

ALTERAÇÕES DO TESTÍCULO HUMANO NA MOLÉSTIA DE CHAGAS II — ESTUDO MORFOMÉTRICO DO TECIDO INTERSTICIAL

Teresa Lúcia LAMANO CARVALHO (1), Affonso Luiz FERREIRA (2) e Marco Antonio SAHÃO (3)

RESUMO

Avaliou-se a atividade funcional das células de Leydig de homens chagásicos crônicos, separados nos grupos NORMOSPÉRMICO, OLIGOSPÉRMICO, AZOOSPÉRMICO e SEM ESPERMOGRAMA, nos quais exame anterior revelara a presença de diversos graus de alteração no epitélio germinativo (LAMANO CARVALHO & col.¹⁶). Os resultados de volume e densidade da cromatina dos núcleos das células de Leydig, e também as observações obtidas da análise histológica, foram comparados com aqueles obtidos de testículos de homens não-chagásicos. Os dados obtidos em pacientes chagásicos sugerem uma depleção na população de células de Leydig, levando ao aumento da atividade funcional das células remanescentes, com conseqüente exaustão e degeneração de muitas delas. Para explicar tais alterações, aliadas às observadas por LAMANO CARVALHO & col.¹⁶, no epitélio germinativo, discutiu-se a concorrência provável de três mecanismos inter-relacionados: a desnervação dos centros nervosos que controlam a atividade hipofisária, a desnervação de gânglios do Plexo Pélvico, do parasitismo do testículo pelo *T. cruzi*, na fase aguda da doença.

INTRODUÇÃO

Existem evidências clínicas de envolvimento do Sistema Genital Masculino, na Moléstia de Chagas. HADDAD & col.¹¹ e HADDAD & RAIA¹⁰ observaram disfunções sexuais, em pacientes chagásicos crônicos, os quais referiram diminuição da ejaculação e diminuição ou até perda da libido e de potência.

As observações de parasitismo do testículo pelo *T. cruzi*, na fase aguda da doença, são raras (CHAGAS^{1,2}, HARTZ & TOLEDANO¹², ambos em humanos; VIANNA²¹, em cobaias), porém tem-se evidenciado histologicamente, a presença de seqüelas no testículo, na fase crônica da Moléstia (FERREIRA⁷, FERREIRA & ROSSI⁸, LAMANO CARVALHO & col.¹⁶).

FERREIRA^{7,8} e FERREIRA & ROSSI⁸ constataram danos focais na cinética da esper-

matogênese, alterações regressivas de células germinativas e atrofia do epidídimo, em cobaias, em fases tardias da Moléstia de Chagas.

LAMANO CARVALHO & col.¹⁶ observaram, analisando a cinética da espermatogênese em testículos humanos de chagásicos crônicos, parada na maturação das células germinativas, e também de alterações regressivas destas células, em frequências variáveis de indivíduo para indivíduo. Estes Autores associaram tais alterações testiculares à desnervação de gânglios do Plexo Pélvico, provavelmente induzida na fase aguda da tripanossomíase, uma vez que o parasitismo dos elementos tubulares, por si só, não seria suficiente para explicar os quadros histológicos observados.

(1) Professor Assistente do Departamento de Patologia da Faculdade de Farmácia e Odontologia de Ribeirão Preto — USP, Brasil

(2) Professor Titular do Departamento de Morfologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto — USP

(3) Médico do Serviço de Urologia da Santa Casa de Misericórdia de Ribeirão Preto

Deve-se considerar, porém, além dos dois mecanismos patogênicos aventados acima, a possível concorrência de um desarranjo hormonal, levando às disfunções sexuais do homem chagásico crônico.

MOREIRA¹⁸ evidenciou, mediante dosagem nos níveis de LH, que apesar de os homens chagásicos crônicos não apresentarem quaisquer evidências de comprometimento da adeno-hipófise, dentro do grupo chagásico existe ampla variação de valores dos níveis basais e também de secreção integral desse hormônio.

Como o LH é o hormônio que exerce função trófica nas células de Leydig do testículo, seria de interesse avaliar a atividade funcional dessas células, no homem chagásico crônico, uma vez que os hormônios androgênicos, por elas sintetizados, são responsáveis também pelo processo espermatogênético e integridade do epitélio germinativo.

Assim, o objetivo do presente trabalho será o de caracterizar as possíveis alterações da integridade e atividade funcional das células de Leydig, no testículo de homens na fase crônica da Moléstia de Chagas. Tal avaliação será realizada em biopsias de chagásicos crônicos já analisadas anteriormente quanto à cinética da espermatogênese (LAMANO CARVALHO & col.¹⁶). A presente investigação permitirá uma interpretação mais completa sobre outros eventuais mecanismos patogênicos envolvidos nesta "patia" chagásica.

MATERIAL E MÉTODOS

Os homens chagásicos e controles, que forneceram material para a presente investigação, são os mesmos utilizados em trabalho anterior (LAMANO CARVALHO & col.¹⁶). Após triagem dos indivíduos, aqueles chagásicos crônicos selecionados forneceram amostra de sêmen para realização de espermograma, e também biopsia testicular. O grupo controle constituiu-se de material de necrópsias de homens não chagásicos.

PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO — Dos fragmentos de testículo, fixados em Bouin por 24 horas e processados como de rotina para inclusão em parafina, foram obtidos cortes de 10 μ m de espessura, corados pelas técnicas do Tricrômico de Masson e pelo PAS-Hematoxilina.

AValiação DO Tecido Intersticial

— A atividade funcional das células de Leydig foi avaliada por meio de dois parâmetros: o volume de seus núcleos e o adensamento da cromatina nuclear. Para estimativa dos volumes nucleares, utilizou-se uma câmara clara, da Reichert, que projetava as imagens dos núcleos sobre papel branco, com um aumento final de 1140 vezes. Eram contornadas as imagens de 50 núcleos por indivíduo, porém apenas daqueles esféricos ou elípticos, e que não apresentassem picnose ou sinais de dissolução ou fragmentação. A seguir, mediam-se os diâmetros ortogonais destes núcleos, com papel vegetal milimetrado e calculavam-se seus volumes de acordo com a fórmula descrita por VALERI & col.²⁰:

$$V = \frac{\pi}{6} \cdot D_1 \cdot D_2 \cdot \sqrt{D_1 \cdot D_2}$$
 onde D_1 e

D_2 são os diâmetros ortogonais, medidos em milímetros, e $\sqrt{D_1 \cdot D_2}$ representa a estimativa do terceiro diâmetro. Introduzindo, na fórmula acima, valores para correção das medidas de milímetros para micrômetros, e também para o aumento final de 1140 vezes, obtém-se a fórmula seguinte, utilizada:

$$V = 0,3534 D_1 \cdot D_2 \cdot \sqrt{D_1 \cdot D_2}$$

Os mesmos núcleos das células de Leydig, desenhados para cálculo de volume, foram classificados em três categorias, de acordo com o grau de adensamento de sua cromatina: Claro, Médio ou Escuro. Todas as classificações foram feitas pelo mesmo observador, e sob objetiva de 100 aumentos.

ANÁLISE ESTATÍSTICA — Os valores de volume nuclear das células de Leydig, em μm^3 , sofreram transformação logarítmica, pretendendo-se assim homogeneizar sua variância. A seguir observou-se, empiricamente, que os dados assim transformados seguem distribuição Normal. Para tanto, construíram-se gráficos (Fig. 1) que contém, em abscissa, os logaritmos dos volumes, nucleares e, em ordenada, a variável y_i , que são os valores obtidos em tabela normal reduzida, correspondentes às frequências relativas acumuladas destes volumes. Observa-se, pela análise da Fig. 1, que as retas hipotéticas traçadas se ajustam bem à distribuição dos pontos, o que significa que a variável em questão tem distribuição Normal. Considerando que as retas contém os valores populacionais de log de volume, foram

obtidos, destas retas, os parâmetros μ , $\mu \pm \sigma$ e $\mu \pm 2\sigma$, para cada população estudada (Tabela I), e com estes parâmetros construíram-se curvas Normais (Fig. 3), utilizadas para a comparação entre as diferentes populações.

RESULTADOS

Os homens chagásicos foram previamente subdivididos em quatro grupos, de acordo com os resultados dos espermogramas: NORMOSPÉRMICOS, OLIGOSPÉRMICOS, AZOOSPÉRMICOS e SEM ESPERMOGRAMA (vide LAMANO CARVALHO & col.¹⁶). Estes quatro grupos foram comparados entre si e também com o grupo de homens não-chagásicos.

EXAME HISTOLÓGICO — O exame histológico das biopsias de testículo revelara, para todos os grupos de chagásicos, a presença de quadros heterogêneos, com secções tubulares espermato geneticamente ativa ao lado de secções tubulares alteradas, quer pela parada na maturação das células germinativas, quer por sinais de alterações regressivas destas células (LAMANO CARVALHO & col.¹⁶). A frequência de tais alterações variou grandemente de indivíduo para indivíduo, porém cresceu progressivamente dos chagásicos Normospérmicos para os Oligospérmicos e Azoospérmicos. O exame do tecido intersticial, ora realizado, evidenciou pequenos aglomerados de células de Leydig, preenchendo e assumindo a forma do espaço livre entre túbulos seminíferos adjacentes. A quantidade destas células apresentou alguma variação de indivíduo para indivíduo, porém pode-se observar acentuada diminuição em seu número, em quatro homens Normospérmicos, três Oligospérmicos e nos cinco Azoospérmicos analisados. No grupo de chagásicos Sem Espermograma, encontraram-se quadros histológicos semelhantes aos descritos para os outros grupos de chagásicos, sugerindo que ele deve ser constituído tanto de Normospérmicos como de Oligospérmicos e Azoospérmicos. A observação mais acurada das células de Leydig, revelou a presença de diferentes graus de adensamento de sua cromatina nuclear, o que permitiu classificar seus núcleos como Claros, Médios ou Escuros (Fig. 2A). Os aglomerados aparentemente individuais, que estas células formavam, eram constituídos por uma maioria de células de núcleos semelhantes (Claros e Médios ou, então, Escuros e Médios), sugerindo o mesmo nível de atividade funcional (HELLER & LEACH¹³) (Figs. 2A e B). Foram observados também, e com muito maior frequência nos indivíduos Chagásicos do que nos Controles, aglomerados de células de Leydig de núcleo com contorno irregular, muitas vezes pouco nítido

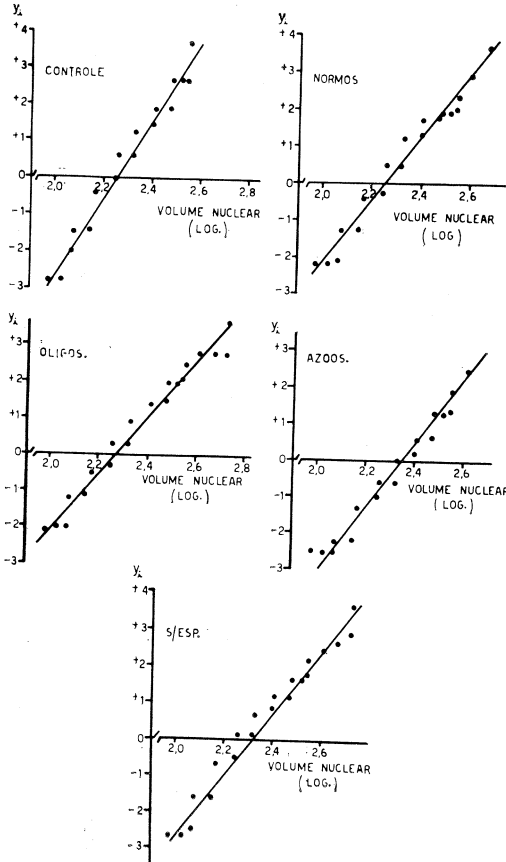


Fig. 1 — Correlação entre os volumes nucleares das células de Leydig (log) e os valores correspondentes às suas frequências relativas acumuladas, obtidos em tabela Normal reduzida (y_i), nos indivíduos Controles e Chagásicos Normospérmicos (NORMOS.), Oligospérmicos (OLIGOS.), Azoospérmicos (AZOOS.) e Sem Espermograma (S/ESP.).

TABELA I

Parâmetros populacionais, relativos aos volumes nucleares das células de Leydig (log), dos indivíduos Controles e Chagásicos Normospérmicos (NORMOS.), Oligospérmicos (OLIGOS.), Azoospérmicos (AZOOS.) e Sem Espermograma (S/ESP.).

População	Parâmetros populacionais				
	μ	$\mu + \sigma$	$\mu - \sigma$	$\mu + 2\sigma$	$\mu - 2\sigma$
Controle	2,25	2,35	2,16	2,44	2,06
Normos.	2,25	2,37	2,13	2,49	2,01
Oligos.	2,27	2,40	2,12	2,52	2,02
Azoos.	2,34	2,46	2,23	2,57	2,11
S/Esp.	2,32	2,44	2,20	2,56	2,08

ou, então, com núcleos e nucléolos gigantes, exibindo cromatina muito dispersa e clara. Tais observações sugerem uma eventual dissolução da cromatina nuclear destas células (Figs. 2C e D).

É interessante ressaltar que, comparando os quadros histológicos apresentados pelo epi-

télio tubular (LAMANO CARVALHO & col.¹⁶) com o aspecto do tecido intersticial, ora analisado, não foi possível estabelecer qualquer correlação entre o grau de alteração apresentada pelo epitélio germinativo, e aquele presente no tecido intersticial, nos diferentes grupos de chagásicos estudados.

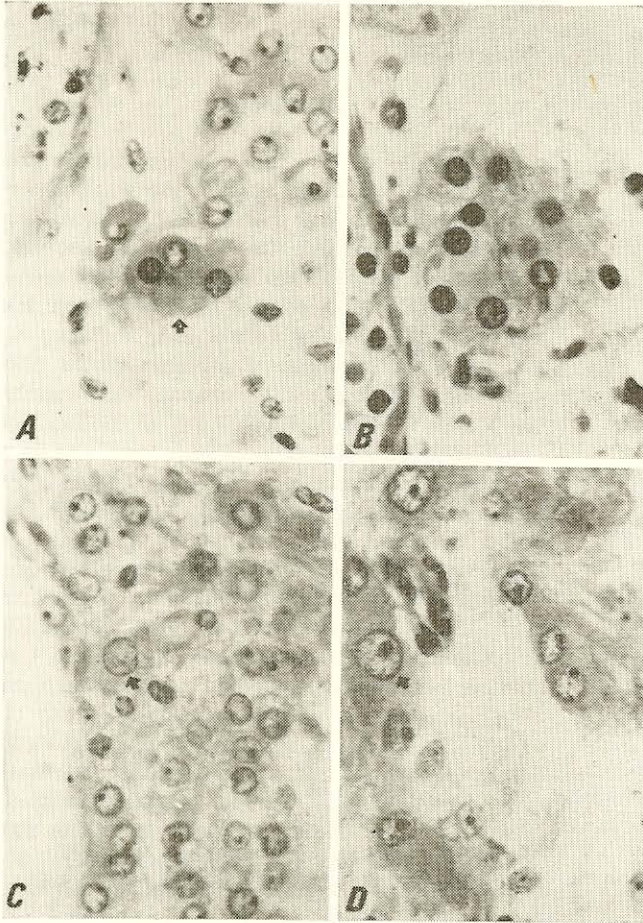


Fig. 2 — Células de Leydig (Tricrômico de Masson, 500 X)

- A) aglomerado de células de Leydig de núcleos Claros. Pequeno grupamento (seta) constituído de células de núcleos Claro, Médio e Escuro.
- B) aglomerado de células de Leydig de núcleos Escuros.
- C) aglomerado de células de Leydig de núcleos Claros, a maioria delas com núcleo irregular, e alguns núcleos grandes exibindo intensa dispersão da cromatina (seta).
- D) células de Leydig de núcleos e nucléolos gigantes, irregulares e com cromatina dispersa (seta).

AValiação QUANTITATIVA DO TECIDO INTERSTICIAL — A Fig. 3 representa as distribuições Normais dos logaritmos de volumes nucleares das células de Leydig, nas populações Controle e Chagásicas Normospérmica, Oligospérmica e Azoospérmica. Observa-se, nessa figura, que os volumes nucleares estão subdivididos nas classes Ia, Ib, II, IIIa e IIIb; tal subdivisão se baseou nos parâmetros populacionais da curva Controle: pertencem à classe Ia os volumes menores que $(\mu - 2\sigma)$, à classe Ib os volumes situados entre $(\mu - 2\sigma)$ e $(\mu - \sigma)$, à clas-

se II os volumes entre $(\mu - \sigma)$ e $(\mu + \sigma)$, à classe IIIa os volumes de $(\mu + \sigma)$ à $(\mu + 2\sigma)$, e à classe IIIb os volumes maiores que $(\mu + 2\sigma)$. Analisando-se a Fig. 3 observa-se um deslocamento gradativo das curvas Normais para a direita, da população Controle para as populações chagásicas Oligospérmica e Azoospérmica. Tal deslocamento evidencia aumento de volume nuclear nestas duas últimas populações, devido à maior frequência de núcleos grandes (classes IIIa e IIIb), ao lado da menor frequência dos núcleos pequenos (classes Ia e Ib).

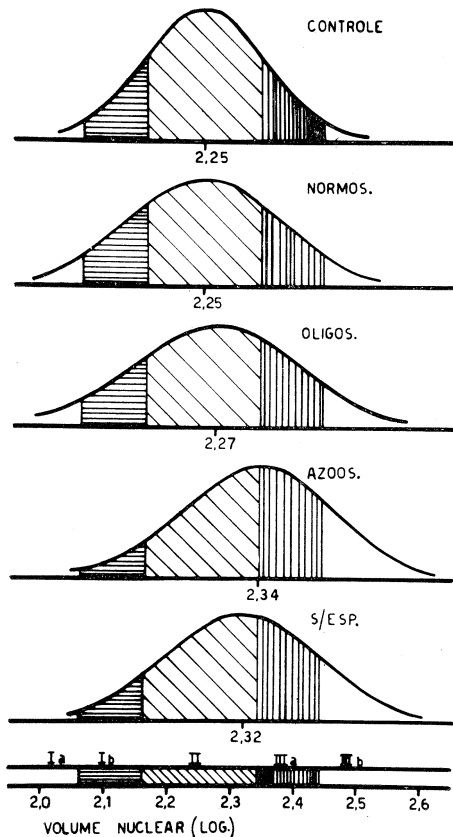


Fig. 3 — Distribuições populacionais dos volumes nucleares das células de Leydig (log), dos indivíduos Controles (CONT.) e Chagásicos Normospérmicos (NORMOS.), Oligospérmicos (OLIGOS.), Azoospérmicos (AZOOS.) e Sem Espermograma (S/ESP.).

- Ia : volumes nucleares $\leq 2,06$
- Ib : volumes nucleares compreendidos entre 2,06 e 2,16
- II : volumes nucleares compreendidos entre 2,16 e 2,35
- IIIa: volumes nucleares compreendidos entre 2,35 e 2,44
- IIIb: volumes nucleares $\geq 2,44$

Na Tabela II, estão relacionadas as frequências relativas das quatro classes de volume nuclear (Ia, Ib, II, IIIa e IIIb), com as categorias de coloração nuclear Clara, Média e Escura. Analisando-se esta tabela observa-se que os núcleos mais frequentes são aqueles de colorações Clara ou Média, com volume pertencente à classe II. Existem algumas tendências bastante claras, quando se comparam os quatro grupos de indivíduos, no sentido do grupo Controle para o Chagásico Azoospérmico: 1) diminuição na frequência das células Claras e Médias, em prol do aumento de frequência das células Escuras; 2) aumento de volume dos núcleos Claros e Médios, evidenciado pelo aumento de frequência daqueles com volumes

pertencentes às classes IIIa e IIIb; 3) ligeiro aumento de volume dos núcleos Escuros, evidenciado pelo aumento de frequência daqueles pertencentes às classes II, IIIa e IIIb. Portanto, os núcleos Claros e Médios, apesar de se tornarem menos frequentes, passaram a exibir volumes maiores, nos grupos chagásicos Oligospérmico e Azoospérmico. Os núcleos Escuros, por outro lado, se tornaram mais frequentes e aumentaram também o volume, nos chagásicos Oligospérmicos e Azoospérmicos.

DISCUSSÃO

As células de Leydig do homem adulto possuem uma diversidade morfológica que sugere níveis funcionais diferentes. Tem-se identificado células de Leydig "imaturas", que parecem originar as células "maduras" funcionalmente ativas, e estas completam o ciclo com uma desdiferenciação (células "em involução") ou, então, com a dissolução dos componentes citoplasmáticos e nucleares (células "em dissolução") (SNIFFEN¹⁹, FAWCETT & BURGOS⁶, LIVNI & col.¹⁷). Tal classificação baseia-se quase que exclusivamente, nos componentes citoplasmáticos das células; porém, no presente trabalho, classificaram-se as células de Leydig de acordo com suas características nucleares, que também devem estar associadas a diferentes níveis funcionais das células (FOX⁹, HELLER & LEACH¹³). Parece razoável considerar que aquelas células de Leydig de núcleo Claro ou Médio, cujo log de volume pertence à classe II, e que representam a maioria, na população destas células, no testículo de homens normais (vide Tabela II), sejam as células funcionalmente ativas ou, então, de maior atividade metabólica. As células de núcleo Escuro, bem menos frequentes na população, devem apresentar atividade diminuída ou ausente. Tal hipótese coaduna com o conceito básico de citologia, segundo o qual, se numa mesma população celular as células apresentam variação no adensamento da cromatina nuclear, aquelas de núcleos claros devem ter maior atividade metabólica (JUNQUEIRA & CARNEIRO¹⁵).

No presente trabalho, observou-se que o testículo de chagásicos crônicos, particularmente aqueles Oligospérmicos e Azoospérmicos, apresentou diminuição na frequência relativa das células Claras e Médias, que devem ter maior atividade metabólica, favorecendo o aumento na frequência das células Escuras; as três ca-

T A B E L A II

Frequências relativas dos volumes (log) dos núcleos Claros, Médios e Escuros das células de Leydig nos indivíduos dos grupos Controle (CONT.) e Chagásicos Normospérmico (NORMOS.), Oligospérmicos (OLIGOS.) e Azoospérmicos (AZOOS.)

Coloração do núcleo	Grupo	Frequências relativas dos volumes nucleares (log) pertencentes às classes:					Total
		Ia	Ib	II	IIIa	IIIb	
C	CONT.	0,0	5,0	53,3	4,7	2,0	65,0
L	NORMOS.	0,9	5,4	52,6	6,8	3,2	68,9
A	OLIGOS.	1,4	5,2	29,5	7,1	5,5	58,7
A	AZOOS.	0,0	0,7	18,1	18,0	25,2	62,0
M	CONT.	0,0	2,7	24,0	2,0	1,0	29,7
E	NORMOS.	0,3	3,1	17,8	0,3	0,3	21,8
D	OLIGOS.	0,6	3,7	18,8	2,3	1,9	27,3
A	AZOOS.	0,0	0,0	16,0	2,7	1,9	20,6
E	CONT.	0,3	0,0	4,9	0,0	0,0	5,2
C	NORMOS.	0,3	0,6	7,2	0,9	0,3	9,3
U	OLIGOS.	0,3	1,7	11,1	0,6	0,3	14,0
R	AZOOS.	0,7	0,0	14,1	1,4	1,2	17,4

tegorias de células aumentaram seus volumes nucleares, sugerindo o aumento da atividade funcional dessas células (FOX⁹). Ao lado disto, o exame histológico evidenciou acentuada diminuição numérica nestas células, além da presença de quantidades anormalmente grandes de células com núcleos irregulares e com sinal de dissolução. Tais observações sugerem que, com a depleção na população de células de Leydig, as remanescentes passaram a exibir hipertrofia compensatória, seguida da exaustão e conseqüente degeneração de muitas delas. Esta seria, realmente, a adaptação esperada, uma vez que as células de Leydig raramente se dividem (FOX⁹) e respondem à maior requisição funcional com hipertrofia e não hiperplasia (HELLER & LEACH¹³).

Para explicar tais alterações, poder-se-ia considerar a ocorrência de parasitismo do testículo pelo *T. cruzi*, na fase aguda da doença, levando à destruição de muitas células de Leydig. Se tal mecanismo patogênico, por si só, não explica as alterações encontradas no epitélio germinativo do homem chagásico crônico (LAMANO CARVALHO & col.¹⁶), poderia explicar as alterações ora observadas no tecido intersticial.

Por outro lado, deve-se considerar também a participação de alterações hormonais, uma vez que a glândula intersticial do testículo está

sob controle do LH hipofisário. MOREIRA¹⁸, realizando dosagens nos níveis de LH do homem chagásico crônico observou, ao lado daqueles com níveis normais, também níveis abaixo e acima da normalidade. Podendo constatar a integridade da adeno-hipófise, atribuiu tais alterações hormonais à provável disfunção do hipotálamo. Acreditamos que, além desta disfunção na modulação da função hipofisária, que bem explicaria os níveis baixos de LH, deve existir uma falência no mecanismo de "feed-back" gônada-hipófise, para explicar a ocorrência dos altos níveis deste hormônio. Como são os estádios mais tardios da espermatogênese, que parecem ser os responsáveis por este mecanismo de "feed-back" (JOHNSEN¹⁴), a parada na maturação das células germinativas, observada nos chagásicos Oligospérmicos e Azoospérmicos (LAMANO CARVALHO & col.¹⁶), poderia levar aos níveis aumentados de LH.

Portanto, dentro da heterogênea população de chagásicos crônicos, existem aqueles com alterações na gônada, e existem também indivíduos com níveis alterados de LH (MOREIRA¹⁸). Esta alteração hormonal, porém, não é suficiente para explicar todas as alterações testiculares do chagásico crônico: não explica a presença de alterações focais no epitélio germinativo, e não explica a ausência de correlação entre as alterações tubulares e aquelas presentes no tecido intersticial (vide resultados de

LAMANO CARVALHO¹⁶ e também do presente trabalho). Como o LH atua sobre o epitélio germinativo por meio das células de Leydig, é de se esperar que alterações nos níveis desse hormônio provoquem alterações no tecido intersticial, que se reflitam homogeneamente em toda extensão do epitélio tubular.

LAMANO CARVALHO & col.¹⁶ sugeriram que as alterações do epitélio germinativo, presentes em muitos homens chagásicos crônicos, se devam primariamente à desnervação de gânglios do Plexo Pélvico. É possível que estes gânglios, além da função trópica sobre o epitélio tubular, determinando provavelmente a sensibilidade das células germinativas ao estímulo hormonal (COUJARD^{3,4,5}), sejam responsáveis também pela atividade normal do tecido intersticial, determinando a sensibilidade das células de Leydig ao LH hipofisário.

Dos resultados do presente trabalho e também das observações de LAMANO CARVALHO¹⁶, tem-se que a população de chagásicos crônicos é bastante heterogênea, no tocante à alterações presentes no epitélio germinativo e também no tecido intersticial; tal fato fica mais evidenciado no grupo de chagásicos Sem Espermograma, no qual se puderam constatar lesões condizentes com Azoospermia até Normospermia. Para explicar esta diversidade, deve-se considerar a participação aleatória de três mecanismos inter-relacionados, atuando simultaneamente ou ao longo da evolução da doença: a) a desnervação dos centros nervosos que controlam a atividade hipofisária; b) a desnervação de gânglios do Plexo Pélvico, que controlam a atividade da gônada e órgãos sexuais acessórios; c) o parasitismo do tecido intersticial do testículo pelo *T. cruzi*, na fase aguda da Moléstia de Chagas.

SUMMARY

Alterations of the human testicle in Chagas' disease. II — Morphometric study of the interstitial tissue

Morphometric and histological analysis of the interstitial tissue were carried out on testicle biopsies obtained from chronic Chagasic patients, previously divided into Normospermous, Oligospermous, Azoospermous and Spermless groups. In which a previous examination has revealed the presence of different grades of changes in the germinal epithelium (LAMANO CARVALHO et al.¹⁶). The results for

volume and chromatin density in the nuclei of Leydig cells, as well as the observations obtained by histological analysis, were compared with those obtained for the testicle of non-chagasic individuals. The data obtained in chagasic patients suggest that, as depletion of the population of Leydig cells occurs, the remaining cells might acquire increased functional activity, thus being frequently led to exhaustion and degeneration. In order to explain the occurrence of such alterations, as well as the one found previously in the germinal epithelium (LAMANO CARVALHO et al.¹⁶), we raised the hypothesis of a possible aleatory participation of three interrelated mechanisms: the denervation of the nervous centers controlling hypophysary activity, the denervation of ganglia in the Pelvic Plexus, the parasitic infestation of the testicle by *T. cruzi*, during the acute phase of Chagas' disease.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Gyorgy Böhm, pelo fornecimento do material do grupo Controle. Ao Prof. Dr. Euclides Custódio de Lima Filho, pela orientação na análise estatística. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), que subvencionou a realização do presente trabalho.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CHAGAS, C. — Processos patojenicos da tripanozomiose americana. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 8: 5-36, 1916.
2. CHAGAS, C. — Tripanozomiose americana. Forma aguda da moléstia. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 8: 37-63, 1916.
3. COUJARD, R. — Action du sympathique terminal sur la sensibilité aux hormones gonadotropes. *C. R. Soc. Biol.* 145: 1492-1493, 1950.
4. COJARD, R. — Effects sur le testicule et l'épididyme de la phénolisation des fibres nerveuses. *C. R. Soc. Biol.* 145: 704-706, 1952.
5. COUJARD, R. — Retentissement de lésions ganglionnaires sympathiques sur le réceptivité aux hormones sexuelles. *C. R. Soc. Biol.* 144: 1360-1362, 1950.
6. FAWCETT, D. W. & BURGOS, M. H. — Studies on the fine structure of the mammalian testis. II. The human interstitial tissue. *Am. J. Anat.* 107: 245-270, 1960.
7. FERREIRA, A. L. — Patogênese das lesões testiculares e epididimárias em cobaios infectados experimentalmente com *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 12: 69-87, 1970.

8. FERREIRA, A. L. & ROSSI, M. A. — Pathology of the testis and epididymis in the late phase of experimental Chagas's disease. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 22: 699-704, 1973.
9. FOX, W. — Seasonal variation in the male reproductive systems of Pacific Coast Garter Snakes. *J. Morph.* 90: 481-554, 1952.
10. HADDAD, J. & RAIÁ, A. — Alterações sexuais após o tratamento cirúrgico do megacólon congênito e adquirido. *Rev. Assoc. Med. Brasil.* 15: 509-512, 1969.
11. HADDAD, J.; RAIÁ, A. & EHRART, E. A. — Estudo das atividades sexuais nos pacientes portadores de megacólon, antes e após a retossigmoidectomia abdominoperineal. *Rev. Paul. Med.* 55: 343-354, 1959.
12. HARTZ, P. H. & TOLEDANO, D. — Specific orchitis in Chagas's disease. *Documenta de Medicina Geográfica et tropica* 6: 124-130, 1954.
13. HELLER, C. G. & LEACH, D. R. — Quantification of Leydig cells and measurement of Leydig-cell size following administration of human chorionic gonadotrophin to normal men. *J. Reprod. Fert.* 25: 185-192, 1971.
14. JOHNSEN, S. G. — The stage of spermatogenesis involved in the testicular-hypophyseal feed-back mechanism in man. *Acta Endocr.* 64: 193-210, 1970.
15. JUNQUEIRA, L. C. & CARNEIRO, J. — *Citologia Básica*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1973, p. 148.
16. LAMANO CARVALHO, T. L.; FERREIRA, A. L. & SAHÃO, M. A. — Alterações do testículo humano na Moléstia de Chagas. I. Avaliação da cinética da espermatogênese. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 24: 205-213, 1982.
17. LIVNI, N.; PALTÍ, Z.; SEGAL, S. & LAUFER, A. — Fine structure of Sertoli and Leydig cells in azoospermic human testis. *Arch. Path. Lab. Med.* 101: 442-445, 1977.
18. MOREIRA, A. C. — *Regulação da secreção do hormônio luteinizante em pacientes do sexo masculino com Moléstia de Chagas crônica*. [Tese de Doutorado]. Fac. Med. Ribeirão Preto, 1978.
19. SNIFFEN, R. C. — The testis. I. The normal testis. *Arch. Path.* 50: 259-268, 1950.
20. VALERI, V.; CRUZ, A. R.; BRANDÃO, J. S. H. & LISON, L. A. — Relationship between cell nuclear volume and deoxyribonucleic acid of cells of normal epithelium, of carcinoma "in situ" and of invasive carcinoma of the uterine cervix. *Acta Cytol.* 11: 488-496, 1967.
21. VIANNA, C. — Contribuição para o estudo da anatomia patológica da Moléstia de Chagas. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 3: 276-293, 1911.

Recebido para publicação em 23/4/1981.