.</b> Túnica própria do túbulo seminífero (µl) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média ± desvio padrão).....	58
<b>Tabela 10.</b> Túbulos seminíferos (µl) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e	

avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média ± desvio padrão).....	59
<b>Tabela 11.</b> Vasos sanguíneos testiculares ( $\mu$ l) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média ± desvio padrão).....	60
<b>Tabela 12.</b> Espaço linfático ( $\mu$ l) do parênquima testicular de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média ± desvio padrão).....	61
<b>Tabela 13.</b> Volume líquido do testículo ( $\mu$ L) do parênquima testicular de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico(Média±desvio padrão).....	62
<b>Tabela 14.</b> Número de espermatogônia por secção transversal de túbulo seminífero no estágio VII do ciclo do epitélio seminífero de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média ± desvio padrão).....	63
<b>Tabela 15.</b> Número de célula de Sertoli por secção transversal de túbulo seminífero no estágio VII do ciclo do epitélio seminífero de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média ± desvio padrão).....	64
<b>Tabela 16.</b> Número de espermátides arredondadas por secção transversal de túbulo seminífero no estágio VII do ciclo do epitélio seminífero de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média ± desvio padrão).....	65
<b>Tabela 17.</b> Número de espermatócitos I em paquíteno por secção transversal de túbulo seminífero no estágio VII de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média ± desvio padrão).....	66
<b>Tabela 18.</b> Número de espermatócitos I em pré-leptóteno de túbulo seminífero no estágio VII de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média ± desvio padrão).....	67
<b>Tabela 19.</b> Índice de Célula de Sertoli (ICS) por secção transversal de túbulo seminífero de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não	



com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média ± desvio padrão).....	69
<b>Tabela 20.</b> Número de células em apoptose por secção transversal de túbulo seminífero de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média ± desvio padrão).....	71
<b>Tabela 21.</b> Diâmetro tubular (µm) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média ± desvio padrão).....	73
<b>Tabela 22.</b> Altura de epitélio (µm) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média ± desvio padrão).....	74
<b>Tabela 23.</b> População de Célula de Sertoli por testículo de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média ± desvio padrão).....	75
<b>Tabela 24.</b> Produção espermática diária por grama de testículo ( $\times 10^6$ ) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média ± desvio padrão).....	76
<b>Tabela 25.</b> Produção espermática diária por testículo ( $\times 10^6$ ) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média ± desvio padrão).....	77
<b>Tabela 26.</b> Comprimento Total de Túbulo Seminífero (m) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média ± desvio padrão).....	79
<b>Tabela 27.</b> Dosagem de testosterona plasmática de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média ± desvio padrão).....	81

## Lista de figuras

- Figura 1.** Peso corporal em gramas de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média  $\pm$  desvio padrão). Os animais do grupo 50mg/kg e 100mg/kg foram pré-tratados durante 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico..... 48
- Figura 2.** Peso testicular (g), de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média  $\pm$  desvio padrão). Os animais do grupo 50mg/kg e 100mg/kg foram pré-tratados por 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico..... 50
- Figura 3.** Peso de epididimário (g) de ratos Wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média  $\pm$  desvio padrão). Os animais do grupo 50mg/kg e 100mg/kg foram pré-tratados por 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico..... 51
- Figura 4.** Peso da Próstata (g) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média  $\pm$  desvio padrão). Os animais do grupo 50mg/kg e 100mg/kg foram pré-tratados por 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico..... 52
- Figura 5.** Peso da Vesícula (g) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média  $\pm$  desvio padrão). Os animais do grupo 50mg/kg e 100mg/kg foram pré-tratados por 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico..... 54
- Figura 6.** Volume total das células de Leydig ( $\mu$ L) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico..... 55
- Figura 7.** Volume total de Epitélio seminífero ( $\mu$ L) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico..... 56
- Figura 8.** Lúmen tubular ( $\mu$ L) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico..... 57
- Figura 9.** Túnica própria do túbulo seminífero ( $\mu$ l) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico..... 58
- Figura 10.** Túbulos seminíferos ( $\mu$ l) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico..... 60

<b>Figura 12.</b> Espaço linfático ( $\mu\text{l}$ ) do parênquima testicular de ratos Wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico.....	61
<b>Figura 13.</b> Volume líquido do testículo ( $\mu\text{L}$ ) do parênquima testicular de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico.....	63
<b>Figura 14.</b> Número de espermatogônia por secção transversal de túbulo seminífero no estágio VII do ciclo do epitélio seminífero de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico.....	64
<b>Figura 15.</b> Número de célula de Sertoli por secção transversal de túbulo seminífero no estágio VII do ciclo do epitélio seminífero de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico.....	65
<b>Figura 16.</b> Número de espermátides arredondadas por secção transversal de túbulo seminífero no estágio VII do ciclo do epitélio seminífero de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico.....	66
<b>Figura 17</b> Número de espermatócitos I em paquíteno por secção transversal de túbulo seminífero no estágio VII de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico.....	67
<b>Figura 18.</b> Número de espermatócitos I em pré-leptóteno de túbulo seminífero no estágio VII de ratos Wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico.....	68
<b>Figura 19.</b> Índice de Célula de Sertoli (ICS) por secção transversal de túbulo seminífero de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico.....	69
<b>Figura 20 A.</b> Número de células em apoptose por secção transversal de túbulo seminífero de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico.....	71
<b>Figura 20 B.</b> Evolução do número de células apoptóticas por secção transversal de túbulo seminífero de ratos Wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico.....	71

<b>Figura 21.</b> Diâmetro tubular ( $\mu\text{m}$ ) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico.....	73
<b>Figura 22.</b> Altura de epitélio ( $\mu\text{m}$ ) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico.....	74
<b>Figura 23.</b> População de Célula de Sertoli ( $\times 10^7$ ) por testículo de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico.....	76
<b>Figura 24.</b> Produção espermiática diária por grama de testículo ( $\times 10^6$ ) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico.....	77
<b>Figura 25.</b> Produção espermiática diária por testículo ( $\times 10^6$ ) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico.....	78
<b>Figura 26.</b> Comprimento Total de Túbulo Seminífero (m) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média $\pm$ desvio padrão).....	79
<b>Figura 27.</b> Dosagem de testosterona plasmática de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico.....	81
<b>Figura 28.</b> Fotomicrografias de testículos de ratos wistar adultos submetidos à ch.oque térmico testicular aos 120 dias de idade pré e pós-tratados com pentoxifilina e grupo controle, após 3 dias do choque térmico.....	83
<b>Figura 28A.</b> Túbulo seminífero do grupo controle submetido a choque térmico com espermatócitos I em paquíteno com condensação de cromatina (picnose; seta vermelha), espermatídes em alongamento degeneradas com edema de citoplasma em alongamento (seta), células em processo de descamação (cabeça de seta). 100X.....	83
<b>Figura 28B.</b> Detalhe túbulo seminífero do grupo controle submetido a choque térmico. Notar ausência de células germinativas próximas o lume tubular, espermatócitos I em paquíteno em paquíteno com condensação de cromatina (picnose; seta), vacuolização no núcleo das células de Sertoli e espessamento da membrana basal. 200X.....	83
<b>Figura 28C.</b> Túbulo seminífero do grupo controle submetido a choque térmico com células sinciciais de espermatídes arredondadas (seta) e vacuolização de células de Sertoli (estrela). Observar redução na população de células germinativas e células germinativas em processo de necrose (seta vermelha). 100X.....	83

- Figura 28D.** Detalhe túbulo seminífero do grupo controle submetido a choque térmico testicular. Observar a redução do epitélio germinativo, células gigantes necróticas (setas), espermátides em alongamento em degeneração (seta vermelha) e edema de cauda de espermátides em alongamento. 200X..... 83
- Figura 28E.** Túbulo seminífero do grupo pré e pós-tratado com 50mg/Kg submetido a choque térmico. Notar túbulo seminífero com células germinativas em necrose (seta) e túbulo adjacente com o epitélio germinativo sem alterações aparentes (estrela). 100X..... 83
- Figura 28F.** Túbulo seminífero do grupo pré e pós-tratado com 50mg/Kg submetido a choque térmico. Notar túbulo seminífero com células sinciciais gigantes de espermátides arredondadas (seta), degeneração de espermátides em alongamento (estrela) e vacuolização de núcleo de células de Sertoli. 100X..... 83
- Figura 28G.** Detalhe de túbulo seminífero do grupo pré e pós-tratado com 50mg/Kg submetido a choque térmico. Notar célula germinativa em necrose (seta) e vacuolização de núcleo de células de Sertoli (seta vermelha). Observar túbulo adjacente com células germinativas normais. 200X..... 83
- Figura 28H.** Detalhe de túbulo seminífero do grupo pré e pós-tratado com 50mg/Kg submetido a choque térmico. Observar área tracejada em vermelho com células germinativas em diversos estágios de necrose e célula de Sertoli com vacuolização nuclear (seta). Notar em túbulo adjacente mitose de espermatogônia. 200X..... 83
- Figura 29.** Fotomicrografias de testículos de Ratos wistar adultos submetidos à choque térmico testicular aos 120 dias de idade tratados com pentoxifilina e grupo controle, após 3 dias do choque térmico.<sup>72</sup>
- Figura 29A.** Túbulo seminífero do grupo controle submetido a choque térmico com espermatócitos I em paquíteno com condensação de cromatina (picnose; seta vermelha), espermátides em alongamento degeneradas com edema de citoplasma em alongamento (seta), células em processo de descamação (cabeça de seta). 100X..... 85
- Figura 29B.** Detalhe túbulo seminífero do grupo controle submetido a choque térmico. Notar ausência de células germinativas próximas o lume tubular, espermatócitos I em paquíteno em paquíteno com condensação de cromatina (picnose; seta), vacuolização no núcleo das células de Sertoli e espessamento da membrana basal. 200X..... 85
- Figura 29C.** Túbulo seminífero do grupo controle submetido a choque térmico com células sinciciais de espermátides arredondadas (seta) e vacuolização de células de Sertoli (estrela). Observar redução na população de células germinativas e células germinativas em processo de necrose (seta vermelha). 100X..... 85
- Figura 29D -** Detalhe túbulo seminífero do grupo controle submetido a choque térmico testicular. Observar a redução do epitélio germinativo, células gigantes necróticas (setas), espermátides em alongamento em degeneração (seta vermelha) e edema de cauda de espermátides em alongamento. 200X..... 85

<b>Figura 29E</b> – Parênquima testicular de ratos submetidos a choque térmico do grupo pré e pós-tratado com pentoxifilina (100mg/kg). Observar túbulos seminíferos no estágio VII do ciclo do epitélio seminífero preservado. Aumento 100X.....	85
<b>Figura 29F</b> – Parênquima testicular de ratos a choque térmico do grupo pré e pós-tratado com pentoxifilina (100mg/kg). Notar epitélio germinativo com associação celular incompleta caracterizada pela ausência de espermatócitos I em paquíteno (estrela) e áreas de túbulos seminíferos com associações celulares preservadas. Intertúbulo preservado com células de Leydig (seta) e espaço linfático (estrela azul). Aumento 200X.....	85
<b>Figura 30.</b> Fotomicrografias de testículos de Ratos wistar adultos submetidos à choque térmico testicular aos 120 dias de idade tratados com pentoxifilina e grupo controle, após 7 dias do choque térmico.....	88
<b>Figura 30A</b> – Parênquima testicular de ratos do grupo controle submetido a choque térmico. Observar condensação de cromatina típica de picnose necrótica de espermatócitos I (seta), epitélio germinativo com redução celular e espermátides em alongamento degeneradas (seta vermelha). Aumento 100X.....	88
<b>Figura 30B</b> – Parênquima testicular de ratos do grupo controle submetido a choque térmico. Notar que algumas espermátides em alongamento foram observadas ligadas aos prolongamentos das células de Sertoli, porém apresentavam avançado grau de degeneração (seta). Espermatócitos I em apoptose (seta vermelha). Aumento 100X.....	88
<b>Figura 30C</b> – Parênquima testicular de ratos submetidos a choque térmico, pré e pós-tratado com pentoxifilina (50mg/kg). Observar formação de sincício de espermátides arredondadas (seta) e espermátides em alongamento em processo de necrose (seta vermelha). Aumento de 200X.....	88
<b>Figura 30D</b> – Parênquima testicular de ratos submetidos a choque térmico, pré e pós-tratado com do grupo pentoxifilina (50mg/kg). Notar alterações do epitélio germinativo compatíveis com o processo de degeneração testicular, como descamação celular (estrela). Em contraponto há túbulos seminíferos adjacentes com epitélio seminífero preservado (estrela vermelha). Aumento de 200X.....	88
<b>Figura 30E</b> – Parênquima testicular de ratos submetidos a choque térmico, pré e pós-tratado com pentoxifilina (50mg/kg). Observar a presença do estágio VII do ciclo do epitélio germinativo. Aumento 100X.....	88
<b>Figura 30F</b> – Parênquima testicular de ratos do grupo submetidos a choque térmico, pré e pós-tratado com pentoxifilina (50mg/kg). Notar túbulo seminífero com células de descamação no lume (linha tracejada) e células necróticas (seta vermelha) do compartimento basal do epitélio germinativo. Aumento 200X.....	75
<b>Figura 31.</b> Fotomicrografias de testículos de ratos wistar adultos submetidos à choque térmico testicular aos 120 dias de idade tratados com pentoxifilina e grupo controle, após 7 dias do choque térmico.....	90

<b>Figura 31A</b> – Parênquima testicular de ratos do grupo controle submetido a choque térmico. Observar apoptose de espermatócitos I (seta), epitélio germinativo com redução celular e espermátides em alongamento degeneradas (seta vermelha). Aumento 100X.....	90
<b>Figura 31B</b> – Parênquima testicular de ratos do grupo controle submetido a choque térmico. Notar que algumas espermátides em alongamento foram observadas ligadas aos prolongamentos das células de Sertoli, porém apresentavam avançado grau de degeneração (seta). Espermatócitos I em apoptose (seta vermelha). Aumento 100X.....	90
<b>Figura 31C</b> – Parênquima testicular de ratos submetidos a choque térmico, pré e pós-tratado com pentoxifilina (100mg/kg). Túbulos seminíferos (TS) com associações celulares normais. Túbulo seminífero com epitélio germinativo baixo (estrela). Aumento de 100X.....	90
<b>Figura 31D</b> – Parênquima testicular de ratos submetidos a choque térmico, pré e pós-tratado com pentoxifilina (100mg/kg). Detalhe de túbulos seminíferos com associações celulares normais. Notar células descamadas no lume tubular (seta). Intertúbulo (IT). Aumento de 200X.....	90
<b>Figura 31E</b> – Parênquima testicular de ratos submetidos a choque térmico, pré e pós-tratado com pentoxifilina (100mg/kg). Notar túbulos seminíferos com associações celulares do epitélio germinativo incompleta e células apoptóticas no compartimento basal (seta). Intertúbulo (IT). Aumento 200X.....	90
<b>Figura 31F</b> – Detalhe de túbulo seminífero de ratos submetidos a choque térmico, pré e pós-tratado com pentoxifilina (100mg/kg). Notar associação celular incompleta do epitélio germinativo e espermatócitos I em paquíteno em processo apoptótico. Aumento 400X.....	90
<b>Figura 32.</b> Fotomicrografias de testículos de ratos wistar adultos submetidos à choque térmico testicular aos 120 dias de idade tratados com pentoxifilina e grupo controle, após 15 dias do choque térmico.....	92
<b>Figura 32A</b> – Parênquima testicular de ratos do grupo controle submetido à choque térmico. Observar condensação de cromatina típica de picnose necrótica de espermatócitos I (seta vermelha), espessamento de membrana basal (seta). Notar descamação do epitélio germinativo (seta azul). Aumento 200X.....	92
<b>Figura 32B</b> – Detalhe de túbulo seminífero de rato do grupo controle submetido à choque térmico. Notar que algumas espermátides em alongamento foram observadas ligadas aos prolongamentos das células de Sertoli, porém apresentavam avançado grau de degeneração e descamação (seta vermelha). Notar espessamento de membrana basal (seta) e espermatócitos I em paquíteno em picnose necrótica (seta azul). Aumento 400X.....	92

<b>Figura 32C</b> – Parênquima testicular de ratos submetidos a choque térmico do grupo pré e pós-tratado com pentoxifilina (50mg/kg). Observar a presença de túbulos seminíferos (TS) nos mais variados estágios dos ciclos do epitélio germinativo. Aumento de 100X.....	92
<b>Figura 32D</b> – Parênquima testicular de ratos submetidos a choque térmico do grupo pré e pós-tratado com pentoxifilina (50mg/kg). Notar alterações do epitélio germinativo (EG) baixo devido à descamação de células germinativas. Aumento de 200X.....	92
<b>Figura 33.</b> Fotomicrografias de testículos de ratos wistar adultos submetidos à choque térmico testicular aos 120 dias de idade tratados com pentoxifilina e grupo controle, após 15 dias do choque térmico.....	93
<b>Figura 33A</b> – Parênquima testicular de ratos do grupo controle submetido à choque térmico. Observar condensação de cromatina típica de picnose necrótica de espermatócitos I (seta vermelha), espessamento de membrana basal (seta). Notar descamação do epitélio germinativo (seta azul). Aumento 200X.....	93
<b>Figura 33B</b> – Detalhe de túbulo seminífero de rato do grupo controle submetido à choque térmico. Notar que algumas espermátides em alongamento foram observadas ligadas aos prolongamentos das células de Sertoli, porém apresentavam avançado grau de degeneração e descamação (seta vermelha). Notar espessamento de membrana basal (seta) e espermatócitos I em paquíteno em picnose necrótica (seta azul). Aumento 400X.....	93
<b>Figura 33C</b> – Parênquima testicular de ratos submetidos a choque térmico do grupo pré e pós-tratado com pentoxifilina (100mg/kg). Observar a presença de túbulos seminíferos nos mais variados estágios dos ciclos do epitélio germinativo. Aumento de 100X.....	93
<b>Figura 33D</b> – Detalhe de túbulo seminífero no estágio VII de ratos submetidos a choque térmico do grupo pré e pós-tratado com pentoxifilina (100mg/kg). Notar associações do epitélio germinativo típicas do estágio VII. Aumento de 200X. <b>79</b>	
<b>Figura 34.</b> Fotomicrografias de testículos de ratos wistar adultos submetidos à choque térmico testicular aos 120 dias de idade tratados com pentoxifilina e grupo controle, após 30 dias do choque térmico.....	94
<b>Figura 34A</b> – Detalhe de túbulo seminífero no estágio VII de rato do grupo controle submetido a choque térmico. Observar a recuperação do processo espermatogênico nos animais controles com presença de túbulos seminíferos com associações celulares típicas. Aumento 200X.....	94
<b>Figura 34B</b> – Detalhe de túbulo seminífero no estágio VII de rato do grupo controle submetido a choque térmico. Notar a presença de células descamadas no lume dos túbulos seminíferos (seta). Aumento 400X.....	94



<b>Figura 34C</b> – Parênquima testicular de rato submetido a choque térmico testicular, pré e pós-tratado do grupo pentoxifilina (50mg/kg). Observar a presença de túbulos seminíferos nos mais variados estágios dos ciclos do epitélio germinativo. Aumento de 100X.....	94
<b>Figura 34D</b> – Detalhe de túbulo seminífero no estágio VII de rato submetido à choque térmico testicular, pré e pós-tratado (50mg/kg). Notar a presença de túbulos seminíferos preservados em contraponto a túbulos com a espessura delgada do epitélio germinativo e contendo apenas espermatogônias. Prolongamentos de células de Sertoli em direção ao lume tubular (seta). Aumento de 400X.....	94
<b>Figura 35.</b> Fotomicrografias de testículos de ratos wistar adultos submetidos a choque térmico testicular aos 120 dias de idade tratados com pentoxifilina e grupo controle, após 30 dias do choque térmico.....	96
<b>Figura 35A</b> – Detalhe de túbulo seminífero no estágio VII de rato do grupo controle submetido a choque térmico. Observar a recuperação do processo espermatogênico nos animais controles com presença de túbulos seminíferos com associações celulares típicas. Aumento 200X.....	96
<b>Figura 35B</b> – Detalhe de túbulo seminífero no estágio VII de rato do grupo controle submetido a choque térmico. Notar a presença de células descamadas no lume dos túbulos seminíferos (seta). Aumento 400X.....	96
<b>Figura 35C</b> – Detalhe de túbulo seminífero no estágio VII de rato submetido a choque térmico testicular, pré e pós-tratado com pentoxifilina (100mg/kg). Observar a presença de túbulo seminífero em desenvolvimento normal apresentando túbulo no estágio VIII do ciclo do epitélio germinativo. Aumento de 200X.....	96
<b>Figura 35D</b> – Detalhe de túbulos seminíferos de rato submetido à choque térmico testicular, pré e pós-tratado com pentoxifilina (100mg/kg). Notar a presença de túbulos seminíferos preservados em contraponto a túbulos com epitélio germinativo contendo associação celular incompleta (TS) e algumas células apoptóticas (seta). Aumento de 100X.....	96
<b>Figura 36.</b> Fotomicrografias de testículos de ratos wistar adultos após 60 dias do choque térmico.....	98
<b>Figura 36A</b> – Observar túbulo seminífero sem células germinativas no epitélio tubular (estrela) ou com poucas células germinativas no epitélio e células descamadas no lume tubular (seta).....	98
<b>Figura 36B</b> –. Detalhe de túbulo seminífero com afrouxamento do epitélio seminíferos, presença de células descamadas e vacúolos nas células de Sertoli.....	98
<b>Figura 36C</b> – Detalhe de túbulo seminífero entre os estágios V-IV com presença de células sinciciais multinucleadas (seta) oriundas de espermátides arredondadas. Notar ausência de células germinativas no epitélio seminífero.....	98

<b>Figura 36D</b> - Detalhe de célula sincicial com 3 núcleos, oriunda da fusão de espermatídes arredondadas (seta), presa ao prolongamento de célula de Sertoli. Notar espessamento da túnica própria do túbulo seminífero (cabeça de seta).....	98
<b>Figura 36E</b> - Parênquima testicular de rato submetido a choque térmico. Observar a presença de túbulo seminífero em desenvolvimento normal apresentando túbulo no estágio VIII do ciclo do epitélio germinativo.....	98
<b>Figura 36F</b> - Detalhe do túbulo seminífero no estágio VII do ciclo do epitélio germinativo. Notar a presença de vacúolos intracitoplasmáticos em células de Sertoli (seta) e células germinativas (cabeça de seta).....	98
<b>Figura 37.</b> - Fotomicrografias de testículos de ratos wistar adultos submetidos a choque térmico testicular aos 150 dias de idade tratados com pentoxifilina e grupo controle, após 60 dias do choque térmico.....	100
<b>Figura 37A</b> - Observar túbulo seminífero no estágio VIII de rato do grupo controle. Notar presença de túbulos seminíferos com associações celulares típicas.....	100
<b>Figura 37B</b> - Túbulos seminíferos nos estágios VII e IX de rato do grupo controle. Notar a presença de células de Leydig (seta) e espaço linfático (LS) no interstício dos túbulos seminíferos (seta).....	100
<b>Figura 37C</b> - Parênquima testicular de rato submetido a choque térmico pré e pós-tratado com 50mg/Kg de pentoxifilina. Notar túbulo seminífero no estágio III. Observar a presença de túbulo seminífero em desenvolvimento normal apresentando túbulo no estágio VIII do ciclo do epitélio germinativo.....	100
<b>Figura 37D</b> - Detalhe de túbulos seminíferos de rato no estágio VIII do ciclo do epitélio seminíferos submetido à choque térmico testicular, pré e pós-tratado com pentoxifilina (50mg/kg). Notar a presença de espermatozóides (cabeça de seta) na margem luminal do túbulo seminífero e células descamadas no lume tubular (seta).....	100
<b>Figura 37E</b> - Parênquima testicular de rato submetido a choque térmico pré e pós-tratado com 100mg/Kg de pentoxifilina. Notar túbulo seminífero no estágio III. Observar a presença de túbulo seminífero em desenvolvimento normal apresentando túbulo no estágio VIII do ciclo do epitélio germinativo.....	100
<b>Figura 37F</b> - Parênquima testicular de rato submetido a choque térmico pré e pós-tratado com 100mg/Kg de pentoxifilina. Notar túbulo seminífero no estágio III. Observar a presença de túbulo seminífero em desenvolvimento normal apresentando túbulo no estágio VIII do ciclo do epitélio germinativo.....	100

<b>Figura 38.</b> Fotomicrografia óptica de testículo de ratos Wistar adultos submetidos a choque térmico testicular e analisados após 24 horas.....	112
<b>Figura 38a.</b> Túbulo seminífero de rato wistar controle em corte transversal. Notar apoptose de células germinativas na base do túbulo próximo a túnica própria (setas). Observar no centro do túbulo a presença de células germinativas descamadas (círculo). 400X.....	112
<b>Figura 38b.</b> Túbulo seminífero de rato wistar em corte transversal submetido ao choque térmico testicular (HS). Notar apoptose de células germinativas na base do túbulo próximo a túnica própria (setas). Observar no centro do túbulo a presença de células germinativas descamadas (círculo). 400X.....	112
<b>Figura 38c.</b> Túbulo seminífero de rato wistar em corte transversal pré-tratado com pentoxifilina (50mg/Kg) e submetido ao choque térmico testicular (HS). Notar apoptose de células germinativas na base do túbulo próximo a túnica própria (setas). Observar no centro do túbulo a presença de células germinativas descamadas (círculo). 400X.....	112
<b>Figura 38d.</b> Túbulo seminífero de rato wistar em corte transversal pré-tratado com pentoxifilina (100mg/Kg) e submetido ao choque térmico testicular. Notar apoptose de células germinativas na base do túbulo próximo a túnica própria (setas). Observar no centro do túbulo a presença de cauda de espermátides alongadas no estágio VII ciclo do epitélio seminífero (círculo). 400X.....	112
<b>Figura 39.</b> Fotomicrografia óptica de testículo de ratos Wistar adultos submetidos a choque térmico testicular e analisados após 3 dias.	
<b>Figura 39a.</b> Túbulo seminífero de rato wistar controle em corte transversal. Notar ausência de células em apoptose no túbulo seminífero (TS). Observar no lume do túbulo a presença de cauda de espermatozóides no estágio VII do ciclo do epitélio seminífero. 400X.....	113
<b>Figura 39b.</b> Túbulo seminífero de rato wistar em corte transversal submetido ao choque térmico testicular (HS). Notar apoptose de células germinativas na base do túbulo próximo a túnica própria (setas). Observar no centro do túbulo seminífero ausência de células germinativas descamadas. 400X.....	113
<b>Figura 39c.</b> Túbulo seminífero de rato wistar em corte transversal pré e pós-tratado com pentoxifilina (50mg/Kg) e submetido ao choque térmico testicular (HS). Notar apoptose de células germinativas na base do túbulo próximo a túnica própria (setas longas). Observar no centro do túbulo a presença de células germinativas descamadas em apoptose (seta curta). 400X.....	113
<b>Figura 39d.</b> Túbulo seminífero de rato wistar em corte transversal pré e pós-tratado com pentoxifilina (100mg/Kg) e submetido ao choque térmico testicular. Notar apoptose de células germinativas na base do túbulo próximo a túnica própria (setas). Observar no centro do túbulo seminífero obliterado pela presença de cauda de espermátides alongadas ligadas a porção apical das células de Sertoli. 400X.....	113

<b>Figura 40.</b> Fotomicrografia óptica de testículo de ratos wistar adultos submetidos a choque térmico testicular e analisados após 7 dias.....	114
<b>Figura 40a.</b> Túbulo seminífero de rato wistar em corte transversal controle. Notar células em apoptose (seta) no túbulo seminífero (TS). Observar no lume do túbulo a presença de cauda de espermatozóides cuja cabeça esta inserida no ápice das células de Sertoli. 400X.....	114
<b>Figura 40b.</b> Túbulo seminífero de rato wistar em corte transversal submetido ao choque térmico testicular (HS). Notar apoptose de células germinativas na base do túbulo próximo a túnica própria (setas). Observar no centro do túbulo seminífero presença de células germinativas descamadas (estrela). 400X.....	114
<b>Figura 40c.</b> Túbulo seminífero de rato wistar em corte transversal pré e pós-tratado com pentoxifilina (50mg/Kg) e submetido ao choque térmico testicular (HS). Notar apoptose de células germinativas na base do túbulo próximo a túnica própria (setas). Observar no centro do túbulo a presença de células germinativas descamadas. X400.....	114
<b>Figura 40d.</b> Túbulo seminífero de rato wistar em corte transversal pré e pós-tratado com pentoxifilina (100mg/Kg) e submetido ao choque térmico testicular. Notar apoptose de células germinativas na base do túbulo próximo a túnica própria (setas). Observar túbulo seminífero com lúmen bem definido presença de cauda de espermátides alongadas ligadas a porção apical das células de Sertoli. 400X...	114
<b>Figura 41.</b> Fotomicrografia óptica de testículo de ratos wistar adultos submetidos a choque térmico testicular e analisados após 15 dias.....	115
<b>Figura 41a.</b> Túbulo seminífero de rato wistar controle em corte transversal. Notar células em apoptose (seta) no túbulo seminífero (TS). Observar no lume do túbulo a presença de cauda de espermatozóides cuja cabeça esta inserida no ápice das células de Sertoli. 400X.....	115
<b>Figura 41b.</b> Túbulo seminífero de rato wistar em corte transversal submetido ao choque térmico testicular (HS). Notar apoptose de células germinativas na base do túbulo próximo a túnica própria (setas). Observar túbulo seminífero (TS) com lúmen bem definido e rarefação de células germinativas devido descamação prévia (estrela). 400X.....	115
<b>Figura 41c.</b> Túbulo seminífero de rato wistar em corte transversal pré e pós-tratado com pentoxifilina (50mg/Kg) e submetido ao choque térmico testicular (HS). Notar apoptose de células germinativas na base do túbulo próximo a túnica própria (setas). Observar túbulo seminífero com rarefação de células germinativas devido a descamação prévia (TSD).400X.....	115
<b>Figura 41d.</b> Túbulo seminífero de rato wistar em corte transversal pré e pós-tratado com pentoxifilina (100mg/Kg) e submetido ao choque térmico testicular. Notar ausência de apoptose de células germinativas no epitélio germinativo. Observar túbulo seminífero (TS) com lúmen bem definido. 400X.....	115

<b>Figura 42.</b> Fotomicrografia óptica de testículo de ratos wistar adultos submetidos a choque térmico testicular e analisados após 30 dias.....	116
<b>Figura 42a.</b> Túbulo seminífero de rato wistar em corte transversal controle. Notar células em apoptose (seta) no túbulo seminífero (TS) e corpos residuais na margem luminal (cabeça de seta). Notar túbulo seminífero (TS) a presença de cauda de espermatozóides cuja cabeça esta inserida no ápice das células de Sertoli. 400X.....	116
<b>Figura 42b.</b> Túbulo seminífero de rato wistar em corte longitudinal submetido ao choque térmico testicular (HS). Notar apoptose de células germinativas na base do túbulo próximo a túnica própria (setas). Observar túbulo seminífero (TS) com lúmen bem definido e rarefação de células germinativas devido descamação prévia (estrela). 400X.....	116
<b>Figura 42c.</b> Túbulo seminífero de rato wistar em corte transversal pré e pós-tratado com pentoxifilina (50mg/Kg) e submetido ao choque térmico testicular (HS). Notar apoptose de células germinativas na base do túbulo próximo a túnica própria (setas). 400X.....	116
<b>Figura 42d.</b> Túbulo seminífero de rato wistar em corte transversal pré e pós-tratado com pentoxifilina (100mg/Kg) e submetido ao choque térmico testicular. Notar apoptose de células no epitélio germinativo. Notar túbulo seminífero (TS) a presença de cauda de espermatozóides cuja cabeça esta inserida no ápice das células de Sertoli. 400X.....	116
<b>Figura 43.</b> Fotomicrografia óptica de testículo de ratos wistar adultos submetidos a choque térmico testicular e analisados após 60 dias.....	117
<b>Figura 43a.</b> Túbulo seminífero de rato wistar em corte transversal controle. Notar ausência de células em apoptose no túbulo seminífero (TS). Notar túbulo seminífero no estágio VII do ciclo do epitélio seminífero (TS) a presença de cauda de espermatozóides cuja cabeça esta inserida no ápice das células de Sertoli. 400X.....	117
<b>Figura 43b.</b> Túbulo seminífero de rato wistar em corte longitudinal submetido ao choque térmico testicular (HS). Notar apoptose de células germinativas na base do túbulo próximo a túnica própria (setas). Observar túbulo seminífero (TS) com lúmen bem definido e rarefação de células germinativas devido descamação prévia (estrela). Células de Sertoli (cabeça de seta) com feixes de espermátides em alongamento 400X.....	117
<b>Figura 43c.</b> Túbulo seminífero de rato wistar em corte transversal pré e pós-tratado com pentoxifilina (50mg/Kg) e submetido ao choque térmico testicular (HS). Notar ausência de apoptose de células germinativas na base do túbulo próximo a túnica própria (setas). 400X.....	117

**Figura 43d.** Túbulo seminífero de rato wistar em corte transversal pré e pós-tratado com pentoxifilina (100mg/Kg) e submetido ao choque térmico testicular. Notar apoptose de células no epitélio germinativo. Notar no lume do túbulo seminífero (TS) a presença de cauda de espermatozóides cuja cabeça esta inserida no ápice das células de Sertoli. 400X..... 117

## Lista de Quadros

<b>Quadro. 1</b> – Disposição dos grupos experimentais, número de animais segundo os tempos de observação e método de fixação tecidual.....	42
---	----

## Lista de Símbolos e Abreviações

ANOVA .....	Análise de variância
g .....	Gramas
mg .....	Miligramas
mL .....	Mililitro
P.....	Nível de significância estatístico
%.....	Percentual
®.....	Marca registrada
Kg.....	Quilograma
mg .....	Miligramas
µm.....	Micrômetro
µL.....	Microlitro
(ICS).....	Índice de célula de Sertoli
PDEs.....	Fosfodiesterases
TNF $\alpha$ .....	Fator de necrose tumoral
FSH.....	Hormônio folículo estimulante
Ros.....	Oxigênios reativos
HS.....	Choque térmico
HSP.....	Proteína de choque térmico
AMPC.....	Adenosina monofosfato cíclico



## RESUMO

O calor aplicado diretamente sobre o testículo tem fornecido novas informações sobre os mecanismos desencadeadores dos danos à espermatogênese. A pentoxifilina é uma metilxantina com propriedades antioxidante, antiinflamatória e antiapoptótica com diversas utilidades na área clínica. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade inibidora da pentoxifilina sobre as ações deletérias produzidas pelo calor no parênquima testicular e capacidade em acelerar a recuperação do processo espermatogênico. Foram utilizados 72 ratos Wistar machos (*Rattus norvegicus*, var. *albinus*) divididos em grupo controle, choque térmico, choque térmico tratado com 50mg/Kg e 100mg/Kg de pentoxifilina, submetidos ao estresse térmico testicular e avaliados nos dias 1, 3, 7, 15, 30 e 60 quanto as alterações histopatológicas e histomorfométricas dos testículos bem como, aos níveis séricos de testosterona. Neste trabalho, os diferentes protocolos experimentais não produziram alterações no peso do epidídimo, da próstata e glândula seminal. Contudo, foi constatada tendência à redução de peso testicular, do volume total de túbulos seminíferos, diâmetro tubular e altura de epitélio seminífero nos animais que sofreram choque térmico. O volume de células de Leydig reduziu nos animais submetidos ao estresse térmico, porém isto não influenciou os níveis de testosterona. Utilizando-se azul do Nilo para marcação de células apoptóticas foi constatada redução deste tipo de morte celular no grupo HS+100mg/Kg de PTX em relação ao grupo HS aos 30 dias e, 60 dias no grupo choque térmico + 50mg/Kg comparado com o grupo choque térmico. Os achados histopatológicos nos tempos 3, 7 e 15 pós-choque térmico são compatíveis com o quadro de degeneração testicular. Neste período os animais tratados com pentoxifilina as lesões ocorreram em menor escala e alguns estágios do ciclo do epitélio seminíferos foram bem caracterizados. No período compreendido entre 30 e 60 dias após o choque térmico, podemos constatar que os animais não tratados com pentoxifilina possuíam túbulos seminíferos com células que perderam sua coesão em seu lume, afrouxamento do epitélio germinativo e vacúolos nas células de Sertoli, apesar de ter sido observada recuperação parcial do processo espermatogênico. Os animais tratados com pentoxifilina na dose de 50 ou 100mg/Kg, neste período, o processo espermatogênico possuía todos os estágios do ciclo do epitélio seminífero. Portanto, de acordo com os resultados a pentoxifilina exerceu papel inibidor dos mecanismos pró-inflamatórios ou pró-apoptóticos desencadeados pelo choque térmico aplicado diretamente nos testículos, além de acelerar o processo de recuperação da espermatogênese.

Palavras chave: Choque térmico, testículo, pentoxifilina, espermatogênese, ratos Wistar.

## ABSTRACT

The directly heat applied on the testis has given new information about the mechanisms triggers of spermatogenesis damages. Pentoxifylline (PTX) is a methylxanthine with antioxidants, anti-inflammatory and anti-apoptotic properties and beside this with a lot of utilities in clinical area.

The present work had an objective to evaluate the inhibitory capacity of pentoxifylline on deleterious actions, produced by heat in the testicular parenchyma and its capacity to accelerate the spermatogenesis recovery process. Seventy two male Wistar rats (*Rattus norvegicus, var. albinus*) were used and divided in control group, heat shock (HS), HS treated with 50mg/Kg of PTX and HS treated with 100mg/Kg of PTX. All animal were submitted to testicular heat shock, excepted the control group and evaluated on 1, 3, 7, 15, 30 and 60 days according to histopathological and histometrical alterations as well as serum levels of testosterone. In this experiment, the different protocols did not produced alteration in the epididymis, prostate and seminal gland weight. However, it was observed a reduction tendency of testicular weight, seminiferous tubule volume, tubular diameter and epithelium height in the animals that suffered heat shock. The Leydig cell volume was reduced in animals submitted to stress thermic, but this fact did not influence the testosterone levels. Utilizing Nile's blue to stain apoptotic cells was noted a reduction in this kind of cell's death in group HS+100mg/Kg of PTX in relation with HS group on 30<sup>th</sup> days. In the same way was observed reduction on apoptotic cells in the HS+50mg/Kg group, when compared with HS on 60<sup>th</sup> days. The histopathological found on 3<sup>rd</sup>, 7<sup>th</sup> and 15<sup>th</sup> day post-heat shock are compatible with testis degeneration picture. On these periods, in the animals treated with pentoxifylline, the lesions were minor scale and some stages of seminiferous epithelium cycle were well characterized. In the period between 30 e 60 days after heat shock, we can observe that animals not treated with PTX showed seminiferous tubule with desquamated cells in the lumen, germ epithelium loosening and vacuoles of Sertoli cell. Although, it had been observed partial recovery of spermatogenesis. The animals treated with pentoxifylline with 50 or 100mg/Kg during this period, the spermatogenesis had all stages of seminiferous epithelium cycle. Thus, according to results, PTX seems to have exercised inhibitor role on pro-inflammatory and apoptotic mechanisms, triggered by directly heat shock applied on testis, and for accelerating the of spermatogenic process recovery.

Key words: Heat shock, testis, pentoxifylline, spermatogenesis, Wistar rats.

## SUMÁRIO

	Página
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>29</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>33</b>
<b>2.1 Choque térmico e formação de radicais livres.....</b>	<b>33</b>
<b>2.2 As proteínas de choque térmico (HSPs) .....</b>	<b>34</b>
<b>2.3 Fosfodiesterases e sua relação com o sistema endócrino.....</b>	<b>35</b>
<b>2.4 Pentoxifilina e suas aplicações farmacológicas.....</b>	<b>37</b>
<b>3. JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>39</b>
<b>4 - OBJETIVOS.....</b>	<b>20</b>
<b>4.1. Objetivo geral.....</b>	<b>39</b>
<b>4.2 Objetivos específicos.....</b>	<b>39</b>
<b>5. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>41</b>
<b>5.1 Procedimentos Experimentais.....</b>	<b>41</b>
<b>5.2 Análise Morfométrica Testicular.....</b>	<b>43</b>
<b>5.3 Análise da Testosterona Plasmática.....</b>	<b>45</b>
<b>6. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>47</b>
<b>6.1.Resultados histopatológicos.....</b>	<b>82</b>
<b>6.2 Achados histopatológicos no terceiro dia pós-choque térmico dos animais tratados ou não com pentoxifilina.....</b>	<b>82</b>
<b>6.3 Achados histopatológicos no sétimo dia pós-choque térmico dos animais tratados ou não com pentoxifilina.....</b>	<b>86</b>
<b>6.4 Achados histopatológicos no dia 15 pós-choque térmico dos animais tratados ou não com pentoxifilina.....</b>	<b>91</b>
<b>6.5 Achados histopatológicos no dia 30 pós-choque térmico dos animais tratados ou não com pentoxifilina.....</b>	<b>94</b>

<b>6.6 Achados histopatológicos no dia 60 pós-choque térmico dos animais tratados ou não com pentoxifilina.....</b>	<b>97</b>
<b>7. CONCLUSÃO.....</b>	<b>103</b>
<b>8. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>104</b>
<b>9. ANEXOS.....</b>	<b>112</b>

## 1. Introdução

Os testículos são componentes vitais a reprodução e por conseqüência à perpetuação das espécies. A espermatogênese é um processo extremamente complexo, dependente de mecanismos que compreendem o código genético das células germinativas e uma rede de comunicação entre estas células germinativas e as células somáticas que estão presentes no testículo (VERHOEVEN et al., 2007). Esse processo é regulado por uma complexa e interligada rede de interação endócrina, parácrina e autócrina entre diversos tipos celulares (ROSER, 2008). O controle do processo espermatogênico é realizado pela ação conjunta de hormônios gonadotróficos, testosterona e diversos fatores de sinalização intratesticular. Entretanto, o FSH (Hormônio Folículo Estimulante) e a testosterona assumem o papel principal na regulação deste processo, através da ação sobre receptores presentes nas células de Sertoli (SHARPE, 1994; GRISWOLD, 1998; SKINNER, 2005; WALKER e CHENG, 2005).

Além dos fatores hormonais que estimulam e modulam a espermatogênese, se faz necessário, particularmente para o testículo com localização extra-abdominal, o controle delicado da temperatura entre 2 e 6°C abaixo da temperatura corporal (KASTELIC et al., 1995, WAITES e SETCHELL, 1990). A termorregulação testículo-escrotal é um fenômeno intrincado onde numerosos mecanismos locais desempenham papel fundamental. O cone vascular, formado pelas veias do plexo pampiniforme circundando a artéria testicular, permite a troca contracorrente de calor, a regulação do fluxo sanguíneo e a perda de calor por irradiação (BARTH, 1993).

O escroto penduloso aumenta a área de superfície que facilita a exposição do cone vascular ao meio ambiente e permite que os testículos fiquem distantes do corpo do animal (BLANCHARD et al., 1992).

A pele escrotal é fina, pobre em gordura subcutânea e relativamente sem pêlos; contam ainda com os sistemas sanguíneo e linfático bem desenvolvidos, facilitando a perda térmica por irradiação e evaporação. A sudorese é uma perda de calor importante dada pelo escroto, graças à grande quantidade de glândulas sudoríparas presentes. O músculo cremáster e a túnica Dartos, cuja ação é comandada por nervos simpáticos lombares, relaxam e contraem, afastando ou aproximando os testículos da área inguino-abdominal, posicionando-os em resposta a temperatura do meio ambiente, o que facilita a preservação do gradiente de temperatura abdomino-testicular (KASTELIC e COULTER, 1993).

Os tecidos são susceptíveis a danos pelo calor. No entanto, os testículos são incomuns uma vez que, eles são danificados pela exposição de temperaturas normalmente encontradas dentro do abdômen, embora eles se originem dentro da cavidade abdominal e em alguns mamíferos e a migração para o escroto só ocorra durante o desenvolvimento fetal ou neonatal (SETCHELL, 1998).

A temperatura é um dos importantes fatores ambientais que interfere na reprodução. Temperaturas corporais elevadas, durante períodos de alta temperatura ambiente ou pirexia por doenças, levam à degeneração testicular e reduzem a porcentagem de espermatozóides normais e férteis na ejaculação (JAINUDEEN e HAFEZ, 1995). É o fator de maior importância na espermatogênese dos machos de qualquer espécie e, quando muito elevada (da ordem de 34,5°C), é prejudicial tanto às etapas de formação dos espermatozóides como àqueles elementos já formados e em trânsito pelo epidídimo (MIES FILHO, 1975). Elevada temperatura testicular resultante de incompleta deiscência dos testículos (criptorquidismo), alta temperatura ambiental ou inflamação são prejudiciais para a espermatogênese em todos os mamíferos (FOOTE, 1978). Hansen (1999), Huang et al., (2000). Foote (1978).

O efeito marcante da exposição aguda ou crônica do testículo ao calor é a diminuição da sua massa, o perímetro escrotal e a motilidade espermática. Isso ocorre em ratos no período entre 1 a 2 dias após uma única exposição do testículo a uma temperatura de 41°C por 60 minutos ou 43°C por 30 minutos (SETCHELL e WAITES, 1972; FRIDD et al., 1975; MAIN et al., 1975; BARLETT e SHARP, 1987; GALIL e SETCHELL, 1988; MCLAREN et al., 1994; SETCHELL et al., 1996).

Camundongos expostos a ambientes não climatizados com temperatura em torno de 35°C tiveram queda de peso testicular no período de 4 dias, Meistrich et al. (1973) e ratos aclimatados durante 3 meses em ambiente de 35°C tiveram severamente afetados cerca de 20% dos túbulos seminíferos, muito embora os túbulos restantes parecessem normais (SODMORIAH et al., 1974). Da mesma forma, exposição de carneiros a ambientes quentes durante 14 dias causou redução do peso testicular em cerca de 70% (GOMES et al., 1971).

Elevadas temperaturas ambientais podem interferir negativamente na qualidade espermática de ruminantes e suínos, sendo a motilidade individual progressiva e o percentual de células morfológicamente anormais as características seminais mais afetadas (KRAMER, 2000; MARTINS et al., 2003; CHEMINEAU, 2004; VALLE et al., 2005) e (DAIANE et al., 2007).

As elevações de temperatura produzem espermatozóides anormais, pois afetam

etapas da espermatogênese, principalmente na fase intermediária (espermatócitos e espermátides) e com menos intensidade, na etapa inicial (espermatogônia) e na final (espermatozóides). Os espermatócitos e as espermátides são muito termo-sensíveis, e quando alteradas, prejudicam a qualidade do sêmen. Já os espermatozóides maduros parecem ser afetados durante o estágio final de desenvolvimento ou na região da cabeça do epidídimo, ocorrendo alterações estruturais e metabólicas; este gameta pode fertilizar, mas ocorre a morte embrionária conseqüente (GABALDI e WOLF, 2002).

O clima da região Nordeste do Brasil é caracterizado por elevadas temperaturas durante todo o ano, as quais podem influenciar diretamente os mecanismos de termoregulação testicular e, conseqüentemente, as funções reprodutivas do macho. Entre as raças ovinas exploradas no Nordeste, a Santa Inês é a de maior expressão devido ao porte e produção de leite das matrizes e os reprodutores Santa Inês serem muito utilizados nos esquemas de cruzamentos com animais nativos e de raças exóticas, além desta raça ser bem adaptada à região (OLIVEIRA e LIMA, 1994; NUNES et al., 1997). Estudo realizado com carneiros Santa Inês criados no Estado do Ceará e submetidos à insulação escrotal demonstrou que o tempo necessário para o aparecimento de padrões normais de concentração espermática foi de 79 dias, indicando que o estresse térmico interferiu nos primeiros estágios da espermatogênese, provavelmente nas fases de multiplicação das espermatogônias e no início da meiose (MOREIRA et al., 2001), corroborando com os relatos de Yin et al. (1997), ao verificarem apoptose em espermátides e espermatócitos de testículos de ratos e camundongos expostos a temperaturas elevadas.

Existe considerável variação em susceptibilidade ao estresse térmico entre indivíduos e entre diferentes espécies, o que parece ser devido a habilidade de cada animal em manter a temperatura testicular, assim como da susceptibilidade de diferentes células germinativas. Entretanto, o mecanismo de morte celular relacionado ao estresse térmico é apoptose e não necrose, e pode envolver espécies de oxigênio reativo (ROS), proteína supressora de tumor (p53), óxido nítrico sintase (NOS), translocação do fator pró-apoptótico Bax do citoplasma para aposição perinuclear, a liberação do citocromo C da mitocôndria e diversas caspases (SETCHELL, 2006).

Acredita-se que os efeitos do calor sobre os testículos são completamente reversíveis, mas alguns estudos mais recentes têm comprovado que isto nem sempre acontece. Entretanto, o peso testicular não retornou aos valores normais mesmo depois de 60 dias de uma única exposição testicular ao calor (SETCHELL, 1998). Medidas testiculares estão associadas com produção espermática diária (OSINOWO et al., 1992; SOUZA e COSTA, 1992), número de

espermátides por células de Sertoli e área dos túbulos seminíferos, além de apresentarem relação inversa com a taxa de degeneração de células germinativas em touros (BERNDTSON et al., 1987; PALASZ et al., 1994; MOURA e ERICKSON, 1997). Assim, a diminuição na consistência do parênquima testicular está associada à redução na produção de espermatozóides (COULTER e FOOTE, 1979) e aumento do número de espermatócitos e espermátides degeneradas em todos os estágios do ciclo da espermatogênese em touros (MULLER et al., 1992).

Algumas substâncias e hormônios podem afetar a sensibilidade dos testículos ao calor, reduzindo o tempo de recuperação entre 10 a 20 dias. Dentre essas podemos citar o FSH (Hormônio Folículo Estimulante), tiroxina, pequenas doses de testosterona, inibidores de caspases e da liberação de citocromo C. Além desses, vitamina E (antioxidante) e o agente neutralizador de radicais livres (PNB –  $\alpha$ -fenil-N-t-butilnitrona) têm mostrado prevenir e reduzir os danos dos radicais livres sobre o DNA em testículos submetidos a agentes tóxicos e ao choque térmico (SETCHELL, 2006).

O calor aplicado diretamente sobre os testículos tem fornecido novas informações sobre os mecanismos desencadeadores dos danos à espermatogênese e de tratamentos que podem prevenir os danos testiculares através do bloqueio da apoptose (SETCHELL, 2006).

As células germinativas testiculares são vulneráveis ao estresse térmico e sofrem apoptose em resposta a temperaturas supra-escrotais. A proteína supressora de gene tumoral, a p53 é um potente mediador bioquímico da apoptose induzida pelo choque térmico (KUMAGAI et al., 2002).

A pentoxifilina é uma metilxantina inibidora de fosfodiesterase que além de aumentar os níveis de AMPc intracelular, ainda reduzem ânions superóxidos, inibem o TNF- $\alpha$  (Fator de necrose tumoral- $\alpha$ ) responsável pela fragmentação do DNA, apoptose ou morte celular programada além de possuir propriedades antiinflamatórias. Além disso, essas substâncias podem ser usadas em procedimentos clínicos para capturar espécies de oxigênio reativo (ROS) e reduzir a peroxidação de lipídeos associados a danos de membrana espermática e apoptose de DNA (VADIRAJA et al., 2001; MAXWELL et al., 2002; CHEN et al., 2002). Por outro lado é importante salientar que a pentoxifilina é um inibidor de PDE's (RICE et al., 1994), podendo ser eficiente em neutralizar os efeitos degenerativos produzidos pelo choque térmico no parênquima testicular.

Este experimento tem por objetivo observar o potencial uso da pentoxifilina como preventivos das ações deletérias do calor sobre o parênquima testicular e a capacidade em acelerar o processo de recuperação na espermatogênese.



## **2. Revisão de Literatura**

### **2.1 Choque térmico e formação de radicais livres**

Estresse oxidativo é definido como o acúmulo de espécies de oxigênio reativo (ROS) que são capazes de danificar as estruturas de DNA, carboidratos, lipídios, proteínas e componentes celulares. A função molecular das células é afetada pelo processo de oxidação que determina degeneração, alterando a atividade biológica essencial para a função celular. Os efeitos prejudiciais da oxidação devem ser evitados, sendo primordial a compreensão do funcionamento das ROS envolvidas no processo de homeostase celular, assim como a ocorrência de fatores patológicos (SILVA, 2006).

As implicações da biologia das ROS são importantes para diversos aspectos da vida moderna, desde a indústria alimentícia, impedindo a oxidação de alimentos, a áreas de ciências médicas, tais como neurologia, cardiologia e, mais recentemente, a reprodução. Isso torna cada vez mais claro que o processo de oxidação celular está relacionado muitas vezes com o processo de infertilidade (SILVA, 2006).

Em camundongos *sod1-knockout* para superóxido desmutase, as espécies reativas de oxigênio geradas durante o choque térmico causaram morte das células espermatogênicas e atrasaram a recuperação do parênquima testicular. Além disso, se observou que mesmo curtas exposições ao calor desencadearam severos danos as células espermatogênicas. Portanto, os radicais livres gerados no choque térmico podem funcionar como sinal de morte celular ou causar danos oxidativo diretos as células (ISHII et al., 2005).

Recentemente mostrou-se que, em resposta ao estresse térmico, a degeneração das células germinativas ocorre através da morte celular programada (apoptose) caracterizada pela fragmentação de DNA (TAPANAINEM et al., 1993; BILLING et al., 1995; MIEUSSET et al., 1995). Neste processo, o Fator 1 da transcrição do choque térmico é ativado, induzindo apoptose de espermátócitos, resultando em infertilidade de ratos (NAKAI et al., 2000).

As células de Leydig e de Sertoli parecem ser mais resistentes ao calor, enquanto as células germinativas são mais termo-sensíveis do testículo. Todos os estágios da espermatogênese são susceptíveis ao calor, com o grau de lesão dependendo da extensão e da duração do insulto térmico. A regeneração da função espermática, após o dano causado pelo calor, depende da divisão contínua das espermatogônia, originada de um reservatório de

linhagens de células altamente resistentes e do intervalo de tempo do término da injúria à restauração de espermatozoides normais no ejaculado, correspondente ao período de início da diferenciação na espermatogênese até a ejaculação (WAITES et al., 1990; SETCHELL, 1998).

A degeneração do epitélio seminífero pode ocorrer rapidamente e, se o período de hipertermia não for muito longo, a recuperação completa pode ocorrer em um período curto de tempo apresentando melhoria visível 60 dias após a remoção do agente causal (McENTEE, 2002). Nos insultos severos, em que a espermatogônia A é atingida pode ocorrer azoospermia (FONSECA e CHOW, 1995). No entanto, a regeneração do epitélio germinativo é possível e dependerá da sobrevivência das espermatogônias e das células de Sertoli. Se não for possível a regeneração, pode-se instalar fibrose ou calcificação nos testículos (THOMSON, 1990; McENTEE, 2002). A fase regenerativa é marcada por recuperação da concentração, da motilidade, do vigor e do número de espermatozoides morfologicamente normais, que, apesar da desorganização do epitélio germinativo durante a fase de degeneração, demonstra grande capacidade de recuperação devido à resistência das espermatogônias e das células de Sertoli (BARTH, 1993; FONSECA e CHOW, 1995; GABALDI, 2000).

Diversos tipos de estresse metabólico, como exposição ao calor, a metais pesados, a ingestão de dietas acrescidas de ionóforos, a análogos de aminoácidos e a venenos que afetam a produção de ATP, determinam alterações na expressão de genes que resultam em acúmulo de proteínas de choque térmico (HSP).

## **2.2 As proteínas de choque térmico (HSPs)**

As HSPs formam um grupo diversificado de proteínas encontradas em bactérias, plantas e animais (SHARP et al., 1999), classificadas em seis famílias de acordo com seu peso molecular: HSP110, HSP90, HSP70, HSP60, HSP40 e pequenas HSPs, dentre estas a HSP27 (JOLLY e MORIMOTO, 2000). Estas proteínas podem ser constitutivas ou induzidas, sendo encontradas nos mais diferentes compartimentos da célula. As proteínas HSP90 e HSP60 são constitutivas, enquanto que a HSP70 e a HSP27, além de serem constitutivas, também são induzidas por estressores como calor, estresse oxidativo, isquemia, etc. (SHARP et al., 1999; GARRIDO et al., 2001; VALENTIM et al., 2001; 2003).

As principais funções das HSPs são transportar proteínas para o interior da célula; guiar a conformação de proteínas do citosol, do retículo endoplasmático e da mitocôndria; degradar as proteínas instáveis; dissociar complexos protéicos; prevenir a agregação de

proteínas; controlar a atividade de proteínas reguladoras e remodelar proteínas com conformação alterada (SAMALI e ORRENIUS, 1998; GARRIDO et al., 2001).

O organismo dos animais reage ao calor ou a outro estresse qualquer pela indução ou aumento na síntese de um grupo único de proteínas comumente denominadas como “heat shock proteins” ou HSPs. Embora não se conheça exatamente a função dessas proteínas, sabe-se que uma de suas funções é proteger os organismos contra impactos ambientais adversos, em especial a HSP, cujo peso molecular é 70 kDa, e que desempenha um importante papel em situação de termotolerância. Em situação de estresse térmico pode-se verificar uma redução nos níveis de HSP70 nos espermatozoides, durante estações quentes, não respondem eficientemente a altas temperaturas ambientais aumentando a expressão de HSP70. Desta forma pode-se correlacionar a quantidade dessa proteína à qualidade do sêmen. Uma menor quantidade de HSP70 é associada a um sêmen de menor qualidade (HUANG SY et al., 2000).

A HSP27, uma pequena proteína de choque térmico, protege vários tipos celulares contra o estresse (KATO et al., 1995) e sua atividade pode ser regulada através do aumento de sua expressão em condições estressantes e da fosforilação (MEHLEN et al., 1996; MEHLEN et al., 1997; BRUEY et al., 2000). A HSP70, assim como a HSP27, também possui ação antiapoptótica em situações de estresse celular (GARRIDO et al., 2001). A HSP105, proteína do choque térmico específica das células germinativas Itoh e Tashima. (1991), é transportada do citoplasma para o núcleo da célula após dois dias de transferência do testículo para a cavidade abdominal de ratos. Esta proteína liga-se a p53 em células cultivadas dos testículos sob temperatura semelhante àquela da bolsa escrotal (32,5°C), fato que não ocorre quando submetidos a 37 ou 42°C (KUMAGAI et al., 2000). Outras proteínas do choque térmico (HSP 27 e 90) encontradas nas células de Sertoli, em espermatogônias, em espermatócitos e em espermátides, também apresentaram concentrações elevadas e moveram-se do citoplasma ao núcleo em células isoladas dos testículos de ratos submetidos à temperatura de 37 a 42 °C (BIGGIOGERA et al., 1996).

### **2.3 Fosfodiesterases e sua relação com o sistema endócrino.**

Nos últimos anos, novas vias de regulação molecular têm sido identificadas com objetivo de mapear os diversos tipos de transdução de sinais relacionados com a formação de moléculas sinalizadoras dentro da célula. Novos componentes de sinalização foram estabelecidos e suas funções vêm sendo continuamente descobertas. Estas funções são complexas, principalmente quando integrado ao metabolismo intermediário, como no caso

dos nucleotídeos cíclicos dependentes da transdução do sinal e seus componentes, incluindo as fosfodiesterases (PDE's), as quais são enzimas que controlam a concentração intracelular de AMPc (Adenosina Monofosfato cíclico) e GMPc (Guanosina Monofosfato Cíclico) (CONTI et al., 1995, CONTI, 2000).

As PDE's são derivadas de 21 tipos de genes diferentes presentes no genoma de mamíferos (CONTI, 2000). Com base na similaridade de sua estrutura e função, esses genes podem ser agrupados em 7 diferentes famílias. Na gônada masculina de humano e ratos existem 4 genes pertencentes a família das CaM-PDE's (Fosfodiesterases cálcio-calmodulina dependentes), as quais são capazes de promover a hidrólise do AMPc com alta afinidade, sendo, portanto, esperado que a ativação desta enzima tenha maior impacto nos níveis de AMPc intracelular (CONTI et al., 1995, POLSON e STRADA, 1996).

A PDE apresenta, em sua composição, três regiões: uma de domínio regulatório, uma de domínio inibitório e outra de domínio catalítico, estruturalmente conservadas em todas as PDE's estudadas (CONTI et al., 1995, SALANOVA et al., 1999). O domínio regulatório funciona como um sensor de sinais intracelulares, estimulado pelos segundos mensageiros (AMPc e  $Ca^{+2}$ ). A recepção destes sinais produz uma mudança na conformação da PDE de maneira que o domínio inibitório exerce, não por muito tempo, efeito negativo sobre a catálise do segundo mensageiro. Por sua vez, o domínio catalítico, é o local onde esta enzima promove a hidrólise do segundo mensageiro quando estimulada pelo complexo cálcio-calmodulina (CONTI, 2000).

Existem algumas substâncias que podem interferir na regulação intracelular de AMPc e GMPc, as quais são denominadas de inibidoras das fosfodiesterases, que promovem aumento nas concentrações de nucleotídeos cíclicos intracelular (SALAM, 2003).

As xantinas, incluindo a cafeína e a teofilina presentes no café e no chá, são inibidores de PDE's utilizados em tratamentos de distúrbios cardiovasculares e pulmonares. Seus múltiplos efeitos são devido a deficiência na seletividade por conta da inibição de todas as PDE's expressadas nos mamíferos, exceto a PDE8 e 9 (BEAVO, 1995). Além disso, algumas drogas que apresentam alta seletividade pelas PDE3, PDE4, PDE5/6 e, possivelmente, PDE1 têm sido sintetizadas e desenvolvidas para várias indicações (THORPHY, 1998). Partindo deste princípio, alguns inibidores de PDE's podem ser utilizados para modular o sistema endócrino, principalmente no controle de secreção hormonal e manipulação de sensibilidade de órgãos alvo aos hormônios (HADLEY, 1996, KUMARI, 1997).

A secreção hormonal da pituitária pode ser outro possível local de manipulação de PDE's. O eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal (HPA) é muito sensível ao inibidor de PDE4,

dembuflina. A administração oral ou intraperitoneal marcou a elevação nos corticosteróides séricos a partir do uso desse inibidor de PDE4. A liberação do hormônio luteinizante (LH) também é estimulada por esses inibidores, sugerindo que esta estratégia pode ser utilizada para manipular a secreção de pituitária, uma vez que a inibição de PDE pode aumentar a liberação hormonal e estimulação de órgãos alvo (HADLEY et al., 1996; KUMARI et al., 1997).

Portanto, acredita-se que a manipulação da atividade da PDE em células endócrinas pode ter considerável potencial terapêutico (CONTI, 2000).

## **2.4 Pentoxifilina e suas aplicações farmacológicas**

A pentoxifilina ou 1-(5-oxohexil)-3, 7-dimetilxantina um derivado da metilxantina, é um inibidor inespecífico das fosfodiesterases largamente prescrito nas desordens vasculares caracterizadas por deficiência na microcirculação regional, em virtude do seu efeito vasodilatador (SALAM, 2003; OCHIAI, 2004), inibindo vários mecanismos inflamatórios, incluindo a cascata do complemento, a aderência dos neutrófilos, a produção de citocinas e a proliferação de fibroblastos dérmicos (CARNEIRO et al., 2005). Este fármaco possui importante propriedade vasodilatadora, diminuindo a agregação de células sangüíneas, ativação do fibrinogênio e a viscosidade do plasma, causando aumento na perfusão tecidual local e na hemodinâmica. Em ratos com torção testicular, a pentoxifilina melhorou a circulação sangüínea devido, provavelmente, a vasodilatação (SAVAS et al., 2002).

Além de sua capacidade de incremento da perfusão tecidual, a pentoxifilina possui atividade antiinflamatória em artrites e edemas causados por inflamações cutâneas oriundas de raios ultravioletas, em gastrites induzidas por terapia com antiinflamatórios não esteróides e esteróides, além de acelerar a recuperação de úlceras, prevenção de fibrose hepática, hipertensão portal e cardiopatia dilatada de origem idiopática (SALAM, 2003).

Segundo Radfar (2005), a pentoxifilina possui alguns efeitos na produção do fator de crescimento epidermal (EGF) e nos níveis de óxido nítrico em pacientes com diabetes do tipo II, pois esta droga inibe a xantina oxidase, a qual é considerada como a principal formadora de radicais de oxigênio livre nas células. Além disso, a pentoxifilina diminui a produção de fator de necrose tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ), uma das principais moléculas de sinalização parácrina produzida principalmente por macrófagos ativados em processos inflamatórios inespecíficos crônicos e imunomediados.

Nas pesquisas relacionadas com reprodução, a utilização da pentoxifilina melhorou a diferenciação *in vitro* de células germinativas masculinas em pacientes com interrupção na maturação *in vivo* e pacientes com espermatogênese normal (TESARIK, 2000). Ainda relacionado à reprodução, a administração deste fármaco diminuiu marcadamente a nefrotoxicidade e a toxicidade testicular induzida pela cisplatina, droga anticancerígena que promove alterações histológicas e bioquímicas neste órgão (SAAD et al., 2004).

Estudos mostraram que a pentoxifilina tem propriedades antioxidantes devido à redução de danos ao embrião induzido pelo peróxido de hidrogênio, o que, conseqüentemente, melhorou a fertilização *in vitro* (ZHANG et al., 2005). Além disso, esta droga vem sendo testada no sêmen com o objetivo de melhorar a motilidade dos espermatozóides (CALOGERO et al., 1998; NASSAR et al., 1998), e nos processo de fertilização *in vitro* (FIV) para intensificar a ligação de espermatozóides na zona pelúcida, aumentando a eficácia da fertilização e, conseqüentemente, melhorando a incidência de gravidez (RUPASRI et al., 1995; NASSAR et al., 1998).

A torção do cordão espermático é uma síndrome urológica sobre a qual se deve atuar emergencialmente para evitar a perda funcional dos testículos. A principal causa de lesão é a isquemia seguida pela lesão de reperfusão associada com a produção excessiva de espécies de oxigênio e nitrogênio reativas. O estresse oxidativo se origina com o recrutamento de neutrófilos dependente da expressão de E-selectinas na superfície das veias testiculares após torção. As citocinas, o fator de necrose tumoral- $\alpha$  e a interleucina-1 $\beta$ , ativam a via cinase-relacionada com a expressão de E-selectina após torção. No testículo o stress oxidativo é inibido por bloqueadores de radicais livres derivados de oxigênio reativo, resultando na redução dos danos testiculares após a lesão (TURNER et al., 2004).

Embora não se saiba conclusivamente os mecanismos moleculares dos antioxidantes sobre o controle da fertilidade, terapias que utilizam antioxidantes podem representar uma estratégia terapêutica em homens com infertilidade mediada por espécies de oxigênio reativo (ROS) após torção testicular (DOKMECI., 2006)

A pentoxifilina possui atividade antiinflamatória, a qual está provavelmente relacionada a sua habilidade de suprimir a produção de radicais livres ou de neutralizar espécies de oxigênio reativo (VADIRAJA et al., 2001). Estudo experimental conduzido em ratos Wistar para avaliar os efeitos da pentoxifilina sobre a peroxidação lipídica e os achados histopatológicos após torção e distorção testicular unilateral constatou que a pentoxifilina atenuou os danos testiculares provocados por reperfusão ( SAVAS et al., 2002).

### **3 Justificativa**

Do ponto de vista reprodutivo, tem sido crescente o interesse sobre meios que possibilitem a manutenção da fertilidade, tanto de caráter individual ou de um plantel mantido em ambientes com altas temperaturas. Partindo-se do princípio que as mudanças na temperatura podem interferir na taxa de fertilidade dos machos, devido a processos degenerativos testiculares, é que lançamos a hipótese de que a utilização da pentoxifilina [1-(5-oxohexil)-3, 7-dimetilxantina] um derivado de metilxantina pode prevenir ou acelerar o processo de recuperação da espermatogênese, quando os testículos forem submetidos a estresse térmico.

### **4 Objetivos**

#### **4.1. Objetivo geral:**

- Observar o potencial profilático da pentoxifilina sobre as ações deletérias do calor sobre o parênquima testicular e a sua capacidade terapêutica em acelerar o processo de recuperação da espermatogênese.

#### **4.2 Objetivos específicos:**

- a. Avaliar o desempenho ponderal do peso corporal dos ratos machos, durante todo período experimental;
- b. Acompanhar o peso testicular nos períodos pós-choque térmico nos grupos experimentais;
- c. Avaliar histopatologicamente o parênquima testicular nos animais submetidos ao choque térmico, tratados ou não com pentoxifilina.
- d. Determinar o número de células apoptóticas por secção transversal de dez túbulos seminíferos, realizando média do número de células em apoptoses nos túbulos seminíferos em animais submetidos ao choque térmico, tratados ou não com pentoxifilina
- e. Determinou as proporções volumétricas entre componentes do parênquima testicular nos diversos tempos experimentais.

- f. Avaliou a altura do epitélio seminífero e diâmetro dos túbulos seminíferos nos períodos pós-choque térmico;
- g. Determinou a população celular por secção transversal de túbulos seminíferos no estágio VII do ciclo do epitélio seminífero.
- h. Obteve o número de células de Sertoli por grama de parênquima testicular e por testículo nos períodos pós-choque térmico;
- i. Determinou a produção espermática diária por testículo e por grama de testículo nos animais submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com pentoxifilina.
- j. Realizou dosagem de testosterona nos períodos pós-choque térmico dos animais tratados ou não com pentoxifilina;



## 5. Material e Métodos

### 5.1 Procedimentos Experimentais

Para realização do presente experimento, foram utilizados 72 ratos macho da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*, var. *albinus*), obtidos do biotério do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal (DMFA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Os animais foram mantidos na temperatura  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ , em ciclo claro-escuro de 12 horas, com água e comida oferecidas *ad libitum* até o final do experimento. Os ratos com 90 dias de idade foram escolhidos por amostragem não probabilística de conveniência e submetidos aos diversos tratamentos, de acordo com o grupo experimental: (18) ratos controle submetido choque térmico; (18) ratos controle não submetido a choque térmico; (18) ratos submetidos choque térmico e tratados com 50mg/kg de pentoxifilina e (18) ratos submetidos choque térmico e tratados com 100mg/kg pentoxifilina.

Os tratamentos foram iniciados aos 90 dias com duas aplicações diárias intraperitoneal de solução veículo ou pentoxifilina, de acordo com o grupo de tratamento, durante os 30 primeiros dias antes do choque térmico. A pesagem dos animais foi realizada diariamente, para acompanhamento do peso corporal e cálculo das doses de pentoxifilina. Aos 120 dias os animais foram anestesiados intraperitonealmente com tiopental sódico (30mg/Kg, LUE et al., 1999) para que os testículos e a cauda fossem imersos por 15 minutos em água na temperatura de  $43^\circ\text{C}$ . Posteriormente a exposição térmica, os animais foram transferidos para suas caixas e mantidos em temperatura ambiente até a recuperação da anestesia. Os animais de cada grupo foram perfundidos nos dias 1, 3, 7, 15, 30 e 60 após a realização do choque térmico testicular para observação dos efeitos temporal do calor sobre o processo espermatogênico e a influência da pentoxifilina sobre a prevenção destes efeitos e sobre a aceleração da recuperação da função testicular (Tabela 1).

Antes da realização da perfusão, cada animal foi heparinizado (125 UI/100g de peso corporal) e anestesiado por injeção intraperitoneal de tiopental sódico (50mg/kg; ROCHE, Brasil). Após a abertura do animal, da região mentoniana até a sínfise púbica, foi realizada coleta de sangue por punção no seio venoso das veias cavas, o qual foi centrifugado e acondicionado em ependorffs à  $-20^\circ\text{C}$  em duas alíquotas de 1mL de plasma sanguíneo, para posterior dosagem de testosterona.

Quadro. 1 – Disposição dos grupos experimentais, número de animais segundo os tempos de observação e método de fixação tecidual.

Grupos experimentais	Duração de tratamento pré-choque térmico	Choque térmico (43°/15min)	Dias de coleta após submissão de testículo a choque térmico/número de animais					
			1	3	7	15	30	60
Perfusão com glutaraldeído 4%			1	3	7	15	30	60
Controle sem choque térmico (n=18)	30dias	Ratos com 120 dias de idade	3	3	3	3	3	3
Controle choque térmico (n=18)	30 dias	Ratos com 120 dias de idade	3	3	3	3	3	3
+ Pentoxifilina (50mg/kg) (n=18)	30 dias	Ratos com 120 dias de idade	3	3	3	3	3	3
choque térmico + Pentoxifilina (100mg/kg) (n=18)	30 dias	Ratos com 120 dias de idade	3	3	3	3	3	3

Após coleta de sangue foi feita perfusão intracardíaca com solução fisiológica de NaCl a 0,9%, acrescida de heparina sódica (500 UI/L; AKZO ORGANON TEKNIKA) e nitroprussiato (100mg/L; SIGMA), por um período de tempo entre 5 e 10 minutos. Antes realização da perfusão com glutaraldeído, dois fragmentos de um dos testículos foram coletados e fixados em solução de formalina tamponada a 10% em fosfato monobásico e bibásico de sódio segundo Tolosa et al. (2003). Em seguida, os animais foram perfundidos com solução fixadora de glutaraldeído (VETEC, Brasil) a 4%, em tampão fosfato de sódio, pH 7,2 e 0,01M, durante 25 minutos.

Após a perfusão com solução fixadora foram removidos e pesados: testículos, epidídimos, próstata e glândula seminal.

Os testículos foram seccionados em fragmentos de até 2mm de espessura, os quais foram submetidos à refixação na solução glutaraldeído (VETEC, Brasil) a 4%, em tampão fosfato de sódio, pH 7,2 e 0,01M. Para os estudos em microscopia de fotônica, os fragmentos foram processados rotineiramente para inclusão em resina plástica à base de glicol metacrilato (LEICA). De acordo com a metodologia, cortes histológicos foram corados em azul de toluidina/borato de sódio a 1% (RUSSEL et al., 1990). Fragmentos testiculares foram processados rotineiramente para inclusão em parafina e cortes histológicos com 5µm de espessura foram corados em solução alcoólica azul do nilo (KIMURA E SHIOTA, 1996; TOLOSA et al., 2003). Em anexos podemos observar túbulos em corte transversal e corados

com solução alcoólica azul do nilo, evidenciando apoptoses nos diversos tempos experimentais e dosagem de pentoxifilina.

## 5.2 Análise Morfométrica Testicular

O diâmetro tubular e a altura do epitélio serão medidas em aumento de 100X usando retículo micrométrico linear (10mm/100 - Olympus) calibrado com um micrômetro padrão. O diâmetro tubular médio para cada rato foi obtido a partir da mensuração de quinze túbulos, em diversos estágios do ciclo do epitélio seminífero, escolhidos aleatoriamente, com perfis redondos ou arredondados. A altura do epitélio foi obtida nos mesmos túbulos utilizados para determinar o diâmetro tubular. Para tal, foram tomadas duas medidas diametralmente opostas, tendo como referência a túnica própria e o limite entre o lume e epitélio germinativo determinando-se, desta forma, a altura média do epitélio seminífero.

Os dados volumétricos da composição do parênquima testicular foram obtidos usando contagem de pontos por alocação sistemática de grátula micrométrica (Olympus) com 441 pontos de intersecção sobre a preparação histológica de testículo em aumento de 400X. Quinze campos foram contabilizados aleatoriamente somando um total de 6615 pontos para cada animal.

O testículo do rato é dividido em dois compartimentos, tubular e intertubular ou intersticial. Do primeiro foram avaliados a túnica própria, o epitélio seminífero e o lume; enquanto no segundo foram investigados as células de Leydig, células e fibras do tecido conjuntivo, vasos sangüíneos e linfáticos. Como a densidade do testículo é em torno de 1,03 a 1,04 (França, 1991), o peso do testículo foi considerado igual ao seu volume.

O volume de cada componente do testículo, expresso em  $\mu\text{L}$  foi estabelecido a partir do produto entre a densidade volumétrica dos constituintes testiculares (%) e o peso líquido do testículo (mg). O valor deste último foi obtido pela subtração 6,5% da albugínea do peso testicular bruto (RUSSELL e FRANÇA, 1995).

O comprimento total dos túbulos seminíferos (CT) por testículo expresso em metros foi estimado a partir do conhecimento do volume ocupado pelos túbulos seminíferos no testículo e do diâmetro tubular médio obtido para cada animal. A seguinte fórmula foi empregada (ATTAL e COUROT, 1963; DORST e SAJONSKI 1974):  $CT = VTS / \pi R^2$ , onde VTS = Volume total de túbulos seminíferos;  $\pi R^2$  = Área da secção transversal dos túbulos seminíferos (R = diâmetro tubular/2).

A estimativa dos diferentes tipos celulares que compõem o epitélio seminífero no estágio 7 do ciclo, classificado de acordo com o método acrossômico (RUSSELL et al., 1990) foi feita a partir de contagens dos núcleos das células germinativas e de nucléolos das células de Sertoli. Nestas contagens, foram utilizadas 5 secções transversais de túbulos seminíferos para cada animal. Os núcleos dos seguintes tipos celulares foram contados: espermatócitos I, na fase de pré-leptóteno/ leptóteno (SPT I Pl/L); espermatócitos I, na fase de paquíteno (SPT I P); espermátides arredondadas (SPD Ar); nucléolo de células de Sertoli.

Com exceção dos núcleos das células de Sertoli, as contagens obtidas foram corrigidas para o diâmetro nuclear e espessura do corte histológico, utilizando-se a seguinte fórmula de Abercrombie.(1946), modificada por Amann e Almqvist.(1962):

$$\text{Número corrigido} = \text{contagem obtida} \times \frac{\text{Espessura do corte}}{\text{Espessura do corte} + \sqrt{\left(\frac{DM^2}{2}\right) - \left(\frac{DM^2}{4}\right)}}$$

O diâmetro nuclear médio (D.M.) representa a média das medidas dos diâmetros de 10 núcleos do tipo celular estudado, para cada animal. Os diâmetros nucleares serão medidos com o auxílio de retículo micrométrico linear (10mm/100 - Olympus) adaptada a uma das oculares de 10x e acoplada à objetiva de 100x, propiciando um aumento final de 1000x. No caso das espermatogônias do tipo A que possuem núcleos ovóides, o valor utilizado foi aquele obtido pela média entre diâmetro nuclear maior e menor. Os números de células de Sertoli foram corrigidos para o diâmetro nucleolar e espessura do corte histológico, em virtude disto, contabilizar-se-á exclusivamente células de Sertoli com nucléolo visível, o que proporcionará aplicação da mesma fórmula citada anteriormente.

A população total de células de Sertoli por testículo foi obtida a partir do número corrigido de nucléolos de células de Sertoli por secção transversal de túbulo seminífero no estágio VII e do comprimento total de túbulos seminíferos por testículo, segundo a fórmula empregada por Hochereau-de-Reviere e Lincoln.(1978):

$$\text{Número CS Testículo} = \frac{\text{Comp. Tot. Tub. Sem.} \times \text{Num. Cor. Nucl. CS Sec. Transv.}}{\text{Espessura do Corte}}$$

A produção espermática diária por testículo e por grama de testículo foram obtidas de acordo com Rocha et al. (1999) e Silva Júnior et al. (2006):

$$PED = \frac{N^{\circ} \text{ Total CS Testículo} \times P \text{ rop. AR} \times \text{Freq. R el. Est. VII}}{\text{Duração do Estágio VII}}$$

A contagem das células germinativas em apoptose coradas pelo azul do Nilo ou violeta cristal foi realizada em túbulos seminíferos com o perfil mais arredondado possível, afim de evitar possíveis erros de contagem por superestimação de valores.

Os dados biométricos e histométricos foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão. Foram realizadas as análises de variância entre os grupos (ANOVA) e o teste de Tukey, com nível de significância de  $p < 0.05$ .

### 5.3 Análise da Testosterona Plasmática

A dosagem foi realizada pelo método de enzima-imuno-ensaio (ELISA - Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay), com leitura de absorbância em 405 nm, conforme descritos por BROWN *et al.* (2004).

Portanto neste ensaio foram inicialmente utilizados 66,7 $\mu$ l do anticorpo (Polyclonal anti-testosterona R156/7, Coralie Munro, University of California, Davis, USA.) serão diluídos em 5 ml de tampão (coating buffer; Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O ultra pura, pH ajustado para 9,6) e 50 $\mu$ l desta solução de anticorpo serão adicionados em cada poço da placa (NUNC Immuno TM plates, Maxisorp). Após isso, a placa foi coberta com selador plástico e mantida a 4°C por 12 horas no máximo.

Uma vez preparada a placa, prepararam-se a curva padrão, por meio de diluições seriadas de 250 $\mu$ l do padrão de concentração 600 pg/50 $\mu$ l de testosterona (17-hydroxy-4-androsten-3-one, Steraloids, Sigma A6950) até a concentração de 2,3 pg/50 $\mu$ l, em 250 $\mu$ l de solução de ensaio de ELISA (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; NaCl; BSA - Sigma Aldrich, A7906; H<sub>2</sub>O ultra pura, pH ajustado para 7,00). O hormônio conjugado com a enzima HRP (Testosterone-horseradish Peroxidase) foi também diluído (33,3 $\mu$ l em 5 ml da solução de ensaio de ELISA).

Imediatamente antes de dar início ao ensaio, a placa foi lavada 5 vezes com a solução de lavagem (NaCl; Tween 20 – Sigma, P1379; H<sub>2</sub>O ultra pura) e o excesso de solução foi retirado, batendo-se a placa em papel toalha. A seguir, em cada poços correspondentes foram pipetados 50 $\mu$ l dos padrões, controles e amostras e logo após 50 $\mu$ l da HRP, com o cuidado de não se ultrapassar mais que 10 minutos neste processo. A placa foi novamente coberta com o selador e deixada incubando por exatamente 1 hora, em temperatura ambiente. Após esse período foi repetido o procedimento de lavagem.

Finalmente, foram preparados, imediatamente antes do uso, a solução de substrato para ELISA combinando 40µl 0,5M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 125µl 40 mM ABTS (Calbiochem, ABTS<sup>TM</sup> Chromophore, Diammonium Salt) e 12,5 ml de solução de substrato para ELISA (ácido cítrico; H<sub>2</sub>O ultra pura, pH ajustado para 4,00). Sendo adicionado 100µl em todos os poços contendo padrão, controle ou amostra. A placa foi coberta, para incubar em temperatura ambiente e sob agitação (Multi-Pulse Vortexer; modelo 099A VB4, 50/60Hz – Glass-Col®), até que a densidade óptica dos poços zero fique entre 0.9 e 1. Procedeu-se então a leitura no leitor de microplacas (TECAN).

Todas as amostras foram lidas em duplicata, com coeficiente de variação intra e inter-ensaio menor do que 10%.

## 6. Resultados

De acordo com a tabela e figura 1, podemos observar que não ocorreu variação significativa entre os diferentes grupos experimentais com relação ao peso corporal. Contudo, foi observado no terceiro dia, que os animais submetidos ao choque térmico apresentaram tendência de aumento no peso corporal. Já no 15º dia encontramos uma convergência de todos os grupos experimentais em relação ao peso corporal. Todavia, faz-se importante ressaltar que durante o período experimental os animais do grupo controle, submetidos ao choque térmico testicular e tratados com 50mg e 100mg apresentaram uma tendência no crescimento do peso corporal.

Com raras exceções, a inibição farmacológica da atividade das PDE's resulta em aumento da sinalização através via AMPc-dependente, um efeito que mimetiza a estimulação por hormônios e neurotransmissores. Entretanto, a interrupção do sistema de inativação do AMPc pelas PDE's pode prejudicar a homeostase e a diferenciação celular (THOMPSON, 1993). De acordo com Jim et al (1999), camundongos deficientes de PED4D tiveram um decréscimo de 30 a 40% no peso corporal entre a 1ª e 2ª semanas após o nascimento. A taxa de crescimento retornou ao normal após duas semanas, contudo, o peso dos camundongos adultos continuou abaixo do normal.

Desordens metabólicas relacionadas a septicemias possuem sintomas como perda de peso corporal, perda de massa muscular e síntese protéica hepática aguda que estão relacionadas com o TNF $\alpha$ , uma citocinas pró-inflamatórias (BREUILLE et al., 1993; BATCHELDER e MAYOSI, 2005). A utilização da pentoxifilina em animais com septicemia promoveu diminuição da anorexia, perda de peso e massa muscular devido a inibição desta citocina nas concentrações plasmáticas (BREUILLE et al., 1999).

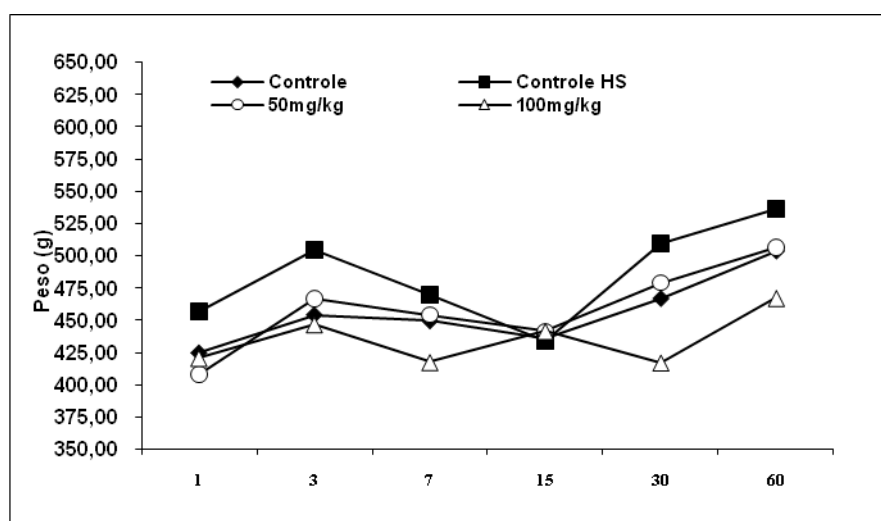
Até o momento, pelo menos 20 genes para PDE e quase 50 tipos de proteínas distintas para PDE's foram descritas em células de mamíferos (CONTI, 2000). Estas isoenzimas são caracterizadas por suas diferenças bioquímicas e propriedades cinéticas, localização subcelular e mecanismos de regulação. Entretanto, as razões pelas quais uma célula necessita de expressão de uma grande variedade de PDE's com sobreposições de função ainda não foi completamente compreendida (JIM et al., 1999).

Esta diversidade de PDE's e as prováveis diferenças entre espécies podem estar relacionadas aos resultados encontrados no presente experimento, no que se refere à ausência de alterações marcantes no peso corporal, em virtude da utilização do inibidor inespecífico para estas enzimas.

**Tabela 1.** Peso corporal em gramas de ratos wistar controle e submetidos a (Heat Shock)choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média  $\pm$  desvio padrão).

Dias pós choque térmico	Grupos experimentais			choque térmico + Pentoxifilina 100mg/kg (G4)	P
	Controle (G1)	Controle com choque térmico (G2)	choque térmico + Pentoxifilina 50mg/kg (G3)		
1 (n=3)	425,00 $\pm$ 20,81	456,67 $\pm$ 22,50	408,00 $\pm$ 25,06	421,00 $\pm$ 28,58	0,0653
3 (n=3)	454,33 $\pm$ 36,95	504,33 $\pm$ 62,74	466,67 $\pm$ 51,86	447,00 $\pm$ 40,36	0,6781
7 (n=3)	449,67 $\pm$ 5,77	469,67 $\pm$ 58,02	454,33 $\pm$ 31,88	417,67 $\pm$ 37,87	0,4227
15 (n=3)	435,67 $\pm$ 14,01	433,67 $\pm$ 64,68	441,67 $\pm$ 14,19	441,67 $\pm$ 7,64	0,8894
30 (n=3)	467,00 $\pm$ 23,51	443,00 $\pm$ 27,87	479,00 $\pm$ 65,83	417,33 $\pm$ 13,57	0,1364
60 (n=3)	503,67 $\pm$ 8,50	536,33 $\pm$ 43,84	506,33 $\pm$ 99,61	467,33 $\pm$ 3,51	0,3200

n = Número de animais após tempo de exposição. Os animais do grupo 50mg/kg e 100mg/kg foram pré-tratados durante 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico. Letras distintas na mesma linha indicam  $p < 0,05$ .



**Figura 1.** Peso corporal em gramas de ratos Wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média  $\pm$  desvio padrão). Os animais do grupo 50mg/kg e 100mg/kg foram pré-tratados durante 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico.

Como podemos observar na tabela 2, não houve diferença significativa no peso testicular entre os tratamentos dos diferentes tempos experimentais. Contudo, observou-se uma tendência à redução de peso testicular nos animais que sofreram choque térmico e não foram tratados com pentoxifilina. Entretanto, de acordo com a figura 2, torna-se importante ressaltar que os animais submetidos a choque térmico e tratados com pentoxifilina



apresentaram uma tendência de recuperação deste parâmetro de maneira mais uniforme quando comparados com os animais apenas submetidos ao choque térmico.

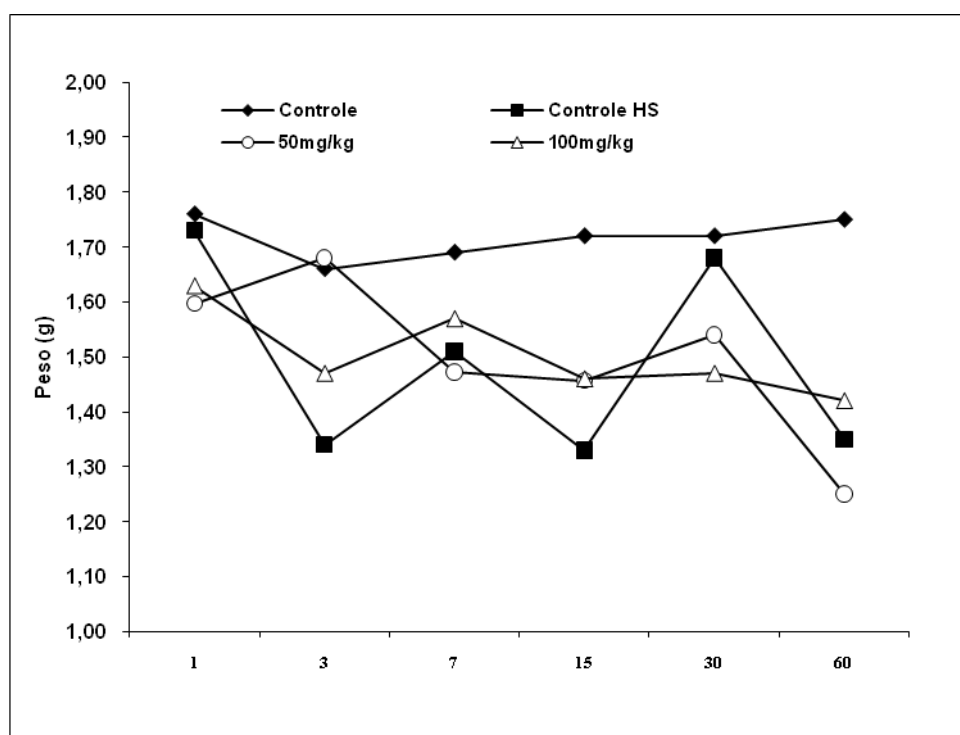
De acordo com França e Russell (1998), o peso testicular é altamente correlacionado com a produção espermática e com parâmetros histométricos testiculares como diâmetro tubular, altura do epitélio e comprimento total de túbulos seminíferos.

A exposição aguda ou crônica do testículo ao calor promove alteração em sua massa, perímetro escrotal e a motilidade espermática. Isso ocorre em ratos no período entre 1 a 2 dias após uma única exposição do testículo a uma temperatura de 41°C por 60 minutos ou 43°C por 30 minutos (SETCHELL et al., 1996). Apesar de não ter ocorrido diferença entre os grupos experimentais,

**Tabela 2.** Peso testicular (g), de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média  $\pm$  desvio padrão).

Dias pós choque térmico	Grupos experimentais				P
	Controle (G1)	Controle com choque térmico (G2)	choque térmico + Pentoxifilina 50mg/kg (G3)	choque térmico + Pentoxifilina 100mg/kg (G4)	
<b>1 (n=3)</b>	1,76 $\pm$ 0,18	1,73 $\pm$ 0,15	1,60 $\pm$ 0,05	1,63 $\pm$ 0,12	0,3078
<b>3 (n=3)</b>	1,66 $\pm$ 0,12	1,34 $\pm$ 0,51	1,68 $\pm$ 0,10	1,47 $\pm$ 0,11	0,1939
<b>7 (n=3)</b>	1,72 $\pm$ 0,22	1,51 $\pm$ 0,18	1,47 $\pm$ 0,35	1,57 $\pm$ 0,06	0,5790
<b>15 (n=3)</b>	1,72 $\pm$ 0,04	1,36 $\pm$ 0,47	1,46 $\pm$ 0,04	1,46 $\pm$ 0,10	0,1441
<b>30 (n=3)</b>	1,71 $\pm$ 0,33	1,68 $\pm$ 0,23	1,53 $\pm$ 0,31	1,47 $\pm$ 0,07	0,6303
<b>60 (n=3)</b>	1,75 $\pm$ 0,10	1,35 $\pm$ 0,31	1,25 $\pm$ 0,30	1,42 $\pm$ 0,13	0,0681

n = Número de animais após tempo de exposição. Os animais do grupo 50mg/kg e 100mg/kg foram pré-tratados durante 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico. Letras distintas na mesma linha indicam  $p < 0,05$ .



**Figura 2.** Peso testicular (g), de ratos Wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média  $\pm$  desvio padrão). Os animais do grupo 50mg/kg e 100mg/kg foram pré-tratados por 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico.

Na tabela 3 e figura de mesma numeração, observa-se que não houve diferença significativa no peso epididimário e entre os diferentes tratamentos nos tempos experimentais. No entanto foi observada tendência de diminuição no peso epididimário entre os dias um e três, como mostra a figura 3 nos animais que sofreram choque térmico, e os tratados como 50mg e 100mg pós-choque térmico. É importante ressaltar que houve uma tendência à constância nos parâmetros do peso epididimário entre os grupos controle e os diferentes tratamentos após o 7º dia.

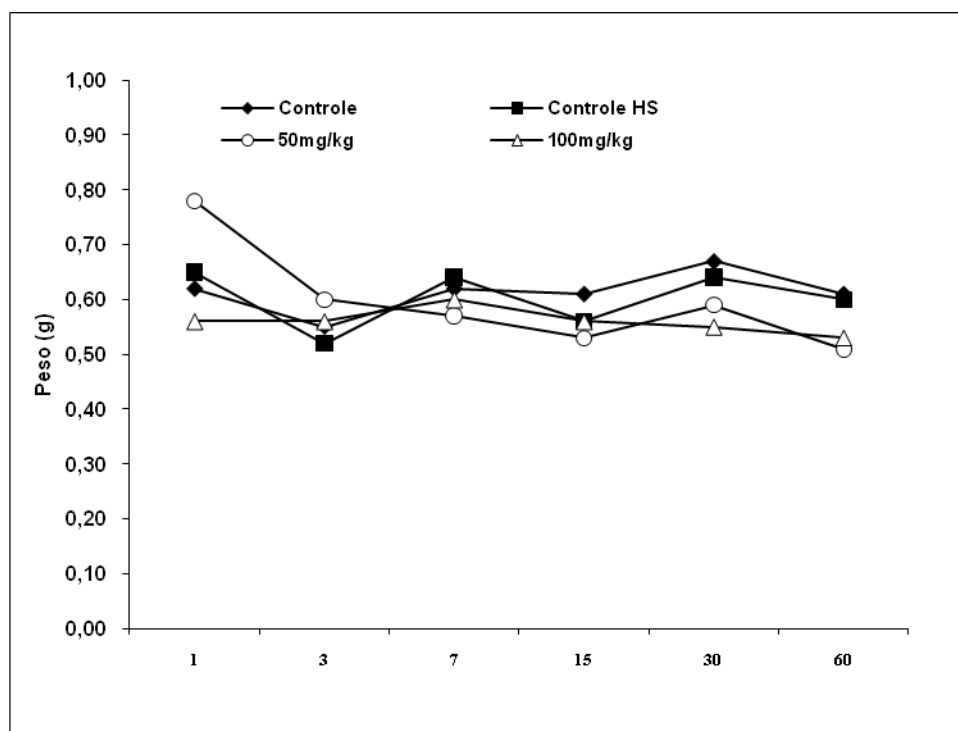
Temperaturas supra-escrotais podem alterar os espermatozoides maduros durante o estágio final de desenvolvimento ou na região da cabeça do epidídimo, ocorrendo alterações estruturais e metabólicas; este gameta pode fertilizar, mas ocorre a morte embrionária subsequente (GABALDI e WOLF, 2002). De acordo com Cao et al., (2009), o estresse

térmico é capaz de induzir diferentes graus de diminuição no índice epididimário e concentração espermática pós-choque térmico. Além disso, segundo os mesmos autores, após o estresse térmico a HSP70 foi expressa principalmente no citoplasma das células com estereocílios, porém não se observou esta expressão em células claras e basais. Portanto, de acordo com o nosso experimento o choque térmico pode influenciar o epidídimo e suas funções, porém a utilização da PTX pode reduzir os efeitos do calor sobre a estrutura e função epididimária (CAO et al., 2009).

**Tabela 3.** Peso epididimário (g) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média  $\pm$  desvio padrão).

Dias pós choque térmico	Grupos experimentais			choque térmico + Pentoxifilina 100mg/kg (G4)	P
	Controle (G1)	Controle com choque térmico (G2)	choque térmico + Pentoxifilina 50mg/kg (G3)		
<b>1 (n=3)</b>	0,62 $\pm$ 0,03	0,65 $\pm$ 0,06	0,78 $\pm$ 0,28	0,53 $\pm$ 0,05	<b>0,1975</b>
<b>3 (n=3)</b>	0,57 $\pm$ 0,02	0,52 $\pm$ 0,17	0,60 $\pm$ 0,01	0,56 $\pm$ 0,02	<b>0,2873</b>
<b>7 (n=3)</b>	0,62 $\pm$ 0,07	0,64 $\pm$ 0,02	0,57 $\pm$ 0,05	0,60 $\pm$ 0,03	<b>0,1720</b>
<b>15 (n=3)</b>	0,62 $\pm$ 0,06	0,55 $\pm$ 0,08	0,53 $\pm$ 0,02	0,56 $\pm$ 0,05	<b>0,2064</b>
<b>30 (n=3)</b>	0,67 $\pm$ 0,11	0,64 $\pm$ 0,07	0,56 $\pm$ 0,07	0,51 $\pm$ 0,08	<b>0,1203</b>
<b>60 (n=3)</b>	0,61 $\pm$ 0,04	0,60 $\pm$ 0,08	0,51 $\pm$ 0,09	0,53 $\pm$ 0,05	<b>0,2435</b>

n = Número de animais após tempo de exposição. Os animais do grupo 50mg/kg e 100mg/kg, foram pré-tratados durante 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico. Letras distintas na mesma linha indicam  $p < 0,05$ .



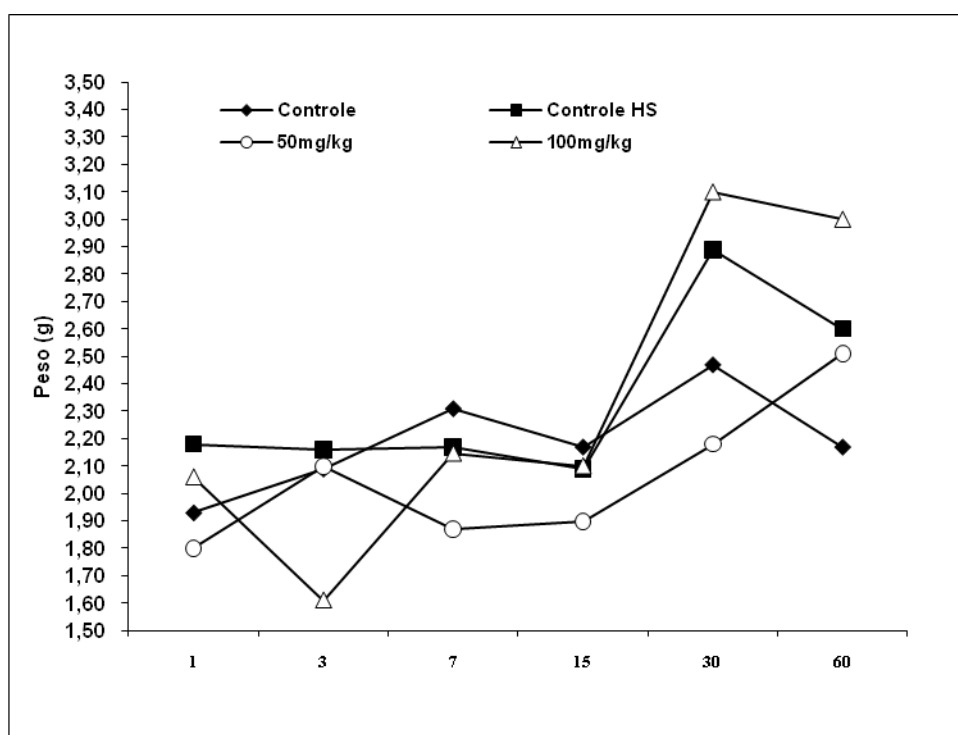
**Figura 3.** Peso de epididimário (g) de ratos Wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média ± desvio padrão). Os animais do grupo 50mg/kg e 100mg/kg foram pré-tratados por 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico

Como podemos observar na tabela 4, referente ao peso da próstata não foi significativa entre os tratamentos dos diferentes tempos experimentais. Contudo, foi observada tendência de aumento no peso da próstata dos animais controle, dos que sofreram choque térmico e dos que foram tratados com pentoxifilina ao longo do tempo. Deve-se ressaltar que o grupo controle apresentou menor variação no peso da próstata, como mostra a figura 4.

**Tabela 4.** Peso da Próstata (g) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média ± desvio padrão).

Dias pós choque térmico	Grupos experimentais				P
	Controle (G1)	Controle com choque térmico (G2)	choque térmico + Pentoxifilina 50mg/kg (G3)	choque térmico + Pentoxifilina 100mg/kg (G4)	
<b>1 (n=3)</b>	1,93 ± 0,14	2,18 ± 0,22	1,80 ± 0,32	2,06 ± 0,68	0,5254
<b>3 (n=3)</b>	2,10 ± 0,32	2,16 ± 0,13	2,10 ± 0,16	1,61 ± 0,21	0,0784
<b>7 (n=3)</b>	2,31 ± 0,36	2,17 ± 0,26	1,87 ± 0,18	2,15 ± 0,23	0,2401
<b>15 (n=3)</b>	2,17 ± 0,19	2,09 ± 0,22	1,90 ± 0,28	2,10 ± 0,23	0,5921
<b>30 (n=3)</b>	2,47 ± 0,25	2,89 ± 0,005	2,18 ± 0,40	3,10 ± 1,01	0,4555
<b>60 (n=3)</b>	2,17 ± 0,38	2,60 ± 1,11	2,51 ± 0,17	3,00 ± 0,86	0,6399

n = Número de animais após tempo de exposição. Os animais do grupo 50mg/kg e 100mg/kg foram pré-tratados durante 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico. Letras distintas na mesma linha indicam p<0,05.



**Figura 4.** Peso da Próstata (g) de ratos Wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média  $\pm$  desvio padrão). Os animais do grupo 50mg/kg e 100mg/kg foram pré-tratados por 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico.

De acordo com a tabela e figura 5, podemos observar que não houve diferença significativa entre os diferentes tratamentos nos tempos experimentais com relação ao peso da glândula seminal. No entanto foi observado, no terceiro dia pós-choque térmico, nos animais 50mg/kg tendência a redução no peso da glândula seminal no grupo submetido ao choque térmico testicular e uma tendência ao aumento do peso da glândula seminal nos grupos, choque térmico, 50mg e 100mg de pentoxifilina aos 60 dias em relação ao grupo controle.

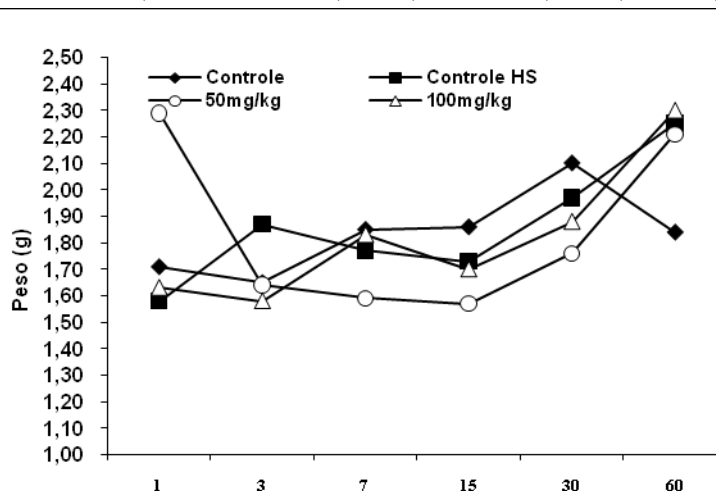
A atividade da próstata e glândula seminal, no indivíduo adulto possui íntima correlação com os níveis de andrógenos, principalmente a testosterona testicular, uma vez que a orquiectomia ou drogas com atividades farmacológicas anti-androgênicas promovem atrofia das glândulas sexuais acessórias (NERI, 1989; LUKE e COFFEY, 1994; TUCKER e JONES, 1996; ISWARAN et al., 1997). Por outro lado, o aumento dos níveis séricos de testosterona e andrógenos de outras fontes podem produzir hiperplasia ou hipertrofia de glândulas sexuais acessórias (BRUENGER et al., 1986, MCGINNIS et al., 2002). A capacidade secretora de testosterona não é correlacionada com o número de células de Leydig por grama de testículo, volume de vasos sanguíneos, forma alongada das células ou macrófagos e, sim com o volume destas células e com o seu número por testículo (SILVA JÚNIOR, 2000).

Neste trabalho os diferentes protocolos experimentais não produziram alterações nos pesos da próstata e glândula seminal. Por outro lado, o volume total de células de Leydig, apresentou tendência à redução deste parâmetro nos animais submetidos a choque térmico tratados ou não com pentoxifilina. Sabendo-se da relação andrógeno-dependente da próstata, da vesícula seminal é provável que a redução do peso, principalmente da próstata poderia estar relacionada à capacidade produtora de testosterona nos animais tratados. Entretanto, apesar da redução volumétrica das células de Leydig observada nos animais submetidos ao choque térmico e da tendência de redução dos níveis de testosterona nestes mesmos animais, isto parece não ter afetado o peso prostático e da vesícula seminal.

**Tabela 5.** Peso da Glândula Seminal (g) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós choque térmico (Média ± desvio padrão).

Dias pós choque térmico	Grupos experimentais				P
	Controle (G1)	Controle com choque térmico (G2)	choque térmico + Pentoxifilina 50mg/kg (G3)	choque térmico + Pentoxifilina 100mg/kg (G4)	
1 (n=3)	1,71 ± 0,21	1,58 ± 0,26	2,29 ± 0,89	1,63 ± 0,10	0,8395
3 (n=3)	1,65 ± 0,22	1,87 ± 0,10	1,64 ± 0,25	1,58 ± 0,24	0,0502
7 (n=3)	1,84 ± 0,27	1,77 ± 0,32	1,59 ± 0,12	1,83 ± 0,08	0,3467
15 (n=3)	1,87 ± 0,30	1,73 ± 0,32	1,57 ± 0,04	1,70 ± 0,03	0,2916
30 (n=3)	2,10 ± 0,17	1,64 ± 0,47	1,76 ± 0,40	1,88 ± 0,24	0,4784
60 (n=3)				1,09	0,0502

n = Número  
tempo de  
animais do  
100mg/kg  
durante 30  
pentoxifilina  
térmico.  
mesma linha



de animais após  
exposição. Os  
grupo 50mg/kg e  
foram pré-tratados  
dias com  
antes do choque  
Letras distintas na  
indicam p<0,05.

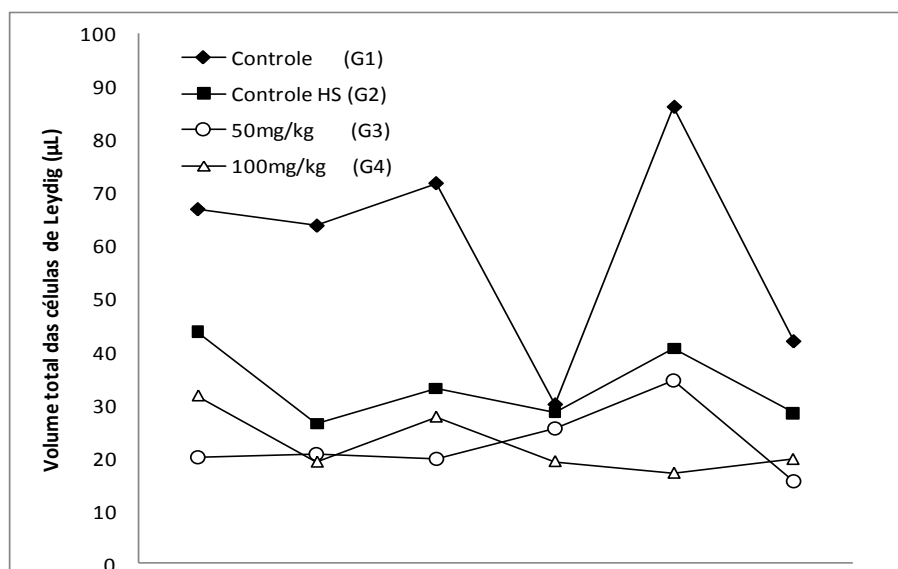
**Figura 5.** Peso da Vesícula (g) de ratos Wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média  $\pm$  desvio padrão). Os animais do grupo 50mg/kg e 100mg/kg foram pré-tratados por 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico.

De acordo com a tabela e figura 6 ocorreu uma redução significativa do volume total de células de Leydig no grupo submetido a choque térmico e tratado 50mg/kg com pentoxifilina em relação ao controle no 7º dia do período experimental. Também foi observado que aos 30 dias ocorreu diminuição significativa entre nos animais tratados com 100mg/kg de pentoxifilina pós-choque térmico e os animais do grupo controle. Na figura 6 é possível observar que os grupos submetidos ao choque térmico apresentaram, de maneira geral, uma tendência a redução no volume total das células de Leydig.

**Tabela 6.** Volume total das células de Leydig ( $\mu$ L) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média  $\pm$  desvio padrão).

Grupos Experimentais					
Dias pós choque térmico	Grupos Experimentais				P
	Controle (G1)	Controle com choque térmico (G2)	choque térmico + Pentoxifilina 50mg/kg (G3)	choque térmico + Pentoxifilina 100mg/kg (G4)	
1 (n=3)	66,8 $\pm$ 33,5	43,6 $\pm$ 25,7	19,8 $\pm$ 5,8	31,5 $\pm$ 2,0	<b>0,1507</b>
3 (n=3)	63,7 $\pm$ 15,6	26,3 $\pm$ 17,3	20,6 $\pm$ 8,5	19,0 $\pm$ 4,3	<b>0,0681</b>
7 (n=3)	71,7 $\pm$ 16,8a	33,0 $\pm$ 11,9ab	19,6 $\pm$ 4,7b	27,5 $\pm$ 5,6ab	<b>0,0234</b>
15 (n=3)	30,0 $\pm$ 5,9	28,4 $\pm$ 14,9	25,5 $\pm$ 7,9	19,1 $\pm$ 5,4	<b>0,3918</b>
30 (n=3)	86,1 $\pm$ 35,0a	40,5 $\pm$ 11,4ab	34,5 $\pm$ 1,6ab	16,9 $\pm$ 0,9b	<b>0,0044</b>
60 (n=3)	41,9 $\pm$ 27,7	28,3 $\pm$ 9,6	15,4 $\pm$ 7,3	19,5 $\pm$ 10,4	<b>0,1555</b>

n = Número de animais após tempo de exposição. Os animais do grupo 50mg/kg e 100mg/kg foram pré-tratados durante 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico. Letras distintas na mesma linha indicam  $p < 0,05$



**Figura 6.** Volume total das células de Leydig ( $\mu\text{L}$ ) de ratos Wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico

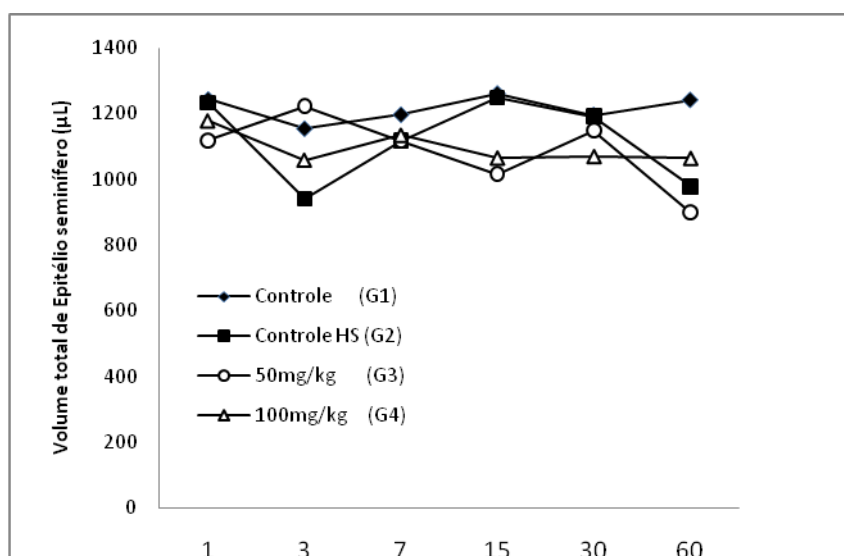
De acordo com a tabela e figura 7 não se observou diferença significativa no volume total de epitélio seminífero entre os tratamentos nos diferentes tempos experimentais. Contudo, observou-se uma tendência à redução do volume total de epitélio seminífero nos animais que sofreram choque térmico e não foram tratados com pentoxifilina, como também naqueles que foram tratados com 50mg e 100mg de pentoxifilina, quando comparados com o grupo controle o qual apresenta constância neste parâmetro ao longo do período experimental.

**Tabela 7.** Volume total de epitélio seminífero ( $\mu\text{L}$ ) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média  $\pm$  desvio padrão).

<b>Grupos Experimentais</b>					
<b>Dias pós choque térmico</b>	<b>Controle (G1)</b>	<b>Controle com choque térmico (G2)</b>	<b>choque térmico + Pentoxifilina 50mg/kg (G3)</b>	<b>choque térmico + Pentoxifilina 100mg/kg (G4)</b>	<b>P</b>
<b>1 (n=3)</b>	1242,6 $\pm$ 81,1	1231,9 $\pm$ 162,3	1117,8 $\pm$ 27,7	1178,0 $\pm$ 83,7	<b>0,4226</b>
<b>3 (n=3)</b>	1153,8 $\pm$ 67,4	941,5 $\pm$ 343,0	1222,6 $\pm$ 20,1	1057,8 $\pm$ 101,1	<b>0,4555</b>
<b>7 (n=3)</b>	1196,3 $\pm$ 238,6	1117,5 $\pm$ 167,7	1115,5 $\pm$ 88,3	1134,2 $\pm$ 100,8	<b>0,9855</b>
<b>15 (n=3)</b>	1260,6 $\pm$ 12,4	1248,8 $\pm$ 299,9	1015,7 $\pm$ 157,6	1064,6 $\pm$ 107,7	<b>0,1748</b>
<b>30 (n=3)</b>	1195,4 $\pm$ 197,5	1191,5 $\pm$ 286,4	1148,8 $\pm$ 282,1	1069,0 $\pm$ 32,6	<b>0,9006</b>
<b>60 (n=3)</b>	1241,3 $\pm$ 88,8	977,7 $\pm$ 226,7	899,2 $\pm$ 228,8	1063,5 $\pm$ 161,3	<b>0,3333</b>

n = Número de animais após tempo de exposição. Os animais do grupo G3 e G4 foram pré-tratados por 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico. Letras distintas na mesma linha indicam  $p < 0,05$ .





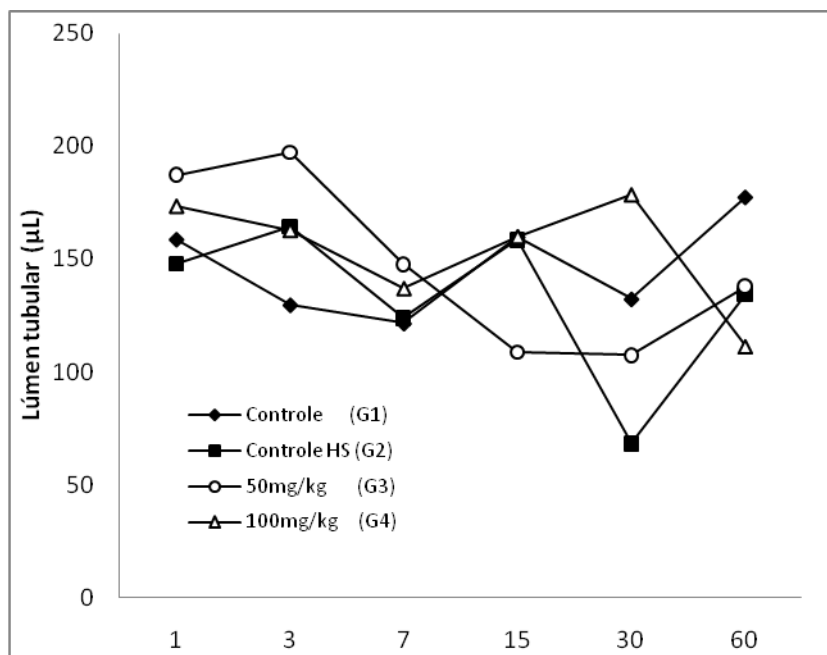
**Figura 7.** Volume total de Epitélio seminífero ( $\mu\text{L}$ ) de ratos Wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico.

Como podemos observar na tabela 8, não houve diferença significativa no lúmen tubular entre os tratamentos dos diferentes tempos experimentais. Contudo de acordo com a figura 8, notou-se uma tendência a redução no 7º dia neste parâmetro volumétrico em animais controle, nos que sofreram choque térmico e não foram tratados e, nos tratados com 50mg e 100mg de pentoxifilina.

**Tabela 8.** Lúmen tubular ( $\mu\text{L}$ ) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós choque térmico (Média  $\pm$  desvio padrão).

Grupos Experimentais					
Dias pós choque térmico	Controle com choque térmico				P
	Controle (G1)	Controle com choque térmico (G2)	choque térmico + Pentoxifilina 50mg/kg (G3)	choque térmico + Pentoxifilina 100mg/kg (G4)	
1 (n=3)	158,6 $\pm$ 44,2	148,0 $\pm$ 49,0	187,3 $\pm$ 13,5	173,5 $\pm$ 12,5	<b>0,4373</b>
3 (n=3)	129,7 $\pm$ 58,9	164,4 $\pm$ 90,4	197,4 $\pm$ 32,2	162,8 $\pm$ 29,4	<b>0,6490</b>
7 (n=3)	121,6 $\pm$ 27,5	123,8 $\pm$ 43,8	147,7 $\pm$ 29,0	137,1 $\pm$ 5,7	<b>0,7297</b>
15 (n=3)	159,6 $\pm$ 50,2	158,4 $\pm$ 80,6	108,6 $\pm$ 12,9	160,0 $\pm$ 27,6	<b>0,5144</b>
30 (n=3)	132,3 $\pm$ 46,7	68,2 $\pm$ 48,0	107,4 $\pm$ 54,2	178,5 $\pm$ 36,7	<b>0,1818</b>
60 (n=3)	177,2 $\pm$ 27,4	134,2 $\pm$ 55,6	137,9 $\pm$ 46,2	111,4 $\pm$ 25,9	<b>0,3040</b>

n = Número de animais após tempo de exposição. Os animais do grupo G3 e G4 foram pré-tratados por 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico. Letras distintas na mesma linha indicam  $p < 0,05$ .



**Figura 8.** Lúmen tubular ( $\mu\text{L}$ ) de ratos Wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico.

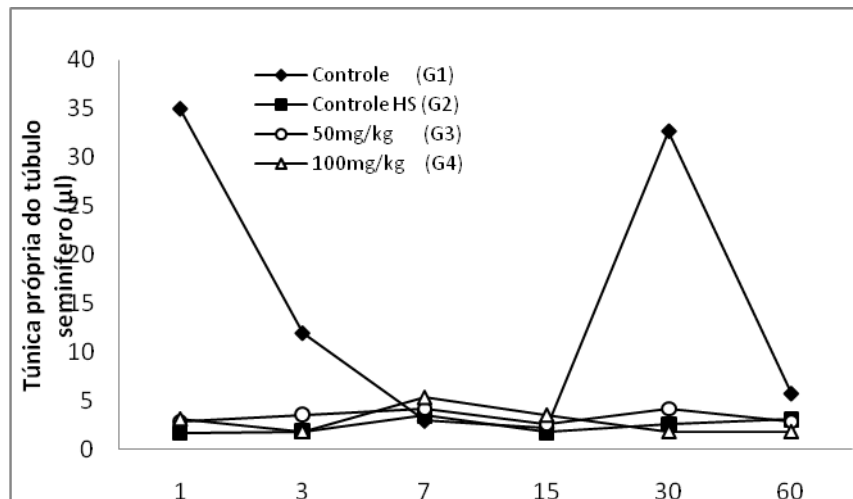
De acordo com a tabela 9, podemos observar que não ocorreu variação significativa entre os diferentes grupos experimentais com relação ao volume da túnica própria do túbulo seminífero. Contudo foi observado ao longo dos dias 1, 3, 7, 15, 30 e 60 pós-choque térmico que os animais submetidos a choque térmico testicular e tratados com pentoxifilina, apresentaram tendência a constância no volume da túnica própria do túbulo seminífero, além do que foram relativamente inferiores ao grupo controle, como mostra a figura 9.

**Tabela 9.** Túnica própria do túbulo seminífero ( $\mu\text{l}$ ) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média  $\pm$  desvio padrão).

Grupos Experimentais					
Dias pós choque térmico	Controle com choque térmico				P
	Controle (G1)	choque térmico (G2)	choque térmico + Pentoxifilina 50mg/kg (G3)	choque térmico + Pentoxifilina 100mg/kg (G4)	
1 (n=3)	35,0 $\pm$ 55,3	1,7 $\pm$ 0,8	2,9 $\pm$ 1,2	3,2 $\pm$ 1,9	<b>0,5921</b>
3 (n=3)	12,0 $\pm$ 12,8	1,9 $\pm$ 0,8	3,6 $\pm$ 1,9	1,9 $\pm$ 0,8	<b>0,0681</b>
7 (n=3)	3,0 $\pm$ 2,3	3,5 $\pm$ 2,0	4,2 $\pm$ 3,0	5,4 $\pm$ 3,8	<b>0,9349</b>

<b>15 (n=3)</b>	2,3 ± 2,2	1,8 ± 1,2	2,6 ± 1,8	3,6 ± 1,7	<b>0,6399</b>
<b>30 (n=3)</b>	32,7 ± 41,0	2,6 ± 1,7	4,2 ± 2,6	1,9 ± 1,6	<b>0,0394</b>
<b>60 (n=3)</b>	5,8 ± 4,6	3,1 ± 2,4	2,9 ± 1,5	1,9 ± 1,6	<b>0,5790</b>

n = Número de animais após tempo de exposição. Os animais do grupo 50mg/kg e 100mg/kg foram pré-tratados por 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico. Letras distintas na mesma linha indicam  $p < 0,05$ .



**Figura 9.** Túnica própria do túbulo seminífero ( $\mu\text{l}$ ) de ratos Wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico.

Observa-se na tabela e figura 10 que não ocorreu variação significativa entre os parâmetros dos diferentes grupos experimentais com relação aos túbulos seminíferos. Contudo, observou-se uma tendência à redução do volume total de túbulo seminífero nos animais que sofreram choque térmico e não foram tratados com pentoxifilina, como também naqueles que foram tratados com 50mg e 100mg de pentoxifilina, quando comparados com o grupo controle o qual apresenta constância neste parâmetro ao longo do período experimental.

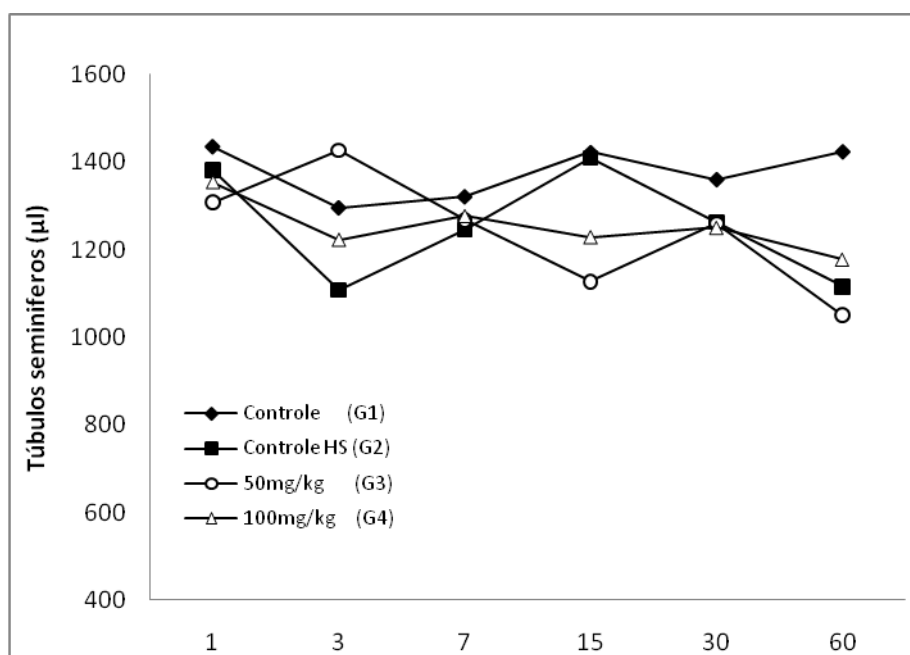
Os túbulos seminíferos são constituídos por túnica própria (células mióides e membrana basal), epitélio germinativo ou seminífero e lume tubular (KARL e CAPEL, 1998).

O compartimento tubular constitui a maior parte do testículo, ocupando na maioria dos mamíferos, de 70 a 90%, bem como o volume de túbulos seminíferos tem correlação direta com parâmetros testiculares, como comprimento tubular, produção espermática e população de células de Sertoli (FRANÇA e RUSSELL, 1998). Portanto, neste trabalho pode-se constatar que o choque térmico promoveu uma tendência de redução no volume total dos túbulos seminíferos mesmo nos animais tratados com pentoxifilina após o choque térmico. Por outro lado, a dose de 100mg/Kg mostrou-se mais eficiente para modificar os parâmetros descritos anteriormente trazendo-os mais próximos da referência do grupo controle.

**Tabela 10.** Túbulos seminíferos ( $\mu\text{l}$ ) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média  $\pm$  desvio padrão).

Dias pós choque térmico	Grupos Experimentais				P
	Controle (G1)	Controle com choque térmico (G2)	choque térmico + Pentoxifilina 50mg/kg (G3)	choque térmico + Pentoxifilina 100mg/kg (G4)	
<b>1 (n=3)</b>	1436,2 $\pm$ 73,9	1381,7 $\pm$ 175,0	1308,0 $\pm$ 93,8	1354,8 $\pm$ 93,8	<b>0,4373</b>
<b>3 (n=3)</b>	1295,5 $\pm$ 138,9	1107,9 $\pm$ 426,2	1426,3 $\pm$ 89,1	1222,6 $\pm$ 124,9	<b>0,3634</b>
<b>7 (n=3)</b>	1320,9 $\pm$ 253,0	1244,7 $\pm$ 125,8	1267,5 $\pm$ 316,4	1276,7 $\pm$ 105,6	<b>0,9672</b>
<b>15 (n=3)</b>	1422,6 $\pm$ 39,6	1409,0 $\pm$ 309,9	1126,9 $\pm$ 147,0	1228,2 $\pm$ 118,0	<b>0,2244</b>
<b>30 (n=3)</b>	1360,4 $\pm$ 263,0	1262,3 $\pm$ 323,9	1260,4 $\pm$ 301,7	1249,8 $\pm$ 51,6	<b>0,9006</b>
<b>60 (n=3)</b>	1424,4 $\pm$ 73,2	1115,1 $\pm$ 226,9	1050,1 $\pm$ 274,8	1176,8 $\pm$ 178,7	<b>0,1112</b>

n = Número de animais após tempo de exposição. Os animais do grupo 50mg/kg e 100mg/kg foram pré-tratados durante 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico. Letras distintas na mesma linha indicam  $p < 0,05$ .



**Figura 10.** Túbulos seminíferos ( $\mu\text{l}$ ) de ratos Wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico.

Como podemos observar na tabela 11, não houve diferença significativa nos vasos sanguíneos testiculares ( $\mu\text{l}$ ) de ratos Wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina.

**Tabela 11.** Vasos sanguíneos testiculares ( $\mu\text{l}$ ) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média  $\pm$  desvio padrão).

<b>Grupos Experimentais</b>					
<b>Dias pós choque térmico</b>					<b>P</b>
	<b>Controle (G1)</b>	<b>Controle com choque térmico (G2)</b>	<b>choque térmico + Pentoxifilina 50mg/kg (G3)</b>	<b>choque térmico + Pentoxifilina 100mg/kg (G4)</b>	
<b>1 (n=3)</b>	22,0 $\pm$ 21,0	42,2 $\pm$ 28,8	7,9 $\pm$ 2,2	17,8 $\pm$ 12,9	<b>0,3918</b>
<b>3 (n=3)</b>	35,0 $\pm$ 19,2	33,7 $\pm$ 28,2	33,3 $\pm$ 24,1	7,7 $\pm$ 5,3	<b>0,5144</b>
<b>7 (n=3)</b>	35,9 $\pm$ 7,5	36,8 $\pm$ 26,0	32,1 $\pm$ 17,1	34,3 $\pm$ 12,6	<b>0,9953</b>
<b>15 (n=3)</b>	10,3 $\pm$ 9,6	16,4 $\pm$ 12,5	33,9 $\pm$ 20,5	30,6 $\pm$ 18,7	<b>0,3200</b>
<b>30 (n=3)</b>	28,3 $\pm$ 6,0	11,1 $\pm$ 7,6	32,5 $\pm$ 27,4	16,8 $\pm$ 18,8	<b>0,5921</b>
<b>60 (n=3)</b>	9,8 $\pm$ 7,7	11,8 $\pm$ 5,7	2,1 $\pm$ 0,8	18,8 $\pm$ 21,1	<b>0,0788</b>

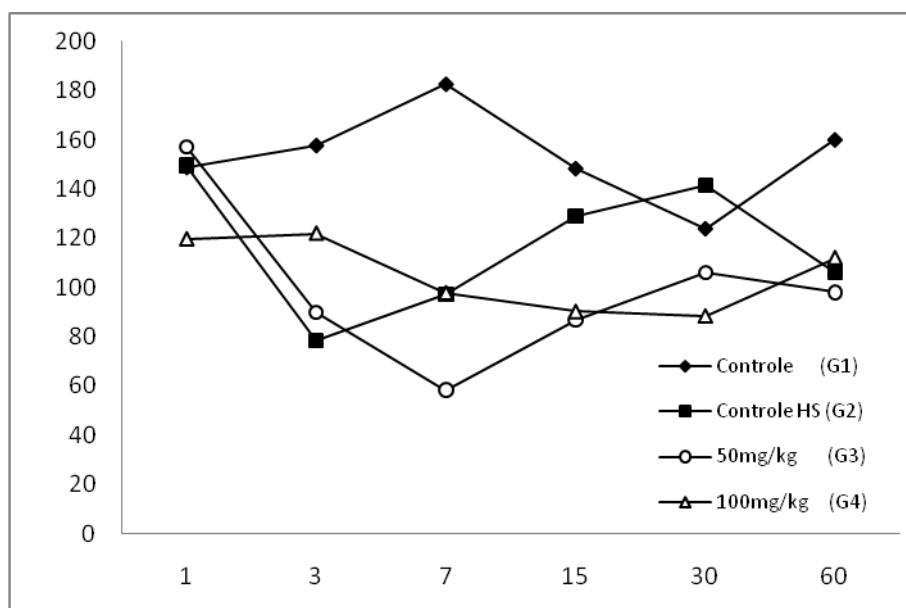
n = Número de animais após tempo de exposição. Os animais do grupo 50mg/kg e 100mg/kg foram pré-tratados por 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico. Letras distintas na mesma linha indicam  $p < 0,05$ .

De acordo com a tabela e figura 12, podemos observar que no 7º dia ocorreu diminuição significativa do volume total do espaço linfático entre nos animais tratados com 100mg/kg de pentoxifilina pós-choque térmico e os animais do grupo controle.

**Tabela 12.** Espaço linfático ( $\mu\text{l}$ ) do parênquima testicular de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média  $\pm$  desvio padrão).

<b>Grupos Experimentais</b>					
<b>Dias pós choque térmico</b>					<b>P</b>
	<b>Controle (G1)</b>	<b>Controle com choque térmico (G2)</b>	<b>choque térmico + Pentoxifilina 50mg/kg (G3)</b>	<b>choque térmico + Pentoxifilina 100mg/kg (G4)</b>	
<b>1 (n=3)</b>	148,9 $\pm$ 32,7	149,5 $\pm$ 73,4	157,1 $\pm$ 19,4	119,6 $\pm$ 38,1	<b>0,6490</b>
<b>3 (n=3)</b>	157,8 $\pm$ 135,9	78,5 $\pm$ 28,3	89,8 $\pm$ 48,3	121,9 $\pm$ 25,9	<b>0,6958</b>
<b>7 (n=3)</b>	182,7 $\pm$ 58,4a	97,2 $\pm$ 17,3 ab	58,3 $\pm$ 13,7b	97,8 $\pm$ 4,2 ab	<b>0,0069</b>
<b>15 (n=3)</b>	148,4 $\pm$ 18,6	129,0 $\pm$ 86,4	86,7 $\pm$ 14,1	90,2 $\pm$ 45,0	<b>0,4090</b>
<b>30 (n=3)</b>	124,0 $\pm$ 56,8	141,4 $\pm$ 16,5	106,0 $\pm$ 29,2	88,4 $\pm$ 10,5	<b>0,1748</b>
<b>60 (n=3)</b>	160,1 $\pm$ 19,1	106,3 $\pm$ 50,1	98,0 $\pm$ 34,6	112,0 $\pm$ 46,8	<b>0,3634</b>

n = Número de animais após tempo de exposição. Os animais do grupo G3 e G4 foram pré-tratados por 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico. Letras distintas na mesma linha indicam  $p < 0,05$ .



**Figura 12.** Espaço linfático (µl) do parênquima testicular de ratos Wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico.

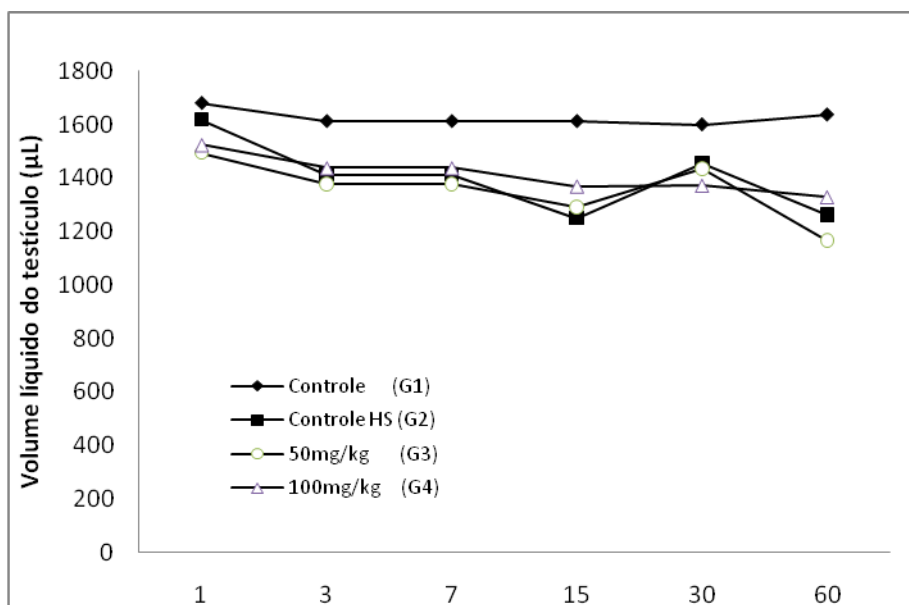
Observa-se na tabela e figura 13 que não ocorreu variação significativa entre os parâmetros dos diferentes grupos experimentais com relação ao volume líquido do testículo. Contudo, observou-se uma tendência discreta à redução do volume líquido do testículo nos animais que sofreram choque térmico e não foram tratados com pentoxifilina, como também naqueles que foram tratados com 50mg e 100mg de pentoxifilina, quando comparados com o grupo controle o qual apresenta constância neste parâmetro ao longo do período experimental.

Camundongos expostos a ambientes não aclimatados com temperatura em torno de 35°C tiveram queda de peso testicular no período de 4 dias (MEISTRICH et al., 1973) e ratos aclimatados durante 3 meses em ambiente de 35°C tiveram severamente afetados cerca de 20% dos túbulos seminíferos, muito embora os túbulos restantes parecessem normais (SOD-MORIAH et al., 1974). Da mesma forma, exposição de carneiros a ambientes quentes durante 14 dias causou redução do peso testicular em cerca de 70% (GOMES et al., 1971). Os efeitos do calor sobre o testículo são bastante patentes quanto as suas conseqüências, contudo neste experimento o uso da pentoxifilina parece ter minimizado estes efeitos nos animais tratados com a pentoxifilina.

**Tabela 13.** Volume líquido do testículo (µL) do parênquima testicular de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média ± desvio padrão).

Grupos Experimentais					
Dias pós choque térmico	Grupos Experimentais				P
	Controle (G1)	Controle com choque térmico (G2)	choque térmico + Pentoxifilina 50mg/kg (G3)	choque térmico + Pentoxifilina 100mg/kg (G4)	
1 (n=3)	1679,9 ± 141,6	1617,5 ± 138,4	1492,9 ± 44,2	1524,0 ± 114,9	<b>0,3078</b>
3 (n=3)	1552,1 ± 115	1246,7 ± 472,9	1567,8 ± 92,2	1371,3 ± 103,4	<b>0,4014</b>
7 (n=3)	1611,3 ± 206,2	1411,8 ± 165,4	1377,6 ± 331,9	1436,8 ± 98,2	<b>0,5852</b>
15 (n=3)	1611,3 ± 41,2	1249,8 ± 415,2	1290,3 ± 141,5	1368,2 ± 99,1	<b>0,2773</b>
30 (n=3)	1598,8 ± 312,5	1455,5 ± 348,0	1433,7 ± 294,8	1371,3 ± 66,3	<b>0,7850</b>
60 (n=3)	1636,2 ± 98,5	1262,2 ± 286,2	1165,6 ± 284,6	1327,7 ± 122,6	<b>0,1206</b>

n = Número de animais após tempo de exposição. Os animais do grupo 50mg/kg e 100mg/kg foram pré-tratados por 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico. Letras distintas na mesma linha indicam p<0,05.



**Figura 13.** Volume líquido do testículo (µL) do parênquima testicular de ratos Wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico.

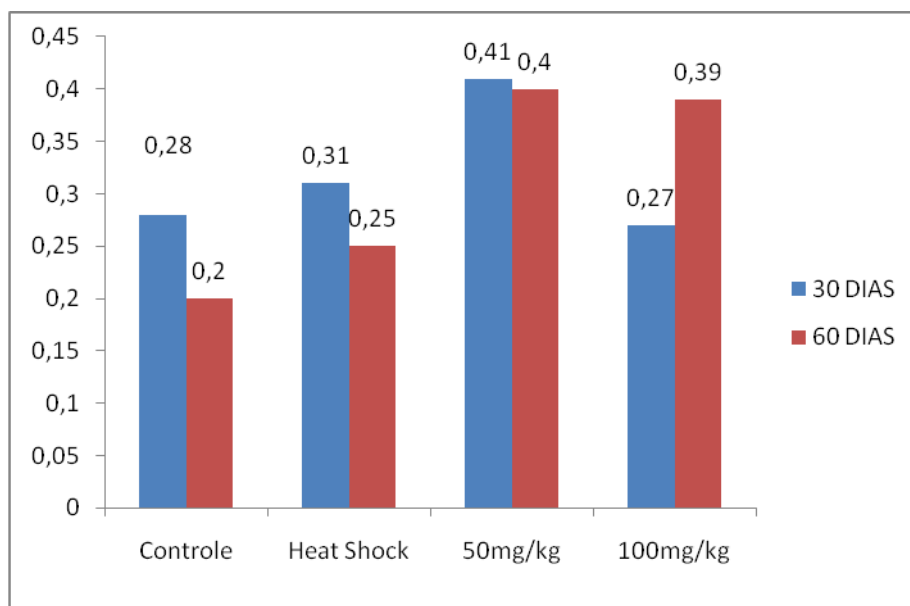
Podemos observar na tabela 14 que não houve diferença significativa entre os diferentes tratamentos nos tempos experimentais. Na figura 14 é possível observar que os grupos submetidos ao choque térmico e tratados com 50mg e 100mg pós-choque térmico apresentaram tendência de aumento no número de espermatogônia por secção transversal de túbulo seminífero no estágio VII.

**Tabela 14.** Número de espermatogônia por secção transversal de túbulo seminífero no estágio VII do ciclo do epitélio seminífero de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico

testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média ± desvio padrão).

<b>Grupos Experimentais</b>					
<b>Dias pós choque térmico</b>					<b>P</b>
	<b>Controle (G1)</b>	<b>Controle com choque térmico (G2)</b>	<b>choque térmico + Pentoxifilina 50mg/kg (G3)</b>	<b>choque térmico + Pentoxifilina 100mg/kg (G4)</b>	
<b>30 (n=3)</b>	0,28 ± 0,07	0,31 ± 0,06	0,41 ± 0,08	0,27 ± 0,12	<b>0,2677</b>
<b>60 (n=3)</b>	0,20 ± 0,01	0,25 ± 0,05	0,40 ± 0,18	0,39 ± 0,13	<b>0,1500</b>

n = Número de animais após tempo de exposição. Os animais do grupo 50mg/kg e 100mg/kg foram pré-tratados por 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico. Letras distintas na mesma linha indicam  $p < 0,05$ .



**Figura 14.** Número de espermatogônia por secção transversal de túbulo seminífero no estágio VII do ciclo do epitélio seminífero de ratos Wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico.

Como podemos observar na tabela 15, não houve diferença significativa no número de célula de Sertoli por secção transversal de túbulo seminífero no estágio VII, entre os diferentes tratamentos nos tempos experimentais. Na figura 15 é possível observar que os grupos controle e submetidos ao choque térmico, ocorre uma constância deste parâmetro. Contudo os grupos 50mg e 100mg apresentam uma tendência a igualdade nos parâmetros do número de célula de Sertoli por secção transversal de túbulo seminífero no estágio VII.

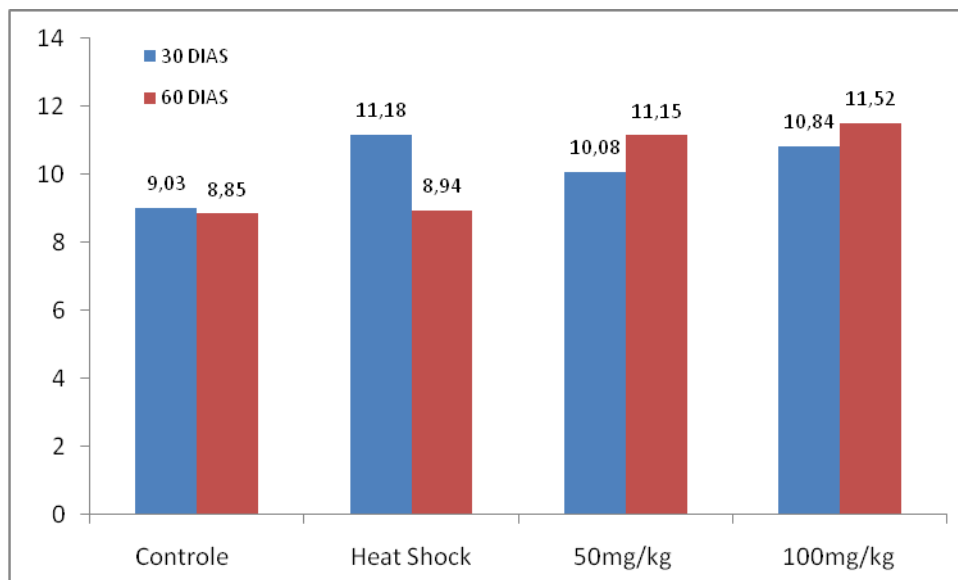
**Tabela 15.** Número de célula de Sertoli por secção transversal de túbulo seminífero no estágio VII do ciclo do epitélio seminífero de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico



testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média  $\pm$  desvio padrão).

Grupos Experimentais					
Dias pós choque térmico					P
	Controle (G1)	Controle com choque térmico (G2)	choque térmico + Pentoxifilina 50mg/kg (G3)	choque térmico + Pentoxifilina 100mg/kg (G4)	
30 (n=3)	9,03 $\pm$ 1,64	11,18 $\pm$ 1,84	10,08 $\pm$ 2,17	10,84 $\pm$ 3,44	<b>0,7044</b>
60 (n=3)	8,85 $\pm$ 1,72	8,94 $\pm$ 2,07	11,15 $\pm$ 1,62	11,52 $\pm$ 2,26	<b>0,2622</b>

n = Número de animais após tempo de exposição. Os animais do grupo G3 e G4 foram pré-tratados por 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico. Letras distintas na mesma linha indicam  $p < 0,05$ .



**Figura 15.** Número de célula de Sertoli por secção transversal de túbulo seminífero no estágio VII do ciclo do epitélio seminífero de ratos Wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico.

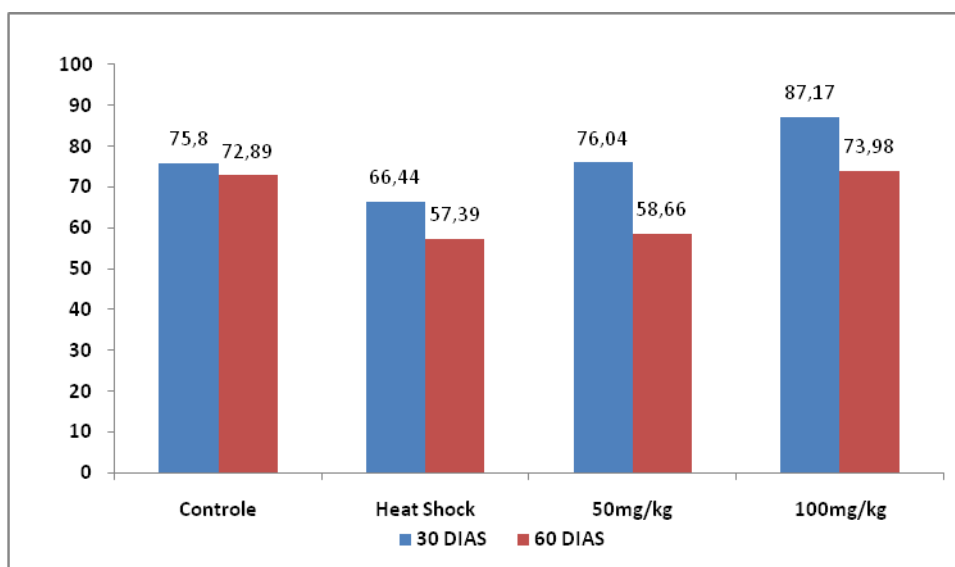
Observar-se na tabela e figura 16, que não houve diferença significativa do número de espermátides arredondadas por secção transversal de túbulo seminífero no estágio VII do ciclo do epitélio seminífero de ratos Wistar, entre os diferentes tratamentos nos tempos experimentais.

**Tabela 16.** Número de espermátides arredondadas por secção transversal de túbulo seminífero no estágio VII do ciclo do epitélio seminífero de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média  $\pm$  desvio padrão).

Grupos Experimentais

Dias pós choque térmico	Grupos Experimentais				P
	Controle (G1)	Controle com choque térmico (G2)	choque térmico + Pentoxifilina 50mg/kg (G3)	choque térmico + Pentoxifilina 100mg/kg (G4)	
30 (n=3)	75,80 ± 11,53	66,44 ± 10,07	76,04 ± 6,11	87,17 ± 9,65	<b>0,1469</b>
60 (n=3)	72,89 ± 8,22	57,39 ± 18,00	58,66 ± 3,19	73,98 ± 7,32	<b>0,1788</b>

n = Número de animais após tempo de exposição. Os animais do grupo 50mg/kg e 100mg/kg foram pré-tratados por 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico. Letras distintas na mesma linha indicam  $p < 0,05$ .



**Figura 16.** Número de espermátides arredondadas por secção transversal de túbulo seminífero no estágio VII do ciclo do epitélio seminífero de ratos Wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico.

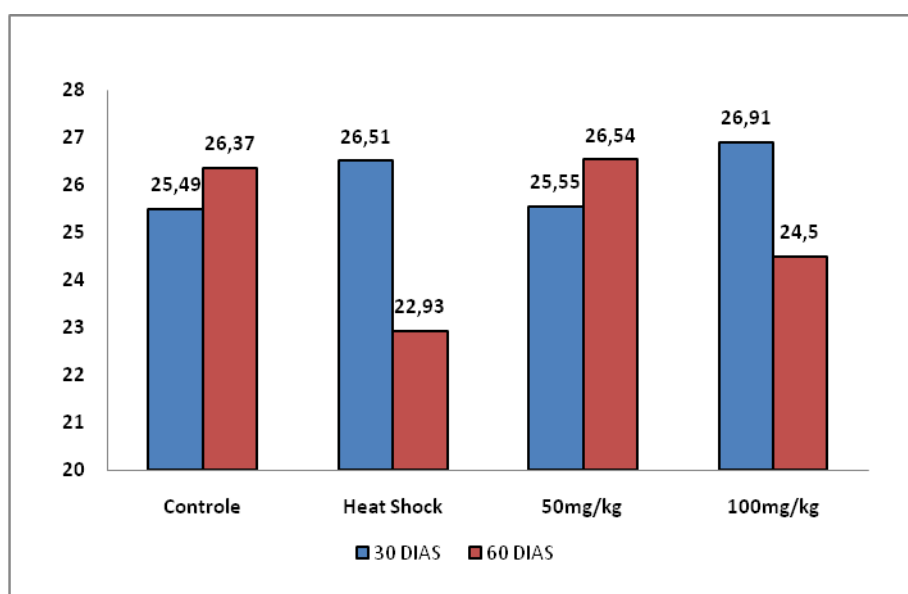
De acordo com a tabela e figura 17, podemos observar que não houve diferença significativa no número de espermátócitos I em paquíteno entre os diferentes tratamentos nos tempos experimentais. No entanto foi observada aos 60 dias, no grupo que sofreu choque térmico, uma tendência a redução no número de espermátócitos I em paquíteno em relação ao grupo controle, bem como, em relação aos grupos experimentais tratados com 50mg e 100mg de pentoxifilina, ressaltando que o grupo 50mg manteve o número de espermátócitos I em paquíteno por secção transversal de túbulo seminífero no estágio VII de ratos Wistar constantes quando comparados ao grupo controle.

**Tabela 17.** Número de espermátócitos I em paquíteno por secção transversal de túbulo seminífero no estágio VII de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média ± desvio padrão).

**Grupos Experimentais**

Dias pós choque térmico					P
	Controle (G1)	Controle com choque térmico (G2)	choque térmico + Pentoxifilina 50mg/kg (G3)	choque térmico + Pentoxifilina 100mg/kg (G4)	
30 (n=3)	25,49 ± 0,88	26,51 ± 2,36	25,55 ± 2,54	26,91 ± 1,19	<b>0,7433</b>
60 (n=3)	26,37 ± 3,54	22,93 ± 2,88	26,54 ± 5,45	24,50 ± 2,61	<b>0,6268</b>

n = Número de animais após tempo de exposição. Os animais do grupo 50mg/kg e 100mg/kg foram pré-tratados por 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico. Letras distintas na mesma linha indicam p<0,05.



**Figura 17** Número de espermatócitos I em paquíteno por secção transversal de túbulo seminífero no estágio VII de ratos Wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico.

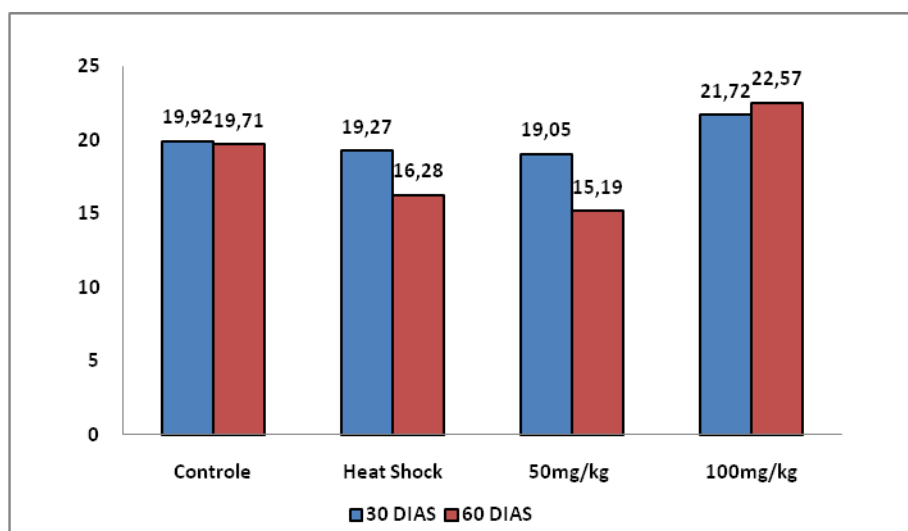
Observa-se na tabela e figura 18 que não houve diferença significativa no número de espermatócitos I em pré-leptóteno de túbulo seminífero no estágio VII de ratos Wistar entre os diferentes tratamentos nos tempo experimental de 30 dias. No entanto foi observada uma redução no número de espermatócitos I em pré-leptóteno de túbulo seminífero no estágio VII aos 60 dias o grupo que sofreu choque térmico e foi tratado com 50mg de pentoxifilina em relação ao grupo tratado com 100mg. É importante salientar que os valores espermatócitos I em pré-leptóteno de túbulo seminífero no estágio VII aos 30 e 60 dias apresentaram tendência de aumento em relação aos demais grupos nos mesmos períodos.

**Tabela 18.** Número de espermatócitos I em pré-leptóteno de túbulo seminífero no estágio VII de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com

diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média  $\pm$  desvio padrão).

Grupos Experimentais					
Dias pós choque térmico	Grupos Experimentais				P
	Controle (G1)	Controle com choque térmico (G2)	choque térmico + Pentoxifilina 50mg/kg (G3)	choque térmico + Pentoxifilina 100mg/kg (G4)	
30 (n=3)	19,92 $\pm$ 1,41	19,27 $\pm$ 2,28	19,05 $\pm$ 2,62	21,72 $\pm$ 0,23	<b>0,3549</b>
60 (n=3)	19,71 $\pm$ 0,49ab	16,28 $\pm$ 3,83ab	15,19 $\pm$ 1,50a	22,57 $\pm$ 3,17b	<b>0,0309</b>

n = Número de animais após tempo de exposição. Os animais do grupo 50mg/kg e 100mg/kg foram pré-tratados por 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico. Letras distintas na mesma linha indicam  $p < 0,05$ .



**Figura 18.** Número de espermátocitos I em pré-leptóteno de túbulo seminífero no estágio VII de ratos Wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico.

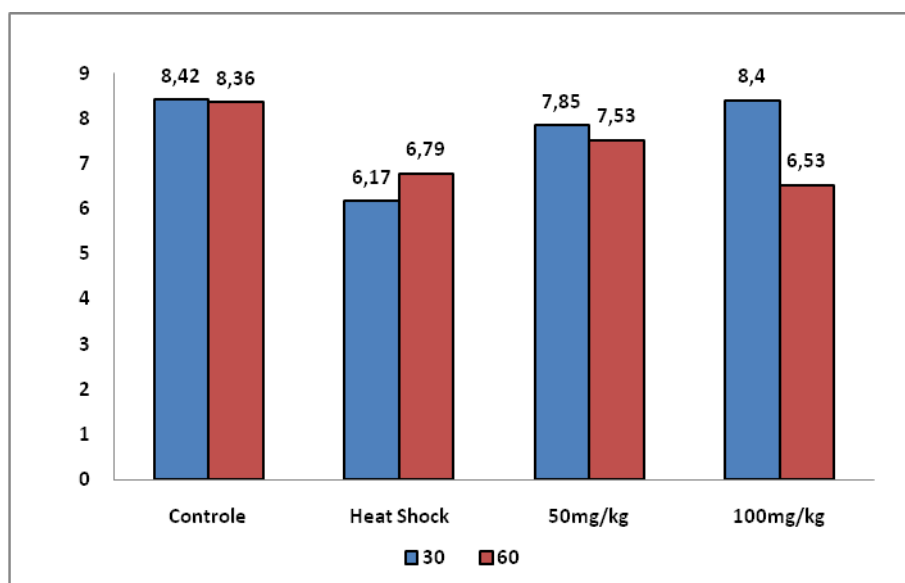
De acordo com a tabela 19 e figura de mesma numeração, podemos observar que não houve diferença significativa no índice de Célula de Sertoli (ICS) por secção transversal de túbulo seminífero entre os diferentes tratamentos nos tempos experimentais. No entanto foi observada, no grupo submetido a choque térmico aos 60 dias, uma tendência a redução no índice de Célula de Sertoli (ICS) por secção transversal de túbulo seminífero e que o grupo tratado com 100mg/kg de pentoxifilina aos 30 dias, apresentou o mesmo valor de Índice de Célula de Sertoli (ICS) por secção transversal de túbulo seminífero, quando comparado ao grupo controle. O índice de células de Sertoli reflete a eficiência funcional desta célula, como também a eficiência da produção espermática por unidade de área de túbulos seminíferos, expressa pela relação entre o número de espermátides alongadas, suportadas pelas células de

Sertoli (RUSSELL e PETERSON, 1984; SINHA-HIKIN et al., 1989). Esta manutenção pode ser justificada nos animais do grupo tratado com 100mg/kg aos 30 dias em relação ao controle devido a ação da pentoxifilina. Além disso, a manutenção do número de espermátides arredondadas neste grupo em relação ao controle também justifica a manutenção na capacidade de suporte das células de Sertoli.

**Tabela 19.** Índice de Célula de Sertoli (ICS) por secção transversal de túbulo seminífero de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média  $\pm$  desvio padrão).

Grupos Experimentais					
Dias pós choque térmico	Grupos Experimentais				P
	Controle (G1)	Controle com choque térmico (G2)	choque térmico + Pentoxifilina 50mg/kg (G3)	choque térmico + Pentoxifilina 100mg/kg (G4)	
<b>30 (n=3)</b>	8,42 $\pm$ 0,32	6,17 $\pm$ 2,10	7,85 $\pm$ 2,15	8,40 $\pm$ 1,67	<b>0,4651</b>
<b>60 (n=3)</b>	8,36 $\pm$ 1,33	6,79 $\pm$ 3,30	7,53 $\pm$ 0,80	6,53 $\pm$ 0,93	<b>0,4090</b>

n = Número de animais após tempo de exposição. Os animais do grupo 50mg/kg e 100mg/kg foram pré-tratados por 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico. Letras distintas na mesma linha indicam  $p < 0,05$ .



**Figura 19.** Índice de Célula de Sertoli (ICS) por secção transversal de túbulo seminífero de ratos Wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico.

Como podemos observar na tabela e figura 20, não houve diferença significativa no número de células que sofreram apoptose por secção transversal de túbulo seminífero de ratos Wistar entre os grupos experimentais, controle, os que sofreram choque térmico e os tratados nos diferentes tempos 1, 3, 7 e 15 dias. Contudo, foi observada forte diferença estatística nos tempos experimentais de 30 e 60 dias, onde os animais que sofreram choque térmico e foram tratados com 50mg/kg e 100mg/kg pentoxifilina, apresentaram menor quantidade de células apoptóticas por secção transversal de túbulo seminífero em relação aos animais que sofreram choque térmico. Além disso, fica evidente que os animais que foram submetidos a choque térmico apresentaram um quantitativo maior em apoptose por secção transversal de túbulo seminífero. No entanto não foi observada nenhuma uma diferença estatística entre os animais controle e aqueles submetidos ao choque térmico e tratado com 50mg/Kg ou 100mg/Kg de pentoxifilina. Ainda é importante ressaltar que os animais submetidos ao choque térmico testicular apresentaram aumento no número de células apoptóticas por secção transversal de túbulo seminífero em relação aos animais controle aos 30 e 60 dias.

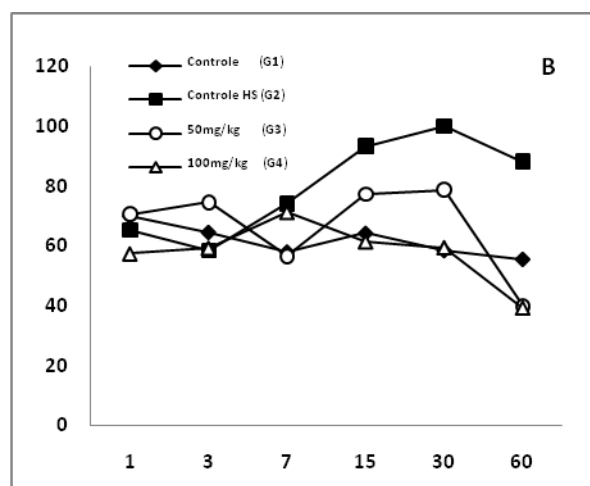
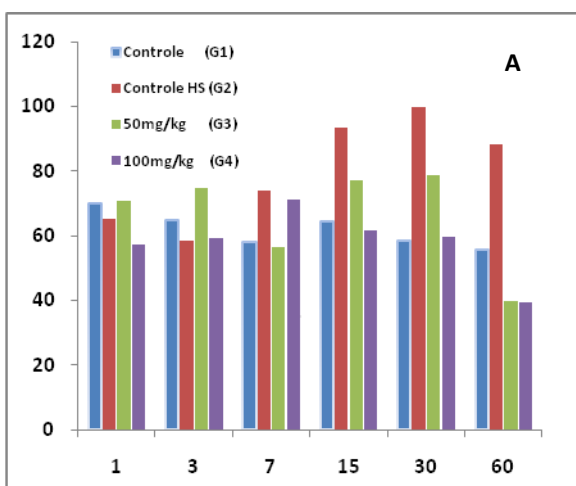
A apoptose é a morte celular programada que envolve a ação de múltiplas cinases e cisteína proteases, conhecidas por caspases, as quais clivam vários substratos alvos dentro da células. Esta forma de morte células é um suicídio geneticamente controlado, caracterizado pela clivagem do DNA e que não produz reação inflamatória (DORSTYN et al 1998; EARNSHAW et al 1999; WOLF e GREEN 1999).

Segundo Khan e Brown (2002) o aumento de temperatura desencadeia a apoptose em populações celulares do testículo e timo em divisão, mas não promove este efeito em células maduras pós-mitóticas. Em testículos submetidos a estresse térmico, os espermatócitos se apresentaram como o tipo celular mais susceptível e foram temporalmente relacionadas a expressão de HSP70.1 HSP70.2 e a marcação para apoptose pelo método de TUNEL.

**Tabela 20.** Número de células em apoptose por secção transversal de túbulo seminífero de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média ± desvio padrão).

Dias pós choque térmico	Grupos Experimentais				P
	Controle (G1)	Controle com choque térmico (G2)	choque térmico + Pentoxifilina 50mg/kg (G3)	choque térmico + Pentoxifilina 100mg/kg (G4)	
1 (n=3)	70,07 ± 18,68	65,23 ± 18,80	70,60 ± 5,54	57,43 ± 8,15	<b>0,5460</b>
3 (n=3)	64,6 ± 13,31	58,37 ± 8,80	74,57 ± 11,72	59,34 ± 6,60	<b>0,3918</b>
7 (n=3)	58,0 ± 9,0	74,13 ± 21,89	56,6 ± 30,1	71,30 ± 14,49	<b>0,5898</b>
15 (n=3)	64,3 ± 10,85	93,34 ± 16,02	77,27 ± 15,57	61,47 ± 21,53	<b>0,2087</b>
30 (n=3)	58,47 ± 8,73ac	99,9 ± 8,71b	78,73 ± 7,75abc	59,53 ± 7,65c	<b>0,0020</b>
60 (n=3)	55,53 ± 8,81ac	88,13 ± 10,90b	39,86 ± 9,31c	39,4 ± 16,91cd	<b>0,0152</b>

n = Número de animais após tempo de exposição. Os animais do grupo 50mg/kg e 100mg/kg foram pré-tratados por 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico. Letras distintas na mesma linha indicam p<0,05.



**Figura 20 A.** Número de células em apoptose por secção transversal de túbulo seminífero de ratos Wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico.

**Figura 20 B.** Evolução do número de células apoptóticas por secção transversal de túbulo seminífero de ratos Wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico.

Como mostra a tabela e figura 21, que não encontramos diferença significativa entre os diferentes tratamentos nos tempos experimentais no diâmetro tubular. No entanto foi observado, ao longo do período experimental pós-choque térmico, uma constância no diâmetro tubular. Entretanto, torna-se importante ressaltar que os diâmetros não sofreram alterações significativas entre os grupos controle e tratados pós-choque térmico.

O diâmetro tubular e a altura do epitélio refletem diferentes graus da atividade do epitélio seminífero, quer por influência sazonal (ABDEL-RAOUF et al., 1975; PARREIRA, 1990; SINHA HIKIN et al., 1991; RUSSELL et al., 1994; MUÑOZ et al., 1998), quer por estabelecimento da puberdade (FRANÇA e CARDOSO, 1988; JONES, 1997), quer por efeitos deletérios da idade avançada (WANG et al., 1993; PAULA e CARDOSO, 1994; NIPKEN e WRÖBEL, 1997), quer por efeitos de drogas bociogênicas (VAN HAASTER et al., 1992; HESS et al., 1993; COOKE et al., 1994; MEISAMI et al., 1994; KIRBY et al., 1996), quer por efeito de hormônios gonadotróficos endógenos e exógenos (PUTRA e BLACKSHAW, 1985; KOSCO et al., 1989, SWANLUND et al., 1995), o que os tornam parâmetros importantes na avaliação quantitativa da espermatogênese, uma vez que existe uma correlação positiva entre o diâmetro tubular e a atividade espermatogênica do testículo (FRANÇA e RUSSELL, 1998). De acordo com França e Russell (1998), o diâmetro tubular médio não sofre mudanças significativas após o estabelecimento da maturidade sexual e permanece aparentemente constante ao longo dos estádios do ciclo do epitélio seminífero em uma dada espécie, mesmo ocorrendo variações expressivas, interespecíficas e raciais.

A redução do diâmetro tubular é um fenômeno esperado quando se expõe o testículo a estresse oxidativo por substâncias tóxicas, pelo calor, em ausência de descenso testicular e em animais senis (KUMAGAI et al., 2002; MORALES et al., 2004; CHANDRA et al., 2010).

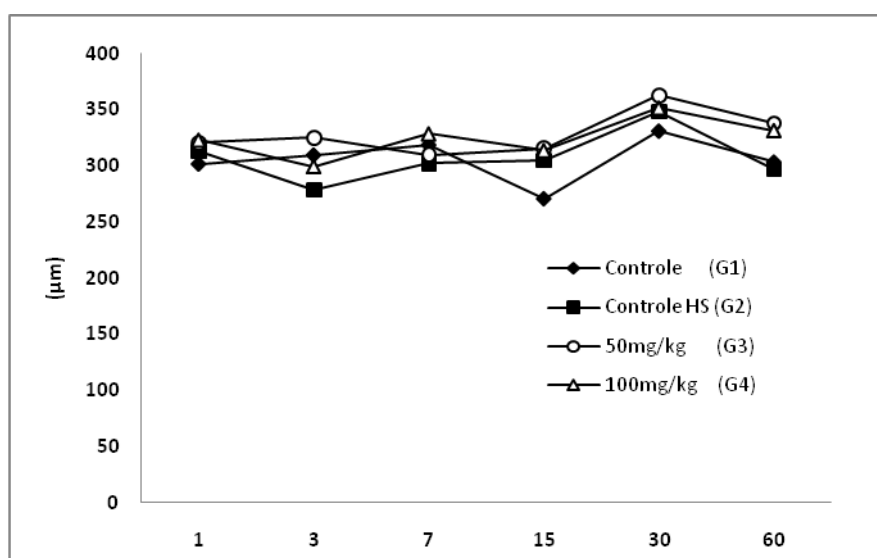
Apesar que, neste experimento não ter sido observada redução do diâmetro tubular, nos podemos relacionar este feito ao pequeno número de animais utilizados.

**Tabela 21.** Diâmetro tubular ( $\mu\text{m}$ ) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média  $\pm$  desvio padrão).



Grupos Experimentais					
Dias pós choque térmico					P
	Controle (G1)	Controle com choque térmico (G2)	choque térmico + Pentoxifilina 50mg/kg (G3)	choque térmico + Pentoxifilina 100mg/kg (G4)	
1 (n=3)	302,0 ± 22,5	312,9 ± 7,0	320,5 ± 46,4	323,1 ± 20,0	<b>0,6098</b>
3 (n=3)	310,0 ± 7,5	278,7 ± 51,9	325,1 ± 15,1	299,5 ± 5,5	<b>0,2684</b>
7 (n=3)	319,1 ± 2,5	302,1 ± 12,7	309,8 ± 23,4	328,7 ± 30,4	<b>0,3613</b>
15 (n=3)	270,9 ± 14,3	304,9 ± 53,3	315,6 ± 36,2	313,8 ± 37,8	<b>0,4090</b>
30 (n=3)	331,5 ± 47,9	348,6 ± 61,2	362,7 ± 33,5	351,8 ± 73,7	<b>0,7127</b>
60 (n=3)	303,7 ± 44,8	296,9 ± 59,4	338,3 ± 59,3	331,7 ± 33,4	<b>0,5790</b>

n = Número de animais após tempo de exposição. Os animais do grupo 50mg/kg e 100mg/kg foram pré-tratados por 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico. Letras distintas na mesma linha indicam  $p < 0,05$ .



**Figura 21.** Diâmetro tubular ( $\mu\text{m}$ ) de ratos Wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico.

De acordo com a tabela 22 e figura de mesma numeração, podemos observar que não houve diferença significativa entre os diferentes tratamentos nos tempos experimentais, no que diz respeito à altura do epitélio. No entanto foi observada, no terceiro dia pós-choque térmico, uma redução significativa na altura do epitélio seminífero no grupo submetido ao choque térmico testicular em relação aos animais do grupo controle. Entretanto, torna-se importante ressaltar que durante o período experimental os animais submetidos ao choque térmico testicular e tratados com 50mg e 100mg apresentaram manutenção na altura do epitélio nos dias 3 e 7. No 15º e 30º dias os animais apresentaram uma convergência na altura do epitélio em todos os tratamentos. Contudo, no final do período experimental, aos 60 dias,

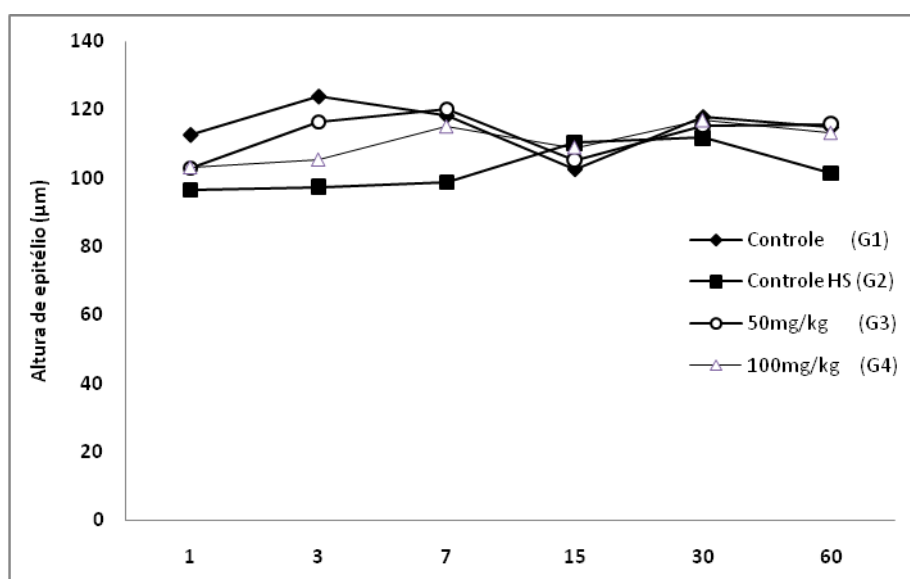
constatamos que os animais tratados com 50mg e 100mg de pentoxifilina pós-choque térmico tiveram uma tendência de melhora da altura de epitélio seminífero, superior aos animais submetidos ao choque térmico.

No presente experimento, a manutenção da altura o epitélio seminífero nos animais tratados com pentoxifilina na dosagem de 50mg/kg e 100mg/kg na maioria dos tempos estudados apontam para o provável efeito desta metilxantina como fármaco capaz de inibir os efeitos degenerativos do choque térmico sobre o testículo. Esta possibilidade, de acordo com Teruya et al. (2008), pode relaciona-se ao fato que a PTX tem múltiplas propriedades hemorreológicas tais como: aumentar o AMP cíclico intracelular nas células vermelhas aumentando a liberação de oxigênio em tecidos isquêmicos e aumentar a produção e AMP cíclico em polimorfonucleares e reduzir a produção de radicais livres. Além disso, a PTX limita as respostas inflamatórias como redução da ativação celular, fagocitose e adesão endotelial e destruição de tecidos pelo óxido nítrico. Este fármaco também pode ter surtido neste experimento, o mesmo efeito observado por Savas et al.(2002), onde os danos tissulares decorrentes da injúria de reperusão testicular foram atenuados.

**Tabela 22.** Altura de epitélio ( $\mu\text{m}$ ) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média  $\pm$  desvio padrão).

<b>Grupos Experimentais</b>					
<b>Dias pós choque térmico</b>					<b>P</b>
	<b>Controle (G1)</b>	<b>Controle com choque térmico (G2)</b>	<b>choque térmico + Pentoxifilina 50mg/kg (G3)</b>	<b>choque térmico + Pentoxifilina 100mg/kg (G4)</b>	
<b>1 (n=3)</b>	112,6 $\pm$ 10,4	96,5 $\pm$ 4,4	103,0 $\pm$ 2,1	103,0 $\pm$ 8,9	<b>0,3916</b>
<b>3 (n=3)</b>	123,8 $\pm$ 4,0a	97,4 $\pm$ 8,6b	116,4 $\pm$ 9,3ab	105,3 $\pm$ 6,4ab	<b>0,0137</b>
<b>7 (n=3)</b>	118,2 $\pm$ 9,5	98,7 $\pm$ 11,5	120,2 $\pm$ 6,8	115,1 $\pm$ 1,7	<b>0,1028</b>
<b>15 (n=3)</b>	102,6 $\pm$ 2,7	110,3 $\pm$ 26,9	105,3 $\pm$ 8,2	108,9 $\pm$ 9,8	<b>0,8346</b>
<b>30 (n=3)</b>	117,8 $\pm$ 12,3	111,8 $\pm$ 21,0	115,3 $\pm$ 3,5	116,9 $\pm$ 22,3	<b>0,9349</b>
<b>60 (n=3)</b>	114,8 $\pm$ 20,0	101,5 $\pm$ 28,1	115,8 $\pm$ 14,5	113,2 $\pm$ 18,1	<b>0,8621</b>

n = Número de animais após tempo de exposição. Os animais do grupo 50mg/kg e 100mg/kg foram pré-tratados por 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico. Letras distintas na mesma linha indicam  $p < 0,05$ .



**Figura 22.** Altura de epitélio ( $\mu\text{m}$ ) de ratos Wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico.

Na tabela e figura 23 é possível constatar que não houve diferença significativa na população de células de Sertoli por testículo, entre os diferentes tratamentos nos tempos experimentais. Na figura 23 é possível observar que os grupos controle e submetidos ao choque térmico ocorreu uma constância nos parâmetros. Contudo, o grupo tratado com 50mg de pentoxifilina apresentou uma tendência à diminuição nos parâmetros da população de célula de Sertoli por testículo. Ressaltamos também uma tendência no aumento da população de célula de Sertoli por testículo dos animais submetidos a choque térmico e que não sofreram tratamento aos 30 e 60 dias.

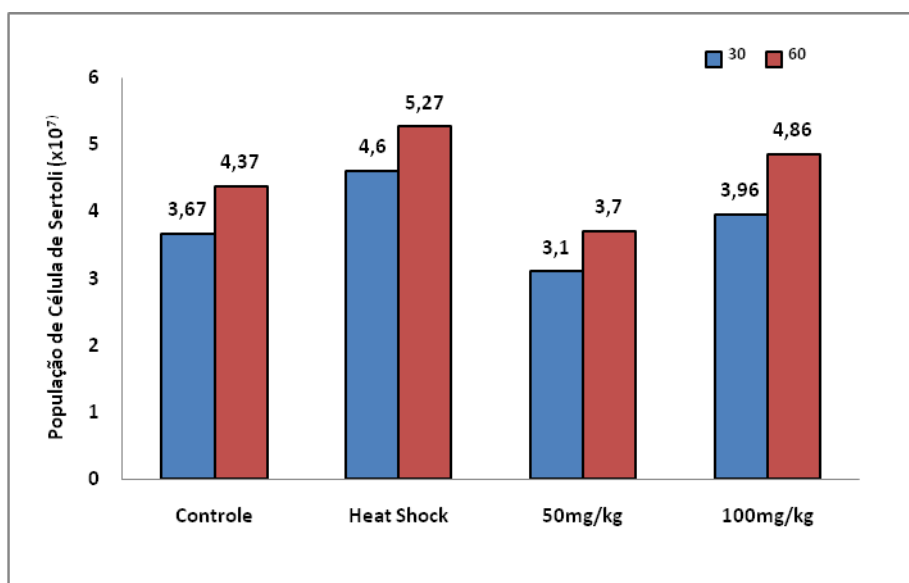
A população células Sertoli em ratos é definida de maneira precoce após o parto e permanece estável em indivíduos adultos (Silva Junior et. al., 2006). Estas células são bastante resistentes a temperatura considerada como ideal para manutenção da espermatogênese, uma vez que permanecem funcionais em testículos criptorquídicos, podendo até formar neoplasias testiculares (GUMIŃSKA et al., 2007). Além disso, testículos criptorquídicos sofrem uma sertolização tubular pela redução do número de células germinativas e no número de células de Sertoli devido a sua imaturidade neste tipo de testículo (MONTELLA e PIRINO, 1990; PINART et al., 1999). Portanto, não devemos levar em consideração os resultados no grupo tratado com 50mg /Kg de pentoxifilina visto que, estes podem ser uma variação da espécie relacionada ao número de células de Sertoli do que

morte celular por necrose ou apoptose que promoveu esta redução, mesmo não sendo estatisticamente significativa.

**Tabela 23.** População de Célula de Sertoli por testículo de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média  $\pm$  desvio padrão).

Dias pós choque térmico	Grupos Experimentais				P
	Controle (G1)	Controle com choque térmico (G2)	choque térmico + Pentoxifilina 50mg/kg (G3)	choque térmico + Pentoxifilina 100mg/kg (G4)	
30 (n=3)	3,67 $\pm$ 0,47	4,6 $\pm$ 0,34	3,1 $\pm$ 0,9	3,96 $\pm$ 1,0	<b>0,3523</b>
60 (n=3)	4,37 $\pm$ 0,55	5,27 $\pm$ 1,41	3,70 $\pm$ 0,11	4,86 $\pm$ 2,37	

n = Número de animais após tempo de exposição. Os animais do grupo 50mg/kg e 100mg/kg foram pré-tratados por 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico. Letras distintas na mesma linha indicam  $p < 0,05$ .



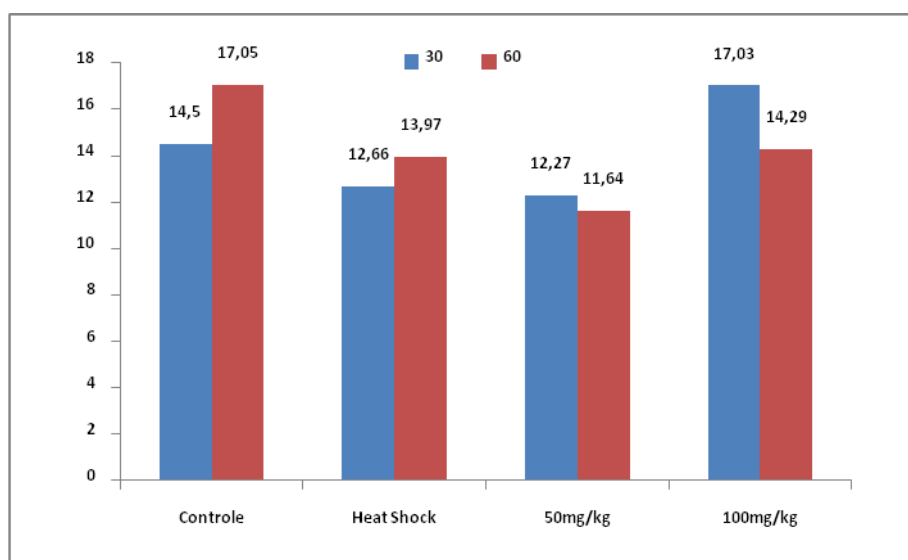
**Figura 23.** População de Célula de Sertoli ( $\times 10^7$ ) por testículo de ratos Wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico.

Na tabela e figura 24 não houve diferença significativa na produção espermática diária por grama de testículo, entre os diferentes tratamentos nos tempos experimentais. No entanto, na figura 24 é possível observar uma tendência a diminuição na produção espermática diária por grama de testículo nos grupos submetidos ao choque térmico sem tratamento e o grupo tratado com 50mg de pentoxifilina pós-choque térmico nos tempos experimentais em que este parâmetro foi avaliado em relação ao grupo controle e tratado com 100mg de pentoxifilina.

**Tabela 24.** Produção espermática diária por grama de testículo ( $\times 10^6$ ) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média  $\pm$  desvio padrão).

Dias pós choque térmico	Grupos Experimentais				P
	Controle (G1)	Controle com choque térmico (G2)	choque térmico + Pentoxifilina 50mg/kg (G3)	choque térmico + Pentoxifilina 100mg/kg (G4)	
<b>30 (n=3)</b>	14,50 $\pm$ 4,05	12,66 $\pm$ 7,28	12,27 $\pm$ 2,36	17,03 $\pm$ 8,66	<b>0,6738</b>
<b>60 (n=3)</b>	17,05 $\pm$ 5,17	13,97 $\pm$ 3,85	11,64 $\pm$ 3,05	14,29 $\pm$ 2,00	<b>0,7594</b>

n = Número de animais após tempo de exposição. Os animais do grupo 50mg/kg e 100mg/kg foram pré-tratados por 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico. Letras distintas na mesma linha indicam  $p < 0,05$ .



**Figura 24.** Produção espermática diária por grama de testículo ( $\times 10^6$ ) de ratos Wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico.

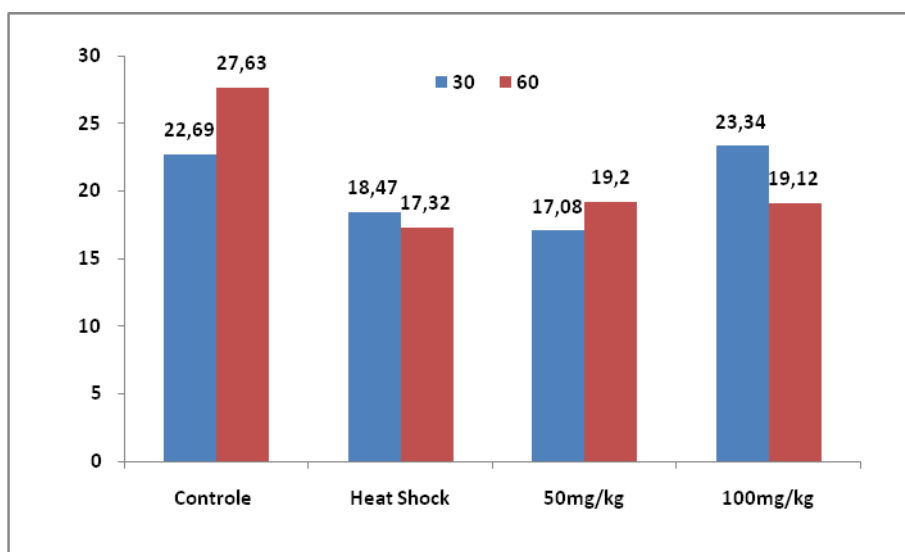
De acordo com a tabela e figura 25 observamos que não ocorreu variação significativa entre os diferentes grupos experimentais com relação à produção espermática diária por testículo. Contudo foi detectada tendência de diminuição deste parâmetro, nos grupos pós-choque térmico não tratado e tratado com 50mg de pentoxifilina, aos 30 e 60 dias em relação ao grupo controle e tratado com 100mg de pentoxifilina no mesmo período.

**Tabela 25.** Produção espermática diária por testículo ( $\times 10^6$ ) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média  $\pm$  desvio padrão).

Grupos Experimentais
----------------------

Dias pós choque térmico					P
	Controle (G1)	Controle com choque térmico (G2)	choque térmico + Pentoxifilina 50mg/kg (G3)	choque térmico + Pentoxifilina 100mg/kg (G4)	
30 (n=3)	22,69 ± 5,46	18,47 ± 10,62	17,08 ± 0,49	23,34 ± 12,06	<b>0.6836</b>
60 (n=3)	27,63 ± 7,0	17,32 ± 5,0	19,20 ± 8,08	19,12 ± 4,27	<b>0.5204</b>

n = Número de animais após tempo de exposição. Os animais do grupo G3 e G4 foram pré-tratados por 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico. Letras distintas na mesma linha indicam  $p < 0,05$ .



**Figura 25.** Produção espermática diária por testículo ( $\times 10^6$ ) de ratos Wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 30 e 60 dias pós-choque térmico.

O processo espermatogênico de ratos adultos submetidos ao choque térmico testicular e tratados com pentoxifilina não sofreu qualquer mudança quantitativa nos períodos de avaliação de 30 e 60 dias. Isto se confirmou pela manutenção do rendimento intrínseco da espermatogênese, o qual é determinado pela produção espermática diária por grama de testículo (PED/g/t), onde nenhum grupo diferiu do outro (Tabela 24 e 25; Figura 24 e 25).

De acordo com França e Russell (1998), a produção espermática diária por grama de testículo é utilizada como parâmetro de avaliação da eficiência da espermatogênese, que pode ser relacionada como menor duração da espermatogênese, maior número de células de Sertoli por grama de testículo e maior capacidade de suporte da célula de Sertoli, maior densidade volumétrica (%) e volume dos túbulos seminíferos no testículo, maior número de gerações de espermatogônias e, finalmente, menor perda de células germinativas durante a espermatogênese.

De acordo com França et al. (2000) e Silva Júnior et al. (2006), o número total de células de Sertoli define quantitativamente a PED/testículo em um animal adulto. Portanto, os

dados de população de células de Sertoli por testículo nos demais grupos deste experimento corroboram os dados obtidos para PED por testículo e por grama de testículo e, portanto, nos levou a concluir que a utilização de pentoxifilina durante o período pós-choque térmico foi eficiente como metodologia para recuperar e ou manter a eficiência espermática e a produção espermática diária neste experimento.

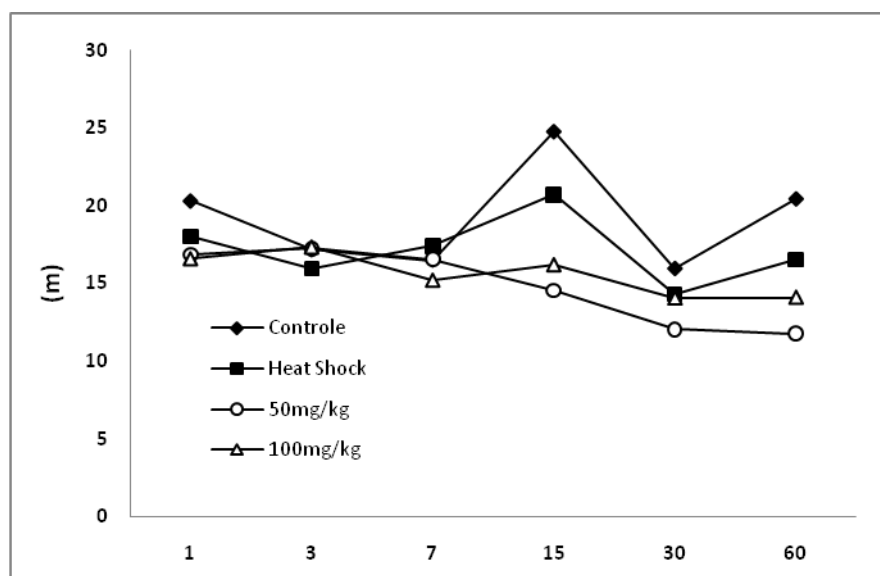
Como podemos observar na tabela 26, a diferença não foi significativa no comprimento total de túbulo seminífero entre os grupos tratados nos diferentes tempos

<b>Grupos Experimentais</b>					
<b>Dias pós choque térmico</b>	<b>Controle (G1)</b>	<b>Controle com choque térmico (G2)</b>	<b>choque térmico + Pentoxifilina 50mg/kg (G3)</b>	<b>choque térmico + Pentoxifilina 100mg/kg (G4)</b>	<b>P</b>
<b>1 (n=3)</b>	20,30 ± 3,4	18,03 ± 2,96	16,87±4,45	16,6 ± 1,72	<b>0.6098</b>
<b>3 (n=3)</b>	17,16 ± 1,61	15,93 ± 7,22	17,24 ± 2,12	17,36 ±1,80	<b>0.9586</b>
<b>7 (n=3)</b>	16,49 ± 2,98	17,40 ± 1,90	16,57 ± 1,84	15,20 ± 2,10	<b>0.6694</b>
<b>15 (n=3)</b>	24,79 ± 2,39	20,71 ± 9,86	14,55 ± 2,22	16,21 ± 3,43	<b>0.1169</b>
<b>30 (n=3)</b>	15,94 ± 2,66	14,28 ± 6,36	12,05 ± 1,05	14,04 ± 6,01	<b>0.7127</b>

experimentais. Contudo, observou-se uma tendência a partir do 7º dia até o final do experimento 60º dia, uma redução no comprimento total de túbulos seminíferos em animais tratados com 50mg e 100mg de pentoxifilina, que sofreram choque térmico, visto na figura 26.

**Tabela 26.** Comprimento Total de Túbulo Seminífero (m) de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média ± desvio padrão).

n = Número de animais após tempo de exposição. Os animais do grupo G3 e G4 foram pré-tratados por 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico. Letras distintas na mesma linha indicam  $p < 0,05$ .



**Figura 26.** Comprimento Total de Túbulo Seminífero (m) de ratos Wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média ± desvio padrão).

De acordo com a tabela e figura 27, podemos observar que a diferença não foi significativa na dosagem de testosterona sérica entre os diferentes tratamentos nos tempos experimentais. No entanto foi observado, no terceiro dia pós-choque térmico, nos grupos não tratados e 50mg/kg de pentoxifilina uma tendência a redução na dosagem de testosterona plasmática. Ressaltamos ainda, que se observou uma tendência a normalidade de acordo com o grupo controle nos níveis de testosterona a partir do 7º dia, tornando-se constante nos dias 15, 30 e 60. Contudo, no final do período experimental, aos 60 dias, constatamos que os animais tratados com 50mg e 100mg de pentoxifilina pós-choque térmico não tiveram alterações significativas na dosagem de testosterona plasmática quando comparados com o grupo controle.

Camundongos submetidos a choque térmico apresentam expressão de HSP70 nas células de Leydig (CAO et al., 2009). Além disso, a expressão desta proteína é indutora dos fenômenos de apoptose em testículos submetidos ao choque térmico (WIDLAK et al., 2007) Em células de Leydig tumorais de camundongo da linhagem MA-10, o choque térmico reduziu a síntese de progesterona, a quantidade de RNAm para proteína regulatória aguda da esteroidogênese (Star), na atividade da proteína regulatória aguda da esteroidogênese. Estas



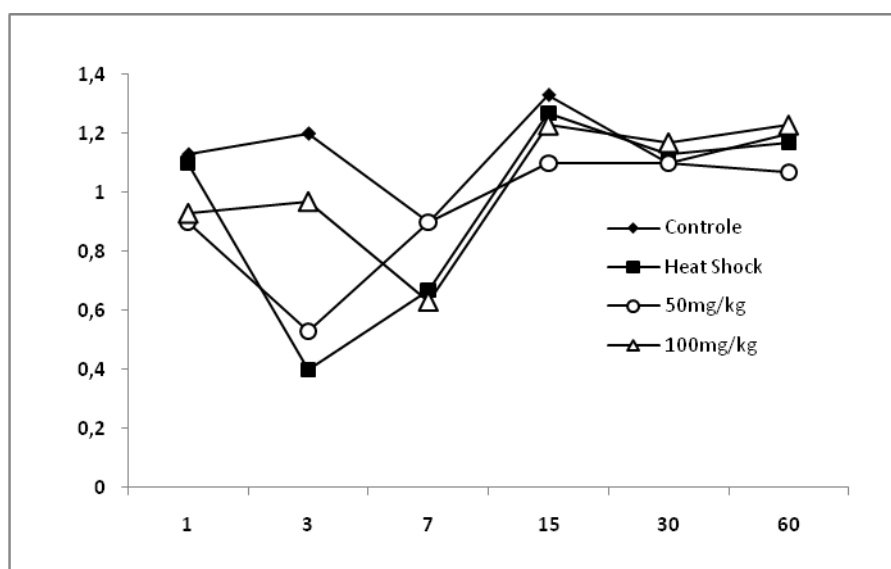
observações fornecem evidências para uma sub-regulação na expressão da Star (Proteínas Regulatória Aguda da Esteroidogênese) ocasionada pelo choque térmico e conseqüentemente

Grupos experimentais					
Dias pós choque térmico	Controle (G1)	Controle com choque térmico (G2)	choque térmico + Pentoxifilina 50mg/kg (G3)	choque térmico + Pentoxifilina 100mg/kg (G4)	P
1 (n=3)	1,13 ± 0,28	1,1 ± 0,10	0,9 ± 0,10	0,93 ± 0,15	0,3554
3 (n=3)	1,2 ± 0,60	0,4 ± 0,10	0,53 ± 0,42	0,97 ± 0,057	0,1024
7 (n=3)	0,9 ± 0,10	0,67 ± 0,25	0,9 ± 0,40	0,63 ± 0,40	0,5826
15 (n=3)	1,33 ± 0,06	1,27 ± 0,11	1,1 ± 0,26	1,23 ± 0,11	0,3842
30 (n=3)	1,1 ± 0,17	1,13 ± 0,15	1,1 ± 0,17	1,17 ± 0,15	0,9184
60 (n=3)	1,2 ± 0,17	1,17 ± 0,15	1,07 ± 0,11	1,23 ± 0,058	0,4318

redução na produção de testosterona (MURPHY et al., 2001). No presente experimento não se observou redução nos níveis de testosterona, mas a tendência de redução pode estar diretamente relacionada ação do choque térmico sobre as células de Leydig tendo a pentoxifilina um provável efeito redutor da ação térmica sobre as células de Leydig devido a recuperação dos níveis séricos a partir do 15º dia pós-choque térmico.

**Tabela 27.** Dosagem de testosterona plasmática de ratos wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico (Média ± desvio padrão).

n = Número de animais após tempo de exposição. Os animais do grupo 50mg/kg e 100mg/kg foram pré-tratados por 30 dias com pentoxifilina antes do choque térmico. Letras distintas na mesma linha indicam  $p < 0,05$ .



**Figura 27.** Dosagem de testosterona plasmática de ratos Wistar controle e submetidos a choque térmico testicular, tratados ou não com diferentes doses de pentoxifilina, e avaliados com 1, 3, 5, 7, 15, 30 e 60 dias pós-choque térmico.

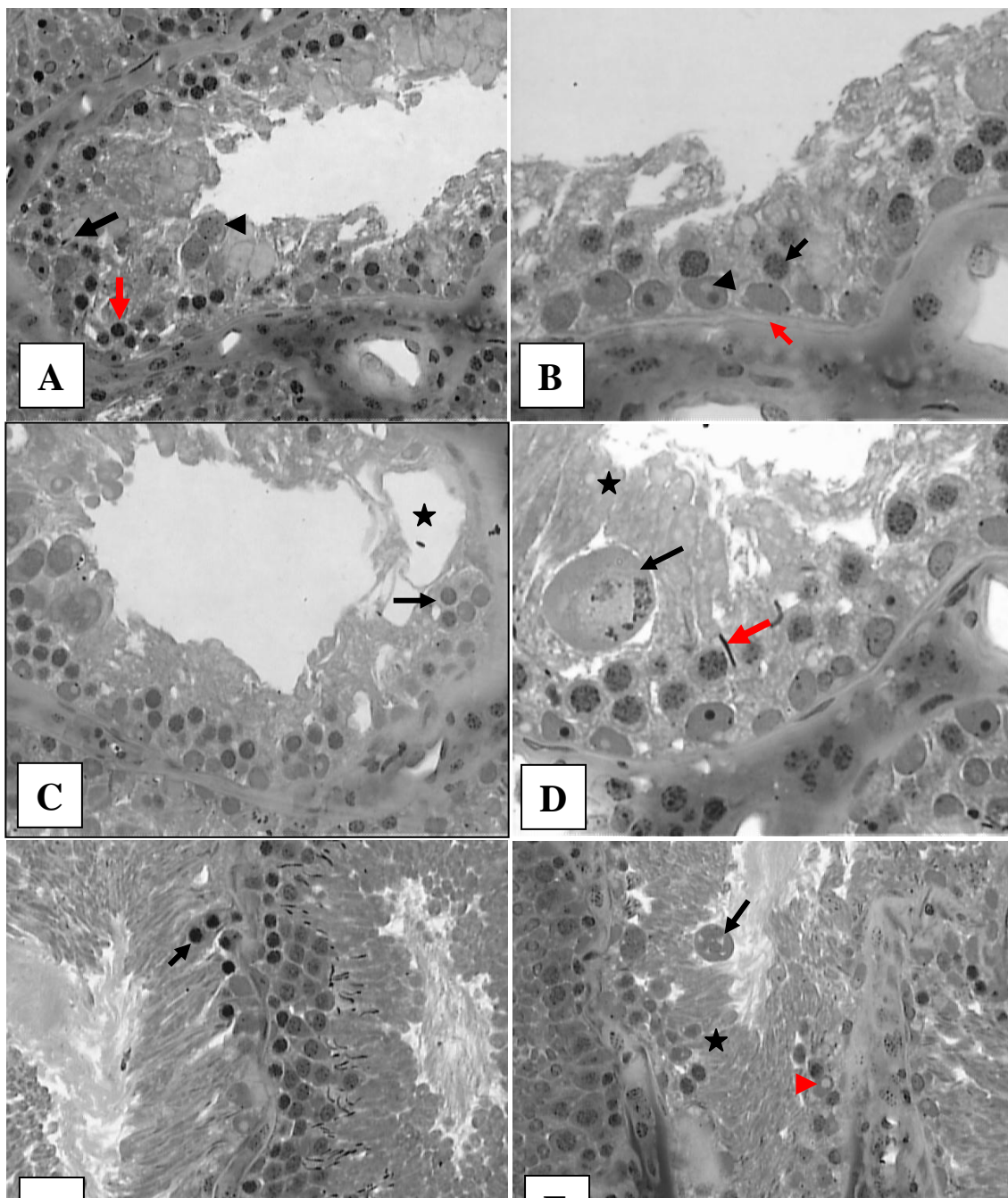
## **7. Resultados Histopatológicos**

### **7.1 Achados histopatológicos no terceiro dia pós-choque térmico dos animais tratados ou não com pentoxifilina.**

De acordo com achados histopatológicos observados no parênquima testicular no 3º dia após a realização do choque térmico os animais do grupo choque térmico (HS) (Heat Shock) apresentaram lesões no epitélio seminífero compatíveis com degeneração testicular. Pode ser observado espessamento de membrana basal, vacuolização de células de Sertoli, presença de células gigantes sinciciais oriundas de espermátides arredondadas, espermátócitos I em pré-leptóteno/leptóteno com picnose nuclear, espermátócitos I em paquíteno degenerados e descamação do epitélio germinativo sendo observado no compartimento basal apenas espermatogônias e células de Sertoli (Figura 28A; B; C e D).

Os animais tratados com 50mg/Kg de pentoxifilina antes e depois do choque térmico testicular possuem lesões compatíveis com degeneração testicular pelo calor. Entretanto, apesar da existência de alterações do epitélio germinativo como apoptose de espermátócitos, célula gigantes sinciciais de espermátides arredondadas foi possível observar que no terceiro dia, o parênquima testicular possuía túbulos seminíferos com alguns estágios do ciclo do epitélio seminífero preservados. Isto denota que a pentoxifilina exerceu um papel inibidor dos mecanismos pró-inflamatórios desencadeados pelo choque térmico aplicado diretamente no testículo (Figura 28E; F; G e H).

No terceiro dia, o testículo dos animais tratados com 100mg/Kg de pentoxifilina antes e depois do choque térmico possuía poucas áreas de lesões compatíveis com degeneração testicular pelo calor. Apesar da existência de alterações do epitélio germinativo como apoptose de espermatócitos, célula gigantes sinciciais de espermatídes arredondadas foi possível observar em todo parênquima testicular, túbulos seminíferos em diversos estágios do ciclo do epitélio seminífero preservado. Nesta dosagem a pentoxifilina parece ter exercido maior papel inibidor dos mecanismos pró-inflamatórios desencadeados pelo choque térmico aplicado diretamente no testículo (Figura 29E e F)



**Figura 28. Fotomicrografias de testículos de Ratos Wistar adultos submetidos à choque térmico testicular aos 120 dias de idade pré e pós-tratados com pentoxifilina e grupo controle, após 3 dias do choque térmico, corados em azul de toluidina/borato de sódio a 1%.**

**Figura 28A.** Túbulo seminífero do grupo controle submetido a choque térmico com espermátocitos I em paquíteno com condensação de cromatina (picnose; seta vermelha), espermátides em alongamento degeneradas com edema de citoplasma em alongamento (seta), células em processo de descamação (cabeça de seta). 100X.

**Figura 28B.** Detalhe túbulo seminífero do grupo controle submetido a choque térmico. Notar ausência de células germinativas próximas o lume tubular, espermátocitos I em paquíteno em paquíteno com condensação de cromatina (picnose; seta), vacuolização no núcleo das células de Sertoli e espessamento da membrana basal. 200X.

**Figura 28C.** Túbulo seminífero do grupo controle submetido a choque térmico com células sinciciais de espermátides arredondadas (seta) e vacuolização de células de Sertoli (estrela). Observar redução na população de células germinativas e células germinativas em processo de necrose (seta vermelha). 100X

**Figura 28D.** Detalhe túbulo seminífero do grupo controle submetido a choque térmico testicular. Observar a redução do epitélio germinativo, células gigantes necróticas (setas), espermátides em alongamento em degeneração (seta vermelha) e edema de cauda de espermátides em alongamento. 200X.

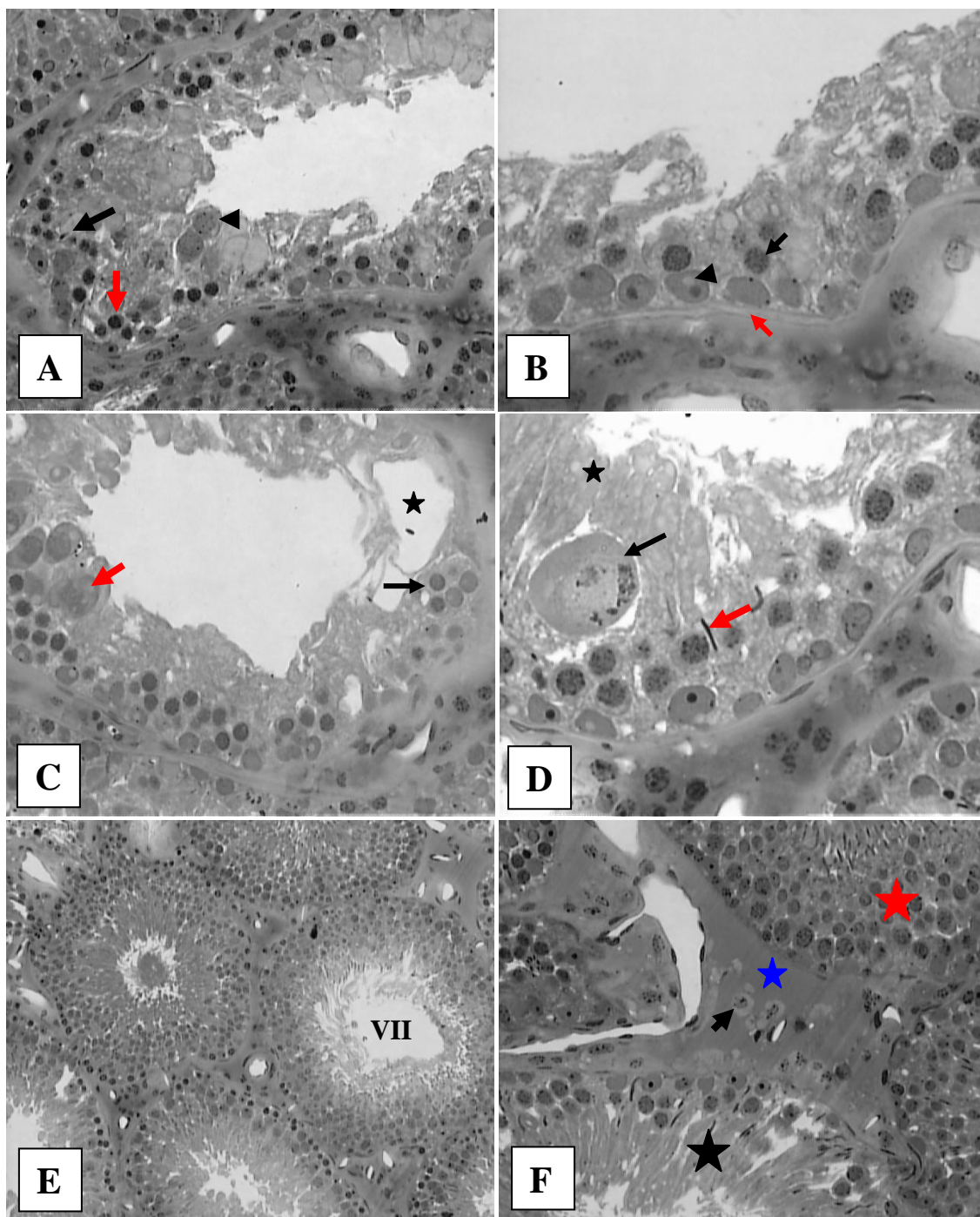
**Figura 28E.** Túbulo seminífero do grupo pré e pós-tratado com 50mg/Kg submetido a choque térmico. Notar túbulos seminífero com células germinativas em necrose (seta) e túbulo adjacente com o epitélio germinativo sem alterações aparentes (estrela). 100X.

**Figura 28F.** Túbulo seminífero do grupo pré e pós-tratado com 50mg/Kg submetido a choque térmico. Notar túbulo seminífero com células sinciciais gigantes de espermátides arredondadas (seta), degeneração de espermátides em alongamento (estrela) e vacuolização de núcleo de células de Sertoli. 100X.

**Figura 28G.** Detalhe de túbulo seminífero do grupo pré e pós-tratado com 50mg/Kg submetido a choque térmico. Notar célula germinativa em necrose (seta) e vacuolização de núcleo de células de Sertoli (seta vermelha). Observar túbulo adjacente com células germinativas normais. 200X.

**Figura 28H.** Detalhe de túbulo seminífero do grupo pré e pós-tratado com 50mg/Kg submetido a choque térmico. Observar área tracejada em vermelho com células germinativas

em diversos estágios de necrose e célula de Sertoli com vacuolização nuclear (seta). Notar em túbulo adjacente mitose de espermatogônia. 200X.



**Figura 29. Fotomicrografias de testículos de Ratos Wistar adultos submetidos à choque térmico testicular aos 120 dias de idade tratados com pentoxifilina e grupo controle, após 3 dias do choque térmico, corados em azul de toluidina/borato de sódio a 1%.**

**Figura 29A.** Túbulo seminífero do grupo controle submetido a choque térmico com espermatócitos I em paquíteno com condensação de cromatina (picnose; seta vermelha), espermatídes em alongamento degeneradas com edema de citoplasma em alongamento (seta), células em processo de descamação (cabeça de seta). 100X.

**Figura 29B.** Detalhe túbulo seminífero do grupo controle submetido a choque térmico. Notar ausência de células germinativas próximas o lume tubular, espermatócitos I em paquíteno em paquíteno com condensação de cromatina (picnose; seta), vacuolização no núcleo das células de Sertoli e espessamento da membrana basal. 200X.

**Figura 29C.** Túbulo seminífero do grupo controle submetido a choque térmico com células sinciciais de espermatídes arredondadas (seta) e vacuolização de células de Sertoli (estrela). Observar redução na população de células germinativas e células germinativas em processo de necrose (seta vermelha). 100X

**Figura 29D -** Detalhe túbulo seminífero do grupo controle submetido a choque térmico testicular. Observar a redução do epitélio germinativo, células gigantes necróticas (setas), espermatídes em alongamento em degeneração (seta vermelha) e edema de cauda de espermatídes em alongamento. 200X.

**Figura 29E –** Parênquima testicular de ratos submetidos a choque térmico do grupo pré e pós-tratado com pentoxifilina (100mg/kg). Observar túbulos seminíferos no estágio VII do ciclo do epitélio seminífero preservado. Aumento 100X.

**Figura 29F –** Parênquima testicular de ratos a choque térmico do grupo pré e pós-tratado com pentoxifilina (100mg/kg). Notar epitélio germinativo com associação celular incompleta caracterizada pela ausência de espermatócitos I em paquíteno (estrela) e áreas de túbulos seminíferos com associações celulares preservadas. Intertúbulo preservado com células de Leydig (seta) e espaço linfático (estrela azul). Aumento 200X.

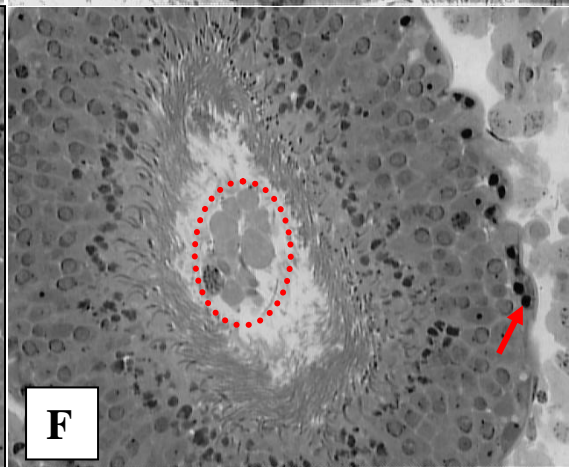
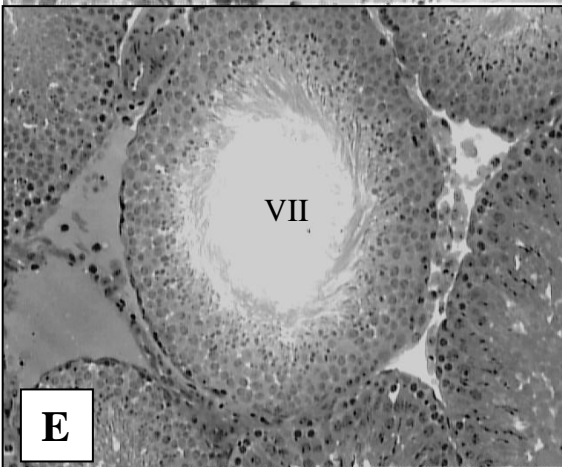
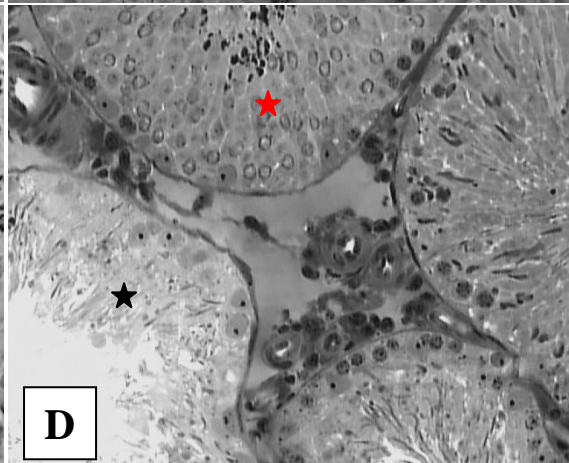
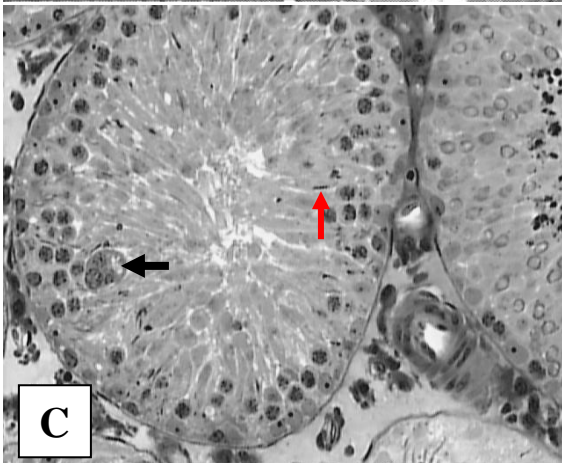
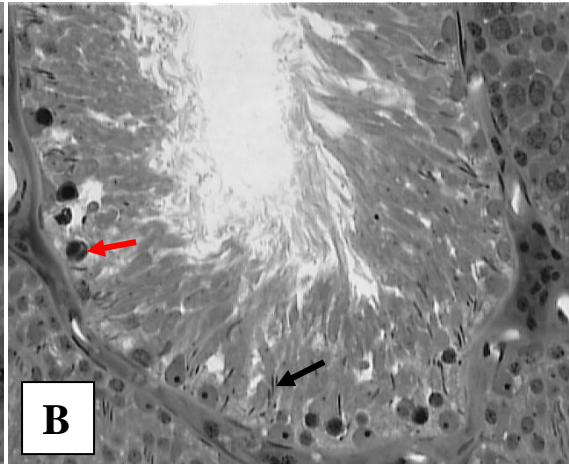
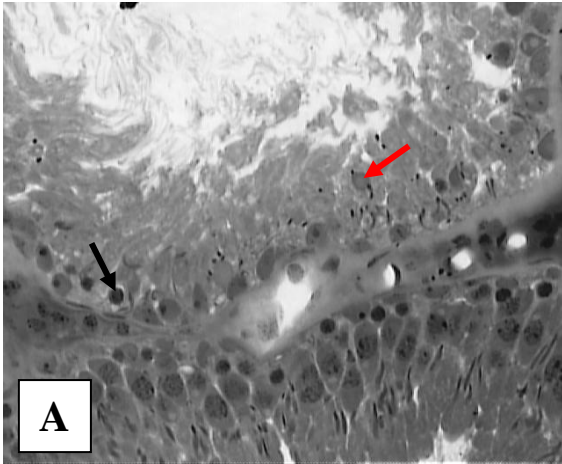
**7.2 Achados histopatológicos no sétimo dia pós-choque térmico dos animais tratados ou não com pentoxifilina.**



Após sete dias da realização do choque térmico testicular nos animais do grupo controle, o processo degenerativo do parênquima deste órgão se tornou bastante pronunciado com o agravamento das lesões reportadas anteriormente no estágio de três dias pós-choque térmico. Em alguns túbulos foi possível evidenciar condensação de cromatina típica de apoptose de espermatócitos I, descamação de espermátides arredondadas. Algumas espermátides em alongamento foram observadas ligadas aos prolongamentos das células de Sertoli, porém apresentavam avançado grau de degeneração (Figura 30A e B).

Após sete dias de choque térmico, os animais tratados com 50mg/Kg de pentoxifilina, apresentavam alguns túbulos seminíferos com lesões compatíveis a processo degenerativo tais como descamação celular e formação de sincício de espermátides arredondadas. Por outro lado foi observada presença da maioria dos estágios do ciclo do epitélio seminífero. Dentre estes, o estágio VII do ciclo do epitélio seminífero pode ser observado por todo parênquima testicular, denotando o efeito inibidor da pentoxifilina sobre a instalação das lesões decorrentes da aplicação de calor no tecido testicular (Figura 30C; D; E e F). Torna-se importante ressaltar que o estágio VII é crítico na avaliação do processo espermatogênico e que no testículo dos animais submetidos ao choque térmico não se observou este estágio de forma completa (Figura 30C; D; E e F).

Nos animais tratados com 100mg/Kg de pentoxifilina alguns túbulos seminíferos também apresentavam lesões compatíveis com o processo degenerativo, porém se observou a maioria dos estágios do ciclo do epitélio seminífero, caracterizando o efeito antiinflamatório da pentoxifilina sobre a instalação das lesões decorrentes da aplicação de calor no tecido testicular (Figura 31C; D; E e F). Torna-se importante ressaltar que o estágio VII é fundamental na avaliação do processo espermatogênico e que no testículo dos animais submetidos ao choque térmico testicular e não tratados com pentoxifilina, não se observou este estágio de forma completa (Figura 31A e B).





**Figura 30. Fotomicrografias de testículos de Ratos Wistar adultos submetidos à choque térmico testicular aos 120 dias de idade tratados com pentoxifilina e grupo controle, após 7 dias do choque térmico corados em azul de toluidina/borato de sódio a 1%.**

**Figura 30A** – Parênquima testicular de ratos do grupo controle submetido a choque térmico. Observar condensação de cromatina típica de picnose necrótica de espermatócitos I (seta), epitélio germinativo com redução celular e espermátides em alongamento degeneradas (seta vermelha). Aumento 100X.

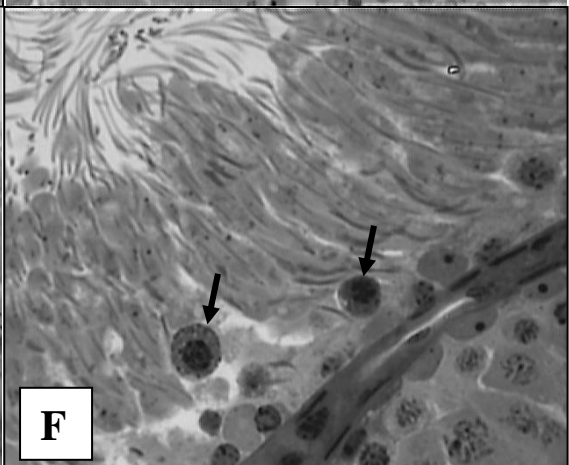
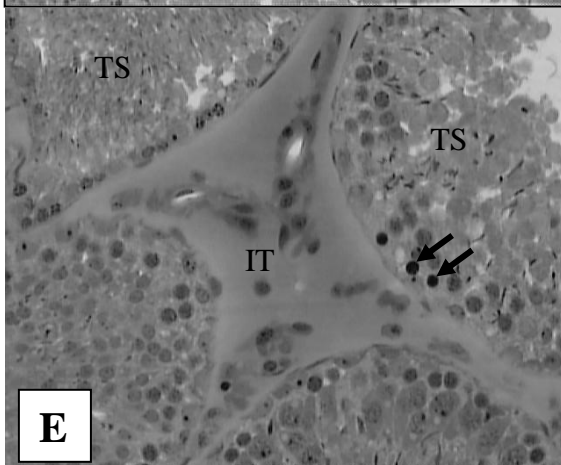
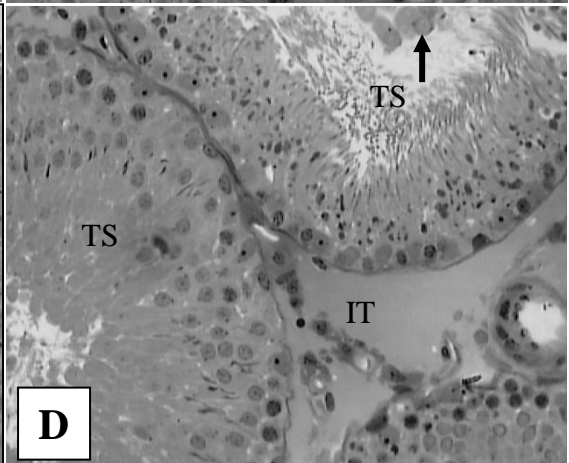
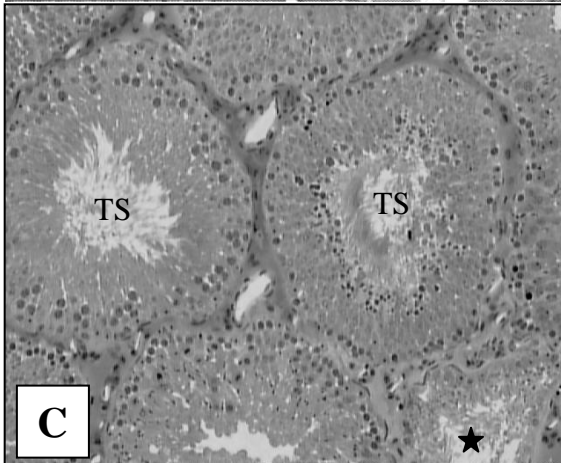
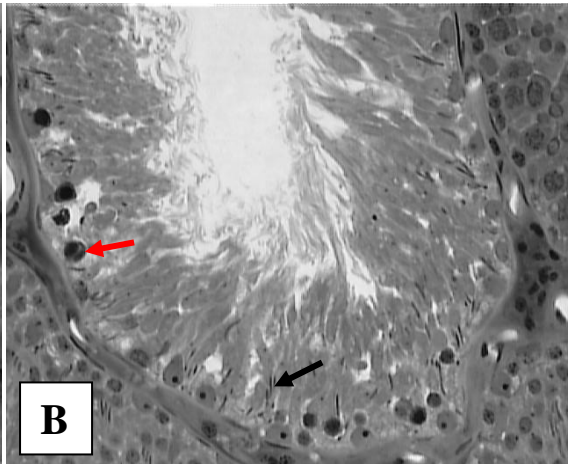
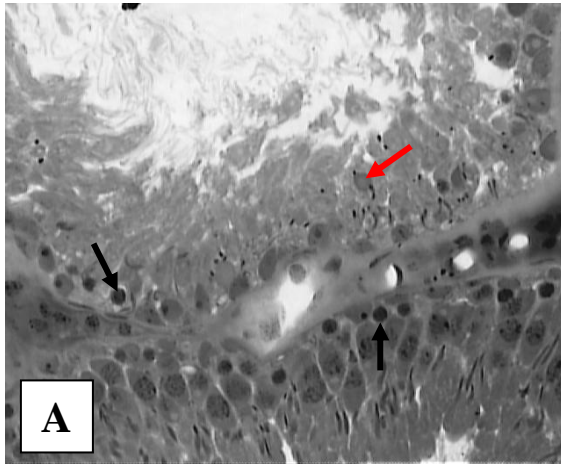
**Figura 30B** – Parênquima testicular de ratos do grupo controle submetido a choque térmico. Notar que algumas espermátides em alongamento foram observadas ligadas aos prolongamentos das células de Sertoli, porém apresentavam avançado grau de degeneração (seta). Espermatócitos I em apoptose (seta vermelha). Aumento 100X.

**Figura 30C** – Parênquima testicular de ratos submetidos a choque térmico, pré e pós-tratado com pentoxifilina (50mg/kg). Observar formação de sincício de espermátides arredondadas (seta) e espermátides em alongamento em processo de necrose (seta vermelha). Aumento de 200X.

**Figura 30D** – Parênquima testicular de ratos submetidos a choque térmico, pré e pós-tratado com do grupo pentoxifilina (50mg/kg). Notar alterações do epitélio germinativo compatíveis com o processo de degeneração testicular, como descamação celular (estrela). Em contraponto há túbulos seminíferos adjacentes com epitélio seminífero preservado (estrela vermelha). Aumento de 200X.

**Figura 30E** – Parênquima testicular de ratos submetidos a choque térmico, pré e pós-tratado com pentoxifilina (50mg/kg). Observar a presença do estágio VII do ciclo do epitélio germinativo. Aumento 100X.

**Figura 30F** – Parênquima testicular de ratos do grupo submetidos a choque térmico, pré e pós-tratado com pentoxifilina (50mg/kg). Notar túbulo seminífero com células de descamação no lume (linha tracejada) e células necróticas (seta vermelha) do compartimento basal do epitélio germinativo. Aumento 200X.



**Figura 31. Fotomicrografias de testículos de Ratos Wistar adultos submetidos à choque térmico testicular aos 120 dias de idade tratados com pentoxifilina e grupo controle, após 7 dias do choque térmico, corados em azul de toluidina/borato de sódio a 1%.**

**Figura 31A** – Parênquima testicular de ratos do grupo controle submetido a choque térmico. Observar apoptose de espermátocitos I (seta), epitélio germinativo com redução celular e espermátides em alongamento degeneradas (seta vermelha). Aumento 100X.

**Figura 31B** – Parênquima testicular de ratos do grupo controle submetido a choque térmico. Notar que algumas espermátides em alongamento foram observadas ligadas aos prolongamentos das células de Sertoli, porém apresentavam avançado grau de degeneração (seta). Espermátocitos I em apoptose (seta vermelha). Aumento 100X.

**Figura 31C** – Parênquima testicular de ratos submetidos a choque térmico, pré e pós-tratado com pentoxifilina (100mg/kg). Túbulos seminíferos (TS) com associações celulares normais. Túbulo seminífero com epitélio germinativo baixo (estrela). Aumento de 100X.

**Figura 31D** – Parênquima testicular de ratos submetidos a choque térmico, pré e pós-tratado com pentoxifilina (100mg/kg). Detalhe de túbulos seminíferos com associações celulares normais. Notar células descamadas no lume tubular (seta). Intertúbulo (IT). Aumento de 200X.

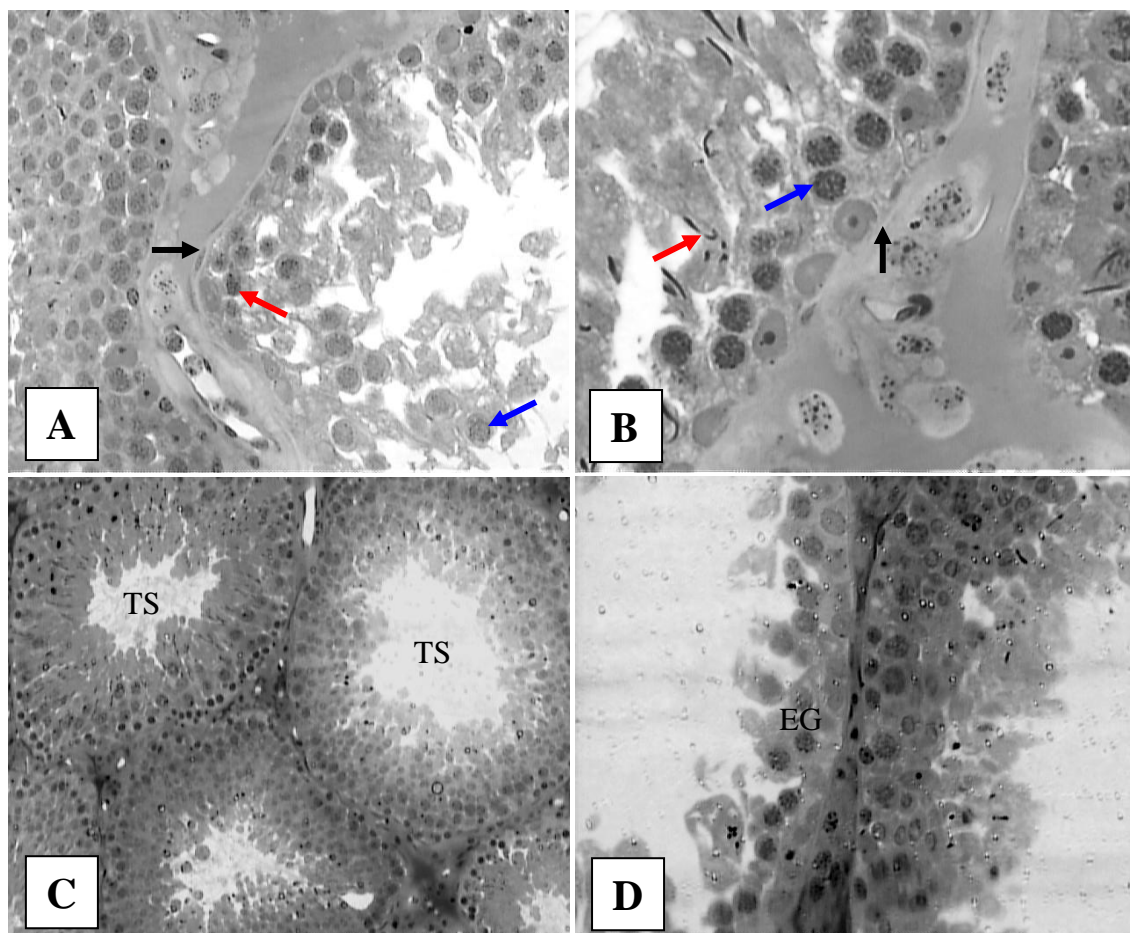
**Figura 31E** – Parênquima testicular de ratos submetidos a choque térmico, pré e pós-tratado com pentoxifilina (100mg/kg). Notar túbulos seminíferos com associações celulares do epitélio germinativo incompleta e células apoptóticas no compartimento basal (seta). Intertúbulo (IT). Aumento 200X.

**Figura 31F** – Detalhe de túbulo seminífero de ratos submetidos a choque térmico, pré e pós-tratado com pentoxifilina (100mg/kg). Notar associação celular incompleta do epitélio germinativo e espermátocitos I em paquíteno em processo apoptótico. Aumento 100X

### **7.3 Achados histopatológicos no dia 15 pós-choque térmico dos animais tratados ou não com pentoxifilina.**

Decorridos 15 dias pós-choque térmico testicular os animais do grupo submetidos a choque térmico ainda apresentavam lesões compatíveis com o quadro de degeneração testicular sendo digno de nota que não se observou a presença do estágio VII do ciclo do epitélio seminífero (Figura 32 A e B). Os animais tratados com pentoxifilina na dosagem de 50mg/Kg durante este período, apesar da existência de alguns túbulos degenerados, o processo espermatogênico estava preservado em termos qualitativos o que se constatou pela presença de todos os estágios do ciclo do epitélio seminífero (Figura 32 C e D).

Da mesma maneira, os animais tratados com pentoxifilina na dosagem de 100 mg/Kg durante 15 dias pós-choque térmico possuíam alguns túbulos com o epitélio germinativo baixo. Contudo, o processo espermatogênico estava preservado qualitativamente devido a presença de todos os estágios do ciclo do epitélio seminífero (Figura 33 C e D).



**Figura 32. Fotomicrografias de testículos de Ratos Wistar adultos submetidos à choque térmico testicular aos 120 dias de idade tratados com pentoxifilina e grupo controle, após 15 dias do choque térmico, corados em azul de toluidina/borato de sódio a 1%.**

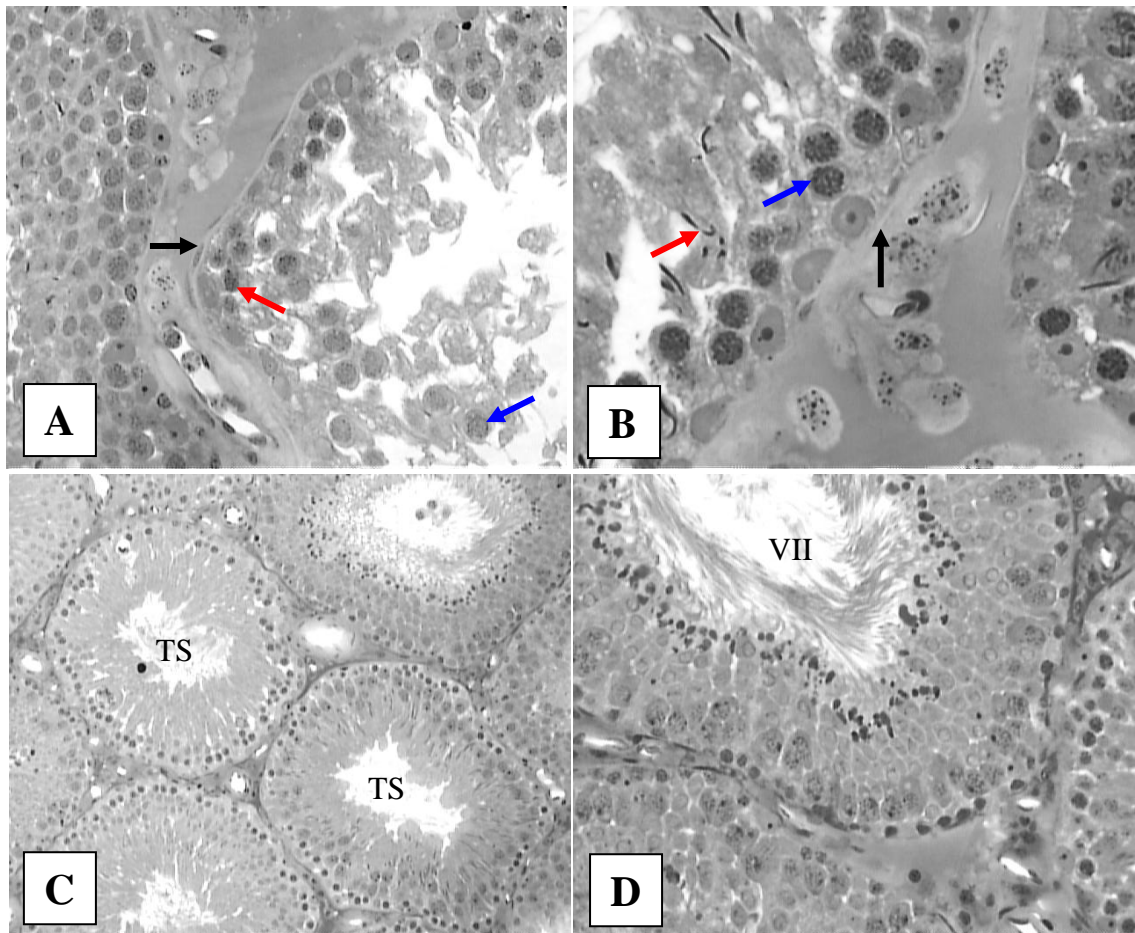
**Figura 32A** – Parênquima testicular de ratos do grupo controle submetido à choque térmico. Observar condensação de cromatina típica de picnose necrótica de espermatócitos I (seta vermelha), espessamento de membrana basal (seta). Notar descamação do epitélio germinativo (seta azul). Aumento 200X.

**Figura 32B** – Detalhe de túbulo seminífero de rato do grupo controle submetido à choque térmico. Notar que algumas espermátides em alongamento foram observadas ligadas aos prolongamentos das células de Sertoli, porém apresentavam avançado grau de degeneração e descamação (seta vermelha). Notar espessamento de membrana basal (seta) e espermatócitos I em paquíteno em picnose necrótica (seta azul). Aumento 400X.

**Figura 32C** – Parênquima testicular de ratos submetidos a choque térmico do grupo pré e pós-tratado com pentoxifilina (50mg/kg). Observar a presença de túbulos seminíferos (TS) nos mais variados estágios dos ciclos do epitélio germinativo. Aumento de 100X.

**Figura 32D** – Parênquima testicular de ratos submetidos a choque térmico do grupo pré e pós-tratado com pentoxifilina (50mg/kg). Notar alterações do epitélio germinativo (EG) baixo devido à descamação de células germinativas. Aumento de 200X.





**Figura 33. Fotomicrografias de testículos de Ratos Wistar adultos submetidos à choque térmico testicular aos 120 dias de idade tratados com pentoxifilina e grupo controle, após 15 dias do choque térmico, corados em azul de toluidina/borato de sódio a 1%.**

**Figura 33A** – Parênquima testicular de ratos do grupo controle submetido à choque térmico. Observar condensação de cromatina típica de picnose necrótica de espermatócitos I (seta vermelha), espessamento de membrana basal (seta). Notar descamação do epitélio germinativo (seta azul). Aumento 200X.

**Figura 33B** – Detalhe de túbulo seminífero de rato do grupo controle submetido à choque térmico. Notar que algumas espermátides em alongamento foram observadas ligadas aos prolongamentos das células de Sertoli, porém apresentavam avançado grau de degeneração e descamação (seta vermelha). Notar espessamento de membrana basal (seta) e espermatócitos I em paquíteno em picnose necrótica (seta azul). Aumento 400X.

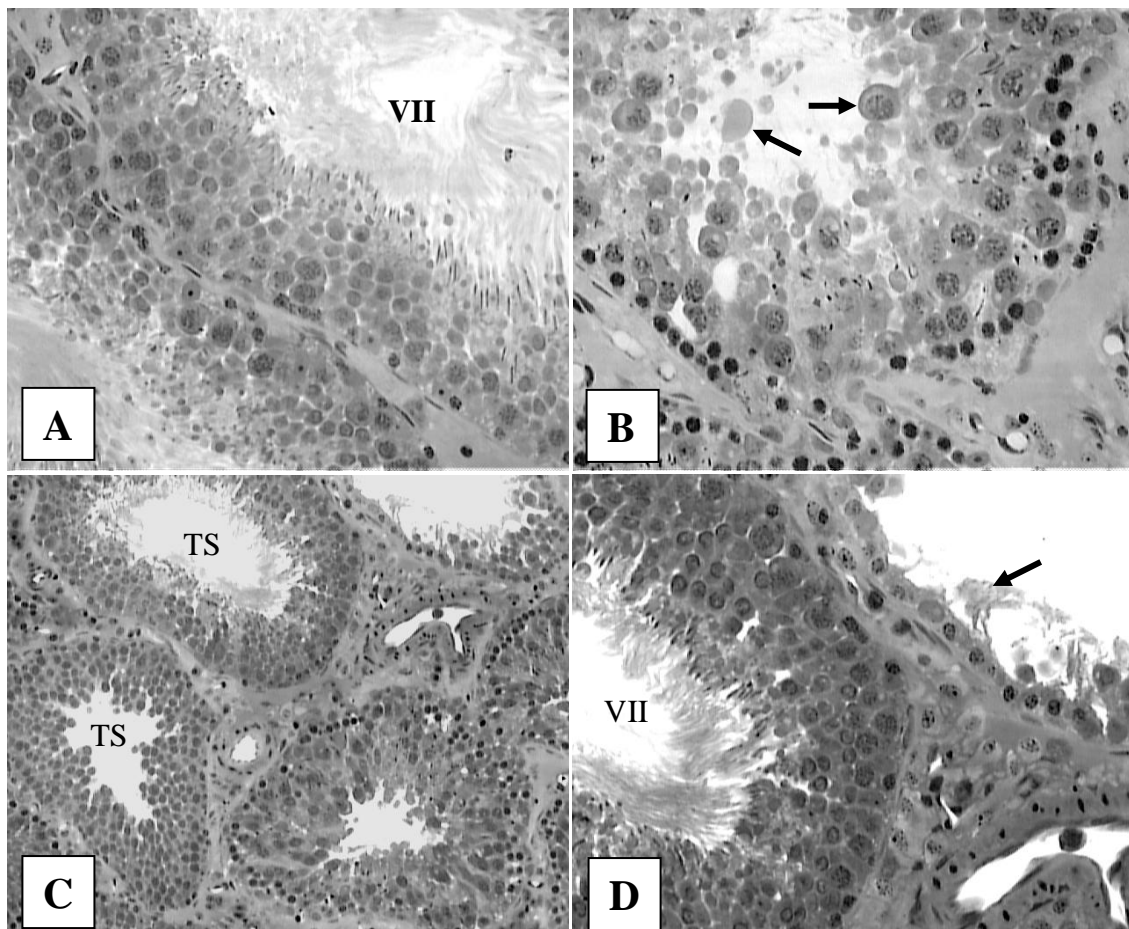
**Figura 33C** – Parênquima testicular de ratos submetidos a choque térmico do grupo pré e pós-tratado com pentoxifilina (100mg/kg). Observar a presença de túbulos seminíferos nos mais variados estágios dos ciclos do epitélio germinativo. Aumento de 100X.

**Figura 33D** – Detalhe de túbulo seminífero no estágio VII de ratos submetidos a choque térmico do grupo pré e pós-tratado com pentoxifilina (100mg/kg). Notar associações do epitélio germinativo típicas do estágio VII. Aumento de 200X.

#### 7.4 Achados histopatológicos no dia 30 pós-choque térmico dos animais tratados ou não com pentoxifilina.

Após 30 dias do choque térmico testicular ao observou-se a recuperação parcial do processo espermatogênico nos animais do grupo choque térmico (HS), porém túbulos com células descamadas no lume dos túbulos seminíferos foram constatadas. Nos animais tratados com 50mg/Kg de pentoxifilina o processo espermatogênico possuía todos os estágios do ciclo do epitélio seminífero, porém ainda se observou túbulos com a espessura delgada do epitélio germinativo e contendo apenas espermatogônias, porém sem células degeneradas (Figura 34 A; B; C e D).

No mesmo período, nos animais tratados com 100mg/Kg de pentoxifilina se observou todos os estágios do ciclo do epitélio seminífero, porém ainda se constatou túbulos com poucas células germinativas ou associações celulares incompletas contudo, não se observou células degeneradas (Figura 35 C e D).



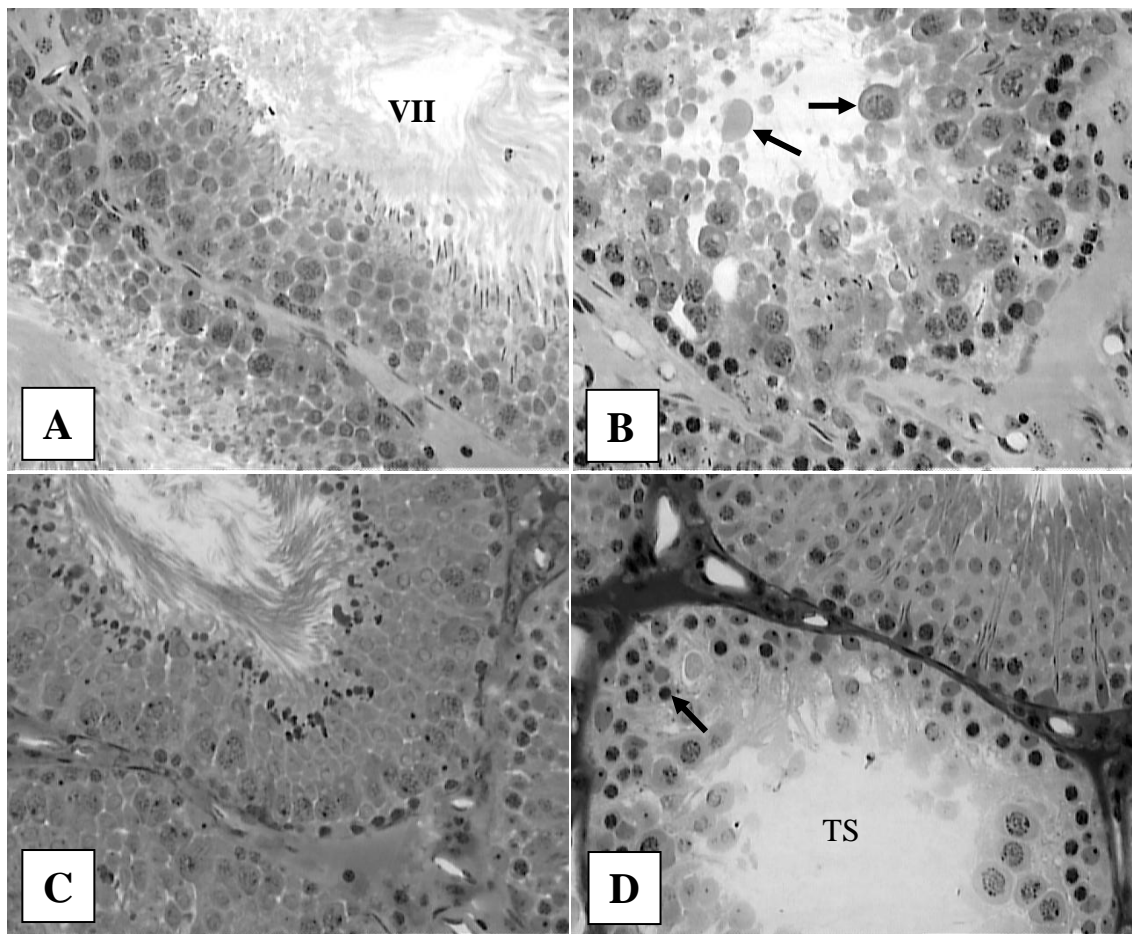
**Figura 34. Fotomicrografias de testículos de Ratos Wistar adultos submetidos à choque térmico testicular aos 120 dias de idade tratados com pentoxifilina e grupo controle, após 30 dias do choque térmico, corados em azul de toluidina/borato de sódio a 1%.**

**Figura 34A** – Detalhe de túbulo seminífero no estágio VII de rato do grupo controle submetido a choque térmico. Observar a recuperação do processo espermatogênico nos animais controles com presença de túbulos seminíferos com associações celulares típicas. Aumento 200X.

**Figura 34B** – Detalhe de túbulo seminífero no estágio VII de rato do grupo controle submetido a choque térmico. Notar a presença de células descamadas no lume dos túbulos seminíferos (seta). Aumento 400X.

**Figura 34C** – Parênquima testicular de rato submetido a choque térmico testicular, pré e pós-tratado do grupo pentoxifilina (50mg/kg). Observar a presença de túbulos seminíferos nos mais variados estágios dos ciclos do epitélio germinativo. Aumento de 100X.

**Figura 34D** – Detalhe de túbulo seminífero no estágio VII de rato submetido à choque térmico testicular, pré e pós-tratado (50mg/kg). Notar a presença de túbulos seminíferos preservados em contraponto a túbulos com a espessura delgada do epitélio germinativo e contendo apenas espermatogônias. Prolongamentos de células de Sertoli em direção ao lume tubular (seta). Aumento de 100X.



**Figura 35.** Fotomicrografias de testículos de Ratos Wistar adultos submetidos a choque térmico testicular aos 120 dias de idade tratados com pentoxifilina e grupo controle, após 30 dias do choque térmico, corados em azul de toluidina/borato de sódio a 1%.

**Figura 35A** – Detalhe de túbulo seminífero no estágio VII de rato do grupo controle submetido a choque térmico. Observar a recuperação do processo espermatogênico nos animais controles com presença de túbulos seminíferos com associações celulares típicas. Aumento 200X.

**Figura 35B** – Detalhe de túbulo seminífero no estágio VII de rato do grupo controle submetido a choque térmico. Notar a presença de células descamadas no lume dos túbulos seminíferos (seta). Aumento 400X.

**Figura 35C** – Detalhe de túbulo seminífero no estágio VII de rato submetido a choque térmico testicular, pré e pós-tratado com pentoxifilina (100mg/kg). Observar a presença de túbulo seminífero em desenvolvimento normal apresentando túbulo no estágio VIII do ciclo do epitélio germinativo. Aumento de 200X.

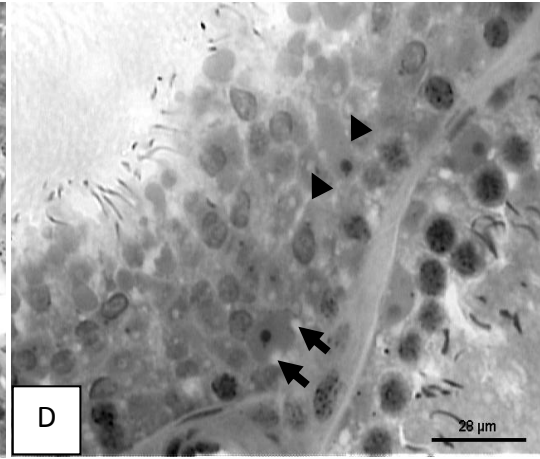
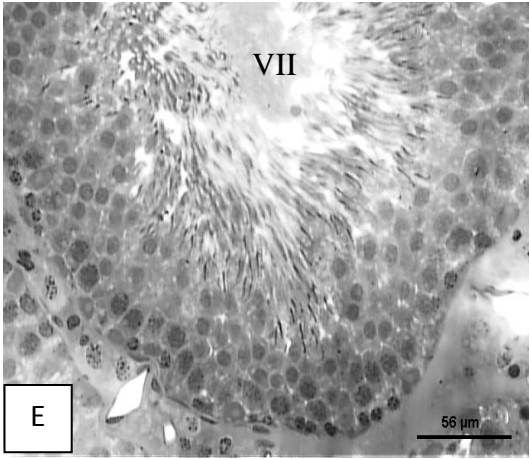
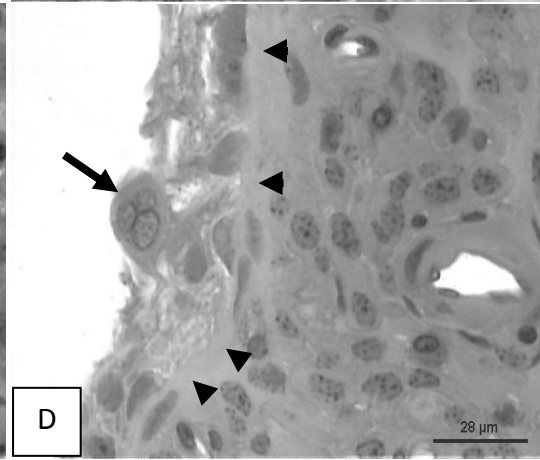
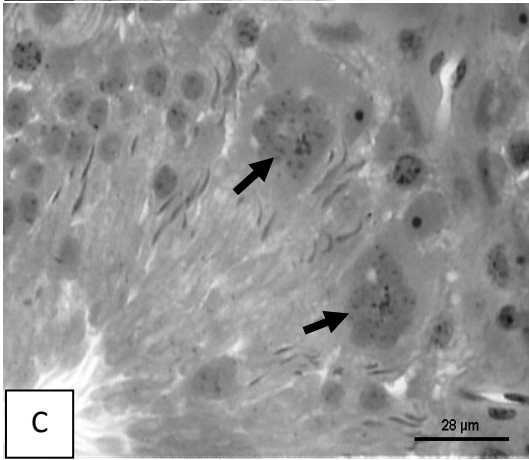
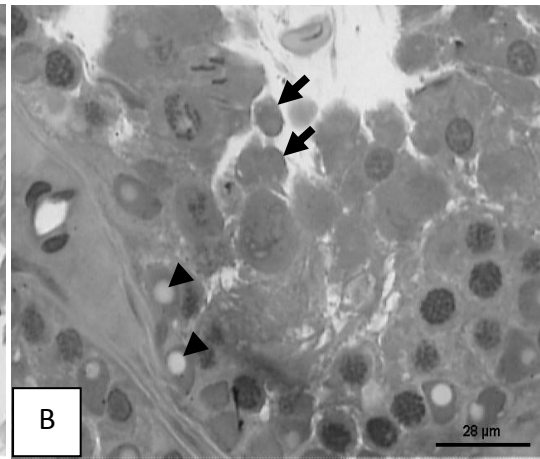
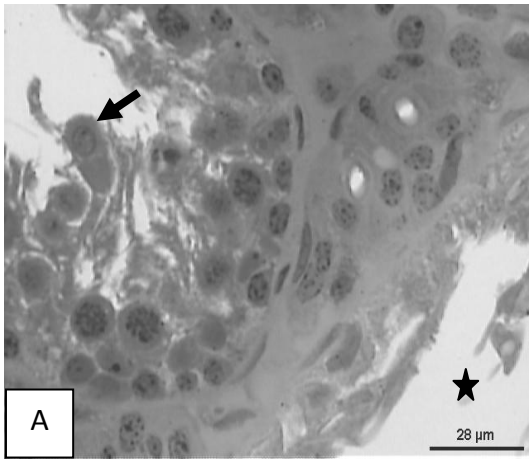
**Figura 35D** – Detalhe de túbulos seminíferos de rato submetido à choque térmico testicular, pré e pós-tratado com pentoxifilina (100mg/kg). Notar a presença de túbulos seminíferos preservados em contraponto a túbulos com epitélio germinativo contendo associação celular incompleta (TS) e algumas células apoptóticas (seta). Aumento de 100X.



### **7.5 Achados histopatológicos no dia 60 pós-choque térmico dos animais tratados ou não com pentoxifilina**

Nos achados histopatológicos dos animais submetidos a choque térmico testicular e que não receberam pentoxifilina foi observado túbulos seminífero sem células germinativas no epitélio tubular ou com poucas células germinativas no epitélio, além de células descamadas no lume. Túbulos seminíferos com afrouxamento do epitélio, presença de células descamadas e vacúolos nas células de Sertoli também foram observados (Figura 36 A e B).

No parênquima testicular dos animais submetidos a choque térmico foi observado túbulo seminífero entre os estágios V-IV com presença de células sinciciais multinucleadas oriundas de espermátides arredondadas. Além disso, notou-se a ausência de células germinativas no epitélio seminífero de alguns túbulos seminíferos e espessamento da túnica própria do túbulo seminífero (Figura 36 C e D).



**Figura 36. Fotomicrografias de testículos de Ratos Wistar adultos após 60 dias do choque térmico, corados em azul de toluidina/borato de sódio a 1%.**

**Figura 36A** – Observar túbulo seminífero sem células germinativas no epitélio tubular (estrela) ou com poucas células germinativas no epitélio e células descamadas no lume tubular (seta).

**Figura 36B** – Detalhe de túbulo seminífero com afrouxamento do epitélio seminíferos, presença de células descamadas e vacúolos nas células de Sertoli

**Figura 36C** – Detalhe de túbulo seminífero entre os estágios V-IV com presença de células sinciciais multinucleadas (seta) oriundas de espermátides arredondadas. Notar ausência de células germinativas no epitélio seminífero

**Figura 36D** – Detalhe de célula sincicial com 3 núcleos, oriunda da fusão de espermátides arredondadas (seta), presa ao prolongamento de célula de Sertoli. Notar espessamento da túnica própria do túbulo seminífero (cabeça de seta).

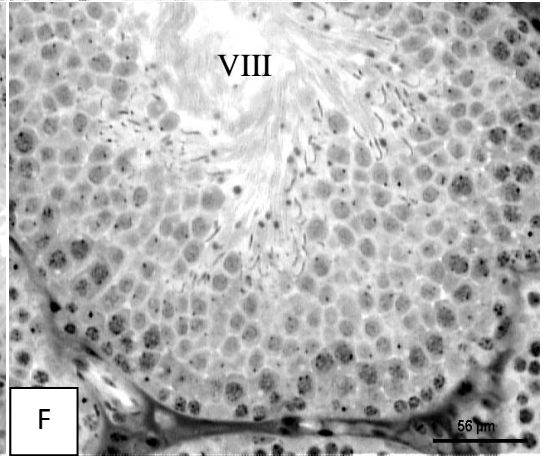
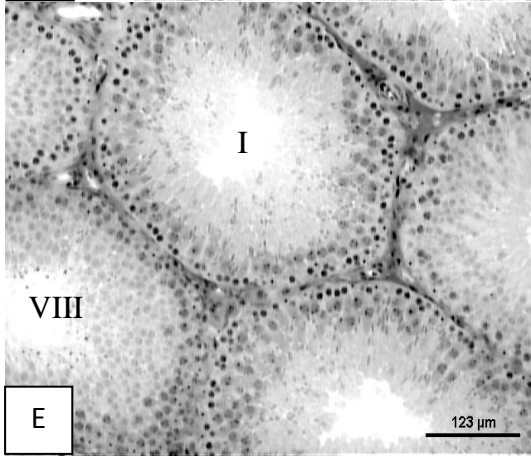
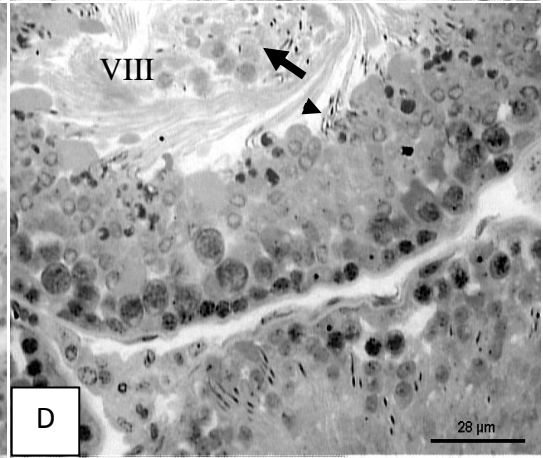
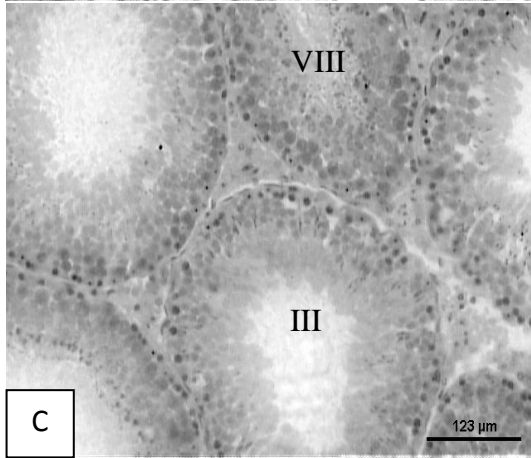
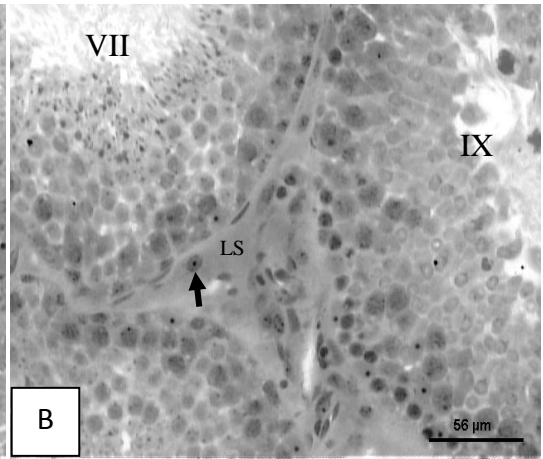
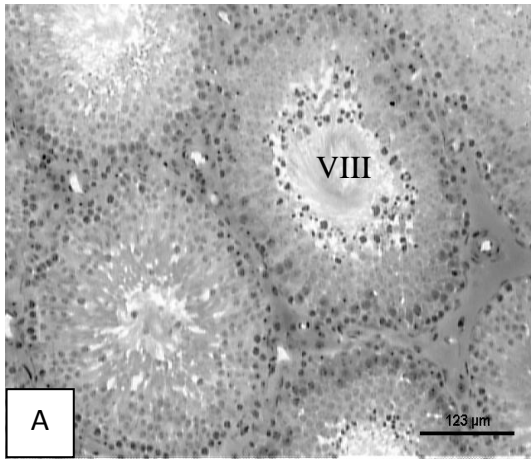
**Figura 36E** - Parênquima testicular de rato submetido a choque térmico. Observar a presença de túbulo seminífero em desenvolvimento normal apresentando túbulo no estágio VIII do ciclo do epitélio germinativo.

**Figura 36F** - Detalhe do túbulo seminífero no estágio VII do ciclo do epitélio germinativo. Notar a presença de vacúolos intracitoplasmáticos em células de Sertoli (seta) e células germinativas (cabeça de seta).

A recuperação do processo espermatogênico aos 60 dias pós-choque térmico em ratos não tratados se constata pela presença de túbulo seminífero no estágio VIII do ciclo do epitélio germinativo. Entretanto, ainda se constatou em túbulos seminíferos no estágio VII do ciclo do epitélio germinativo a presença de vacúolos intracitoplasmáticos em células de Sertoli e células germinativas (Figura 36 E e F).

Nos achados histopatológicos dos animais submetidos a choque térmico e tratados com 50mg/Kg de pentoxifilina foi observado túbulos seminíferos com associações celulares típicas de um processo espermatogênico normal. Por outro lado observou-se túbulos seminíferos no estágio VIII do ciclo do epitélio seminíferos submetido a choque térmico testicular, pré e pós-tratado com pentoxifilina na dosagem de 50mg/kg foi observada presença de espermatozóides na margem luminal do túbulo seminífero e células descamadas no lume tubular (Figura 37 C e D).

Nos animais submetidos a choque térmico e tratados com 100mg/Kg de pentoxifilina foi possível observar túbulos seminíferos no estágio III e VIII do ciclo do epitélio germinativo e o intertúbulo sem alterações estruturais. Isto denotou que a pentoxifilina acelerou o processo de recuperação do processo espermatogênico dos testículos submetidos a choque térmico, uma vez que, nenhuma alteração compatível com degeneração testicular foi observada neste período de avaliação nos animais tratados diariamente com 50 e 100mg/Kg (Figura 37 E e F).



**Figura 37. Fotomicrografias de testículos de Ratos Wistar adultos submetidos a choque térmico testicular aos 150 dias de idade tratados com pentoxifilina e grupo controle, após 60 dias do choque térmico, corados em azul de toluidina/borato de sódio a 1%.**

**Figura 37A** – Observar túbulo seminífero no estágio VIII de rato do grupo controle. Notar presença de túbulos seminíferos com associações celulares típicas.

**Figura 37B** – Túbulos seminíferos nos estágios VII e IX de rato do grupo controle. Notar a presença de células de Leydig (seta) e espaço linfático (LS) no interstício dos túbulos seminíferos (seta).

**Figura 37C** – Parênquima testicular de rato submetido a choque térmico pré e pós-tratado com 50mg/Kg de pentoxifilina. Notar túbulo seminífero no estágio III. Observar a presença de túbulo seminífero em desenvolvimento normal apresentando túbulo no estágio VIII do ciclo do epitélio germinativo.

**Figura 37D** – Detalhe de túbulos seminíferos de rato no estágio VIII do ciclo do epitélio seminíferos submetido à choque térmico testicular, pré e pós-tratado com pentoxifilina (50mg/kg). Notar a presença de espermatozoides (cabeça de seta) na margem luminal do túbulo seminífero e células descamadas no lume tubular (seta).

**Figura 37E** - Parênquima testicular de rato submetido a choque térmico pré e pós-tratado com 100mg/Kg de pentoxifilina. Notar túbulo seminífero no estágio III. Observar a presença de túbulo seminífero em desenvolvimento normal apresentando túbulo no estágio VIII do ciclo do epitélio germinativo.

**Figura 37F** - Parênquima testicular de rato submetido a choque térmico pré e pós-tratado com 100mg/Kg de pentoxifilina. Notar túbulo seminífero no estágio III. Observar a presença de túbulo seminífero em desenvolvimento normal

A degeneração testicular pode ser definida como um processo que causa a deterioração da estrutura do testículo, tendo como consequência perda da função testicular. Esta pode possuir diversos fatores etiológicos, tais como o calor, trauma testicular, exposição ao frio, toxinas, isquemia, deficiências nutricionais, administração exógena de andrógenos, infecções, doenças auto-imunes, obstruções do fluxo espermático, neoplasias e radiação (TURNER, 2007).

Dentre as células do epitélio germinativo, os espermatócitos I em paquíteno parecem ser as mais sensíveis ao calor, devido ao aumento significativo do processo de apoptose nestas células (LUE *et al.*, 1999). A qualidade dos embriões está diretamente ligada a qualidade do espermatozóide com isso, células germinativas expostas ao estresse térmico podem desenvolver um mecanismo protetor como também sofrer eliminação ativa através da via indutora da apoptose (JANNES *et al.*, 1998).

O choque térmico ativa em células somáticas um grupo de genes que codificam proteínas de choque térmico as quais funcionam com chaperonas moleculares. O mecanismo básico pelo qual estes genes são ativados decorre da interação de um fator de transcrição

específico HSF1 com uma seqüência regulatória denominada de elemento de choque térmico (HSE). Em eucariotas superiores HSF1 esta presente em células não-estressadas pelo calor como um monômero ativo, que responde ao estresse celular com a agregação trimérica para formação de um fator de transcrição para proteínas HSP70 as quais ou corrigem defeitos de proteínas danificadas ou induzem apoptose (WIDLA et al., 2003, WIDLA et al., 2007).

Presente experimento, alguns achados histopatológicos foram bastante evidentes nos tempos 3, 7 e 15 pós-choque térmico tais como: presença de células gigantes sinciciais oriundas de espermatídes arredondadas, espermatócitos I em pré-leptóteno/leptóteno com picnose nuclear, espermatócitos I em paquíteno em apoptose, descamação do epitélio germinativo, espessamento de membrana basal, vacuolização de células de Sertoli, túbulos seminíferos apenas espermatogônias e células de Sertoli. Entretanto, neste período se observou que nos animais tratados com pentoxifilina as lesões foram em menor proporção e alguns estágios do ciclo do epitélio seminíferos estiveram presentes.

No período de 30 e 60 dias após o choque térmico, podemos constatar que os animais não tratados com pentoxifilina possuíam túbulos seminíferos com células descamadas no lume dos túbulos seminíferos, afrouxamento do epitélio germinativo e vacúolos nas células de Sertoli, apesar de ter sido observada recuperação parcial do processo espermatogênico. Por outro lado, os animais tratados com pentoxifilina na dose de 50 ou 100mg/Kg o processo espermatogênico possuía todos os estágios do ciclo do epitélio seminífero e nenhuma alteração compatível com degeneração testicular foi observada nestes períodos de avaliação nos animais tratados diariamente com 50 e 100mg/Kg.

As lesões testiculares observadas neste experimento para os 3 primeiros dias pós-choque térmico estão de acordo com as observada por Rockett et al.(2001). Segundo os autores citados anteriormente, em camundongos adultos, o choque térmico testicular desencadeou a formação de vacúolos intratubulares, presença de células gigantes sinciciais de espermatócitos I, células germinativas núcleos picnóticos e alguns núcleos apareceram com fragmentos apoptóticos.

No presente trabalho, a utilização da pentoxifilina na dosagem de 100mg/Kg parece ter exercido efeito inibidor sobre os fatores iniciais que agravam degeneração testicular reduzindo a gravidade das lesões pelo estresse térmico. Os radicais livres gerados no choque térmico, além do TNF- $\alpha$ , podem funcionar como sinal de morte celular ou causar danos oxidativos direto as células e mesmo que as exposições ao calor sejam curtas, estas desencadeiam severos danos as células espermatogênicas.

A pentoxifilina (PTX) é uma metilxantina que exerce múltiplos efeitos benéficos sobre a inibição da cascata inflamatória. De acordo com Ji et al. (2010), a PTX suprimiu substancialmente a elevação dos níveis de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and IL-6, reduziu os níveis de apoptose, do fator de ativação transcricional NF-kappaB e da ativação das células da glia em cérebro de ratos submetidos a queimaduras.

Em coelhos submetidos a lesão isquêmica da medula espinhal, a pentoxifilina promoveu redução sérica significativa de TNF- $\alpha$ , da actividade de mieloperoxidase (MPO), da imunorreatividade de PECAM-1 e caspase-3. Além disso, a PTX promoveu uma redução no número de neurônios com necrose e apoptose em coelhos submetidos à injúria isquêmica da medula espinhal (ZHU et. el., 2008)

## **8. Conclusão**

Não encontramos trabalhos que utiliza a pentoxifilina como alternativa terapêutica aos efeitos do calor sobre a espermatogênese.

Além disso, os resultados encontrados corroboram, com as característica citadas anteriormente como: anti-inflamatórias e vasodilatadoras , ou seja, a pentoxifilina exerceu um papel inibidor nos mecanismos pró-inflamatórios ou pró-apoptóticos desencadeados pelo choque térmico aplicado diretamente nos testículos, além de acelerar o processo de recuperação da espermatogênese após choque térmico nos animais tratados principalmente com 100mg de pentoxifilina durante os 60 dias de tratamento e também atuou como inibidor das fosfodiesterases.

## 7. Referências Bibliográficas

- ABERCROMBIE, M. Estimation of nuclear populations from microtome sections. **Anatomical Records**, v.94, p.238-248, 1946.
- AMANN, R.P., ALMQUIST, J.O. Reproductive capacity of dairy bulls. VIII. Direct and indirect measurement of testicular sperm production. **Journal Dairy Science**, v.45, p.774-781, 1962.
- ATTAL, J., COUROT, M. Developpement testiculaire et etablissement de la spermatogeneses chez le taureau. **Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys**, v.3, p.219-241, 1963.
- BAHRA PS, RAINGER GE, WAUTIER JL, NASH GB. Effects of pentoxifylline on the different steps during adhesion and transendothelial migration of flowing neutrophils. **Cell Biochem Funct.**; 19(4):249-57, Dec, 2001.
- BARTH, A.D. Insights to the pathogenesis of sperm abnormalites in bulls. *Rev. Bras. Repr. Anim.*, 1(4):1-11, 1993.
- BEAVO, J.A. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: functional implications of multiple isoforms. **Physiol Rev**, v.75, p.725-748, 1995.
- BERNDTSON, W.E., IGBOELI, G., PARKER, W.G. 1987. The numbers of Sertoli cells in mature Holstein bulls and their relationship to quantitative aspects of spermatogenesis. *Biol. Reprod.*, 37: 60-74
- BHAT, V. B.; MADYASTHA, K. M. Antioxidant and Radical Scavenging Properties of 8-oxo Derivatives of Xantine Drugs Pentoxifyline and Lysofyline. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 288, 1212-1217 (2001).
- BIGGIOGERA, M.; TANGUAY, R. M.; MARIM, R.; WU, Y.; T.E. & FAKAN, S. Localization of heat shock proteins in mouse male germ cells: an imunoelectron microscopical study. *Exp. Cell. Res.* 229, 77-85. (1996).
- BILLING, H., FURRUTA, I., RIVIER, C. *et al.* Apoptosis in testis germ cells: developmental changes in gonadotropin dependence and localization to selective tubule stage. *Endocrinology*,; 136: 5-12. 1995.
- BLANCHARD, T.L.; VARNER, D.D.; BRETZLAFF, K.N.; ELMORE, R.G. The causes and pathologic changes of testicular degeneration in large animals. *Vet. Med.*,86:531-6, 1992.
- BROWN, J.; WALKER, S. E STEINMAIN, K. *Endocrine manual for the reproductive assessment of domestic and non-domestics species.* Conservation and Research Center, Smithsonian´s National Zoological Park, Front Royal, Virginia – EUA, 2004. 93 p.
- BRUEY, J.M., PAUL, C., FROMENTIN, A., HILPERT, S., ARRIGO, A.-P., SOLARY, E. & GARRIDO, C. Differential regulation of HSP 27 oligomerization in tumor cells grown in vitro and in vitro. **Oncogene**, v. 19, p. 4855-4863, 2000a.



CALOGERO, A.E.; FISHEL, S.; HALL, J.; FERRARA, E. Correlation between intracellular cAMP content, kinematic parameters and hiperactivation of human spermatozoa after incubation with pentoxifylline. **Hum. Reprod.**, v. 13, n. 4, p. 911-915, 1998.

CAO W, HUANG P, ZHANG L, WU HZ, ZHANG J, SHI FX. Acute heat stress increases HSP70 expression in the testis, epididymis and vas deferens of adult male mice. *Zhonghua Nan Ke Xue.* (3):200-6, 15,Mar;2009.

CARNEIRO, S.C.S. Ação da pentoxifilina nos dendrócitos dérmicos FXIIIa de placas de psoríase. **An. bras. dermatol.**, v.80 (Supl. 3), p.314-322, 2005.

CHANDRA AK, CHATTERJEE A, GHOSH R, SARKAR M. Vitamin E-supplementation protect chromium (VI)-induced spermatogenic and steroidogenic disorders in testicular tissues of rats. **Food Chem Toxicol.** 2010 Mar;48(3):972-9. Epub 2010 Jan 16.

CHEMINEAU P. Meio ambiente e reprodução animal 29/06/2004.  
<http://www.fao.org/ag/Aga/AGAP/WAR/warall/v11650b/v1650b04.htm>

CHEN, M.; YANG, Z.; WU, R; NADLER, J. L. Lisofyline, a Novel Antiinflammatory agent, Protects Pancreatic  $\beta$ -Cells from Proinflammatory Cytokine Damage by Promoting Mitochondrial Metabolism *Endocrinology* 143(6); 2341-2348, 2002.

COULTER, G.H., FOOTE, R.H.. Bovine testicular measurements as indicators of reproductive performance and their relationship to productive traits in cattle: a review. *Theriogenology.*, 11: 297-310, 1979.

CONTI, M.; NEMOZ, G.; SETTE, C.;VICINI, E. Recent progress in understanding the hormonal regulation of phosphodiesterases. **The Endoc. Soc.**, v. 16, n. 3, p. 370-389, 1995.

CONTI, M. Phosphodiesterases and cyclic nucleotide signaling in endocrine cells. **Molecular Endocrinology**, v. 14, n.9, p.1317-1327, 2000.

DAIANE DONIN, S., ROGÉRIO HEINEMANN., NEI MOREIRA. Estresse térmico e suas conseqüências sobre as características do sêmen de machos suínos. *Rev Bras Reprod Anim*, Belo Horizonte, v.31, n.4, p.456-461, out./dez. 2007

DOKMECI, D., Testicular torsion, oxidative stress and the role of antioxidant therapy. *Folia Med (Plovdiv)*. 2006; 48(3-4):16-21.

DORST, V. J.; SAJONSKI, H. Morphometrische untersuchunhen am tubulussystem des schweinehodens während der postnatalen entwicklug. *Monotsh. Ver. Med.*, v.29, p. 650-652, 1974.

DORSTYN L, KINOSHITA M, KUMAR S.. Caspases in cell death. In:Results and Problems in Cell Differentiation: Apoptosis Mechanisms and Role in Disease, ed Kumar S. Springer-Verlag, New York, 1–23, 1998.

EARNSHAW WC, MARTINS LM, KAUFMANN SH. Mammalian caspases:structure, activation, substrates, and functions during apoptosis.**Ann Rev Biochem** 68: 383–424, 1999.

EVENSON DP, JOST LK, MARSHALL D, ZINAMAN MJ, CLEGG E, PURVIS K, et al. Utility of the sperm chromatin structure assay as a diagnostic and prognostic tool in the human fertility clinic. **Hum Reprod**;14:1039 – 49, 1999.

FRANÇA, L.R. Análise morfofuncional da espermatogênese de suínos adultos da raça Piau. Belo Horizonte: UFMG, ICB, 1991, 180p. (tese, doutorado)

FONSECA, V.O.; CHOW, L.A. Características seminais de touros zebus com degeneração testicular transitória. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 47(5):707-16, 1995.

FOOTE RH Factors influencing the quantity and quality of semen harvested from bulls, rams, boars and stallions. *J Anim Sci*, v.47, suppl.2, p.1-11, 1978.

GABALDI, S.H. *Alterações espermáticas e dos níveis plasmáticos de testosterona e cortisol em touros da raça Nelore, submetidos à insulação escrotal*. Botucatu, 2000, 85p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), FMVZ - Universidade Estadual Paulista. Botucatu.. 85p, 2000.

GARRIDO, C., GURBUXANI, S., RAVAGNAN, L. & KROEMER G. Heat shock proteins: endogenous modulators of apoptotic cell death. **Biochem. Bioph. Res. Co.**, v. 286, p. 433-442, 2001.

GOMES, W.R.; BUTTER, W.R.; JOHNSON, A.D. Effects of elevated ambient temperature on testis and blood levels and in vitro biosynthesis of testosterone in the ram. *Journal of Animal Science* 33 804-807 (1971).

GUMIŃSKA A, SLOWIKOWSKA-HILCZER J, KUZAŃSKI W, SOSNOWSKI M, OSZUKOWSKA E, MARCHLEWSKA K, WALCZAK-JEDRZEJOWSKA R, NIEDZIELSKI J, KULA K. Features of impaired seminiferous tubule differentiation are associated with germ cell neoplasia in adult men surgically treated in childhood because of cryptorchidism. **Folia Histochem Cytobiol.**;45 Suppl 1:S163-8, 2007.

HADLEY, A.J.; KUMARI, M.; COVER, P.O.; OSBORNE, J.; POYSER, R.; FLACK, J.D.; BUCKINGHAM, J.C. Stimulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in the rat by the type 4 phosphodiesterase (PDE-4) inhibitor, denbufylline. **Br. J. Pharmacol.**, v.119, p. 463-470, 1996.

HANSEN DG. Manejo del verraco destinado a la inseminación artificial: factores que afectan la fertilidad. In: Seminário Internacional de Suinocultura, 4, 1999, São Paulo, SP. Anais... Concórdia: EMBRAPA Suínos e Aves, p.77, 1999.

HOCHEREAU-DE REVIERS, M-T., LINCOLN, G.A. Seasonal variation in the histology of the testis of the red deer, *Cervus elaphus*. *Journal Reproduction and Fertility*, v.54, p.209-213, 1978.

HUANG SY., KUO YH., LEE YP., TSOU HL., LIN EC., JU CC., LEE WC. Association of heat shock protein 70 with semen quality in boar. *Anim Reprod Sci*, v.63, p.231-240, 2000.

IKO, K.; TANEMURA, K.; GOTOH, H.; KUROHMARU, M.; HAYASHI, Y. Apoptosis-Like Cell Death in Experimentally-Induced Cryptorchidism in Adult Mice. *J. Vet. Med. Sci.* 59 (5): 353-359, 1997.

ITOH, H. & TASHIMA, Y. A novel testis-specific 105-kDa protein related to the 90-kDa heat-shock protein. *Eur. J. Biochem.* **193**, p. 429–435, 1990.

ITOH, H. & TASHIMA, Y. Different expression time of the 105-kDa protein and 90-kDa heat-shock protein in rat testis. *FEBS Lett.* **289**, p. 110–112, 1991;

JAINUDEEN MR, HAFEZ ESE. Distúrbios reprodutivos nos machos. In: Hafez, ESE. *Reprodução animal*. 6.ed. São Paulo: Editora Manole, p. 291-301, 1995.

JANNES P, SPIESSENS C, VAN DER AUWERA I,D’HOOGHE T, VERHOEVEN G, VANDERSCHUEREN D. Male subfertility induced by acute scrotal heating affects embryo quality in normal female mice. *Hum Reprod.*; 13: 372–5, 1998.

Ji Q, Jia H, Haibin D, Weiyan Li, Lidong Zhang. Protective effects of pentoxifylline on the brain following remote burn injury. *Burns*. Jun 21. [Epub ahead of print], 2010.

JOLLY, C. & MORIMOTO, R. I. Role of the Heat Shock Response and Molecular Chaperones in Oncogenesis and Cell Death. *J. National Cancer Institute*, v.92, p. 1564-1572, 2000.

KATO, H., KOGURE, K., LIU, X.H., ARAKI, T., KATO, K. e ITOYAMA, Y. Immunohistochemical localization of the low molecular weight stress protein HSP27 following focal cerebral ischemia in the rat. *Brain Res.*, v. 679, p. 1-7, 1995.

KASTELIC, J.P.; COULTER, G.H. Scrotal and testicular thermoregulation in the bull and ram. *Soc. for Theriogenology – Proc. Annual Meeting, Florida*, p.67-72, 1995.

KHAN VR, BROWN IR. The effect of hyperthermia on the induction of cell death in brain, testis, and thymus of the adult and developing rat Cell Stress Chaperones. *Jan*;7(1):73-90, 2002.

KIMURA, M.; TATEISHI, N.; SHIOTA, T.; YOSHIE, F.; YAMAUCHI, H.; SUZUKI, M.; SHIBASAKI, T. Long-term exercise down-regulates leptin receptor mRNA in the arcuate nucleus. *Neuroreport*. 2004 Mar 22;15(4):713-6.

KIMURA, M.; SHIOTA, T.; Long-term exercise down-regulates leptin receptor mRNA in the arcuate nucleus. *Neuroreport*. 22;15(4):713-6. Mar, 1996

Kimura, H., Nakamura, T., Ogawa, T., Tanaka, S., Shiota, K. Transcription of mouse DNA methyltransferase 1 (Dnmt1) is regulated by both E2F-Rb-HDAC-dependent and - independent pathways. *Nucleic Acids Res.* 31: 3101-3113, 2003.

KIMURA, M. Tradução para o português e validação do “Quality of life index” de Ferrans e Powers. 1999.

KRAEMER, T. The influence of high ambient temperature on different parameters of semen, biochemical and endocrine parameters in bulls in a climatic chamber and in subtropical climate. Berlin: FU Berlin,. <<http://www.diss.fuberlin.de/2000/83/index.html>, 2000.

KUMAGAI, J.; FUKUDA, J.; KODAMA, H.; MURATA, M.; KAWAMURA, K.; ITOH H.; TANAKA T. Germ cell-specific heat shock protein 105 binds to p53 in a temperature-sensitive manner in rat testis. *Eur. J. biochem.* 267, 3073-3078, 2000.

KUMAGAI, A.; KODMA, H.; KUMAGAI, J. et al. Xanthine oxidase inhibitors uppress testicular germ cell apoptosis induced by experimental cryptorchidism. *Mol. Hum. Reprod.* n. 8, p. 118-123, 2002; John C. Rockett, Faye L. Mapp, Brian Garges, J. Christopher Luft, Chisato Mori, and David J. Dix. Effects of Hyperthermia on Spermatogenesis, Apoptosis, Genes Expression and Fertility in Adult Male Mice. *BIOLOGY OF REPRODUCTION* 65, 229 – 239, 2001.

KUMAGAI A, KODAMA H, KUMAGAI J, FUKUDA J, KAWAMURA K, TANIKAWA H, SATO N, TANAKA T. Xanthine oxidase inhibitors suppress testicular germ cell apoptosis induced by experimental cryptorchidism. ***Mol Hum Reprod.***;8(2):118-23, Feb, 2002.

KUMARI, M.; COVER, P.O.; POYSER, R.H.; BUCKINGHAM, J.C. Stimulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in the rat by three selective type-4 phosphodiesterase inhibitors: *in vitro* and *in vivo* studies. *Br. J. Pharmacol.*, v. 121, p.459-464, 1997.

LUE, Y.H.; HIKIM, A.P.S.; RONALD, S.; SWERDLOFF, P.I.M.; TAING, K.S.; BUI, T.; LEUNG, A.; WANG, C. Single Exposure to Heat Induces Stage-Specific Germ Cell Apoptosis in Rats: Role of Intratesticular Testosterone on Stage Specificity. *Endocrinology*, 140. p1709-1717, 1999.

MARTINS, R.D.; McMANUS, C.; *et al.* Avaliação da sazonalidade reprodutiva de carneiros Santa Inês criados no Distrito Federal. *Rev. Brás. Zootc.*, v. 32, n. 6, suppl. 1 Visçosa, 2003.

MAXWELL, D. T.; JACOBSON, J. D.; KING, A.; CHAN, P. J. Effect of Pentoxifylline on Tumor Suppressor and Proto-Oncogene Apoptosis in Sperm Journal of Assisted Reproduction and Genetics, vol. 19, No. 6, June 2002

McENTEE, K. *Reproduction pathology of domestic mammals*. 1ed., California: Academic Press, 1990. p.224-70

MEHLEN, P., SCHULZE-OSTHOFF, K. & ARRIGO, A. P. Small Stress Proteins as Novel Regulators Of Apoptosis Heat Shock Protein 27 Blocks Fas/Apo-1- And Staurosporine-Induced Cell Death. **J. Biol. Chem.**, v. 271, p. 16510-16514, 1996.

MEHLEN, P., MEHLEN, A., GODET, J. & ARRIGO, A.-P. Hsp27 as a Switch between Differentiation and Apoptosis in Murine Embryonic Stem Cells. **J. Biol. Chem.**, v. 272, p. 31657-31665, 1997.

**MEISTRICH, M.L.; ENG, V.W.S.; LOIR, M. Temperature effects on the kinetics of spermatogenesis in the mouse cell and Tissue Kinetics 6379-393 (1973).**

MEISTRICH, R.; BUJAN, L. Testicular heating and its possible contributions to male infertility: a review. **International Journal of Andrology** 18 169-184 (1995).

MIEUSSET, R., BUJAN, L. Testicular heating and its possible contributions to male infertility: a review. **Int J. Androl.** 1995; 18: 169-184.

MIES FILHO A. Fisiologia do aparelho genital masculino: função espermatogênica e função endócrina do testículo. In: Mies Filho, A. Reprodução dos animais e inseminação artificial. 3.ed. Porto Alegre: Sulina, p.99-133, 1975.

MONTELLA A, PIRINO A. [Morphological findings in cryptorchism in the adult male]. **Boll Soc Ital Biol Sper.**;66(3):215-22, Mar, 1990.

MORALES E, HORN R, PASTOR LM, SANTAMARÍA L, PALLARÉS J, ZUASTI A, FERRER C, CANTERAS M. Involution of seminiferous tubules in aged hamsters: an ultrastructural, immunohistochemical and quantitative morphological study. **Histol Histopathol.**;19 (2):445-55 Apr, 2004.

MOREIRA, P.E.; MOURA, A..A.A.; ARAÚJO, A.A. Efeitos da insulação escrotal sobre a biometria testicular e parâmetros seminais em carneiros da raça Santa Inês Criados no estado do Ceará. *Rev. Bras..Zootc.* vol. 30, n. 6, Viçosa, 2001.

MOURA, A., E ERICKSON, B.H. 1997. Age-related changes in peripheral hormone concentrations and their relationship with testis size and number of Sertoli and germ cells in beef bulls. *J. Reprod. Fert.* 111: 183-190.

MULLER, E., RODRÍGUEZ, H.M., BRADEN, S. *et al.*, *Australia*, Bull. N°148, 1992.

MURPHY BD, LALLI E, WALSH LP, LIU Z, SOH J, STOCCO DM, SASSONE-CORSI P. Heat shock interferes with steroidogenesis by reducing transcription of the steroidogenic acute regulatory protein gene. **Mol Endocrinol.**;15 (8):1255-63, Aug, 2001.

NAKAI, A., SUZUKI, M., TANABE, M. Arrest of spermatogenesis in mice expressing an active heat shock transcription factor 1. *EMBO J.* 2000; 19: 1545-1554.

NASSAR, A.; MAHONY, M.; BLACKMORE, P.; MORSHED, M. Increase of intracellular calcium is not a cause of pentoxifylline-induced hyperactivated motility or acrossome reaction in human sperm **Fertil. Steril.**, v. 69, n. 4, p. 748-754, 1998.

OCHIAI, H.; ISHIDA, A.; OHTANI, T.; KUSUMI, K. Discovery of new orally active phosphodiesterase(PDE4) inhibitors. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 52, n. 9, p. 1098-1104, 2004.

OSINOWO, O. A., MARRIE, B.N., EKPE, G. A. 1992. Preliminary study of postnatal growth and reproductive tract development in Yankasa rams. *Anim. Reprod. Sci.*, 27: 49-54.

POLSON, J.B.; STRADA, S.J. cyclic nucleotide phosphodiesterases and vascular smooth muscle. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, v. 36, p. 403-427, 1996.

PINART E, SANCHO S, BRIZ M, BONET S. Morphologic study of the testes from spontaneous unilateral and bilateral abdominal cryptorchid boars. **J Morphol.**; 239(3):225-43, Mar, 1999.

RADFAR, M.; LARIJANI, B.; HADJIBABAIE, M.; RAJABIPOUR, B. Effects of Pentoxifylline on oxidative stress and levels of EGF and NO in blood of diabetic type – 2 patients; a randomized, double - blind placebo – controlled clinical trial. **Biomedicine e Pharmacotherapy.**, v.59, p. 302-306, 2005.

RENKE M, RUTKOWSKI P, TYLICKI L, ZIETKIEWICZ M, LARCZYŃSKI W, RUTKOWSKI B. Pentoxifylline old drug or new hope for nephrology?]  
*Przeegl Lek.*;65(7-8):358-61, 2008.

ROBIN MA, DEMEILLIERS C, SUTTON A, PARADIS V, MAISONNEUVE C, DUBOIS S, POIREL O, LETTÉRON P, PESSAYRE D, FROMENTY B. Alcohol increases tumor necrosis factor alpha and decreases nuclear factor-kappab to activate hepatic apoptosis in genetically obese mice.. **Hepatology.**;42(6):1280-90, Dec, 2005.

ROCHA, D.M.C., DEBELJUK, L., FRANÇA, L.R. Exposure to constant light during testis development increases daily sperm production in adult wistar rats. *Tissue & Cell*, v.31, p.372-379, 1999.

ROCKETT, J.C.; MAPP F. L.; GARGES, B.; LUFT, J. C.; MORI, C.; DIX, D. J. Effects of Hyperthermia on Spermatogenesis, Apoptosis, Genes Expression and Fertility in Adult Male Mice. *Biology of Reproduction*, 65. 229 – 239, 2001.

RUPASRI, A.; JAYAPRAKASH,D.; PETER, A.T.; SREENIVASA, M.S.; KUMAR, M.; SESHAGIRI, P.B. Pentoxifylline improves sperm capacitation and in vitro fertilization of oocytes in the golden hamster. **Theriogenology**, v. 44, p.553-562, 1995.

RUSSELL, D.L.; ETTLIN, R.A.; SINHA HIKIM, A.P.; CLEGG, E.D. Mammalian spermatogenesis. In: RUSSELL, D.L.; ETTLIN, R.A.; SINHA HIKIM, A.P.; CLEGG, E.D.,

(eds). **Histological and histopathological evaluation of the testis**. Bolesta: Cache River Press, 1990. cap. 1, p. 1-40.

SAAD, S.Y.; NAJJAR, T.A.; ALASHARI, M. Role of non-selective adenosine receptor blockade and phosphodiesterase inhibition in cisplatin-induced nephrogonadal toxicity in rats. **Clinical and experimental Pharmacology and Physiology**. V.31, p.862-867, 2004.

SALAM, O.; BAIUOMY, A.R.; EL-SHENAWY, S.; ARBID, M. The anti-inflammatory effects of the Phosphodiesterase inhibitor pentoxifylline in the rat. **Pharmac. Res.**, v. 47, p. 331-340, 2003.

SALANOVA, M.; CHUN, S.; IONA, S.; PURI, C. Type 4 cyclic adenosine monophosphate-specific phosphodiesterases are expressed in discrete subcellular compartments during rat spermiogenesis. **Endocrinology**, v. 140, n. 5, p. 2297-2305, 1999.

SAMALI, A. & ORRENIUS, S. Heat shock proteins: regulators of stress response and apoptosis. **Cell Stress Chaperon.**, v. 3, p. 228-236, 1998.

SANDRA HELENA GABALDI & ALEXANDRE WOLF. a importância da termorregulação testicular na qualidade do sêmen em touros. **Ciê. Agr. Saúde. FEA**, Andradina, v. 2, n. 2, jul-dez, , p 66-70, 2002.

SAVAS, C.; DINDAR, H.; ARAS, T.; YÜCESAN, S. Pentoxifylline improves blood flow to both testes in testicular torsion. **International Urology and Nephrology.**, v. 33, p. 81 – 85, 2002.

SAVAS C, DINDAR H, BILGEHAN A, ATAOGU O, YUCESAN S. Pentoxifylline attenuates reperfusion injury in testicular torsion. **Scand J Urol Nephrol.**;36(1):65-70, Feb, 2002.

SETCHELL, B. P. Heat and the testis. *Journal of Reproduction Fertility* 114, 179-194 (1996).

SETCHELL, B. P. The effects of on the testes of mammals. *Anim. Reprod.*, v.3, n.2, p.81-91, April/June.2006.

SETCHELL, B.P. The parkes lecture heat and the testis. *J. Reprod. Fertil.*, 114:179-194,1998.

SETCHELL, B.P.; WAITES, G.M.H. The effects of local heating of the testis on the flow and composition of rete testis fluid in the rat, with some observation on the effects of age and unilateral castration. *Journal of Reproduction and Fertility* 30 255-233, 1972.

SHARP, F. R., MASSA, S. M. & SWANSON, R. A. Heat shock protein protection. **Trends Neurosci.**, v. 22, p. 97-99, 1999.

SILVA, P. F. N. S. Physiology of peroxidation processes in mammalian sperm; 175p (2006)

SILVA JÚNIOR, V. A.; VIEIRA, A.C.S.; PINTO, C.F.; PAULA, T.A.R.; PALMA, M.B.; AMORIM, M.J.A.L.; AMORIM JÚNIOR, A.A. Neonatal treatment with naloxone increases the population of Sertoli cells and sperm production in adult rats. **Reprod.Nutr. Dev.** v. 45, p.1-10, 2006.

SOUZA, J.A.A.T., COSTA, F.A.L. Características do sêmen e correlação com outros parâmetros reprodutivos em ovinos deslanados. In: SIMPÓSIO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS – PESQUISA COM CAPRINOS E OVINO NO CCA, 1992, Teresina, PI. *Anais...* Teresina, 1992. p. 80-86.

SOD-MORIAH, U.A.; GOLDBERG, G.M.; BEDRAK, E. Intrascrotal temperature, testicular histology and fertility of heat-acclimatized rats. **Journal of Reproduction and Fertility**, 37. 263-268 (1974).

SUMIKO KIMURA AND KOHEI SHIOTA. Sequential Changes of Programmed Cell Death in Developing Fetal Mouse Limbs and Its Possible Roles in Limb Morphogenesis. **Journal of Morphology** 229:337-346, 1996.

TATSUYA ISHII., SHINGO MATSUKI., YOSHIHITO IUCHI., FUTOSHI OKADA., SHINJIRO TOYOSAKI., YOSHIHIKO TOMITA., YOSHITAKA IKEDA., JUNICHI FUJI. Accelerated impairment of spermatogenic cells in sod1-knockout mice under heat stress. Vol. 39, No. 7 , Pages 697-705 (doi:10.1080/10715760500130517), 2005.

TESARIK, J.; MENDOZA, C.; GRECO, E. The effect of FSH on male germ cell survival and differentiation in vitro is mimicked by pentoxifylline but not insulin. **Mol. Hum. Reprod.**, v. 6, n. 10, p. 877-881, 2000.

TERUYA R, FAGUNDES DJ, OSHIMA CT, BRASILEIRO JL, MARKS G, YNOUYE CM, SIMÕES MJ. The effects of pentoxifylline into the kidneys of rats in a model of unilateral hindlimb ischemia/reperfusion injury. **Acta Cir Bras.** 2008 Jan-Feb;23(1):29-35.

PALASZ. A. T., CATES, W. F., BARTH, A. D. *et al.*, 1994. The relation ship between scrotal circumference and quantitative testicular traits in yearling beef bulls. *Theriogenology*, 42: 715-729.

TAPANAINEM, J.S., TILLY, J.L., VIHKO, K.K. *et al.* Hormonal control of apoptotic cell death in the testis: gonadotropins and androgens as testicular cell survival factors. *Mol Endocrinol* 1993; 77: 643-650

TOLOSA, E.M.C. et al. Técnica histológica. In : TOLOSA, E.M.C. (Ed.). Manual de Técnicas para histologia normal e patológica. 2. ed. São Paulo: Manole, 2003. cap. 2, p. 43-52.

TOLOSA, E.M.C. et al. Coloração para tecido conjuntivo. In : TOLOSA, E.M.C. et al. (Ed.). Manual de Técnicas para histologia normal e patológica. 2. ed. São Paulo: Manole, 2003. cap.4, p. 121-123.

TOLOSA, E.M.C. et al. Coloração para sistema nervoso. In : TOLOSA, E.M.C. et al. (Ed.). Manual de Técnicas para histologia normal e patológica. 2. ed. São Paulo: Manole, 2003. cap. 5, p. 148-150.



THOMSON, R.G. *Patologia veterinária especial*. São Paulo: Ed. Manole.

THORPHY, T.J. Phosphodiesterases isoenzymes: molecular targets for novel antiasthma agents. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.*, v. 157, p.351-370, 1998.

TURNER, R.M.O. Pathogenesis, Diagnosis, and Management of Testicular Degeneration in Stallions. **Clin. Tech. Equine Pract.** n. 6, p. 278-284, 2007.

TURNER TT., BANG HJ., LYSIAK JL., J UROL. The molecular pathology of experimental testicular torsion suggests adjunct therapy to surgical repair; 172 (6 Pt 2):2574-8, 2004.

VADIRAJA B.B. & MADYASTHA K.M. Scavenging of peroxynitrite by phycocyanin and phycocyanobilin from *Spirulina platensis*: protection against oxidative damage to DNA, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 285: 262-266, 2001

VALENTIM, L. M., GEYER, A. B., TAVARES, A., CIMAROSTI, H., WORM, P.V., RODNIGHT, R., NETTO, C. A. & SALBEGO, C.G. Effects of global cerebral ischemia and preconditioning on heat shock protein 27 immuncontent and phosphorylation in rat hippocampus. **Neuroscience**, v. 107, p. 43-49, 2001.

VALENTIM, L. M., RODNIGHT, R., GEYER, A. B., HORN, A. P., TAVARES, A. A., CIMAROSTI, H., NETTO, C. A. & SALBEGO, C. G. Changes in heat shock protein 27 phosphorylation and immuncontent in response to preconditioning to oxygen and glucose deprivation in organotypic hippocampal cultures. **Neuroscience**, v. 118, p. 379-386, 2003.

VALLE, A.; FUENTES, A.; PUERTA, M. Influencia de factores climáticos sobre las características seminales de toros Holstein y Pardo Suizo nacidos en el trópico. *Rev. Fac. Agron.*, v. 22, p. 52-61, 2005.

ZHANG, X.; SHARMA, R.K.; AGARWAL, A.; FALCONE, T. Effect of Pentoxifylline in reducing oxidative stress-induced embryotoxicity. **Journal of assisted Reproduction and Genetics**, v. 22, p. 415 – 417, 2005.

ZHU DJ, XIA B, BI Q, ZHANG SJ, QIU BS, ZHAO C. Functional protection of pentoxifylline against spinal cord ischemia/reperfusion injury in rabbits: necrosis and apoptosis effects. **Chin Med J (Engl)**. 5;121(23):2444-9, Dec, 2008.

WAITES, G.W.H.; SETCHELL, B.P. Physiology of the mammalian testis. In: LAMMING, G.E. **Marshall's physiology of reproduction**. 1ed., Londres: Churchill Livingstone, 4ed. v.2, 1990. p. 1-105.

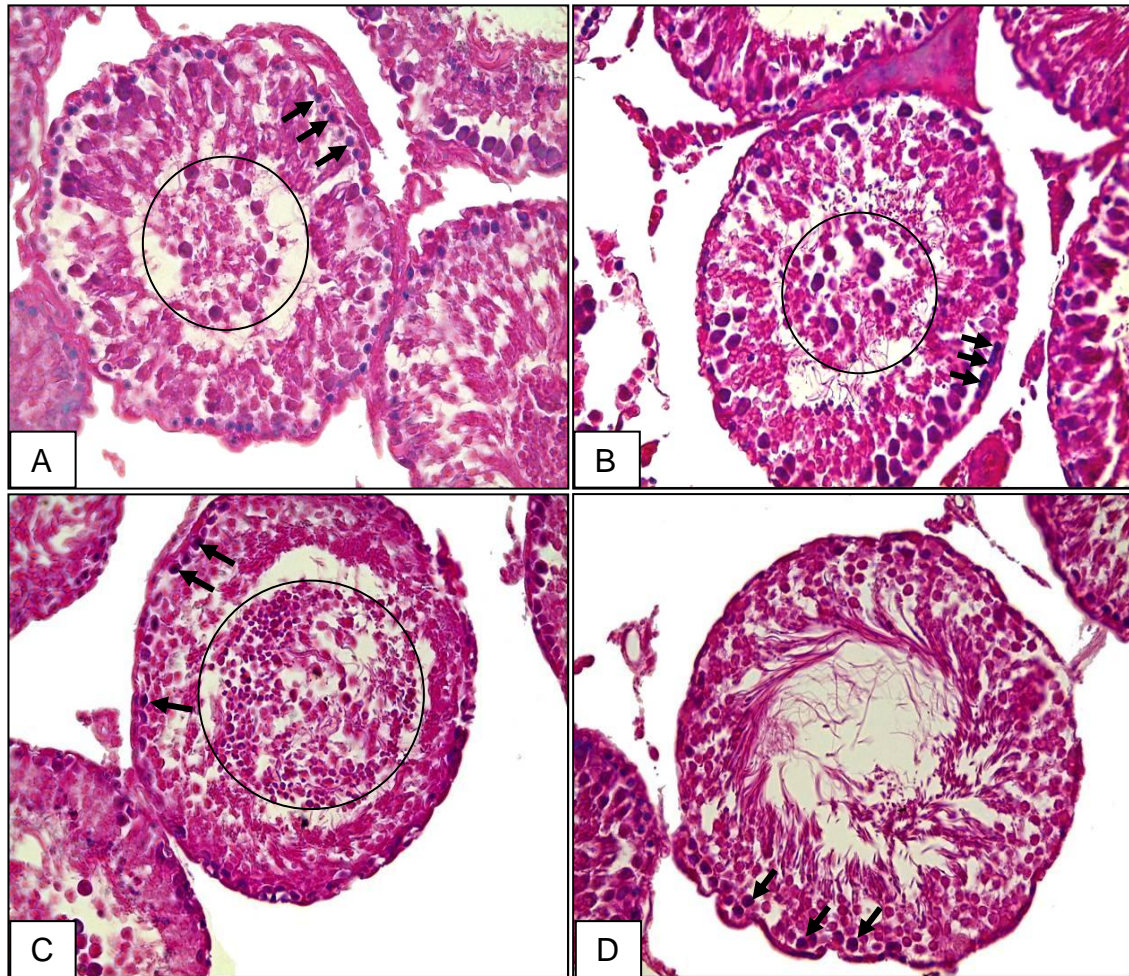
WIDLAK W, BENEDYK K, VYDRA N, GŁOWALA M, SCIEGLIŃSKA D, MALUSECKA E, NAKAI A, KRAWCZYK Z. Acta Biochim Expression of a constitutively active mutant of heat shock factor 1 under the control of testis-specific hst70 gene promoter in transgenic mice induces degeneration of seminiferous epithelium. *Pol.*; 50(2):535-41, 2003.

WIDLAK W, VYDRA N, MALUSECKA E, DUDALADAVA V, WINIARSKI B, SCIEGLIŃSKA D, WIDLAK P. Heat shock transcription factor 1 down-regulates spermatocyte-specific 70 kDa heat shock protein expression prior to the induction of apoptosis in mouse testes *Genes Cells.*; 12(4):487-99, Apr, 2007.

WOLF BB, GREEN DR. Suicidal tendencies: apoptotic cell death by caspase family proteinases. *J Biol Chem* 274: 20049–20052, 1999.

YIN, Y.Z., HAWKINS, K.L., DEWOLF, .C. et al.,. Heat stress causes testicular germ cell apoptosis in adult mice. *J. Androl.*, 18:159-165, 1997.

## 10. ANEXOS



**Figura 38.** Fotomicrografia óptica de testículo de ratos Wistar adultos submetidos a choque térmico testicular e analisados após 24 horas

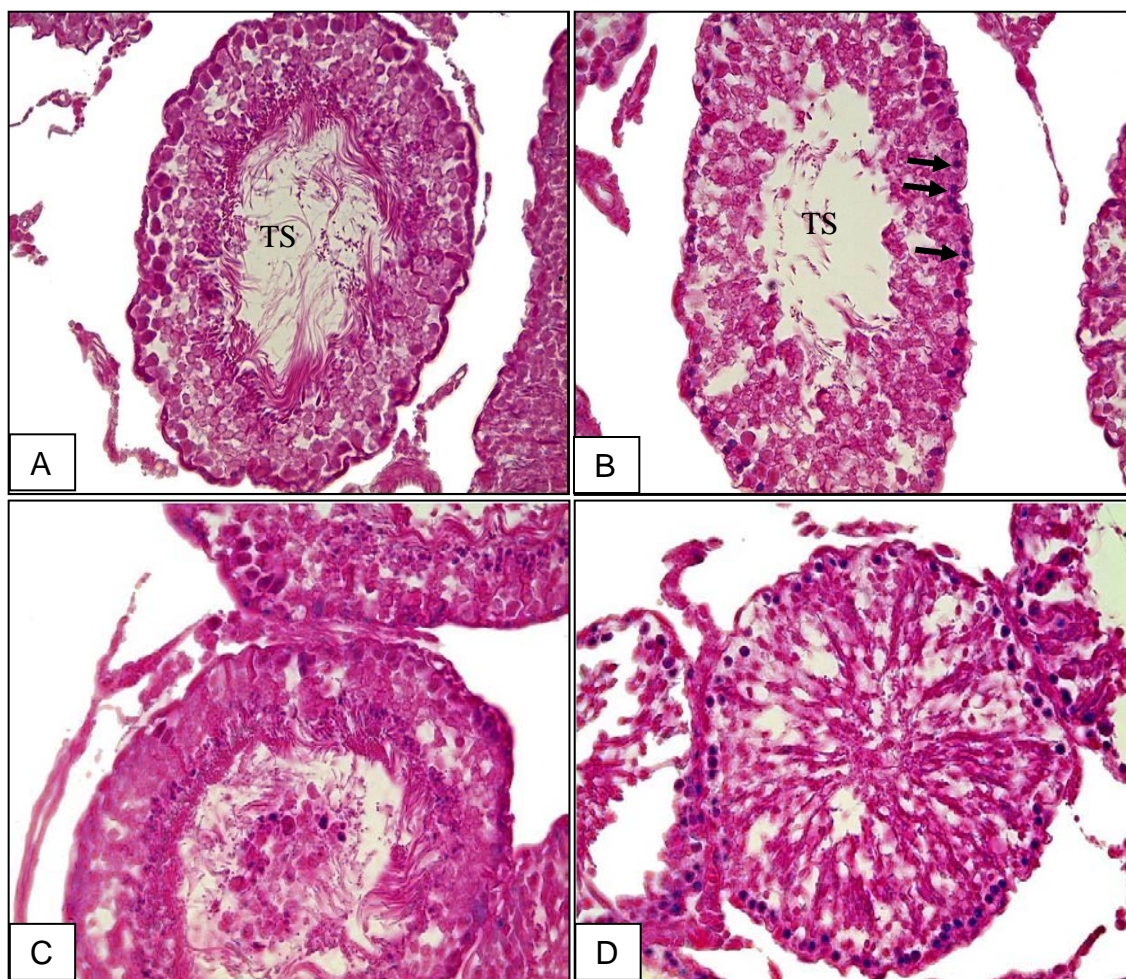
**Figura 38a.** Túbulo seminífero de rato Wistar controle em corte transversal. Notar apoptose de células germinativas na base do túbulo próximo a túnica própria (setas). Observar no centro do túbulo a presença de células germinativas descamadas (círculo). X400.

**Figura 38b.** Túbulo seminífero de rato Wistar em corte transversal submetido ao choque térmico testicular (HS). Notar apoptose de células germinativas na base do túbulo próximo a túnica própria (setas). Observar no centro do túbulo a presença de células germinativas descamadas (círculo). X400.

**Figura 38c.** Túbulo seminífero de rato Wistar em corte transversal pré-tratado com pentoxifilina (50mg/Kg) e submetido ao choque térmico testicular (HS). Notar apoptose de células germinativas na base do túbulo próximo a túnica própria (setas). Observar no centro do túbulo a presença de células germinativas descamadas (círculo). X400.

**Figura 38d.** Túbulo seminífero de rato Wistar em corte transversal pré-tratado com pentoxifilina (100mg/Kg) e submetido ao choque térmico testicular. Notar apoptose de células germinativas na base do túbulo próximo a túnica própria (setas). Observar no centro do túbulo a presença de cauda de espermátides alongadas no estágio VII ciclo do epitélio seminífero (círculo). X400.





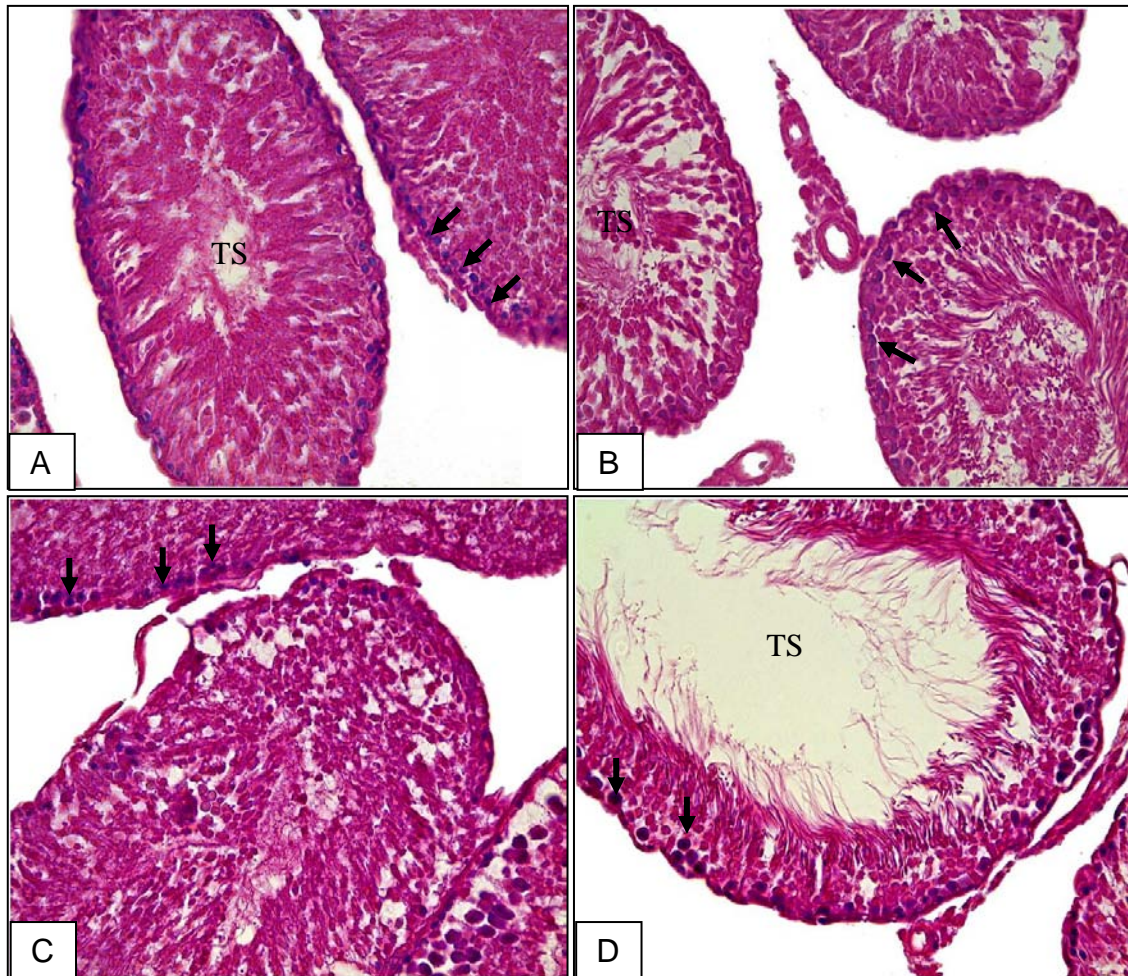
**Figura 39.** Fotomicrografia óptica de testículo de ratos Wistar adultos submetidos a choque térmico testicular e analisados após 3 dias.

**Figura 39a.** Túbulo seminífero de rato Wistar controle em corte transversal. Notar ausência de células em apoptose no túbulo seminífero (TS). Observar no lume do túbulo a presença de cauda de espermatozóides no estágio VII do ciclo do epitélio seminífero. X400.

**Figura 39b.** Túbulo seminífero de rato Wistar em corte transversal submetido ao choque térmico testicular (HS). Notar apoptose de células germinativas na base do túbulo próximo a túnica própria (setas). Observar no centro do túbulo seminífero ausência de células germinativas descamadas. X400.

**Figura 39c.** Túbulo seminífero de rato Wistar em corte transversal pré e pós-tratado com pentoxifilina (50mg/Kg) e submetido ao choque térmico testicular (HS). Notar apoptose de células germinativas na base do túbulo próximo a túnica própria (setas longas). Observar no centro do túbulo a presença de células germinativas descamadas em apoptose (seta curta). X400.

**Figura 39d.** Túbulo seminífero de rato Wistar em corte transversal pré e pós-tratado com pentoxifilina (100mg/Kg) e submetido ao choque térmico testicular. Notar apoptose de células germinativas na base do túbulo próximo a túnica própria (setas). Observar no centro do túbulo seminífero obliterado pela presença de cauda de espermátides alongadas ligadas a porção apical das células de Sertoli. X400.



**Figura 40.** Fotomicrografia óptica de testículo de ratos Wistar adultos submetidos a choque térmico testicular e analisados após 7 dias.

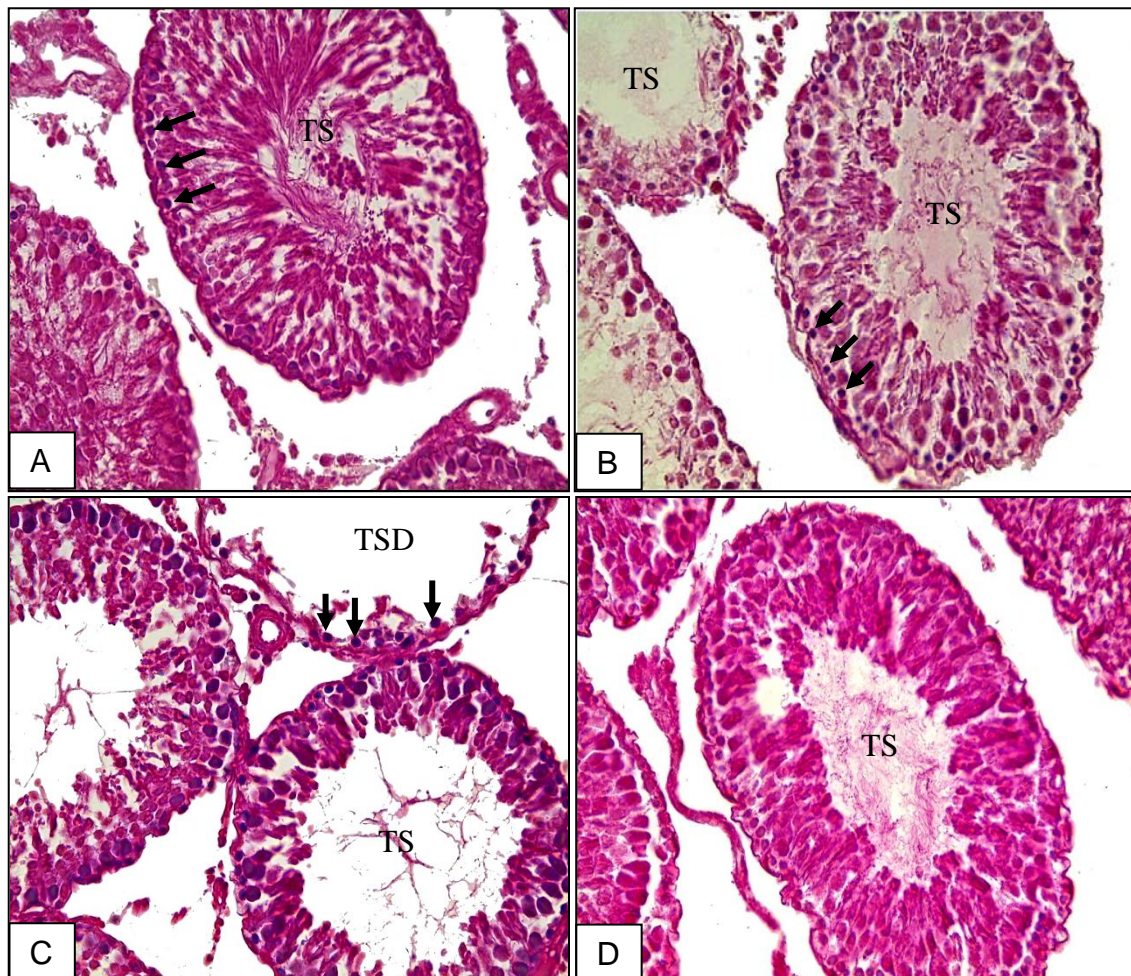
**Figura 40a.** Túbulo seminífero de rato Wistar em corte transversal controle. Notar células em apoptose (seta) no túbulo seminífero (TS). Observar no lume do túbulo a presença de cauda de espermatozóides cuja cabeça esta inserida no ápice das células de Sertoli. X400.

**Figura 40b.** Túbulo seminífero de rato Wistar em corte transversal submetido ao choque térmico testicular (HS). Notar apoptose de células germinativas na base do túbulo próximo a túnica própria (setas). Observar no centro do túbulo seminífero presença de células germinativas descamadas (estrela). X400.

**Figura 40c.** Túbulo seminífero de rato Wistar em corte transversal pré e pós-tratado com pentoxifilina (50mg/Kg) e submetido ao choque térmico testicular (HS). Notar apoptose de células germinativas na base do túbulo próximo a túnica própria (setas). Observar no centro do túbulo a presença de células germinativas descamadas. X400.

**Figura 40d.** Túbulo seminífero de rato Wistar em corte transversal pré e pós-tratado com pentoxifilina (100mg/Kg) e submetido ao choque térmico testicular. Notar apoptose de células germinativas na base do túbulo próximo a túnica própria (setas). Observar túbulo seminífero com lúmen bem definido presença de cauda de espermátides alongadas ligadas a porção apical das células de Sertoli. X400.





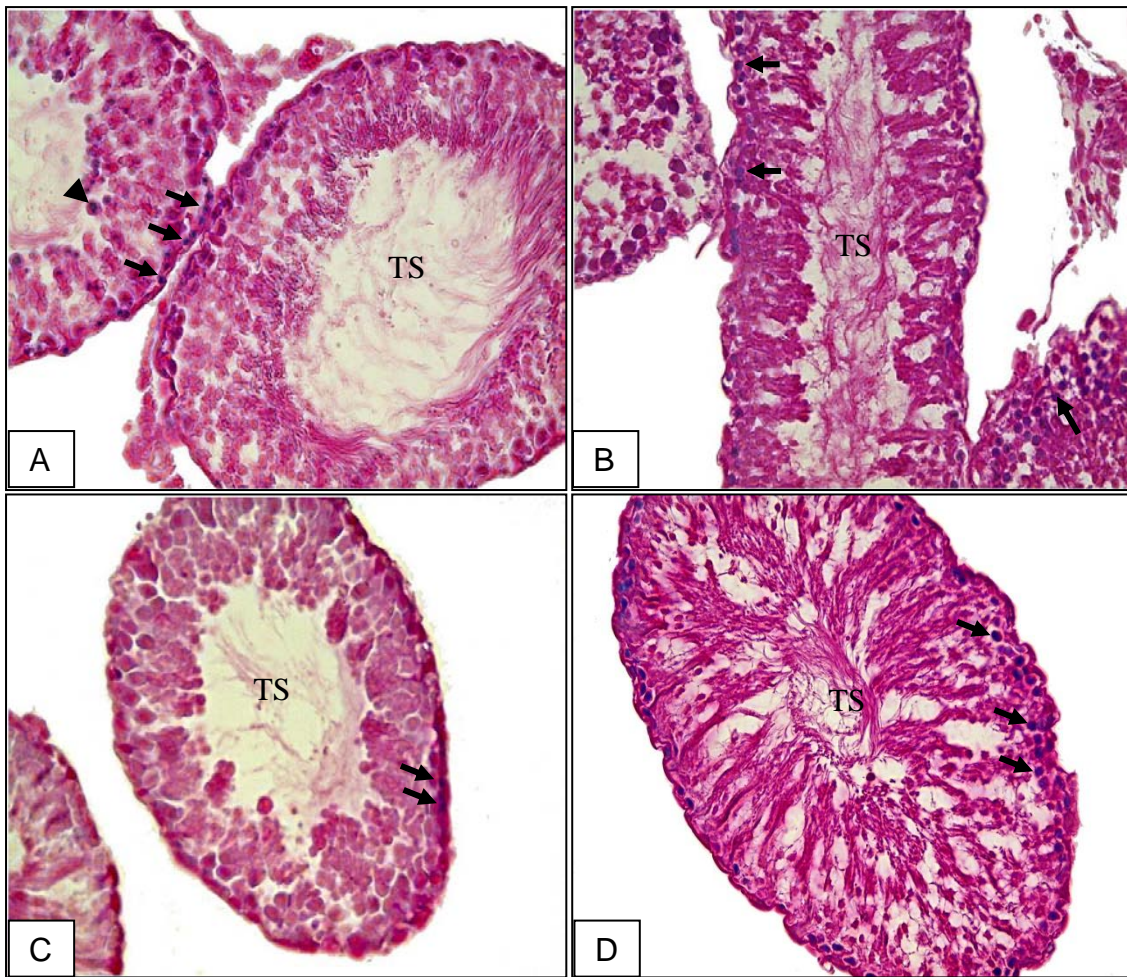
**Figura 41.** Fotomicrografia óptica de testículo de ratos Wistar adultos submetidos a choque térmico testicular e analisados após 15 dias.

**Figura 41a.** Túbulo seminífero de rato Wistar controle em corte transversal. Notar células em apoptose (seta) no túbulo seminífero (TS). Observar no lume do túbulo a presença de cauda de espermatozóides cuja cabeça esta inserida no ápice das células de Sertoli. X400.

**Figura 41b.** Túbulo seminífero de rato Wistar em corte transversal submetido ao choque térmico testicular (HS). Notar apoptose de células germinativas na base do túbulo próximo a túnica própria (setas). Observar túbulo seminífero (TS) com lúmen bem definido e rarefação de células germinativas devido descamação prévia (estrela). X400.

**Figura 41c.** Túbulo seminífero de rato Wistar em corte transversal pré e pós-tratado com pentoxifilina (50mg/Kg) e submetido ao choque térmico testicular (HS). Notar apoptose de células germinativas na base do túbulo próximo a túnica própria (setas). Observar túbulo seminífero com rarefação de células germinativas devido a descamação prévia (TSD).X400.

**Figura 41d.** Túbulo seminífero de rato Wistar em corte transversal pré e pós-tratado com pentoxifilina (100mg/Kg) e submetido ao choque térmico testicular. Notar ausência de apoptose de células germinativas no epitélio germinativo. Observar túbulo seminífero (TS) com lúmen bem definido. X400.



**Figura 42.** Fotomicrografia óptica de testículo de ratos Wistar adultos submetidos a choque térmico testicular e analisados após 30 dias.

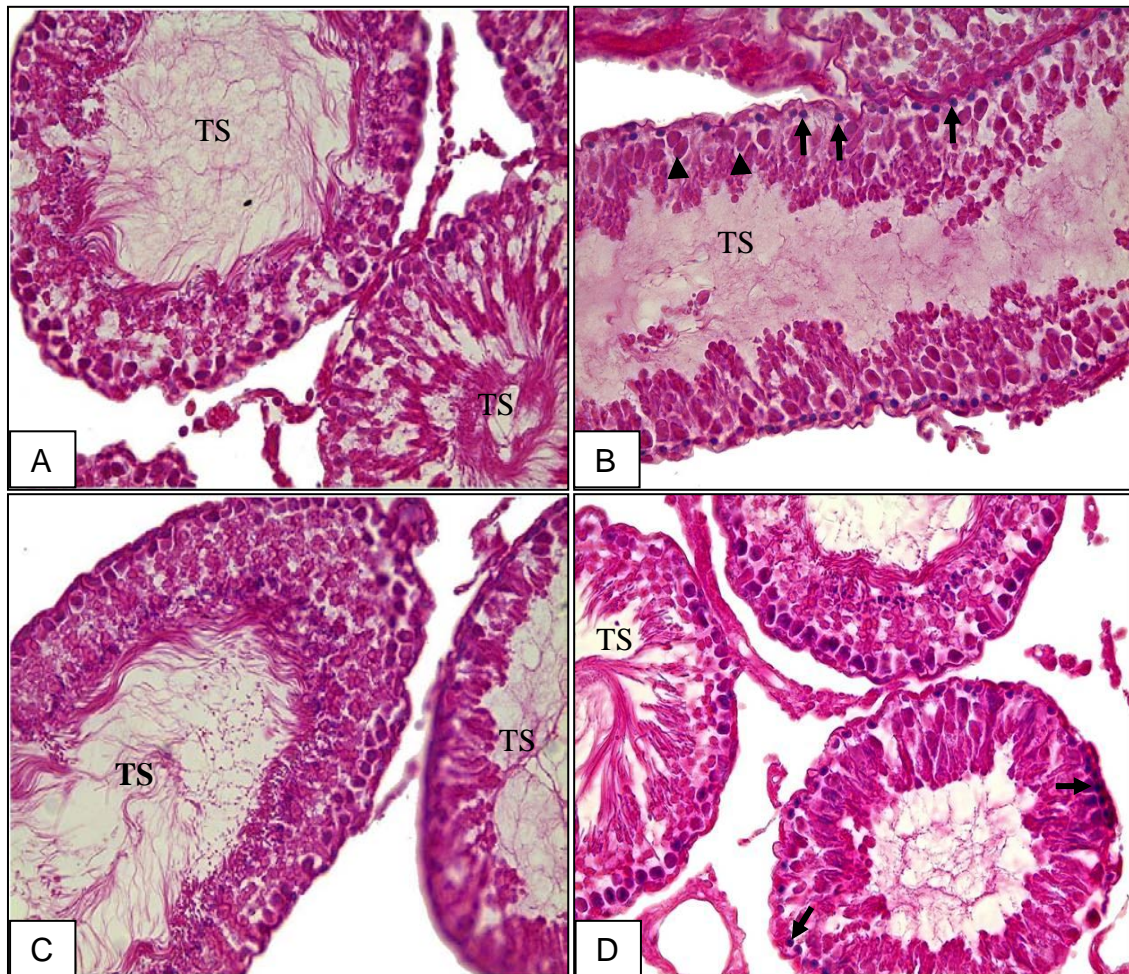
**Figura 42a.** Túbulo seminífero de rato Wistar em corte transversal controle. Notar células em apoptose (seta) no túbulo seminífero (TS) e corpos residuais na margem luminal (cabeça de seta). Notar túbulo seminífero (TS) a presença de cauda de espermatozóides cuja cabeça esta inserida no ápice das células de Sertoli. X400.

**Figura 42b.** Túbulo seminífero de rato Wistar em corte longitudinal submetido ao choque térmico testicular (HS). Notar apoptose de células germinativas na base do túbulo próximo a túnica própria (setas). Observar túbulo seminífero (TS) com lúmen bem definido e rarefação de células germinativas devido descamação prévia (estrela). X400.

**Figura 42c.** Túbulo seminífero de rato Wistar em corte transversal pré e pós-tratado com pentoxifilina (50mg/Kg) e submetido ao choque térmico testicular (HS). Notar apoptose de células germinativas na base do túbulo próximo a túnica própria (setas). X400.

**Figura 42d.** Túbulo seminífero de rato Wistar em corte transversal pré e pós-tratado com pentoxifilina (100mg/Kg) e submetido ao choque térmico testicular. Notar apoptose de células no epitélio germinativo. Notar túbulo seminífero (TS) a presença de cauda de espermatozóides cuja cabeça esta inserida no ápice das células de Sertoli. X400.





**Figura 43.** Fotomicrografia óptica de testículo de ratos Wistar adultos submetidos a choque térmico testicular e analisados após 60 dias.

**Figura 43a.** Túbulo seminífero de rato Wistar em corte transversal controle. Notar ausência de células em apoptose no túbulo seminífero (TS). Notar túbulo seminífero no estágio VII do ciclo do epitélio seminífero (TS) a presença de cauda de espermatozóides cuja cabeça esta inserida no ápice das células de Sertoli. X400.

**Figura 43b.** Túbulo seminífero de rato Wistar em corte longitudinal submetido ao choque térmico testicular (HS). Notar apoptose de células germinativas na base do túbulo próximo a túnica própria (setas). Observar túbulo seminífero (TS) com lúmen bem definido e rarefação de células germinativas devido descamação prévia (estrela). Células de Sertoli (cabeça de seta) com feixes de espermátides em alongamento X400.

**Figura 43c.** Túbulo seminífero de rato Wistar em corte transversal pré e pós-tratado com pentoxifilina (50mg/Kg) e submetido ao choque térmico testicular (HS). Notar ausência de apoptose de células germinativas na base do túbulo próximo a túnica própria (setas). X400.

**Figura 43d.** Túbulo seminífero de rato Wistar em corte transversal pré e pós-tratado com pentoxifilina (100mg/Kg) e submetido ao choque térmico testicular. Notar apoptose de células no epitélio germinativo. Notar no lume do túbulo seminífero (TS) a presença de cauda de espermatozóides cuja cabeça esta inserida no ápice das células de Sertoli. X400.



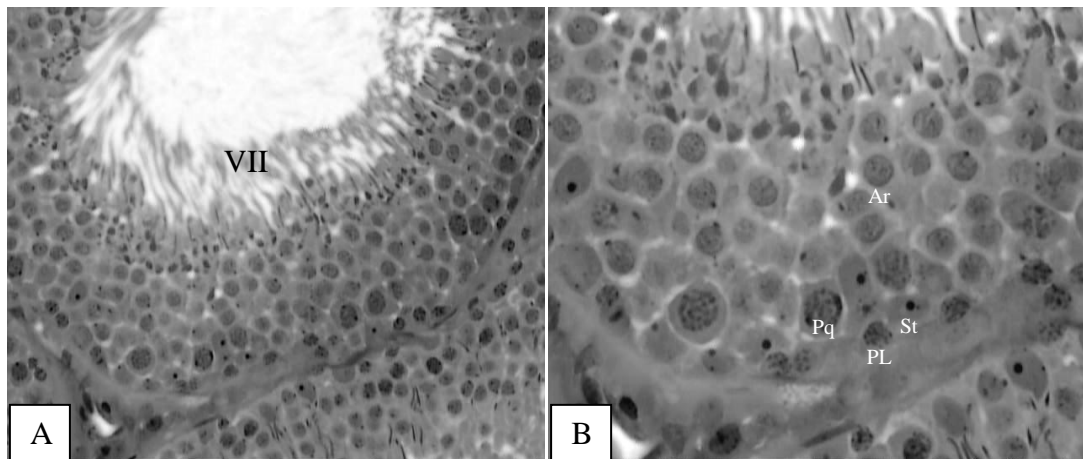


Figura 44 Fotomicrografia óptica de testículo, ampliada em aumento de 200x e 1B em 400x, demonstrando o estágio VII do ciclo do epitélio seminífero na Figura 44A. Observar as células germinativas em associações celulares de espermatócito I em pré-leptóteno, espermatócito I em paquíteno e espermatócito arredondada Figura 44B.