



Universidade do Algarve  
Faculdade de Ciências e Tecnologia

---

**Identificação de alvos  
farmacológicos em modelos animais  
de lesão testicular associada a  
fenómenos de isquémia/reperfusão**

---

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas  
Tânia Isabel Ferreira Raposo

Setembro, 2011



**UA Ig**

UNIVERSIDADE DO ALGARVE



Universidade do Algarve  
Faculdade de Ciências e Tecnologia

---

**Identificação de alvos  
farmacológicos em modelos animais  
de lesão testicular associada a  
fenómenos de isquémia/reperfusão**

---

Dissertação submetida por Tânia Isabel Ferreira Raposo  
para a obtenção do grau de Mestre em  
Ciências Farmacêuticas

Trabalho realizado sob a orientação do  
Prof. Dr. Rui Manuel Amaro Pinto

Setembro, 2011

## Agradecimentos

---

Em primeiro lugar, e com o maior carinho do mundo, devo agradecer aos meus pais pela minha educação, por se terem disponibilizado a ajudar-me em tudo o que fosse preciso, mesmo nos momentos mais difíceis, oferecendo-me todas as oportunidades que hoje me permitem dizer que estou a terminar o curso que realmente me satisfaz e me realiza. Obrigada pelo amor, orgulho e confiança que depositaram em mim.

A um dos meus grandes pilares nesta vida, a toda a minha família, especialmente à minha avó Amélia, que estará para sempre no meu coração e na minha memória, sendo, talvez, a pessoa que teria mais orgulho ao ver-me formada e, infelizmente, não viveu o tempo suficiente para o contemplar.

Gostaria de agradecer também ao meu namorado, Fábio, por acreditar em mim, pelo carinho, amor e, sobretudo, pelo apoio incondicional, sem o qual tudo isto seria muito mais difícil.

Às minhas amigas de sempre, Alexandra Roque, Cristiana Severino, Filipa Caseiro, Patrícia Pinto, Sara Avellar e Tânia Oliveira. Não tendo palavras para exprimir o significado que têm para mim, agradeço a verdadeira amizade e os inúmeros momentos de pura felicidade.

Agradeço à minha segunda família, que esteve comigo durante este 5 anos no Algarve, Andreia Cocharro, João Mestre, Pedro Charneca e Sofia Nobre, obrigada por terem entrado e enriquecido a minha vida e me terem deixado fazer parte da vossa. Acredito que tenho aqui laços fortes e a promessa de continuação de uma amizade maravilhosa.

Queria agradecer também a todos os amigos que fiz na Academia Algarvia, cuja enumeração dos nomes seria aqui impracticável, obrigada pela companhia, pelas aventuras e o sentido que deram a este curso.

Agradeço às minhas orientadoras de estágio, Dra. Carla Pereira, da Farmácia Catarino e Dra. Teresa Almeida, dos Serviços Farmacêuticos do Centro Hospitalar do Porto pelo apoio e pelo exemplo profissional e, especialmente, ético.

Ao meu orientador da dissertação, Professor Doutor Rui Pinto, agradeço a amabilidade e disponibilidade de me ajudar na realização desta tese. Mas, acima de tudo, gostaria de agradecer o exemplo de profissionalismo e de carácter transmitidos desde o primeiro dia de aulas.

Às professoras, Dra. Isabel Ramalinho e Dra. Vera Marques, pelo afecto e vontade demonstrada na orientação e formação dos farmacêuticos da Universidade do Algarve.

A todos, mais uma vez, obrigada por tudo!

## Resumo

---

A incapacidade de ter filhos é uma tragédia para muitos casais, trazendo consigo uma sensação de perda, de fracasso e de exclusão. A infertilidade também tem importantes implicações demográficas e de saúde.

Uma das condições que pode levar ao comprometimento da fertilidade é a torção testicular no homem, na qual a complicação mais significativa é a perda do testículo.

Este estudo foi designado a investigar os alvos farmacológicos que poderiam prevenir ou minimizar a lesão testicular de isquémia/reperfusão depois da torção/distorção testicular no homem.

A pesquisa focou-se no tratamento pré e pós-cirúrgico com princípios activos capazes de limitar a lesão resultante da reperfusão e de ajudar a preservar a função testicular.

A análise de literatura publicada sobre a torção testicular foi realizada através de livros e bases de dado online. Esta compilação de estudos utiliza dados farmacológicos desde o ano 2005 até ao ano 2011.

Os dados mostram alguns princípios activos capazes de prevenir a oxidação lipídica, resultando na diminuição da acumulação de malondialdeído e apoptose das células germinais.

Os resultados providenciaram a evidência do papel de diferentes substâncias na patogénese da lesão de isquémia/reperfusão. Consequentemente, há alguns princípios activos que poderão ser uma nova aproximação à terapêutica da torção testicular. Contudo, estes continuam a ser investigados unicamente em modelos experimentais de animais e são, inclusive, necessários mais estudos

## Abstract

---

The inability to have children is a tragedy for many couples, bringing a sense of loss, failure, and exclusion. Infertility also has important demographic and health implications.

One condition that may lead to impaired fertility is testicular torsion in men, which the most significant complication is loss of the testis.

This study was designed to investigate pharmacological targets that can prevent or minimize testicular ischemia/reperfusion injury after testicular torsion/detorsion in men.

The research focused on pre and post-surgical treatment with active principles that are capable of limiting the injury of reperfusion and helps to preserve testicular function.

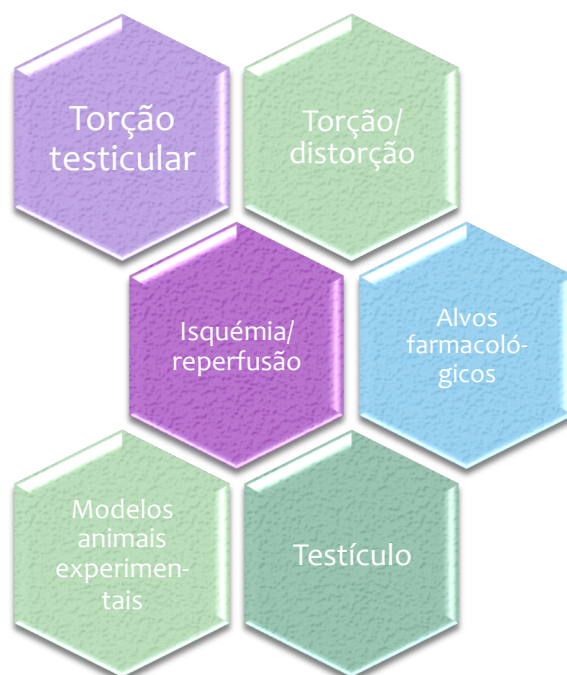
A review of published literature on testicular torsion was performed by use of books and online databases. This analysis utilizes pharmacological data from 2005 to 2011.

The data shows some active principles capable of prevent lipid peroxidation resulting in decreased malondialdehyde accumulation and germ cell apoptosis.

The results provide the evidence of the role of different substances in the pathogenesis of ischemia/reperfusion injury. Consequently, there are some active principles that can be a novel approach to therapy for testicular torsion. However, they are still under investigation based only on experimental animal models and, inclusively, more studies are required.

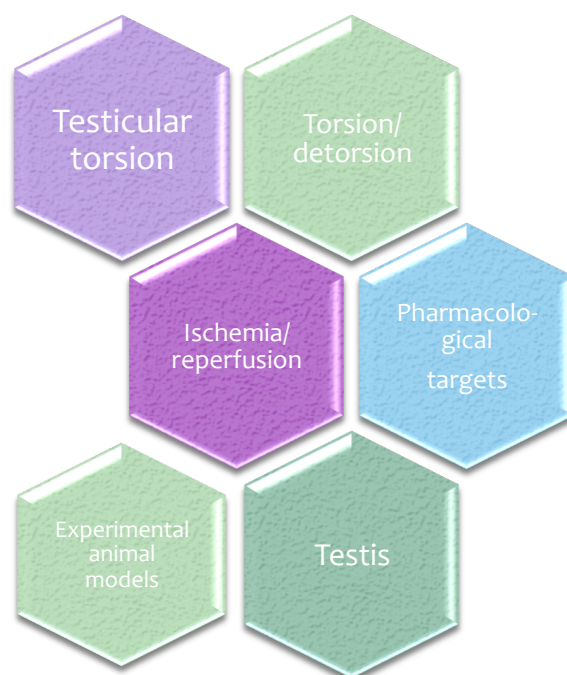
## Palavras-chave

---



## Key words

---



# Índice

---

ÍNDICE DE FIGURAS .....	X
ÍNDICE DE TABELAS .....	XI
ÍNDICE DE DIAGRAMAS .....	XI
LISTA DE ABREVIATURAS.....	XII
OBJECTIVOS DO TRABALHO .....	2
METODOLOGIA UTILIZADA.....	3
PERSPECTIVA HISTÓRICA.....	4
<b>1. ANATOMOFISIOLOGIA TESTICULAR .....</b>	<b>6</b>
BOLSA ESCROTAL .....	7
TESTÍCULOS .....	7
<i>Perspectiva histológica</i> .....	7
<i>Descida dos testículos</i> .....	9
ESPERMATOGÉNESE.....	9
CANAIS.....	10
<i>Epidídimo</i> .....	11
<i>Canais deferentes</i> .....	11
<b>2. TORSÃO TESTICULAR – CONCEITO E PERSPECTIVA EPIDEMIOLÓGICA.....</b>	<b>13</b>
<b>3. FACTORES PREDISPONETES .....</b>	<b>14</b>
<b>3. MECANISMOS DE TORÇÃO TESTICULAR .....</b>	<b>14</b>
<b>4. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL.....</b>	<b>16</b>
<b>5. ESTUDOS DIAGNÓSTICOS .....</b>	<b>18</b>
<b>6. TRATAMENTO .....</b>	<b>20</b>
<b>7. PROGNÓSTICO .....</b>	<b>21</b>
<b>8. COMPLICAÇÕES .....</b>	<b>22</b>
<b>9. TORÇÃO DE TESTÍCULOS CRIPTORQUÍDICOS .....</b>	<b>22</b>
<b>10. EFEITOS DA TORÇÃO IPSILATERAL NO TESTÍCULO CONTRALATERAL .....</b>	<b>22</b>
<b>11. FISIOPATOLOGIA DA TORÇÃO TESTICULAR .....</b>	<b>23</b>
MODELOS ANIMAIS DE TORÇÃO TESTICULAR.....	23
STRESS OXIDATIVO .....	24
CONSEQUÊNCIAS VASCULARES DA TORÇÃO .....	26
CONSEQUÊNCIAS ENDÓCRINAS DA TORÇÃO .....	27
CONSEQUÊNCIAS APOPTÓTICAS DA TORÇÃO TESTICULAR .....	28
<b>12. ALVOS FARMACOLÓGICOS .....</b>	<b>29</b>
<i>Alopurinol</i> .....	29

Ciclosporina e tacrolímus .....	35
Ibuprofeno .....	39
Inibidores da fosfodiesterase tipo 5.....	42
Montelucaste .....	51
Morfina.....	54
Sinvastatina.....	57
Trimetazidina .....	62
OUTROS FÁRMACOS .....	65
Curcumina .....	65
Ginseng.....	69
Ternatina .....	71
<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>77</b>
ANEXO 1 - PERSPECTIVA CRONOLÓGICA DOS ESTUDOS EXPERIMENTAIS ABORDADOS.....	80
ANEXO 2 - AVALIAÇÃO DA BIOPSIA TESTICULAR SEGUNDO O MÉTODO DE JOHNSEN.....	81

---

## Índice de figuras

---

Figura 1 – Secção sagital da bacia no homem, mostrando os órgãos reprodutores.....	6
Figura 2 - Histologia dos testículos .....	8
Figura 3 - Estrutura do aparelho reprodutor masculino.....	12
Figura 4 - Torção testicular extravaginal.....	15
Figura 5 - Torção intravaginal e extravaginal.....	16
Figura 6 - Torção testicular. Ultrassonografia com efeito Doppler.....	19
Figura 7 – Montelukaste: a: Níveis de MDA; b: Níveis de glutatona; c: Níveis de mieloperoxidases; d: Dano histológico .....	54
Figura 8 – Sinvastatina: Avaliação histológica da lesão testicular.....	59
Figura 9 - Sinvastatina: Actividade da MPO.....	59
Figura 10 - Sinvastatina: Nível de NO .....	60
Figura 11 - Sinvastatina: Nível de MDA.....	60
Figura 12 - Sinvastatina: Expressão do factor de transcrição NFκB.....	61
Figura 13 - Trimetazidina: Efeito da I/R e tratamento com TMZ nos níveis de MDA.....	63
Figura 14 - Trimetazidina: Efeito da isquémia/reperfusão e tratamento com TMZ na actividade enzimática da GPX .....	63
Figura 15 - Trimetazidina: Efeito da isquémia/reperfusão e tratamento com TMZ no índice de apoptose das células germinais.....	64
Figura 16 - Trimetazidina: Efeito da isquémia/reperfusão e tratamento com TMZ em MSTD.....	64
Figura 17 – Trimetazidina: Avaliação de Johnsen da histologia testicular .....	65
Figura 18 – Curcumina: Níveis de MDA .....	67
Figura 19 – Curcumina: Actividade da xantina oxidase.....	67
Figura 20 – Curcumina: Parâmetro MSTD .....	68
Figura 21 - Curcumina: Números de camadas de células germinais.....	68
Figura 22 – Curcumina: Avaliação histológica da biopsia testicular .....	69
Figura 23 – Ginseng: Níveis de NADPH .....	71
Figura 24 – Ginseng: Níveis de marcadores do stress oxidativo.....	71

Figura 25 - Ternatina: Níveis de MDA.....	72
Figura 26 – Ternatina: Níveis de GSH .....	73
Figura 27 – Ternatina: Níveis de enzimas antioxidantes totais .....	73

## Índice de tabelas

---

Tabela 1 – Diagnóstico diferencial da dor aguda escrotal.....	17
Tabela 2 - Características típicas de imagiologia em doentes com dor aguda escrotal.....	19
Tabela 3 – Reacções comuns na produção e destoxificação de ROS.....	25
Tabela 4 – Alopurinol: Níveis de MDA testiculares e avaliação da biopsia segundo Johnsen... 33	
Tabela 5 – Alopurinol: Efeito da I/R testicular e do tratamento com alopurinol na espermatogénese .....	34
Tabela 6 – Ciclosporina e tacrolímus: Níveis de MDA, CAT, SOD e GPX.....	38
Tabela 7 – Ciclosporina e tacrolímus: Índices de apoptose das células germinais .....	38
Tabela 8 – Ibuprofeno: Níveis de MSTD, MTBS, MDA e imunorreactividade a eNOS.....	41
Tabela 9 – Sildenafil: Índice apoptótico das células germinais e níveis de MDA, CAT, SOD e GPX .....	46
Tabela 10 – Sildenafil: MSTD, GCLT e MTBS nos testículos de todos os grupos experimentais, excepto o grupo 4.....	47
Tabela 11 – Sildenafil: MSTD, GCLT e MTBS nos testículos de todos os grupos experimentais, excepto o grupo 3.....	47
Tabela 12 – Vardenafil: Níveis de MDA, enzimas totais, eNOS, iNOS e APAF-1.....	50
Tabela 13 – Morfina: Níveis de MDA, CAT, SOD e GPX.....	57

## Índice de diagramas

---

Diagrama 1 - Visão cronológica da evolução acerca da temática da torção do cordão espermático [3]. .....	4
Diagrama 2 - Algoritmo da avaliação do doente com dor aguda escrotal [5](adaptado).....	18

## Lista de abreviaturas

---

ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADNse	Ácido desoxirribonuclease
APAF-1	Factor apoptótico 1 ativador de proteases (do inglês, apoptotic protease activating factor 1)
ARN	Ácido ribonucleico
ARNm	Ácido ribonucleico mensageiro
ASA	Ácido acetilsalicílico
ATP	Adenosina trifosfato
Bax	Linfoma de células B 2 associado com uma proteína X
Ca	Cálcio
CAMs	Moléculas de adesão a células endoteliais (do inglês, cytokine-induced adhesion molecules)
CAT	Catalase
cGMP	Glucosamina monofosfato cíclica
COX	Enzima ciclo-oxigenase
Cu	Cobre
eNOS	Enzima óxido nítrico sintetase endotelial
Fe	Ferro
GCLT	Espessura da camada de células germinais (do inglês, germinal cell layer thicknesses)
GPX	Glutaciona peroxidase
GSH	Glutaciona reduzida
GSSH	Glutaciona oxidada
HMG-CoA	3-hidroxil-3metilglutaril-coenzimaA
I.P.	Administração intraperitoneal
I.V.	Administração intravenosa
I/R	Isquemia/reperfusão
IH	Insuficiência hepática
iNOS	Sintase de óxido nítrico induzida
IR	Insuficiência renal
JS	Método de pontuação histológica de Johnsen (do inglês, Johnsen's score)
LPO	Peroxidação lipídica
MDA	Malondialdeído
MPO	Enzimas mieloperoxidases
MSTD	Valores médios do diâmetro dos túbulos seminíferos (do inglês, mean

	values of seminiferous tubules diameters)
MTBS	Grau de avaliação da espermatogénese segundo o método de Johnsen (do inglês, mean testicular biopsy score)
NADPH	Fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina reduzida
NF $\kappa$ B	Factor nuclear kappa B
NO	Óxido nítrico
PDE-5	Fosfodiesterase tipo 5
<i>Per os</i>	Administração oral
PPAR	Receptor activado pelos proliferadores peroxissomais
RNS	Espécies reactivas de azoto
ROS	Espécies reactivas de oxigénio
SOD	Superóxido dismutase
T/D	Torção/distorção
TMZ	Trimetazidina
TT	Torção testicular
TTN	Ternatina
UI	Unidades internacionais
VIH	Vírus da imunodeficiência humana

# Capítulo I

## Introdução

# A. Introdução

## Objectivos do trabalho

---

Infertilidade é a incapacidade de um casal, sexualmente activo, de obter uma gravidez, num ano de relações sexuais desprotegidas. Cerca de 15% dos casais não conseguem uma gravidez no espaço de um ano e procuram tratamento médico para a infertilidade. A infertilidade afecta tanto mulheres como homens, sendo que em 50% dos casos de casais que involuntariamente não têm filhos o factor da infertilidade masculina está associado a sémen com parâmetros anormais. As causas da infertilidade masculina podem ser as seguintes: anormalidades congénitas ou adquiridas; infecções do tracto urogenital; aumento da temperatura escrotal; distúrbios endócrinos; anormalidades genéticas e factores imunológicos [1].

A disfunção testicular tem como consequência uma espermatogénese anormal ou deficiente. É a forma mais frequente de fertilidade reduzida masculina e pode ter as seguintes etiologias: factores congénitos (anorchia; criptodismo; anormalidades genéticas, como o síndrome de Klinefelter e microdelecções do cromossoma Y), factores adquiridos (trauma, orquite, torção testicular, fármacos citotóxicos, outras medicações, irradiação, cirrose hepática, falha renal, varicela, cirurgias que danificaram a vascularização dos testículos e temperatura) e também há causas desconhecidas [2]

A torção testicular (TT), uma rotação anormal do testículo ou do cordão espermático, é uma condição patológica que resulta numa dor escrotal aguda e severa. Esta condição afecta geralmente indivíduos jovens do sexo masculino [3] [4].

Esta condição é comum em casos de criptorquidismo [4].

A torção do cordão espermático leva inicialmente à obstrução do retorno venoso, consequentemente há equalização das pressões venosas e arteriais fazendo com que haja uma diminuição ou mesmo ausência de fluxo sanguíneo no testículo afectado, resultando em isquémia testicular e necrose [5] [4] [6].

Múltiplos ensaios com modelos animais de torção do cordão espermático foram concebidos na tentativa de reproduzir, experimentalmente, os distúrbios circulatórios presentes na torção testicular no homem. Os métodos mais utilizados foram a oclusão

da artéria espermática ou do cordão espermático e o método que consiste em torcer o cordão espermático [4].

O conhecimento sobre esta temática é relativamente recente, só tendo sido reconhecida como entidade clínica há, aproximadamente, 150 anos [3].

Actualmente, é notória a procura de fármacos eficazes na reversão ou diminuição dos efeitos da torção do cordão espermático. Assim, com o desenvolvimento desta monografia, pretende-se estudar o tipo de modulação farmacológica que, aplicada em modelos animais, pode produzir efeitos positivos nos mecanismos celulares envolvidos no processo de isquémia e reperfusão observado na TT no homem.

## Metodologia utilizada

---

Com o objectivo de cumprir os objectivos propostos, realizou-se uma pesquisa exaustiva em livros e bases de dados online sobre a temática da torção testicular, a patogénese envolvida, tendo em conta aspectos moleculares afectados pelo stress oxidativo.

Realizou-se uma pesquisa de ensaios sobre princípios activos que actuam em alvos farmacológicos relacionados com modelos animais de lesão testicular associada a fenómenos de isquémia/reperfusão, sendo que esta pesquisa incidiu sobretudo em estudos mais recentes, tendo como data mais antiga o ano de 2005 e a mais recente, o ano de 2011.

## Perspectiva histórica

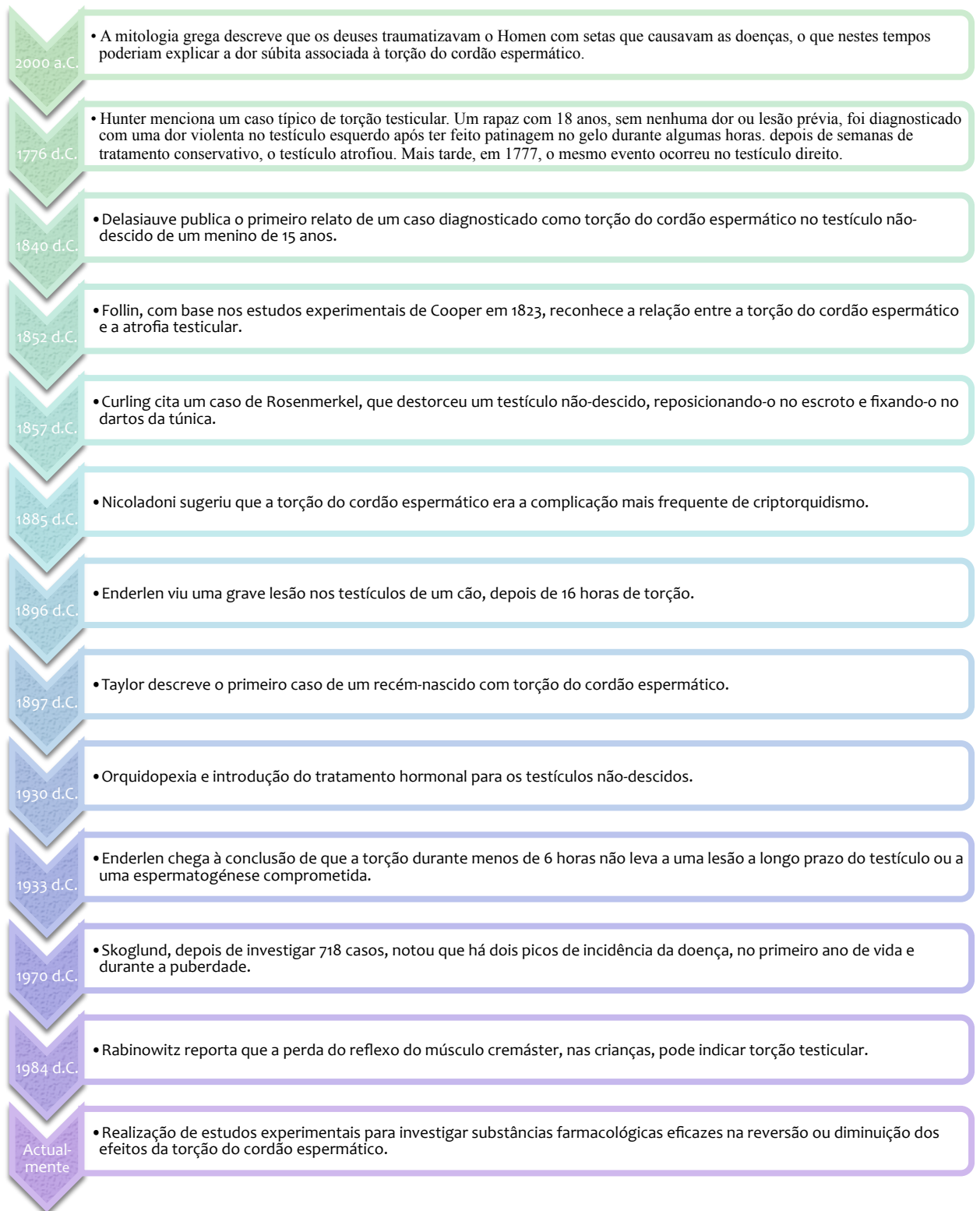


Diagrama 1 - Visão cronológica da evolução acerca da temática da torção do cordão espermático [3].

# Capítulo II

## Desenvolvimento

# 1. Anatomofisiologia testicular

Com o intuito de haver uma melhor compreensão da anatomia e fisiologia do órgão testicular e o modo como a torção testicular, seguida de isquemia e reperfusão, pode afectar a espermatogénese e, conseqüentemente, a fertilidade masculina, irá agora descrever-se alguns aspectos anatómicos do sistema reprodutor masculino.

O aparelho reprodutor masculino é composto pelos testículos, pelas glândulas acessórias, pelas estruturas de suporte e por diversos canais. Estes canais são os epidídimos, os canais deferentes e a uretra. As glândulas acessórias são a próstata, as vesículas seminais e as glândulas bulbo-uretais. As estruturas de suporte são a bolsa escrotal e o pênis (Figura 1) [7].

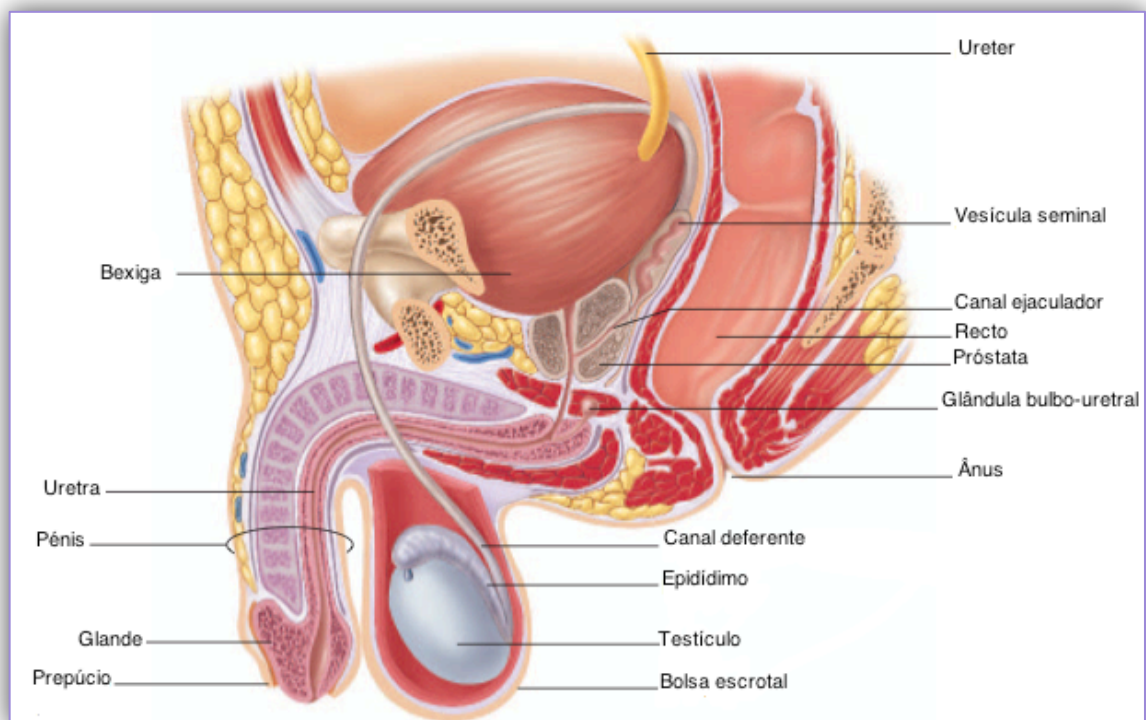


Figura 1 – Secção sagital da bacia no homem, mostrando os órgãos reprodutores [7] (adaptado).

## Bolsa escrotal

A bolsa escrotal contém os testículos e epidídimos (órgãos de produção e desenvolvimento de espermatozóides), está localizada no exterior do corpo onde a temperatura é mais baixa (condição essencial à espermatogénese). Esta bolsa é subdividida em dois compartimentos por um septo de tecido conjuntivo. A superfície da bolsa está dividida por uma rafe mediana, que se continua posteriormente para o ânus e anteriormente para a face inferior do pênis. A bolsa escrotal é composta por diversas estruturas sobrepostas, das quais as mais exteriores são a pele, uma camada de tecido conjuntivo laxo e uma camada muscular lisa designada por dartos escrotal [7].

Quando a bolsa está exposta a temperaturas baixas, as fibras musculares do dartos contraem-se, o que torna a pele escrotal firme e rugosa e reduz o volume total da bolsa. Ao mesmo tempo, os músculos cremâsteres (extensão dos músculos abdominais na bolsa) contraem-se e fazem subir os testículos para mais perto do corpo, para mantê-los a uma temperatura superior. Quando a bolsa escrotal é exposta a temperaturas mais quentes, o dartos e os cremâsteres relaxam, tornando a pele lisa e fina, o que permite aos testículos descer e afastar-se do corpo, mantendo-os a uma temperatura inferior ao resto do corpo [7].

## Testículos

### Perspectiva histológica

Os testículos são dois pequenos órgãos ovóides, com aproximadamente 4 ou 5 cm no maior diâmetro, situados dentro da bolsa escrotal (ver a Figura 1). São ao mesmo tempo glândulas endócrinas e exócrinas, sendo que os espermatozóides constituem a maior parte da secreção externa dos testículos e a testosterona, uma hormona masculina, a sua principal secreção endócrina [7].

O revestimento exterior de cada testículo é uma cápsula espessa branca designada por túnica albugínea, que é constituída, sobretudo, por tecido conjuntivo fibroso. O tecido conjuntivo da túnica albugínea penetra para o interior do testículo formando septos incompletos (ver Figura 2a), estes dividem cada testículo em, aproximadamente, 300 a 400 lóbulos cónicos. O conteúdo testicular do espaço ente os septos inclui dois

tipos de estruturas, os túbulos seminíferos (local de desenvolvimento dos espermatozoides) e o estroma de tecido conjuntivo laxo que envolve os túbulos e que contem aglomerados de células endócrinas designadas células de Leydig (secretoras de testosterona) [7].

Os túbulos seminíferos, que têm aproximadamente 800 metros de comprimento em ambos os testículos, abrem-se para um sistema de canais curtos e rectos, designados de tubos rectos, os quais, por sua vez, se abrem para uma rede tubular designada por rede testicular. A rede testicular esvazia-se para dentro de 15 a 20 túbulos, os canais eferentes. Estes possuem um epitélio cilíndrico pseudo-estratificado ciliado, cujos cílios auxiliam no movimento dos espermatozoides do testículo para o epidídimo. Os canais eferentes perfuram a túnica albugínea para sair dos testículos [7].

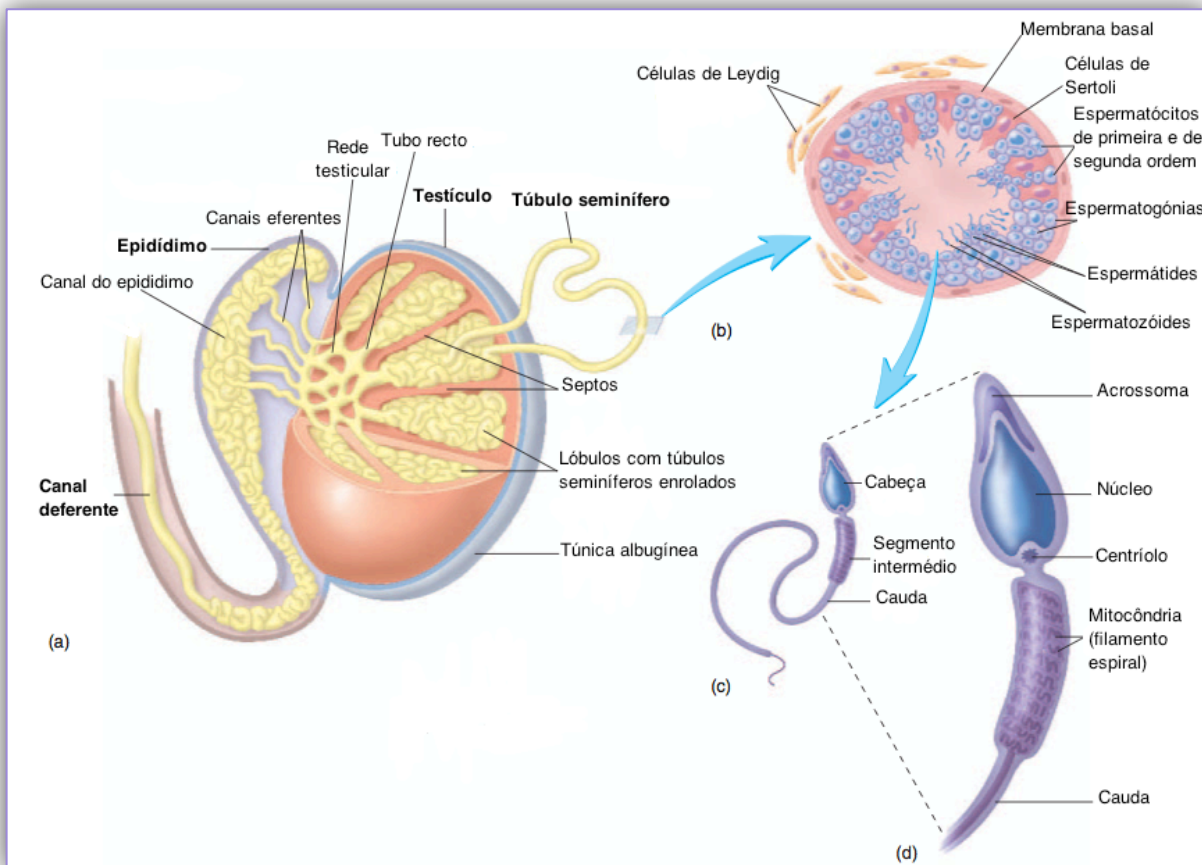


Figura 2 - Histologia dos testículos: (a) Corte do testículo para mostrar as estruturas internas; (b) Secção transversal de um túbulo seminífero, as espermatogónias situam-se à periferia e os espermatozoides no lúmen; (c) Espermatozóide maduro; (d) Cabeça de um espermatozóide maduro [7] (adaptado).

## Descida dos testículos

Os testículos desenvolvem-se como órgãos retroperitoneais na cavidade abdominopélvica e estão ligados ao escroto pelo gubernáculo, um cordão fibromuscular. Eles migram desde a cavidade abdominal, através do canal inguinal, até à bolsa escrotal. Durante a descida para a bolsa, por evaginação da cavidade peritoneal, os testículos arrastam consigo uma pequena porção de peritoneu, chamada o processo vaginal. Normalmente, a extremidade superior desta formação fica obliterada e a inferior mantém-se como um pequeno saco fechado, a túnica vaginal, que reveste quase completamente os testículos. A camada visceral da túnica vaginal cobre a superfície anterior do testículo e a camada parietal forra o escroto [7].

A criptorquidia é a situação em que um ou os dois testículos não descem para o escroto. A temperatura mais elevada da cavidade abdominal impede a espermatogénese normal e, se ambos os testículos estiveram implicados, resulta na ausência de produção de espermatozóides. É uma desordem comum, com a sua incidência máxima em crianças que foram prematuras (21%), para bebés com um tempo de gestação normal, a incidência do criptorquidismo ronda os 2,7% - 5,9% na altura do nascimento e 1,2% a 1,8% até um 1 ano de idade [7] [8].

## Espermatogénese

Desde o início do seu desenvolvimento até à puberdade, os testículos permanecem relativamente simples e inalterados. Dos 12 aos 14 anos de idade, geralmente, as células de Leydig aumentam em número e tamanho, desenvolve-se um lúmen em cada túbulo seminífero e é iniciada a espermatogénese [7].

As células de Sertoli estendem-se desde a periferia até ao lúmen dos túbulos seminíferos, fornecendo os nutrientes necessários às células germinativas e, possivelmente, produzem, juntamente com as células de Leydig, algumas hormonas como os androgénios, os estrogénios e as inibinas. Além disso, as zonas de oclusão entre as células de Sertoli formam uma barreira hematotesticular, que isola os espermatozóides do sistema imunitário [7].

A testosterona, produzida pelas células de Leydig, passa para as células de Sertoli e liga-se a receptores, sendo esta ligação necessária para o normal

funcionamento das células de Sertoli. Acresce que a testosterona é convertida em dois outros esteróides: dihidrotestosterona e estrogénio. Estes esteróides ligam-se à proteína de ligação ao androgénio (produzida pelas células de Sertoli) e são encaminhadas com as outras secreções do túbulo seminífero para o epidídimo. Estas hormonas promovem a formação dos espermatozóides [7].

Entre as células de Sertoli, as células germinativas dão origem aos espermatozóides. Estas células encontram-se dispostas segundo o seu grau de maturidade, da periferia até ao centro dos túbulos seminíferos, encontrando-se as mais diferenciadas mais próximo do lúmen. As células mais periféricas são as espermatogónias, que se dividem por mitose (período de multiplicação). Algumas das células filhas resultantes destas divisões permanecem espermatogónias e continuam a produzir espermatogónias suplementares. As outras dividem-se, também por mitose, e dão origem aos espermátocitos de primeira ordem [7].

Após um período de crescimento, a meiose (período de divisão) inicia-se quando os espermátocitos de primeira ordem se dividem (período de maturação). Estes passam pela primeira divisão meiótica para se tornarem espermátocitos de segunda ordem. Cada espermátocito de segunda ordem sofre uma segunda divisão meiótica para produzir duas células ainda mais pequenas, as espermátides. Cada espermátide passa, então, a última fase de espermatogénese, a espermiogénese, para se transformar em espermatozóide (período de transformação; ver Figura 2c). Em cada espermátide desenvolve-se uma cabeça, um segmento intermediário e uma cauda. Na cabeça, estão contidos os cromossomas e, na extremidade do capuz cefálico, o acrossoma contém as enzimas necessárias para o espermatozóide penetrar no óvulo (célula sexual feminina) [7].

No final da espermatogénese, os espermatozóides recém-formados reúnem-se na periferia do lúmen dos túbulos seminíferos, com as cabeças orientadas para as células de Sertoli que as envolvem e as caudas dirigidas para o centro do lúmen (ver Figura 2b). Por fim, os espermatozóides são libertados no lúmen dos túbulos seminíferos [7].

## Canais

Depois da sua libertação nos túbulos seminíferos, os espermatozóides deixam os testículos através dos tubos rectos para a rede testicular. Passam então para os canais eferentes, que deixam o testículo e entram no epidídimo para se juntar ao canal do

epidídimo. Os espermatozóides deixam, então, o epidídimo, percorrendo o canal deferente, o canal ejaculador e a uretra, até atingirem o exterior [7].

## Epidídimo

Os canais eferentes de cada testículo tornam-se muito sinuosos e formam uma estrutura em forma de vírgula, na face posterior dos testículos, chamada epidídimo. A maturação final dos espermatozóides ocorre no interior do epidídimo (ver Figura 3) [7].

Cada epidídimo é composto por uma cabeça, um corpo e uma longa cauda. A cabeça contém os canais eferentes sinuosos, que se abrem para um único canal, também sinuoso, o canal epididimário, que está principalmente contido no corpo do epidídimo [7].

## Canais deferentes

Os canais deferentes iniciam-se na cauda do epidídimo, na continuação do canal epididimário e ascendem ao longo da face posterior do testículo na linha mediana do epidídimo, para se associarem a seguir com os vasos sanguíneos e os nervos que irrigam e enervam o testículo. Estas estruturas e os seus revestimentos constituem o cordão espermático. Este é constituído por: o canal deferente; a artéria testicular e os plexos venosos; vasos linfáticos; nervos e fibras remanescentes do processo vaginal. O revestimento do cordão espermático inclui a túnica espermática externa; o músculo cremáster (uma extensão das fibras musculares do músculo pequeno oblíquo do abdómen); e a túnica espermática interna (ver Figura 3) [7].

Os canais deferentes e as restantes estruturas do cordão espermático ascendem ao longo do canal inguinal e entram na cavidade pélvica. Os canais deferentes cruzam a parede lateral e posterior da cavidade pélvica, cruzam os ureteres, encurvam-se sobre a face posterior da bexiga e dirigem-se para baixo na direcção da próstata. A extremidade de cada canal deferente alarga-se formando a ampola do canal deferente. O lúmen dos canais deferentes é rodeado por músculo liso e é este músculo que, ao contrair-se, ajuda ao movimento dos espermatozóides ao longo do canal deferente [7].

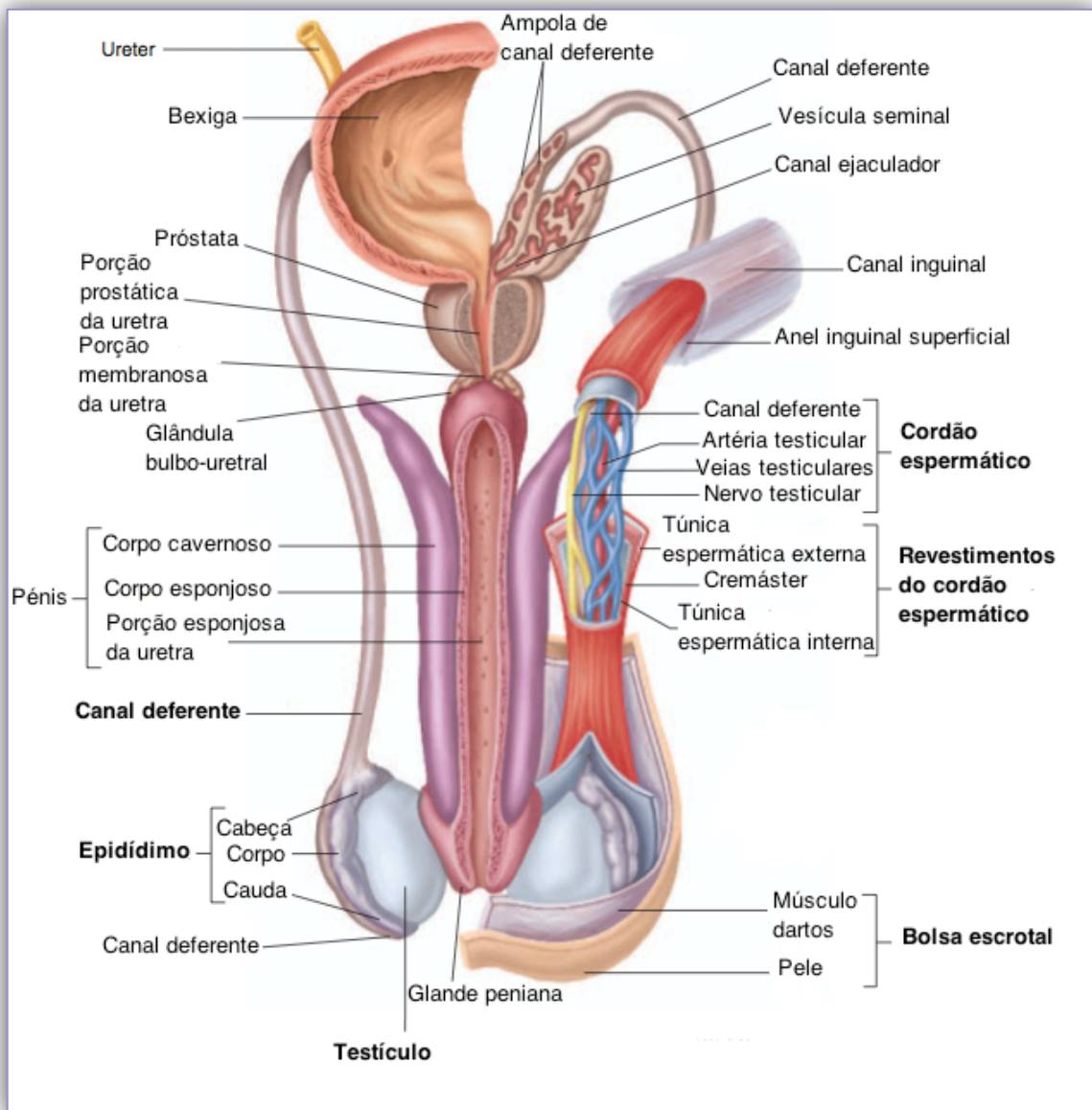


Figura 3 - Estrutura do aparelho reprodutor masculino, vista frontal [7] (adaptado).

## 2. Torsão testicular – conceito e perspectiva epidemiológica

---

A incidência da torção testicular tem aumentado, contudo, é minimizada pelos constantes avanços médicos na salvação dos testículos afectados [9].

Cada ano, a TT afecta 1 em 4000 indivíduos do sexo masculino, com menos de 25 anos de idade, mais concretamente, esta condição tem dois picos de incidência, o primeiro é no período pré-natal e 1º ano de vida e o segundo é nas idades peripuberais (12 a 25 anos). Sendo incomum em adultos com mais de 40 anos. Estudos mostram que entre 16 e 42% dos casos de dor aguda escrotal devem-se a TT [5] [10] [6].

Também se deve referir a incidência da TT perinatal, que ocorre entre o período pré-natal e os 30 primeiros dias após o nascimento, sendo deveras um fenómeno raro [11].

As sequelas da patologia podem levar anos a desenvolverem-se, por exemplo, a redução da fertilidade não é evidente até que o doente atinja a fase da paternidade, possivelmente 5-10 anos depois da dita torção testicular [10].

A TT, ou mais correctamente, torção do cordão espermático, impede o fluxo sanguíneo ao testículo afectado, comprometendo a drenagem venosa e resultando em stress oxidativo. Uma vez que os testículos são muito sensíveis ao dano oxidativo, irá originar-se edema, isquémia ou hipóxia e, porventura, necrose [6] [12] [13] [14].

Sendo que o somatório dos efeitos lesivos resulta da lesão provocada pela isquémia, sozinha, mais o efeito paradoxal adicional, por sua vez também lesivo, da reperfusão, que é uma componente dependente do tempo [13].

A severidade dos danos efectuados por esta condição está directamente relacionada com a rapidez de um correcto diagnóstico e com o começo de um tratamento efectivo [6].

### 3. Factores predisponentes

---

A torção ocorre usualmente na ausência de qualquer evento precipitante, só 4 a 8% dos casos são resultados de trauma. Outros factores que predis põem os doentes para a TT incluem o aumento no volume testicular (vulgarmente associado à puberdade), tumor testicular, historial de criptorquidismo e cordão espermático com uma porção intraescrotal longa [5].

Múltiplas anomalias têm sido consideradas contribuidoras para a TT, incluindo testículos retrácteis, perda de conexão entre os testículos e os anexos e poliorquidismo [8].

De referir, contudo, que o factor de risco mais importante para a TT é uma predisposição anatómica, a que faz com que o testículo suba e haja envolvimento do cordão espermático pela túnica vaginal, deformação esta designada por “badalo do sino” [9].

Sendo que gravidezes complicadas estão associadas a um maior risco de TT neonatal [4].

### 3. Mecanismos de torção testicular

---

Há dois mecanismos distintos de torção testicular, de acordo com a túnica vaginal: a torção extravaginal, relacionada exclusivamente com fetos e recém-nascidos, sendo a incidência em recém-nascidos de 1 caso em 7 500 bebés, e a torção intravaginal, que é mais comum em grupos etários puripuberais [11] [4] [15].

No tipo extravaginal, que ocorre fora da túnica vaginal, todo o cordão espermático e as suas estruturas contributivas sofrem torção (ver Figuras 4 e 5) [4] [11].



**Figura 4 - Torção testicular extravaginal: músculos cremâsteres, cordão espermático e túnica vaginal são envolvidos na torção [11].**

Este tipo de torção só ocorre em fetos e recém-nascidos, pois é nesta altura que os testículos e o gubernáculo testicular podem ter movimentos de rotação livremente [4].

A TT neonatal (extravaginal) pode ocorrer bilateralmente, logo a exploração cirúrgica tendo em conta o testículo contralateral é obrigatória para prevenir a trágica perda testicular bilateral [16].

Em contraste, a TT intravaginal (a mais comum, 90% dos casos de torção) só envolve o testículo, ocorrendo dentro da túnica vaginal. Este facto tem a ver com uma variação congénita da túnica vaginal e ocorre no período peripuberal, provavelmente, pois coincide com a perda do suporte dos músculos cremâsteres (ver Figura 5) [16] [11] [4].

Esta é condição na qual o testículo é livremente suspenso devido à túnica vaginal circundar completamente o epidídimo e cordão espermático, segurando o testículo como um balado do sino, em que só há um ponto de fixação. Normalmente, a túnica vaginal deve providenciar a fixação na parte posterior dos testículos, prevenindo a torção do cordão espermático [8].

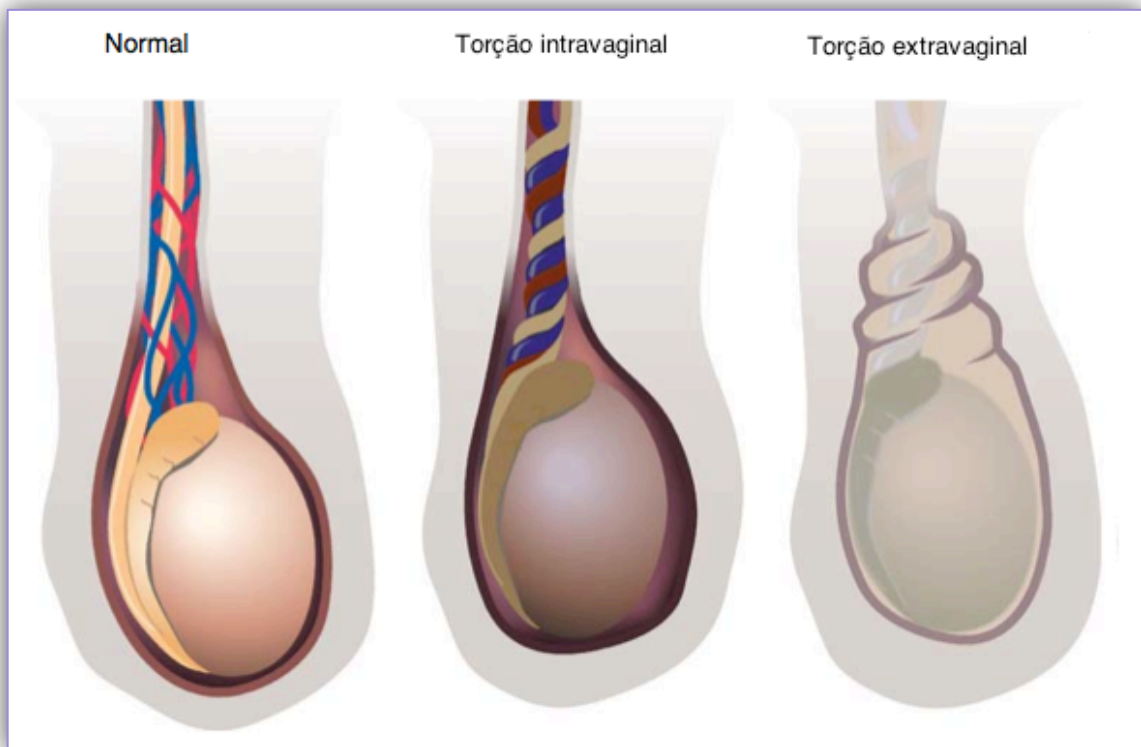


Figura 5 - Torção intravaginal e extravaginal [11].

## 4. Diagnóstico diferencial

A dor aguda escrotal é a apresentação consistente de torção testicular, a qual é, por vezes, associada a náusea, vômitos e febre [4].

A TT deve ser diagnosticada rapidamente e cuidadosamente. O atraso no diagnóstico (e conseqüente atraso na cirurgia) aumenta o risco de inviabilidade testicular [5].

O diagnóstico diferencial da dor aguda escrotal inclui TT, trauma, epididimite/orquite, hérnia, varicocele, edema escrotal idiopático e torção dos apêndices testiculares [5] (ver Tabela 1).

Tabela 1 – Diagnóstico diferencial da dor aguda escrotal [17]

Diagnóstico	Idade	Início dos sintomas	Dor	Sensibilidade	Sinais sistémicos	Tratamento
Torção testicular	Nascimento e peripuberdade	Agudo	Severa	Difusa	Náusea, vômitos	Cirurgia
Torção dos apêndices testiculares	Pré-puberdade	Subagudo	Moderada	Pólo superior	Nenhuns	Descanso
Epididimite	Adolescência	Indolente	Moderada a severa	Epidídimo	Febre, disúria	Antibióterapia, descanso

A examinação clínica pode ajudar a diferenciar as causas da dor aguda escrotal. Na epididimite, os primeiros sinais da patologia são uma maior sensibilidade e prurido, podendo avançar para a pele da bolsa escrotal apresentar-se edematosa e similar a uma “casca de laranja”, contudo esta última característica só aparece no último curso da doença [5].

Quando existe torção dos apêndices testiculares, um nódulo de 2 a 3 mm de diâmetro pode ser palpável no testículo, em que uma coloração azul pode ser visível nesta área. O edema escrotal desenvolve-se rapidamente, o que dificulta as conclusões da observação física. Finalmente, o epidídimo mantém-se na parte posterior e só os apêndices testiculares estão torcidos. O testículo afectado é similar em tamanho ao testículo não afectado [5].

Em contraste, nos doentes com TT, o epidídimo pode estar localizado medialmente, lateralmente ou anteriormente, dependendo do grau da torção. O epidídimo pode ser colocado posteriormente, com 360° de torção. O cordão espermático encurta-se à medida que é torcido, logo o testículo pode elevar-se na bolsa escrotal. Sendo este facto muito específico da TT. Devido à congestão venosa, o testículo afectado pode apresentar-se maior que o testículo não afectado. Para um diagnóstico

mais sensível, realiza-se o teste do reflexo do músculo cremáster, sendo que a ausência de reflexo (quando os testículos não sobem) é uma forte evidência de TT [5].

A TT pode ocorrer intermitentemente pois o episódio de torção do cordão espermático pode ter uma resolução espontânea, sendo que os doentes que apresentem dor aguda escrotal seguida de uma rápida resolução devem ser tratados com orquidopexia bilateral para prevenir uma futura torção [4].

## 5. Estudos diagnósticos

A imagiologia só deve ser utilizada em casos ambíguos e que a suspeita de TT seja baixa, pois qualquer doente com sintomas suspeitos de torção testicular deve ser imediatamente sujeito a cirurgia (ver Diagrama 2) [5].

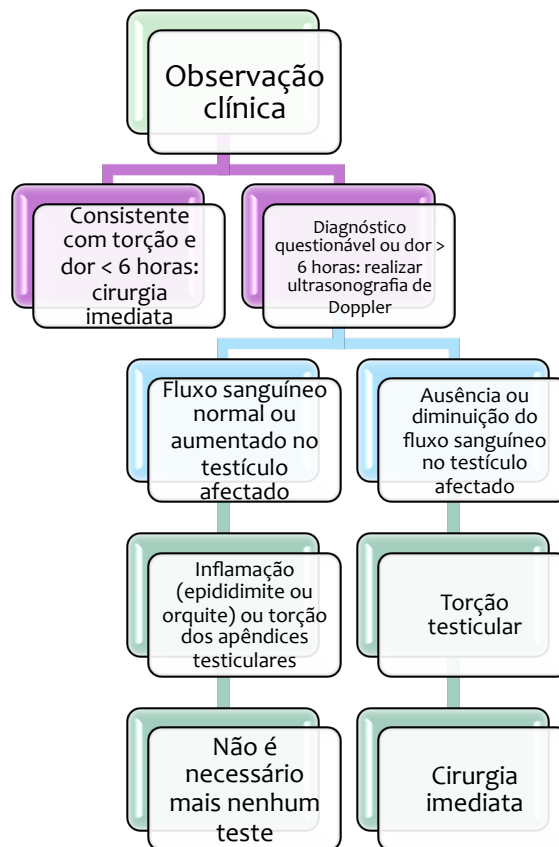


Diagrama 2 - Algoritmo da avaliação do doente com dor aguda escrotal [5](adaptado).

As modalidades mais comuns de diagnóstico são a ultrassonografia com efeito Doppler, cintilografia e exploração cirúrgica. A aparência típica da ultrassonografia e cintilografia, em doentes com dor aguda escrotal, são expostas na Tabela 2 [5].

Há que ter em conta que o diagnóstico realizado não tendo em conta os meios de diagnóstico imagiológicos têm uma taxa de falsos-positivos de 50% [4].

Tabela 2 - Características típicas de imagiologia em doentes com dor aguda escrotal [5].

Diagnóstico	Aparência na ultrassonografia	Aparência na cintilografia
<b>Testículo normal</b>	Ecogenicidade homogénea, cercada por uma linha fina brilhante (a túnica albugínea)	Captação simétrica e homogénea
<b>Torção testicular</b>	Ausência ou diminuição do fluxo sanguíneo	Perfusão diminuída no lado sintomático e lesão aparente na imagem estática
<b>Epididimite/orquite</b>	Aumento do fluxo sanguíneo	Aumento da perfusão

Para estimar o fluxo sanguíneo intratesticular, a ultrassonografia com efeito Doppler é muito útil, de facto, tem 97% de exactidão no diagnóstico de TT em doentes com dor aguda escrotal, quando a detecção do fluxo sanguíneo intratesticular é o único critério utilizado (ver Figura 6) [4].

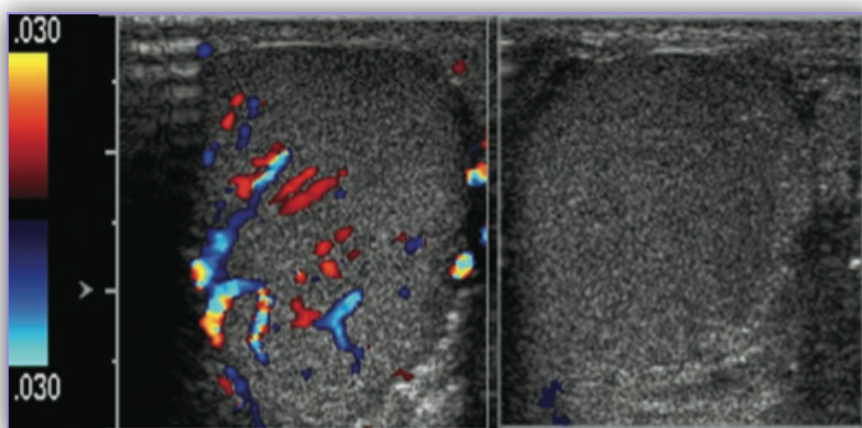


Figura 6 - Torção testicular. Ultrassonografia com efeito Doppler de ambos os testículos de um doente com trauma escrotal. Verifica-se uma completa ausência de fluxo sanguíneo no testículo esquerdo (painel direito), comparando com o testículo com fluxo sanguíneo normal, o testículo direito (painel esquerdo) [18].

A cintilografia tem 100% de sensibilidade para diagnosticar a TT. Os doentes com TT têm marcadores radiológicos diminuídos no testículo isquémico, resultando numa lesão passível de ser observada em imagem. Com a inflamação ou infecção, há um aumento da perfusão [5].

Apesar da cintilografia ser mais sensível para a TT, a ultrassonografia é mais rápida, este facto é de consideração crítica uma vez que a condição depende de um diagnóstico rápido para um tratamento eficiente [5].

A exploração cirúrgica de urgência é mandatária em todos os casos de TT com menos de 24 horas de duração, nos casos sintomáticos com duração até 48 horas mas sem torção completa ou não intermitente, ou quando há dúvida no diagnóstico, de forma a salvar-se a maior quantidade de tecido possível [6].

## 6. Tratamento

---

Após o início dos sintomas de severa dor aguda escrotal começa a contagem decrescente para a lesão testicular ocorrer [4].

Depois de confirmado o diagnóstico de TT, a rápida restauração do fluxo sanguíneo ao testículo é crítica, para evitar a perda do testículo ipsilateral, contudo, mesmo com a reparação da torção, algum dano significativo pode permanecer [4] [5].

A distorção manual pode providenciar um rápido e não-invasivo tratamento. Devido ao facto de ser possível a torção ser mais de 360°, mais de uma rotação pode ser necessária para distorcer completamente o testículo. O testículo afectado deve ser rodado a partir da linha média, como se se estivesse a abrir um livro [5].

Apesar da distorção ser bem sucedida, a orquidopexia também é recomendada [5].

A distorção manual não deve atrasar a consulta cirúrgica, pois só a exploração cirúrgica pode providenciar uma resolução definitiva no caso da torção estar presente [5].

De facto, a imediata exploração cirúrgica e orquidopexia bilateral são os tratamentos de eleição na TT aguda, contudo a orquiectomia é necessária quando existe enfarte ou necrose testicular [4].

A orquidopexia consiste num método de fixação do testículo afectado à parede do escroto, precedendo-se à distorção do mesmo. Utiliza-se uma anestesia geral, é feita a incisão no escroto, o testículo é distorcido e é colocada uma sutura absorvível para segurar o testículo e evitar que este rode novamente [19] [6].

No caso de TT neonatal, alguns autores sugerem que a exploração cirúrgica e a orquidopexia contralateral concomitante são o melhor tratamento. Neste cenário, os riscos e os benefícios para o neonatal têm que ser ponderados, pois existe o risco da anestesia por um lado e o risco de perda testicular por outro [4].

Se o testículo ficar inviável (devido a necrose), deve ser removido, sabendo-se, no entanto, que é uma tremenda catástrofe psicológica para o doente [19].

Inúmeros estudos realizaram-se no sentido de descobrir terapias com alvos farmacológicos dirigidos aos diversos passos no processo lesivo de I/R, induzido pela T/D, incluindo a via da apoptose das células germinais.

## 7. Prognóstico

---

O sucesso do salvamento do testículo depende da duração e grau de torção testicular [4].

Entende-se por salvação testicular quando o testículo está na sua posição anatómica, sem evidências de enfarte, contudo não quer dizer que os testículos estão a funcionar fisiologicamente normalmente pois vários estudos realizados em modelos animais mostraram que deficiências na função testicular podem estar presentes mesmo uma palpação normal dos testículos [4].

A taxa de salvação testicular é de 90% se a distorção ocorrer em menos de 6 horas desde o início dos sintomas, mas cai para 50% depois de 12 horas, sendo menos de 10% se passarem 24 horas [5] [11].

Concretamente, mais de 97% dos doentes tratados com orquidopexia bilateral profiláctica têm uma completa resolução dos seus sintomas com um grande envolvimento na prevenção de um enfarte testicular futuro [4].

## 8. Complicações

---

A complicação mais significativa da torção testicular é a perda do testículo, o que poderá levar a uma fertilidade comprometida. As causas comuns de perda testicular são atrasos na examinação médica (58%), diagnóstico inicial incorrecto (29%) e atraso no tratamento hospitalar (13%) [5].

25% dos indivíduos com historial de TT podem experienciar infertilidade na vida adulta [4].

## 9. Torção de testículos criptorquídicos

---

Uma dor aguda na bolsa escrotal esquerda com um hemiescrotó vazio aumentam a suspeita de torção nos testículos criptorquídicos. Em 73% dos casos de torção nos testículos criptorquídicos, foram reportados ser no lado esquerdo. Esta condição apresenta-se normalmente com eritema, aumento de sensibilidade e a presença de uma massa na área afectada. A ultrassonografia com efeito Doppler é útil para confirmar o diagnóstico [4].

## 10. Efeitos da torção ipsilateral no testículo contralateral

---

O envolvimento do testículo contralateral em casos de torção testicular unilateral foi recentemente fundamentado em estudos laboratoriais. Uma examinação cuidadosa da lesão severa no epitélio seminífero após reparação do torção unilateral nunca tinha sido evidenciada um efeito contralateral na espermatogénese ou em outros parâmetros. Estudos específicos no testículo contralateral humano suportam agora a conclusão de que os efeitos contralaterais da torção ipsilateral são na verdade manifestações de lesões contralaterais pré-existentes [4].

# 11. Fisiopatologia da torção testicular

## Modelos animais de torção testicular

Experimentalmente, o testículo pode tornar-se isquêmico por dois diferentes modos. Um dos métodos é a oclusão da artéria espermática ou do cordão espermático e o outro método é a torção do cordão espermático. Ambos os processos têm sido experimentados em modelos animais, contudo a torção do cordão espermático é a que se aproxima mais dos aspectos clínicos relativos à torção testicular. [4].

Na TT experimental, o grau e duração da torção podem ser estabelecidos e o fluxo sanguíneo pode ser monitorizado. É importante garantir que a lesão tecidular ocorre devido tanto ao período isquêmico como à reperfusão. Se o período de isquemia for longo, a lesão adicional causada pela reperfusão será mínima [4].

Os possíveis mecanismos de disfunção testicular devido à isquemia incluem o comprometimento do fornecimento de oxigênio e nutrientes e a acumulação de produtos tóxicos. A diminuição do conteúdo intracelular de ATP e glicogênio e o aumento de  $Ca^{2+}$  dentro da célula também desempenham um papel importante na lesão testicular [4].

O prolongamento da isquemia testicular vai levar ao enfarte testicular, fazendo com que o tecido testicular tenha que ser removido [4].

A espermatogênese, depois da reparação clínica da TT, raramente é avaliada devido a questões éticas, porém, testes laboratoriais em animais com testículos atrofiados mostram que não há produção de gâmetas [4].

Usando modelos animais de TT, tem que se garantir que, por um lado, a duração da isquemia é mínima, por outro, tem que se seguir a reperfusão e, finalmente, devem causar disfunção testicular. Para isso realiza-se 720° de torção, durante 1 hora, seguida de reparação da torção o que induz uma lesão de isquemia/reperfusão (I/R) suficientemente severa para lesar o epitélio seminífero [4].

A lesão de I/R é caracterizada por eventos temporais distintos, sendo por si uma resposta bifásica, começando com a isquemia e exacerbando-se durante a reperfusão. A produção de ROS decorre nas duas fases, nos tecidos isquêmicos e reperfundidos [14].

A primeira fase ocorre imediatamente após a reperfusão, estendendo-se por algumas horas e é uma situação típica de stress oxidativo, reversível em termos de lesão

celular. Nesta fase, ocorre um aumento da produção de ROS pelas mitocôndrias, com disfunção mitocondrial e falência da fosforilação oxidativa. O tecido está apto para contrariar esta situação de stress oxidativo, derivada da rápida geração de ROS, através dos mecanismos de defesa antioxidantes [14].

A segunda fase, estende-se por horas ou dias (dependendo da manutenção do stress oxidativo) e é associada com a activação e infiltração dos neutrófilos, recrutamento de macrófagos, aumento da regulação das citocinas pró-inflamatórias e moléculas de adesão a células endoteliais (CAMs), aumento da trombogenicidade, libertação massiva de cálcio intracelular e formação de radicais livres de oxigénio. Estando, desta vez, relacionada com a aparição de danos irreversíveis no tecido testicular [14] [4].

## Stress oxidativo

No período isquémico, os níveis de hipoxantina, peroxidases lipídicas e ácido láctico aumentam em resultado do insuficiente aporte sanguíneo. No período de reperfusão há retorno do fluxo sanguíneo acompanhado da produção de aniões superóxido, radicais hidroxilo, peróxido de hidrogénio e óxido nítrico (NO), levando ao stress oxidativo no tecido testicular, à apoptose das células germinais e ao comprometimento da espermatogénese [12].

O stress oxidativo é produzido pela peroxidação e oxidação de vários componentes celulares como lípidos, proteínas, glícidos e ácidos nucleicos. É o resultado de um desequilíbrio entre a produção de espécies reactivas de oxigénio (ROS) e espécies reactivas de azoto (RNS) e a sua remoção eficaz pelo antioxidantes disponíveis [12] [14].

Durante a isquémia, o oxigénio não está disponível, logo não terá o papel de aceitador final de electrões na cadeia respiratória mitocondrial. Quando se restaura os níveis de oxigénio (através da reperfusão), a mitocôndria volta a estar funcional mas uma produção em larga escala de ROS ocorre [14].

As mitocôndrias contribuem para a lesão tecidular através de desordens a nível bioquímico e morfológico na cadeia respiratória, envolvendo a xantina oxidase [14].

As ROS são altamente reactivas devido ao par de electrões desemparelhados. As mais proeminentes ROS são o anião superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), o peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ )

e o ião hidroxilo ( $OH^{\cdot}$ ). As ROS podem ser produzidas em larga escala pelos macrófagos e neutrófilos, mas também pelos espermatozóides e outras células em condições patológicas [12].

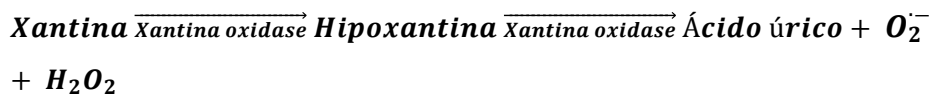
O malondialdeído (MDA) é um produto secundário da lesão de I/R formado durante a peroxidação lipídica. Os níveis de MDA aumentam no tecido testicular após lesão testicular, sendo um parâmetros mais conhecidos na determinação do aumento da formação de radicais livres em tecidos pós-isquémicos [20] [21].

Os aniões superóxido são, em grande parte, gerados como o resultado das reacções de oxidação-redução dentro da mitocôndria, mas na maioria das situações o superóxido é rapidamente convertido a peróxido de hidrogénio pela enzima superóxido dismutase (SOD) (ver Tabela 3) [12].

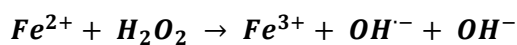
O peróxido de hidrogénio acarreta reacções com metais pesados como o  $Fe^{2+}$  ou  $Cu^{2+}$  para formar iões  $Fe^{3+}$  e  $Cu^{3+}$ , respectivamente, e iões hidroxilo ou, por outro lado, o peróxido de hidrogénio pode ser destoxificado pela glutathiona peroxidase (GPX) para formar água e oxidar a Glutathione. O peróxido de hidrogénio também pode ser reduzido pela catalase (CAT) para produzir oxigénio e água (ver Tabela 3) [12].

Tabela 3 – Reacções comuns na produção e destoxificação de ROS [12] (adaptado)

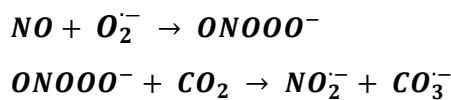
- **Formação do ião superóxido e peróxido de hidrogénio:**



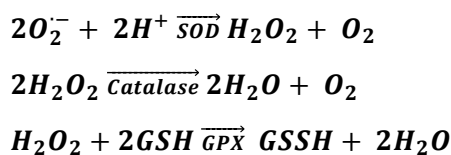
- **Formação dos iões hidroxilo, via reacção de Fenton:**



- **Formação do peroxinitrito e dióxido de azoto:**



- **Antioxidantes comuns nos mamíferos:**



Qualquer radical oxidante é um potencial agente de stress oxidativo. Como este pode ocorrer em vastas moléculas celulares, tanto o núcleo, membranas mitocôndrias, membrana celular, proteínas estruturais e citoplasmáticas, glícidos complexos, ARN e ADN são potenciais vítimas do stress oxidativo [12].

Concretamente, a oxidação lipídica, um processo elaborado por radicais livres na oxidação dos lípidos insaturados e do colesterol nas membranas e lipoproteínas, é agora considerado a consequência mais deletéria da situação de I/R [14].

No tecido testicular, onde coexistem altas taxas de metabolismo e replicação celular, o stress oxidativo pode ser especialmente maléfico, revelando, assim, a extrema importância da capacidade antioxidante do tecido [12].

As enzimas antioxidantes mais abundantes nos mamíferos são a SOD, CAT e GPX. Estas enzimas encontram-se expressas nos testículos [12].

Um certo número de factores não enzimáticos também têm função de antioxidantes a nível testicular, entre eles está a vitamina C, vitamina E, resveratrol (antioxidante botânico) e a melatonina. Todos eles provaram ser eficientes na redução do stress oxidativo testicular em diferentes circunstâncias [12].

O óxido nítrico (NO), um potente vasodilatador e uma molécula sinalizadora celular, desempenha um importante papel na amplificação da lesão testicular através da interacção com radicais superóxido para formar peroxinitrito (outro potente agente oxidante). O peroxinitrito pode modificar proteínas e originar outros radicais livres [12].

O NO é sintetizado pela óxido nítrico sintase (NOS), a qual existe em 3 formas conhecidas: NOS endotelial (eNOS), NOS induzível (iNOS) e NOS neuronal. A NOS e/ou o NO têm sido regulados em condições experimentais conhecidas por induzir stress oxidativo testicular, como o criptorquidismo e TT [12].

## Consequências vasculares da torção

É sabido, através de vários estudos em ratos, que a perda permanente da espermatogénese ocorrida após a reparação de 1 hora de 720° de torção não se deve ao facto de os valores médios de fluxo sanguíneo voltarem ao normal. Por outro lado, o padrão de perfusão microvascular do testículo permanece alterado nas horas e dias após a reparação da torção [4].

Numa perspectiva temporal, uma torção unilateral prolongada (mais de 4 horas de isquémia) não tem fluxo sanguíneo no testículo ipsilateral durante as 24 horas após a distorção. Sendo que a manutenção de um fluxo sanguíneo constante é essencial para a fertilidade testicular [14].

No testículo normal, a variação no fluxo sanguíneo microvascular deve-se a vasomoção ou contracção vascular cíclica e relaxamento controlados por uma regulamentação complexa [4].

A vasomoção é significativamente alterada após a reparação da torção e só regressa dias mais tarde. A inibição da contracção vascular necessária à vasomoção é provavelmente devida aos efeitos relaxantes do NO, o qual aumenta nos testículos após a reparação da torção [4].

O NO também é activado em outros processos celulares além do relaxamento vascular e pode ser a chave da sinalização molecular em processos que levem a lesão por I/R nos testículos. Por exemplo, o NO foi estudado como um possível regulador das CAMs, que desempenham um importante papel na lesão por I/R nos testículos e outros tecidos, uma vez que são moduladores chave no recrutamento de leucócitos, percursores de muitos mecanismos no processo de I/R [4].

Os tecidos e células sujeitos a hipoxia ou isquémia respondem aumentando a permeabilidade vascular após o processo de I/R no testículo. A associação entre este facto e a diapedese neutrófila através do endotélio vascular é possível mas não foi, ainda, explorada [14] [4].

## Consequências endócrinas da torção

A função endócrina do testículo de rato após a reparação de 1 hora de torção, de 720°, está significativamente reduzida. Todavia, os níveis de testosterona regressam ao normal, dias após a reparação da torção [4].

A deterioração severa das células de Sertoli não é a particularidade primária do processo lesivo de I/R testicular, pelo menos segundo a avaliação da síntese e secreção totais de proteínas *in vivo*. Isto não quer dizer que a síntese das proteínas nas células de Sertoli esteja completamente inalterada após o evento de I/R, apenas indica que as células de Sertoli sobrevivem após a reparação da torção e continuam a produzir um amplo painel de proteínas [4].

De facto, o factor de transcrição NF $\kappa$ B é activado após a reparação da torção e localiza-se nas células de Sertoli [4].

## Consequências apoptóticas da torção testicular

As células morrem por necrose ou apoptose. A necrose pode ser causada por uma variedade de factores extracelulares e resulta no aumento celular, lise e resposta inflamatória. Por outro lado, a apoptose é o resultado da activação de um mecanismo intracelular que conduz à morte celular sem indução de uma resposta inflamatória [4].

Existem numerosas vias para ocorrência de apoptose dependendo do tecido envolvido, mas existem duas divisões principais das vias intracelulares, a via intrínseca ou mitocondrial e a via extrínseca [4].

A via intrínseca é induzida pelo stress celular como radiação, exposição a toxinas ou pela agressão por oxidantes reactivos. O efeito primário deste stress ocorre na mitocôndria, onde associações entre membros pró e anti-apoptóticos estabilizam ou destabilizam a membrana mitocondrial. A destabilização da membrana leva à libertação do citocromo c mitocondrial no citoplasma, liga-se ao Apaf-1, activando uma cascata de caspases citoplasmáticas que eventualmente activam a caspase-activadora ADNse. Esta ADNse degrada o ADN em fragmentos regulares de aproximadamente 185 bp, característicos da verdadeira apoptose [4].

A via extrínseca é activada por ligandos extracelulares que se ligam a receptores específicos da membrana. Estes receptores iniciam um processo intracelular que também leva à activação da cascata de caspase [4].

A apoptose, um processo significativo na espermatogénese normal, é muito mais desregulada em condições que interrompam a espermatogénese, incluindo a TT [4]

Um dos principais objectivos sempre foi compreender a via molecular para a apoptose das células germinativas induzida pela TT e sua reparação ou lesão por um processo de I/R no testículo [4].

Foi demonstrado que Bax é a molécula pró-apoptótica predominante no testículo de rato e exhibe expressão aumentada após a torção. Além disso, também foi comprovado a circulação de Bax para a mitocôndria após um evento de I/R [4].

Outros resultados recentes têm revelado, pela primeira vez, a presença de caspase-2 no testículo e a sua activação com a apoptose das células germinativas. A função da caspase-2 na apoptose ainda não se encontra bem compreendida, bem como permanece controverso se esta age com o aumento ou diminuição de Bax [4].

Curiosamente, as espermatogónias nos estágios II e III, nos túbulos seminíferos de rato, são os primeiros alvos celulares nos estados primários da lesão testicular [4].

## 12. Alvos farmacológicos

---

De seguida, irá mostrar-se a compilação de estudos clínicos, publicados desde o ano 2005 até ao ano de 2011, que utilizaram diversos princípios activos que demonstraram ter alvos farmacológicos na patogénese da TT.

### Alopurinol

- **Classificação farmacoterapêutica:** Medicamento usado para o tratamento da gota [22]
- **Propriedades farmacodinâmicas:** Inibe a acção da enzima xantina-oxidase, prevenindo a oxidação da hipoxantina a xantina e a xantina a ácido úrico. O alopurinol previne ou faz diminuir a deposição de uratos, prevenindo desse modo a ocorrência e progressão da artrite gotosa e uratonofropatia. Também, as reduções das concentrações de uratos na urina, previnem ou diminuem a formação de cálculos de oxalato de cálcio ou ácido úrico [22] [23].
- **Indicações:** Tratamento da hiperuricemia, associada a gota crónica, nefropatia aguda de ácido úrico e certas desordens enzimáticas, sendo também utilizado em situações de cálculos renais causados pela deposição de oxalato de cálcio, ácido úrico e 2,8-dihidroxiadenina [23].
- **Contra-indicações:** Hipersensibilidade ao alopurinol ou a qualquer um dos excipientes [22].
- **Precauções:** Não deve ser usado para o tratamento de ataque agudo de gota. O tratamento deve ser cessado em caso de reacções de hipersensibilidade. A dose

deve ser alterada em casos de IH ou IR. Recomenda-se uma hidratação adequada [22] [23].

- **Reacções adversas:** A reacção mais frequente é a ruborização [23].
- **Interações:** Os salicilatos podem diminuir a eficácia do Alopurinol. Pode ocorrer aumento dos níveis séricos de vidarabina, de ciclosporina e de clorpropamida, Sendo também que o metabolismo da azatioprina e 6-mercaptopurina é inibido por este fármaco. Aumentando o efeito de anticoagulantes orais, antibacterianos (ex. ampicilina e amoxicilina), ciclofosfamida [22] [23].

### **Efeitos farmacológicos do alopurinol na patogénese da torção testicular:**

Dois estudos foram contemplados, nesta dissertação, para analisar a modulação farmacológica do alopurinol. Sendo eles:

- Kehinde *et al.*, 2005, investigaram o efeito de cinco antioxidantes na função exócrina testicular em coelhos após 24 horas e 3 meses após a torção experimental;
- Sukhotnik *et al.*, 2008, avaliaram o efeito do aluporinol na espermatogénese e apoptose das células germinais um ambos os testículos isquémico, após I/R testicular em ratos.

#### **Kehinde *et al.*, 2005**

Já foi demonstrado que é deveras importante avaliar o efeito protector de compostos antioxidantes, a longo termo, na função testicular endócrina e exócrina. Assim, Kehinde *et al.*, 2005, propuseram-se a avaliar o efeito de cinco antioxidantes, díspares, em testículos *in situ* sucedidos 3 meses depois da torção experimental em coelhos. Os antioxidantes estudados foram o ácido acetilsalicílico (ASA), o ácido ascórbico, o alopurinol, a quercetina e a superóxido dismutase (SOD).

Fazendo uma extrapolação, 3 meses na vida de um coelho de laboratório correspondem a 6-8 anos na vida de um humano [10].

Em todos as experiências, os testículos direitos serviram como controlo interno e os esquerdos foram alvo experimental de indução da TT [10].

Foram constituídos três experimentais: grupo de controlo, grupo sujeito a 60 minutos de isquémia seguida de reperfusão, grupo sujeito a 60 minutos de isquémia seguida de orquidopexia ao testículo esquerdo (sem reperfusão). Em cinco grupos adicionais de animais, os coelhos foram expostos a 60 minutos de isquémia mas cada grupo recebeu unicamente um dos antioxidantes em estudo, dando-se de seguida a reperfusão [10].

As doses dos antioxidantes, a via e modelo de administração usados foram os seguintes: ASA 50 mg/kg intravenoso (I.V.), 10 minutos antes da reperfusão; ácido ascórbico 2 mmol/kg intraperitoneal (I.P.), 30 minutos antes da reperfusão; alopurinol 200 mg/kg I.P., 30 minutos antes da reperfusão; quercetina 30 mg/kg I.P., 50 minutos antes da reperfusão; SOD 3 mg/kg I.V., 50 minutos antes da reperfusão [10].

O grau de peroxidação lipídica, uma medida da lesão por radicais livres, foi avaliado pelos níveis de MDA. Conjuntamente a pontuação de Johnsen (JS) foi usada para avaliar o dano morfológico passadas 24 horas e, também, 3 meses depois da TT [10].

Os dados obtidos pelo estudo confirmaram o efeito benéfico dos antioxidantes ASA, ácido ascórbico, alopurinol e quercetina na redução do malefício causado pelos radicais livres, após 24 horas de se iniciar a reperfusão testicular nos animais escolhidos para o experimento (ver Tabela 4) [10].

Sendo que o alopurinol foi associado à descida mais acentuada dos níveis de MDA, pelo contrário, a SOD não foi efectiva na protecção dos testículos torcidos contra os malefícios dos radicais livres [10].

A avaliação a longo termo (3 meses) dos efeitos do tratamento antioxidante revelou que os coelhos tratados com alopurinol tiveram níveis de MDA significativamente mais baixos em ambos os testículos que os coelhos usados como controlo ou aos quais foi administrado outro antioxidante (ver Tabela 4) [10].

Morfologicamente, os testículos dos coelhos tratados com alopurinol, depois de 3 meses, revelaram uma boa avaliação a nível da biópsia, enquanto que os coelhos tratados com outros antioxidantes não tiveram um resultado tão bom. Possíveis explicações para este fato são, entre elas, que em diferentes tecidos, diferentes antioxidantes são eficazes na protecção contra os radicais livres. Por exemplo, o ASA promove uma melhor protecção no enfarte do miocárdio, o ácido ascórbico é mais eficaz na prevenção da lesão por isquémia no intestino, a SOD e a quercetina

manifestaram proteger do dano por radicais livres nos transplantes hepáticos e o alopurinol demonstrou prevenir a lesão de I/R no coração, no cólon e nos testículos [10].

Em conclusão, os testículos torcidos viáveis tratados por orquidopexia contêm altos níveis de radicais livres, pelo menos, durante 3 meses. Dos antioxidantes estudados, só a administração de alopurinol, antes da reperfusão, teve um efeito benéfico a longo termo. Este composto reduziu significativamente os níveis de MDA em 3 meses, contribuindo para a manutenção de uma boa avaliação histológica [10].

Todavia, o ASA, o ácido ascórbico, a quercetina e a SOD não exibiram efeitos significativos a longo termo a nível dos radicais livres, apesar de a curto prazo, todos estes antioxidantes, com excepção da SOD, estiveram associados à diminuição dos níveis de MDA testicular [10].

O sucesso do tratamento da TT pode ser potenciado pelo uso profilático de antioxidantes eficazes como o alopurinol. É de referir que, por experiência no tratamento de patologias como a hiperuricemia, uma dose entre 100 e 300 mg (3 vezes ao dia) promove um nível sérico do fármaco que permite exercer efeitos antioxidantes, sem se tornar tóxico para os humanos [10].

Concluiu-se, no estudo referido, que o alopurinol inibiu a xantina oxidase e, deste modo, inibiu a morte programada das células germinais e exerceu um efeito protector a nível da fertilidade masculina, em relação a I/R testicular [24].

Tabela 4 – Níveis de MDA testiculares e avaliação da biópsia segundo Johnsen, tendo em conta um espaço de tempo curto (24 horas) e a longo prazo (3 meses) [10](adaptado).

Resultados	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D1	Grupo D2	Grupo D3	Grupo D4	Grupo D5
<b>NÍVEIS TESTICULARES DE MDA, nmol/mg proteína</b>								
• <b>Curto termo (24 horas)</b>								
<b>Testículo direito</b>	2,5 ± 1,1	2,9 ± 0,9	2,4 ± 2,1	4,1 ± 2,2	2,3 ± 1,2	2,5 ± 3,9	1,0 ± 0,6	2,4 ± 1,1
<b>Testículo esquerdo</b>	1,6 ± 0,2	10,0 ± 3,1	8,2 ± 4,4	7,7 ± 7,4	5,3 ± 3,3	4,7 ± 4,3	6,7 ± 5,5	10,5 ± 6,7
• <b>Longo termo (3 meses)</b>								
<b>Testículo direito</b>	2,0 ± 0,9	5,7 ± 2,8	4,0 ± 0,6	7,7 ± 9,0	2,0 ± 1,8	2,1 ± 1,6	1,3 ± 1,3	4,4 ± 1,9
<b>Testículo esquerdo</b>	3,0 ± 2,2	11,0 ± 1,1	4,0 ± 4,5	31,6 ± 7,0	8,5 ± 6,9	4,6 ± 1,8	10,2 ± 11,9	10,9 ± 7,0
<b>AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DA BIÓPSIA TESTICULAR (segundo Johnsen)</b>								
• <b>Curto termo (24 horas)</b>								
<b>Testículo direito</b>	9,5 ± 0,9	9,7 ± 0,6	9,7 ± 0,3	10 ± 0	9,7 ± 0,6	9,3 ± 1,2	9,3 ± 1,2	9,7 ± 0,6
<b>Testículo esquerdo</b>	9,5 ± 0,5	9,3 ± 0,6	9,5 ± 0	9 ± 0	9 ± 1	8 ± 2,6	9,2 ± 1,0	9,2 ± 1,0
• <b>Longo termo (3 meses)</b>								
<b>Testículo direito</b>	10 ± 0	10 ± 0	9,8 ± 0,3	9,3 ± 0,6	9,6 ± 0,3	10 ± 0	9,5 ± 0,5	9,8 ± 0,3
<b>Testículo esquerdo</b>	9,1 ± 1	7,7 ± 2,5	9,7 ± 0,6	6,5 ± 2,3	3,3 ± 1,5	7,6 ± 4,2	5,3 ± 2,5	7,3 ± 3,1

Legenda: Grupo A: grupo de controlo; Grupo B: grupo sujeito a 60 minutos de isquemia seguida de reperfusão; Grupo C: grupo sujeito a 60 minutos de isquemia seguida de orquidopexia ao testículo esquerdo (sem reperfusão); Grupo D1: administração de ASA; Grupo D2: administração de ácido ascórbico; Grupo D3: administração de alopurinol; Grupo D4: administração de quercetina; Grupo D5: administração de SOD.

**Sukhotnik et al., 2008**

Neste estudo, o modelo animal escolhido e o objectivo pretendido foram díspares relativamente ao estudo anterior, utilizaram o rato e quiseram avaliar o efeito do alopurinol na espermatogénese e apoptose das células germinais um ambos os testículos isquémico, após I/R testicular em ratos.

O alopurinol, um antioxidante que previne o dano causado pela reperfusão e oxigenação após a isquémia, nunca tinha sido estudado, até aqui, o seu papel a nível da apoptose neste tipo de lesão [24].

Foram constituídos quatro grupos experimentais: Grupo A, grupo sujeito à simulação de operação (obtenção de valores basais normais); Grupo B, grupo sujeito também à simulação da operação mas em que foi administrado alopurinol oralmente (*per os*), numa dose de 200 mg/kg, uma vez ao dia, imediatamente antes e 24 horas após da operação; Grupo C, grupo sujeito a I/R, 90 minutos de isquémia e 48 horas de reperfusão e o Grupo D, grupo sujeito a I/R, 90 minutos de isquémia e 48 horas de reperfusão mas tratados com alopurinol, da mesma forma que ao Grupo B [24].

Os resultados destes investigadores demonstraram que o inibidor da xantina oxidase, alopurinol, produz um potente efeito inibitório da morte programada das células germinais. Logo, o seu uso pode ser benéfico na preservação das células germinais e na prevenção da fertilidade após I/R testicular (ver Tabela 5) [24].

**Tabela 5 – Efeito da I/R testicular e do tratamento com alopurinol na espermatogénese (tendo em conta a avaliação histológica segundo Johnsen e as camadas de células germinativas) no testículo isquémico [24].**

GRUPOS	Testículo ipsilateral	
	Avaliação histológica segundo Johnsen	Número de camadas de células germinais
<b>Grupo A</b>	9,5 ± 0,2	5,3 ± 0,2
<b>Grupo B</b>	9,1 ± 0,1	5,3 ± 0,3
<b>Grupo C</b>	5,6 ± 0,5	3,4 ± 0,3
<b>Grupo D</b>	7,3 ± 0,5	3,8 ± 0,3

# Ciclosporina e tacrolímus

## Ciclosporina

- **Classificação farmacoterapêutica:** Imunomodulador [22]
- **Propriedades farmacodinâmicas:** Forma um complexo com a proteína receptora ciclofilina, este complexo estabelece ligação e inibe a activação da calcineurina, resultando na depressão da resposta imune mediada por células [23].
- **Indicações:** Usada, usualmente em conjunto com corticosteróides, na transplantação de órgãos e tecidos na profilaxia da rejeição do transplante. Também é utilizada em formas severas de dermatite atópica, psoríase, uveíte endógena e artrite reumatóide, quando a terapia convencional não é eficaz. É usada também no síndrome nefrótico. A ciclosporina foi experimentada em outras patologias que têm componente autoimune (ex. asma, anemia aplásica, esclerose múltipla, entre outras...) [22] [23].
- **Contra-indicações:** Hipersensibilidade à ciclosporina ou a algum dos componentes da formulação. Não deverão ser utilizados produtos ou extractos vegetais contendo hipericão (*Hypericum perforatum*) em associação com a ciclosporina [22].
- **Precauções:** É necessária monitorização da função renal e hepática, assim como da pressão sanguínea e dos níveis plasmáticos de potássio, magnésio e de lípidos. Nos doentes transplantados é obrigatória a monitorização da concentração plasmática de ciclosporina. Não ser usada em casos de hipertensão não controlada, persistentes níveis elevados de creatinina, infecções não controladas ou malignidade. A ciclosporina predispõe os doentes para o desenvolvimento de infecções bacterianas, fúngicas, parasitárias ou virais, sendo que devem ser adoptadas estratégias terapêuticas efectivas particularmente nos doentes sujeitos a terapêutica imunossupressora de longa duração. Poderá reduzir a resposta a vacinas [22] [23].
- **Reacções adversas:** Nefrotoxicidade é efeito adverso mais frequente. Os outros efeitos adversos incluem hipertensão, distúrbios gastrointestinais, fadiga,

hepatotoxicidade, hipertricose, tremores, cefaleias, hiperlipidemias, hipercalcemia, hipomagnesemia, hiperuricemia, paraestesia e mialgia [23].

- **Interações:** Carbamazepina, Nevirapina, Fenitoína, Fenobarbital, Rifampicina, Hipericina diminuem as concentrações plasmáticas de Ciclosporina, pelo contrário, alguns antifúngicos, antibióticos macrólidos, inibidores da protease VIH, Delavirdina, alguns bloqueadores dos canais de cálcio, hormonas sexuais, corticosteroides e sumo de uva aumentam os seus níveis plasmáticos [23].

## Tacrolímus

- **Classificação farmacoterapêutica:** Imunomodulador [22]
- **Propriedades farmacodinâmicas:** Liga-se à proteína intracelular FKBP-12, formando um complexo que inibe a actividade da calcineurina, resultando na imunossupressão [23].
- **Indicações:** Prevenir a rejeição em doentes que recebem órgãos ou tecidos transplantados. Também é usado topicamente no tratamento da forma moderada a severa de eczema atópico [23].
- **Reacções adversas:** Dos efeitos secundários mais frequentes salienta-se hiperglicemia, incluindo diabetes *mellitus*, hipercalcemia, tremores, cefaleias, parestesias, náuseas, vômitos, diarreia, hipertensão, insónia e comprometimento da função renal. São também comuns casos de hiperlipidemias, hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia. Anemia, leucopenia e trombocitopenia são eventos que também podem ocorrer. A resposta a vacinas pode ficar comprometida [23].
- **Precauções:** O seu uso deve ser evitado em caso de hipersensibilidade a macrólidos. A sua dose deve ser reduzida em caso de IH e IR. É recomendada a monitorização das concentrações séricas de tacrolímus [23].
- **Interações:** Devido ao aumento da nefrotoxicidade, não pode ser tomado com ciclosporina [23].

### **Efeitos farmacológicos do da ciclosporina e do tacrolímus na patogénese da torção testicular:**

A ciclosporina e o tacrolímus são agentes ligantes das imunofilinas, que revolucionaram a transplantologia pelas suas capacidades de bloquear a activação de linfócitos e células do sistema imunitário, sendo utilizados rotineiramente para impedir a rejeição dos enxertos em transplantes de órgãos e medula óssea. Outras capacidades destes fármacos têm sido descobertas, a maioria delas dizem respeito ao potente efeito protector contra a lesão das células sujeitas a isquémia e stress oxidativo [25].

O conhecido mecanismo clássico de acção destes compostos nas células, baseia-se na ligação de proteínas intracelulares específicas designadas por imunofilinas que regulam a actividade da enzima calcineurina [25].

O grupo de investigadores Nezami *et al.*, 2009, tiveram como objectivo do seu estudo investigar as propriedades anti-isquémicas da administração, após isquémia, dos ligantes das imunofilinas (ciclosporina e tacrolímus) na I/R testicular estimuladora da apoptose das células germinais em rato.

Estabeleceram-se cinco grupos experimentais: Grupo A, grupo de controlo para obtenção de valores basais normais; Grupo B, grupo sujeito à simulação da operação; Grupo C, grupo sujeito a T/D, não tratado; Grupo D, grupo sujeito a T/D tratado com ciclosporina, 5 mg/kg, I.V., no momento da distorção e Grupo E, grupo sujeito a T/D tratado com tacrolímus, 3,5 mg/kg, I.V., no momento da distorção [25].

Estes autores foram os primeiros a revelar as capacidades protectoras da ciclosporina e do tacrolímus contra a lesão de I/R em testículos de ratos [25].

Segundo Nezami *et al.*, 2009, a TT de 1 hora de 720° leva a uma diminuição nos níveis de enzimas antioxidantes (CAT, GPX e SOD) assim como a um aumento nos níveis de MDA quando comparados com os ratos do grupo de controlo (não sujeitos a torção). Adicionalmente, verificou-se que a apoptose das células germinais aumentou significativamente quando avaliados os testículos 24 horas após distorção (ver Tabela 6) [25].

Ditosamente, a administração intravenosa de ciclosporina e tacrolímus no momento da distorção aparenta normalizar os níveis de enzimas antioxidantes e de reduzir os níveis de MDA e, conseqüentemente, a taxa de apoptose das células germinais (ver Tabela 7) [25].

Para os autores o possível mecanismo pelo qual a ciclosporina e o tacrolímus protegem o testículo da lesão de I/R reside no facto de modularem o cálcio intracelular, interrompendo a interacção entre as imunofilinas e os receptores das canais de cálcio. Note-se que o cálcio opera como mensageiro intracelular na sinalização da tradução [25].

Epilogando, foi demonstrado que estes ligantes de imunofilinas têm propriedades anti-isquémicas mesmo se administrados em doses únicas e baixas, embora sejam necessários mais estudos [25].

Os imunossuppressores ciclosporina e tacrolímus reduzem significativamente a lesão de reperfusão testicular possivelmente por atenuarem a acumulação de neutrófilos [25].

**Tabela 6 – Níveis de MDA, CAT, SOD e GPX no testículo ipsilateral [25](adaptado).**

GRUPOS	MDA (nmol/g tecido)	CAT (UI/g tecido)	SOD (UI/g tecido)	GPX (UI/ g tecido)
A	117,666 ± 19,633	366,006 ± 35,595	1931,002 ± 129,588	712,000 ± 80,729
B	123,550 ± 20,615	349,056 ± 34,705	1892,382 ± 126,996	709,177 ± 48,975
C	187,666 ± 26,089	237,602 ± 38,902	1547,447 ± 83,299	582,545 ± 88,082
D	142,666 ± 15,161	319,480 ± 41,527	1851,646 ± 147,753	683,232 ± 88,082
E	136,333 ± 13,170	342,480 ± 43,575	1773,899 ± 116,809	625,697 ± 83,272

**Tabela 7 – Índices de apoptose das células germinais no testículo ipsilateral [25](adaptado).**

GRUPOS	Número médio de núcleos apoptóticos/túbulo	Túbulos apoptóticos (%)
A	0,56 ± 0,28	15,05 ± 3,89
B	0,71 ± 0,29	16,71 ± 2,61
C	10,1 ± 0,91	54,72 ± 5,91
D	3,29 ± 1,02	34,92 ± 4,91
E	4,03 ± 1,77	41,26 ± 5,15

## Ibuprofeno

- **Classificação farmacoterapêutica:** Anti-inflamatório não esteróide, derivado do ácido propiónico [22]
- **Propriedades farmacodinâmicas:** Propriedades analgésicas, antipiréticas e anti-inflamatórias, sendo que estas últimas podem ser mais fracas que outros anti-inflamatórios não esteroides. Fármaco inibidor da enzima ciclo-oxigenase (COX), portanto, inibe directamente a biossíntese de prostaglandinas e tromboxanos provenientes do ácido araquidónico [23].
- **Indicações:** Dor ligeira a moderada e inflamação em situações como dismenorreia, cefaleia incluindo enxaqueca, dor pós-operatória, dor dentária. Também é utilizado na dor e inflamação em doenças reumáticas e outras afecções músculo-esqueléticas. Pode reduzir também a febre [23].
- **Reacções adversas:** O Ibuprofeno pode ser melhor tolerado que outros anti-inflamatórios não esteroides, contudo os distúrbios gastrointestinais (náuseas, dispepsia, diarreia) são frequentes. Podendo também causar hemorragias gastrointestinais e úlceras pépticas. Foram reportados casos de toxicidade renal e hepática assim como de hipersensibilidade [23].
- **Contra-indicações e precauções:** Porfíria; doença inflamatória intestinal; úlcera activa; gravidez e aleitamento [23].
- **Interacções:** Pode aumentar as concentrações plasmáticas de lítio, da digoxina e do metotrexato e pemetrexedo. Pode aumentar a concentração plasmática de ciprofibrato e baclofeno. Podem interferir com o efeito dos diuréticos e anti-hipertensores [23].

### **Efeitos farmacológicos do ibuprofeno na patogénese da torção testicular:**

O ibuprofeno actua tanto como inibidor da enzima COX como agonista do receptor activado pelos proliferadores peroxissomais (PPAR), fazendo com que diminua a produção de NO e de citocinas pró-inflamatórias. Adicionalmente, este composto tem efeitos antiradicalares e antioxidantes e captura as ROS. Protege os lípidos das

membranas biológicas da oxidação e, conseqüentemente, inibe a acumulação de produtos consequentes da peroxidação lipídica, como o MDA [20].

Vários estudos mostraram também que o ibuprofeno pode capturar radicais hidroxil e superóxido obtendo, assim, efeitos radioprotectores e quimiopreventivos na terapêutica anticancerígena. Este fármaco tem igualmente efeitos neuroprotectores em condições como a doença de Alzheimer [20].

Recentemente, o ibuprofeno foi usado com sucesso para reduzir a lesão de I/R num sistema múltiplo de órgãos, incluindo a retina, o fígado, o coração, o músculo esquelético e o cérebro [20].

Devido ao sucesso do resultado obtido com o uso do ibuprofeno, em diferentes sistemas de órgãos, os investigadores Dokmeci *et al.*, 2007, quiseram, pela primeira vez, estudar o fármaco no tratamento de modelos experimentais de torção testicular.

Um dos referidos investigadores (Dikmen Dokmeci) já tinha analisado minuciosamente o ibuprofeno na doença de Alzheimer (2004) e as suas propriedades radioprotectoras contra o aumento de reacções oxidativas devido a irradiação, tendo tido resultados bastante satisfatórios. Desta vez, o corpo de investigadores propôs-se a investigar o efeito protector do ibuprofeno, um agente anti-inflamatório e antioxidante, nas modificações bioquímicas e histopatológicas na lesão de I/R testicular, experimentalmente induzida através de T/D.

Foram constituídos 6 grupos de animais: Grupo 1: de controlo sujeito a orquiectomia precoce; Grupo 2: sujeito a I/R testicular e orquiectomia precoce; Grupo 3: sujeito a I/R testicular, administração de ibuprofeno e orquiectomia precoce; Grupo 4: de controlo sujeito a orquiectomia tardia; Grupo 5: sujeito a I/R testicular e orquiectomia tardia; Grupo 6: sujeito a I/R testicular, administração de ibuprofeno e orquiectomia tardia. Assim, resumidamente, estudou-se dois modelos distintos, modelo de orquiectomia precoce e modelo de orquiectomia tardia. Nos grupos sujeitos a orquiectomia precoce e quando se administrava ibuprofeno, a sua dose era de 70 mg/kg, *per os*, dose única, 40 minutos antes da distorção. Nos grupos sujeitos a orquiectomia tardia e quando se administrava ibuprofeno, a sua dose era de 70 mg/kg, *per os*, 40 minutos antes da distorção, uma vez ao dia, durante 7 dias [20].

No seu estudo, os níveis de MDA foram os mais elevados nos grupos de ratos sujeitos a distorção (I/R) quando comparados com os grupos não sujeitos. Prosperamente, o pré-tratamento com ibuprofeno preveniu a peroxidação lipídica, nos

ratos sujeitos a I/R, resultando num decréscimo da acumulação de MDA (ver Tabela 8) [20].

Após a I/R, a imunoreactividade da enzima óxido nítrico sintetase endotelial (eNOS) aumenta nos tecidos testiculares. O tratamento com ibuprofeno diminui essa imunoreactividade nas células germinais dos túbulos do testículo contralateral mas uma intensa imunoreactividade da eNOS foi revelada nos testículos ipsilaterais nos ratos sujeitos a orquiectomia tardia [20].

A espermatogénese e o diâmetro médio dos túbulos seminíferos (MSTD) estavam significativamente diminuídos no testículo ipsilateral e contralateral, quando ambos os grupos sujeitos a orquiectomia precoce e tardia foram comparados a grupos controlo. Mesmo assim, o ibuprofeno demonstrou efectuar melhorias na aparência histológica em todos os ratos sujeitos a TT. Sendo que o pré-tratamento com fármaco foi particularmente eficaz na prevenção da degeneração mitocondrial nas células de Sertoli e espermátides na orquiectomia tardia [20].

Em conclusão, os resultados obtidos providenciaram a primeira evidência do papel do ibuprofeno na patogénese da lesão de I/R testicular. Satisfatoriamente, constata-se que o fármaco possui efectivamente uma actividade protectora na lesão mencionada e que este estudo está de acordo com os ensaios realizados noutros órgãos [20].

Similarmente, o efeito protector observado do fármaco em estudo pode ser mediado pelas suas bem conhecidas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. Naturalmente, o ibuprofeno poderá constituir uma nova aproximação na terapia para a TT. Sendo, no entanto, requisitados mais estudos para elucidar o mecanismo pelo qual o ibuprofeno oferece estas funções protectoras [20].

**Tabela 8 – Níveis de MSTD, MTBS, MDA e imunoreactividade a eNOS, no testículo ipsilateral, em todos os grupos experimentais [20](adaptado).**

	<b>Grupo 1</b>	<b>Grupo 2</b>	<b>Grupo 3</b>	<b>Grupo 4</b>	<b>Grupo 5</b>	<b>Grupo 6</b>
<b>MSTD (µm)</b>	276,3 ± 10,5	214,1 ± 7,1	238,8 ± 7,3	269,8 ± 10,7	186,3 ± 4,1	188,2 ± 5,6
<b>MTBS</b>	9,2 ± 0,6	5,7 ± 0,1	6,6 ± 0,2	9,4 ± 0,5	4,5 ± 0,1	4,4 ± 0,1

<b>MDA (nmol/g tecido)</b>	99,2 ± 7,6	262,9 ± 13	232,2 ± 13	99,1 ± 9,3	316,2 ± 15	312,1 ± 16
<b>eNOS</b>	±	+++	++	±	++++	++++

## Inibidores da fosfodiesterase tipo 5

O sildenafil e o vardenafil, frequentemente usados na disfunção eréctil, são inibidores da fosfodiesterase tipo 5 (PDE-5), o que possibilita o aumento da guanosina monofosfato cíclica (cGMP) e do óxido nítrico (NO) e conseqüente relaxamento do músculo liso no pênis, vasodilatação, aumentando o fluxo sanguíneo e possibilitando a erecção. Apesar destes fármacos terem sido usados para a disfunção eréctil, têm agora também outras indicações medicinais [26] [27].

Foi reportado que o sildenafil e o vardenafil induzem poderosos efeitos cardioprotectores contra a lesão de I/R pela abertura de canais mitocondriais de potássio sensíveis ao ATP ( $K_{ATP}$ ) no coração [28].

Onze famílias de fosfodiesterases foram identificadas nos tecidos dos mamíferos, tendo sido demonstrada a expressão de PDE-5 no músculo liso e nas plaquetas [27] [28].

Tendo em conta que a isquémia leva a apoptose e a necrose, o que promove a libertação de cGMP intracelular, o efeito protector da inibição de PDE-5 reside no aumento dos níveis intracelulares cGMP da activação dos canais mitocondriais de  $K_{ATP}$ , tanto directa ou indirectamente através de uma variedade de vias de sinalização, como a activação da proteína cinase C. A abertura destes canais pode prevenir a apoptose, presumivelmente pela inibição da acumulação mitocondrial de  $Ca^{2+}$  durante a isquémia [28].

### Sildenafil

- **Classificação farmacoterapêutica:** Medicamento usado na disfunção eréctil [22].
- **Propriedades farmacodinâmicas:** Inibidor da fosfodiesterase tipo 5 [23].
- **Indicações:** Disfunção eréctil e hipertensão arterial pulmonar [23].

- **Reacções adversas:** As mais frequentes são cefaleias, rubefacção e dispepsia. Também são comuns distúrbios visuais, aumento da pressão intra-ocular, tonturas, insónia, ansiedade, vertigens, congestão nasal, diarreia e vómitos. Priapismo pode ocorrer [23].
- **Contra-indicações e precauções:** É necessário cuidado em pacientes com deformações anatómicas do pénis ou desordens hematológicas que possam predispor para o priapismo. É fundamental o ajuste da dose em doentes insuficientes hepáticos ou renais [23].
- **Interacções:** Potencia o efeito hipotensor dos nitratos orgânicos e bloqueadores adrenérgicos alfa, com risco de causar hipotensão aguda. Os fármacos que interferem com a isoforma CYP3A4 do citocromo P450 (assim como a cimetidina, delavirdina, eritromicina, itraconazol e cetoconazol) podem reduzir a depuração do sildenafil. A elevação dos níveis plasmáticos deste inibidor da fosfodiesterase tipo 5 também pode ocorrer pela administração concomitante de inibidores da protease VIH (ex. ritonavir) e sumo de uva. Pelo contrário, a rifampicina e o bosentano reduzem os níveis plasmáticos de sildenafil [23].

#### **Efeitos farmacológicos do sildenafil na patogénese da torção testicular:**

Até à presente data, o sildenafil é um dos princípios activos mais estudados empiricamente na condição de torção testicular, representando uma potencial aproximação à terapêutica da lesão de isquémia/reperfusão testicular induzida por TT.

Foram publicados vários estudos indicando que o sildenafil pode exercer um poderoso efeito protector contra a lesão de I/R em testículos de modelos animais (rato) [29].

Este efeito protector só é efectivo se a administração for efectuada sistemicamente, pois só assim é que o composto terá concentrações terapêuticas no tecido testicular, contrariamente à administração oral, que não permite que se atinja concentrações para efectuarem uma acção protectora [29].

Tendo sido registado igualmente que o sildenafil possui um bom efeito cardioprotector contra a lesão de I/R [27].

Este efeito cardioprotector pode ser explicado por, a administração do princípio activo durante a reperfusão depois da isquémia, diminuir a gravidade do enfarte do miocárdio pela abertura dos canais de  $K_{ATP}$  mitocondriais no coração. Esta abertura

pode prevenir a apoptose pela inibição da acumulação de  $\text{Ca}^{2+}$  mitocondrial durante a isquémia [29].

Este princípio activo é usado também em patologias como na hipertensão pulmonar, na lesão da medula espinal e na diabetes tipo II. Além disso, foi mostrado que a administração de sildenafil pode também ser útil contra a lesão isquémica em órgãos como fígado, colón e cérebro [29].

Existem também outros dados que indicam que o sildenafil e outros inibidores da PDE-5 poderão ter propriedades anti-inflamatórias por inibição das ROS e das citocinas inflamatórias produzidas [27].

Recentemente, foi reportado que o sildenafil é um potente inibidor da formação de superóxido nas células endoteliais e do músculo liso através da redução da actividade e da expressão da NADPH oxidase [27].

Três estudos foram contemplados, nesta dissertação, para analisar a modulação farmacológica do sildenafil. Sendo eles:

- Üstün *et al.*, 2008, investigaram o efeito dos inibidores da PDE-5, sildenafil e vardenafil, na síntese de óxido nítrico e apoptose na torção testicular;
- Beheshtian *et al.*, 2008, tiveram como objectivo investigar as propriedades anti-isquémicas do sildenafil quando administrado após isquémia em ratos sujeitos a T/D testicular;
- Yildiz *et al.*, 2011, propuseram-se a investigar o efeito protector do sildenafil contra a lesão testicular contralateral depois de T/D testicular unilateral.

#### **Beheshtian *et al.*, 2008**

Pela primeira vez, registaram que o sildenafil podia induzir efeitos protectores contra a lesão de I/R nos testículos de rato [27].

Foram constituídos quatro grupos experimentais: Grupo A, grupo de controlo, para obtenção de valores basais normais; Grupo B, grupo sujeito a simulação de operação; Grupo C, grupo sujeito a T/D, com 1 hora de TT, não tratada e Grupo D, grupo sujeito a T/D (1 hora de torção) tratado com 0,7 mg/kg de sildenafil, I.P., 30 minutos antes da distorção [27].

Os dados fornecidos mostram que uma TT de 720°, de 1 hora, leva a uma diminuição dos níveis de enzimas antioxidantes bem como a um aumento dos níveis de MDA, sendo estes valores comparados com os níveis em ratos não sujeitos a T/D. É também de referir que a apoptose das células germinais é muito superior nos ratos sujeitos a T/D (ver Tabela 9) [27].

Os níveis baixos de actividade de enzimas antioxidantes nos ratos sujeitos a T/D, comparativamente aos não sujeitos, parecem estar relacionados com uma defesa enzimática antioxidante descompensada no tecido testicular [27].

No entanto, a administração intravenosa de sildenafil 30 minutos antes da distorção pode normalizar os níveis de enzimas antioxidantes e MDA [27].

Os resultados, deste grupo de investigadores, demonstraram ainda que o tratamento com sildenafil reduziu significativamente o índice de apoptose das células germinais quando comparado com o de ratos sujeitos a T/D não tratados com este princípio activo.

Conjuntamente, este composto parece induzir a vasodilatação arterial periférica, aumentando a disfunção endotelial e inibindo a agregação plaquetária em modelos de isquémia cardiovascular. Este facto poderá ser a explicação simples do efeito protector do sildenafil na salvação dos testículos da lesão de I/R [27].

Concluindo, demonstrou-se que a administração sistémica de sildenafil, 30 minutos antes de se proceder à distorção, pode induzir efeitos anti-isquémicos em modelos de TT em rato. Estes efeitos foram evidenciados pelo aumento dos níveis de enzimas antioxidantes e pela diminuição dos níveis de MDA e dos índices de apoptose das células germinais. Contudo, é de notar que são necessários mais procedimentos experimentais em outros modelos que possam provar a sua utilidade na terapêutica adjuvante à cirurgia de reparação em casos de TT em humanos [27].

**Tabela 9 – Índice apoptótico das células germinais e níveis de MDA, CAT, SOD e GPX no testículo ipsilateral [27].**

GRUPOS	MDA (nmol/g tecido)	CAT (UI/g tecido)	SOD (UI/g tecido)	GPX (UI/g tecido)	Valor médio de núcleos apoptóticos/túbulo
<b>A</b>	124,54 ± 13,46	353,53 ± 31,76	1969,05 ± 115,73	691,88 ± 77,91	0,81 ± 0,61
<b>B</b>	126,64 ± 13,71	346,44 ± 28,71	1948,21 ± 126,61	673,46 ± 92,83	0,82 ± 0,74
<b>C</b>	169,69 ± 14,66	235,85 ± 24,09	1505,58 ± 154,44	578,17 ± 96,53	9,25 ± 3,26
<b>D</b>	148,81 ± 17,97	299,46 ± 37,11	1797,34 ± 126,05	658,30 ± 70,49	4,83 ± 2,96

**Yildiz et al., 2011**

T/D provocou um aumento significativo na desorganização, degeneração e descamação nas células germinais, edema intersticial e congestão capilar, hemorragia no testículo contralateral e também reduziu parâmetros histológicos como valores médios do diâmetro dos túbulos seminíferos (MSTD), espessura da camada de células germinais (GCLT) e pontuação de Johnsen para a biopsia testicular (MTBS) [29].

Uma administração intraperitoneal de uma dose baixa de sildenafil (0,7 mg/kg), antes da fase de distorção (1 hora antes e I.P.), reduziu os níveis de NO e MDA no testículo contralateral produzidos pela torção, pelo contrário, aumentou os níveis de CAT, GSH e GPX. Contudo, a administração do dobro da dose do princípio activo não induziu melhoramentos dos parâmetros, isto é, não houveram progressos a nível bioquímico [29].

Conjuntamente, a administração de uma dose baixa de sildenafil causa uma melhoria significativa em termos de histologia testicular depois de se induzir T/D e a consequente lesão de I/R, mais concretamente houve melhoria dos parâmetros histológicos como MSTD, GCLT e MTBS (ver tabela 10) [29].

**Tabela 10 – MSTD, GCLT e MTBS nos testículos de todos os grupos experimentais, excepto o grupo 4 [29] (adaptado).**

Parâmetros	Grupo 1 (n = 7)	Grupo 2 (n = 10)	Grupo 3 (n = 10)
MSTD ( $\mu\text{m}$ )	294,00 $\pm$ 6,79	256,00 $\pm$ 4,31	283,83 $\pm$ 5,44
GCLT ( $\mu\text{m}$ )	6,13 $\pm$ 0,12	5,50 $\pm$ 0,15	6,18 $\pm$ 0,16
MTBS	10,00 $\pm$ 0,00	9,50 $\pm$ 0,22	9,66 $\pm$ 0,21

Legenda: Grupo 1: grupo de controlo; Grupo 2: ratos sujeitos a T/D, não tratados; Grupo 3: ratos sujeitos a T/D, tratados com 0,7 mg/kg de sildenafil.

No entanto, embora doses elevadas de sildenafil (1,4 mg/kg, I.P., 1 hora antes da dorção) melhoraram o parâmetro histológico MSTD, os restantes parâmetros permaneceram afectados pela T/D, sem sucesso terapêutico (ver Tabela 11) [29].

**Tabela 11 – MSTD, GCLT e MTBS nos testículos de todos os grupos experimentais, excepto o grupo 3 [29] (adaptado).**

Parâmetros	Grupo 1 (n = 7)	Grupo 2 (n = 10)	Grupo 4 (n = 10)
MSTD ( $\mu\text{m}$ )	294,00 $\pm$ 6,79	256,00 $\pm$ 4,31	267,50 $\pm$ 6,32
GCLT ( $\mu\text{m}$ )	6,13 $\pm$ 0,12	5,50 $\pm$ 0,15	4,87 $\pm$ 0,34
MTBS	10,00 $\pm$ 0,00	9,50 $\pm$ 0,22	>9,00 $\pm$ 0,25

Legenda: Grupo 1: grupo de controlo; Grupo 2: ratos sujeitos a T/D, não tratados; Grupo 4: ratos sujeitos a T/D, tratados com 1,4 mg/kg de sildenafil.

Concluindo, a lesão de I/R pode ocorrer no testículo contralateral depois de 2 horas depois do procedimento de T/D. O tratamento intraperitoneal com uma dose baixa de sildenafil diminui a formação de radicais livres e aumenta os níveis de enzimas antioxidantes, atenuando o dano histológico nos testículos depois de T/D. Contudo, uma dose elevada de sildenafil não tem efeito terapêutico. Podendo-se extrapolar que uma baixa dose de sildenafil poderá ser segura em humanos e ser usada na prevenção da lesão testicular contralateral, antes da cirurgia reparadora [29].

## Vardenafil

- **Classificação farmacoterapêutica:** Medicamento usado na disfunção erétil [22]
- **Propriedades farmacodinâmicas:** Inibidor da fosfodiesterase tipo 5 [23].
- **Indicações:** Disfunção erétil e hipertensão arterial pulmonar [23].
- **Reacções adversas:** Semelhantes às do Sildenafil. Também foi reportada fotossensibilidade. Este fármaco também pode prolongar o intervalo QT [23].
- **Contra-indicações e precauções:** Semelhantes às do Sildenafil. Evitar o seu uso em pacientes com hipocalemia, prolongação congénita do intervalo QT ou que estejam a usar antiarrítmicos da classe Ia ou III. É necessário o ajuste da dose em doentes insuficientes renais ou hepáticos [23].
- **Interacções:** As mesmas do Sildenafil. O início do efeito pode atrasar-se se for tomado com dieta rica em gorduras [23].

### **Efeitos farmacológicos do vardenafil na patogénese da torção testicular:**

Vários estudos indicam que o vardenafil poderá exercer um poderoso efeito cardioprotector contra a lesão de I/R em modelos animais [28].

O vardenafil é um inibidor selectivo da PDE-5, que demonstrou *in vitro* inibir a enzima PDE-5 dez vezes e forma mais potente e mais rápida que o sildenafil. O vardenafil tem um tempo de acção similar ao sildenafil mas é bioquimicamente mais selectivo e foi provado em ensaios clínicos que tem um perfil de alta eficácia e baixas reacções adversas [28].

Devido às novas indicações e ao perfil farmacológico do vardenafil, o grupo de investigadores Erol *et al.*, 2009, quiseram pesquisar sobre a eficácia deste composto na lesão de I/R testicular. Especificamente, propuseram-se a investigar as propriedades anti-isquémicas da administração intraperitoneal de vardenafil (1 mg/kg), após 30 minutos da torção, em ratos sujeitos a T/D testicular.

Constituíram três grupos: um grupo de controlo foi designado para obtenção de valores basais para os parâmetros bioquímicos e histopatológicos; um grupo de animais sujeito a T/D, que sofreu TT durante uma 1 hora; e um grupo sujeito a T/D que foi tratado com vardenafil, no período isquémico [28].

No seu estudo, confirmou-se que os níveis de MDA e do índice de apoptose das células germinais no grupo sujeito a T/D foram significativamente superiores aos dos grupo controlo, contrariamente, houveram diminuições significativas nas enzimas antioxidantes totais em comparação com o grupo de controlo (ver Tabela 12) [28].

Os baixos níveis das enzimas antioxidantes nos ratos sujeitos a T/D testicular podem dever-se a uma regulação insuficiente da defesa antioxidante enzimática do tecido testicular [28].

Prosperamente, os níveis de MDA e de apoptose das células germinais foram significativamente diminuídos nos ratos sujeitos a tratamento com o fármaco, evidenciando a acção protectora do vardenafil face às espécies reactivas de oxigénio (ROS) [28].

O grupo de cientistas Erol *et al.*, referiram que a administração de vardenafil reduz a necrose testicular, após lesão de I/R induzida por T/D, pelo mesmo mecanismo já indicado como o responsável pelo efeito cardioprotector do sildenafil e vardenafil contra o enfarte do miocárdio, ou seja, pela activação dos canais mitocondriais de  $K_{ATP}$ , que impede a acumulação de  $Ca^{2+}$  durante a isquémia. Esta teoria poderá explicar os baixos níveis de anticorpos de factor apoptótico 1 activador de proteases (APAF-1) no grupo sujeito a tratamento com vardenafil [28].

A equipa encontrou ainda uma elevação significativa nos níveis de iNOS e eNOS no tecido do testículo ipsilateral após a lesão de I/R, mas a administração de vardenafil diminuiu significativamente esses níveis de iNOS e eNOS quando comparados com os níveis nos ratos sujeitos a T/D, não tratados [28].

No estudo presente, o tempo de torção foi menor que três horas (foi, efectivamente de 1 hora), sendo este tempo insuficiente para estimular o mecanismo autoimune envolvido na lesão do testículo contralateral. Não se observou, por isso, qualquer alteração histopatológica nestes testículos quando comparados com os do grupo de controlo. No entanto, os níveis de MDA e enzimas antioxidantes totais foram significativamente diferentes entre os testículos contralaterais dos ratos não tratados e os ratos não sujeitos a T/D, pelo que se pode admitir que os resultados dependem de um efeito precoce de I/R mais acentuado nos parâmetros bioquímicos do que nos parâmetros histopatológicos [28].

Em conclusão, foi demonstrado que a administração intraperitoneal de vardenafil exerceu um efeito anti-isquémico no modelo de TT induzida em ratos, como

se verificou pelo aumento do nível total de enzimas antioxidantes e pela diminuição dos níveis de MDA, índice de apoptose das células germinais e níveis de eNOS e iNOS [28].

Mais estudos são necessários para explicar a potencial utilidade do vardenafil e outros inibidores da PDE-5 na protecção testicular [28].

Tabela 12 – Níveis de MDA, enzimas totais, eNOS, iNOS e APAF-1 em todos os grupos experimentais [28].

Grupo	MDA ( $\mu\text{mol/g}$ proteína)	TAS ( $\text{mmol/g}$ proteína)	eNOS	iNOS	APAF-1
Controlo (n=7)	0,33 $\pm$ 0,06	0,48 $\pm$ 0,16	1,29 $\pm$ 0,49	1,28 $\pm$ 0,95	12,19 $\pm$ 1,55
T/D, não tratado (n = 7)	2,06 $\pm$ 0,39	0,2 $\pm$ 0,22	6,90 $\pm$ 3,17	6,04 $\pm$ 3,28	28,83 $\pm$ 7,49
T/D, tratado com vardenafil (n = 7)	0,47 $\pm$ 0,2	0,43 $\pm$ 0,12	4,43 $\pm$ 1,81	3,14 $\pm$ 1,06	23,29 $\pm$ 6,29

### Considerações acerca do estudo de Üstün *et al.*, 2008

O objectivo deste estudo foi investigar os efeitos do sildenafil e vardenafil na apoptose das células germinais testiculares e, também, observar as expressões de eNOS e iNOS nos testículos bilaterais após torção unilateral num modelo animal de rato [26].

Para isso dividiram-se os animais de estudo em 4 grupos: um grupo de controlo (para obtenção de valores basais); um grupo sujeito a TT, sem tratamento; um terceiro grupo sujeito a T/D, tratado com sildenafil (1 mg/dia, *per os*); e um quarto grupo sujeito a T/D, tratado com vardenafil (0,5 mg/dia, *per os*) [26].

Os resultados deste estudo foram antagónicos aos restantes estudos realizados com os inibidores da PDE-5, isto é, a administração de sildenafil e vardenafil não reduziu o nível de apoptose das células germinais testiculares, mais concretamente houve um aumento acentuado nos níveis de NO o que, na opinião dos autores,

exacerbou a lesão derivada da reperfusão. Tendo-se concluído que o sildenafil e o vardenafil não tiveram efeito protector contra a lesão de I/R testicular.

Esta contraposição reside no modo de administração dos fármacos. Como já foi referido, no estudo de Üstün *et al.*, 2008, os compostos foram administrados oralmente enquanto que nos estudos de Beheshtian *et al.*, 2008, Yildiz *et al.*, 2011 e Erol *et al.*, 2009, a administração efectuou-se parentalmente. E este facto fez toda a diferença, uma vez que só a administração parental possibilitou uma concentração terapêutica dos fármacos no tecido testicular e, conseqüentemente, puderam efectuar os devidos efeitos protectores contra a lesão de I/R testicular.

## Montelukaste

- **Classificação farmacoterapêutica:** Antagonista dos leucotrienos [22]
- **Propriedades farmacodinâmicas:** Antagonista selectivo dos receptores dos leucotrienos C<sub>4</sub>, D<sub>4</sub> e E<sub>4</sub>, interferindo com a circulação de leucotrienos que têm um papel muito importante na patogénese da asma. Suprime a broncoconstrição [23].
- **Indicações:** Tratamento da asma crónica, rinite alérgica e profilaxia dos sintomas de asma que são despoletados pelo exercício físico [23].
- **Reacções adversas:** Edema, agitação, alergia, dor peitoral, tremores, boca seca, vertigens. Outros efeitos incluem sudação, palpitações e sudação [23].
- **Contra-indicações e precauções:** Alergia (hipersensibilidade) ao montelukaste [23].
- **Interacções:** É necessário cuidado com indutores do citocrome P450 (ex. fenitoína, fenobarbital, rifampicina, ...) [23].

### Efeitos farmacológicos da montelukaste na patogénese da torção testicular:

Os compostos antagonistas do leucotrienos têm mostrado ser eficazes na protecção contra a lesão em vários modelos inflamatórios em ratos, como o álcool na indução da deterioração da mucosa gástrica, colite, sépsis induzida na lesão de órgãos múltiplos e na lesão de I/R renal [30].

Tendo em conta estes factos, Ozturk *et al.*, (2010) examinaram o efeito protector de um antagonista selectivo dos receptores dos leucotrienos, o montelucaste, no dano histológico induzido pela I/R testicular em ratos.

Constituíram-se três grupos experimentais: Grupo 1: grupo de controlo para obtenção de valores basais normais; Grupo 2: grupo sujeito a T/D (6 horas de TT unilateral), não tratado; Grupo 3: grupo sujeito a T/D (6 horas de TT unilateral), tratado com montelucaste (10 mg/kg I.P., 30 minutos antes da reperfusão) [30].

Os níveis de MDA no tecido testicular apresentaram-se significativamente aumentados no grupo de ratos sujeitos a I/R, não tratados. O aumento dos níveis de MDA indica a presença de nocividade oxidativa causada pela lesão de I/R nos testículos ipsilaterais. Não obstante, a actividade do MDA foi preservada com o tratamento com montelucaste (ver Figura 7a) [30].

A glutathione é componente chave no crescimento, diferenciação e protecção celular. A lesão celular está relacionada com o efluxo de precursores de glutathione e diminuição da biossíntese da mesma. A glutathione e outros antioxidantes interpretam um papel essencial no limitar da propagação de reacções com radicais livres, as quais podem resultar na extensa peroxidação lipídica [30].

Neste estudo, revelou-se que a concentração de glutathione diminuiu no grupo de ratos sujeitos a T/D testicular não tratados, comparativamente ao grupo controlo (não sujeito a T/D). A diminuição no tecido testicular da actividade de glutathione poderá ter ocorrido como resultado do consumo de enzimas pelo severo stress oxidativo. No entanto, o tratamento com montelucaste potenciou a melhoria na capacidade antioxidante devido à concentração de glutathione no tecido testicular ser significativamente superior nos ratos sujeitos a tratamento com o fármaco, quando comparada com as concentrações observadas nos ratos sujeitos a T/D não tratados (ver Figura 7b) [30].

A infiltração de leucócitos polimorfonucleares no tecido é característica da inflamação aguda e indica a acção colectiva de mediadores quimiostáticos [30].

O conteúdo testicular de neutrófilos foi determinado, neste estudo, pelo ensaio de determinação de mieloperoxidases. As mieloperoxidases são enzimas armazenadas nos grânulos dos neutrófilos e a sua actividade enzimática funciona como medida da acumulação de neutrófilos. Observou-se uma expressiva diminuição da actividade das enzimas mieloperoxidases depois da administração com montelucaste. Estes dados

sugerem que os efeitos anti-inflamatórios do montelucaste contribuem para o seu efeito protector na TT (ver Figura 7c) [30].

O dano histológico aumentou significativamente no grupo sujeito a T/D, não tratado, comparativamente ao grupo de controlo e ao grupo sujeito a T/D, tratado com vardenafil (ver Figura 7d) [30].

Apesar destes resultados serem promissores, existem várias limitações, uma vez que não foram estudadas diferentes doses ou mesmo um número diferente de administrações de montelucaste no tratamento da lesão de I/R testicular. São, assim, necessários mais estudos para examinar estes factores no efeito do fármaco em questão [30].

O conjunto dos dados obtidos suportam que a lesão de I/R testicular causa uma resposta oxidativa evidenciada pelas alterações dos níveis das mieloperoxidases, do MDA e da glutathiona [30].

Prosperamente, o montelucaste atenua a lesão de I/R testicular através do mecanismo que envolve a acção inibitória da infiltração de neutrófilos nos tecidos, da libertação de espécies reactivas de oxigénio e activação de citoquinas inflamatórias [30].

Estes factos podem providenciar uma potencial aproximação à terapêutica da lesão testicular pós-isquémia, contudo mais estudos poderão vir clarificar o papel do composto na diminuição das sequelas, a longo prazo, responsáveis pela subfertilidade [30].

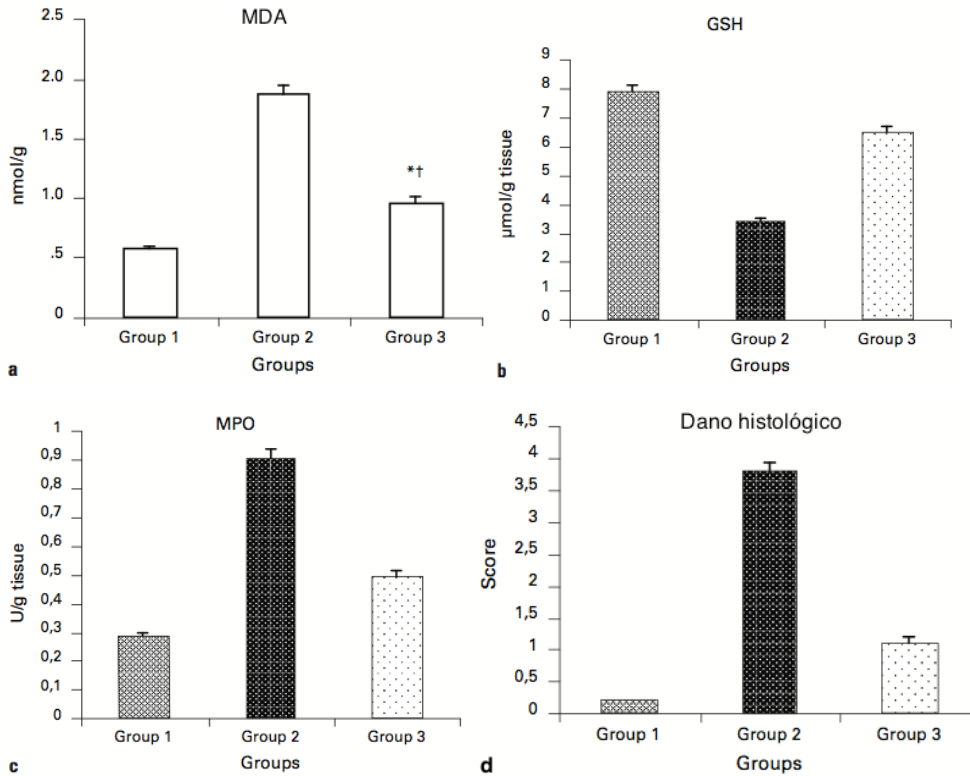


Figura 7 – a: Níveis de MDA; b: Níveis de glutatona; c: Níveis de mieloperoxidases; d: Dano histológico, no tecido testicular de todos os grupos experimentais [30] (adaptado).

## Morfina

- **Classificação farmacoterapêutica:** Analgésico estupefaciente [22]
- **Propriedades farmacodinâmicas:** Agonista dos receptores opióides  $\mu$  e, possivelmente, também dos receptores  $\kappa$  e  $\delta$ . É, essencialmente, um depressor do sistema nervoso central [23].
- **Indicações:** Alívio da dor moderada a severa, especialmente associada a cancro, enfarte do miocárdio e cirurgia. Tratamento da ansiedade e privação do sono associadas à dor severa. Também tem aplicação no edema pulmonar agudo [23].
- **Reacções adversas:** Nas doses usuais, as reacções mais comuns são náuseas, vômitos, confusão, sudorese e sedação. Sendo também característica a dependência física. Não se deve esquecer o risco de depressão respiratória [23].
- **Contra-indicações e precauções:** Hipersensibilidade à morfina, doentes com história prévia de utilização de opiáceos, função respiratória comprometida,

hipotireoidismo, mixedema, doença de Addison, IR ou IH grave e doentes com lesões do sistema nervoso central [23].

- **Interações:** Barbitúricos, benzodiazepinas, neurolépticos, gases halogenados e outros depressores do sistema nervoso central não selectivos (ex. álcool) podem potenciar a depressão respiratória [23].

### **Efeitos farmacológicos da morfina na patogénese da torção testicular:**

Vários estudos têm evidenciado os efeitos protectores dos opióides contra as lesões de I/R no coração e outros órgãos [31].

A administração de morfina diminui as alterações lesivas decorrentes do processo de I/R no coração de rato e protege o rim de coelho contra o stress oxidativo resultado da mesma degeneração isquémica [31].

Alguns dados revelaram que a morfina atenua a activação dos neutrófilos e das células endotélias em doentes com enfarte agudo do miocárdio e reduz a quantidade de moléculas que aderem à veia cava em ratos. Estes resultados sugerem que a morfina poderá exercer um efeito cardioprotector na redução da lesão de reperfusão [31].

O grupo de investigadores Salmasi *et al.*, 2005, desenhou um estudo para avaliar o efeito da morfina na lesão de reperfusão devido a T/D testicular em ratos.

Seis grupos experimentais foram constituídos: Grupo base, grupo de controlo para obtenção de valores basais normais; Grupo controlo, grupo sujeito a simulação da operação (outro grupo de controlo); Grupo T/D, grupo sujeito a T/D (1 hora de TT e 4 horas de distorção), não tratado; Grupo morfina, grupo sujeito a T/D (1 hora de TT e 4 horas de distorção), tratado com morfina (10 mg/kg I.V., imediatamente antes da distorção); Grupo N/M, grupo sujeito a T/D (1 hora de TT e 4 horas de distorção), tratado com morfina (10 mg/kg I.V., imediatamente antes da distorção) e naltrexona (20 mg/kg I.V., 15 minutos antes da distorção) e Grupo naltrexona, grupo sujeito a T/D (1 hora de TT e 4 horas de distorção), tratado com naltrexona (20 mg/kg I.V., 15 minutos antes da distorção) [31].

O aumento do stress oxidativo durante a reperfusão após isquémia, que foi apontado pelos elevados níveis de peroxidação lipídica, foi acompanhado pela descida dos níveis de enzimas antioxidantes, como a catalase (CAT), a superóxido dismutase (SOD) e a glutathiona peroxidase (GPX) (ver Tabela 13) [31].

No estudo de Salmasi *et al.*, os níveis de MDA no grupo de ratos sujeitos a T/D foram significativamente maiores que os do grupo de controlo (não sujeitos a T/D). Descidas significativas nas actividades das enzimas CAT e SOD, foram também reveladas nos animais sujeitos a T/D comparativamente aos não sujeitos ao processo, revelando o poder antioxidante descompensador do tecido testicular. Contudo, a injeção sistémica de morfina imediatamente antes da distorção tornou possível normalizar as modificações que se deveu à diminuição da lesão oxidativa após o tratamento.

Estes dados sugerem que o efeito da morfina foi mediado pelos receptores opióides, uma vez que a naltrexona, um antagonista opióide, aboliu o seu efeito [31].

Após isquémia, o anião superóxido é produzido durante a fase de reperfusão. Este anião reage rapidamente com NO e forma o peroxinitrito, metabolito que inicia reacções oxidativas tóxicas [31].

Verificou-se que a morfina exerce um efeito benéfico na diminuição da apoptose das células germinais através da acção destoxicante sobre o peroxinitrito [31].

A examinação histopatológica do testículo ipsilateral demonstrou ainda que a administração de morfina aumentou os marcadores antioxidantes no grupo de animais tratados com o fármaco, comparativamente aos animais sujeitos a T/D não tratados. Assim há a evidência que a morfina contribui benéficamente na diminuição da apoptose das células germinais, depois de TT [31].

O efeito da torção unilateral no testículo contralateral é controverso, foi demonstrado que apesar de ter ocorrido 1 hora de torção seguida de 4 horas de distorção e terem havido modificações significativas a nível histológico e bioquímico no testículo ipsilateral, os resultados não revelaram qualquer alteração no testículo contralateral [31].

Em conclusão, a morfina aumenta, no testículo ipsilateral, os marcadores antioxidantes intratesticulares durante a fase de reperfusão após a TT unilateral, originando eventualmente em baixos níveis de MDA testiculares [31].

O efeito observado da morfina pode ter sido resultado do seu impacto nos neutrófilos e da sua acção directa na destoxificação de peroxinitrito. Estudos adicionais são necessários para avaliar os efeitos da morfina na apoptose das células germinais, a qual está implícita na perda permanente da espermatogénese após TT. Similarmente também deveriam ser efectuados estudos para investigar o papel dos receptores opióides específicos no efeito da morfina contra a lesão de I/R [31].

Tabela 13 – Níveis de MDA, CAT, SOD e GPX no testículo ipsilateral de todos os grupos experimentais [31].

GRUPOS	MDA (nmol/g tecido)	CAT /UI/g tecido)	SOD (UI/g tecido)	GPX (UI/g tecido)
<b>Base</b>	117,666 ± 19,633	366,006 ± 35,595	1931,002 ± 129,588	712,000 ± 80,729
<b>Controlo</b>	123,550 ± 20,615	349.056 ± 34,705	1892,382 ± 126,996	709,177 ± 48,975
<b>T/D</b>	187,666 ± 26,089	237,602 ± 38,902	1547,447 ± 83,299	582,545 ± 75,729
<b>Morfina</b>	142,666 ± 15,161	319,480 ± 41,527	1851,646 ± 147,753	683,232 ± 88,082
<b>N/M</b>	176,333 ± 13,170	242,480 ± 43,575	1573,899 ± 116,809	625,697 ± 83,272
<b>Naltrexona</b>	183,333 ± 16,415	243,572 ± 38,872	1560,673 ± 108,421	611,313 ± 83,747

## Sinvastatina

- **Classificação farmacoterapêutica:** Antidislipidémico [22]
- **Propriedades farmacodinâmicas:** Inibidor da hidroximetilglutaril coenzima A [23].
- **Indicações:** Esta estatina pertence a um grupo de fármacos usados no tratamento da hipercolesterolemia, dislipidemia mista e prevenção cardiovascular [23]
- **Reacções adversas:** As mais frequentes são distúrbios gastrointestinais. Outros efeitos reportados incluem cefaleias, ruborização, tonturas e insónia. A função do fígado deve ser monitorizada pois pode ocorrer aumento no nível de aminotransferase no soro. Casos de hepatite, pancreatite e reacções de hipersensibilidade foram reportados. Foram também descritos casos de miopatias, caracterizados por mialgia e fraqueza muscular. Embora mais raro, rabdomiólise pode acontecer [23].
- **Contra-indicações e precauções:** Hipersensibilidade à Sinvastatina. Este fármaco não deve ser administrado em pacientes com doença hepática activa ou

com elevação persistente das transaminases, sendo que a função hepática deve ser monitorizada. Deve ser evitado na gravidez e aleitamento [22].

- **Interações:** O seu nível plasmático pode ser aumentado com a administração concomitante de ciclosporina, inibidores da protease VIH e gemfibrozil [23].

### **Efeitos farmacológicos da morfina na patogénese da torção testicular:**

A sinvastatina é uma potente inibidora da HMG-CoA (3-hidroxi-3metilglutaril-coenzima A), sendo usualmente utilizada no tratamento de condições hiperlipidémicas e doenças coronárias [32].

Além desta capacidade anti-dislipidemiante, a sinvastatina tem uma capacidade antioxidante muito eficiente, exercendo efeitos protectores contra a lesão de I/R em vários órgãos/tecidos, incluindo o coração, pulmões, rins, intestino e tecidos nervosos, etc... [32].

Apesar destes efeitos benéficos, até aqui, nunca tinha sido estudado o papel da sinvastatina na patogénese de T/D testicular. Portanto, o grupo de investigadores Yang *et al.*, 2010, partindo da hipótese de que a sinvastatina atenua a lesão testicular resultado da T/D, quiseram investigar as suas propriedades antioxidantes em testículos de rato.

Para atingirem o objectivo proposto, constituíram cinco grupos experimentais: Grupo sujeito à simulação da operação, não tratado; Grupo sujeito à simulação da operação mas tratado com sinvastatina (5 mg/kg I.P., imediatamente após a distorção testicular); Grupo sujeito a T/D (torção de 720°, durante 4 horas), não tratado; Grupo sujeito a T/D (torção de 720°, durante 4 horas), tratado com sinvastatina (1 mg/kg I.P., imediatamente após a distorção testicular) e Grupo sujeito a T/D (torção de 720°, durante 4 horas), tratado com sinvastatina (5 mg/kg I.P., imediatamente após a distorção testicular) [32].

A análise histológica revelou danos severos e moderados no testículo ipsilateral torcido dos ratos sujeitos a T/D (não tratados) e dos ratos sujeitos a T/D tratados com 5 mg/kg de sinvastatina, respectivamente. Mostrando o efeito protector da sinvastatina (ver Figura 8) [32].

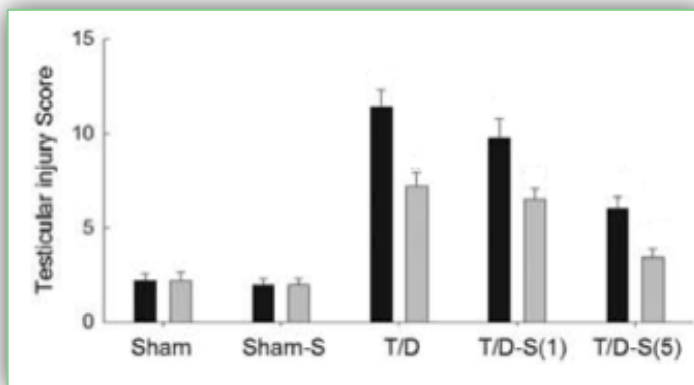


Figura 8 – Avaliação histológica da lesão testicular em todos os grupos experimentais [32].

Também se analisou a actividade da mieloperoxidase e níveis de NO e MDA, sugerindo um efeito protector da sinvastatina contra a lesão testicular derivada de T/D, confirmando a sua capacidade antioxidante e a hipótese de que a sinvastatina poderá ser a terapêutica adjuvante à distorção cirúrgica (ver Figuras 9, 10 e 11) [32].

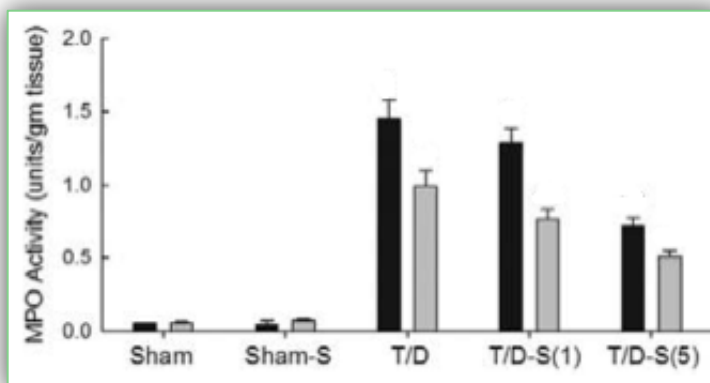


Figura 9 - Actividade da MPO em todos os grupos experimentais [32].

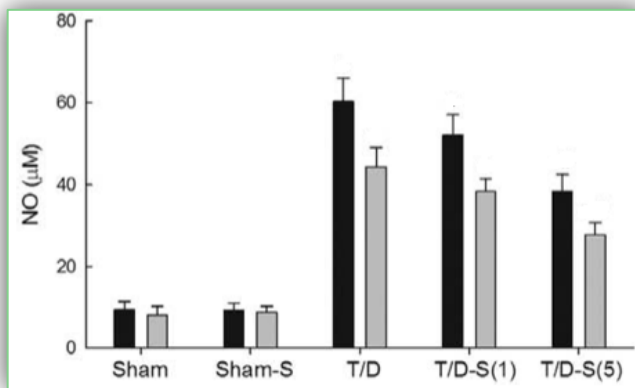


Figura 10 - Nível de NO em todos os grupos testiculares [32].

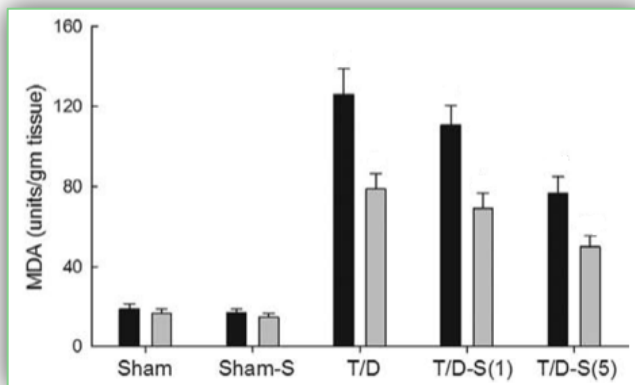


Figura 11 - Nível de MDA em todos os grupos experimentais [32].

Como já foi mencionado, a T/D é uma lesão típica de I/R e a expressão do factor de transcrição NFκB é activada (sendo uma resposta ao stress oxidativo), sendo também relacionada com o processo de apoptose das células germinais testiculares [32].

Os resultados demonstraram que a sinvastatina atenuou a expressão do factor de transcrição NFκB e consequentemente, o recrutamento de neutrófilos (ver Figura 12).

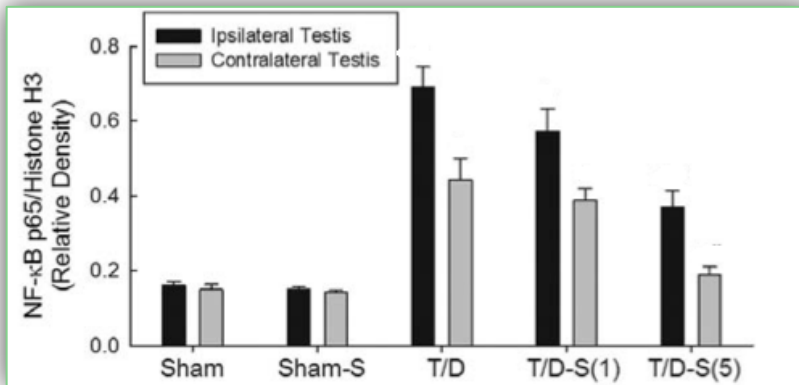


Figura 12 - Expressão do factor de transcrição NFκB em todos os grupos experimentais [32].

Legenda para todas as figuras deste estudo: Sham, grupo sujeito à simulação da operação, não tratado; Sham-S: grupo sujeito à simulação da operação mas tratado com sinvastatina; T/D: grupo sujeito a T/D, não tratado; T/D-S(1): grupo sujeito a T/D, tratado com sinvastatina (1 mg/kg); T/D-S(5): grupo sujeito a T/D, tratado com sinvastatina (5 mg/kg). As barras cinza mais claro referem-se ao testículo contralateral e as barras cinzento mais escuro ao testículo ipsilateral.

Também houve a confirmação dos resultados de estudos anteriores que o testículo contralateral é sujeito à influência da T/D. O decréscimo do fluxo sanguíneo e a consequente hipoxia contribuem para a lesão testicular contralateral após T/D [32].

A sinvastatina numa dose de 5 mas não de 1 mg/kg protegeu o tecido testicular contra os malefícios da T/D, curiosamente, esta dose mais baixa mostrou, em estudos anteriores, ser terapêutica contra a lesão de I/R no rim de rato. Isto significa que os testículos e os rins têm diferentes susceptibilidades e/ou sensibilidade à influência da I/R e da terapêutica com sinvastatina [32].

Concluindo, a sinvastatina protege o testículo da lesão resultante de T/D num modelo dependente da dose. O seu mecanismo de efeito benéfico poderá passar pela atenuação da activação do factor de transcrição NFκB e diminuindo o stress oxidativo induzido pela T/D [32].

Contudo, mais estudos são requisitados para, especialmente, focar a segurança da administração de uma dose elevada de sinvastatina, antes da aplicação clínica ser considerada [32].

## Trimetazidina

- **Classificação farmacoterapêutica:** Antianginoso [22]
- **Propriedades farmacodinâmicas:** Vasodilatador antianginoso [23].
- **Indicações:** É usada no tratamento da angina de peito e na isquemia dos tecidos neurosensoriais na doença de Ménière [23].
- **Reacções adversas:** Parkinsonismo [23].
- **Contra-indicações e precauções:** Desconhecidas [23].
- **Interacções:** Desconhecidas [23].

### Efeitos farmacológicos da trimetazidina na patogénese da torção testicular:

A trimetazidina (TMZ) é um composto metabólico bem conhecido por ter propriedades anti-isquémicas sem interferir nos parâmetros hemodinâmicos [31].

A sua acção mais conhecida é a inibição da via de beta-oxidação no metabolismo dos ácidos gordos, adicionalmente, a TMZ previne a excessiva libertação de radicais livres. Este fármaco tem agora sido usado para prevenir uma variedade de lesões resultantes do processo de I/R decorrido em vários modelos animais incluindo o coração, rim, pulmão, retina e coluna vertebral [31].

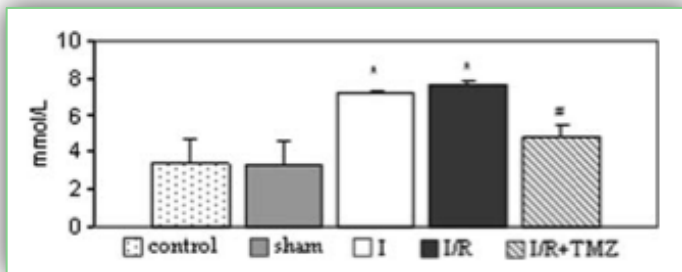
Apesar disto, o papel da TMZ no decurso da I/R testicular não tinha sido, até aqui, estudado detalhadamente. Então a equipa de cientistas Pekcetin *et al.*, 2007, dedicaram-se a investigar as propriedades da trimetazidina, agente antioxidante, na TT indutora de modificações bioquímicas e histopatológicas na I/R testicular experimental em ratos.

Estes investigadores tiveram como objectivo primordial revelar o efeito preventivo da TMZ relativamente às células germinais, depois de ocorrida a TT. Examinaram parâmetros associados ao stress oxidativo, peroxidação lipídica, actividade enzimática da GPX e, como já foi referido, o índice de apoptose das células germinais.

Foram divididos os animais em cinco grupos: um grupo de controlo para se obterem valores basais; um grupo sujeito a uma simulação da operação de torção, mas que de facto esta não aconteceu (tendo servido também como, em certa medida, como grupo de controlo); um grupo que foi sujeito a isquémia; outro grupo que foi sujeito a

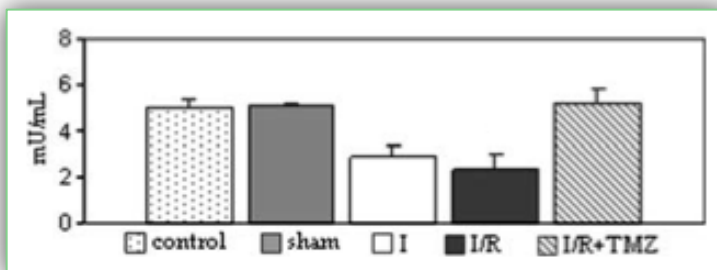
isquémia seguida e reperfusão; e um último grupo que foi sujeito a I/R mas tratado com TMZ (5 mg/kg *per os*, por dia, durante 7 dias antes da isquémia) [31].

O estudo confirmou o já conhecimento adquirido que a isquémica e a isquémia seguida de reperfusão testicular levam ao aumento dos níveis de MDA e do índice de apoptose das células germinais, pelo contrário, diminuem a actividade enzimática da enzima GPX, o que contribuí uma destoxificação ineficiente sobre as ROS. Tendo estes factos em conta, foi oportuno constatar que o tratamento com TMZ preveniu o aumento dos níveis de MDA e aumentou a actividade enzimática de GPX após a TT, resultando numa significativa diminuição da apoptose das células germinais nos testículos isquémicos (ver Figuras 13, 14 e 15) [21].



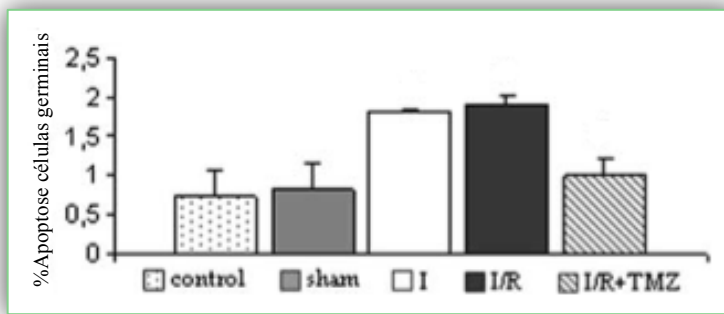
Sham = Grupo sujeito à simulação da operação de indução da TT.

Figura 13 - Efeito da isquémia/reperfusão e tratamento com TMZ nos níveis de MDA dos testículos dos ratos [31].



Sham = Grupo sujeito à simulação da operação de indução da TT.

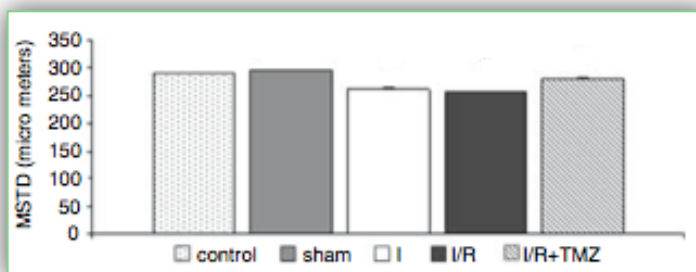
Figura 14 - Efeito da isquémia/reperfusão e tratamento com TMZ na actividade enzimática da GPX nos testículos dos ratos [31].



Sham = Grupo sujeito à simulação da operação de indução da TT.

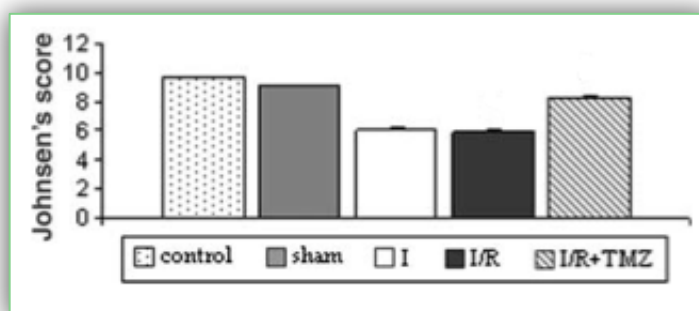
Figura 15 - Efeito da isquemia/reperfusão e tratamento com TMZ no índice de apoptose das células germinais dos testículos dos ratos [31] (adaptado).

Estes autores também comprovaram que ocorrem modificações morfológicas nos testículos ipsilaterais quando há a ocorrência de T/D testicular unilateral. Então foi oportuno verificar que a nível histopatológico, os valores médios do diâmetro dos túbulos seminíferos (MSTD) e a pontuação segundo o critério de Johnsen sofreram também um melhoramento nos ratos sujeitos a tratamento com TMZ quando comparados aos sujeitos a I/R não tratados (ver Figuras 16 e 17) [21].



Sham = Grupo sujeito à simulação da operação de indução da TT.

Figura 16 - Efeito da isquemia/reperfusão e tratamento com TMZ em MSTD dos testículos dos ratos [31]



Sham = Grupo sujeito à simulação da operação de indução da TT.

Figura 17 – Avaliação de Johnsen da histologia testicular dos ratos, para todos os grupos experimentais, incluindo os sujeitos a I/R e tratados também com TMZ [31].

Epilogando, apesar dos vários compostos antioxidantes usados para proteger os testículos contra a lesão de I/R, estes investigadores foram os primeiros a elucidar o papel da TMZ na TT. Trouxeram a primeira evidência dos que os efeitos protectores da TMZ na prevenção da lesão induzida por I/R testicular e revelaram que estes efeitos podem estar relacionados com o potencial antioxidante do fármaco.

A trimetazidina poderá ser, assim, uma nova aproximação na prevenção da lesão testicular decorrente da reperfusão após T/D testicular. Porém, são necessários mais estudos para avaliar o mecanismo pelo qual o fármaco detém as suas propriedades protectoras [31].

## Outros fármacos

### Curcumina

A curcumina é um pigmento amarelo bioactivo que faz parte do açafrão-da-Índia, mais concretamente, do pó de rizomas secos da planta *Curcuma longa* Linn., e é utilizado como um corante natural para alimentos [33].

Numerosas actividades farmacológicas foram associadas a este fármaco polifenólico, incluindo efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios. A curcumina é uma potente captadora de ROS como o anião superóxido, radicais hidroxilo e NO [34]

Uma das actividades terapêuticas é a redução da lesão de I/R em vários tecidos (coração, fígado, rins, cérebro, entre outros). Um dos estudos comprovou que este a

curcumina reduziu substancialmente a expressão de citocinas pró-inflamatórias no tecido cerebral, envolvidas na resposta pós-isquémica e na activação neutrófila [33] [34].

Até aqui, nenhum estudo tinha sido realizado para investigar os efeitos da curcumina na lesão de I/R testicular, assim, o grupo de investigadores Wei *et al.*, 2009, propuseram-se a investigar os mesmos. Mais precisamente, pretenderam avaliar o efeito da curcumina na espermatogénese num modelo animal de I/R testicular de rato.

Para cumprir os objetivos estabelecidos, constituíram três grupos experimentais: Grupo de controlo, grupo sujeito a simulação da operação de torção testicular, mas que, de facto, esta não se realizou, servindo como grupo base para obtenção de valores basais normais; Grupo T/D, grupo em que o testículo esquerdo sofreu uma torção de 720°, durante 1 hora, e depois procedeu-se à sua distorção para a posição testicular normal, sendo que o testículo permaneceu viável para a restauração do fluxo sanguíneo; e um Grupo de tratamento, grupo que sofreu a mesma operação cirúrgica que o grupo T/D, mas que foi tratado com curcumina (200 mg/kg I.V., no momento da distorção). A dose de 200 mg/kg foi a escolhida devido ao sucesso de estudos com a mesma dose na I/R no cérebro, fígado, coração e rins [34].

No seu estudo, foi verificado que a T/D testicular unilateral provocou um aumento no nível de MDA no testículo ipsilateral no grupo T/D, indicando o aumento do stress oxidativo, causando, assim, uma diminuição significativa da espermatogénese. Afortunadamente, o tratamento com curcumina demonstrou reduzir significativamente os níveis de MDA (ver Figura 18) e aumentar a espermatogénese no testículo ipsilateral, comparativamente ao grupo T/D. Assim sendo, a curcumina é uma sugestão razoável como uma nova aproximação terapêutica da TT, como adicional à distorção convencional [34].

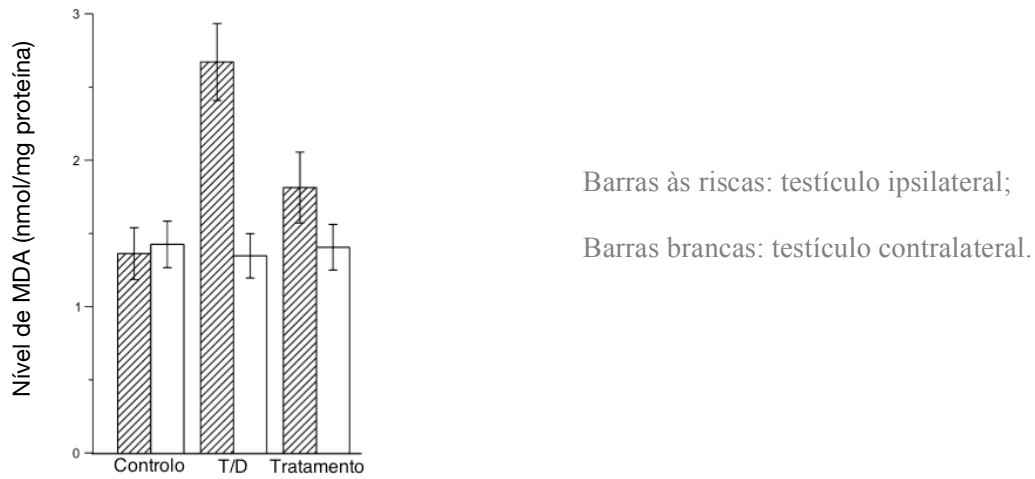


Figura 18 – Níveis de MDA nos testículos de rato, em todos os grupos experimentais [34] (adaptado).

Adicionalmente, a actividade da xantina oxidase também aumentou no testículo ipsilateral no grupo T/D, este aumento demonstra a geração em grande escala de ROS no tecido testicular. A administração de curcumina reduziu a actividade da xantina oxidase (ver Figura 19), sendo que a explicação possível do efeito inibitório deste fármaco na produção de ROS seja a inibição da xantina oxidase. Com este resultado, acredita-se que a curcumina poderá ter um efeito protector adicional ao diminuir a geração de ROS [34].

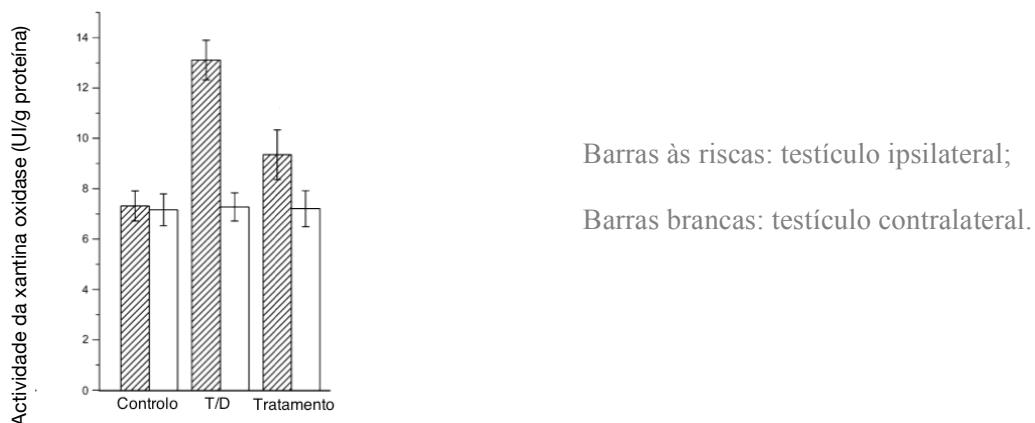


Figura 19 – Actividade da xantina oxidase nos testículos de rato, em todos os grupos experimentais [34](adaptado).

Como já foi anteriormente referido, a TT é um processo isquémico para o testículo, em que o sangue não pode fluir no testículo durante a torção. Se a curcumina fosse injectada na veia caudal do rato no momento da torção (antes das distorção), o fármaco não fluiria para o testículo para efectuar os seus efeitos benéficos. A distorção testicular é um processo de reperfusão de sangue, consequentemente, injectando a

curcumina no momento da distorção, o fármaco irá produzir os seus efeitos terapêuticos [34].

A nível da avaliação dos parâmetros MSTD, número de camadas de células germinais e avaliação da biopsia testicular, a T/D diminuiu-a, comparativamente ao grupo de controlo. Contudo, o grupo de tratamento demonstrou uma melhoria neste parâmetros comparativamente do grupo T/D (ver Figuras 20, 21 e 22) [34].

Nenhum deste parâmetros tiveram diferenças significativas, nos três grupos experimentais, no testículo contralateral [34].

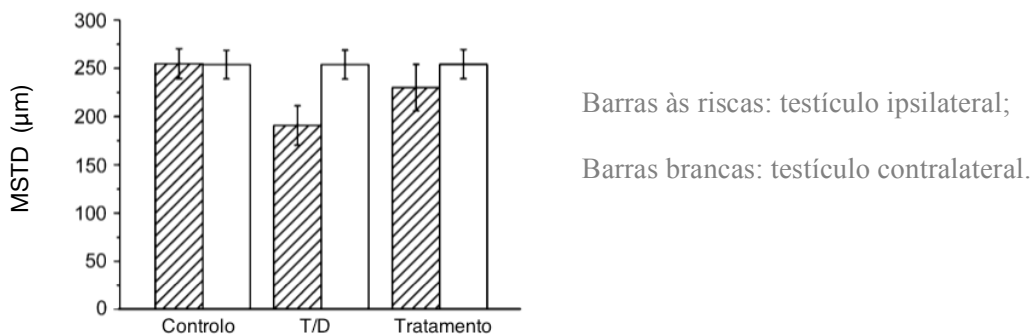


Figura 20 – Parâmetro MSTD nos testículos de rato, em todos os grupos experimentais [34](adaptado).

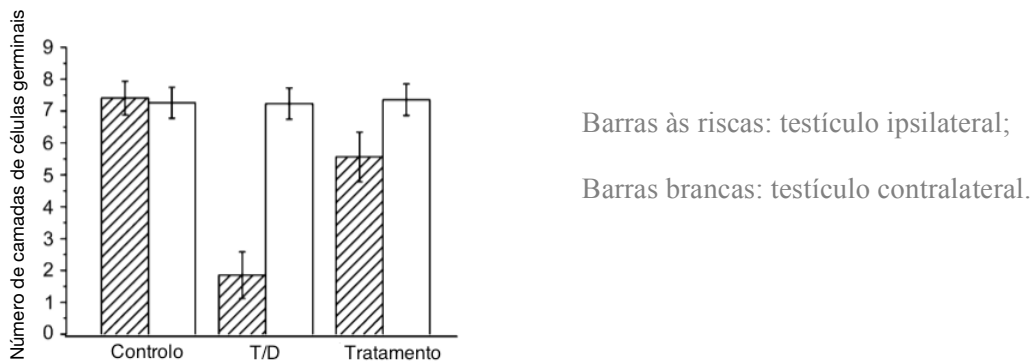
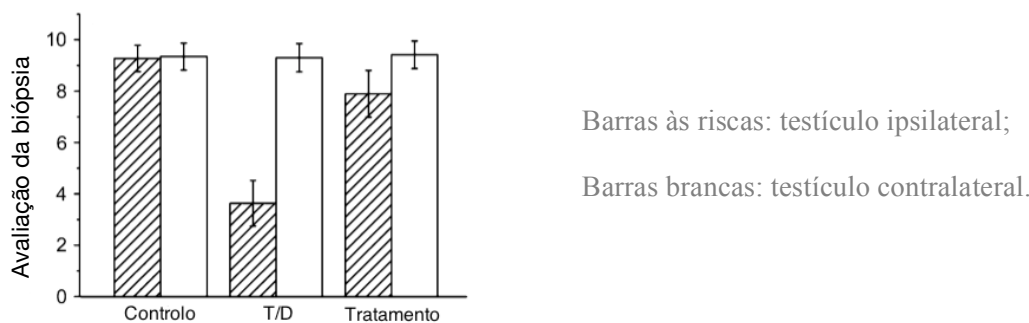


Figura 21 - Números de camadas de células germinais nos testículos de ratos, em todos os grupos experimentais [34](adaptado).



**Figura 22 – Avaliação histológica da biópsia testicular, em todos os grupos experimentais [34](adaptado).**

Nesta investigação, apesar da TT unilateral ter resultado em alterações significativas no testículo ipsilateral, as mesmas não se observaram no testículo contralateral [34].

Concluindo, foi demonstrado o efeito protector da curcumina na lesão de I/R testicular, pela primeira vez, logo a curcumina poderá ser uma nova aproximação da terapêutica a utilizar na patogénese da T/D testicular, uma vez que leva à protecção da espermatogénese (embora esta não tenha atingido os valores admitidos como “normais”). Contudo, não se investigou o efeito da curcumina a diferentes doses e tempos de administração. Devido a estes factores poderem afectar o efeito da curcumina, mais estudos são necessários para que este fármaco efectue um efeito terapêutico óptimo [34].

## Ginseng

O composto ginseng é usado desde centenas de anos, na Ásia, devido ao seu amplo espectro de efeitos medicinais, como sendo um agente anti-idade, potenciador do sistema imunitário, anti-stress e com actividade anticancerígena [35].

Foi demonstrado que o ginseng tem propriedades protectoras pela sua acção de destoxificação dos radicais livres, em que foi provado que este composto tem a capacidade de captar os radicais hidroxilo e superóxido [35].

A sua administração, em ratos, mostrou prevenir a lesão de I/R do miocárdio [35].

Também foi reportado o seu envolvimento benéfico contra o stress oxidativo hepático e do músculo esquelético induzido pelo exercício violento, sendo mesmo que

foi mostrado que o ginseng tem a capacidade de proteger as proteínas do tecido cerebral do referido stress oxidativo, *in vitro* [35]. Didática.

Apesar do ginseng ter sido estudado para estes múltiplos propósitos, ainda não tinha sido estudado o seu efeito na lesão de I/R testicular, pelo que o grupo de investigadores Kim *et al.*, 2010, propuseram-se a investigar se o ginseng poderia actuar contra a disfunção e stress oxidativo induzidos pela T/D, nos testículos de ratos.

Foram estabelecidos quatro grupos de animais para experimentação: grupo C, grupo de controlo; grupo K, grupo que não foi sujeito a T/D mas que foi tratado com ginseng (100 mg/kg *per os*, por dia, durante 4 semanas depois da cirurgia); grupo T, grupo sujeito a 2 horas de torção seguida de distorção testicular; grupo T + K, grupo sujeito a 2 horas de torção seguida de distorção testicular e tratados com ginseng (100 mg/kg *per os*, por dia, durante 4 semanas depois da cirurgia) [35].

Em termos de avaliação histológica, pode-se verificar que a T/D causa modificações degenerativas no tecido testicular, enquanto que o grupo de controlo, grupo não sujeito a T/D tratado com ginseng aparentaram epitélio germinais testiculares normais e no caso do grupo sujeito a T/D tratado com ginseng, os epitélios eram quase normais [35].

Os níveis de superóxido foram significativamente superiores no grupo sujeito a T/D, não tratado, pelo contrário e os valores são baixos nos grupos não sujeitos a T/D, sendo que, comparativamente ao grupo sujeito a T/D não tratado, os níveis de superóxido decresceram significativamente no grupo sujeito a T/D com tratamento com ginseng (ver Figura 23) [35].

No presente estudo, há uma forte correlação entre os marcadores de stress oxidativo e a proteína C reactiva, o aumento dos marcadores de stress oxidativo indica um processo inflamatório. Como já é sabido, a I/R testicular leva ao aumento do stress oxidativo, mas o tratamento com ginseng teve um efeito protector contra a oxidação lipídica e processo inflamatório (ver Figura 24) [35].

Epilogando, o ginseng é um potente agente antioxidante que protege contra o dano oxidativo no tecido testicular, sendo que a sua administração previne a disfunção testicular por via da diminuição da produção de NADPH oxidase (principal fonte do radical superóxido).

Baseados nestes resultados, o ginseng poderá ter um importante papel na protecção da lesão oxidativa de I/R nos testículos de rato. Contudo são necessário mais

estudos para determinar a função exacta que o composto desempenha na protecção dos testículos contra a referida lesão testicular [35].

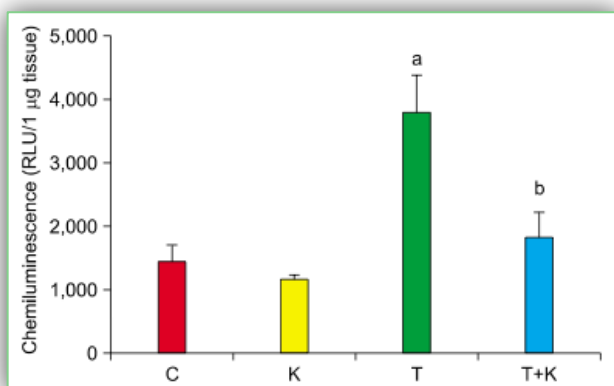


Figura 23 – Níveis de NADPH em todos os grupos experimentais [35].

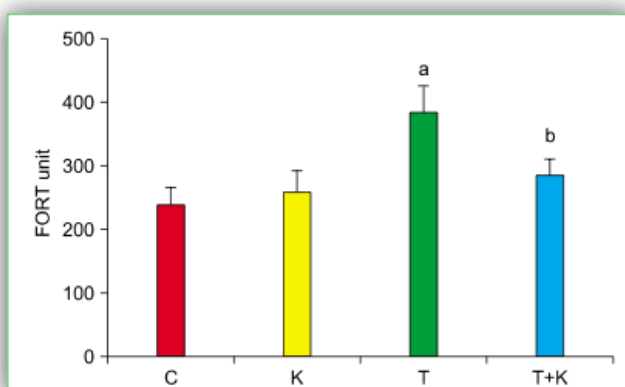


Figura 24 – Níveis de marcadores do stress oxidativo, pelo teste de radicais livres de oxigénio (FOR), em todos os grupos experimentais [35].

## Ternatina

A ternatina (TTN) é um bioflavonoide isolado da planta medicinal brasileira *Egletes viscosa* L. Em várias partes do Brasil, o chá é preparado das suas flores secas e é um tratamento popular para problemas digestivos e intestinais [36].

Estudos reportaram as suas propriedades anti-inflamatórias, antitrombóticas e antihepatotóxicas em modelos animais de inflamação e hepatotoxicidade. A TTN também mostrou possuir propriedades contra úlceras e anti-diarreicas [36].

Os flavonoides têm conhecidas propriedades benéficas contra os radicais livres que induzem peroxidação lipídica nas células. Estas propriedades são devidas à capacidade dos flavonoides de captar ROS, radicais hidroxilo e peroxil e por serem um agente quelante dos íons ferro [37].

A TTN, como já foi referido, é conhecida por ter efeitos protectores contra danos hepáticos oxidativos induzidos pela aflatoxina B1, um metabolito do fungo *Aspergillus flavus* e um potente hepatotóxico [37].

Devido a estas qualidades antioxidantes, os investigadores Guimarães et al., 2011, quiseram investigar o possível papel protector do bioflavonoide TTN, quando administrado antes da indução da lesão de I/R nos testículos de ratos.

Para isso foram constituídos três grupos de animais: Grupo 1, tratado com uma solução salina (2 mL, I.P.) 21, 9 e 1 hora antes da isquémia; Grupo 2, tratado composto que serviu como veículo (3%, I.P.) – o dimetilsulfoxido (DMSO) - 21, 9 e 1 hora antes da isquémia; Grupo 3, tratado com TTN (12 mg/kg, I.P.) 21, 9 e 1 hora antes da isquémia [37].

Verificou-se uma diminuição nas concentrações de MDA nos ratos tratados com ternatina quando comparadas com os ratos tratados com o meio veículo ou a solução salina (ver Figura 25) [37].

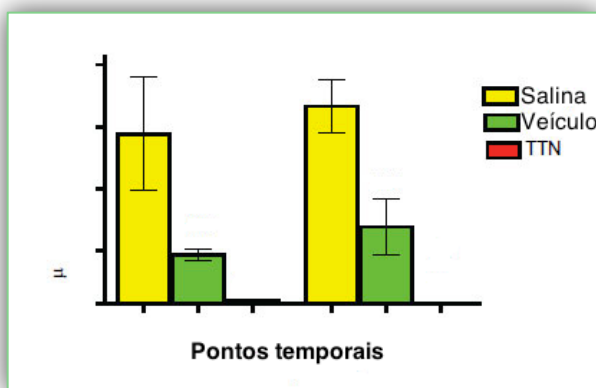


Figura 25 - Níveis de MDA em todos os grupos experimentais [37].

Houve um aumento na concentração de GSH no grupo tratado com TTN, o que sugere que este flavonoide poderá atenuar o stress oxidativo induzido pela I/R imediatamente depois da distorção. Esta protecção é de curta duração e o seu efeito não está presente depois de 3 horas decorridas (ver Figura 26) [37].

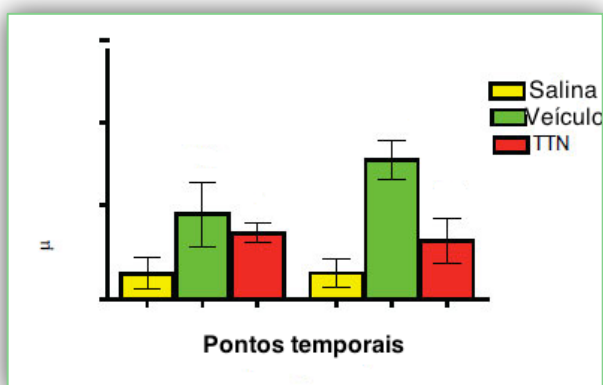


Figura 26 – Níveis de GSH em todos os grupos experimentais [37].

O uso de TTN não alterou as concentrações de enzimas antioxidantes totais, o que indica que a TTN não exerce um efeito sistêmico antioxidante nos ratos submetidos a T/D no cordão espermático (ver Figura 27) [37].

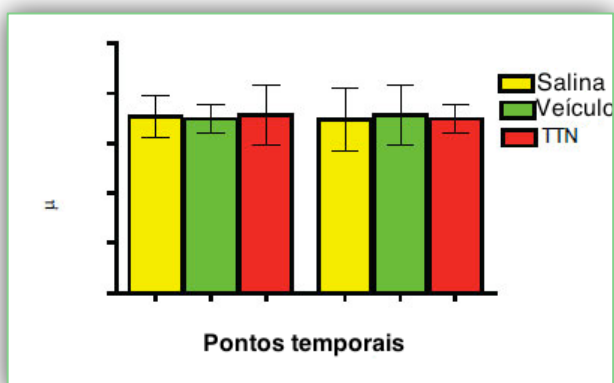


Figura 27 – Níveis de enzimas antioxidantes totais em todos os grupos experimentais [37].

Concluindo, estes dados permitem averiguar que a TTN exerce efeitos antiperoxidativos e antioxidantes nos testículos torcidos. Estes efeitos foram potenciados pelo efeito antioxidante do veículo, o DMSO [37].

Os resultados deste presente estudo vieram mostrar que a TTN pode exercer um efeito protector contra a lesão de peroxidação lipídica no tecido testicular e contra o stress oxidativo causado pela I/R nos ratos submetidos a T/D do cordão espermático [37].

# Capítulo III

## Conclusão

## C. Conclusão

No fim deste trabalho pode-se concluir que a torção testicular pode contribuir para o comprometimento da fertilidade masculina, sendo uma emergência cirúrgica que tem dois picos de incidência ao longo da vida do homem, um deles relacionado com o período após o nascimento e o outro com o período peripuberal.

Foi referido com algum ênfase que o factor crítico no sucesso da recuperação da função testicular, associada à torção testicular e conseqüente isquémia, e preservação da fertilidade do homem assenta na rapidez de um correcto diagnóstico e do respectivo tratamento.

Modelos experimentais de animais foram concebidos para tentar reproduzir as alterações patológicas características da torção testicular, sendo o mecanismo utilizado para mimetizar a referida torção testicular, a torção do cordão espermático. Sendo que o outro mecanismo disponível seria a oclusão da artéria ou cordão espermático.

Foi demonstrado que a torção testicular tem uma grande componente oxidativa, havendo inicialmente oclusão do fluxo sanguíneo, a isquémia e a conseqüente produção de ROS, responsáveis por inúmeros distúrbios bioquímicos e morfológicos, entre eles o aumento da apoptose das células germinais e a necrose. E o comprometimento da fertilidade masculina assenta exactamente deste facto, os primeiros alvos da lesão testicular por I/R são as células germinativas que vão dar origem ao espermatozóides.

Para contrariar o efeito exercido pelo stress oxidativo, a administração de agentes antioxidantes exerce, de facto, a prevenção ou diminuição das lesões testiculares associadas à torção, facto que foi demonstrado com os princípios activos analisados nesta dissertação. Sendo curioso constatar que todos estas substâncias antioxidantes são, na sua maioria, diferentes entre si e nos seus alvos farmacológicos.

Também é importante referir que não importa só a escolha do princípio activo administrado como também a sua dose e frequência de administração, sendo que muitas vezes uma dose menor é mais eficaz que uma superior como, por exemplo, no caso do sildenafil.

Pode-se concluir que a investigação em novas terapêuticas mais eficazes contra a lesão de isquémia/reperfusão induzida pela torção/distorção testicular tem tido cada vez mais destaque. No entanto, mais estudos são necessários para uma melhor

compreensão dos mecanismos celulares responsáveis pelas propriedades benéficas dos princípios activos em análise.

Porém, foi aqui demonstrado a eficácia inequívoca de certas substâncias, avistando-se um futuro promissor no que respeita à terapêutica preventiva na torção testicular associada a fenómenos de isquémia/reperfusão.

## Bibliografia

---

- [1] World Health Organization, *WHO Manual for the Standardised Investigation and Diagnosis of the Infertile Couple*. Cambridge: Cambridge University Press, 2000.
- [2] Dohle et al. GR, *Guidelines on Male Infertility*.: European Association of Urology, 2010.
- [3] Noske HD et al., "Historical milestones regarding torsion of the scrotal organs," *The Journal of Urology*, vol. 159, pp. 13-16, 1998.
- [4] Ellati RT et al., "Twist and shout: A clinical and experimental review of testicular torsion," *Korean Journal of Urology*, vol. 50, pp. 1159-1167, 2009.
- [5] Ringdahl E and Teague L, "Testicular Torsion," *American Family Physician*, vol. 74, pp. 1739-1743, 2006.
- [6] Kessler CS et al., "Non-traumatic urologic emergencies in men: a clinical review," *Western Journal of Emergency Medicine*, vol. 10, pp. 281-287, 2009.
- [7] Seeley R, Stephens T, and Tate. P, *Anatomia & Fisiologia*, 6th ed., Lusocoiência, Ed. Loures: McGraw-Hill, 2005.
- [8] Moore CP, Marr JK, and Huang CJ, "Cryptorchid Testicular Torsion. ," *Pediatric Emergency Care*, vol. 27, pp. 121-123, 2011.
- [9] Seng YJ and Moissinac K, "Trauma induced testicular torsion: a reminder for the unwary.," *Journal of Accident & Emergency Medicine*, vol. 17, pp. 381-382, 2000.
- [10] Kehinde et al. EO, "Allopurinol provides long-term protection for experimentally induced testicular torsion in a rabbit model," *British Journal of Urology International*, vol. 96, pp. 175-180, 2005.
- [11] Callewart PR and Kerrebroeck PV, "New insights into perinatal testicular torsion," *European Journal of Pediatrics*, vol. 169, pp. 705-712, 2010.
- [12] Turner TT and Lysiak JJ, "Oxidative Stress: A common factor in testicular dysfunction.," *Journal of Andrology*, vol. 29, pp. 488-498, 2008.
- [13] Blank ML et al., "Reperfusion injury following testicular torsion and detorsion in prepubertal rats," *Urological Research*, vol. 21, pp. 389-393, 1993.
- [14] Filho DW et al., "Spermatic cord torsion, reactive oxygen and nitrogen species and ischemia-reperfusion injury," *Molecular Aspects of Medicine*, vol. 25, pp. 199-210, 2004.
- [15] Kyriazis ID et al., "Extravaginal testicular torsion: a clinical entity with unspecified surgical anatomy," *International Braz J Urol.* , vol. 34, pp. 617-626, 2008.

- [16] Matthews PN, "Spermatic cord torsion," *Archives of Disease in Childhood*, vol. 61, pp. 426-427, 1986.
- [17] Koester MC, "Initial evaluation and management of acute scrotal pain. ," *Journal of Athletic Training*, vol. 35, pp. 76-79, 2000.
- [18] Bhatt S and Dogra VS, "Role of US in testicular and srotal trauma. ," *RadioGraphics*, vol. 28, pp. 1617-1629, 2008.
- [19] Rampaul MS and Hosking SW, "Testicular torsion: most delay occurs outside hospital. ," *Ann R Coll Surg Engl*, vol. 83, pp. 672-674, 1999.
- [20] Dokmeci et al. D, "Protective effects of ibuprofen on testicular torsion/detorsion-induced ischemia/reperfusion injury in rats.," *Archives of Toxicology*, vol. 81, pp. 655-663, 2007.
- [21] Pekcetin C et al., "The protective effects of trimetazidine on testicular ischemia and reperfusion injury in rats," *Pediatric Surgery International*, vol. 23, pp. 1113-1118, 2007.
- [22] INFARMED. (2011) Folheto informativo: informação para o consumidor. [Online]. <http://www.infarmed.pt/infomed/>
- [23] Martindale, *The Complete Drug Reference*, 36th ed.: Pharmaceutical Press, 2009, vol. 2.
- [24] Sukhotnik I et al., "Effect of allopurinol on germ cell apoptosis following testicular ischemia–reperfusion injury in a rat.," *Pediatric Surgery International*, vol. 24, pp. 61-66, 2008.
- [25] Nezami et al. BG, "Protective effects of immunophilin ligands on testicular torsion/detorsion damage in rats.," *International Urology and Nephrology*, vol. 41, pp. 93-99, 2009.
- [26] Üstün H et al., "Effect of phosphodiesterase 5 inhibitors on apoptosis and nitric oxide synthases in testis torsion: an experimental study," *Pediatric Surgery International* , vol. 24, pp. 205-211, 2008.
- [27] Beheshtian A et al., "Protective effects of sildenafil administration on testicular torsion/detorsion damage in rats.," *World J Urol*, vol. 26, pp. 197-202, 2008.
- [28] Erol B et al., "Vardenafil Reduces Testicular Damage Following Ischemia/Reperfusion Injury in Rats.," *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences* , vol. 25, pp. 374-380, 2009.
- [29] Yildiz et al. H, "Protective effect of sildenafil citrate on contralateral testis injury after unilateral testicular torsion/detorsion," *Clinics*, vol. 66(1), pp. 137-142, 2011.
- [30] Ozturk H et al., "Montelukast protects against testes ischemia/reperfusion injury in rats.," *Canadian Urological Association Journal*, vol. 4, pp. 174-179, 2010.

- [31] Salmasi AH et al., "Effect of morphine on ischemia-reperfusion injury: Experimental study in testicular torsion rat model.," *Urology*, vol. 66, pp. 1338-1342, 2005.
- [32] Yang S et al., "Simvastatin attenuates testicular injury induced by torsion-detorsion. ," *The Journal of Urology*, vol. 184, pp. 750-756, 2010.
- [33] Sahebkar A, "Molecular mechanisms for curcumin benefits against ischemic injury. ," *Fertility and Sterility*, vol. 94, pp. e75-e76, 2010.
- [34] Wei S et al., "Curcumin attenuates ischemia–reperfusion injury in rat testis. ," *Fertility and Sterility*, vol. 91, pp. 271-277, 2009.
- [35] Kim Y et al., "Effect of korean red ginseng on testicular tissue injury after torsion and detorsion.," *Korean Journal of Urology*, vol. 51, pp. 794-799, 2010.
- [36] Rao VSN et al., "Anti-inflammatory effect of ternatin, a flavonoid from *Egletes viscosa* Less; in the rat model of colitis induced by acetic acid," *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, vol. 2, pp. 48-51, 2003.
- [37] Guimarães SB et al., "Ternatin pretreatment attenuates testicular injury induced by torsion/detorsion in Wistar rats. ," *Acta Cirúrgica Brasileira*, vol. 26, pp. 325-328, 2011.
- [38] Harrison, *Principios de Medicina Interna* , 11th ed.: Interamericana.McGraw-Hill, 1989, vol. I.
- [39] Yildiz et al. H, "Effects of sildenafil citrate on torsion/detorsion-induced changes in red blood cell and plasma lipid peroxidation, antioxidants, and blood hematology of male rats," *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 2011.
- [40] (2004-2011) The Merck manual of diagnosis and therapy. [Online].  
<http://www.merckmanuals.com/professional/index.html>

## Anexo 1 - Perspectiva cronológica dos estudos experimentais abordados

---

Ano	Autores	Fármacos estudados
2005	Salmasi <i>et al.</i>	Morfina
2005	Kehinde <i>et al.</i>	Alopurinol
2007	Dokmeci <i>et al.</i>	Ibuprofeno
2007	Pekcetin <i>et al.</i>	Trimetazidina
2008	Beheshtian <i>et al.</i>	Sildenafil
2008	Üstün <i>et al.</i>	Sildenafil e vardenafil
2008	Sukhotnik <i>et al.</i>	Alopurinol
2009	Erol <i>et al.</i>	Vardenafil
2009	Nezami <i>et al.</i>	Ciclosporina e tacrolímus
2009	Wei <i>et al.</i>	Curcumina
2010	Ozturk <i>et al.</i>	Montelucaste
2010	Kim <i>et al.</i>	Ginseng
2010	Yang <i>et al.</i>	Sinvastatina
2011	Guimarães <i>et al.</i>	Ternatina
2011	Yildiz <i>et al.</i>	Sildenafil

## Anexo 2 - Avaliação da biopsia testicular segundo o método de Johnsen

Pontuação	Histologia	Avaliação da espermatogênese
10	Diversos espermatozóides organizados à volta do lúmen	Espermatogênese normal
9	Vários espermatozóides mas o epitélio germinal aparenta-se desorganizado	Espermatogênese reduzida (hipoespermatogênese)
8	Só estão alguns espermatozóides presentes (<5-10)/túbulo	Espermatogênese reduzida (hipoespermatogênese)
7	Ausência de espermatozóides mas estão presentes muitas espermátides imaturas	Ausência de espermatogênese (Azoospermia)
6	Ausência de espermatozóides mas estão presentes algumas espermátides imaturas (<5-10)/túbulo	Ausência de espermatogênese (Azoospermia)
5	Ausência de espermatozóides e de espermátides, mas estão presentes vários espermatócitos primários	Ausência de espermatogênese (Azoospermia)
4	Só estão presentes alguns espermatócitos primários (<5-10)/túbulo	Ausência de espermatogênese (Azoospermia)
3	Só estão presentes espermatogónias	Ausência de espermatogênese (Azoospermia)
2	Só estão presentes células de Sertoli	Ausência de espermatogênese (Azoospermia)
1	Células de Sertoli degeneradas, ausência de células na secção tubular	Ausência de espermatogênese (Azoospermia)

Método de avaliação qualitativa da espermatogênese segundo Johnsen [10] (adaptado).