

## AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA CICLOFOSFAMIDA NOS TESTÍCULOS ESCROTAL E RETIDO EM RATOS JOVENS SUBMETIDOS À CRIPTORQUIA UNILATERAL<sup>1</sup>

Elaine Alves<sup>2</sup>  
Paulo Tubino<sup>3</sup>  
Saul Goldenberg<sup>4</sup>

---

ALVES, E.; TUBINO, P.; GOLDENBERG, S. - Avaliação dos efeitos da ciclofosfamida nos testículos escrotal e retido em ratos jovens submetidos à criptorquia unilateral. *Acta Cir. Bras.*, 12(1):27-34, 1997.

**RESUMO:** Foi produzida criptorquia unilateral experimental em ratos pré-puberais. Tanto no testículo retido quanto no contralateral escrotal, foram encontradas alterações similares às observadas em seres humanos. Essas alterações correspondem a um desenvolvimento testicular prejudicado, com degeneração da gônada. A administração crônica da droga imunossupressora ciclofosfamida, em doses baixas, evitou a deterioração do testículo tóxico, a despeito de sua reconhecida ação deletéria para a espermatogênese. Tendo em vista que as lesões observadas atingem também o testículo escrotal e podem ser prevenidas pela ciclofosfamida, é discutida a possibilidade de que sejam causadas por reação auto-imune.

**DESCRITORES:** Testículos. Criptorquismo. Ciclofosfamida.

---

### INTRODUÇÃO

A etiologia da criptorquia é complexa, multifatorial e ainda não completamente esclarecida. Com frequência a criptorquia se associa à infertilidade, a despeito de um testículo tóxico contralateral aparentemente normal<sup>12</sup>.

Desde os trabalhos de SHIRAI e col.(1966)<sup>55</sup>, que tem sido observado que a espermatogênese é prejudicada no testículo tóxico, nos casos de retenção testicular unilateral.

Por outro lado, a ciclofosfamida é a droga mais usada em quimioterapia anti-neoplásica<sup>8</sup>, especialmente em pediatria, pelo seu amplo espectro de atividade clínica, que inclui as leucemias agudas e diversos tumores sólidos da criança.

ROBISON (1993)<sup>47</sup>, com base nos dados de incidência do câncer na faixa etária pediátrica e das taxas atuais de sobrevivência, considera que no início do próximo século, um de cada 900 indivíduos entre 16 e 44 anos de idade será um sobrevivente do câncer infantil. Pode-se afirmar, com segurança, que a maioria desses pacientes terá recebido ciclofosfamida

durante seu tratamento. Considerando-se que a incidência de criptorquia varia de 0,8% a 1% em meninos com um ano de idade<sup>54</sup>, pode-se inferir que haverá ocasiões em que um paciente criptorquídico terá que receber ciclofosfamida, droga com reconhecida ação deletéria para a espermatogênese<sup>3,15,16,34,44,52</sup>.

### MÉTODO

Foram utilizados 48 ratos machos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), com idade variando entre oito dias e 60 dias de vida e pesando entre 20 g e 40 g no período da administração da ciclofosfamida, do 14.<sup>o</sup> dia ao 28.<sup>o</sup> dia de vida. Os animais foram mantidos em gaiolas de plástico, forradas com serragem, recebendo ração comercial\* e água *ad libitum*. Até o desmame, as mães permaneceram nas gaiolas junto com suas ninhadas.

Os animais foram distribuídos, aleatoriamente, em quatro grupos de 12 ratos: GRUPO 1 - Ratos com

\* Labina (Purina); ração para camundongos, ratos e hamsters.

- 
1. Resumo da Tese de Doutorado aprovada no Curso de Pós-Graduação em Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) - Escola Paulista de Medicina (EPM).
  2. Professora Adjunta de Cirurgia Pediátrica da Universidade de Brasília (UnB). Doutora em Medicina pela UNIFESP-EPM.
  3. Professor Titular de Cirurgia Pediátrica da UnB. Co-Orientador da Tese.
  4. Professor Titular do Departamento de Cirurgia da UNIFESP-EPM. Orientador da Tese.

criptorquia que receberam ciclofosfamida; GRUPO 2 - Ratos sem criptorquia que receberam ciclofosfamida; GRUPO 3 - Ratos com criptorquia que não receberam ciclofosfamida; GRUPO 4 - Ratos sem criptorquia que não receberam ciclofosfamida (grupo controle). Cada grupo foi dividido em dois subgrupos de seis animais cada um, de acordo com a época escolhida para o sacrifício: 30 ou 60 dias.

Com nove dias de vida, todos os animais foram submetidos a procedimento cirúrgico para o fechamento do ânulo inguinal superficial esquerdo, impedindo a descida do testículo ipsilateral. Os animais dos grupos 2 e 4 foram submetidos, com a mesma idade, a procedimento semelhante, mas sem o fechamento do ânulo superficial do canal inguinal: grupos de operação simulada.

A partir do 14.<sup>o</sup> dia de vida, os ratos dos grupos 1 e 2 receberam injeções diárias de ciclofosfamida, na dose de 25 mg/m<sup>2</sup>/dia, por via intraperitoneal, durante 14 dias consecutivos. Nos grupos 3 e 4 foi administrado apenas soro fisiológico a 0,9%, nas mesmas condições e em volumes equivalentes.

Os animais foram sacrificados por inalação de éter em câmara fechada. Os testículos foram retirados e fixados em líquido de BOUIN e posteriormente processados pelos métodos usuais de histopatologia e incluídos em parafina. Foram obtidos cortes com cinco micra de espessura, corados pelos métodos da hematoxilina-eosina e do ácido periódico de SCHIFF (P.A.S.) e analisados em microscópio óptico.

A maturidade do epitélio germinativo foi determinada por meio do escore de JOHNSEN para biópsia testicular<sup>25</sup>, modificado por SALMAN e col. (1988)<sup>51</sup>, usando-se uma objetiva de 25 x. Em cada lâmina foram avaliados 30 túbulos seminíferos, que receberam notas de um a 10. O escore testicular médio foi calculado pela média aritmética dos escores obtidos. O diâmetro médio dos túbulos seminíferos foi determinado por meio da identificação dos 10 túbulos mais circulares em cada secção de biópsia testicular e da medição dos diâmetros por meio de uma ocular micrométrica, usando-se uma objetiva de 10 x. Para cada testículo foi obtido o diâmetro tubular médio, em micra.

Para a análise estatística dos resultados foram utilizados testes não paramétricos<sup>53</sup>.

Teste de WILCOXON, para comparar, em cada rato, os valores observados nos testículos direito e esquerdo e teste de MANN-WHITNEY, para comparar os resultados obtidos nos ratos sacrificados aos 30 dias com os dos ratos sacrificados aos 60 dias do experimento. Este mesmo teste foi aplicado para comparar, dois a dois, os quatro grupos estudados. O confronto dos grupos foi feito em relação aos valores dos lados direito, esquerdo e às diferenças percentuais ( $\Delta\%$ ), calculadas a partir dos dois lados. Em todos os testes fixou-se em 0,05 ou 5% ( $p \leq 0,05$ ) o nível para rejeição da hipótese de nulidade.

## RESULTADOS

À macroscopia, todos os ratos submetidos à criptorquia unilateral (grupos 1 e 3) apresentavam o testículo esquerdo retido, sendo possível a identificação dos pontos de fechamento do ânulo inguinal superficial. Nos animais dos grupos 2 e 4, ambos os testículos estavam tópicos.

Aos 60 dias do experimento, todos os testículos apresentavam tamanho nitidamente menor do que o dos testículos descidos. Essa diferença não foi observada aos 30 dias.

À microscopia, nos animais sacrificados aos 30 dias, o escore testicular médio variou entre 3 e 7, evidenciando as etapas da espermatogênese que vão desde o aparecimento das espermatogônias até a formação de espermatócitos e de espermátides ainda não diferenciadas (Fig. 1A e B). A mesma variação foi encontrada nos quatro grupos estudados (Fig. 2).

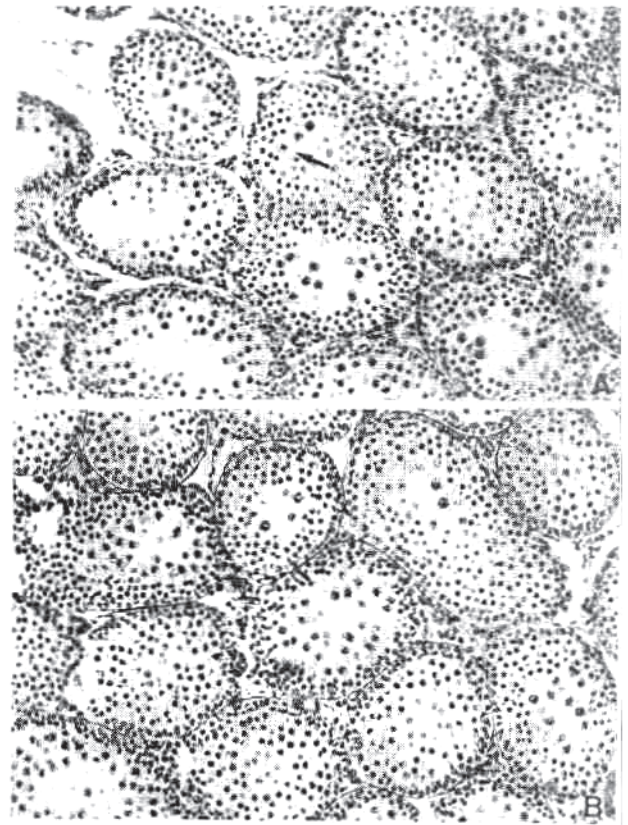


Fig. 1A - Testículo direito do rato nº 8, grupo 4, aos 30 dias de vida. Presença de espermatócitos e maturação até espermatócitos primários. A seta no centro indica célula em mitose reducional. H.E. 250X.

Fig. 1B - Testículo esquerdo do mesmo rato. Aspecto histológico semelhante ao anterior. H.E. 250X.

Aos 60 dias, os ratos do grupo 4 apresentaram o escore testicular entre 9 e 10 (média: 9,77 para o testículo direito e 9,73 para o esquerdo), caracterizando a presença de espermatozoides na luz tubular (Fig. 3A e B).

Escore testicular médio aos 30 dias de vida							
Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3		Grupo 4	
Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo
5,45	5,16	5,07	4,97	4,98	4,89	5,14	4,92

Obs.: Não houve diferença estatisticamente signifiante entre os quatro grupos estudados.

Fig. 2 - Escore testicular médio, nos quatro grupos, aos 30 dias de vida.

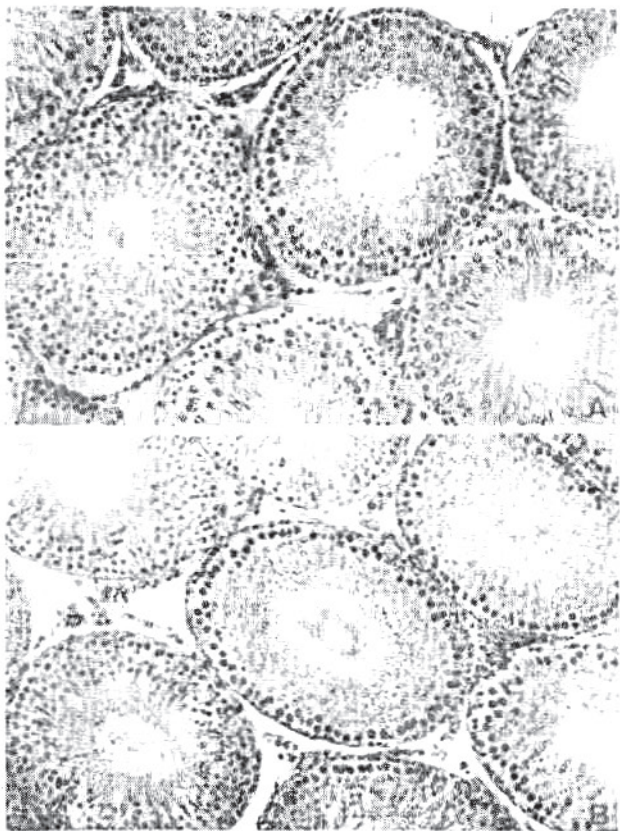


Fig. 3A - Testículo direito do rato nº 22, grupo 4, aos 60 dias de vida. Maturação completa com espermatozoides na luz tubular. H. E. 250X.

Fig. 3B - Testículo esquerdo do mesmo rato. Aspecto histológico semelhante ao anterior. H. E. 250X.

No grupo 1, no testículo direito (tópico), os escores foram similares aos do grupo controle (média: 9,88). No entanto, no testículo esquerdo (retido), foram achados valores entre 3 e 7 (média: 4,53) (Fig. 4A e B).

No grupo 2, em ambos os testículos (tópicos), o escore variou entre 9 e 10 (média: 9,93 para o direito e 9,89 para o esquerdo) (Fig. 5A e B).

No grupo 3, os resultados obtidos no testículo direito (tópico) evidenciaram escores entre 4 e 10 (média: 7,15). No testículo esquerdo (retido), esses valores variaram entre 4 e 5 (média: 4,72) (Figs. 6A e B e 7).

O diâmetro tubular médio foi menor no grupo 3, inclusive em relação ao testículo tópico. Esse achado, embora estivesse presente já aos 30 dias, foi mais evidente aos 60 dias do experimento (Fig. 8).

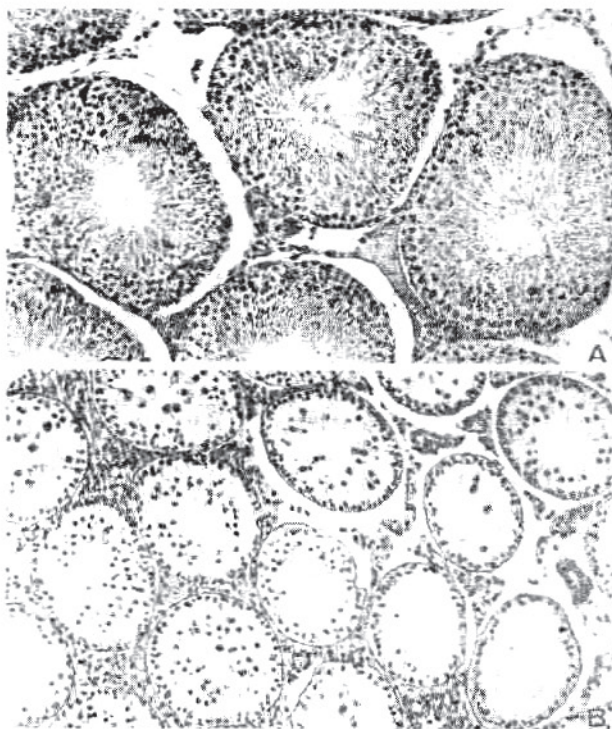


Fig. 4A - Testículo direito do rato nº 32, grupo 1, aos 60 dias de vida. Maturação completa com espermatozoides na luz tubular. H. E. 250X

Fig. 4B - Testículo esquerdo do mesmo rato. Rarefação celular generalizada. Presença apenas de espermatogônias e poucos espermátocitos primários. H. E. 250X.

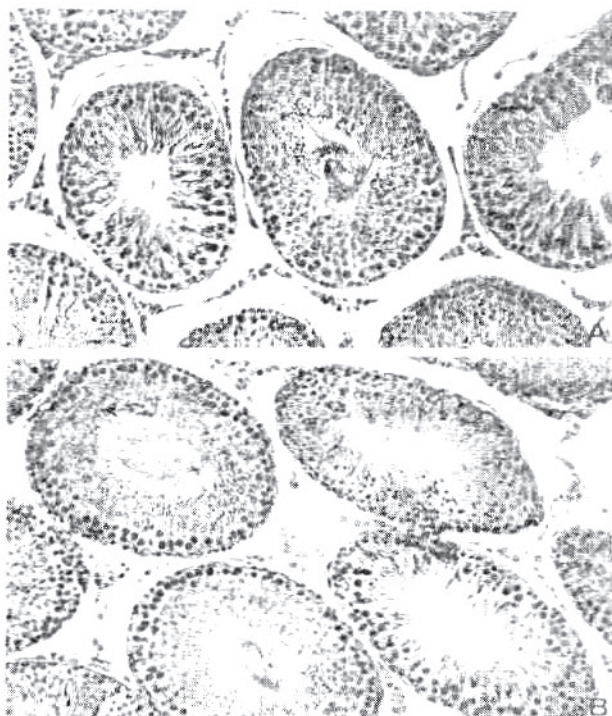


Fig. 5A - Testículo direito do rato nº 41, grupo 2, aos 60 dias de vida. Maturação completa, com espermatozoides na luz tubular. H. E. 250X.

Fig. 5B - Testículo esquerdo do mesmo rato. Aspecto histológico semelhante ao anterior. H. E. 250X.

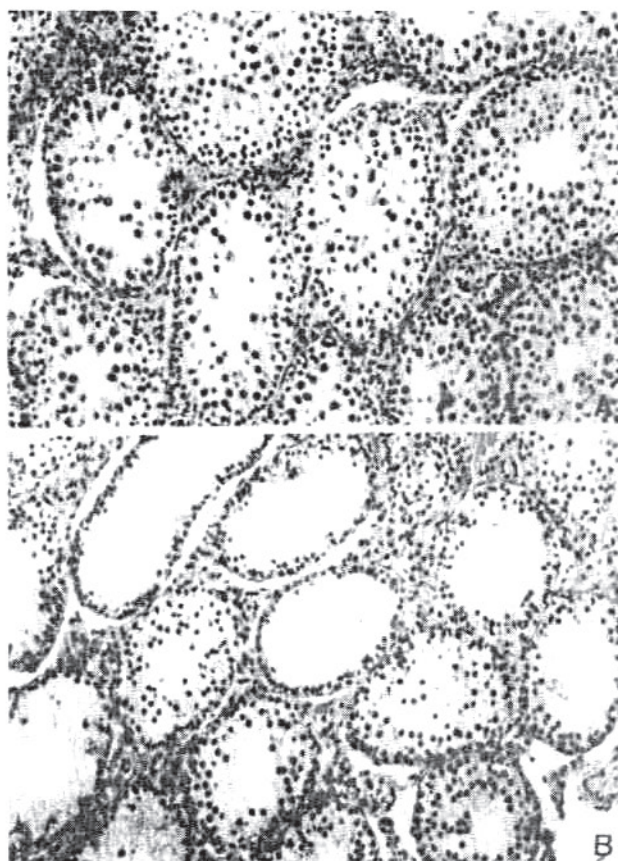


Fig. 6A - Testículo direito do rato nº 26, grupo 3, aos 60 dias de vida. Nitida parada do desenvolvimento das células germinativas. Espermátides sem sinais de diferenciação. H. E. 250X.

Fig. 6B - Testículo esquerdo do mesmo rato. Rarefação das células germinativas em geral e predominância de espermátogônias. H. E. 250X.

ESCORE TESTICULAR MÉDIO  
AOS 60 DIAS DE VIDA

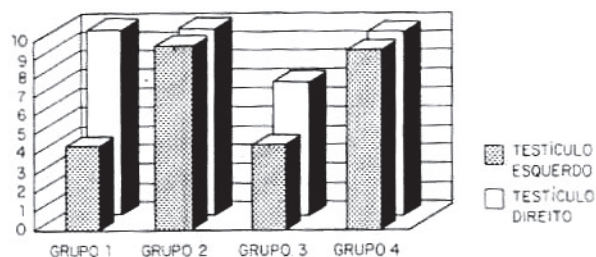


Fig. 7 - Escore testicular médio aos 60 dias de vida, nos quatro grupos estudados.

## DISCUSSÃO

### • Da amostra:

Foi utilizado o rato, por ser um animal de pequeno porte, padronizável, de fácil manejo em laboratório, de custo acessível e um modelo consagrado para estudos da função testicular. São bem

DIÂMETRO TUBULAR MÉDIO  
AOS 60 DIAS DE VIDA (em micra)

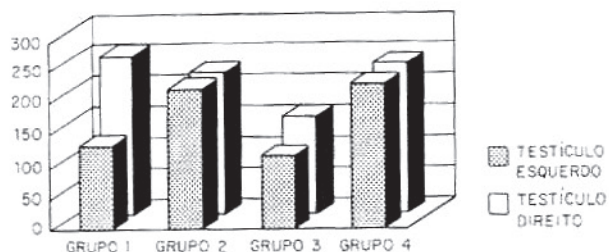


Fig. 8 - Diâmetro tubular médio aos 60 dias de vida, nos quatro grupos estudados.

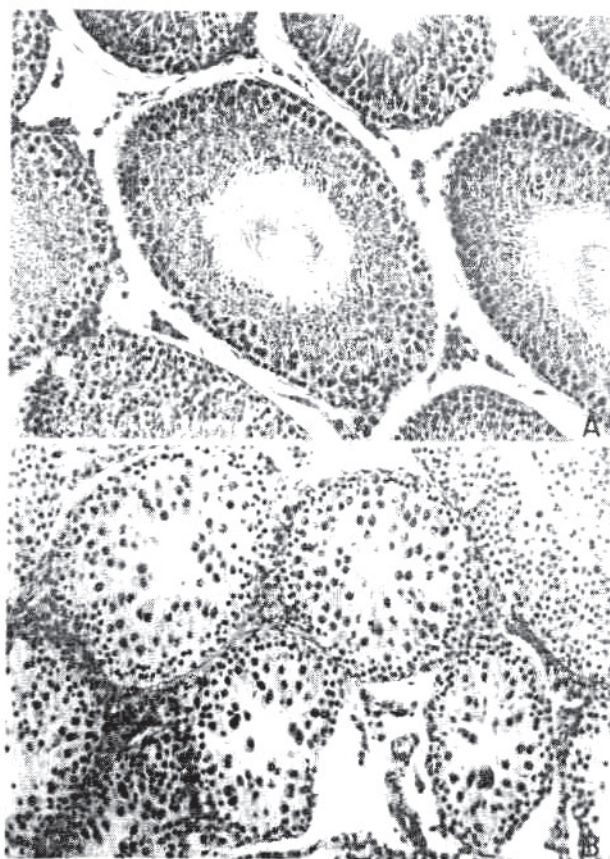


Fig. 9A e B - Observa-se a diferença entre os testículos tópicos dos animais dos grupos 1 (A) e 3 (B), aos 60 dias de vida. H. E. 250X.

conhecidas as características da população celular dos túbulos seminíferos de ratos adultos e pré-puberai<sup>9,10,11,31,32,62</sup>.

### • Do procedimento:

Tendo em vista a grande variação na literatura quanto à época da descida testicular no rato<sup>23,26,29,30,42,56</sup>,

em uma primeira fase deste trabalho, foi observada a descida de 50 testículos. Destes, 24% desceram entre o 14º. e o 15º. dias de vida, o que nos levou a estabelecer o nono dia para a produção da criptorquia, objetivando uma boa margem de segurança antes da descida testicular normal.

A técnica original utilizada para a produção da criptorquia experimental (fechamento do ânulo inguinal superficial com dois pontos separados de fio inabsorvível), teve como objetivos: ser de fácil execução, mesmo em animais bem jovens, ser eficaz e preservar a morfologia do testículo retido. Outras técnicas freqüentemente usadas, como a secção do *gubernaculum testis*<sup>41</sup> ou a fixação do testículo na parede abdominal<sup>51</sup>, podem provocar alterações morfo-histológicas. A primeira, por interferir na diferenciação androgênica<sup>5,24</sup> e a outra, por causar reações inflamatórias significantes<sup>13</sup>.

A ciclofosfamida é, em geral, empregada em doses altas para o tratamento inicial da indução e em doses baixas para a administração crônica, nos esquemas de manutenção. A dose para uso diário varia entre 50 e 100 mg/m<sup>2</sup> de superfície corporal<sup>63</sup>. Quando administrada a crianças abaixo de um ano de idade, a dose deve ser reduzida à metade<sup>45</sup>. Nos ratos com 14 dias de vida, idade que corresponde a cerca de um ano no ser humano, não foi tolerada dose acima de 25 mg/m<sup>2</sup>/dia. A aplicação da droga durante 14 dias consecutivas, em dose baixa, procurou reproduzir os esquemas utilizados clinicamente para manutenção, no tratamento do câncer.

O estado do epitélio germinativo é o parâmetro mais sensível da função testicular<sup>35</sup>. A avaliação de suas alterações pode ser feita por meio da contagem do número de espermatogônias ou pela presença ou não de espermatozóides na luz tubular, juntamente com a determinação do diâmetro médio dos túbulos seminíferos<sup>30,36,38,64</sup>.

No presente trabalho, além da medição do diâmetro tubular médio, o estudo da maturidade do epitélio germinativo foi feito pelo escore de JOHNSON<sup>25</sup>, modificado por SALMAN e col.<sup>51</sup>. Dando-se um escore para cada secção tubular, baseado na presença ou ausência de todas as células germinativas (e não apenas espermatogônias ou espermatozóides), é possível avaliar a espermatogênese quantitativamente e de modo mais preciso.

#### • Dos resultados

Embora a criptorquia seja reconhecida já há alguns séculos e apesar das numerosas pesquisas desenvolvidas em todo o mundo, o mecanismo da infertilidade em pacientes criptorquídicos continua a ser objeto de questionamentos. Sobretudo nos casos de criptorquia unilateral, onde diversas hipóteses tentam explicar porque o testículo retido afeta a gônada escrotal contralateral.

Diversas teorias têm sido propostas para a explicação desse efeito bilateral: disgenesia bilateral<sup>17,33</sup>, estimulação hormonal deficiente<sup>19,21,22,28</sup>, anormalidades cromossômicas<sup>2,46</sup> e dano imunológico<sup>36,37,50,51,61</sup>.

Experimentalmente, a produção de orquite unilateral<sup>60</sup>, torção testicular unilateral<sup>20,21,38,57,64</sup> e criptorquia unilateral<sup>136,40,51,55</sup> tem sido utilizada para provocar alterações histológicas no testículo contralateral.

Considerando que, no modelo experimental usado em nossas observações, o testículo não descido é normal antes do fechamento do ânulo inguinal superficial; a degeneração do testículo escrotal não pode ser congênita e, portanto, deve ser secundária à degeneração do testículo retido.

Nos animais analisados no presente estudo, os resultados evidenciaram que no grupo 1 (criptorquia e ciclofosfamida), o testículo direito (tópico) foi significativamente maior do que o esquerdo (retido), tanto aos 30 quanto aos 60 dias de vida. Valores semelhantes foram encontrados no grupo 3 (criptorquia apenas). No entanto, quando foi feita a comparação entre os grupos 1 e 3, para que se pudesse avaliar o efeito da ciclofosfamida entre os criptorquídicos, verificou-se que o testículo direito era significativamente maior no grupo 1. Quanto ao testículo não descido (esquerdo), não foi observada diferença significativa entre os dois grupos, em nenhuma ocasião.

Aparentemente, o testículo tópico do grupo 1 foi preservado dos efeitos degenerativos do testículo distópico.

Nos grupos 2 (ciclofosfamida apenas) e 4 (controle) não houve diferença significativa entre os testículos direito e esquerdo, o que já era esperado, uma vez que ambos eram tópicos. Da mesma forma, ambos eram maiores aos 60 dias, o que mostrou apenas o crescimento normal ocorrido no período. A comparação entre os grupos 2 e 4, para avaliação do efeito da ciclofosfamida entre os animais não criptorquídicos, não evidenciou diferenças significantes entre os mesmos.

Ao que tudo indica, a ciclofosfamida não produziu alterações na espermatogênese dos ratos do grupo 2.

A comparação entre os grupos 1 e 2 mostrou que a presença da criptorquia, entre os ratos que receberam a ciclofosfamida, provocou uma diferença evidente, demonstrada pelo fato de que o testículo esquerdo no grupo 1 (retido), aos 60 dias de vida, era significativamente menor do que no grupo 2 (ambos tópicos),

Finalmente, a comparação entre os grupos 3 e 4, para avaliação do efeito da criptorquia entre os animais que não foram submetidos à ciclofosfamida, tornou bem clara a diferença entre eles, já que os valores do grupo 3 foram significativamente menores, tanto para o testículo retido quanto para o tópico.

De um modo geral, todas as alterações encontradas foram mais evidentes nos ratos com 60 dias.

Se considerarmos que fatores hormonais são agentes etiológicos improváveis na gênese das lesões testiculares encontradas na criptorquia experimental, a causa mais provável é a imunológica.

MENGEL *et al.* (1977)<sup>36</sup> administraram azatioprina em cães jovens, submetidos à criptorquia unilateral por três meses, e demonstraram que houve um aumento no número de espermatogônias, tanto nos testículos tópicos quanto nos retidos. A azatioprina é um agente imunossupressor de largo uso, que não provoca danos conhecidos no epitélio germinativo testicular.

Ao contrário, a ciclofosfamida causa efeitos deletérios na espermatogênese, levando à oligospermia, azoospermia e níveis aumentados de hormônio folículo-estimulante<sup>4,16,18,34,43,44,52</sup>. Dependendo da dose cumulativa e da duração do tratamento, a espermatogênese pode retornar, mas o prazo é variável e pode levar alguns anos<sup>3,7,15,48</sup>. Alguns trabalhos<sup>6,27,49</sup> mostraram que a espermatogênese danificada por altas doses de ciclofosfamida era recuperável se a administração fosse feita em uma única dose. Por outro lado, o uso da droga em doses mais baixas parece não provocar o mesmo efeito lesivo<sup>14,58,59</sup>.

Os resultados observados nos animais do grupo 2 comprovam esse fato, uma vez que não foram encontradas alterações testiculares significantes em relação ao grupo 4.

Analisando os resultados obtidos em nossa pesquisa, podemos afirmar que: 1.º) Por meio da produção da criptorquia experimental unilateral, foi possível confirmar que tanto os testículos retidos quanto os tópicos sofrem alterações causadas pela posição anômala; 2.º) Uma vez que os testículos tópicos contralaterais dos animais do grupo 3 apresentam as mesmas alterações que os testículos retidos, embora menos acentuadas, pode-se depreender que tais lesões surgem mais tardiamente nos testículos tópicos; 3.º) Já que no grupo 1 não houve diferença significativa entre os valores dos testículos tópicos contralaterais e os valores normais do grupo 4 (controle), esse efeito deve ser atribuído à ciclofosfamida; 4.º) Considerando que o testículo retido desencadeia um processo degenerativo, a ciclofosfa-

mida pareceu bloquear os fatores responsáveis, resultando na continuidade do desenvolvimento dos túbulos seminíferos e na maturação das células germinativas.

Tendo em vista a diferença de resultados entre os grupos 1 (tratado) e 3 (não tratado) e os efeitos imunossupressores da ciclofosfamida, a hipótese deste trabalho é que, de fato, as alterações encontradas nos testículos têm origem em processos auto-ímmunes (Fig. 9A e B).

Como resultado da alta temperatura a que estão submetidos os testículos retidos, a barreira hêmato-testicular torna-se permeável, o que permite ao sistema imune entrar em contato com os antígenos testiculares, ocasionando a formação de anticorpos. Uma vez que ambos os testículos são lesados, depreende-se que o organismo reage não apenas aos antígenos modificados do testículo retido, mas também contra os antígenos originais.

Em ratos, os antígenos das células germinativas só são encontrados nos testículos quatro semanas após o nascimento, no citoplasma dos espermátócitos secundários, paralelamente com a maturação sexual<sup>1</sup>. Esse fato está de acordo com as alterações observadas por nós, que foram mais intensas aos 60 dias de vida.

## CONCLUSÕES

1. O uso crônico da ciclofosfamida, em doses baixas, em ratos jovens com criptorquia unilateral, não provocou alterações na espermatogênese e preveniu a deterioração do testículo tópico;

2. Nesses animais, o processo degenerativo prosseguiu no testículo retido.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Neil Ferreira Novo e à Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Yara Juliano, Professores da Disciplina de Bioestatística do Departamento de Medicina Preventiva da Universidade Federal de São Paulo-Escola Paulista de Medicina, pela orientação e análise estatística dos resultados desta pesquisa.

---

ALVES, E.; TUBINO, P.; GOLDENBERG, S. - Evaluation of the cyclophosphamide effects in descended and undescended testis of young rats with unilateral cryptorchidism. *Acta Cir. Bras.*, 12(1):27-34, 1997.

SUMMARY: Experimental unilateral cryptorchidism was produced in prepubertal rats. Both in the operated undescended testis and in the contralateral descended one, the changes were similar to that founded in the human. These changes show a disturbed testicular development with gonadal degenerative process. The chronic use of the immunosuppressant drug cyclophosphamide, with low dosages, avoided the damage in the topic testis, in spite of its very known harmful action to the spermatogenesis. As the observed lesions affects also the scrotal testis and as this can be prevented by the cyclophosphamide, the possibility of autoimmunisation causing this damage in the experimental cryptorchidism in the rat is discussed.

SUBJECT HEADINGS: Testis. Cryptorchidism. Cyclophosphamide.

---

## REFERÊNCIAS

1. AKASHI, T. & EISHI, Y. - Developmental expression of autoimmune target antigens during organogenesis. *Immunology*, 24:524-32, 1991.
2. BARTONE, B. P. & SCHMIDT, M. A. - Cryptorchidism: incidentes of chromosomal abnormalities in 50 cases. *J. Urol.*, 127:1105-6, 1982.
3. BLAKE, D. A.; HELLER, R. H.; HSU, S. H.; SCHATER, B. Z. - Return of fertility in a patiente with cyclophosphamide-induced azoospermia. *Johns Hopkins Med.*, 139:20-2, 1976.
4. BLATT, J.; COPELAND, D. R.; BLEYER, W. A. - Late effects of childhood cancer and its treatment. In: PIZZO, P. A. & POPLACK, D. G. - *Principles and practice of pediatric oncology*. 2.ed. Philadelphia, J. B. Lippincott, 1993. p. 1091-114.
5. BEASLEY, S. W. & HUTSON, J. M. - The role of the gubernaculum in testicular descent. *J. Urol.*, 140:1191-3, 1988.
6. BRITTINGER, D. - Die mutagene wirkung von Enduxan bei der Maus. *Humangenetik*, 3:156-65, 1966.
7. BUCHANAN, J. D.; FAIRLEY, K. F.; BARRIE, J. U. - Return of spermatogenesis after stopping cyclophosphamide therapy. *Lancet*, 2: 156-7, 1975.
8. CALABRESI, P. E. & PARKS Jr., R. E. - Chemotherapy of neoplastic diseases. In: GILMAN, A. G.; GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. - *The pharmacological basis of therapeutics*. 6. ed. New York, Macmillan, 1980. p. 1266.
9. CLERMONT, Y. & LEBLOND, C. P. - Renewal of spermatogonia in the rat. *An. J. Anat.*, 93:475-502, 1953.
10. CLERMONT, Y. & PEREY, B. - Quantitative study of the cell population of the seminiferous tubules in immature rats. *Am. J. Anat.*, 100: 241-67, 1957.
11. CLERMONT, Y. & HARVEY, S. C. - Duration of the cycle of the seminiferous epithelium of normal, hypophysectomized and hypophysectomized-hormone treat albino rats. *Endocrinology*, 76:80-9, 1965.
12. CHILVERS, C.; DUDLEY, N. E.; GOUCH, M.H.; JACKSON, M. B.; PIKE, M. C. - Undescended testis: the effect of treatment on subsequent risk of subfertility and malignancy. *J. Pediatr. Surg.*, 21:691-6, 1986.
13. DIXON, T. K.; RITCHEY, M. L.; BOYKIN, W.; ZEIDMAN, E.; THOMPSON, I. M. - Transparenchymal suture fixation and testicular histology in prepurbetal rat model. *J. Urol.*, 149:1.116-8, 1993.
14. DOEPFMER, R. & SHULER, W. - Experimentelle Untersuchungen an Ratten über dosisabhängige Schädigung der Spermio-genese und der Leukopoese sowie ihrer Korrelation zueinander durch die Cytostatica Cyclophosphamid und 2, 3, 5, Tris-äthylenimino-benzochinon- (1,4). *Arzneimittel-Forschung*, 16:1.533-5, 1966.
15. ETTELDORF, J. N.; WEST, C. D.; PITCOCK, J. A.; WILLIAMS, D. L. - Gonadal function, testicular histology, and meiosis following cyclophosphamide therapy in patientes with nephrotic syndrome. *J. Pediatr.*, 88:206-12, 1976.
16. FAIRLEY, K. F.; BARRIE, J. U.; JOHNSON, W. - Sterility and testicular atrophy related to cyclophosphamide therapy. *Lancet*, 1:568-9, 1972.
17. FARRINGTON, G. H. - Histological observations in cryptorchidism: the congenital germinal-cell deficiency of the undescend testis. *J. Pediatr. Surg.*, 4:606-13, 1969.
18. FUKUTANI, K.; ISHIDA, H.; SCHINOHARA, M.; MINOWADA, S.; NIJIMA, T.; HUIKATA, K.; IZAWA, Y. - Supression of spermatogenesis in patients treated with cyclophosphamide and colchicine. *Fertil. Steril.*, 38:76-80, 1981.
19. GENDREL, D.; JOB, J. C.; ROGER, M. - Reduce post natal rise of testosterone secretion in plasma of cryptorchid infants. *Acta Endocrinol.*, 89:372-8, 1978.
20. HARRISON, R. G.; DE MARVAL, M. J. M.; LEWIS-JONES, D. I.; CONNOLLY, R. C. - Mechanism of damage to the contralateral testis in rats with an ischaemic testis. *Lancet*, 2:723-5, 1981.
21. HUFF, D. S.; HADZISELIMOVIC, F.; SNYDER III, H. M.; DUCKETT, J. W.; KEATING, M. A. - Postnatal maldevelopment in unilateral cryptorchidism. *J. Urol.*, 142:546-8, 1989.
22. FUFF, D. S.; HADZISELIMOVIC, F.; SNYDER III, H. M.; BLYTH, B.; DUCKETT, J. W. - Early postnatal testicular maldevelopment in cryptorchidism. *J. Urol.*, 146:624-6, 1991.
23. HUSMANN, D. A. & McPHAUL, M. J. - Time-specific androgen blockade with flutamide inhibits testicular descent in the rat. *Endocrinology*, 129:1409-16, 1991.
24. HUSMANN, D. A.; BOONE, T. B.; McPHAUL, M. J. - Flutamide-induced testicular undescend in the rat is associated with alterations in genitofemoral nerve morphology. *J. Urol.*, 151:509-13, 1994.
25. JOHNSEN, S. G. - Testicular biopsy score count. A method for registration of spermatogenesis in human testes: normal values and results in 335 hipogonadal males. *Hormones*, 1:2-25, 1970.
26. JUENEMANN, K-P., KOGAN, B. A.; ABOZEID, M. H. - Fertility in cryptorchidism: experimental model. *J. Urol.*, 136:214-8, 1986.
27. JUNGCK, E. - Histologische und enzymhistochemische Untersuchungen über die Wirkungeiniger Cytostatika auf den reifen Rattenhoden. *Acta Histochem.* 28:134-68, 1967.
28. KOGAN, S. J. - Fertility in cryptorchidism. *Eur. J. Pediatr.*, 146 (supl.2): s21-4, 1987.
29. KOHN, D. F. & BARTHOLD, S. W. - Biology and diseases of rats. In: FOX, J. G.; COHEN, B.; LOEW, F. M. - *Laboratory animal medicine*. Orlando, Academic Press, 1984. p. 91-122.
30. KORT, W. J.; HEKKING-WEIJMA, I.; VERMEIJ, M. - Temporary intraabdominal cryptorchidism in the weanling rats leads to irreversible azoospermia. *J. Surg. Res.*, 51:138-42, 1991.
31. LEBLOND, C. P. & CLERMONT, Y. - Spermio-genesis of rat, mouse, hamster and guinea pig as revealed by the "periodic acid-fuchsin sulfurous acid" technique. *Am. J. Anat.*, 90:167-216, 1952a.
32. LEBLOND, C. P. & CLERMONT, Y. - Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 55:548-1952b.

33. LIPSHULTZ, L. I.; CAMINOS-TORRES, R.; GREENSPAN, C. S.; SNYDER, P. J. - Testicular function after orchiopexy for unilaterally undescended testis. *N. Engl. J. Med.*, 295:15-8, 1976.
34. MARMOR, D. - Fertilité après traitements cytostatiques. *Bull. Cancer*, 81:764-9, 1994
35. MENGEL, W.; HIENZ, H. A.; SIPPE, W. G.; HECKER, W. Ch. - Studies on cryptorchidism: a comparison of histological findings in the germinative epithelium before and the second year of life. *J. Pediatr. Surg.*, 9:445-50, 1974.
36. MENGEL, W.; MORITZ, P.; HUTTMANN, B.; HECKER, W. Ch. - Untersuchungen zur Pathogenese der Veränderungen am deszendierten Hoden bei einseitigen Maldescensus testis. *Z. Kinderchir.*, 22:369-79, 1977.
37. MENGEL, W. & ZIMMERMANN, F. A. - Immunological aspects of unilateral cryptorchidism. *Urol. Clin. North Am.*, 9:349-52, 1982.
38. NAGLER, H. M. & WHITE, R. D. - The effect of testicular torsion on the contralateral testis. *J. Urol.*, 128:133.343-8, 1982.
39. PATKOWSKI, D.; CZENIK, J.; JELEN, M. - The natural course of cryptorchidism in rats and the efficacy of orchidopexy or orchidectomy in its treatment before and puberty. *J. Pediatr. Surg.*, 27:870-3, 1992.
40. QUINN, F. M. J.; CROCKARD, A. D.; BROWN, S. - Secondary changes in the scrotal testis in experimental unilateral cryptorchidism. *J. Pediatr. Surg.*, 25:402-5, 1990.
41. QUINN, F. M. J.; CROCKARD, A. D.; BROWN, S. - Reversal of degenerative changes in the scrotal testis after orchidopexy in experimental unilateral cryptorchidism. *J. Pediatr. Surg.*, 26:451-4, 1991a.
42. QUINN, F. M. J. - Evaluation of the scrotal testis before and after orchidopexy in experimental unilateral cryptorchidism. *J. Pediatr. Surg.*, 26:602-5, 1991b.
43. QURESHI, M. S. A.; PENNINGTON, J. H.; GOLD-SMITH, H. J.; COX, P. E. - Cyclophosphamide therapy and sterility. *Lancet*, 2:1.290-1, 1972.
44. RAPOLA, J.; KOSKIMIES, O.; HUTTUNEN, N. P.; FLOMAN, P.; VILSKA, J.; HALLMAN, N. - Cyclophosphamide and the pubertal testis. *Lancet*, 1:98-9, 1973.
45. REAMAN, G. H. - Special considerations for the infant with cancer. In: PIZZO, P. A. & POPLACK, D. G. - *Principles and practice of pediatric oncology*. 2.ed Philadelphia, J. B. Lippincott, p. 303-14, 1993.
46. REZVANI, I.; RETTIG, K. R.; DI GEORGE, A. M. - Inheritance of cryptorchidism. *Pediatrics*, 58:774-5, 1976.
47. ROBISON, L. - General principles of the epidemiology of childhood cancer. In: PIZZO, P. A. & POPLACK, D. G. - *Principles and practice of pediatric oncology*. 2.ed Philadelphia, J. B. Lippincott, p. 3-10, 1993.
48. ROESER, H. P.; STORCHS, A. E.; SMITH, A. J. - Testicular damage due to cytotoxic drugs recovery after cessation of therapy. *Aust. N. Z. J. Med.*, 8:250-4, 1978.
49. ROHRBORN, G. & VOGEL, F. - Chemically induced mutations in mammals and human. 2. Genetic studies on mouse. *Dtsch. Med. Wochenschr.*, 92:2.315-21, 1967.
50. ROST, A.; EHRENBERG, W.; FIEDLER, U. - Determination of autoantibodies against spermatozoa in experimental cryptorchidism. *Urol. Int.*, 36:59-66, 1981.
51. SALMAN, T.; ADKINS, E. S.; FONKALSRUD, E. W. - Morphologic effects of unilateral cryptorchidism on the contralateral descended testis. *J. Pediatr. Surg.*, 23:439-43, 1988.
52. SCILISKY, R. L.; LEWIS, B. J.; SHERINS, R. J.; YOUNG, R. C.; - Gonadal dysfunction in patients receiving chemotherapy for cancer. *Ann. Intern. Med.*, 93:109-14, 1980.
53. SIEGEL, S. - *Estadística no paramétrica*. México, Trillas, p. 346, 1975.
54. SCORER, C. G. - The descent of the testis. In: DAVIS, J. A. & DOBBING, J. - *Scientific foundations of paediatrics*. London, William Heinemann, p. 464-9, 1974.
55. SHIRAI, M.; MATSUSHITA, E.; KAGAYAMA, M.; ICHIJU, S.; TAKEUCHI, M. - Histological changes of the scrotal testis in unilateral cryptorchidism. *Tohoku J. Exp. Med.*, 90:363-73, 1966.
56. SPENCER, J. R.; TORRADO, T.; SANCHEZ, R. S.; VAUGHAN Jr. E. D.; IMPERATO-McGINLEY, J. Effects of flutamide and finasteride on rat testicular descent. *Endocrinology*, 129:741-8, 1991.
57. TANYEL, F. C.; BUYUKPAMUKÇU, N.; HIÇSONMEZ, A. - Contralateral testicular blood flow during unilateral testicular torsion. *Br. J. Urol.*, 63:522-4, 1989.
58. TRASLER, J. M.; HALES, B. F.; ROBAIRE, B. - Paternal cyclophosphamide treatment of rats causes fetal loss and malformations with out affecting male fertility. *Nature*, 316:144-6, 1985.
59. TRASLER, J. M.; HALES, B. F.; ROBAIRE, B. - Chronic low dose cyclophosphamide treatment of adult male rats: effect on fertility, pregnancy outcome and progeny. *Biol. Reprod.*, 34:275-83, 1986.
60. TUNG, K. S. K. & ALEXANDER, N. J. - Autoimmune reactions in the testis. In: JOHNSON, D. & GOMES, W. R. - *The testis*. New York, Academic Press, p. 491-516, 1977.
61. URRY, R. L.; CARREL, E. T.; STARR, N. Y.; SNOW, B. W.; MIDDLETON, R. G. - The incidence of antisperm antibodies in infertility patients with a history of cryptorchidism. *J. Urol.*, 151:381-3, 1994.
62. WING, T.-Y.; CHRISTENSEN, A. K. - Morphometric studies on rat seminiferous tubules. *Am. J. Anat.*, 165:13-25, 1982.
63. WITTES, R. E.; LEYLAND-JONES, B.; FORTNER, C.; HUBBARD, S. M. - Chemotherapy: the properties and use of single agents. In: WITTES, R. E. - *Manual of oncologic therapeutics 1989/1990*. New York, J. B. Lippincott, p. 97, 1989.
64. YORK, J. P. & DRAGO, J. R. - Torsion and the contralateral testicle. *J. Urol.*, 133:294-7, 1985.

Endereço para correspondência:

Eliane Alves - Departamento de Pediatria, Faculdade de Ciências da Saúde - Universidade de Brasília - Campus Universitário - Asa Norte - 70910-900 - Brasília-DF

Data do recebimento: 06.08.96

Data da revisão: 10.09.96

Data da aprovação: 08.10.96