

Volume dos núcleos das células do testículo de ratos sob efeitos da ofloxacina¹

Study of nuclear volume of testicular cells in rats after the use of ofloxacin

Vânia Del'Arco Paschoal²

Andréa Batista Rossit³

Luiz O. Bizutti⁴

Reinaldo Azoubel⁵

Resumo

A ofloxacina possui amplo espectro de ação antimicrobiana, inclusive no combate ao *Mycobacterium leprae*, sendo atualmente empregada em substituição, quando da impossibilidade do uso da rifampicina. O objetivo deste foi estudar alterações nos núcleos das células do testículo de ratos púberes e respectivos grupos controle, submetidos à aplicação oral de ofloxacina. O método utilizado foi a morfometria, pela técnica cariométrica. As principais estruturas observadas nas preparações histológicas dos testículos foram: as células de Leydig, as espermatogônias e as células de Sertoli. Foram utilizados 09 ratos (Wistar), cinco tratados e quatro controles, aos quais foram administrados diariamente 12 mg/Kg/peso de ofloxacina, do 34º ao 48º dia após o nascimento. No 49º dia de vida, os ratos foram sacrificados. O estudo cariométrico das células de Leydig, das espermatogônias e das células de Sertoli de testículos dos animais tratados não evidenciou mudanças significativas na forma de seus núcleos ($p > 0,05$), quando comparados aos controles. Conclui-se que a ofloxacina na dose e período empregados não promoveu alterações nos constituintes celulares de testículos de ratos púberes.

Palavras-chave: hanseníase; testículos; ratos; ofloxacina; volume nuclear; cariometria

Recebido em 03/05/2004. Última revisão em 26/05/2005. Aceito em 10/06/2005
Instituição: Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FAMERP).
Av. Brigadeiro Faria Lima, 5416. CEP: 15.090-000. São José do Rio Preto, SP, Brasil. Fone: (017)2275733.

✉ Vânia Del'Arco Paschoal. Rua Rio Negro, 165, Jardim Aclimação, CEP 15091-390, São José do Rio Preto, SP. Telefone: 17-2279031; Fax: 17-2279031 / 17-81117924. vania@famerp.br ou vaniapaschoal@yahoo.com

¹ Este artigo é parte da Tese de doutorado "Efeitos da ofloxacina no desenvolvimento dos testículos de ratos: estudo cariométrico", da 1ª autora, defendida em dezembro de 2002, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, SP., sob a orientação do Prof. Dr. Reinaldo Azoubel

² Prof. Drª. da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, Departamento de Enfermagem em Saúde Coletiva e Orientação Profissional.

³ Prof. Drª. da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, Departamento de Doenças Dermatológicas, Infecciosas e Parasitárias.

⁴ Técnico do biotério da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto Prof. Dr. Coordenador Geral Suplente do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto.

Introdução

A inclusão da ofloxacina como alternativa terapêutica para a hanseníase deve ser feita com cautela, uma vez que se encontram descritos, entre outros, danos testiculares decorrentes de seus efeitos adversos^{1,2}. Sabe-se que o *Mycobacterium leprae* também pode exercer ação deletéria sobre o tecido testicular^{3,4} e tendo em vista, os efeitos sobre os testículos, do uso da droga em estudo, faz-se importante que se estabeleça o grau de toxicidade desse fármaco visando a prevenção de complicações do órgão alvo. A ofloxacina é uma quinolona considerada uma droga de eleição por ser a mais bem tolerada e por possuir amplo espectro de ação antimicrobiano⁵. Por outro lado, seu efeito tóxico, pode levar a malformações, diminuição do peso de fetos de rato, retardo no desenvolvimento com artropatia em animais jovens e redução morfo-funcional do testículo em animais jovens⁶ e adultos^{1,2}.

Na hanseníase, a infiltração bacilar comprometendo os testículos pode resultar em alterações hormonais, redução testicular, ginecomastia, distribuição feminina de pêlos, provocando o hipogonadismo e até a infertilidade^{3,4}, distúrbios que poderiam ser potencializados pelo uso da droga em estudo.

Na complexidade da espermatogênese são inúmeras as substâncias, entre elas, a ofloxacina, que teriam a capacidade de atuar em diferentes níveis do processo de formação dos espermatozoides, ocasionando danos reversíveis ou irreversíveis. O presente estudo tem como objetivo quantificar por meio da cariometria, as possíveis alterações nos núcleos das células do testículo de ratos tratados com ofloxacina.

Material e Método

Após aquiescência da Comissão de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FAMERP), em 30/08/2000, foram empregados nove ratos (*Ratus norvegicus*), da

variedade Wistar, sendo cinco filhotes para o grupo tratado e quatro para o grupo controle.

Método

A droga utilizada neste estudo foi a ofloxacin (Floxacin - Janssen & Cilag®), na dose de 12 mg/kg de peso corporal, por via gástrica. Optou-se pela utilização da dose terapêutica, levando-se em consideração que a dose administrada para tratamento de adulto humano (de até 70 kg) é de 800 mg/dia, de 7 a 14 dias consecutivos.

Determinação do tratamento dos animais

Após determinar o primeiro dia de gestação, as fêmeas foram mantidas em gaiolas individuais e posteriormente à lactação, os filhotes machos foram escolhidos ao acaso: cinco tratados e quatro para o grupo controle. Do 34º ao 48º dia pós-natal, (período considerado de puberdade para o animal), foram administrados, diariamente, 12 mg/Kg de peso corporal de ofloxacin dissolvidos em 4 ml de água destilada, diretamente no estômago dos ratos, por meio de sonda gástrica. Aos animais do grupo de controle foi administrada a mesma quantidade de solução salina. Para alimentação diária, todos os ratos foram mantidos com ração comercial (Purina®) e água *ad libitum*. O 49º dia após o nascimento marcou o término do período experimental e os ratos foram, então, sacrificados por inalação de éter anestésico.

Técnica histológica

Todos os animais deste experimento foram imersos em solução fixadora (Álcool a 70% - 85 ml, formalina 10% - 10ml - ácido acético 5% - 5ml) durante 24 horas. Decorrido este período foram secados e pesados em balança de precisão Mettler H64 (Mettler-Toledo Moisture Balances) com sensibilidade de décimo de miligrama e, em seguida, lavados em água destilada e imersos em álcool a 80%. Posteriormente, os testículos foram retirados por incisão inguinal ou escrotal. Foram cortados transversalmente, desidratados, diafanizados e incluídos em parafina. Tais inclusões foram seccionadas com 5 mm de espessura e, numa seqüência total de 100 cortes, selecionaram-se nove cortes de cada bloco.

Na seqüência, realizou-se a coloração com Hematoxilina e Eosina para avaliação histológica, cujas principais estruturas observadas dos testículos foram a túnica albugínea, as células de Leydig, o epitélio germinativo, as células de Sertoli, as espermatogônias e os espermatozoides.

Técnica morfométrica : cariometria

As imagens dos núcleos das células dos testículos foram projetadas sobre papel branco, com aumento final de 1.240 vezes, utilizando-se o microscópio óptico H500 Wetzlar (Helmut Hund GmbH, Alemanha) com objetiva de imersão Leitz (Alemanha), munido de câmara clara Leitz Wetzlar, onde para cada um dos animais, foram consideradas 50 imagens nucleares de cada um dos três tipos de células estudadas. As imagens foram obtidas pela projeção da câmara clara, contornadas com lápis e calculados os seus diâmetros maiores (D) e diâmetros menores (d), com auxílio de papel milimetrado. A partir desses diâmetros foram estimados os seguintes parâmetros nucleares, de acordo com as fórmulas indicadas a seguir⁷:

VARIÁVEIS	FÓRMULA
Diâmetro médio (µm)	$M = (D \cdot d)^{1/2}$
Perímetro (µm)	$P = (\pi/2) \cdot [3/2 \cdot (D+d) - M]$
Relação diâmetro D/d	$R = D/d$
Volume (µm ³)	$V = \pi \cdot 1/6 \cdot M^3$
Área (µm ²)	$A = \pi \cdot 1/4 \cdot M^2$
Relação área/volume	$V/A = 2/3 \cdot M$
Coefficiente de forma	$F = 4 \cdot \pi \cdot A \cdot 1/P^2$
Índice de contorno	$I = P/A^{1/2}$
Excentricidade	$E = [(D+d)^{1/2} \cdot (D-d)^{1/2}] \cdot 1/D$

Análise estatística

Para análise dos parâmetros obtidos pela cariometria nos dois grupos, tratados e controles, foi utilizado um "software" previamente descrito por Maia Campos e Sala (Departamento de Estomatologia da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, USP)⁷. Para o tratamento estatístico empregou-se o teste de Mann-Whitney (não paramétrico), determinando para os testes intervalo de confiança de 95%.

Resultados e Discussão

Órgão alvo: Os testículos apresentavam-se localizados extra-abdominais, retidos pelo escroto, sendo semelhantes em forma, volume e coloração. Ao microscópio apresentavam vasos e túnicas albugíneas com características normais e inúmeros túbulos seminíferos. Estes continham lúmen e as células de Sertoli, espermatogônias, espermatócitos I e II e espermatozoides na luz. As células de Leydig estavam contidas no interstício, entre os túbulos. Quanto às características morfológicas, os testículos dos ratos estudados apresentaram-se dentro do esperado para a idade⁷⁻⁹.

Células alvo: (Leydig, Sertoli e espermatogônias) conforme as Tabelas 1 a 3 pode-se observar que

o estudo cariométrico das células de Leydig, das células de Sertoli e das espermatogônias dos ratos tratados mostrou resultados semelhantes àqueles obtidos para o grupo controle ($p > 0,05$), em todos os parâmetros estudados (diâmetro maior, diâmetro menor, diâmetro médio, relação do diâmetro maior/menor, perímetro, área, volume, relação volume/área, excentricidade, coeficiente de forma e índice de contorno).

Tabela 1. Valores dos dados das variáveis estudadas dos núcleos das células de Leydig de ratos submetidos à ofloxacina e controles. N = células de Leydig.

Variáveis	Grupo Controle n = 300			Grupo Tratado n = 250			p*
	Média	Dp	Mediana	Média	Dp	Mediana	
DM	16,41	0,84	16,24	15,79	0,29	15,66	ns
Dm	12,70	0,61	12,52	12,66	0,31	12,54	ns
Dme	14,40	0,66	14,08	14,10	0,28	13,98	ns
DM/m	1,30	0,04	1,32	1,25	0,02	1,26	ns
V	1429,60	217,45	1334,60	1366,90	92,74	1327,80	ns
A	164,83	15,98	156,99	158,25	6,29	154,94	ns
V/A	8,44	0,40	8,34	8,44	0,20	8,36	ns
P	48,64	2,35	47,89	47,15	0,84	46,94	ns
E	0,60	0,04	0,61	0,57	0,02	0,58	ns
IC	3,81	0,04	3,82	3,77	0,02	3,77	ns
CF	0,87	0,02	0,86	0,88	0,01	0,89	ns

DM: Diâmetro maior; Dm: Diâmetro menor; Dme: Diâmetro médio; DM/m: Diâmetro Maior/menor; V: Volume; A: Área; V/A: Volume/Área; P: Perímetro; E: Excentricidade; IC: Índice de contorno; CF: Coeficiente de forma
*: Teste de Mann-Whitney. ns: Não significante ao nível de 5%.

Tabela 2. Valores dos dados das variáveis estudadas dos núcleos das espermatogônias de ratos submetidos à ofloxacina e controles. N = células espermatogônias

Variáveis	Grupo Controle n = 300			Grupo Tratado n = 250			p*
	Média	Dp	Mediana	Média	Dp	Mediana	
DM	16,24	0,43	16,22	16,64	0,73	16,80	ns
Dm	11,74	0,72	11,96	12,56	0,41	12,56	ns
Dme	13,78	0,58	13,87	14,43	0,51	14,71	ns
DM/m	1,39	0,06	1,36	1,34	0,04	1,32	ns
V	1212,20	177,25	1242,50	143,50	142,63	1506,10	ns
A	150,89	12,78	152,55	165,86	11,80	172,19	ns
V/A	7,89	0,47	7,97	8,37	0,27	8,37	ns
P	47,49	1,49	47,42	49,09	1,97	49,73	ns
E	0,67	0,03	0,66	0,63	0,02	0,63	ns
IC	3,89	0,05	3,86	3,84	0,03	3,83	ns
CF	0,83	0,02	0,84	0,85	0,01	0,86	ns

DM: Diâmetro maior; Dm: Diâmetro menor; Dme: Diâmetro médio; DM/m: Diâmetro Maior/menor; V: Volume; A: Área; V/A: Volume/Área; P: Perímetro; E: Excentricidade; IC: Índice de contorno; CF: Coeficiente de forma
*: Teste de Mann-Whitney. ns: Não significante ao nível de 5%.

Tabela 3. Valores dos dados das variáveis estudadas dos núcleos das células de Sertoli de ratos submetidos à ofloxacina e controles. N = células de Sertoli.

Variáveis	Grupo Controle n = 300			Grupo Tratado n = 250			p*
	Média	Dp	Mediana	Média	Dp	Mediana	
DM	22,85	0,81	22,64	22,12	0,94	21,76	ns
Dm	15,75	0,85	15,82	15,68	1,38	15,72	ns
Dme	18,86	0,64	18,89	18,52	0,62	18,50	ns
DM/m	1,50	0,10	1,51	1,46	0,20	1,37	ns
V	3116,30	378,28	3161,30	2953,00	444,07	2856,30	ns
A	284,54	19,68	285,66	272,91	18,55	272,45	ns
V/A	10,50	0,57	10,55	10,45	0,92	10,48	ns
P	66,21	2,08	65,66	64,44	1,56	64,62	ns
E	0,68	0,04	0,69	0,66	0,08	0,63	ns
IC	3,97	0,08	3,98	3,94	0,17	3,86	ns
CF	0,80	0,03	0,80	0,82	0,06	0,85	ns

DM: Diâmetro maior; Dm: Diâmetro menor; Dme: Diâmetro médio; DM/m: Diâmetro Maior/menor; V: Volume; A: Área; V/A: Volume/Área; P: Perímetro; E: Excentricidade; IC: Índice de contorno; CF: Coeficiente de forma
*: Teste de Mann-Whitney. ns: Não significante ao nível de 5%.

Os resultados do presente trabalho indicaram que a ofloxacina não afetou as células testiculares os ratos púberes, fato que poderia estar associado à ausência de efeitos da droga nesta idade, ou ainda às doses ou períodos empregados. Na puberdade, os túbulos seminíferos, estimulados principalmente pelos hormônios gonadotrópicos, sofrem maturação, adquirem lúmen, caracterizando a forma adulta da espermatogênese⁸⁻¹¹.

Assim, a puberdade é caracterizada pela rápida maturação física e sexual, onde a capacidade de reprodução é concretizada^{12,13} e o desenvolvimento celular atinge a fase de diferenciação completa.

Quando se considera o complexo processo da espermatogênese^{11,14}, duas ordens de fatores podem ser determinadas: a razão (ritmo ou duração) e a produção da espermatogênese (maturidade ou imaturidade), podendo-se concluir que os efeitos tóxicos podem atingir, indiscriminadamente, um e/ou outro determinante¹⁵. Na dosagem utilizada por este estudo, a administração de ofloxacina não apresentou resultados significantes e diferentes entre os grupos estudados em relação aos parâmetros da cariometria, porém registros na literatura indicam a sua ocorrência quando do uso de concentrações mais elevadas². A ofloxacina causou a diminuição na quantidade e na motilidade de espermatozoides, quando ministrada em doses de 75 mg/kg de peso corporal, por 7 dias. Notou-se também, uma diminuição gradativa na produção diária de espermatozoides e na sua motilidade, na medida em que a dose era aumentada, bem como o tempo de apli-

cação da droga: 36, 72, 360 mg/kg de peso corporal, por 15 dias. Ainda no mesmo trabalho, após avaliação histológica, constatou-se atrofia dos túbulos seminíferos após administração de doses de 135mg/kg de peso corporal, durante 15 dias, além da proliferação exacerbada das células intersticiais, o que provocou impacto sobre as espermatogônias e o desaparecimento das células de Leydig, quando foi atingida a dose de 360 mg/kg de peso corporal², o que não aconteceu neste presente estudo, na dose terapêutica administrada.

Entre os elementos causadores de alterações testiculares estão os herbicidas¹⁶ e as toxinas vegetais de ação sistêmica¹⁷, conhecidos pela redução significativa que promovem no número de espermatozóide.

O estresse exerce um efeito semelhante em ratos e em humanos¹⁸ e o tabagismo masculino é um dos principais fatores associados à redução da quantidade do sêmen, incluindo a concentração de espermatozóides, desordens na motilidade e nos níveis hormonais¹⁹.

Na hanseníase, a infiltração do *Mycobacterium leprae* e/ou a ocorrência das reações hansênicas podem envolver os testículos e provocar alterações na espermatogênese, tais como o declínio significativo na concentração, no volume do sêmen, resultantes da diminuição do volume testicular. A demonstração da presença de anticorpos antiesperma seria indicativa que a infecção pelo bacilo também promova a diminuição da motilidade espermática²⁰⁻²².

Deve-se também levar em consideração que, no caso de drogas antivirais, como o aciclovir, em ratos adultos, ocorreu a diminuição do número de espermátides e espermatozóides²³, muito embora o mesmo produto encontrado no sêmen humano, em alta concentração plasmática, não cause alterações no número, motilidade ou morfologia dos espermatozóides²⁴.

De maneira semelhante, na ocorrência da hipervitaminose A, em ratos adultos, foram encontradas lesões nos túbulos seminíferos e redução no volume das células de Leydig, no ritmo da espermatogênese e nos níveis do hormônio luteizante sendo, porém, tais alterações reversíveis após 50 dias da retirada dessa vitamina²⁵.

O uso da ofloxacina na fase fetal e lactação promoveu mudanças significativas em núcleos testiculares de ratos. Na fase fetal, por meio da cariometria, com uso de 12 mg/Kg de peso materno, no 100 dia de gestação encontrou-se modificação na forma dos núcleos das células de Leydig, diminuição do formato e aumento do volume dos núcleos dos gonócitos pequenos e alteração da forma dos núcleos dos gonócitos grandes. Já na lactação, durante o período de 25 dias de vida, as mães receberam, 12 mg/ Kg/peso

corporal/dia de ofloxacina e observou-se modificação na forma e aumento do volume dos núcleos das células de Sertoli⁶.

A ofloxacina

A opinião dos pesquisadores em relação ao uso das quinolonas permanece controversa, dividida sobre os efeitos adversos que essas drogas produzem, inclusive a ofloxacina.

O emprego da droga em estudo, em animais, principalmente no rato, sugere alterações da fertilidade²⁶ e nas vértebras de fetos, quando utilizada em altas doses²⁷, impossibilitando o tratamento de animais jovens²⁸. Há também a possibilidade da terapêutica com a ofloxacina, na dosagem de 10 mg/kg por 11 dias, alterar a espermatogênese, provocando diminuição da produção de espermatozóides²⁹. Além disso, em seres humanos, foi observada a ocorrência de miastenia grave por ação da ofloxacina^{30,31}, ruptura de tendões de Aquiles e articulações do joelho, em adultos³²⁻³⁴, bem como, nefrotoxicidade³⁵, neuropatia periférica³⁶, reação gastrointestinal e arritmia cardíaca, com o emprego das quinolonas³⁷, entre outros.

Contrariamente, estudiosos da reprodução em mamíferos, testando a ofloxacina, não encontraram efeitos adversos, nas doses de 350 mg/dia, ao investigarem a toxicidade maternal e a embriotoxicidade²⁷.

Para esses autores, não há evidências de que a ofloxacina oral, quando ministrada a ratos e coelhos, no período da embriogênese, cause danos na fertilidade ou efeitos adversos tardios no desenvolvimento fetal, trabalho de parto, lactação ou crescimento de recém-nascidos²⁷.

Da mesma forma, alguns autores não encontraram problemas de toxicidade fetal e neonatal, relacionados ao período do nascimento, em filhos de 549 mulheres grávidas, expostas às quinolonas³⁸.

Os seus benefícios, porém, são incontestáveis por sua excelência e amplo espectro de ação contra a infecção bacteriana^{37,39}. Porém, o uso indiscriminado das quinolonas deve ser considerado. As novas quinolonas devem ser utilizadas como agentes terapêuticos, com cautela, no tratamento de infecções, avaliando-se o risco/benefício⁴⁰ e monitorando-se os efeitos adversos já expostos.

Conclusão

A ofloxacina, ministrada na dosagem de 12 mg/Kg de peso, em ratos Wistar, do 34º ao 48º dia pós-natal, não afetou o tamanho e a forma dos núcleos das células de Leydig, das espermatogônias e das células de Sertoli.

Abstract

Ofloxacin presents an ample spectrum of antimicrobial action, including combating *Mycobacterium leprae*, and is currently employed as a substitute when the use of rifampicin is impossible. The objective of the present work was to study alterations in the nuclei of testicular cells in pubescent rats submitted to oral application of ofloxacin, and respective control groups. The method utilized was morphometry by the cariometric technique. The principle structures observed in histological preparations of the testicles were Leydig cells, spermatogonias, and Sertoli cells. 09 Wistar rats were utilized, five treated and four controls, who received 12 mg of ofloxacin per Kg of body weight, from the 34th to 48th day after birth. On the 49th day the rats were killed. The cariometric study of the Leydig cells, spermatogonias and Sertoli cells revealed that there were no significant changes in the forms of their nuclei ($p > 0.05$), permitting the conclusion that, at the doses used, the testicular cells suffered no alterations.

Key-words: leprosy; testicular cells; cariometric; nuclear volume; ofloxacin

Referências Bibliográficas

- 1 Watanabe T, Fujikawa K, Harada S, Ohura K, Sasaki T, Takayama S. Reproductive toxicity of the new quinolone antibacterial agent levofloxacin in rats and rabbits. *Arzneimittelforschung* 1992; 43(3A):374-7.
- 2 Abd-Allah AR, Aly HA, Moustafa AM, Abdel-Aziz AA, Hamada FM. Adverse testicular effects of some quinolone members in rats. *Pharmacol Res* 2000; 41(2):211-219.
- 3 Fleury RN. Comprometimento visceral na hanseníase. In: *Noções de Hansenologia*. Bauru: Hospital Lauro de Souza Lima. Centro de Estudos Dr. Reynaldo Quagliato 1981. p.47-53.
- 4 Sapota L, Yeksel A. Androgenic status in patients with lepromatous leprosy. *Br J Urol* 1994; 74(2):221-4.
- 5 Brady TM, Larner J, Minneman KP, Neu HC. *Farmacologia humana: da molécula à clínica*. 2ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997.
- 6 Paschoal VDA. Efeitos da ofloxacina no desenvolvimento dos testículos de ratos: estudo cariométrico. [tese] São José do Rio Preto: Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto; 2002.
- 7 Sala MAM, Matheus M, Valeri VA. A new stereological method for estimation: the thickness of a cellular layer on random sections. *Mikroskopie Wien* 1981; 38(516):127-130.
- 8 Miraglia SM, Hayashi H, Goldfeder EM. Histomorfometria dos testículos de ratos albinos normais em várias idades. *Rev bras ciênc morfol* 1990; 7(1):8-15.
- 9 Santos HSL, Azoubel R. *Embriologia comparada: texto e atlas*. Jaboticabal: FUNEP; 1996.
- 10 Sadler TW. *Langman/Embriologia médica*. 7ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997.
- 11 Zanato VF, Martins MP, Anselmo-Franci JA, Petenusci SO, Carvalho-Lamano TL. Sexual development of male Wistar rats. *Braz j med res* 1994; 27:1273-1280.
- 12 Rosa e Silva AAM, Guimarães MA, Lamano-Carvalho TL, Kempinas WG. Chemical sympathectomy blocks androgen biosynthesis during prepuberty. *Braz j biol res* 1995; 28(10):1109-12.
- 13 Moore K, Persaud TVN. *Embriologia clínica*. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000.
- 14 Rugh R. *The Mouse: its reproduction and development*. Minneapolis: Burgess Publishing Co; 1968.
- 15 Clearmont Y, Harvey SC. Duration of the cycle of the seminiferous epithelium of normal hypophysectomized and hypophysectomized-hormone treated albino rats. *Endocrinology* 1965; 76:80-89.
- 16 Dallegrave E, Langeloh A, Dalsenter PR, Mantese FG. Toxicidade reprodutiva do herbicida glifosato em ratos. *Anais. XVI Latinamerican Congress of Pharmacology, XXXII Brazilian congress of Pharmacology and experimental Therapeutics, II Iberoamerican Congress of Pharmacology, VII Interamerican Congress of clinical Pharmacology and therapeutics*. Form new molecules to new methods for health and knowledge in the beginning of new millennium. Águas de Lindóia, São Paulo, Brasil; 2000. Set 13-17. p.375.
- 17 Mello FB, Mello JRB, Jacob D, Álvares FT, Carvalho KC, Driemeir D. Efeitos do extrato hidroalcoólico (70:30) de *Lantana camara* Verbenaceae (Linn) sobre o trato reprodutivo de ratos Wistar. *Anais. XVI Latinamerican Congress of Pharmacology, XXXII Brazilian congress of Pharmacology and experimental Therapeutics II Iberoamerican Congress of Pharmacology, VII Interamerican Congress of clinical Pharmacology and therapeutics*. Form new molecules to new methods for health and knowledge in the beginning of new millennium. Águas de Lindóia, São Paulo, Brasil; 2000. Set 13-17. p. 376.
- 18 Almeida, SA, Anselmo-Franci, JA, Rosa e Silva, AAM, Kempinas, WG, Lamano, Carvalho, TL. Prolonged intermittent immobilization-stress applied throughout sexual development of male rats. In: Rosa e Silva AAM. *Br monographs of reproduction & catalog group* 2001. São Paulo: Arte & Ciência; 2001.
- 19 Mello PRB; Pinto GR, Bøtelho C. Influência do tabagismo na fertilidade, gestação e lactação. *J pediat* 2001; 4(77).
- 20 Gupta SC, Singh PA, Bajaj AK, Budhraj BK, Tripathi A. Antispermatozal antibodies in leprosy with reference to their morphological patterns. *Indian J Lepr* 1986; 58 (2):196-201.
- 21 Sirmuor SK, Verma PK, Singh JN, Okhandiar RP. Semen biochemistry of leprosy patients *Indian j lepr* 1997; 69(3):251-4.
- 22 Hering FLO, Srougi M *Urologia: diagnóstico e tratamento*. São Paulo: Roca; 1998. cap 34.
- 23 Faqi AS, Klug A, Merker HJ, Chahoud I. Ganciclovir induces reproductive hazards in male rats after short-term exposure. *Hum exp toxicol* 1997; 16:505-11.
- 24 Douglas Jr JM, Davis LG, Remington ML, Parselsen CA, Perrin EB, Goodman P. Double-blind, placebo-control trial comparing long term suppressive with short-term oral acyclovir therapy for management of recurrent genital herpes. *Am j med* 1988; 85(Supl 2A):20-5.
- 25 Lamano Carvalho TL, Lopes RA, Azoubel R, Ferreira AL. Morphometric study of the reversibility of testicle alteration in rats submitted to hypervitaminosis A. *Int j vitam nutr* 1978; 48(4):316-24.
- 26 Abd-Allah ARA, Gannam BA, Hamada FMA. The impact of ofloxacin on rat testicular DNA: application of image analysis *Pharmac res* 2000; 42(2):145-150.
- 27 Davis GJ; Mckenzie DVM. Evaluations of ofloxacin. *Am j med dez* 1989; 29(87) supl 6C:43-46.

- 28 Yoshida K, Yabe K, Nishida S, Yamamoto N, Ohshima C, Sekiguchi M, Yamada K, Furuhashi K. Pharmacokinetic disposition and arthropathic potential of oral ofloxacin in dogs. *J vetpharmacol ther* 1998; 21:128-132.
- 29 Crotty KL, May R, Kulvicki A, Kumar D, Neal De Jr. The effect of antimicrobial therapy on testicular aspirate flow cytometry. *J urol* 1995; 153(3 pt1):835-8.
- 30 Azevedo E, Ribeiro JA, Polonia J, Pontes C. Probable exacerbation of myasthenia gravis by ofloxacin. *J neurol* 1993; 240:508.
- 31 Murray CK, Wortmann GW. Trovafloxacin-induced weakness due to a demyelinating polyneuropathy. *Souther med j* 2000; 93(5):491-6.
- 32 Lê Huec JC, Schaefferbeke T, Chauveaus D, Rivel J, Dehais J, Lê Rebeller A. Epidondylitis after treatment with fluoroquinolone antibiotics. *J bone jt sur* 1995; 77(2): 293-5.
- 33 Casparian JM, Luchi M. Quinolones and tendon ruptures. *Souther med j* 2000; 93(5): 487-491.
- 34 Kappel EM, Shakibaei M, Bello A, Stahlmann R. Effects of the Des-F(6)-quinolone garenoxacin (BMS-284756), in comparison to those of ciprofloxacin and ofloxacin, on joint cartilage in immature rats. *Antimicrob agents chemother* 2002; 46(10):3320-2.
- 35 O'Donnell JA, Gelone SP. Fluorquinolones. *Infec dis clin North Am* 2000; 14(2):489-513, xi.
- 36 Cohen JS. Peripheral Neuropathy associated with fluorquinolones. *Ann pharmacother res reports* 2001; 35(12):1540-7.
- 37 Stahlmann R. Clinical toxicological aspects of fluorquinolones. *Toxicol Lett* 2002; 127(1-3):269-277.
- 38 Shaefer C et al. Pregnancy outcome after prenatal exposure. Evolution of a case registry of the European Network of teratology information Services. *Eur j obstet gynecol reprod biol* 1996; 69(2):83-89.
- 39 Litt JZ. Fluorquinolones [editorial]. *Souther med j* 2000; 93(5):325.
- 40 Drlica K, Schmitz FJ. Therapeutic options in era of decreasing antimicrobial susceptibility. *J chemother* 2002; 14(suppl2):5-12.