

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

MESTRADO EM PATOLOGIA

**EFEITOS DA UTILIZAÇÃO DAS DIFERENTES DOSES
DE OLANZAPINA SOBRE A ESPERMATOGÊNESE EM
RATOS WISTAR**

SIMONE DE SIQUEIRA BRINGEL

RECIFE

2009

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

MESTRADO EM PATOLOGIA

SIMONE DE SIQUEIRA BRINGEL

**EFEITOS DA UTILIZAÇÃO DAS DIFERENTES DOSES
DE OLANZAPINA SOBRE A ESPERMATOGÊNESE EM
RATOS WISTAR**

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação - Mestrado em Patologia – área de concentração: Morfologia Aplicada, da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de mestre.

Orientador: Prof. Dr. Ademar A. de Amorim Júnior

Coorientadores: Prof^ª Dr^ª Marleyne José A. A. L. Amorim

Prof. Dr. Valdemiro A. da Silva Júnior

Recife

2009

Bringel, Simone de Siqueira

Efeitos da utilização das diferentes doses de olanzapina sobre a espermatogênese em ratos wistar / Simone de Siqueira Bringel. – Recife: O Autor, 2009.

96 folhas: il., fig., tab.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Patologia, 2009.

Inclui bibliografia.

1. Olanzapina – Reprodução masculina. I. Título.

**615.214
615.788**

**CDU (2.ed.)
CDD (22.ed.)**

**UFPE
CCS2009-091**

*“Quando o sonho se desfaz, Deus
reconstrói;
Quando se acabam as forças, Deus
renova;*

...

*Quando parece ser o final, Deus dá um
novo começo;*

...

*Quando faltam palavras, Deus sabe o que
queremos dizer,*

...

*Quando você diz: “não vou conseguir”,
Deus diz: “não temas, pois Eu estou
contigo”;*

...

*Quando difícil se toma o caminhar, Deus
carrega no Seu colo.”*



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

AUTOR: SIMONE DE SIQUEIRA BRINGEL
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: MORFOLOGIA APLICADA

NOME DA DISSERTAÇÃO: "EFEITOS DAS DIFERENTES DOSES DE
OLANZAPINA NA ESPERMATOGÊNESE DE RATOS WISTARS"

ORIENTADOR: PROF. DR. ADELMAR AFONSO DE AMORIM JÚNIOR

CO-ORIENTADORES: PROF. DR. VALDEMIRO AMARO DA SILVA JÚNIOR E
PROFA. DRA. MARLEYNE JOSÉ AFONSO ACCIOLY LINS AMORIM

DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM
PATOLOGIA.

DATA: 29 DE MAIO DE 2009.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Valdemiro Amaro da Silva Júnior

Profa. Dra. Liriane Baratella Evêncio

Profa. Dra. Paloma Lys de Medeiros

AGRADECIMENTOS

Agradecer com palavras nunca é agradecer o suficiente, mas já que disponho desse espaço tenho muitas coisas a agradecer a pessoas que contribuíram com essa jornada, para que nela eu pudesse estar; e que durante esse período, eu encontrasse forças para continuar; e que para sair, somente com a ajuda delas eu poderia conseguir.

A Deus, peço perdão por tantos momentos de fraqueza e agradeço infinitamente por tudo mais, pela vida, pela oportunidade de crescimento pessoal e profissional, pela família, esposo, amigos, pessoas novas que em minha vida surgiram para somar. A todos peço que Ele realmente possa me ajudar a retribuir o carinho, amizade, disponibilidade, paciência, esforços que me foram dados ao longo desses dias, que Ele os ilumine.

À minha mãe pela dedicação e renúncia em todos os anos da minha vida, pelo esforço ininterrupto por uma boa educação; Ao meu pai que, mesmo longe, orgulha-se do crescimento profissional das filhas, que lutou para nos oferecer o melhor nos estudos. Aos meus pais os meus agradecimentos profundos por sempre mostrar o valor dos estudos e da educação. E por acreditar nos frutos advindos dela.

Aos meus tios padrinhos por acreditarem no meu potencial e pela ajuda, por tantos anos, aos meus estudos.

Lembro-me alguns momentos de tristeza e desalento e, ao longo da minha vida, encontrei quem acreditasse e estimulasse a continuar. Fazendo-me pensar como Fernando pessoa quando diz que devemos: "Fazer da interrupção

um caminho novo... Da queda, um passo de dança... Do medo, uma escada...
Do sonho, uma ponte... Da procura, um encontro.”

As minhas amigas e professoras Juciara Gouveia, Daniella Araújo e Lícia Vasconcelos pela ajuda e incentivo. E a todos os meus amigos, peço desculpas por estar ausente em tantos momentos, pela renúncia da companhia de cada um, por entenderem que seguimos em busca dos nossos sonhos, mas não esquecemos aqueles que sempre torcem por nós.

Ao meu esposo, essa luz enviada por Deus, que abrilhanta meu caminho, por onde eu sigo muito mais forte, segura e em paz. Obrigada pela sua paciência, disponibilidade, ajuda, compreensão, pelo amor a mim dedicado e por você existir.

Aos meus orientadores por acreditarem em mim, meus eternos agradecimentos e admiração pelo profissionalismo. Ao professor Ademar e a professora Marleyne, agradeço pela oportunidade, pelos conhecimentos passados, pela dedicação e incentivo. Ao professor Valdemiro Júnior pelo compromisso e pela responsabilidade com que conduz a pesquisa. Serenidade e dedicação no processo de ensino – aprendizagem. Pela força, incentivo, compreensão e senso humanístico e de justiça.

A professora Rosana N. de Moraes, do laboratório de Fisiologia Endócrina e Reprodutiva da Universidade Federal do Paraná, pela ajuda no processamento hormonal.

Ao professor doutor Paulo Esperança pela disponibilidade e interesse em ajudar.

À Lorena, parabênico pela aluna responsável e dedicada e agradeço pela disponibilidade e ajuda dada em todo o processo. Ao aluno George, pelo

esforço e ajuda; Bruno e demais, que em alguma etapa desse trabalho puderam dar assistência. Em especial, a Sandra, essa brilhante aluna, agora profissional e mestranda, pela sua dedicação e responsabilidade, pelo indiscutível perfil para pesquisa e, sobretudo, pela humildade e serenidade.

Aos meus alunos e monitores pela paciência, compreensão em tantos momentos que precisei me ausentar. Por me ensinarem muitas coisas profissionalmente e como pessoa.

A FAAPE, pela compreensão e por entender a busca do crescimento profissional.

E que esse crescimento se continue, em sabendo que o aprendizado é um processo contínuo e inexaurível, porém belo. Mas a isso já dizia o eterno Gonzaguinha: ...”A beleza de ser um eterno aprendiz”...

SUMÁRIO

1. Introdução	13
1.1. Antipsicóticos Convencionais	17
1.2. Antipsicóticos Atípicos	18
2. Olanzapina	23
3. Testículo	32
3.1. Processo Espermatogênico	46
3.2. Glândulas Anexas	49
4. Objetivos	51
4.1. Objetivo geral	51
4.2. Objetivos específicos	51
5. Materiais e métodos	53
5.1. Animais	53
5.2. Dosagem de Testosterona	53
5.3. Perfusão Tecidual e Processamento Histológico	55
5.4. Análise Morfométrica Testicular	56
5.5 Análise Estatística	60
6. Resultados	61
7. Discussão	73
8. Conclusão	80
9. Referências	81

Lista de Tabelas

Tabela 1	- Médias e desvio padrão dos pesos dos ratos tratados durante 43 dias com diferentes doses de Olanzapina.....	62
Tabela 2	- Médias e desvio padrão dos pesos dos órgãos de ratos tratados durante 45 dias com diferentes doses de Olanzapina.....	65
Tabela 3	- Médias e desvio padrão dos níveis séricos testosterona de ratos tratados durante 45 dias com diferentes doses de Olanzapina.....	65
Tabela 4	- Médias e desvio padrão do peso líquido testicular e de parâmetros volumétricos do parênquima testicular de ratos tratados durante 45 dias com diferentes doses de Olanzapina.....	66
Tabela 5	- Médias e desvio padrão do peso líquido testicular e de parâmetros volumétricos do parênquima testicular de ratos tratados durante 45 dias com diferentes doses de Olanzapina.....	68
Tabela 6	- Médias e desvio padrão do peso líquido testicular e de parâmetros volumétricos do parênquima testicular de ratos tratados durante 45 dias com diferentes doses de Olanzapina.....	69

Lista de Figuras

Figura 1	- Esquema das quatro vias dopaminérgicas no cérebro.....	20
Figura 2	- Fórmula Molecular da Olanzapina.....	23
Figura 3	- Testosterona e diidrotestosterona.....	34
Figura 4	- Estrutura interna do testículo e sua relação com o epidídimo...	40
Figura 5A	- Ilustração dos constituintes do parênquima testicular.....	46
Figura 5B	- Corte transversal de um túbulo seminífero de rato no estágio VII do ciclo do epitélio seminífero.....	46
Figura 6	- Curva de desenvolvimento ponderal de ratos Wistar controle e tratados com diferentes doses de Olanzapina durante 45 dias.....	63
Figura 7A	- Parênquima testicular de animais do grupo controle. Túbulos seminíferos (TS) em secção transversal e espaço intertubular (IT).....	70
Figura 7B	- Detalhe do túbulo seminífero no estágio VII do ciclo do epitélio seminífero (CES) e espaço intertubular do grupo controle. Espaço intertubular contendo vasos (seta).....	70
Figura 7C	- Parênquima testicular de animais do grupo tratado com 1mg/kg de Olanzapina. Túbulos seminíferos normais nos estágios do ciclo do epitélio seminífero espaço intertubular contendo vaso sanguíneo (seta) em secção transversal.....	70
Figura 7D	- Detalhe do túbulo seminífero no estágio VI do ciclo do epitélio seminífero do grupo tratado com 1mg/kg de Olanzapina.....	70
Figura 7E	- Parênquima testicular de animais do grupo tratado com 2,5mg/kg de Olanzapina. Túbulos seminíferos no estágio VII e VIII do ciclo do epitélio seminífero em secção transversal.....	70
Figura 7F	- Detalhe do túbulo seminífero entre estágio IV e V do CES no grupo tratado com 2,5mg/kg de Olanzapina. Notar vacuolizações no núcleo das células de Sertoli (seta).....	70

Figura 7G	- Parênquima testicular de animais do grupo tratado com 5mg/kg de Olanzapina. Túbulo seminífero em secção transversal, no estágio VIII do CES e espaço intertubular (IT)..	70
Figura 7H	- Detalhe do túbulo seminífero entre os estágios VI e VII do CES no grupo tratado com 5mg/kg de Olanzapina.....	70
Figura 7I	- Parênquima de túbulo seminífero do grupo tratado com 5mg/kg de Olanzapina. Observar células descamadas em apoptose no lúmen tubular (seta preta), célula gigante sincicial (seta vermelha) e vacuolização do epitélio seminífero (estrela), em secção transversal.....	71
Figura 7J	- Detalhe da descamação de túbulo seminífero do grupo tratado com 5mg/kg de Olanzapina. Notar células em necrose, descamadas no lúmen tubular.....	71
Figura 7K	- Detalhe de túbulo seminífero do grupo tratado com 10mg/kg de Olanzapina. Observar túbulos seminíferos nos estágios VII e VIII do ciclo do epitélio seminífero, em secção transversal....	71
Figura 7L	- Detalhe de túbulo seminífero do grupo tratado com 10mg/kg de Olanzapina. Observar túbulos seminíferos nos estágios VII e VIII do ciclo do epitélio seminífero, em secção transversal....	71
Figura 7M	- Detalhe de túbulo seminífero do grupo tratado com 10mg/kg de Olanzapina. Observar descamação de espermátides arredondadas (seta amarela) do túbulo seminífero, células germinativa em apoptose (seta vermelha) e vacuolização de células de Sertoli (estrela).....	71
Figura 7N	- Detalhe de túbulo seminífero do grupo tratado com 10mg/kg de Olanzapina. Observar células descamadas em apoptose no lúmen tubular.....	71

Resumo

A Olanzapina é usada para tratamento agudo e manutenção da esquizofrenia, bem como outras psicoses. Apesar dos antipsicóticos atípicos serem cada vez mais utilizados nos dias atuais, pouco se sabe sobre sua influência na espermatogênese. Tendo como base que já foram detectados receptores dopaminérgicos em células germinativas, o presente estudo tem como objetivo investigar os efeitos do tratamento com Olanzapina em ratos *Wistar*, sobre os níveis plasmáticos de testosterona e na espermatogênese. Nesse experimento foram utilizadas diferentes doses de Olanzapina, durante o período de 45 dias. Após o prazo de aplicação, foi realizada a coleta do sangue e os ratos foram submetidos à eutanásia para retirada das gônadas e glândulas anexas. Foi observado que a Olanzapina produziu modificações estruturais e funcionais nas estruturas investigadas. Houve redução nos níveis séricos de testosterona, nos pesos testicular, epididimário e prostático, no diâmetro tubular e na altura do epitélio seminífero, as quais podem ser relacionadas à redução no processo espermatogênico.

Palavras chave: Antipsicótico, Olanzapina, espermatogênese, testosterona, FSH.

Abstract

The olanzapine is used by acute treatment and maintenance in schizophrenia trial, as well as another psychosis. Despite atypical antipsychotic being more utilized nowadays, however there are few knowledge about its influence under spermatogenesis. Based on dopaminergic receptors presence in germ cell, the present work had objective to investigate the effects of treatment with olanzapine in Wistar rats, with respect to plasmatic levels of testosterone and spermatogenesis. In this experiment were used different olanzapine`s doses in 60 days old Wistar rats along to 45 days. After the last day of drug administration, the rats were submitted to euthanasia procedure to collecting blood and organs of male genital system. Utilizing olanzapine per living weight during 45 days in rats produced structural and functional modifications in all genital system since were observed testicular, epididimal and prostate weight reduction. Also, were observed reduction in tubular diameter and epithelium height which can be related with reduction in spermatogenic process and testosterone serum levels.

Key words: Olanzapine, spermatogenesis, testosterone, FSH.

1 Introdução

Os antipsicóticos atípicos estão substituindo rapidamente os agentes convencionais no tratamento de transtornos psicóticos, como a esquizofrenia. Porém, as considerações econômicas são um obstáculo na utilização dessas novas drogas, assim como seus efeitos devem ser melhores estudados.

Durante o século XIX, houve uma grande evolução no mundo da psiquiatria. Os tratamentos passaram a ser mais humanísticos e a farmacologia avançou com descobertas na química orgânica de estruturas cíclicas com anel benzênico em 1865 por F. A. Kekulé, o que deu origem a vários novos fármacos (ALMEIDA, 2006).

Na prática clínica, observa-se um aumento substancial no número de indivíduos com problemas mentais nos últimos anos. Estes podem estar correlacionados com o aumento da violência, que leva a depressão e a síndrome do pânico, além de outros fatores etiológicos que podem desencadear transtorno bipolar e esquizofrenia.

Diante de tantos distúrbios, é de se esperar que aumente o número de prescrições de fármacos para controle e manutenção dessas alterações. Aumentando assim, os gastos nos cofres públicos, comprometendo a renda familiar e a qualidade de vida dos indivíduos.

Nos Estados Unidos cerca 15% dos fármacos vendidos são para controle de processos mentais, seja para sedação, humor, cognição e comportamento (ALMEIDA, 2006).

Pacientes esquizofrênicos têm grande risco de desenvolver comorbidade com a depressão. A morbidade e a mortalidade desses pacientes

são altas, com taxa de suicídio de cerca de 10% (MELTZER, 2002; MARCUS, 2005).

O Instituto Nacional de Saúde Mental (NIMH), dos Estados Unidos, estima que aproximadamente 25% dos pacientes com esquizofrenia possam conduzir seu cotidiano dentro da normalidade, devido ao avanço nos fármacos, que controlam as crises, sendo importante o diagnóstico e tratamento precoce. Também afirma que 1% da população mundial sofre desse mal (MARCUS, 2005), dentro dessa prevalência pode-se dizer que 1,8 milhões de brasileiros sofrem de esquizofrenia, percentual considerado alto (JC, 2007).

O impacto do tratamento da esquizofrenia na sexualidade e nas disfunções reprodutivas tem recebido atenção inadequada.

Os sinais e sintomas da esquizofrenia surgem entre a segunda e a terceira década de vida, fase de intensa prática sexual, na maioria dos indivíduos e auge da atividade reprodutiva em ambos os sexos.

É importante lembrar que pacientes depressivos, que fazem uso da Olanzapina, aumentam a chance de desenvolverem Diabetes Mellitos Tipo II, além de doenças cardíaco-vasculares devido ao ganho de peso. Além disso, deficiência de testosterona é comum em homens com diabetes tipo II, contribuindo de maneira negativa na libido. Além da alteração vascular que provoca deficiência na ereção nesses pacientes. A relação de testosterona e risco de doença cardiovascular ainda é controverso, mas redução dos níveis de testosterona total tem sido associada à resistência à insulina, aumentando risco de desenvolver Diabetes tipo II (WU. e VON 2003; LIU. et al., 2003; KAPOOR et al., 2007; KAPOOR et al., 2005 apud GROSSMAN, 2008) e esta, aumenta por o risco de desenvolver doenças cardiovasculares.

A esquizofrenia, a doença de Parkinson e a depressão são patologias associadas à neurotransmissão dopaminérgica. A descoberta da Dopamina (3,4-dihidroxifeniletamina) foi, em parte, devido às pesquisas do Dr. Arvid Carlsson (SOUZA, 2007), que recebeu o prêmio Nobel de Medicina em 2000 (ALMEIDA, 2006).

Estudos têm comprovado a consistência da evidência da hiperatividade do sistema dopaminérgico na esquizofrenia. Além da dopamina, outros neurotransmissores também podem estar envolvidos na fisiopatologia da esquizofrenia, como a serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT), que tem recebido atenção especial nos últimos anos.

Esquizofrenia é uma doença psiquiátrica grave, multifatorial e complexa, com prevalência ao longo da vida de cerca de 1%; No sexo masculino, desenvolve-se cinco a dez anos mais tarde em relação ao feminino (RIJCHEN, et al., 2003; MARCUS, 2005; FRANGO e MURAY, 2000 APUD BUGALHO, 2006).

Segundo Rijchen et al (2003), 10% dos indivíduos esquizofrênicos cometem suicídio nos primeiros cinco anos do início dos sintomas dessa doença.

Manifesta-se geralmente no fim da adolescência (MARCUS, 2005) e na fase adulto jovem, entre 20 e 30 anos, acomete ambos os sexos e independente de classe social, sendo mais freqüente nas zonas urbanas. As causas da patologia são ainda pouco esclarecidas, podendo ter um forte componente hereditário, mas também, ambiental. Uma criança que tem pais esquizofrênicos tem 10% de chance de sofrer do mesmo mal (JC, 2007).

É a doença psicótica mais comum, caracterizada por distúrbios do pensamento, reações emocionais e comportamentais, que podem deixar o indivíduo incapacitado de exercer suas atividades profissionais quando não administrada (ALMEIDA, 2006).

O diagnóstico é basicamente clínico, onde são observadas alucinações, delírios, mania de perseguição, angústia sem causa aparente, pensamento desorganizado, isolamento, desmotivação, agitações psicomotoras, alteração de humor, insônia, ansiedade, dificuldade de concentração (BUGALHO, 2006; JC, 2007).

O tratamento da esquizofrenia tem sido melhorado com a introdução dos antipsicóticos atípicos como a clozapina, olanzapina e risperidona, mas o paciente e os familiares devem ser bastante esclarecidos sobre a indicação, possíveis efeitos colaterais e os riscos-benefícios.

1.1 Antipsicóticos convencionais

Os Neurolépticos típicos foram os primeiros fármacos lançados para controle das psicoses. Eles bloqueiam receptores dopaminérgicos D2 em todas as quatro vias dopaminérgicas. A via mesolímbica é relacionada com os sinais e sintomas positivos das psicoses (delírios, alucinações, alterações de pensamentos, hostilidade e desconfiança). O Bloqueio na via mesocortical, pode levar a piora dos sintomas negativos da esquizofrenia (afeto diminuído, isolamento emocional e social, pobreza de linguagem). A via tuberoinfundibular bloqueada leva à hiperprolactinemia. E bloqueio na nigroestriatal provoca discinesia aguda e tardia e síndrome parkinsoniana (STHAL, 2002).

Estes antipsicóticos típicos também são bloqueadores de receptores muscarínicos do sistema colinérgico, que podem levar a boca seca, visão turva, constipação intestinal, déficit cognitivos (ALMEIDA, 2006).

Sullivan e Lukoff (1990) relatam que muitos estudos correlacionam o uso de antipsicóticos convencionais com problemas na libido, excitação e orgasmo em pessoas com esquizofrenia (KELLY e CONLEY, 2004).

Diante de tantos efeitos colaterais causados por esse tipo de antipsicótico, fizeram-se necessárias pesquisas na tentativa de cessar ou minimizá-los, surgindo uma nova classe de antipsicóticos.

1.2 Antipsicóticos Atípicos

A concepção dos antipsicóticos atípicos está ainda sendo desenvolvida, mas várias definições e características já foram propostas (KANE et al., 1988; LIEBERMAN, 1998.). O conceito foi colocado precocemente por Stille e Hippus (STILLE et al., 1971) no contexto de uma comparação entre a eficácia e a falta de sintomas extrapiramidais da olanzapina com aqueles que são conhecidos como antipsicóticos clássicos.

Os antipsicóticos atípicos são aqueles apresentam propriedades clínicas como: melhor eficácia contra os sintomas psicóticos da esquizofrenia e contra sintomas positivos em paciente que não tem resposta prévia para os antipsicóticos convencionais; podem fornecer algumas medidas contra sintomas negativos primários e/ou secundários, ou na melhora de déficit neurocognitivo; causam o mínimo de sintomas extrapiramidais agudos (parquisonismo, distonia aguda, acatisia) ou crônicos (discinesia tardia); podem não elevar a prolactina para um grau que resulte em efeitos colaterais endócrinos, como oligomenorréia ou galactorréia. (LIEBERMAN, 1998; ALMEIDA, 2006).

Reafirmando, Meltzer e Mcgurk (1999) dizem que essas drogas têm mostrado eficácia na redução de sintomas positivos de esquizofrenia, assim como oferece alguma melhora nos sintomas negativos e cognatos. Remington e Kapur (2001) afirmam que esse grupo de antipsicóticos é reconhecido por reduzir a incidência de sintomas extrapiramidais e a discinesia tardia.

Leysen et al (1994) mostram que os antipsicóticos atípicos têm uma baixa afinidade por receptores dopaminérgicos D₂, mas apresentam boa afinidade por receptores Serotoninérgicos 5HT_{2A} (COSTA et al., 2004).

Os antipsicóticos atípicos são farmacologicamente antagonistas de serotonina e dopamina (ASD). Atualmente, existem cinco antipsicóticos considerados atípicos, utilizados na prática psiquiátrica em todo o mundo, que são (clozapina, risperidona, olanzapina, quetiapina e ziprasidona). Estes, classificados de acordo com critérios clínicos farmacológicos: (1) os antipsicóticos atípicos têm propriedades farmacológicas antagonistas de 5HT_{2A} e D₂, enquanto os convencionais são apenas antagonistas a D₂; (2) os atípicos causam menos SEP (Sintomas Extra-Piramidais) do que os convencionais; e (3) ambos melhoram igualmente os sintomas positivos (STAHL, 2002).

Para ALMEIDA (2006), os receptores adrenérgicos são alvo de diversos estudos, pois participam da regulação de muitos processos fisiológicos como manutenção da pressão arterial sistêmica, proliferação e crescimento celular, termogênese, metabolismo.

Para STAHL (2002), a neuroanatomia das vias neuronais dopaminérgicas pode explicar tantos os efeitos terapêuticos quanto os efeitos colaterais dos antipsicóticos conhecidos. (a) A **via nigroestriatal** se projeta da substância negra aos núcleos da base, é parte do sistema nervoso extrapiramidal e controla os movimentos. (b) A **via mesolímbica** se projeta da área tegmental ventral do mesencéfalo para o *nucleus accumbens*, parte do sistema límbico do cérebro que se acredita estar envolvida em muitos comportamentos, como sensações prazerosas, a poderosa euforia das drogas de abuso, bem como os delírios e alucinações da psicose. (c) A **via**

mesocortical relacionada à via mesolímbica, também se projeta da área tegmental ventral do mesencéfalo, mas envia seus axônios para o córtex límbico, onde podem desempenhar um papel na mediação dos sintomas negativos e cognitivos da esquizofrenia. (d) A **Via tuberoinfundibular** controla a secreção de prolactina, onde se projeta do hipotálamo para o lobo anterior da hipófise, figura 1.

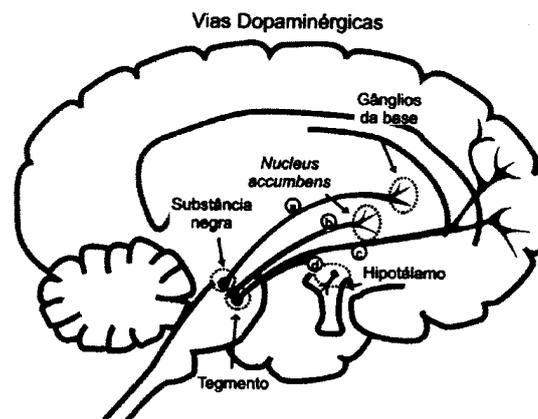


Figura 1. Esquema das quatro vias dopaminérgicas no cérebro, Stahl (2002).

A dopamina é a catecolamina mais abundante do SNC, encontrada também na periferia, sendo um importante neurotransmissor nas funções motoras, de atenção, de memória e cognição, de humor, motivacional e no prazer. Além disso, este neurotransmissor regula a liberação de hormônios da adenohipófise, inibindo a liberação de prolactina e estimulando a liberação do hormônio de crescimento.

Em pessoas que fazem uso de psicotrópicos de um modo geral, o nível de prolactina pode estar elevado. Hiperprolactinemia provocada pelo uso de fármacos pode resultar em galactorréia, disfunção sexual (NAHAS et al., 2006)

e ocorre em cerca de 35% dos casos (CROSIGNANI, 2005 apud NAHAS et al., 2006).

Os efeitos da redução no sistema dopaminérgico são demência e depressão. E quando ativado conduz a psicose, ansiedade e agressividade (ALMEIDA, 2006; GIROS *et al.*, 1996, PACKARD e KNOWLTON, 2002, LOURENCO *et al.*, 2005, KAVELAARS *et al.*, 2005 apud SOUZA, 2007).

A importância funcional dos receptores dopaminérgicos D₂ é demonstrada através da sua afinidade pelos antipsicóticos típicos e atípicos (LIDOW et al., 1998; STRANGE, 2001 APUD SOUZA, 2007).

A presença de receptores dopaminérgicos em testículos de ratos e células germinativas pode sugerir uma interação desconhecida entre o sistema nervoso e o reprodutivo (HYUN et al., 2002; OTTH et al., 2007).

A dopamina é um importante regulador das funções orgânicas centrais e periféricas. A localização de receptores dopaminérgicos periféricos tem efeitos fisiológicos significantes (MISSALE et al., 1998), eles foram encontrados em gônadas feminina e masculina de eqüinos, o que indica que a dopamina pode ter função moduladora na reprodução (KING et al., 2005).

A dopamina recebe grande influência da serotonina, pois esta inibe a sua liberação nos axônios terminais e nos corpos celulares, em cada uma das quatro vias dopaminérgicas: Via Nigroestriatal, Via Mesocortical, Via Tuberoinfundibular, Via Mesolímbica (STAHL, 2002; ALMEIDA, 2006).

O antagonismo a 5HT_{2A} é capaz de reverter o antagonismo a D₂ na via tuberoinfundibular. Existe uma relação de antagonismo e reciprocidade no controle da secreção de prolactina nas células lactotróficas da pituitária; ou seja, a dopamina inibe e a liberação de prolactina pela estimulação dos

receptores D₂, enquanto a serotonina promove liberação de prolactina pela estimulação dos receptores 5HT_{2A} (STAHL, 2002).

Existe uma inibição simultânea dos receptores 5HT_{2A}; logo a serotonina não consegue estimular por muito tempo a liberação de prolactina. Isso tende a diminuir a hiperprolactinemia por bloqueio do receptor D₂. Embora esta seja uma teoria farmacológica interessante, na prática nem todo antagonista de serotonina e dopamina reduz a secreção de prolactina na mesma extensão e alguns não reduzem nada (STAHL, 2002).

O uso de antipsicóticos atípicos como a olanzapina, risperidona, ziprasidona é eficaz na mania aguda. A depressão bipolar é definida como episódio depressivo em paciente portador de Transtorno Bipolar, sendo a combinação de olanzapina com fluoxetina muito utilizada.

Assim, apesar de todas as propriedades adicionais favoráveis aos antipsicóticos atípicos que incluem a capacidade de melhorar os sintomas negativos e positivos em pacientes esquizofrênicos (mais do que fazem os antipsicóticos convencionais); de provocar elevação discreta nos níveis de prolactina; existem também muitos efeitos colaterais, que podem incluir ganho de peso, sedação, convulsões e agranulocitose (STAHL, 2002).

2 Olanzapina

Esta droga, um antipsicótico atípico, utilizada nos nossos estudos, pertence à classe das tienobenzodiazepina. Quimicamente é o 2-metil-4-[4-metil-1-piperazinil]-10H-tieno[2,3-b][1,5] benzodiazepina, com fórmula molecular $C_{17}H_{20}N_4S$ e um peso molecular de 312,43 (Fig. 2). A substância foi obtida pela primeira vez na Grã-Betanha em 1982, pelos pesquisadores J. Chakrabarti, T. Holtter e D. Tupper, a partir de modificações da Clozapina (FROTA, 2001).

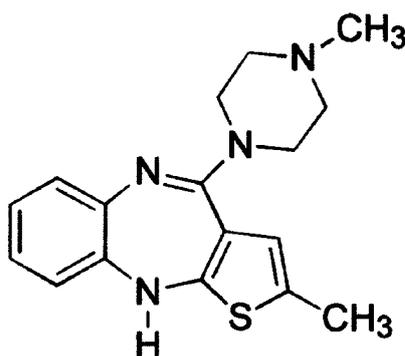


Figura. 2 Formula molecular da Olanzapina
(www.zyprexa.com)

A Olanzapina foi um dos primeiros atípicos a ser incluído na lista dos medicamentos excepcionais do Ministério da saúde (Setembro de 1999) e sendo comercializado no mundo todo, estimando-se que mais de 10 milhões de pessoas tenham utilizado este medicamento (FROTA, 2001). Atualmente a Olanzapina é comercializada através do laboratório Eli Lilly & Co Ltd., Basingstoke, Inglaterra, por meio do medicamento ZIPREXA.

Em 1996 tornou-se disponível no mercado como antipsicótico e em 2000, recebeu licenciamento na indicação de tratamento a curto prazo dos episódios maníacos do Transtorno Afetivo Bipolar e a longo prazo da Esquizofrenia, como o primeiro dos novos atípicos a ter comprovado sua eficácia e segurança na indicação. Tornando-se líder em prescrição e vendas entre todos os antipsicóticos (típicos e atípicos) nos países desenvolvidos (FROTA, 2001).

Olanzapina se consagrou pela alta efetividade no tratamento de indivíduos com esquizofrenia, tanto nos sintomas positivos e como nos negativos, quando comparado com antipsicóticos tradicionais (BEASLEY, 1997; CALLAGHAN, 1999). Ela provoca uma menor incidência de sintomas extrapiramidais e mínimo perturbação de prolactina. Confirmando as pesquisas sobre ação dos antipsicóticos atípicos. Estas vantagens conduziram para um uso cada vez maior de Olanzapina no tratamento da esquizofrenia (STEPHENSON, 1999; CONLEY e MELTZER, 2000).

Em 2001 os antipsicóticos foram responsáveis por 2% do total das vendas em medicamentos em todo o mundo, com a Olanzapina em primeiro lugar.

A Olanzapina é metabolizada no fígado pelas vias conjugativas e oxidativas, o maior metabólito circulante é o 10-N-glucuronida, que em teoria não ultrapassa a barreira hemato-encefálica. As isoformas CYP1A2 e CYP2D6 do citocromo P450 contribuem para a formação dos metabólitos N-desmetil e 2-hidroximetil, ambos exibindo significativamente menor atividade farmacológica *in vivo* do que a olanzapina em estudos animais (www.zyprexa.com).

Segundo FROTA (2001), é intensamente metabolizada com apenas 7% excretada inalterada por via renal. E aproximadamente 57% da olanzapina é eliminada como metabólitos na urina. Apresenta indicação de dosagem única diária, com pico de concentração em torno de 6 a 7 horas, com meia-vida variando de 21 a 54 horas.

Esta droga é antagonista dos receptores de serotonina 5HT_{2A/2C}, dopamina D₁₋₄, Acetilcolina (Muscarínicos) M₁₋₅, Histamina H₁ e receptores adrenérgicos α_1 (www.zyprexa.com).

Meltzer et al. (1989), afirmam que seu bloqueio serotoninérgico 5HT_{2A} é cerca de oito vezes mais intenso que o bloqueio dopaminérgico D₂, parâmetro importante para definir a grau de atipicidade de um antipsicótico.

Virtualmente, a Olanzapina não teria ação sobre os receptores (alfa 2 – adrenérgicos), mas liga-se fracamente aos receptores GABA A-ácido Gama-amino-butirico e BZD (benzodiazepínico) e beta-adrenérgicos. Exerce uma inibição regionalmente seletiva dos neurônios dopaminérgicos A₁₀, que se projeta para o córtex límbico e frontal através das vias mesolímbica e mesocortical e menor sobre os neurônios A₉, que se projetam para o striatum através da via nigro-estriatal.

Suas propriedades de bloqueio muscarínico e histamínico são superiores aos demais atípicos com exceção de Clozapina, e exerce menos antagonismo em receptores alfa₂ adrenérgicos que esta. Também possui propriedades de agonismo nos receptores glutamatérgicos do tipo NMDA (N-metil-D-aspartato), bloqueando os efeitos da fenclidina (PCP) uma substância narcótica de abuso com ação de antagonismo nestes receptores e com efeitos

clínicos semelhantes à sintomatologia positiva, negativa e cognitiva da esquizofrenia (FROTA, 2001).

A Olanzapina é indicada para o tratamento agudo e de manutenção da esquizofrenia, reduzindo recaídas maníacas e depressivas e outras psicoses, onde os sintomas positivos e/ou sintomas negativos são proeminentes (BEASLEY ET AL., 1997; CALLAGHAN ET AL, 1999; TOHEN ET AL., 2003; WWW.ZYPREXA.COM).

Os efeitos adversos mais comuns em curto prazo incluem ganho de peso, sonolência e/ou sedação, constipação diminuição da salivação (boca seca), acatisia, hipotensão ortostática, edema vascular periférico, aumento do apetite, aumento da prolactina, galactorréia, disfunção erétil (FROTA, 2001; ALMEIDA, 2006).

FROTA (2001) acrescenta que, com o uso da droga, observa-se uma intolerância à glicose com indução de hiperglicemia, que nas formas mais graves costuma levar a Diabetes Mellitus insulino-dependente. Este efeito foi significativamente maior com a olanzapina do que com a risperidona. Existe também alguma evidência de que a diminuição do metabolismo e o consumo energético basal estejam envolvidos neste fato.

Dentre outras reações adversas, a olanzapina pode provocar síndrome neuroléptica maligna, que se traduz, segundo Almeida (2006), por rigidez muscular severa, hipertermia, taquicardia, hipertensão arterial, alteração dos níveis de consciência; além, de acordo com Frota (2001), de discinesia tardia, distonia tardia e convulsão.

Estudos realizados pelo laboratório Eli Lilly and Company 2005, constatou que os parâmetros de reprodução foram influenciados em ratos que

receberam 3mg/kg (nove vezes a dose máxima humana), e ainda constatou que a sedação ocasionada pelo uso da olanzapina afetou o desempenho no acasalamento dos ratos machos, os ciclos de estro foram afetados com doses de 1,1mg/kg (três vezes a dose máxima humana). Na ninhada de ratos que receberam olanzapina, foram observados atrasos no desenvolvimento fetal e diminuições transitórias nos níveis de atividade da prole (www.zyprexa.com).

Olanzapina causa uma incidência menor de SEP (STEPHENSON, 1999; CONLEY E MELTZER, 2000) e alteração mínima e transitória dos níveis plasmáticos de prolactina (MELTZER et al., 1979; BEASLEY et al., 1996; SMALL et al., 1997; STEPHENSON, 1999; TOLLEFSON e KUNTZ, 1999; CONLEY E MELTZER, 2000; David et al., 2000; WIECK e HADDAD, 2003; KELLY e CONLEY, 2004 e www.zyprexa.com).

A prolactina é um hormônio protéico produzido na adenohipófise pelos lactotrófos que desempenha um importante papel na secreção do leite ou lactogênese (FREEMAN et al., 2000; GUYTON, 2002; NAHAS et al., 2006).

No hipotálamo ocorre a síntese de dopamina, que é um importante fator de inibição da prolactina (PIF), que atua através da ligação com receptores do tipo D₂ na membrana celular dos lactotrófos (LAMBERTS et al., 1990; NAHAS, 2006). Quando a síntese de dopamina é bloqueada, e os neurônios do núcleo paraventricular são estimulados a produzir o peptídeo intestinal vasoativo (VIP), ocorre um aumento do nível plasmático de prolactina.

Para Serri et al (2003), a prevalência da hiperprolactinemia na população adulta está em torno de 1% a 10% (NAHAS et al., 2006). E pode ser de origem fisiológica ou patológica, ou ainda produzida por fármacos, sendo esta última a etiologia mais comum (MAH et al., 2002; ZILBERBERG, 2005).

As manifestações do hipogonadismo no homem devido à hiperprolactinemia são: diminuição da libido, infertilidade, disfunção erétil, incapacidade de manter a ereção, oligoespermia e ginecomastia (SCHLECHTE, 2003).

Na ação central, a prolactina - PRL inibe a secreção pulsátil do GnRH - hormônio liberador de gonadotrofina, com conseqüente redução de FSH - hormônio folículo estimulante, do LH - hormônio luteinizante e da testosterona nos homens. Na ação periférica, PRL inibe a 5 α -redutase, enzima que converte a testosterona em sua forma mais ativa, em diidrotestosterona nos homens.

Para Schlechte (2003), a galactorrêia, manifestação mais característica dessa disfunção, ocorre entre 14 e 33% dos homens. Petty (1999) observou que no homem a elevação de prolactina pode causar impotência, diminuição da libido e hipoespermatozoides.

Segundo o Dicionário Médico de Paciornik, galactorrêia é definido como um excesso de escoamento do leite, durante ou depois do aleitamento, ou seja, uma incontinência láctea. E a ginecomastia, um desenvolvimento excessivo da mama no homem, podendo chegar até o estado funcional, essa disfunção ocorre devido o aumento dos níveis plasmáticos de prolactina.

Em Kingsbury et al, (2004), observaram dois casos de galactorrêia devido à hiperprolactinemia com olanzapina. Apesar disso, relatos sugerem que a olanzapina é um seguro e alternativo tratamento para casos com hiperprolactinemia induzida por outros antipsicóticos (JOHNSON et al., 2003).

Bobes et al (2003) afirmam que deficiência orgânica sexual é um problema comum nas desordens psiquiátricas e/ou naqueles que fazem uso de drogas de psicotrópicas. Apresentando, segundo Almeida (2006), perturbações

no desejo sexual e nas reações psicofisiológicas que caracterizam a resposta sexual.

O comportamento sexual é coordenado por uma intensa conexão entre sistema neuroendócrino, com hormônios, neurotransmissores e o cérebro.

Costa e colaboradores (2006) relacionaram o uso de antipsicóticos atípicos com disfunção da ereção e diminuição da libido. E frota (2001) relaciona a Olanzapina à disfunção erétil.

O impacto da esquizofrenia e seu tratamento na sexualidade e assuntos reprodutivos recebem atenção inadequada em todo mundo (BOBES, et al., 2003; KELLY e CONLEY, 2004). A infertilidade e a disfunção sexual são as manifestações clínicas mais relevantes em ambos os sexos (BRONSTEIN, 2005).

A resposta sexual pode ser dividida em três fases, são elas: libido, excitação- ereção e orgasmo-ejaculação. Qualquer uma dessas fases pode sofrer alterações e Almeida (2006) acrescenta que existe ainda um quarto fator de disfunção, que seria a dor sexual (dispareunia e vaginismo).

A libido é o primeiro estágio e está ligado ao desejo sexual, constituindo-se hipoteticamente em fenômeno mediado pelo "centro de recompensa" dopaminérgico mesolímbico. Esse local pode não apenas mediar o orgasmo, mas também a libido (STAHL, 2002).

Acredita-se que a prolactina tenha influência negativa no desejo sexual, fato interessante porque existe relação geralmente recíproca entre dopamina e prolactina. Como os antipsicóticos tendem a provocar aumento da prolactina, pressupõe-se que com o seu uso, o desejo sexual possa estar diminuído. Para

Wilson (1993), hiperprolactinemia causa hipogonadismo e diminuição dos níveis da testosterona tendo efeito direto na atividade sexual.

A prolactina é importante no processo de lactação e exerce influência na função reprodutiva (NAHAS et al., 2006). Entretanto, a relação entre prolactina e disfunção sexual precisa ser documentada e compreendida.

Sedação e aumento de peso podem levar a diminuição do interesse sexual, fatos observados pelas pesquisas com o uso de antipsicóticos. Efeitos extra-piramidais e discinesia tardia também diminuem a função sexual (YASSA e LAU, 1985).

O mecanismo da excitação é o segundo estágio que é caracterizado pela ereção e lubrificação nos homens. Geralmente esta associada à libido e também pode sofrer alterações de origem psíquica e/ou somática. Essa excitação prepara a genitália para a penetração e o intercurso sexual e envolve tanto a ação colinérgica quanto do óxido nítrico em sua farmacologia (STAHL, 2002; ALMEIDA, 2006). Depende de impulsos advindos do SNC e periférico, de substâncias vasoativas e de hormônios (ALMEIDA, 2006).

Os impulsos parassimpáticos dilatam as artérias pudendas, permitindo assim que o sangue arterial seja armazenado sob alta pressão no tecido erétil do corpo cavernoso e do corpo esponjoso do pênis. Além disso, ainda sob estímulos parassimpáticos, as glândulas bulbouretrais secretam seu líquido lubrificativo (GUYTON, 2002).

O terceiro estágio da resposta sexual humana é o orgasmo, acompanhado pela ejaculação nos machos. Pode haver uma dificuldade ejaculatória, ejaculação tardia ou precoce.

As fibras serotoninérgicas espinhais descendentes exercem ações inibitórias sobre o orgasmo por meio dos receptores 5HT_{2A}. As fibras noradrenérgicas espinhais descendentes e a inervação sináptica noradrenérgica da genitália facilitam a ejaculação e o orgasmo (STAHL, 2002).

No SNC a serotonina age como neurotransmissor, mas na periferia, sua ação principal é vasoconstricção, devido a isto, pode estar relacionada com a função sexual. Aproximadamente 50% de pacientes relataram deficiência sexual durante tratamento com antipsicóticos convencional (GHADIRIAN et al. 1982; SULLIVAN e LUKOFF 1990 apud KELLY e CONLEY, 2004).

Antagonismo colinérgico e bloqueio alfa-adrenérgico têm sido relacionados com distúrbios ejaculatórios e disfunções orgásmicas (POLLACK e ROSENBAUM 1992; TAMMINGA et al. 1997). Bloqueio dos canais de cálcio também pode contribuir para a deficiência orgânica sexual (POLLACK e ROSENBAUM 1992).

Meston e Gorzalka (1992), afirmam que 2 a 75% dos pacientes que utilizam drogas inibidoras seletas da recaptção de serotonina, mostram efeitos colaterais na função sexual (ALMEIDA, 2006). Nos estudos de Bobes et al (2003), homens que fizeram uso de antipsicóticos, a disfunção erétil foi a mais freqüente alteração encontrada, além da diminuição da libido.

Não se pode, definitivamente, descartar a relação dos distúrbios sexuais associados ao uso de antipsicóticos atípicos.

3 Testículo

As gônadas masculinas localizam-se externamente à cavidade pélvica, no escroto ou bolsa escrotal, que protege e mantém-nas sob temperatura ideal. O testículo é envolvido por uma espessa cápsula de tecido conjuntivo, a túnica albugínea. Esta túnica, de maneira variada nas diferentes espécies de mamíferos, envia septos para o interior do órgão até a região do mediastino testicular, dividindo o testículo em lóbulos, cada lóbulo apresenta cerca de quatro túbulos seminíferos, feixes vâsculo-nervosos e células intersticiais ou de Leydig (NEVES, 2001). Este órgão apresenta-se de forma ovalada e possui funções endócrinas e exócrinas (SETCHELL, 1991). O tecido intersticial é um importante local de produção de andrógenos (JUNQUEIRA E CARNEIRO, 2004). Segundo Asatiani et al. (2002) apresenta além da produção de andrógeno, a função de produção de gametas, sob a regulação do hormônio FSH e do LH.

Cada testículo humano apresenta um peso médio de 20g, comprimento de 4cm e largura de 2cm (SCHÜNKE, et al., 2007). O testículo dos mamíferos pode ser dividido em dois compartimentos principais: o compartimento intertubular ou intersticial, também chamado de espaço intertubular, e o compartimento de túbulos seminíferos (RUSSELL et al., 1990). Com exceção das células germinativas que se originam do epiblasto, a grande maioria das células somáticas constituintes dos testículos são procedentes dos ductos mesonéfricos e do epitélio celomático (KARL e CAPEL, 1998; MERCHANT-LARIOS e MORENO-MENDOZA, 1998).

Os elementos componentes do compartimento intertubular são as células de Leydig, vasos sangüíneos e linfáticos, nervos e uma população celular variável constituída principalmente de fibroblastos, macrófagos e mastócitos (RUSSELL et al., 1990; SETCHELL, 1991).

Apesar de existir grande variação entre as diversas espécies quanto à proporção volumétrica dos diferentes componentes do compartimento intertubular (FAWCETT et al., 1973; FRANÇA e RUSSELL, 1998; GODINHO, 1999), a célula de Leydig é usualmente o tipo celular mais freqüente neste compartimento (SILVA JR, 2000). O percentual ocupado pelas mesmas nos testículos de animais sexualmente maduros no período reprodutivo pode variar de aproximadamente 1% em carneiros até cerca de 35% em capivaras (FRANÇA e RUSSELL, 1998; PAULA, 1999).

Guyton (2002) e Otth et al (2007) confirmam que as gônadas masculinas são reguladas por hormônios gonadotrópicos e também estão sujeitas a regulação de fatores produzidos localmente, como neurotransmissores. A produção de andrógenos é importante para a diferenciação sexual, o desenvolvimento das características sexuais secundárias e comportamento sexual, e para a regulação da espermatogênese (GAO et al. 2005 apud HAENDLER, 2005; WELTZIEN et al., 2004 apud LACERDA, 2006).

A testosterona é produzida nas células de Leydig (ZIRKIN, 1998; GUYTON, 2002; HAENDER, 2005). Receptores para o LH (hormônio Luteinizante, produzido na Adenohipófise), encontrados na membrana dessas células, estimulam a produção de testosterona (SHUPNIK e SCHREIHOFER, 1997; ZIRKIN, 1998; GUYTON, 2002; HUHTANIEMI e PELLENIEMI, 1998 apud MOURA, 2003; WALKER e CHENG, 2005). Este hormônio esteróide é

sintetizado principalmente por enzimas existentes nas mitocôndrias das células Leydig, cujo número e a atividade dependem de estímulos hormonais (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004) a partir do colesterol (BARDIN, 1996 apud MOURA, 2003). Uma grande parte da testosterona produzida é convertida numa forma mais ativa do hormônio nos tecidos - alvo, a diidrotestosterona (HAENDER, 2005).

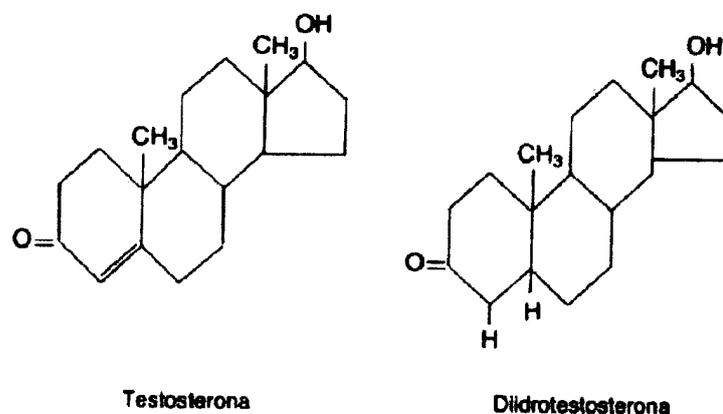


Figura 3. Testosterona e diidrotestosterona (Guyton, 2002).

A capacidade secretora de testosterona é correlacionada com o volume das células de Leydig e com o seu número por testículo e não com o número destas por grama de testículo (SILVA JÚNIOR, 2000).

Existem também receptores para andrógenos (RA) nas células de Sertoli, células mióides, células musculares lisas dos vasos sanguíneos (SCHLATT et al., 1997 e SUAREZ-QUIAN et al., 1998 apud MOURA, 2003).

A concentração de testosterona plasmática diminui progressivamente para 0,2ng/ml durante 8 a 24 dias de vida. De 30 a 55 dias, os níveis de testosterona

estabilizam nos índices de ratos adultos (1-2ng/ml) (KETELESLEGGERS et al. 1978 apud WALKER e CHENG, 2005).

A concentração intra-testicular de testosterona em ratos adultos é muito superior do que a encontrada em níveis séricos. Embora as vantagens de níveis elevados de testosterona no testículo não sejam bem entendidas, sugere-se que os maiores níveis testicular de testosterona são importantes porque a capacidade espermatogênica plena requer aproximadamente 70ng/ml e a espermatogênese é bastante comprometida quando a concentração de testosterona está abaixo de 20ng/ml (ZIRKIN et al. 1998; ZIRKIN et al. 1989 apud WALKER E CHENG, 2005).

O compartimento dos túbulos seminíferos constitui a maior parte do testículo, ocupando, na grande maioria dos mamíferos, de 70% a 90% do parênquima testicular (FRANÇA e RUSSELL, 1998; GODINHO, 1999). Estes túbulos formam alças bastante contorcidas, as quais possuem suas duas extremidades conectadas à rede testicular, que se encontram localizadas numa região bastante rica em vasos e tecido conjuntivo denominada de mediastino testicular. A partir desta região a rede testicular encontra-se conectada ao epidídimo através dos ductos eferentes.

Os túbulos seminíferos são constituídos por túnica própria, epitélio seminífero ou germinativo e lume tubular. A túnica própria reveste o túbulo externamente, sendo composta de células mióides ou peritubulares e matriz extracelular. No epitélio seminífero são encontrados dois tipos celulares de origem embriológica distintas: as células germinativas originárias do epiblasto e as células de Sertoli provenientes do epitélio celomático (KARL e CAPEL, 1998).

Existe grande variação no número e nas dimensões (diâmetro e comprimento) dos túbulos seminíferos nas diferentes espécies de mamíferos (FRANÇA e RUSSELL, 1998). O camundongo possui aproximadamente 20 túbulos seminíferos por testículo perfazendo no total cerca de 2 metros de comprimento tubular por testículo (BASCOM e OSTRUD, 1925). Já no suíno doméstico existem de várias centenas a alguns poucos milhares de túbulos seminíferos por testículo e aproximadamente 3000 metros de túbulos no total (FRANÇA e RUSSELL, 1998).

Em geral, o valor observado para o diâmetro tubular na grande maioria das espécies de mamíferos está em torno de 180 μ m a 300 μ m (ROOSEN-RUNGE, 1977). Cada testículo humano tem de 250 a 1000 túbulos seminíferos, que medem de 150 a 250 micrômetros de diâmetro, podem ter de 20 a 70cm de comprimento se forem estirados e enovelados, como se apresentam, possuem cerca de 3cm (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004; SCHÜNKE, et al, 2007).

Nos testículos de animais sexualmente maduros as células de Sertoli estão completamente diferenciadas. A variação considerável na forma e estrutura da célula de Sertoli durante o ciclo do epitélio seminífero demonstra o alto grau de plasticidade desta célula, o qual reflete as alterações morfológicas e funcionais que ocorrem nas células germinativas (RUSSELL, 1993).

Juntamente com as células mióides, as células de Sertoli elaboram a membrana basal que serve de suporte estrutural para a própria célula de Sertoli e para as células germinativas que se encontram na porção basal do epitélio seminífero. As células de Sertoli, através de junções de oclusão, dividem o epitélio seminífero em dois compartimentos, o compartimento basal

onde se localizam as espermatogônias e os espermatócitos primários na fase inicial da prófase meiótica (pré-leptótenos e leptótenos), e o compartimento adluminal, no qual encontram-se os espermatócitos primários a partir da fase de zigóteno, espermatócitos secundários e espermatídes. Desta forma, o compartimento adluminal está totalmente sob o controle das células de Sertoli, propiciando um microambiente isolado e imunoprivilegiado essencial para o desenvolvimento do processo espermatogênico (RUSSELL et al., 1990; SETCHELL, 1991; POCCIA, 1994; SHARPE, 1994).

As células de Sertoli, além da formação da barreira hematotesticular, desempenham outras funções essenciais para o desenvolvimento das células germinativas: o fornecimento de nutrientes e inúmeros outros fatores importantes para as células germinativas, mediação da ação do FSH e da testosterona na espermatogênese, fornecimento de suporte físico (sustentação) para as células espermatogênicas, participação ativa no processo de liberação (espermição) das espermatídes para o lume tubular, fagocitose do excesso de citoplasma (corpos residuais) resultante da liberação das células espermiadas e fagocitose de células germinativas que sofrem apoptose (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004; WELTZIEN et al., 2004 apud LACERDA, 2006).

No lume tubular encontram-se o fluido secretado pelas células de Sertoli e os espermatozóides recém-espermiados. Estas células secretam ainda fluido em direção ao lume tubular, o qual possui substâncias importantes para a função epididimária e maturação espermática, servindo também de veículo para o transporte dos espermatozóides. A secreção de fluido também ocorre em direção ao compartimento intertubular, estando envolvida com os

mecanismos de regulação parácrina de outros tipos celulares do testículo tais como células mióides, células de Leydig e células musculares lisas dos vasos (RUSSELL e GRISWOLD, 1993; BARDIN et al., 1993; POCCIA, 1994; SHARPE, 1994; FRANÇA e RUSSELL, 1998).

O fluido do lume difere do fluido intersticial e do plasma sanguíneo, sendo bastante importante no processo de espermatogênese. Tuck, et al. (1970) foi o primeiro a citar a formação deste fluido. A composição do fluido do lume do túbulo seminífero é uma condição prévia essencial para o processo de espermatogênese (FISHER, 2002).

A concentração intra-testicular de testosterona no fluido dos túbulos seminíferos (FTS) é aproximadamente 50-60ng/ml em relação ao número de RA. Sugere-se que essa alta concentração seja para manter a espermatogênese no rato adulto e relacionam com o número de espermátide por testículo. Para o processo de espermatogênico completo, a concentração de testosterona no FTS deve ser maior de 20ng/ml, possivelmente devido ao fato de que nem toda testosterona do FTS é livre para o RA (ZIRKIN, 1998).

A diidrotestosterona é o maior regulador esteróide na reprodução masculina, pois tem maior afinidade pelos RA. Em estudos experimentais observou-se que a concentração de diidrotestosterona pode ser um terço da concentração de testosterona no FTS para manter a espermatogênese (ZIRKIN, 1998).

As células de Leydig e as células mióides possuem importantes interações funcionais com as células de Sertoli.

O período de proliferação dos diversos tipos celulares encontrados no testículo ocorre em épocas distintas, sendo cada um deles regulado por fatores

específicos, os quais têm origem tanto intra quanto extratesticular (ORTH, 1993). As células de Sertoli são as primeiras células somáticas a se diferenciarem no testículo e expressam o Sry, o gene responsável pela determinação do sexo masculino, o qual desempenha um papel fundamental na diferenciação e remodelação das gônadas (KARL e CAPEL, 1998).

Já nesta fase, as interações das células de Sertoli com elas próprias e com as células germinativas (via fator neural de adesão celular - NCAM), são cruciais para a formação dos cordões testiculares e os eventos iniciais que propiciarão o estabelecimento do processo espermatogênico (ORTH e JESTER, 1995). Também neste período as células de Sertoli produzem o hormônio anti-Mülleriano (AMH) responsável pela regressão dos ductos de Müller ou paramesonéfricos (PELLENIEMI et al., 1993).

Em ratos, a proliferação das células de Sertoli ocorre principalmente na fase final do período fetal e se estende por duas a três semanas após o nascimento (CLERMONT e PEREY, 1957; STEINBERGER e STEINBERGER, 1971; ORTH, 1982; ALMIRÓN e CHEMES, 1988; BORTOLUSSI et al., 1990; VERGOUWEN et al., 1991), coincidindo o encerramento das divisões mitóticas das células de Sertoli com o início de proliferação dos espermatócitos primários, formação das junções de oclusão, início de maturação das células de Sertoli, secreção de fluido e formação do lume tubular (RUSSELL et al., 1989).

Como cada célula de Sertoli possui uma capacidade de suporte para células germinativas relativamente fixa para cada espécie, o tamanho potencial do testículo e da produção espermática é estabelecido já nesta etapa do desenvolvimento testicular (ORTH et al., 1988; ORTH, 1993). Estudos

envolvendo o homem e várias espécies de mamíferos domésticos (GONDOS e BERNDTSON, 1993) sugerem que o período de proliferação das células de Sertoli, à semelhança do observado em ratos, ocorre predominantemente no período perinatal.

Em humanos, as células de Sertoli não se dividem durante a vida sexual madura, mas são bastante resistentes a infecções, desnutrição e radiação (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004).

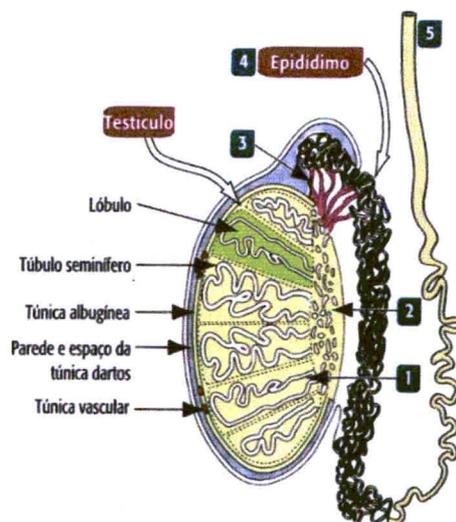


Figura 4 Estrutura interna do testículo e sua relação com o epidídimo. (Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology. Kierszenbaun, A.L., Mosby, Inc. items and derived items copyright © 2002 by Mosby, Inc.).

Em animais adultos as células de Sertoli completamente diferenciadas constituem uma população estável. Durante o desenvolvimento testicular ocorre um aumento relativamente rápido da população de certos tipos celulares tanto no período fetal quanto no período neonatal.

As células que constituem população testicular se expandem em períodos particulares do desenvolvimento e, em relação às células de Sertoli e

às células espermatogênicas, esses períodos são distintos e inversamente correlacionados. Além de distintos, estes períodos de multiplicação das células testiculares são controlados por fatores específicos para cada população (ORTH, 1993).

O número de células de Sertoli em qualquer espécie é importante para determinar a capacidade espermatogênica e o tamanho do testículo (FRANÇA e RUSSELL, 1998). Portanto, a população de células de Sertoli se correlaciona linear e positivamente com o peso do testículo, volume e comprimento total de túbulos seminíferos, população de espermatogônias A₁ e com a produção espermática diária (JOHNSON E THOMPSON, 1983; BERNDTSON et al. 1987; BERNDTSON e THOMPSON, 1990, JOHNSON et al. 1994 E FRANÇA e RUSSELL, 1998). O estabelecimento desta população ocorre em idades muito precoces do desenvolvimento testicular, após esta fase as células de Sertoli perdem sua habilidade mitótica e permanecem numericamente estáveis (GONDOS e BERNDSTON, 1993).

A maioria das mitoses das células de Sertoli nos mamíferos ocorre na vida intra-uterina e por um curto período pós-natal. O final do processo mitogênico está relacionado com a formação da barreira de células de Sertoli e o estabelecimento da puberdade. Após estes dois eventos nenhum aumento sazonal ou relacionado com a idade é observado na população de células de Sertoli (FRANÇA e RUSSEL, 1998).

De acordo com Cooke et al. (1994), existe uma grande variação no padrão de proliferação entre as espécies. O período mitogênico é muito curto em ratos e camundongos; ele inicia-se no final da gestação para ambas as espécies e continua até o 12^o-15^o dia pós-natal em camundongos

(VERGOUWEN et al., 1993; JOYCE et al., 1993) e até o 15^o–18^o dia pós-natal em ratos (CLERMONT e PEREY, 1957; STEINBERGER e STEINBERGER, 1971; ORTH, 1982; VAN HAASTER et al., 1992). Portanto, durante o período fetal destas espécies observa-se uma maior expansão da população de células de Sertoli e após o nascimento, a proliferação destas células já está em declínio (ORTH 1982; VERGUOWEN et al., 1991; VAN HAASTER et al., 1992; JOYCE et al., 1993).

É importante salientar que, além das diferentes extensões, nos períodos proliferativos, pós-natais entre as espécies, a intensidade de proliferação é outro fator que deve ser levado em consideração durante este período (COOKE et al., 1994).

Portanto, os mamíferos podem apresentar longos períodos de proliferação de células de Sertoli com uma baixa média mitogênica e diminuição gradual desta média. Por outro lado, outros podem apresentar períodos mais condensados de proliferação de células de Sertoli, caracterizados por altos índices mitóticos, porém, que declinam rapidamente e culminam com a maturação das células de Sertoli (COOKE et al., 1994).

Em algumas espécies, a mitogênese da célula de Sertoli no período fetal não foi quantificada, entretanto é sabido que em coelhos o período de proliferação pode estender-se até o 60^o dia pós-natal (COOKE et al., 1994).

Segundo Hochereau-De Reviers et al. (1995), entre o 42^o e o 100^o dia do período fetal em carneiros ocorre uma elevada proliferação de células somáticas e germinativas, entretanto sem qualquer diferenciação. Nesta espécie as divisões mitóticas das células de Sertoli são mais numerosas antes do nascimento do que depois, por outro lado, no período pós-natal observou-se

que a proliferação deste tipo celular, apesar de discreto, perdurou até o 40º dia (COOKE et al., 1994; HOCHEREAU-DE REVIERS et al., 1995).

Em touros a proliferação de células de Sertoli no período pós-natal inicia-se por volta da 20ª e se prolonga até a 32ª semana, a partir da qual ocorre uma estabilização no número de células de Sertoli por testículo nesta espécie (CURTIS e AMANN, 1981).

No homem, o período mitótico das células de Sertoli encerra-se aproximadamente entre onze e quatorze anos (FURUYA et al., 1978; NISTAL & PANIAGUA, 1983) e a produção de espermatozóides se inicia com cerca de 12 a 13 anos, pela ação hormonal e dura durante toda a vida (GUYTON, 2002). E o parâmetro de normalidade para o número de espermatozóides no fluido ejaculado é de 20 a 200 milhões/ml. Segundo GONDOS e BERNDTSON (1993), a população de células de Sertoli aumenta gradativamente no período pós-natal até atingir um platô entre 25 e 40 anos. Por outro lado, a partir dos 40 anos se observa um declínio gradativo na população de células de Sertoli acompanhado também por uma diminuição na produção espermática (JOHNSON et al., 1984).

Trabalhos envolvendo tanto a administração de FSH quanto à supressão desse hormônio, no período de proliferação das células de Sertoli, mostram que o número de células está reduzido ou aumentado (HOCHEREAU-DE-REVIERS e COUROT, 1978; ORTH, 1984; ORTH et al., 1984; VAN VORSTENBOSCH et al., 1987; ORTH, 1993; SHARPE, 1994; MEACHEM et al., 1996; SINGH e HANDELSMAN, 1996; ROCHA et al., 1999).

O FSH é uma glicoproteína que se liga a receptores específicos localizados na membrana plasmática das células de Sertoli (WALKER e

CHENG, 2005), sendo considerado como o principal fator mitogênico para estas células. Este hormônio é sintetizado e secretado pelos gonadotrofos localizados na adenohipófise (ZIRKIN, 1998; GUYTON, 2002; WALKER e CHENG, 2005), sob a ação do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) produzido no hipotálamo, sendo seu controle “feedback” negativo exercido pela inibina secretada pelas células de Sertoli.

O efeito mitogênico do FSH sobre as células de Sertoli imaturas é mediado pelo aumento dos níveis intracelulares do AMP cíclico (ORTH e BOEHM, 1990). No entanto, pouco é sabido a respeito dos eventos específicos que causam o início da divisão das células de Sertoli em resposta ao FSH. Especula-se que o estrógeno, produzido pela aromatização de andrógenos nas células de Sertoli imaturas, sob o estímulo do FSH, pode exercer um papel mediador importante na divisão celular (ULISSE et al., 1994). A ação da inibina neste processo, através das células de Leydig, também é possível (ORTH, 1993; SHARPE, 1994; DE KRETZER et al., 1996).

As respostas das células de Sertoli ao FSH variam de acordo com o período de desenvolvimento testicular em que o animal se encontra (GRISWOLD, 1993). Sua ação depende da idade (ASATIANI, 2002). Durante o período fetal e neonatal do desenvolvimento testicular o FSH é considerado o fator regulador de maior relevância na mitogênese da população de células de Sertoli (HOCHEREAU-DE-REVIERS e COUROT, 1978; ORTH, 1984; VAN VORSTENBOSCH et al., 1987; ORTH, et al., 1988; ORTH, 1993; SHARPE, 1994; MEACHEM et al., 1996; SINGH e HANDELSMAN, 1996).

Ao longo destes períodos, os níveis séricos normais de FSH são cruciais para a determinação do tamanho adequado da população de células de Sertoli do testículo no indivíduo adulto (ORTH, 1984; ORTH et al., 1988).

O número de receptores de FSH por células de Sertoli é relativamente constante de 2 a 21 dias após o nascimento (1500 a 1900€" receptores/célula), no entanto, tende a aumentar cada vez mais até 60 dias após o nascimento (BORTOLUSSI et al. 1990 apud WALKER E CHENG, 2005).

A proliferação das células de Sertoli diminui continuamente após o nascimento, encerrando a atividade mitótica entre 20 e 30 dias após o nascimento em ratos (ORTH, 1982) e camudongos (JOYCE,1991; VERGOUWEN et al. 1993).

Alguns estudos sugerem que o FSH é importante para a manutenção quantitativa da espermatogênese (RUSSEL et al., 1993; MEACHEM et al., 1999).

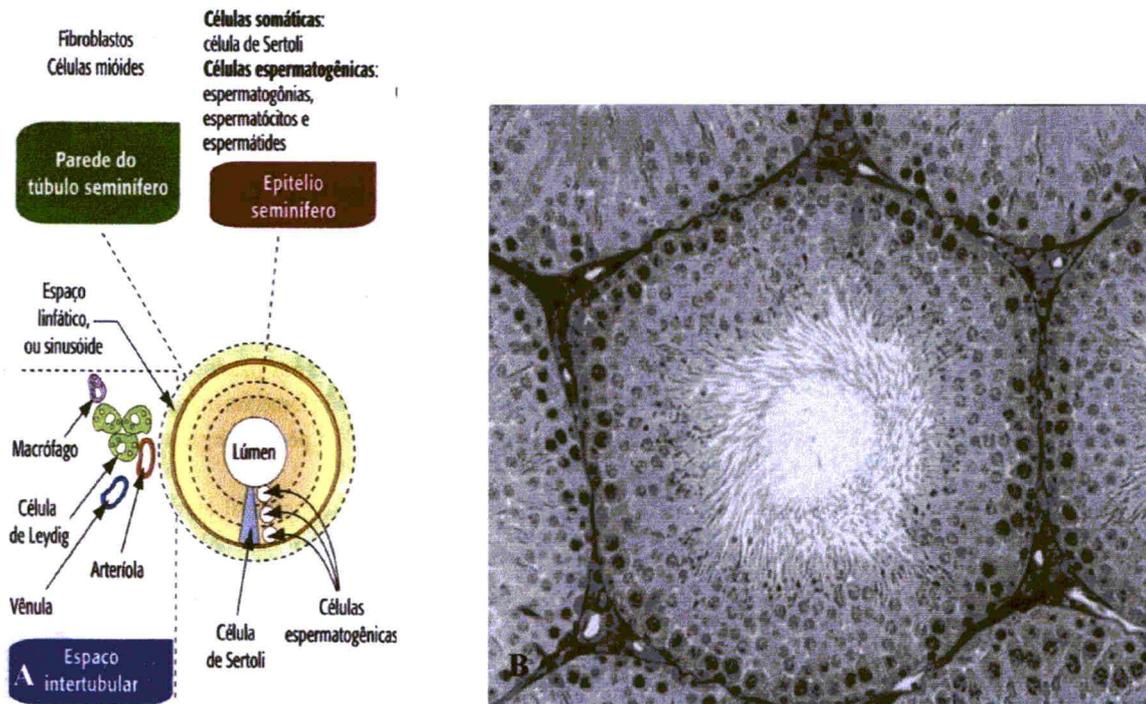


Figura 5. A. Ilustração dos constituintes do parênquima testicular. Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology. Kierszenbaun, A.L., Mosby, Inc. items and derived items copyright © 2002 by Mosby, Inc. B. Corte transversal de um túbulo seminífero de rato no estágio VII do ciclo do epitélio seminífero (Foto: Silva Junior, V.A.).

3.1 Processo espermatogênico

A espermatogênese é um complexo e bem organizado processo que ocorre nos túbulos seminíferos e dura de 40 a 60 dias, na maioria dos mamíferos investigados (FRANÇA e RUSSELL, 1998). Pode ser definido em três fases baseado em considerações morfológicas e funcionais: (1) fase proliferativa (espermatogonial), na qual as células sofrem rápidas e sucessivas divisões mitóticas; (2) fase meiótica (espermatócitos), na qual o material genético é duplicado e passa por recombinação genética; e (3) fase de

diferenciação ou espermiogênica (espermátides), na qual as espermátides sofrem enormes modificações, transformando-se em células muito especializadas e estruturalmente equipadas para alcançar e fertilizar os ovócitos (RUSSELL et al., 1990).

Espermiogênese é a fase final de produção de espermatozóides, considerada bastante complexa, pois engloba a formação acrossômica, condensação e alongamento do núcleo, desenvolvimento do flagelo e a perda de grande parte do citoplasma, que resulta nos chamados corpos residuais. Estes são fagocitados pelas células de Sertoli e os espermatozóides, liberados para o lúmen do túbulo (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004). Cada uma destas fases dura aproximadamente 1/3 do processo espermatogênico.

Nos túbulos seminíferos de animais sexualmente maduros, as células espermatogênicas não estão arranjadas ao acaso, mas sim organizadas numa série bem definida de associações celulares ou estágios. Com exceção de algumas espécies de primatas, o arranjo dos estágios do ciclo do epitélio seminífero é segmentar em todos os mamíferos investigados e usualmente existe somente um estágio por secção transversal de túbulos seminíferos (LEBLOND e CLERMONT, 1952; RUSSELL et al., 1990). Os estágios se sucedem numa determinada área do epitélio seminífero, com o decorrer do tempo. Esta seqüência, assim ordenada, constitui o processo denominado ciclo do epitélio seminífero (LEBLOND e CLERMONT, 1952; ORTAVANT et al., 1977; RUSSELL et al. 1990).

O processo espermatogênico é controlado por fatores extra e intra-testiculares. Os hormônios hipofisários glicoprotéicos o FSH e o LH são considerados os principais fatores extra-testiculares e exercem controle sobre a

espermatogênese (WALKER e CHENG, 2005). Inúmeros são os fatores intra-testiculares produzidos pelos componentes do compartimento tubular e intersticial que também influenciam o processo espermatogênico, entre os quais podemos citar a testosterona, inibina, endorfina, CRH (hormônio liberador de corticotrofina) e mais recentemente a serotonina (TINAJERO et al., 1992, 1993; SHARP, 1994, FRANÇA e RUSSELL, 1998).

A temperatura é um fator muito importante para o processo espermatogênico. Nos testículos deve ser aproximadamente 35° e pode ser controlada por mecanismos locais: pelo plexo venoso, chamado pampiniforme, pela secreção sudorípara e pela contração dos músculos cremastéricos (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004).

Os espermatozóides após saírem dos túbulos seminíferos, vão em direção ao epidídimo, porém ainda não podem fertilizar o óvulo. É necessário que permaneçam no epidídimo por cerca de 18 a 24 horas, processo denominado maturação. Para isso, as células de Sertoli e o epitélio do epidídimo secretam um líquido contendo os hormônios testosterona e estrogênio, enzimas e nutrientes, que dá motilidade aos espermatozóides.

Para estar dentro da normalidade, mais de 30% dos espermatozóides ejaculados devem apresentar boa motilidade total em uma hora após serem ejaculados.

Os testículos de um adulto jovem que formam em média 120 milhões de espermatozóides por dia, que podem ser armazenados no epidídimo e na ampola do canal deferente (GUYTON, 2002).

Em alguns casos, o volume ejaculado, o Ph, o número de espermatozóides, a motilidade, a vitalidade (que é a capacidade dos

espermatozóides se manterem moveis após três horas após ejaculação em temperatura ambiente) encontram-se normais, no entanto, a morfologia dos espermatozóides pode estar bastante alterada; Quando o número e motilidade dos espermatozóides estão reduzidos, e/ou existe um alto índice de anormalidades acentuadas, a capacidade de fertilização diminui (CRESPILHO et al., 2006).

Idade, estresse, Diabetes Mellitos, tabagismo, algumas drogas, dentre outros fatores, podem influenciar não só a ereção, libido, ejaculação, como também a fertilização.

3.2 Glândulas Anexas

As vesículas seminais e a próstata são estruturas anatômicas fundamentais no processo de reprodução e na funcionalidade dos espermatozóides humanos e encontram-se no interior da cavidade pélvica.

As vesículas seminais são estruturas alongadas, localizadas superior à próstata, entre o fundo da bexiga e o reto. Cada vesícula seminal é formada por um tubo sinuoso revestido por epitélio secretor, que secreta um líquido viscoso alcalino, rico em frutose e outras substâncias nutritivas, além de prostaglandinas e fibrinogênio. Isso ajuda a aumentar o volume do conteúdo ejaculado. No momento da ejaculação, cada vesícula seminal secreta seu conteúdo no ducto ejaculatório (GUYTON, 2002; MOORE, 2007; SCHÜNKER, 2007).

A próstata é a maior das glândulas anexas do sistema reprodutor, com cerca de 20g, tem aproximadamente 3x4x2cm de comprimento, largura e

espessura, respectivamente no humano. Envolve uma parte da uretra, sendo composta por uma porção glandular e outra, fibromuscular. Apresenta-se e sua morfologia é formada por uma base (relacionada ao colo da bexiga), um ápice (voltado para baixo), uma face anterior (voltada para a sínfise púbica) e outra posterior (relacionada à ampola retal) e envolvida por uma cápsula fibrosa. Secreta um líquido leitoso, fino e alcalino (pH de 6,4), que se junta ao conteúdo ejaculado, desembocando na uretra prostática, dando mais funcionalidade aos espermatozoides (MOORE, 2007; SCHÜNKER, et al., 2007).

As glândulas bulbouretrais têm tamanho aproximado de uma ervilha e situa-se póstero-lateralmente à porção membranácea da uretra, secreta um líquido mucoso, que é jorrado na uretra durante o processo de excitação (MOORE, 2007). Nos machos humanos, essas glândulas participam principalmente na lubrificação, importante para o momento do coito e que antecede a ejaculação, porém é inexistente no sistema reprodutor do rato.

O conteúdo ejaculado humano apresenta valores de referência entre 1,5 e 5,0ml ou de 2 a 6ml, com pH alcalino, sendo composto de espermatozoides e pelo fluido seminal, que é o resultado de secreções provenientes dos testículos, epidídimo, próstata, das vesículas seminais e das glândulas bulbo-uretrais (SCHÜNKER, et al. 2007).

4 Objetivos

4.1 Objetivo geral

- Verificar os efeitos da Olanzapina sobre a espermatogênese de ratos Wistar pós-púberes, nas dosagens de 1mg/kg, 2,5mg/kg, 5mg/kg e 10mg/kg.

4.2 Objetivos específicos

- Investigar os efeitos da Olanzapina, em ratos, sobre a incidência de níveis plasmáticos de níveis de testosterona e influência na espermatogênese;
- Analisar o peso corporal dos ratos do 1º ao 46º dia do experimento;
- Analisar as estruturas do aparelho reprodutor dos ratos levando em consideração alguns parâmetros:
 - a) Peso dos testículos, epidídimo, da vesícula seminal, próstata, adrenal no 46º dia;
 - b) Proporções volumétricas entre componentes do parênquima testicular e diâmetro dos túbulos seminíferos;
 - c) Morfologia das células da linhagem espermatogênica e das células de Sertoli através de microscopia de luz e as relações quantitativas entre as mesmas;

- d) População celular dos túbulos seminífero no estágio 7, pelo sistema acrossômico, do ciclo do epitélio seminífero (CES);
- e) Número de células de Sertoli por grama testicular e por testículo;
- f) Produção espermática diária estimada através da histologia quantitativa dos testículos;

5 Materiais e Métodos

5.1 Animais

Foram utilizados 25 ratos machos Wistar (*Rattus norvegicus*, var. *albinus*) pertencentes ao biotério da Área de Fisiologia Animal do DMFA/UFRPE, os quais foram mantidos, junto com as mães, na temperatura $23^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$, em ciclo claro-escuro de 12 horas. Água e comida oferecidas *ad libitum*, até o término do experimento. Os ratos pós-púberes foram escolhidos por amostragem não probabilística de conveniência e submetidos aos diversos tratamentos, de acordo com o grupo experimental: controle soro fisiológico (n=5), 1mg/Kg (n=5), 2,5mg/Kg (n=5), 5mg/Kg (n=5), 10mg/Kg (n=5) de Olanzapina.

A dose de Olanzapina foi administrada por 45 dias, via injeção intraperitoneal, diariamente por 45 dias. A pesagem dos animais foi realizada diariamente por 46 dias nos grupos controle e tratados, para acompanhamento da curva de crescimento corporal e cálculo das doses de Olanzapina.

5.2 Dosagem de Testosterona

Antes do início do processo de fixação por perfusão, as amostras de sangue foram colhidas por punção do seio venoso da veia cava. Após este procedimento as amostras foram dessoradas por centrifugação e acondicionadas em ependorffs de 1,5mL e congeladas a -20°C .

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

Para este ensaio inicialmente 66,7 μ L do anticorpo (Polyclonal anti-testosterona R156/7, Coralie Munro, University of California, Davis, USA.) foram diluídos em 5mL de tampão (coating buffer; Na₂CO₃, NaHCO₃, H₂O ultra pura, pH ajustado para 9,6) e 50 μ L desta solução de anticorpo foram adicionados em cada poço da placa (NUNC Immuno TM plates, Maxisorp). Após isso, a placa foi coberta com selador plástico e mantida a 4°C por 12 horas no máximo.

Uma vez preparada à placa, preparou-se a curva padrão, por meio de diluições seriadas de 250 μ L do padrão de concentração 600pg/50 μ L de testosterona (17-hydroxy-4-androsten-3-one, Steraloids, Sigma A6950) até a concentração de 2,3pg/50 μ L, em 250 μ L de solução de ensaio de ELISA (NaH₂PO₄; Na₂HPO₄; NaCl; BSA - Sigma Aldrich, A7906; H₂O ultra pura, pH ajustado para 7,00). O hormônio conjugado com a enzima HRP (Testosterone-horseradish Peroxidase) foi também diluído (33,3 μ L em 5mL da solução de ensaio de ELISA).

Imediatamente antes de dar início ao ensaio, a placa foi lavada 5 vezes com a solução de lavagem (NaCl; Tween 20 – Sigma, P1379; H₂O ultra pura) e o excesso de solução é retirado batendo-se a placa em papel toalha. A seguir, em cada poços correspondentes foram pipetados 50 μ L dos padrões, controles e amostras e logo após 50 μ L da HRP, com o cuidado de não se ultrapassar mais que 10 minutos neste processo. A placa foi novamente coberta com o

selador e deixada incubando por exatamente 1 hora, em temperatura ambiente. Após esse período foi repetido o procedimento de lavagem.

Finalmente, preparou-se, imediatamente antes do uso, a solução de substrato para ELISA combinando 40 μ L 0,5M H₂O₂, 125 μ L 40 mM ABTS (Calbiochem, ABTSTM Chromophore, Diammonium Salt) e 12,5mL de solução de substrato para ELISA (ácido cítrico; H₂O ultra pura, pH ajustado para 4,00). Adicionou-se 100 μ L em todos os poços contendo padrão, controle ou amostra. Cobriu-se a placa, para incubar em temperatura ambiente e sob agitação (Multi-Pulse Vortexer; modelo 099A VB4, 50/60Hz – Glass-Col®), até que a densidade óptica dos poços zero fique entre 0.9 e 1. Procedeu-se então a leitura no leitor de microplacas (TECAN). Todas as amostras foram lidas em duplicata, com coeficiente de variação intra e inter-ensaio menor do que 10%.

5.3 Perfusão Tecidual e Processamento Histológico

Após a fase de aplicação do fármaco, os ratos foram heparinizados (125 UI/100g de peso corporal) e anestesiados por injeção intraperitoneal de tiopental sódico (30mg/Kg; ROCHE, Brasil), e submetidos à perfusão intracardiaca com solução fisiológica de NaCl a 0,9%, acrescida de heparina sódica (500UI/L; AKZO ORGANON TEKNIKA) e nitroprussiato de sódio (100mg/L; SIGMA), por um período de tempo entre 5 e 10 minutos. Após a lavagem do sistema vascular, houve a perfusão com solução fixadora de glutaraldeído (VETEC, Brasil) a 4%, em tampão fosfato de sódio, pH 7,2 e 0,01M, durante 25 minutos.

Após o término da perfusão, foram removidos e pesados: testículos, epidídimos, vesícula seminal, próstata, adrenal.

Os órgãos do sistema reprodutor foram avaliados histologicamente para detecção de alterações nas estruturas do parênquima. No testículo também foi realizada a avaliação morfométrica.

Os testículos foram seccionados em fragmentos de até 2mm de espessura os quais foram submetidos a re-fixação na mesma solução de perfusão. Para os estudos ao microscópio de luz, os fragmentos foram processados rotineiramente para inclusão em resina plástica à base de glicol metacrilato (LEICA). Cortes histológicos de 4µm de espessura foram corados em azul de toluidina/borato de sódio a 1% e analisados.

5.4 Análise Morfométrica Testicular

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

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

Do compartimento tubular foram avaliados a túnica própria, o epitélio seminífero e o lume. Do intertubular ou intersticial, foram investigadas as células de Leydig, células e fibras do tecido conjuntivo, vasos sangüíneos e linfáticos. Como a densidade do testículo é em torno de 1,03 a 1,04g/mL (FRANÇA, 1991), o peso do testículo foi considerado igual ao seu volume.

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

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

A estimativa dos diferentes tipos celulares que compõem o epitélio seminífero no estágio 7 do ciclo espermatogênico, classificado de acordo com

o método acrossômico (RUSSELL et al., 1990) foi feita a partir de contagens dos núcleos das células germinativas e de nucléolos das células de Sertoli. Nestas contagens, foram utilizadas cinco secções transversais de túbulos seminíferos para cada animal. Os núcleos dos seguintes tipos celulares foram contados: espermatócitos I, na fase de pré-leptóteno/ leptóteno (SPT I PI/L); espermatócitos I, na fase de paquíteno (SPT I P); espermatídes arredondadas (SPD Ar); nucléolo de células de Sertoli.

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

$$\text{Número Corrigido} = \text{Contagem Obtida} \times \frac{\text{Espessura do Corte}}{\text{Espessura do Corte} + \sqrt{\left(\frac{DM^2}{2}\right) - \left(\frac{DM^2}{4}\right)}}$$

O diâmetro nuclear médio (D.M.) representa a média das medidas dos diâmetros dos núcleos do tipo celular estudado, para cada animal. Os diâmetros nucleares serão medidos com o auxílio de retículo micrométrico linear (10 mm/100 - Olympus) adaptada a uma das oculares de 10x e acoplada à objetiva de 100x, propiciando um aumento final de 1000x.

No caso das espermatogônias do tipo A que apresenta núcleos ovóides, o valor utilizado foi aquele obtido pela média entre diâmetro nuclear maior e menor. Os números de células de Sertoli foram corrigidos para o diâmetro nucleolar e espessura do corte histológico, em virtude disto, foi contabilizada

exclusivamente células de Sertoli com nucléolo visível, o que proporcionará aplicação da mesma fórmula citada anteriormente.

A população total de células de Sertoli por testículo foi obtida a partir do número corrigido de nucléolos de células de Sertoli por secção transversal de túbulo seminífero no estágio VII e do comprimento total de túbulos seminíferos por testículo, segundo a fórmula empregada por Hochereau-de Reviere e Lincoln (1978): Número de células de Sertoli por testículo= [Comprimento total de túbulos Seminíferos (μm) X Número corrigido de nucléolos de células de Sertoli por secção transversal] / Espessura do corte (μm).

A produção espermática diária por testículo e por grama de testículo foi obtida de acordo com Rocha et al. (1999) e Silva Júnior et al. (2006): PED = Nº Total de células de Sertoli por testículo X número de espermátides arredondadas no estágio VII X frequência relativa do estágio VII/duração do estágio (dias).

Avaliação histopatológica qualitativa da espermatogênese foi realizada em microscópio BX51 da marca Olympus para detecção de prováveis alterações decorrentes da utilização de olanzapina.

5.5 Análise Estatística

Os resultados obtidos nos ensaios *in vivo* foram expressos através de medidas de centralidade e dispersão (média \pm desvio padrão). Foi utilizado o programa computacional Statistica 5.1 (StarSoft, Inc., 1998) para realização do teste de Shapiro-Wilk visando verificar a tendência de normalidade dos dados. Sendo confirmado, se utilizou o programa GraphPad (InStat[®], 2000) para realização do teste paramétrico de Análise de Variância (ANOVA), utilizando-se o post-hoc de Tuckey para verificar quais grupos experimentais diferiram entre si. Alguns dados que não seguiram as tendências de normalidade, foi realizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, com posterior teste post-hoc de Dunn. Em todas as análises estatísticas foi utilizado o nível de significância de 5 %.

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

6 Resultados

Realizando a estatística (ANOVA), foram verificadas diferenças extremamente significantes entre as médias do peso corporal de todos os ratos dos diferentes grupos, durante os 46 dias. As diferenças foram evidentes tanto entre o grupo controle e os grupos tratados com olanzapina, quanto com os grupos tratados com diferentes dosagens da mesma droga. Observou-se que o grupo tratado com a dosagem de 10mg/Kg sofreu redução de peso corporal durante todo o período (Tabela 1). Apesar da diferença de peso observada entre os animais no início do experimento é possível constatar que a evolução do peso corporal nos grupos controle, tratado com 1mg/kg e 2,5mg/kg demonstraram a mesma tendência de crescimento. Por outro lado, os animais tratados com as maiores dosagens apresentam tendência linear na evolução do peso corporal (Figura 6).

Tabela 1: Médias e desvio padrão dos pesos dos ratos tratados durante 46 dias com diferentes doses de Olanzapina.

DIAS	CONTROLE (n = 5)	G1 (1mg/Kg) (n = 5)	G2 (2,5mg/Kg) (n = 5)	G3 (5mg/Kg) (n = 5)	G4 (10mg/Kg) (n = 5)
1	391,4 ± 21,44abc	349,6 ± 32,33ac	420,8 ± 23,29b	384,00 ± 48,03abc	343,6 ± 19,83ac
4	398,18 ± 21,14abc	354,92 ± 32,02ac	428,42 ± 25,67b	384,94 ± 44,60abc	345,1 ± 17,79ac
7	400,24 ± 22,44abd	353,40 ± 34,12 acd	419,98 ± 28,59bd	376,92 ± 43,49abcd	337,38 ± 17,25ac
10	399,16 ± 21,63abd	353,08 ± 29,50acd	422,78 ± 32,47bd	376,58 ± 44,39abcd	335 ± 17,97ac
13	409,72 ± 19,85abd	356,20 ± 17,67acd	423,38 ± 33,87bd	376,92 ± 44,75abcd	334,48 ± 15,81ac
16	416,72 ± 24,17cb	359,46 ± 30,51ad	427,62 ± 32,21bc	380,9 ± 41,82abcd	337,36 ± 16,23da
19	423,22 ± 24,26abd	365,22 ± 28,13acd	433,12 ± 32,11bd	385,94 ± 44,22abcd	334,64 ± 18,29ac
22	435,42 ± 26,72cd	384,04 ± 25,25ad	454,86 ± 37,44bc	388,6 ± 37,94abcd	337,28 ± 17,21da
25	445,54 ± 37,65cd	376,68 ± 25,77ad	445,88 ± 36,40bc	391,46 ± 38,98abcd	337,48 ± 16,11da
28	442,52 ± 27,36cd	378,1 ± 22,51ad	391,34 ± 39,91bc	446,26 ± 39,19abcd	339,36 ± 14,02da
31	440,9 ± 28,08abd	387,26 ± 21,89acde	453,76 ± 38,65bde	399,54 ± 39,75abde	342,14 ± 16,45ac
34	447,36 ± 31,56bde	388,58 ± 20,85 ae	451,36 ± 40,54bde	400,84 ± 39,13abde	339,28 ± 14,34c
37	452,1 ± 33,02c	393,62 ± 18,05 ade	455,06 ± 38,06bce	398,92 ± 37,60abce	334,14 ± 17,04ad
40	456,2 ± 35,15abde	400,2 ± 23,45ade	455,74 ± 39,91bde	404,5 ± 40,77abde	337,2 ± 13,50c
43	455,8 ± 34,66ac	406,44 ± 30,16abc	449,6 ± 41,74ac	401,8 ± 38,56abc	331,76 ± 13,42ac
46	456,0 ± 34,0ac	408,3 ± 28,3abc	453,12 ± 40,2ac	404,28 ± 38,0abc	356,0 ± 13,2

Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam significância (p<0,05)

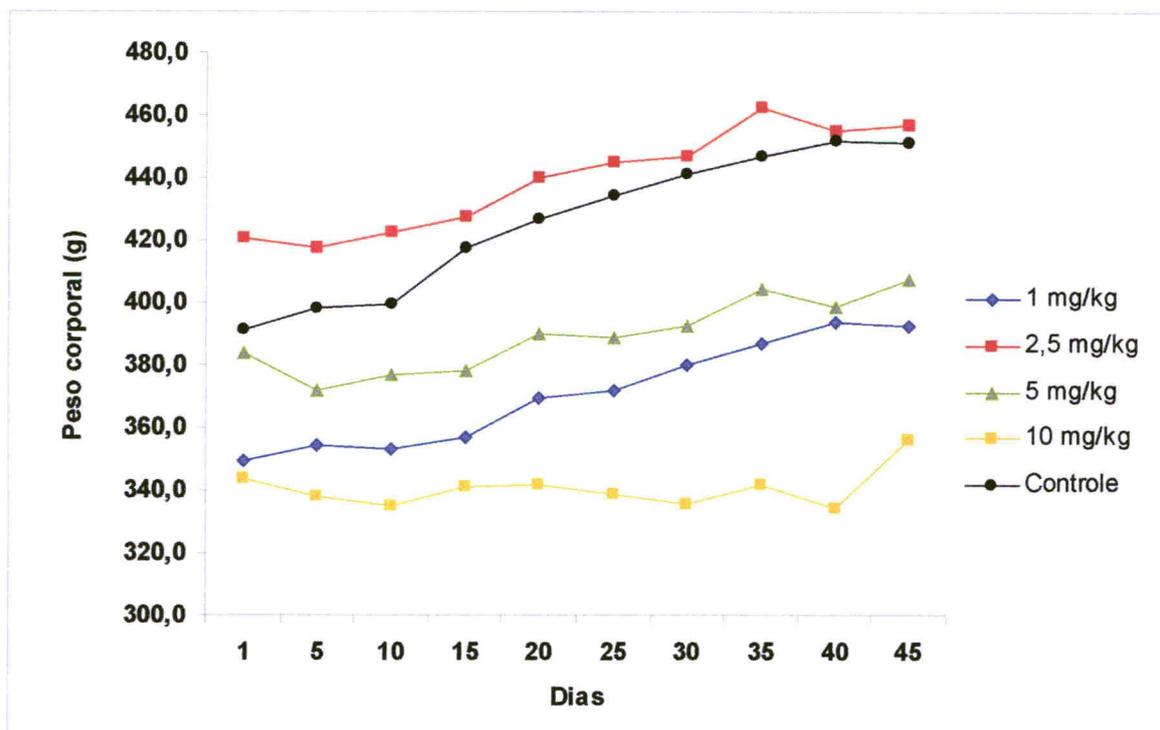


Figura 6 – Curva de desenvolvimento ponderal de ratos Wistar controle e tratados com diferentes doses de olanzapina durante 45 dias.

Na tabela 2 estão expressos os valores de médias e desvio padrão dos pesos dos órgãos de ratos tratados durante 45 dias com diferentes doses de olanzapina. A análise foi considerada significativa para peso do testículo (g) com $p = 0,02$. Comparando-se o grupo tratado com 2,5mg/kg e 10mg/kg observou-se diferença significativa, com $p < 0,05$. A tabela 2 mostra o peso dos órgãos nos diferentes grupos:

Os resultados das comparações dos pesos médios epididimários entre os grupos experimentais foram considerados extremamente significativos, para valor de $p = 0,0006$. Em relação ao peso do epidídimo, comparando-se o grupo controle com o grupo que recebeu a dosagem de 10 mg/Kg, foi encontrada uma diferença significativa com $p < 0,01$. E entre os grupos de 2,5 e 10 mg/Kg, com $p < 0,001$, observou-se diferença bastante significativa. Nos demais, não se observou diferença estatisticamente significante.

A análise do peso das vesículas seminais entre os grupos não foi significativa, com $p= 0,06$.

Em relação ao peso da próstata, para $p = 0,001$, foi observada significativa redução de peso entre no grupo de 10mg/kg em relação ao controle, assim como entre este grupo e o de 2,5mg/kg. Bastante significativa ($p<0,001$) foi também a diferença entre médias dos grupo tratados com 1mg/Kg e 10mg/Kg de Olanzapina, com redução de peso da próstata sendo observada entre os animais tratados com a maior dose em comparação aos tratados com a menor.

Na análise da testosterona, comparando-se a diferença entre os grupos, observa-se: ng/ml ($p=0,0084$) foi muito significativa; nmol/l foi também considerada bastante significativa, apresentando o mesmo valor de p da análise anterior ($p= 0,0084$) entre o grupo controle e tratado com 10mg/kg de Olanzapina; O coeficiente de variação (CV%) não foi considerado estatisticamente significativo (Tabela 3).

Tabela 2: Médias e desvio padrão dos pesos dos órgãos de ratos tratados durante 45 dias com diferentes doses de Olanzapina.

PARÂMETROS	CONTROLE (n = 5)	G1 (1mg/Kg) (n = 5)	G2 (2,5mg/Kg) (n = 5)	G3 (5mg/Kg) (n = 5)	G4 (10mg/Kg) (n = 5)
Testículo direito(g)	1,71 ± 0,16	1,6 ± 0,09	1,71 ± 0,07	1,49 ± 0,35	1,49 ± 0,16
Testículo esquerdo (g)	1,69 ± 0,18	1,61 ± 0,07	1,76 ± 0,07	1,49 ± 0,36	1,52 ± 0,06
Peso testicular médio (g)	1,72 ± 0,16ab	1,61 ± 0,08ab	1,71 ± 0,08a	1,49 ± 0,35ab	1,50 ± 0,04b
Epidídimo direito (g)	0,70 ± 0,06a	0,62 ± 0,05abc	0,65 ± 0,02ac	0,59 ± 0,07bc	0,52 ± 0,04b
Epidídimo esquerdo (g)	0,66 ± 0,07	0,62 ± 0,04	0,71 ± 0,02	0,62 ± 0,07	0,73 ± 0,43
Peso médio do epidídimo (g)	0,68 ± 0,06a	0,62 ± 0,04ab	0,68 ± 0,02a	0,61 ± 0,07ab	0,53 ± 0,04b
Vesícula seminal (g)	2,68 ± 0,52	2,69 ± 0,96	2,03 ± 0,49	2,11 ± 0,48	1,65 ± 0,56
Próstata (g)	0,99 ± 0,31a	1,17 ± 0,22a	0,91 ± 0,16a	0,81 ± 0,15ab	0,52 ± 0,08b
Adrenal direita (mg)	40 ± 10	30 ± 10	40 ± 10	40 ± 10	40 ± 0,0
Adrenal esquerda (mg)	40 ± 10	40 ± 10	40 ± 10	60 ± 10	50 ± 0,0

Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam significância ($p < 0,05$)

Tabela 3: Médias e desvio padrão dos níveis séricos testosterona de ratos tratados durante 45 dias com diferentes doses de Olanzapina.

Parâmetros	CONTROLE (n = 5)	G1 (1mg/Kg) (n = 5)	G2 (2,5mg/Kg) (n = 5)	G3 (5mg/Kg) (n = 5)	G4 (10mg/Kg) (n = 5)
ng/mL	2,47 ± 1,76a	2,20 ± 1,03ab	0,80 ± 0,46ab	0,64 ± 0,76ab	0,39 ± 0,20b
nMol/L	8,58 ± 6,10a	7,65 ± 3,60ab	2,77 ± 1,59ab	2,21 ± 2,70ab	1,37 ± 0,71b
CV%	1,57 ± 1,19	2,71 ± 2,01	3,08 ± 1,74	3,20 ± 3,18	3,54 ± 2,37

Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam significância ($p < 0,05$)

Nos dados referentes à volumetria testicular (tabela 4) foi observado que o peso líquido do testículo, analisado com teste Kruskal-wallis (não paramétrico), foi considerado significativo para os valores de $p = 0,02$. Como se pode observar na tabela comparação entre o grupo controle e o de 10mg/Kg e entre este e o grupo de 2,5mg/Kg ambas com $p < 0,05$, foi significativa. O volume de túbulo seminífero para o $p = 0,1$ não foi considerada significativa as comparações entre os grupos experimentais.

Para o epitélio seminífero, também não se observa diferença estatisticamente significativa ($p = 0,096$) entre os grupos com valor de $p > 0,05$. Não significativa foi também a análise do lúmen do túbulo (com $p = 0,21$), túnica própria ($p = 0,5$), Leydig ($p = 0,081$), célula do conjuntivo e vaso (ambas com $p = 0,3$), onde todos apresentaram valor de $p > 0,05$; o espaço linfático ($p = 0,04$) foi considerada significativa apenas a análise entre o grupo controle e o de 10 mg/kg, com $p < 0,05$.

Tabela 4. Médias e desvio padrão do peso líquido testicular e de parâmetros volumétricos do parênquima testicular de ratos tratados durante 45 dias com diferentes doses de Olanzapina.

Parâmetros	CONTROLE (n = 5)	G1 (1mg/Kg) (n = 5)	G2 (2,5mg/Kg) (n = 5)	G3 (5mg/Kg) (n = 5)	G4 (10mg/Kg) (n = 5)
Peso Líquido	1608,6 ± 152,1a	1504,7 ± 70,7ab	1612,5 ± 76,6a	1395,3 ± 326,3ab	1405,7 ± 38,1b
Túbulo Seminífero	1493,0 ± 149,3	1337,0 ± 76,5	1437,9 ± 85,98	1268,4 ± 293,9	1255,2 ± 29,6
Epitélio Seminífero	1207,2 ± 131,4	1195,0 ± 65,3	1312,1 ± 81,4	1090,2 ± 282,6	1113,4 ± 53,8
Lume tubular	98,2 ± 22,6	90,3 ± 13,6	72,7 ± 18,5	84,6 ± 14,2	82,8 ± 12,7
Túnica Própria	78,4 ± 34,6	51,7 ± 3,2	53,13 ± 3,9	52,1 ± 13,7	59,0 ± 33,7
Leydig	38,0 ± 6,7	26,1 ± 3,9	27,09 ± 2,1	27,1 ± 11,9	25,8 ± 8,9
Conjuntivo	6,6 ± 3,9	2,8 ± 0,1	2,67 ± 1,5	2,3 ± 1,3	4,4 ± 4,97
Vaso Sanguíneo	33,1 ± 15,2	23,57 ± 4,91	25,64 ± 5,29	17,9 ± 6,4	22,8 ± 10,7
Espaço Linfático	168,6 ± 36,1 ^a	110,6 ± 17,3ab	114,8 ± 10,9ab	121,6 ± 88,8ab	97,4 ± 42,4b

Na tabela 5 estão expressos dados sobre o peso líquido testicular e de parâmetros volumétricos do parênquima testicular de ratos tratados durante 45 dias com diferentes doses de Olanzapina.

De acordo com os resultados foi observada redução significativa no diâmetro tubular dos animais tratados com 1, 2,5 e 10mg/kg em relação ao controle. Da mesma forma foi observado que, independente da dose de Olanzapina administrada, a altura do epitélio dos animais tratados apresentou redução significativa em relação ao grupo controle.

População das células de Sertoli por secção transversal do túbulo seminífero foi analisada e segundo os resultados observados, não houve diferença significativa entre os grupos quanto à população deste tipo celular.

De acordo com os resultados referentes ao número de espermátides arredondadas foi possível constatar uma redução significativa de 26% quando comparamos os valores dos animais controle e tratados 1mg/kg. Da mesma forma foi observada uma redução de 32% na população deste tipo celular por secção transversal de túbulo seminífero entre o grupo controle e tratado com 10mg/kg.

O ICS (Índice de célula de Sertoli) é um parâmetro de performance celular que indica a capacidade de suporte das células de Sertoli em relação às espermátides arredondadas. De acordo com os resultados observados na tabela 5 foi observado aumento significativo deste parâmetro nos animais tratados com 2,5mg/Kg de Olanzapina em relação ao controle e ao grupo tratado com 1mg/kg. Entre os grupos tratados com 2,5 e 5mg/kg também foi observada diferença significativa sendo caracterizado aumento do ICS em G2 comparado ao G3.

Tabela 5. Médias e desvio padrão do peso líquido testicular e de parâmetros volumétricos do parênquima testicular de ratos tratados durante 45 dias com diferentes doses de Olanzapina. Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam significância ($p < 0,05$); ICS = Índice de célula de Sertoli; SPDAr=espermátide arredondada; PED= produção espermática diária.

Parâmetros	Controle (n=5)	1mg/kg (n=5)	2,5mg/kg (n=5)	5mg/kg (n=5)	10mg (n=5)
Diâmetro Tubular	387,9±13,4 ^a	346,8 ± 14,98 ^b	347,9 ± 12,6 ^b	358,0 ± 26,6 ^{ab}	329,5 ± 28,4 ^b
Altura do epitélio Sertoli/secção transversal de túbulo seminífero	133,6 ± 4,8 ^a	120,1 ± 8,7 ^b	116,9 ± 5,1 ^b	120,7 ± 5,8 ^b	110,8 ± 5,9 ^b
SPDAr/secção transversal	10,0 ± 2,9	8,5 ± 0,8	6,5 ± 1,1	7,6 ± 1,1	6,4 ± 1,5
ICS	73,7 ± 11,2 ^a	54,6 ± 6,9 ^b	64,5 ± 5,5 ^{ab}	58,3 ± 6,4 ^{ab}	50,2 ± 9,2 ^b
Comprimento Total de Túbulo Seminífero(m)	7,7 ± 1,4 ^{ac}	6,5 ± 0,6 ^{ac}	10,2 ± 1,6 ^b	7,8 ± 1,3 ^c	7,95 ± 0,7 ^{abc}
Pop. Cel. Sertoli (x10⁷)	12,2 ± 1,4	15,3 ± 1,3	16,3 ± 1,7	13,2 ± 3,6	16,1 ± 3,5
PED/Testículo (x10⁶)	3,0 ± 0,7	3,2 ± 0,4	2,6 ± 0,5	2,5 ± 0,8	2,6 ± 0,1
PED/g/Testículo (x10⁶)	16,6 ± 1,5	15,6 ± 1,9	19,6 ± 1,9 ²	14,4 ± 4,0 ²	15,2 ± 5,0
PED/g/Testículo (x10⁶)	10,4 ± 1,5	9,6 ± 0,9	12,3 ± 1,1	9,8 ± 8,3	10,1 ± 7,7

Na tabela 6 estão demonstradas as contagens das células dos túbulos seminíferos por secção transversal no estágio VII.

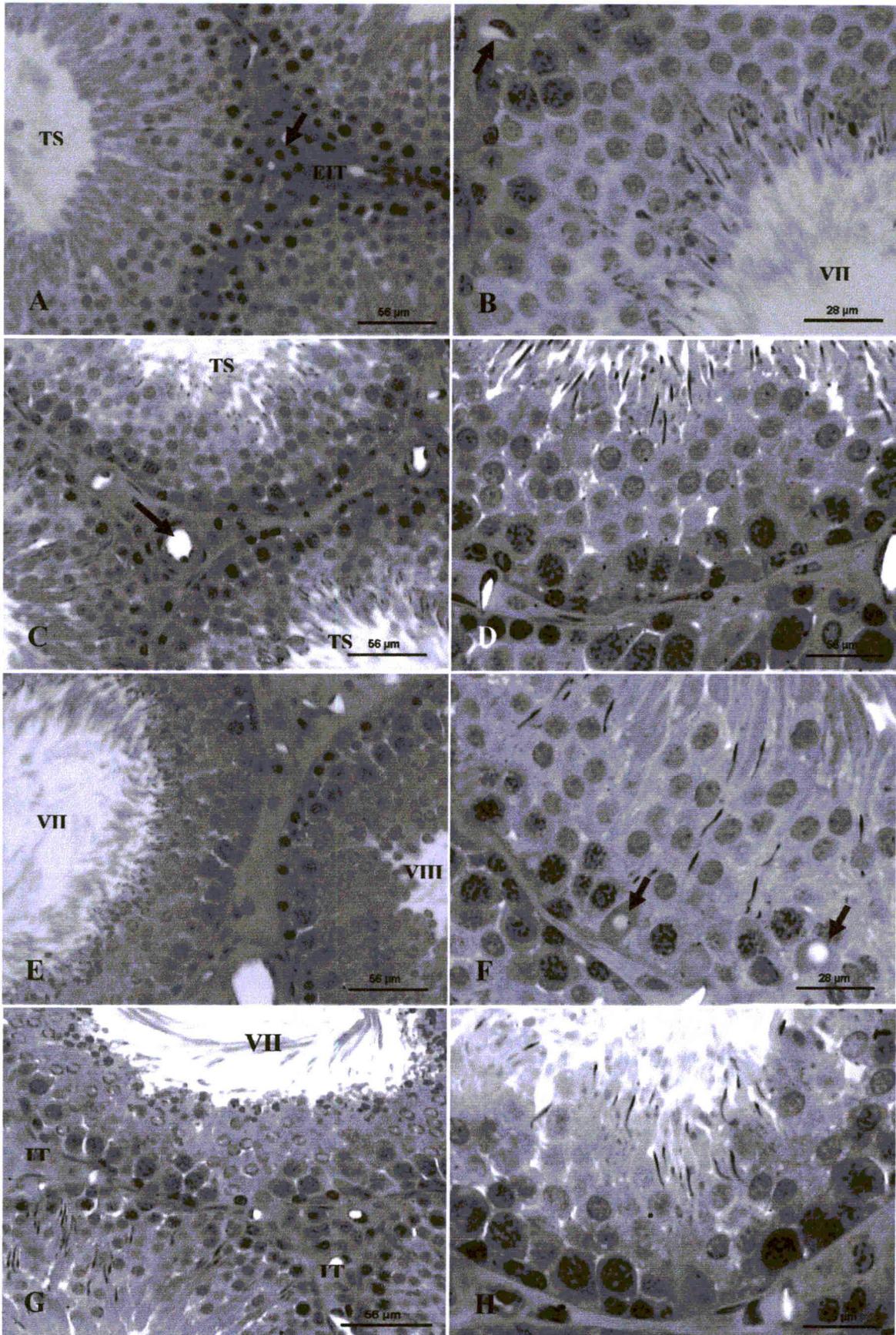
Para contagem dos paquítenos e pré-leptótenos foi observada uma redução significativa entre o grupo controle e o tratado com 10mg/Kg. Em relação às espermátides arredondadas as diferenças foram consideradas muito significantes uma vez que, nas comparações entre grupos o valor para p foi de 0,002. Entre os grupos controle e 1mg/Kg e entre o controle e o de 10mg/Kg, houve redução estatisticamente significativa, com valores de $p < 0,05$ e $< 0,01$, respectivamente.

Tabela 6. Médias e desvio padrão do peso líquido testicular e de parâmetros volumétricos do parênquima testicular de ratos tratados durante 45 dias com diferentes doses de Olanzapina.

Parâmetros	Controle (n=5)	1mg/kg (n=5)	2,5mg/kg (n=5)	5mg/kg (n=5)	10mg/kg (n=5)
Núcleo Cel. Sertoli	10,01 ± 2,91	8,5 ± 0,77	6,46 ± 1,07	7,55 ± 1,13	6,39 ± 1,52
Pré-leptóteno	27,92 ± 5,48a	21,8 ± 1,6ab	25,40 ± 2,96ab	25,42 ± 4,30ab	20,73 ± 2,97b
Paquíteno	30,09 ± 4,7a	23,22 ± 0,67ab	28,06 ± 1,94ab	26,16 ± 6,3ab	22,40 ± 3,45b
Espermátide Arredondada	73,7 ± 11,2a	54,6 ± 6,9b	64,5 ± 5,5ab	58,3 ± 6,4ab	50,2 ± 9,2b

Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam significância ($p < 0,05$).

As avaliações qualitativas do testículo revelaram alterações no processo espermatogênico compatíveis com degeneração testicular (Figura 7). No parênquima testicular dos animais tratados com a dose de 5 e 10mg/Kg de olanzapina por 45 dias foi observado nos túbulos seminíferos, descamação de células germinativas, presença de células sinciciais, vacuolização de células de Sertoli e presença de células necróticas ou em apoptose no epitélio germinativo e no lume tubular. Torna-se importante salientar que, apesar de constatada degenerações tubulares, os animais dos grupos tratados com as maiores doses de Olanzapina apresentaram os 14 estágios do ciclo do epitélio seminífero (CES).



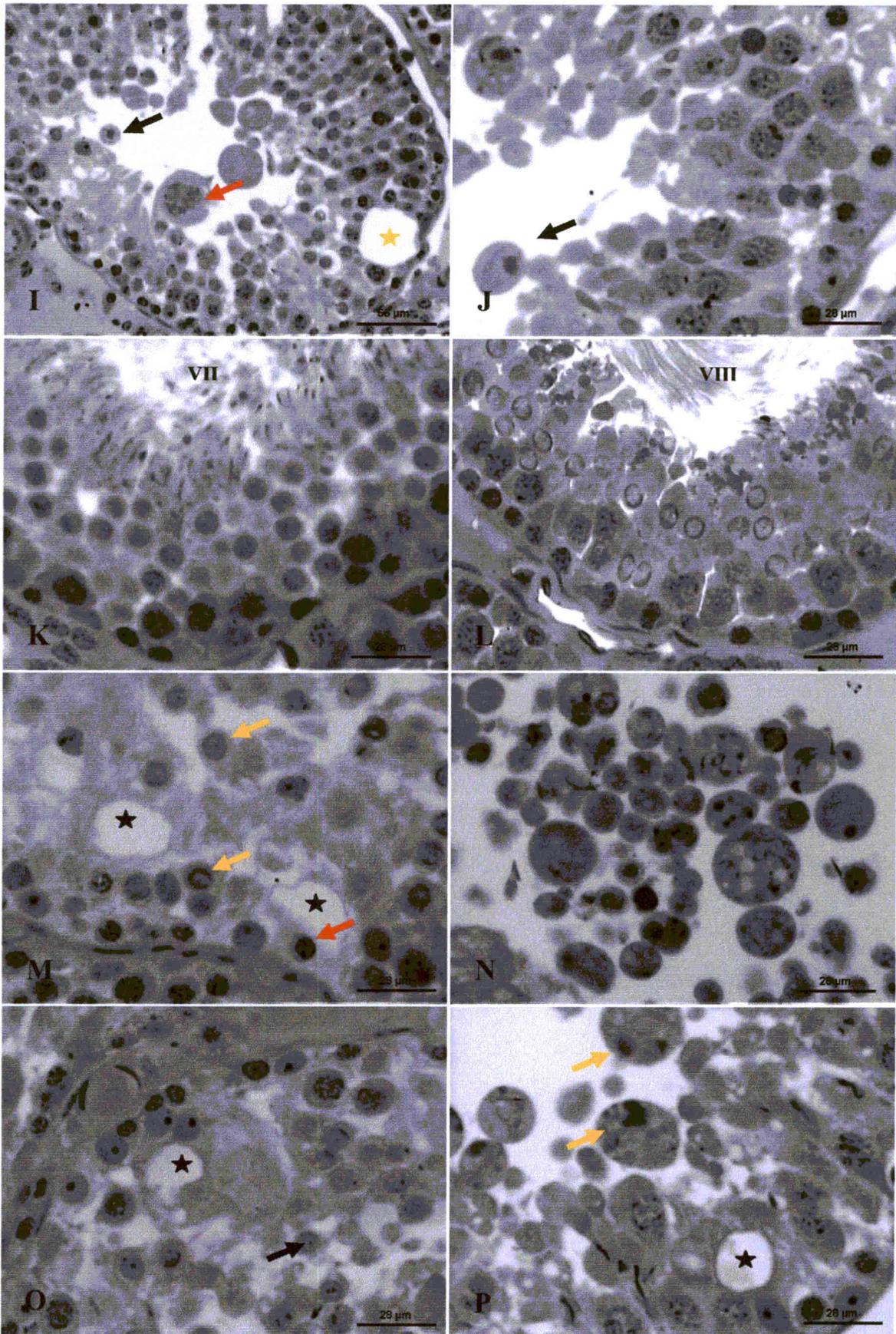


Figura 7: Fotomicrografias do testículo de ratos Wistar pós-púberes tratados durante 45 dias com diferentes doses de Olanzapina.

Figura 7A: Parênquima testicular de animais do grupo controle. Túbulos seminíferos (TS) em secção transversal e espaço intertubular (IT), onde são encontradas as células de Leydig (seta). Aumento 100X.

Figura 7B – Detalhe do túbulo seminífero no estágio VII do ciclo do epitélio seminífero (CES) e espaço intertubular do grupo controle. Espaço intertubular contendo vasos (seta). Aumento 200X.

Figura 7C – Parênquima testicular de animais do grupo tratado com 1mg/kg de Olanzapina. Túbulos seminíferos normais nos estágios do ciclo do epitélio seminífero espaço intertubular contendo vaso sanguíneo (seta) em secção transversal. Aumento 100X.

Figura 7D – Detalhe do túbulo seminífero no estágio VI do ciclo do epitélio seminífero do grupo tratado com 1mg/kg de Olanzapina. Aumento 200X.

Figura 7E – Parênquima testicular de animais do grupo tratado com 2,5mg/kg de Olanzapina. Túbulos seminíferos no estágio VII e VIII do ciclo do epitélio seminífero em secção transversal. Aumento 100X.

Figura 7F – Detalhe do túbulo seminífero entre estágio IV e V do CES no grupo tratado com 2,5mg/kg de Olanzapina. Notar vacuolizações no núcleo das células de Sertoli (seta). Aumento 200X.

Figura 7G – Parênquima testicular de animais do grupo tratado com 5mg/kg de Olanzapina. Túbulo seminífero em secção transversal, no estágio VIII do CES e espaço intertubular (IT). Aumento 100X.

Figura 7H – Detalhe do túbulo seminífero entre os estágios VI e VII do CES no grupo tratado com 5mg/kg de Olanzapina. Aumento 200X.

Figura 7I – Parênquima de túbulo seminífero do grupo tratado com 5mg/kg de Olanzapina. Observar células descamadas em apoptose no lúmen tubular (seta preta), célula gigante sincicial (seta vermelha) e vacuolização do epitélio seminífero (estrela), em secção transversal. Aumento 100X.

Figura 7J – Detalhe da descamação de túbulo seminífero do grupo tratado com 5mg/kg de Olanzapina. Notar células em necrose, descamadas no lúmen tubular. Aumento 200X.

Figuras 7K e 7L – Detalhe de túbulo seminífero do grupo tratado com 10mg/kg de Olanzapina. Observar túbulos seminíferos nos estágios VII e VIII do ciclo do epitélio seminífero, em secção transversal. Aumento 200X.

Figura 7M – Detalhe de túbulo seminífero do grupo tratado com 10mg/kg de Olanzapina. Observar descamação de espermátides arredondadas (seta amarela) do túbulo seminífero, células germinativa em apoptose (seta vermelha) e vacuolização de células de Sertoli (estrela). Aumento 100X.

Figura 7N – Detalhe de túbulo seminífero do grupo tratado com 10mg/kg de Olanzapina. Observar células descamadas em apoptose no lúmen tubular. Aumento 100X.

Figuras 7O e 7P – Detalhe de túbulo seminífero do grupo tratado com 10mg/kg de Olanzapina. Observar vacuolização de células de Sertoli (estrela), espermátides arredondadas descamadas no lúmen tubular (seta) e célula gigante sincicial (seta amarela) em apoptose. Aumento 200X.

7 Discussão

Muitos estudos experimentais e epidemiológicos realizados para verificar a relação do peso corporal com o uso de antipsicóticos, coincidem com os nossos achados. Perrone et al (2004) relacionam o uso da Fluoxetina, um antidepressivo, com a Olanzapina mostrando melhor eficácia na depressão resistente, sem levar ao aumento do peso. No mesmo estudo, relatam a grande incidência de pacientes que ganham peso corpóreo após o uso isolado de Olanzapina. Ganho de peso é um dos efeitos adversos mais comuns, além de sonolência e/ou sedação, edema vascular periférico, hiperglicemia, aumento do apetite, dentre outros (FROTA, 2001; ALMEIDA, 2006; www.zipreza.com.br).

Como a farmacocinética e farmacodinâmica da Olanzapina é relativamente obscura, é possível que alterações desse metabolismo possam influenciar no peso corporal (PERRONE, 2004).

Muito embora o grupo que recebeu dose de 10mg diária não tenha apresentado aumento do peso, o ganho ponderal pode estar associado à ocorrência de hiper e dislipidemias, um risco que se mostrou cinco vezes maior entre pacientes tratados com a olanzapina do que entre os que não usavam antipsicótico algum e consistentemente superior ao da risperidona e dos antipsicóticos típicos (FROTA, 2001).

A afinidade da Olanzapina pelos receptores de Serotonina, Dopamina, acetilcolínicos e histamínicos localizados no centro límbico seria a base da indução farmacológica da Olanzapina no aumento do peso.

Indivíduos em estado de sedação ou sonolência alimentam-se menos e acredita-se que esta tenha sido a causa dos ratos do grupo de 10mg/Kg não

terem aumentado seu peso corporal, pois todos os ratos estavam em condições semelhantes no biotério. Observa-se uma tendência ao crescimento do peso corporal após quarenta dias de uso da droga, neste mesmo grupo, acredita-se ser o início da adaptação do organismo desses ratos à dosagem administrada, dando início à redução do tempo de estado letárgico ao qual inicialmente ficavam.

Não foram encontrados trabalhos demonstrando a influência direta da olanzapina na espermatogênese, apesar dos relatos dos efeitos de antipsicóticos na diminuição da libido, na disfunção erétil e nos distúrbios ejaculatórios, como também no aumento de prolactina, embora estes sejam transitórios e leves, segundo as referências.

O peso testicular é um parâmetro importante na avaliação produtiva de um macho devido a sua correlação alta e positiva com a produção espermática (FRANÇA e RUSSELL, 1998). No presente experimento foi observada uma redução de 12% no peso testicular dos animais tratados com 2,5 e 10mg/kg de olanzapina. No peso líquido do testículo a redução foi de 13% no grupo tratado com 10mg/kg de olanzapina em relação ao controle.

O hipogonadismo é associado a baixo nível de testosterona e falha na espermatogênese (HUHTANIEMI e TOPPARI, 1997). Apesar das reduções de peso testicular não foram constatadas diferenças na produção espermática diária e no rendimento intrínseco da espermatogênese.

O peso prostático e epididimário apresentaram a mesma tendência de redução de peso nos animais tratados com a dose mais alta de olanzapina.

A próstata é dependente de andrógenos para o seu crescimento, diferenciação e manutenção de sua integridade estrutural e funcional. Os

testículos são os maiores secretores de andrógenos. A remoção do suporte androgênico pode ser acompanhada de uma orquiectomia bilateral, causando uma rápida regressão prostática. A reposição subsequente de andrógeno reativa o crescimento prostático. No entanto, os andrógenos são os mais potentes mitogênicos para a próstata, e a testosterona é o maior andrógeno circulante. Entretanto, o principal mitogênico para a próstata é a 5 α -dihidrotestosterona, a qual é convertida em testosterona pela 5 α -redutase, enzima localizada na próstata de humanos (LEE e JANULIS, 1999).

Da mesma forma que a próstata, o epidídimo é um órgão andrógeno dependente, sendo os metabolitos 5 α -reduzidos os principais responsáveis pela manutenção da estrutura e função do epidídimo, principalmente a 5 α -dihidrotestosterona considerada mais potente que a testosterona na manutenção funcional epididimária (ROBAIRE e VIGER, 1995).

Portanto é bastante provável que um dos efeitos colaterais ainda não descritos para a olanzapina, seja a redução da funcionalidade de órgãos andrógenos dependentes devido à redução dos níveis de testosterona e ou aumento dos níveis de prolactina que por sua vez reduziria o potencial de síntese de testosterona por parte das células de Leydig. Elevações significantes nos níveis de prolactina podem ser observadas com o uso de drogas antipsicóticas, as quais produzem uma relevante disfunção no eixo reprodutivo em ambos os sexos (WIECK e HADDAD, 2003; IANDER, 2006).

Os níveis séricos de testosterona no presente experimento foram reduzidos nos animais que receberam as maiores doses de olanzapina. Entretanto, a maior redução e também de significância estatística foi

constatada no grupo que recebeu a maior dose. Nestes grupos a redução de testosterona plasmática foi 84,2% em relação ao controle.

Diversos estudos sobre testosterona em ratos confirmam que este hormônio é responsável, juntamente com o FSH, pela manutenção qualitativa e quantitativa do processo espermatogênico. Entretanto, a testosterona exerce um maior efeito na espermatogênese, de maneira que a redução dos níveis séricos e intra-testiculares desse hormônio podem levar à degeneração testicular, que inicialmente se reflete no estágio VII do ciclo epitélio seminíferos (SHARPE, 1994, FRANÇA et al, 2005).

Por outro lado, receptores de dopamina são encontrados nas espermatogônias e em células germinativas dos túbulos seminíferos (HYUN et al., 2002; OTTH et al, 2007). Portanto, devido ao fato da olanzapina se ligar a esses receptores, pode-se entender a que essa droga pode influenciar diretamente o processo espermatogênico.

No interior dos túbulos seminíferos apenas as células de Sertoli possuem receptores de testosterona e FSH e assim estas células são as principais reguladoras da espermatogênese (WALKER e CHENG, 2005).

O receptor de andrógeno (RA) é influenciado por FSH e este, regula a sensibilidade das células de Sertoli para o andrógeno (VERHOVEN e CAILLEAU 1988, BLOK et al. 1989, SANBORN et al. 1991, BLOK et al., 1992 apud WALKER e CHENG, 2005). Estes receptores aumentam progressivamente durante o estágio VII da espermatogênese e diminui logo depois (BREMNER et al. 1994, VORNBERGER et al. 1994, SHAN et al. 1995 APUD WALKER e CHENG, 2005). O estágio VII é o dependente da ação da testosterona (KERR et al. 1993 apud WALKER e CHENG, 2005). Portanto,

qualquer modificação relevante nos níveis de testosterona pode se refletir com alterações estruturais no epitélio germinativo.

O diâmetro tubular e a altura do epitélio são utilizados como parâmetros relevantes na avaliação da atividade espermatogênica em ensaios experimentais e toxicológicos (BLANK et al., 1986; ORTH et al., 1988). Nas análises dos ratos tratados com olanzapina e do grupo controle, observou-se que a droga influenciou positivamente na redução destes parâmetros. A diminuição da atividade espermatogênica atribuída à redução de diâmetro tubular e altura de epitélio germinativo pode estar relacionada à redução dos níveis de testosterona de acordo com o que foi discutido anteriormente.

No presente experimento, as análises da população dos túbulos seminíferos por secção transversal foram feitas no estágio VII da espermatogênese, bem como a medição dos núcleos dos paquítenos, pré-leptótenos, espermátides arredondadas e nucléolos das células de Sertoli. De acordo com os resultados é possível concluir que a dose mais elevada de olanzapina reduziu a população de espermátócitos I em pré-leptóteno, paquíteno e nas espermátides arredondadas. Estes resultados corroboram as observações referentes à redução do diâmetro tubular e altura do epitélio germinativo e sua relação com a atividade espermatogênica.

Após avaliação qualitativa do processo espermatogênico constatou-se a presença de espermátides arredondadas descamadas, células sinciciais no lume tubular. Além disso, observaram-se, vacuolização de células de Sertoli, células apoptóticas e necróticas no epitélio germinativo e lume tubular, nos animais tratados com dosagens superiores a 2,5mg/Kg de olanzapina.

Os achados qualitativos corroboram os quantitativos quanto à redução da população de espermátides arredondadas no estágio VII do CES observada nos animais tratados com a maior dose. Nos demais grupos experimentais, não foram observadas alterações qualitativas no processo espermatogênico.

As alterações observadas nos túbulos seminíferos dos animais tratados são compatíveis com a redução dos níveis séricos de testosterona. Esta redução está diretamente relacionada à utilização da droga avaliada e provavelmente a elevação dos níveis de prolactina. De acordo com Katovich et al. (1985) a hiperprolactinemia induzida em ratos implantados com adenoma de células lactotróficas MtTW15 produziu lesões semelhantes às observadas neste experimento tanto no processo espermatogênico, quanto na redução de peso de órgãos sexuais acessórios. Da mesma forma a indução experimental de hiperprolactinemia em ratos utilizando metoclopramida promoveu apoptose de células germinativas estágio-específico, o que está atrelada à diminuição da concentração de testosterona (LASZCZYŃSKA et al., 2002).

A prolactina é um modulador funcional do eixo HPG (hipotálamo-hipófise-gônada) sendo seus níveis séricos normais, fundamentais para desempenho normal da função testicular. Por outro lado, hiperprolactenemia tem múltiplos efeitos negativos sobre o eixo HPG, principalmente no que diz respeito a supressão de GnRH (Hormônio liberador de gonadotrofina) e conseqüentemente diminuição de gonadotrofinas e produção de testosterona (CICCARELLI et al., 2005).

O diâmetro tubular e a altura do epitélio estão de acordo com diferentes graus da atividade do epitélio seminífero, o que os tornam parâmetros importantes na avaliação quantitativa da espermatogênese, uma vez que existe

uma correlação positiva entre o diâmetro tubular e a atividade espermatogênica do testículo (FRANÇA e RUSSELL, 1998).

A produção espermática diária por grama de testículo é utilizada como parâmetro de avaliação da eficiência da espermatogênese, em ratos Wistar, a PED por grama de testículo fica em torno de 23×10^6 espermátide (DADOUNE e DEMOULIN, 1993) e pode ser relacionada com a menor duração da espermatogênese, maior número de células de Sertoli, maior densidade volumétrica dos túbulos seminíferos no testículo (%), maior número de gerações de espermatogônias e menor perda de células germinativas durante a espermatogênese (FRANÇA e RUSSEL, 1998). Por outro lado, segundo França et al. (2005) a produção espermática diária em ratos pode variar entre 17 e 24 milhões de espermatozoides.

No presente experimento a produção espermática diária variou entre 14 e 19 milhões de células, estando o valor mínimo um pouco abaixo para os valores da espécie. Mesmo assim após análise de resultados não se constatou influência desta droga sobre a produção espermática. Isto pode ser justificado pelo tempo de utilização da droga inferior ao período de duração do processo espermatogênico nesta espécie, 58 dias.

Entretanto os outros resultados já nos dão subsídios para concluir que a utilização crônica de olanzapina, principalmente na dosagem de 10mg/kg em ratos pode produzir alterações no processo espermatogênico.

Principalmente porque indivíduos que necessitam desse medicamento, fazem seu uso por tempo prolongado e alguns pelo resto da vida. Então é de se esperar que uma grande parte desses indivíduos possam apresentar alguma alteração reprodutiva.

8 Conclusão

Utilização crônica de olanzapina em ratos produz modificações morfofuncionais que atingem todo sistema reprodutor uma vez que, alterações nos níveis séricos de testosterona foram constatadas, com redução peso testicular, epididimário e prostático, alteração no processo espermatogênico e na análise morfológica do parênquima testicular.

Mais pesquisas devem ser feitas para reforçar e esclarecer a todos os interessados nos efeitos da Olanzapina na reprodução, buscando-se alternativas e soluções para que os indivíduos que realmente necessitam do uso de antipsicóticos, possam de fato melhorar a qualidade de vida, sem que isto afete sua capacidade de reproduzir e/ou diminua seu desempenho sexual, no que tange a libido, ereção e ejaculação.

7 Referências

ABERCROMBIE, M. Estimation of nuclear populations from microtome sections. *Anatomical Records*, v.94, p. 238-248, 1946.

ALMEIDA, R. N. *Psicofarmacologia. Fundamentos Práticos*. Ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro. cap.2, p 40 – 45; cap 15, 161 – 164; cap 24, p 294 – 297; cap 25, 301 – 313, 2006.

ALMIRÓN, I., CHEMES, H. Spermatogenic onset. II. FSH modulates mitotic activity of germ and Sertoli cells in immature rats. *Int. J. Androl.*, v.11, p. 235-246, 1988.

AMANN, R. P., ALMQUIST, J. O. Reproductive capacity of dairy bulls. VIII. Direct and indirect measurement of testicular sperm production. *Journal Dairy Science*, v. 45, p. 774-781, 1962.

ARAÚJO, D. A. M.; MONTENEGRO, F. C.; MAFRA, R. A.; ALVES, A. R. A.; OLIVEIRA, F. A.; CRUZ, J. S. *IN ALMEIDA, R. N. Psicofarmacologia. Fundamentos Práticos*. Ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, cap.2, 2006.

ASATIANI, K.; GROMOLL, J.; ECKARDSTEIN, S. V.; ZITZMANN, M.; NIESCHLAG, E.; SIMONI, M. Distribution and function of FSH receptor genetic variants in normal men. *Andrologia*. v.34, p.172-176, 2002.

ATTAL, J.; COUROT, M. Developpement Testiculaire et etablisement de la spermatogeneses chez le taureau. *Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique*, v. 3 , p. 219-241, 1963.

BARDIN, C.W., GUNSALUS, G.L., and CHENG, C.Y. The cell biology of the Sertoli cell. In: DESJARDINS,C., EWING, L.L. *Cell and molecular biology of the testis*. New York: Oxford University Press. Cap.9, p.189-219, 1993.

BASCOM, K.F., OSTERUD, H.L. Quantitative studies of testicle. II. Pattern and total tubule length in the testicles of certain common mammals. *Anatomical Records*, v.31, p.159-169, 1925.

BEASLEY CM JR, TOLLEFSON GD, TRAN PV. Efficacy of olanzapine: an overview of pivotal clinical trials. *J Clin Psychiatry*. v.58 (suppl 10), p.7-12, 1997

- BERENDSEN, H.H.G.; BROEKKAMP, C.L.E. Drug-induced penile erections in rat: indication of serotonin 1B receptor mediation. *European journal of pharmacology*. v.135, p.279-287, 1987.
- BERNARDO NG.; CHÁVEZ-LEÓN E.; ONTIVEROS-URIBE, M. P. Tratamiento Farmacológico del Trastorno Límite de Personalidad. *Salud Mental*, v. 29, n. 5, 2006.
- BERNDTSON, W. E.; IGBOELI, G.; PARKER, W. G. The number of Sertoli cells in mature holstein bulls and their relationship to quantitative aspects of spermatogenesis. *Biology of Reproduction*, v. 37, p. 60-67, 1987.
- BERNDTSON, W. E.; THOMPSON, D. L. Changing relationships between testis size, sertoli cell number and spermatogenesis in Sprague-dawley rats. *Journal of Andrology*, v.11, p. 429-435, 1990.
- BORTOLUSSI, M., ZANCHETTA, R., BELVEDERE, P., COLOMBO, L. Sertoli and Leydig cell numbers and gonadotrophin receptors in rat testis from birth to puberty. *Cell and Tissue Research*, v.260, p. 185-191, 1990.
- BOBES J., GARCÍA-PORTILLA M. P., REJAS J., HERNÁNDEZ G., GARCIA-GARCIA, M., RICO-VILADEMOROS, F. Frequency of Sexual Dysfunction and Other Reproductive Side-effects in Patients with Schizophrenia Treated with Risperidone, Olanzapine, Quetiapine, or Haloperidol: The Results of the EIRE Study. *Journal of Sex & Marital Therapy*. v.29, n.2, p.125-147, 2003.
- BUGALHO, P.; CORREA, B.; BAPTISTA, M.V. Papel do Cerebelo nas Funções Cognitivas e Comportamentais: Bases científicas e Modelos de Estudo. Artigo de Revisão, *Acta Med Port*. v.19, p. 257-268, 2006.
- BROWN, J.; WALKER, S. E STEINMAIN, K. Endocrine manual for the reproductive assessment of domestic and non-domestics species. Conservation and Research Center, Smithsonian's National Zoological Park, Front Royal, Virginia – EUA. 93 p., 2004.
- CASTRO E SILVA, E.; CASTRO, L. Regulação da Secreção de Prolactina. In: Antunes-Rodrigues, J, Moreira, AC, Elias, LLK, Castro, M (eds). *Neuroendocrinologia básica e aplicada*. Ed. Guanabara- Koogan: Rio de Janeiro, 2005.
- CALLAGHAN J.T., BERGSTROM R.F., PTAK L.R., BEASLEY C.M. Olanzapine: pharmacokinetic and pharmacodynamic profile. *Clin Pharmacokinet*. v.37, p.177-193, 1999.
- CLERMONT, Y., PEREY, B. Quantitative study of the cell population of the seminiferous tubules in immature rats. *American Journal of Anatomy*. v.100, p.241-267, 1957.

CHIU, C.C. , LANE, H.Y., HUANG M.C., LIU H.C. , JANN M.W., HON Y.Y. ,
CHANG, W.H. AND LU, M.L. Dose-Dependent Alternations in the
Pharmacokinetics of Olanzapine During Coadministration of Fluvoxamine in
Patients With Schizophrenia *J. Clin. Pharmacol.* v. 44, p. 1385, 2004.

CICCARELLI, A.; GUERRA, E.; DE ROSA. M.; MILONE F.; ZARRILLI, S.;
LOMBARDI, G. PRL Secreting Adenomas in Male Patients. *Pituitary* v.8, p.39-
42, 2005.

COOKE, P. S., HESS, R. A., KIRBY, J. D., BUNICK, D., AND HARDY, M. P.
Neonatal propylthiouracil (PTU) treatment as a model system for studying
factors controlling testis growth and sperm production. In *Function of the
Somatic Cells in the Testis* (A. Bartke, Ed.), p. 400- 407, 1994. Springer Verlag,
New York.

COOKE, P. S. Role of Thyroid hormone in Sertoli cell mitogenesis and
differentiation. *Molecular Andrology.* v.17, p. 177-89, 1995.

CONLEY R.R., MELTZER H.Y. Adverse events related to olanzapine. *J Clin
Psychiatry.* v.61(suppl 8), p.26-29, 2000.

COSTA, A. M. N.; LIMA, M. S. D.; FARIA, M.; FILHO, S. R.; OLIVEIRA, I. R.
D.; MARI, J. D. J.. A naturalistic, 9-month follow-up, comparing olanzapine and
conventional antipsychotics on sexual function and hormonal profile for males
with schizophrenia Brazil. *Journal of Psychopharmacology.* v.00, p. 0, 2006.

COSTA, L. G.; STEARDO L.; CUOMO, V. Structural Effects and
Neurofunctional Sequelae of Developmental Exposure to Psychotherapeutic
Drugs: Experimental and Clinical Aspects. Vol. 56, No. 1, 2004. The American
Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics. *Pharmacol Rev* v.56,
p.103-147, 2004 in U.S.A.

CRISPILHO, A. M.; ALVARENGA, F. C. L.; PAPA, F.O.; Infertilidade
Associada a Defeito Microtubular dos Espermatozoides de Jumento (*Equus
Asinus*) Avaliados por Microscopia Eletrônica de Transmissão. *Ciência Rural*,
Santa Maria, v. 36, n. 5, p. 1507-1510, 2006.

DAUDONE, J. P.; DEMOULIN, A. Structure and functions of testis. In:
TRIBAULT, C.; LEVASSEUR, M.; HUNTER, R. H. F. *Reproduction in Mammals
and Man.* (ed) Paris: Ellipses, 1993. cap. 13, p. 227-250.

DE KRETZER, M, McFARLANE, J.R. Inhibin in the male. *Journal of Andrology*,
v.17, n.3, p.179-182, 1996.

DORST, V. J.; SAJONSKI, H. Morphometrische Untersuchungen Am Tubulussystem Des Schweinehodens Wahrend Der Postnatalen Entwicklug. Monatshefte Fur Veterinarmedizin, v. 29, p. 650-652, 1974

FAWCETT, D.W., NEAVES, W.B., FLORES, M.N. Comparative observations on intertubular lymphatics and the organization of the interstitial tissue of the mammalian testis. Biology of Reproduction, v.9, p.500-532, 1973.

FELL, M. J.; MARSHALL, K. M.; WILLIAMS, J; NEILL, J. C.. Effects of the atypical antipsychotic olanzapine on reproductive function and weight gain in female rats. Journal of psychopharmacology. v. 18, n. 2, p. 149-155, 2004.

FERNÁNDEZ- TRESGUERRES, J. A.; MARTÍN, A. I.; CALDERÓN- LÓPEZ, A. *in* MARTINEZ – GARCIA, F.; REGADERA, J. Male Reproduction: a multidisciplinary overview. Churchill Communications Europe España, cap. 8, 1997.

FISHER, D. New light shed on fluid formation in the seminiferous tubules of the rat. Journal of Physiology. v.542, n.2, p. 445–452, 2002.

FATURI, C. B.; SILVA, F. T. *in* ALMEIDA, R. N. Psicofarmacologia. Fundamentos Práticos. Ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro.. cap 25, 301 – 313, 2006

FRANÇA, L. R., Analise Morfofuncional da Espermatogênese de Suínos Adultos da Raça Piau. Belo Horizonte: UFMG, ICB, p.180, 1991 (Tese de Doutorado).

FRANÇA. L.R., RUSSELL, L.D. The testis of domestic mammals. In: Male reproduction; a multidisciplinary overview. Ed. Madrid: Churchill Comunicions Europe España. cap 16, p.197-213, 1998.

- FRANÇA, R. L.; SILVA, JR. V. A.; CHIARINI-GARCIA, H.; GARCIA, S. K.; DEBELJUK, L. Cell Proliferation and Hormonal Changes During Postnatal Development of the Testis in the pig. *Biol. Reprod.*, n.63, p.1629-36, 2000.
- FRANÇA, L.R.; AVELAR, G.F.; ALMEIDA, F.F.L. Spermatogenesis and sperm transit through the epididymis in mammals with emphasis on pigs. *Theriogenology*, n. 63, p. 300–318, 2005.
- FRANGOU, S.; MURAY, R. *Schizophrenia. e 2ª*. Londres, 2000.
- FROTA, L. H. Cinquenta anos de medicamentos antipsicóticos em psiquiatria. *J. Bras. Psiquiat.* v.50, p. 298-317, 2001.
- FURUYA, S.; KUMAMOTO, Y.; SUGIYAMA, S. Fine Structure and development of Sertoli Junctions in Human testis. *Archives of Andrology*, v.1, p.211-219, 1978.
- GALDURÓZ, J. C. F.; BARBOSA, D. S. /N ALMEIDA, R. N. *Psicofarmacologia. Fundamentos Práticos*. Ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro. cap 15, p 161 – 164, 2006.
- GAO, W. BOHL, C.E.; DALTON, J.T. Chemistry and Structural Biology of Androgen Receptor. *Chem Rev* v.105, p. 3352-3370, 2005.
- GODINHO, C.L. Análise histométrica do testículo e duração da espermatogênese em gatos (*Felis domestica*), sexualmente maduros. Dissertação de mestrado. Belo Horizonte: UFMG, ICB, 74p, 1999.
- GONDOS, B., BERNDSTON. Postnatal and pubertal development. In: RUSSELL, L.D., GRISWOLD, M.D. *The Sertoli cell*. Ed. Clearwater: Cache River Press. cap. 4, p.115-154, 1993
- GROSSMANN, M.; THOMAS, M. C.; PANAGIOTOPOULOS S.; SHARPE K.; MACISAAC, R. J.; CLARKE S.; ZAJAC, J. D. AND JERUMS, G. Low Testosterone Levels Are Common and Associated with Insulin Resistance in

Men with Diabetes. J Clin Endocrinol Metab. May. v.93, n.5, p.1834–1840, 2008.

GUYTON, A. C.; HALL, J.E. Tratado de Fisiologia Médica. 10ª e. Ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2002.

HAENDER, B. Androgens e Pharmacology. Corpore Research Oncology, Achering AG, Berlin, Germany. Andrologia v.37, p.213-215, 2005.

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

HOCHEREAU-DE REVIERS M.T., COUROT M. Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys. v.18, p. 573-583, 1978.

HOCHEREAU-DE REVIERS M.T., PERREAU C., PISSELET C., LOCATELLI A., BOSCH M. J. Reprod. Fert. v.103, p.41-46, 1995

HUHTANIEMI, I.; PELLENIEMI, L.J. Fetal Leydig Cells: cellular origin, morphology, life span and special function features. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, v. 2001, p. 125-140, 1992.

HUHTANIEMI, I. and TOPPARI, J. Hormonal regulation of the testis in *in* MARTINEZ – GARCIA, F.; REGADERA, J. Male Reproduction: a multidisciplinary overview. Churchill Communications Europe España, cap. 7, 1997.

HYUN J-S, BIVALACQUA TJ, BAIG MR, YANG D-Y, LEUNGWATTANAKIJ S, ABDEL-MAGGED A, KIM K-D, HELLSTROM WJG.. Localization of peripheral dopamine D1 and D2 receptors in rat corpus cavernosum. BJU Int v.90, p.105-112, 2002.

INDER, W. J. Hyperprolactinaemia: Differential Diagnosis, Investigation and Management. Business Briefing: Europa Endocrine Review, 2006.

JOHNSON, B.A.; AIT-DAOUD N.; BOWDEN, C.L.; DICLEMENTE, C.C.; ROACHE, J.D.; LAWSON, K.; JAVORS, M.A.; MA, J.Z . Oral Topiramate for Treatment of Alcohol Dependence: A Randomised Controlled Trial. *Lancet*, 2003.

JOHNSON, L. THOMPSON, D. L. Age- related and seasonal variation in the Sertoli population, daily sperm production and serum concentration of follicle stimulating hormone, luteinizing hormone and testosterone in stallions. *Biology of Reproduction and Fertility*, v. 29, p. 777-789, 1983.

JOHNSON, L. CARTER, G. K., VARNER, D.D. TAYLOR, T. S., BLANCHARD, T.L., REMBERT, M.S. The relationship of daily sperm production with number of Sertoli cells and testicular size in adult horses: role of primitive spermatogonia. *Journal of Reproduction and fertility*, v.100, p. 315-321, 1994.

JOYCE, K. L., PORCELLI, J., AND COOKE, P. S. Neonatal goitrogen treatment increases adult testis size and sperm production in the mouse. *J. Androl.* v.14, p. 448-455, 1993.

JUNQUEIRA, L. C., CARNEIRO, J. *Histologia Básica. Texto e atlas.* Ed. Guanabara koogan: Rio de Janeiro. p. 415-430, 2004.

KANE, J; HONIGFELD, G; SINGER, J; MELTZER, H. Clozapine for the treatment-resistant schizophrenic. *Arch Gen Psychiatry* v.45, p.789-96, 1988.

KARL, J., CAPEL, B. Sertoli cells of mouse testis originate from the coelomic epithelium. *Developmental Biology*, v.203, p.323-333, 1998.

KAPOOR, D; MALKIN, C.J.; CHANNER, K.S.; JONES, T.H. Androgens, insulin resistance and vascular disease in men. *Clin Endocrinol (Oxf)* v.63, p. 239–250, 2005.

KAPOOR D.; Aldred, H.; Clark, S.; Channer, K.S.; Jones, T.H. Clinical and biochemical assessment of hypogonadism in men with type 2 diabetes: correlations with bioavailable 2007.

KATOVICH, M.J.; CAMERON, D.F.; MURRAY, F. T.; GUNSALUS, C. L.; Alterations of Testicular Function Induced by Hyperprolactinemia in the Rat. *J Androl.* v. 6, p.179-189, 1985.

KELLY, D.L. AND CONLEY, R.R. *Schizophrenia Bulletin*, uma revisão. v. 30, n. 4, 2004.

KING, C; VORUGANTI, L.N.P. What's in a name? The evolution of the nomenclature of antipsychotic drugs. *Journal of Psychiatry Neurosci.* v. 27, n.3, p. 168-75, 2002

KING, M. M.; HUANG, C. Y.; CHOCK, P. B.; NAIRN, A. C.; HEMMINGS, H. C., JR.; CHAN, K. F.; GREENGARD, P. Mammalian brain phosphoproteins as substrates for calcineurin. *J.Biol.Chem.*, v. 259, p. 8080-8083, 1984.

KINGSBURY, J.K.; CASTELO, C.; ABULESEUD, O. Quetiapine for olanzapine-induced galactorrhea. *American Journal of Psychiatry.* p. 159:1061, 2002.

LACERDA, S.M. dos S.N. Transplante de Espermatogônias: A Tilápia-*Nilótica (OREOCHROMIS NILOTICUS)* como Modelo Experimental. Dissertação de Mestrado. Mestrado em Biologia Celular da Universidade Federal de Minas Gerais. UFMG: Belo Horizonte, 2006.

LAMBERTS, S.W. et al. Regulation of prolactine secretion at the level of the lactotroph. *Physiol Rev*, v.70, p.279 - 318, 1990.

LASZCZYŃSKA, M., SŁUCZANOWSKA-GŁABOWSKA, S., PIASECKA, M., SKOWRON, J., DEBIŃSKA-SZYMAŃSKA, T. Germ cells with nuclear DNA fragmentation related to apoptotic cells in rat testis in experimental hyperprolactinemia induced by metoclopramide. *Folia Histochemica et Cytobiologica.* v. 40, Issue 2, p. 163-164, 2002

LEBLOND, C.P.; CLERMONT, Y. Definitin of stages of the cycle of the seminiferous epithelium en rat. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, v.55, p.548-584, 1952.

LEE, C. ; JANULIS, L. Prostate gland. In: KNOBIL, E. ; NEIL, J.D. *Encyclopedia of Reproduction.* Ed. Inchief. v.4, p.77-85, 1999.

LIEBERMAN, J. Olanzapine: a new atypical antipsychotic. *J Clin.Psychiatry.* v. 16, n. 1, p. 35-9, 1998.

LIEBERMAN, J. A. Dopamine partial agonists: a new class of antipsychotic. *CNS Drugs,* v. 18, n. 4, p. 251-267, 2004..

LIU, P.Y.; DEATH, A.K.; HANDELSMAN, D.J. Androgens and cardiovascular disease. *Endocr Rev* v.24, p. 313–340, 2003.

MAH, PM. et al. Hyperprolactinemia:etiology, diagnosis, and management. *Semin Reprod Med,* v.20, n. 4, p.365 - 374, 2002.

MARCUS, M. M. Mechanism of Antipsychotic Drugs: Focus on the Nucleus Accumbens and the Prefrontal Cortex. An Experimental Study. Stockholm, 2005. From the department of Physiology and Phamacology, Section of Neuropsychopharmacology.

MCELROY, S.L.; SUPPES, T.; KECK, P.E. et al. Open-label adjunctive topiramate in the treatment of bipolar disorders. *Biological Psychiatry;* v.47, p.1025–1033, 2000.

MELTZER, H. Y. Suicidality in schizophrenia: a review of the evidence for risk factors and treatment options. *Current psychiatry reports* v.4, p. 279-283. 2002.

MELTZER , H. Y. AND MC GURK, S. R. The effects of clozapine, risperidone, and olanzapine on cognitive functions in schizophrenia. *Schizophr. Bull.* v.25, p.233-255, 1999.

MELTZER, H. Y.; LI, Z.; KANEDA, Y.; ICHIKAWA, J. Serotonin receptors: their key role in drugs to treat schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry,* vol. 27, n. 7, p. 1159-1172, 2003.

MENDHEKAR, D.N.; LOHIA, D.; JILOHA R.C. Olanzapine-induced galactorrhea in a woman with psychotic illness. *Australian and New Zealand Journal of Psychiatry* v. 38, n. 4, p. 266-266, 2004.

MENDHEKAR, D.N, SRILAKSHM,I PINGALI; PANT, G.B. Olanzapine-induced gynecomastia *The Australian and New Zealand journal of Psychiatry.* v.39, n. 8, p. 736, 2005.

MERCHANT- LARIOS, H.; MORENO-MENDOZA, N. Mesonephric Stromal Differentiate into Leydig Cell the Mouse Fetal Testis. *Experimental Cell Research*, v. 244, p. 230- 238, 1998.

MICHAEL M. Psychotropic Medication for Children and Adolescents. March. Los Angeles. Department of Mental Health, 2005

MISSALE, C.; NASH, S. R.; ROBINSON, S. W.; JABER, M.; CARON, M. G. Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol. Rev.*, v. 78, n. 1, p. 189-225, 1998.

MOORE, K. L., DALLEY, A. F. Anatomia Orientada para a Clínica. 5ª e. Ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro. p 372 – 375, 2007.

MOTTA, S. C.; BARROS, H. M.T. *in* ALMEIDA, R. N. Psicofarmacologia. Fundamentos Práticos. Ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro. cap 24, p 294 – 297, 2006.

MOURA, C. S. Avaliação Histomorfométrica do Parênquima Testicular de Ratos e Cães Adultos Tratados com Diferentes Doses de Ivermectina. Dissertação de Mestrado em Ciência Veterinária,. UFRPE, 2003.

NAHAS, E. A. P.; NAHAS-NETO, J.; PONTES, A.; DIAS, R.; FERNANDES, C. E. Estados Hiperprolactinêmicos: Inter-relações com o Psiquismo. *Ver Psiq. Clín* v.33, n. (2); p. 68-73, 2006.

NEVES, E. S. Estudo Comparativo da Estrutura do Testículo e do Processo Espermatogênico em Jumentos (*Equus asinus*) e Burros (*Equus mulus mulus*). Tese de Doutorado em Ciência da Veterinária – UFMG, Belo Horizonte, 2001.

NICOPOULO, S.; ADAMOPOULOS, D. Androgens and Spermatogenesis: pathophysiology and therapeutic considerations *in* MARTINEZ – GARCIA, F.; REGADERA, J. Male Reproduction: a multidisciplinary overview. Chuzchill Communications Europe España. cap. 12, 1997.

NISTAL, M. PANIAGUA, R. The postnatal development of human Sertoli cells. *Zeitschrift fur Mikroskopisch-Anatomische forschung*, v.5, p. 739-752, 1983.

ORTAVANT, R., COUROT, M., HOCHEREAU DE REVIERS, M.T. Spermatogenesis in domestic mammals. In COLE, H.H., CUPS, P.T. (eds). Reproduction in domestic animais. 3 ed. New York: Academic Press. Cap.8, p. 203-221, 1977

OTTH, C., TORRES, M., RAMÍREZ, A., FERNANDEZ, J. C., CASTRO, M., RAUCH, M. C., BRITO, M., YAÑEZ, A.J., GIL, J. E. R., SLEBE, J. C., CONCHA, I.I. Novel Identification of Peripheral Dopaminergic D₂ Receptor in Male Germ Cells. Journal of Cellular Biochemistry. v. 100, p.141-150, 2007.

ORTH, J.M. Proliferation of Sertoli cells in fetal and postnatal rats: a quantitative autoradiographic study. Anatomical Record, v.203, p.485-492, 1982.

ORTH, J.M., GUNSALUS, G.L., and LAMPERTI, A.A. Evidence from Sertoli-cell depleted rats indicates that spermatid number in adults depends on numbers of Sertoli cells produced during perinatal development. Endocrinology, v.122, n.3, p.787-794, 1988.

ORTH, J.M., Cell biology of testicular development in fetus and neonate. In: DESJARDINS, C., EWING, L.L.(Eds.). Cell and molecular biology of the testis. New York: Oxford University Press. Cap.1, p. 03-42, 1993

ORTH, J.M., JESTER, W.F. NCAM mediates adhesion between gonocytes and Sertoli cells in cocultures from testes of neonatal rats. Journal of Andrology, v.16, p. 389-399, 1995.

PACIORNIK, R. Dicionário Médico. 2ª e. Ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, p.1152, 1975.

PAPADOPOULOS, V. Intratesticular regulation of Leydig cell function in MARTINEZ – GARCIA, F.; REGADERA, J. Male Reproduction: a multidisciplinary overview. Chuzchill Communications Europe España. cap. 9, 1997.

PAULA, T.A.R. Análise histométrica e funcional dos testículos de capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) adultas. Tese de doutorado. Belo Horizonte: UFMG, ICB. p.84, 1999..

PELLETIER, R. M. Blood-tissue barriers in the male reproductive system *in* MARTINEZ – GARCIA, F.; REGADERA, J. Male Reproduction: a multidisciplinary overview. Chuzchill Communications Europe españa. cap. 15. 1997.

PELLINIEMI, L.J., FRÖJDMAN, K., PARANKO, J. Embryological and prenatal development and function of Sertoli cell. In: RUSSELL, L.D., GRISWOLD, M.D. (Eds.). The Sertoli cell. Ed. Clearwater: Cache River Press. Cap.3, p.87-113. 1993.

PERRONE, A.J.; CHABLA, J.M.; HALLAS, B.H.; HOROWITZ, J.M.; TORRES, G. Weight Loss Dynamics During Combined Fluoxetine And Olanzapine Treatment. Research Article, BMC Pharmacology. v.4, p. 27, 2004.

PETTY, R.G. Prolactin and antipsychotic medications: mechanism of action. Schizophrenia Research v. 35 (Suppl):S67–S73, 1999.

POCCIA, D. Molecules of the somatic cells. In: POCCIA, D. Molecular biology intelligence unit; molecular aspects of spermatogenesis. Austin: R.G.Landes Company. Cap. 4, p.75-90, 1994.

REVISTA JC. Jornal do Comércio. Ano 2.n 99, Recife, junho de 2007.

REMINGTON G, KAPUR S, ZIPURSKY RB. Pharmacotherapy of first-episode schizophrenia. Br J Psychiatry. v.172 (S33), p.66-70, 1998.

RIJCHEN, C.A.W.; VAN DER VEUER, H.; KNEGTERING, H.; JONG-VANDEBERG, L.T.W. Schizophrenia Care and the Dutch Community Pharmacy: The Unmet Needs. International Journal of Pharmacy Practice, v.6, 2003.

ROBAIRE, B. and VIGER, R. S. Regulation of Epididymal Epithelial Cell Functions BIOLOGY OF REPRODUCTION v.52, p. 226-236, 1995.

ROCHA, D.M.C., DEBELJUK, L., FRANÇA, L.R. Exposure to Constant Light During Testis Development Increase Daily Sperm Production in Adult Winter Rats. *Tissue & Cell*, v. 31, p. 372-379, 1999.

ROCHA, D.M.C., MIRANDA, J.R., DEBELJUK, L., FRANÇA, L.R. Testis Size, Sertoli Cell population and Daily sperm production in Adult Wistar Rats Treated Neonatally with FSH and PTU. In: *Testis Workshop XV, 1999, Louisville. The Testis: from Stem Cell to Sperm Function*. Norwell: Serono Synposia USA, Inc April 7-10, 1999. p 60(II-16).

ROOSEN-RUNGE, E.C. *The process of spermatogenesis in animals*. Cambridge: Academic Press. 123p, 1977.

RUSSELL, L.D., BARTKE, A., GOH, J.C. Postnatal development of the Sertoli cell barrier, tubular lumen, and cytoskeleton of Sertoli and myoid cells in the rat, and their relationship to tubular fluid secretion and flow. *The American Journal of Anatomy*, v.184, p.179-189, 1989.

RUSSELL, D.L., ETTLIN, RA., SINHA HIKIM, A.P., CLEGG, E.D. Mammalian spermatogenesis. In: RUSSELL, D.L., ETTLIN, RA., SINHA HIKIM, A.P., CLEGG, E.D.,(eds). *Histological and histopathological evaluation of the testis*. Bolesta: Cache River Press. cap.1, p. 1-40, 1990.

RUSSELL, L.D. Form, dimensions, and cytology of mammalian Sertoli cells. In: RUSSELL, L.D., GRISWOLD, M.D. *The Sertoli cell*. Ed. Clearwater: Cache River Press.. Cap.1, p. 1-38, 1993.

RUSSELL, L.D., GRISWOLD, MD. *The Sertoli Cell*. Clearwater: Cache River Press, .801p, 1993.

RUSSELL, L. D.; FRANÇA, L. R. Building a tests. *Tissue Cell, Essex*, v. 27, n. 2, p. 129-147, 1995

SCHLATT, S. MEINHARDT, A., NIESCHLAG, E. Paracrine regulations of cellular interactions in the testis: factors in search of a function. *European Journal of Endocrinology*, v.137, p.107-117, 1997.

SCHLECHTE, J.A. Prolactinoma. *N Engl J Med*. v.349, p.2035 - 2041, 2003.

SCHÜNCHER, M.; SCHULTE, E.; SCHUMACHER, U.; VOLL, M.; WESKER, K. *Atais de Anatomia*. Ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro. p. 256 – 260, 2007.

SHARPE, R.M. Regulation of spermatogenesis. In: Knobil, E, Neill, J.D. (Eds). *The physiology of reproduction*, 2ª e., New York: Raven Press. v.1, cap 22, p.1363-1434, 1994.

SHUPNIK, M.A.; SCHREIHOFFER, D.A. Molecular aspects of steroid hormone action in the male reproductive axis. *Journal of Andrology*, Philadelphia, v. 18, n. 4, p. 341-344, 1997.

SILVA JÚNIOR, V.A.; AMORIM, M.J.A.A. L.; AMORIM JÚNIOR, A.A.; PINTO, C.F.; DEIRÓ, T.B.; OLIVEIRA, J R.M.; PEIXOTO, C.A.; CASTRO, R.M. Neonatal Administration of Fluoxetine decreased Final Sertoli Cell Number in Wistar Rats. *Int. J. Morphology*. 26 (1): 51-62, 2008.

SILVA JÚNIOR, V. A. Efeitos da Indução do Hipotitoidismo e Hipertiroidismo Pós-natal na Proliferação das Células de Sertoli e na Função Testicular em Suínos. Tese de Doutorado. UFMG – ICB, 2000.

SMALL, J.G., HIRSCH, S.R.; ARVANICIS, L.A., ETAL. Quetiapine in patients wich schizophrenia: a highand low-dose double-blind comparison with placebo. *Archives of General Psychiatry*,.v. 54, p. 549-557, 1997.

STAHL, STEPHEN, M. *Psicofarmacologia: Base Neurocientífica e Aplicações Práticas*. 2ª e. Ed. MEDSI: Rio de Janeiro,. p. 391 – 425; 527 -540; 617, 2002.

SOUZA, B. R. A Modulação da Via Camp / Pka pelo Sensor Neuronal de Cálcio - 1 Independe de Receptores de Dopamina. Tese de doutorado submetida ao curso de pós-graduação do Departamento de Farmacologia da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte 2007.

STEINBERG, A, STEINBERG, E. Replication pattern of Sertoli cells in maturing rat testis *in vivo* and in organ culture. *Biology of Reproduction*, v.4, p.84-87, 1971.

STEPHENSON C.M, PILOWSKY L.S. Psychopharmacology of olanzapine: a review. *Br J Psychiatry*. v.174 (suppl 38), p.52-58, 1999;.

STILLE G; HIPPIUS, H. Kritische Stellungnahme zum Begriff der Neuroleptika (anhand von pharmakologischen und klinischen Befunden mit Clozapin). *Pharmakopsychiatrie*, v. 4, p.182-911971;.

SUÁREZ – QUIAN, C.; OKE, B. O.; MUSTO, N. Localization of Androgen in the Rodent Testis *in* MARTINEZ – GARCIA, F.; REGADERA, J. Male Reproduction: a multidisciplinary overview. Chuzchill Communications Europe española., cap. 10. 1998.

TAMMINGA CA. Gender and schizophrenia. *J Clin Psychiatry*. v. 58 n.(suppl 15):33-37, 1997.

TINAJERO, J.C., FABBRI, A.; DUFAU, L. Regulation of corticotropin – releasing factor secretion from leydig cells by serotonin. *Edocrinology*, v.130, p. 1780-1788, 1992.

TINAJERO, J.C., FABBRI, A.; DUFAU, L. Serotonergic inhibition of rat Leydig cell function by propranolol. *Endocrinology*, v. 133, p.257-264, 1993.

TOHEN, M.; VIETA, E.; CALABRESE, J. et al. - Efficacy of Olanzapine and Olanzapine-Fluoxetine Combination in the Treatment of Bipolar I Depression. *Arch Gen Psychiatry*. v.60, n.11: p.1079-1088, 2003.

ULISSE, S., JANNINI, E.A., CAROSA, E., PIERSANTI, D., GRAZIANO, F.M.; D'ARMIENTO, M. Inhibition of aromatase activity in rat Sertoli cells by thyroid hormone. *Journal of Endocrinology*. v. 140, p. 431-436, 1994.

VAN HAASTER, L. H., DE JONG, F. H , DOCTER, R., AND DE ROOIJ, D. G. The effect of hypothyroidism on Sertoli cell proliferation and differentiation and hormone levels during testicular development in the rat. *Endocrinology*. v.131, p.1574-1576, 1992.

VERGOUWEN, R.P., JACOBS, S.G.P.M., HUISKAMP, R., DAVIDS, J.A., DE ROOIJ, D.G. Proliferative activity of gonocytes, Sertoli cells and interstitial cells during testicular development in mice. *Journal of Reproduction and Fertility*, v.93, p. 233-243, 1991.

WALKER H. W.; CHENG J. FSH and Testosterone Signaling in Sertoli Cells. Department of Cell Biology and Physiology University of Pittsburgh- USA Reproduction. Society for Reproduction and Fertility. v.130, p.15–28, 2005.

WIECK A., HADDAD P. M. Antipsychotic-induced hyperprolactinaemia in women: pathophysiology, severity and consequences. British Journal of Psychiatry (2003). v.182, p.199. 2004. Review Article.

WILSON, E. M.; Wong, C.-L, Zhou, Z.-X. and Sar, M. Steroid requirement for androgen receptor dimerization and DNA binding. J. Biol. Chem. p. 268, 1993.

WU, F.C. & VON ECKARDSTEIN A. Androgens and coronary artery disease. Endocr Rev. v. 24, p.183–217, 2003.

www.ZYPREXA.com

YASSA, R.; LAL, S. Impaired Sexual Intercourse as a complication of tardive dyskinesia. The American Journal of Psychiatry, 1985.

ZILBERBERG, D. Comportamento dos Níveis de Igf-I em Pacientes com Hiperprolactinemia. Tese de Mestrado, Abril, 2005.

ZIRKIN, B. R. Spermatogenesis: its regulation by testosterone and FSH. Cell & Developmental Biology, v. 9, p. 417-421, 1998.

ZIRKIN, B.R.; SANTULLI, R., AWONIYI, C.A.; EWING, L.L. Maintenance of advanced spermatogenic cells in the adult rat testis: quantitative relationship to testosterone concentration within the testis. Endocrinology v.124, p. 3043–3049, 1989.