

ESTUDO "IN VITRO" DA MUSCULATURA LISA GENITAL MASCULINA DE RATOS EM DIVERSAS CONDIÇÕES HORMONAIAS

POR

THALES MARTINS; JOSÉ R. VALLE & ANANIAS PORTO

Prosseguindo em nosso estudo sobre o papel dos hormônios sexuais na regulação da contratilidade e da excitabilidade farmacológica da musculatura lisa genital masculina (1-10) tivemos a ocasião de examinar, em nova série de experiências, os efeitos de várias drogas sobre os canais deferentes, vesículas seminais e prostatas de ratos normais, castrados e castrados tratados com hormônios sexuais. Estudamos nos nossos trabalhos anteriores os efeitos da adrenalina, acetilcolina, pilocarpina, eserina, nicotina, ergotamina, yoimbina, cloreto de bário, pituitrina, atropina, espermina, morfina, papaverina, efedrina, hidrastina, muscarina, histamina e prostigmina. Os efeitos foram predominantemente tonicos nos órgãos provenientes de doadores normais ou de castrados tratados com substâncias androgenicas, e ritmicos nos órgãos de doadores castrados ou tratados com substâncias estrogenicas. Algumas drogas como a pilocarpina e a muscarina, somente excitavam os órgãos provenientes de ratos castrados ou de injetados com a estrína. Concluímos dos nossos estudos que a contratilidade e a excitabilidade farmacológica dos órgãos genitais acessórios masculinos são reguladas pelos hormônios sexuais: as substâncias androgenicas exercendo ação inibidora e as estrogenicas, excitadora.

Neste trabalho estudamos os efeitos de novas drogas: cocaína, esparteína, veratrina, lobelina, bulbocapnina, pitressina e pitocina e também a ação "in vitro" dos hormônios sexuais: testosterona, estradiol e progesterona.

MATERIAL E MÉTODO

Os resultados descritos neste trabalho se baseiam no emprego de 22 deferentes, 21 vesículas e 10 prostatas de ratos normais; 33 deferentes, 37 vesículas

e 14 prostatas de castrados; 28 deferentes, 32 vesiculas e 21 prostatas de ratos castrados tratados com propionato de testosterona e 23 deferentes, 27 vesiculas e 18 prostatas de castrados tratados com benzoato de estradiol.

Os orgãos eram retirados de 2 a 90 dias depois da castração e o tratamento hormonal consistia em injeções subcutâneas oleosas cada 4 ou 5 dias de 5 mgs. de propionato de testosterona ou de 1 a 2 mgs. de benzoato de estradiol (*).

Os orgãos provenientes de animais em condições hormonais diversas eram levados para um frasco contendo 40 a 60 ccs. de Locke oxigenado e de pH 7.4 a 7.8. O frasco ficava mergulhado num termostato com regulação automática da temperatura a $38^{\circ} \pm 0.5^{\circ}$. As contrações longitudinais eram registadas com índice de ampliação de 1 x 6 e carga de 0.5 a 1 g.

Depois de 30 a 40 minutos para as observações concernentes às contrações espontâneas, as drogas, nas concentrações finais adiante referidas, eram adicionadas ao banho, graças a uma tubulura lateral, indo até ao fundo do frasco e facilitando assim a mistura rápida com o líquido nutridor.

RESULTADOS

Cloridrato de cocaína (1:25.000 — 1:50.000). É um bom excitante dos canais deferentes, provocando contrações com as diferenças já assinaladas para as drogas referidas nos outros trabalhos: contrações ritmicas nos órgãos provenientes de animais castrados ou de castrados tratados com estradiol e predominante tonicas nos de normais ou de castrados injetados com testosterona. As vesiculas e prostatas de normais ou de castrados-testosterona são muito sensíveis à droga, que, na maioria das vezes, não provoca nenhum efeito. As vesiculas e as prostatas de castrados e de castrados-estradiol apresentam contrações predominantemente ritmicas. Em deferentes, vesiculas e prostatas de todos os grupos experimentais a adição de adrenalina após cocaína provoca efeitos sobre a amplitude e o tonus das contrações maiores do que quando a droga era aplicada isoladamente (Fig. 1).

Sulfato de esparteina (1:15.000 — 1:50.000). Estímulo das contrações ritmicas nos órgãos de castrados ou de tratados pelo estradiol. Os órgãos de normais ou de tratados pelo propionato de testosterona são pouco sensíveis a esta droga; só reagem às concentrações mais fortes com pequenas contrações tonicas. (Fig. 2).

Veratrina (1:8.000 — 1:25.000). Resultados inconstantes. Nos deferentes, vesiculas seminais e prostatas de castrados ou de tratados pelo estradiol, às

(*) Agradecemos às casas Schering os hormônios sexuais — Testoviron e Progynon, e Parke Davis — Pitocina e Pitressina, gentilmente cedidos para as nossas experiências.

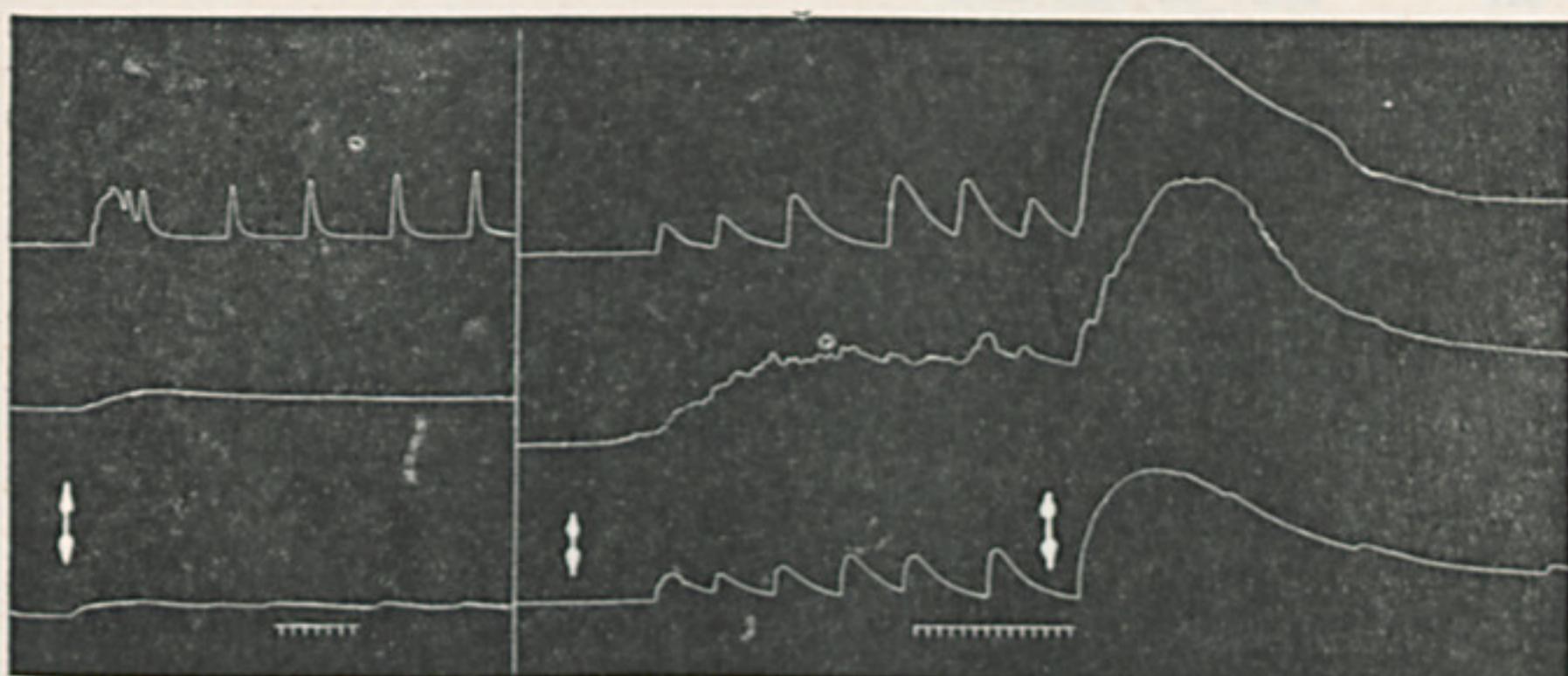


Fig. 1

Canais deferentes de ratos, 5 dias depois da castração.

Em cima: Rato 235, tratado com benzoato de estradiol.

No meio: Rato 234, tratado com propionato de testosterona.

Em baixo: Deferente contralateral do Rato 235.

A primeira flecha assinala a adição ao banho de cloridrato de adrenalina (1:1 milhão), a segunda de cloridrato de cocaína (1:25 mil) e a terceira repetição da mesma dose de adrenalina. Observar as diferenças de tipo de contração e o sinergismo entre a cocaína e a adrenalina.

Fig. 1

Canaux déférents de rat, 5 jours après la castration. En haut et en bas rat 235, traité par le benzoate d'oestradiol; au centre, rat 234, traité par la testosterone. Addition successive d'adrenaline (1:1 million); de cocaine (1:25.000) et d'adrenaline (1:1 million).

Remarquer les différences de type de contraction et l'effet sensibilisant de la cocaine en augmentant l'action de l'adrénaline.

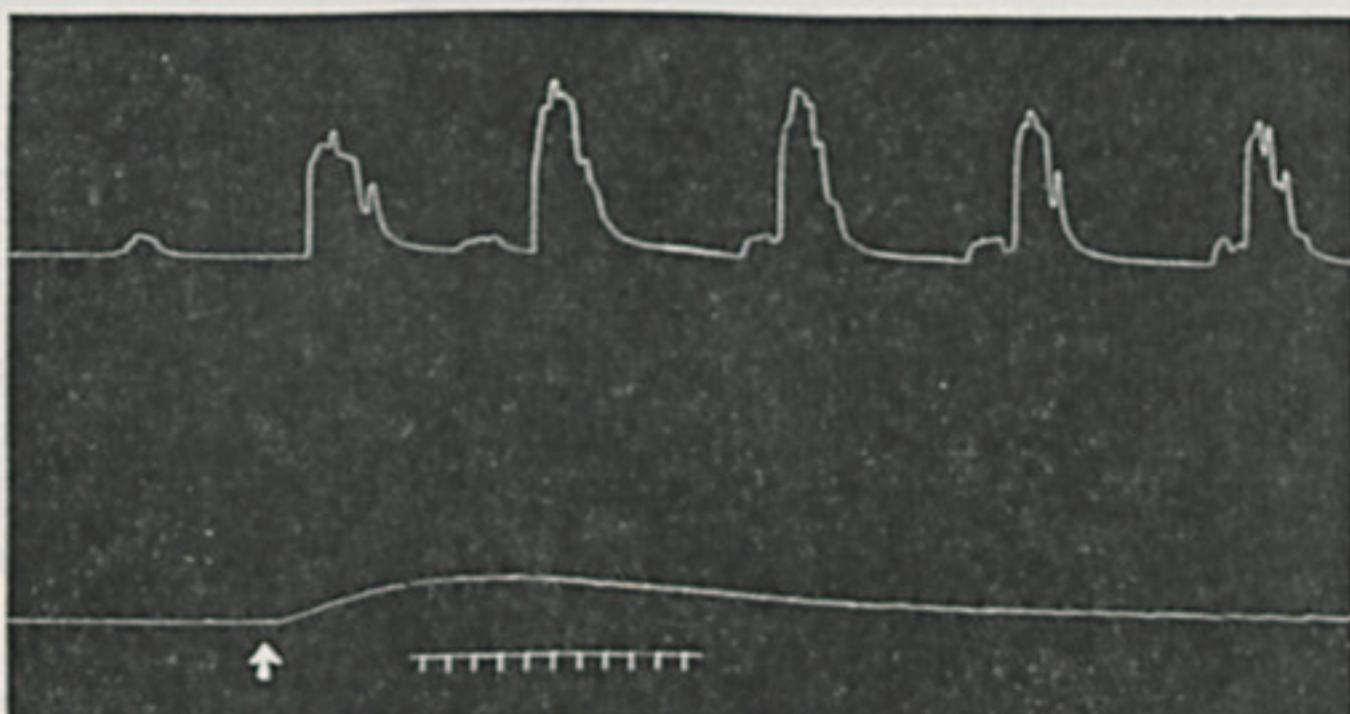


Fig. 2

Em cima: Rato 202, 90 dias depois da castração.

Em baixo: Rato 237, normal.

A flecha assinala a adição ao banho de sulfato de esparteina a 1:13 mil. Resposta ritmica do castrado e tonica do normal.

Fig. 2

Déférents de rat. En haut, rat 202, 90 jours après la castration. En bas, rat 237 normal. Addition au bain du sulfate de spartéine (1:13.000).

vezes, efeitos ritmicos. Nos orgãos de normais ou de tratados com testosterona, apenas alguns deferentes manifestaram leve efeito tonico (Fig. 3).

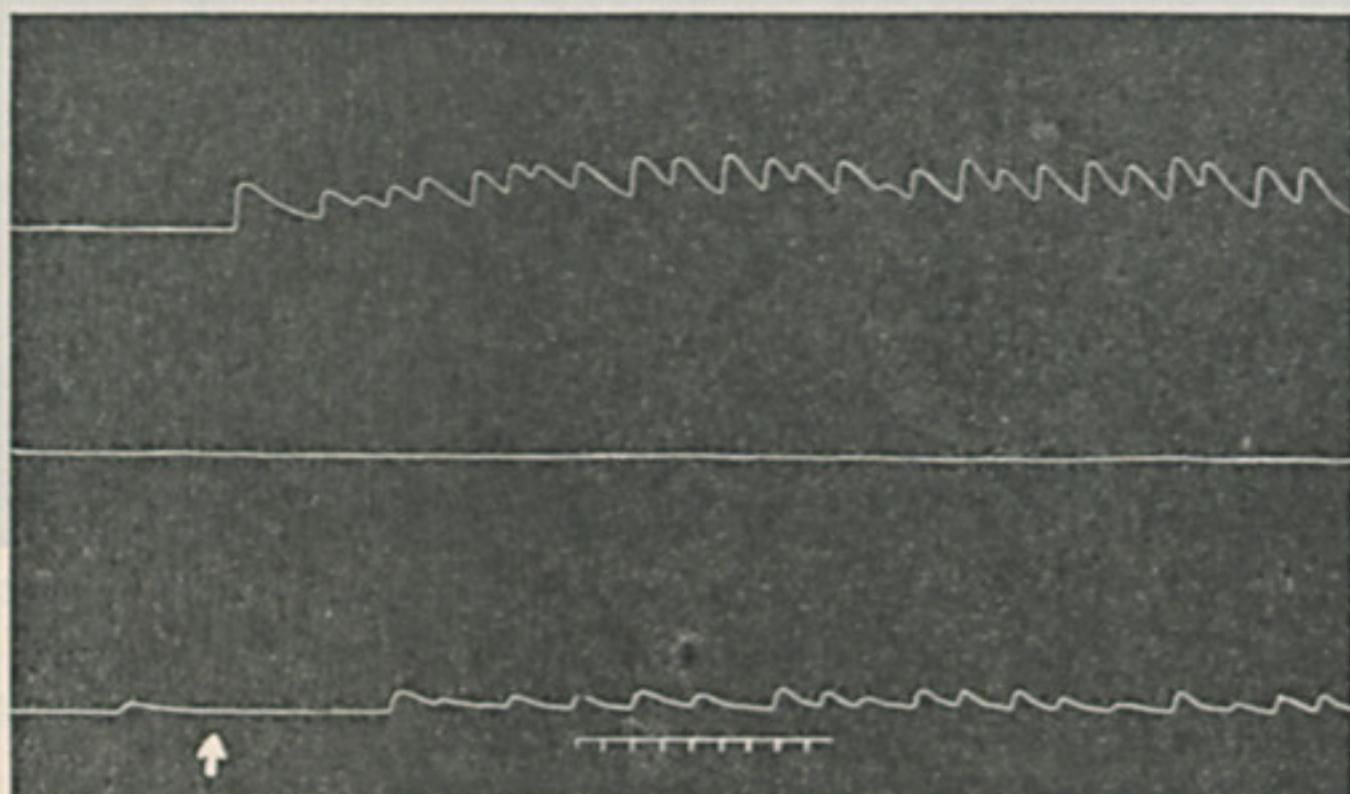


Fig. 3

Vesículas seminais de ratos castrados de 5 dias. No alto e em baixo rato 235 tratado com estradiol. No meio, rato 234 tratado com testosterona. A flecha assinala a adição ao banho de veratrina a 1:10 mil.

Fig. 3

Vésicules de rats, 5 jours après la castration. En haut et en bas, rat 235 traité par l'œstradiol; au centre, rat 234 traité par la testostérone. Action de la veratrine (1:10.000).

Lobelina (1:25.000 — 1:50.000). Sobre os deferentes de castrados ou de tratados pelo estradiol, a lobelina é um bom excitante do ritmo, decrescendo o efeito após alguns minutos; em normais ou tratados pela testosterona efeito nulo ou fracamente tonico. Sobre as vesiculas e prostatas a ação é nula ou, às vezes, inibidora, quando os orgãos já apresentam contrações. Em vista deste resultado procuramos verificar a ação da lobelina sobre as contrações provocadas por outras drogas; efedrina, acetilcolina, cloreto de bario, pilocarpina. Em parte das experiencias houve inibição, suspendendo-se as contrações ou diminuindo a amplitude e a frequencia. Este efeito é mais nitido nas vesiculas (Fig. 4).

Cloridrato de bulbocapnina (1:25.000 — 1:50.000). Efeitos inconstantes sobre deferentes de normais e de castrados-testosterona e excitação ritmica dos mesmos orgãos de castrados e de castrados-estradiol. Os efeitos sobre as vesiculas e prostatas foram em geral nulos ou então inibidores quando os orgãos apresentavam contrações. Depois de drogas excitantes como o bario, a efedrina e a cocaína, tanto para os deferentes como para as vesiculas e prostatas, predominou o efeito inibidor. A adição previa ao banho de bulbocapnina anula ou inverte a

sobretudo sob efeito da adrenalinina, efeito comparável ao da ergotamina e yoimbina e já referido por Molitor (11) noutra ordem de pesquisas (Fig. 5).

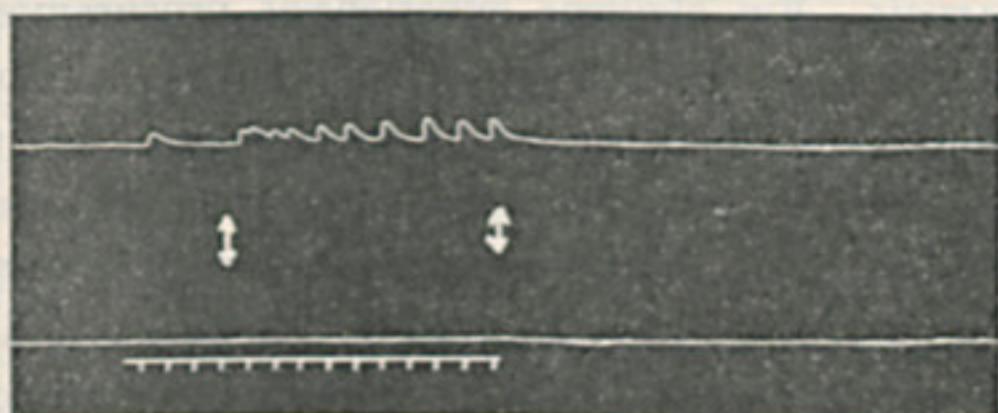


Fig. 4

Glandulas coaguladoras (Prostatas) de ratos.

Em cima: Rato 176, castrado de 28 dias.

Em baixo: Rato 188, normal.

A primeira flecha assinala a adição ao banho de cloridrato de efedrina a 1:80 mil e a segunda a adição de lobelina a 1:80 mil.

Fig. 4

Prostates de rat. En haut: rat 176, 28 jours après la castration; en bas rat 188, normal. La première flèche signale l'addition au bain de chlorhydrate d'ephédrine (1:80.000) et la deuxième l'addition de lobéline (1:80.000).

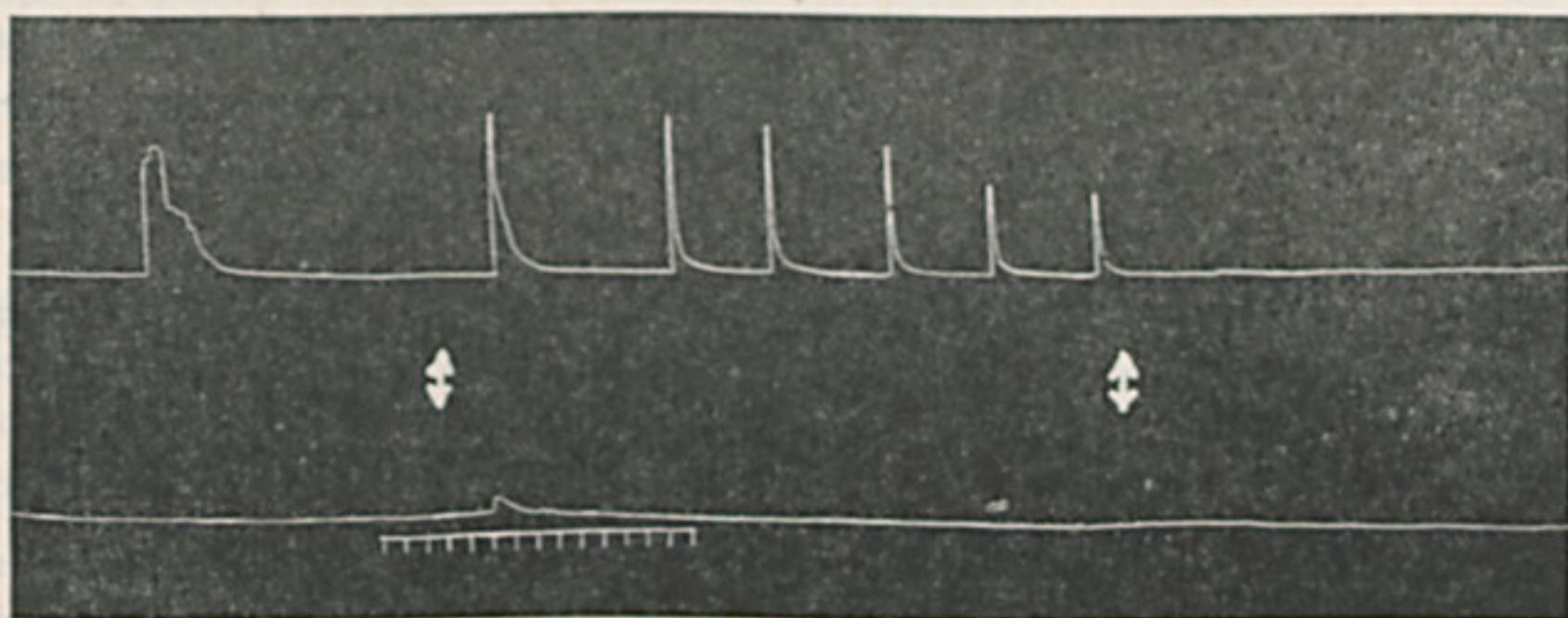


Fig. 5

Canais deferentes de ratos castrados de 8 dias.

Em cima: Rato 297, testemunha.

Em baixo: Rato 295, tratado com propionato de testosterona.

A primeira flecha indica a adição ao banho de cloridrato de bulbocapnina a 1:25 mil e a segunda a adição de cloridrato de adrenalina a 1:500 mil.

Fig. 5

Déférents de rat, 8 jours après la castration. En haut, rat 297, castré témoin. En bas, rat 295, traité par le propionate de testostérone.

Première flèche addition de la bulbocapnine (1:25.000), deuxième flèche adrénaline (1:500.000).

Pitressina e Pitocina (1 a 2 u.i. em 50 ccs. de Locke). Depois dos resultados inconstantes obtidos com a pituitrina, ensaiamos estes dois principios posthipofisarios. Na maioria dos casos os resultados foram negativos. Efeitos inibidores foram registados em alguns casos com a pitressina depois de drogas excitantes.

Hormonios sexuais. Em algumas experiencias procuramos a ação da testosterona, do estradiol e da progesterona, de 0.25 a 2 mgs. da substancia hormonal cristalina, dissolvidos em 0.1 a 0.2 cc. de alcool absoluto. Os resultados foram inconstantes e, na grande maioria das vezes, negativos. Foram ensaiados ainda extratos aquosos de foliculos e corpos amarelos de ovarios de animais de laboratorio e de matadouro tambem com resultados inconstantes. Não pudemos comprovar, o efeito excitante de extratos de corpos luteos assinalado por Matsumoto e Macht (12).

CONCLUSÃO

Das novas drogas estudadas neste trabalho a cocaina e a esparteina excitaram a contratilidade da genitalia masculina de ratos na dependencia das condições hormonais dos doadores. A lobelina e a bulbocapnina, bons excitantes do ritmo, provocam, em determinadas condições, efeitos inibidores. A adição previa de bulbocapnina ao banho nutridor anula ou inverte os efeitos da adrenalina. Os resultados com a veratrina, pitocina e pitressina foram inconstantes. Tambem não exerceram efeitos caracteristicos nem os hormonios sexuais cristalizados dissolvidos em pequeno volume de alcool absoluto, nem extratos aquosos de foliculos e de *corpora lutea* de animais de laboratorio e matadouro.

ÉTUDE "IN VITRO" DE LA MUSCULATURE LISSE GÉNITALE MASCULINE DE RATS EN DIFFÉRENTES CONDITIONS HORMONALES

Poursuivant notre étude sur la Pharmacologie "in vitro" des organes génitaux masculins de rats, en différentes conditions hormonales, et employant la même méthode décrite dans nos travaux antérieures (1-10), nous avons eu l'occasion d'examiner les effets des drogues suivantes, additionnées au bain nourricier de Locke, oxygéné et à $38^{\circ} \pm 0.5^{\circ}$: cocaïne, sparteine, vératrine, lobéline, bulbocapnina, pitressine, pitocine et hormones sexuelles.

Les effets décrits dans ce travail se basent sur l'étude de 22 déférents, 21 vésicules et 10 prostates de rats normaux; 33 déférents, 37 vésicules et 14 prostates de rats châtrés traités au propionate de testostérone; et 23 déférents, 27 vésicules et 18 prostates de rats châtrés traités au benzoate d'oestradiol.

Les organes étaient retirés de 2 à 90 jours de castration; le traitement hormonal consistait en injections huileuses de 5 mgs. de propionate de testostérone, ou 1 à 2 mgs. de benzoate d'oestradiol, tous les 4 ou 5 jours.

Résultats: *Chlorhydrate de cocaïne* (1:25.000 — 1:50.000). Contraction rythmique des canaux déférents, vésicules et prostates provenant d'animaux châtrés, ou châtrés et traités par l'oestradiol; contraction prédominanment tonique des déférents d'animaux ou d'animaux châtrés et injectés par la testostérone. Les vésicules et les prostates d'animaux normaux ou d'animaux châtrés et traités par la testostérone sont très peu sensibles à la drogue qui, dans la majorité des cas, ne provoque aucun effet.

Nous nous sommes efforcés de vérifier si la cocaïne sensibilisait les organes pour les effets de l'adrénaline. Chez les déférents, les vésicules et les prostates de toutes les catégories expérimentales, l'addition de l'adrénaline après la cocaïne provoque des contractions plus amples et des effets toniques plus prononcés que lorsque la drogue était appliquée toute seule (Fig. 1).

Sulfate de spartéine (1:10.000 — 1:50.000). C'est un stimulant des contractions rythmiques des déférents d'animaux châtrés ou traités par l'oestradiol. Les déférents des animaux normaux ou traités au propionate de testostérone sont peu sensibles à cette drogue; ils réagissent seulement aux concentrations plus fortes avec de petites contractions toniques. Les vésicules et les prostates sont peu réactives, même lorsqu'il s'agit d'animaux châtrés ou traités au benzoate d'oestradiol. Chez les organes d'animaux normaux ou traités par la testostérone, dans la majorité des cas, il ne se produit aucun effet (Fig. 2).

Vératrine (1:8.000 — 1:25.000). Résultats inconstants. Les déférents, vésicules séminales et prostates d'animaux châtrés ou traités par l'oestradiol, réagissent par des contractions rythmiques. Chez les organes d'animaux normaux ou traités par la testostérone, quelques déférents ont manifesté un léger effet tonique (Fig. 3).

Lobéline (1:25.000 — 1:50.000). La lobéline est un bon excitant du rythme des déférents d'animaux châtrés ou traités par l'oestradiol; mais les effets sont passagères. Chez les animaux normaux ou traités par la testostérone l'effet est nul ou faiblement tonique. Sur les vésicules et prostates, l'action est nulle et même parfois inhibitrice, lorsque les organes présentent déjà des contractions. À cause de ce résultat, nous avons vérifié l'action de la lobéline sur les contractions provoquées par d'autres drogues: éphédrine, acetylcholine, chlorure de baryum, pilocarpine. Pour une partie des expériences, il y a eût inhibition, les contractions cessèrent ou leur ampleur et fréquence diminuèrent. Cet effet est plus net sur les vésicules (Fig. 4).

Chlorhydrate de bulbocapnine (1:25.000 — 1:50.000). Effets inconstants sur les déférents d'animaux normaux et châtrés traités par la testostérone; excitation rythmique des organes provenant d'animaux châtrés ou traités par l'oestradiol. Les effets sur les vésicules et les prostates ont été en général nuls; parfois, il y a inhibition des contractions provoquées par d'autres drogues, comme chlorure de baryum, éphédrine, cocaïne, tant pour les déférents que pour les vésicules et prostates. L'addition préalable au bain de bulbocapnine annule ou invertit l'action de l'adrénaline, effet comparable à celui de l'ergotamine et de la yohimbine et déjà rapporté par Molitor (11) dans un autre ordre de recherches (Fig. 5).

Pitressine et Pitocine (1 a 2 unit. int. dans 50 cc. de Locke). Après des résultats inconstants obtenus avec la pituitrine, nous avons essayé ces deux principes posthypophysaires. Dans la majorité des cas, les résultats ont été négatifs. Des effets d'inhibition ont été enregistrés dans quelques cas avec la pitressine après des drogues excitantes.

Hormones sexuelles. Dans quelques expériences nous avons essayé la testostérone, l'oestradiol et la progesterone (0.25 a 2 mgs. dissoutes dans 0.1 a 0.2 cc. d'alcool absolu). Les résultats ont été inconstants ou négatifs. Nous n'avons pas aussi observé une action évidente des extraits aqueuses des follicules ni l'effet excitant des extraits des corps jaunes signalé par Matsumoto et Macht (12).

En conclusion: les résultats rapportés ici confirment nos travaux antérieurs. Les canaux déférents, vésicules seminales et prostates des rats châtrés ou traités par l'oestradiol sont plus excitables, et présentent des contractions de type predominant rythmique. Chez les normaux ou traités par la testostérone, l'excitabilité est faible, et le type de contraction tonique.

BIBLIOGRAFIA

1. Martins, Thales & Valle, José R. — Influence de la castration sur la motilité du canal déférent du rat — C. R. Soc. Biol. 127:464.1938.
2. Martins, Thales & Valle, José R. — Pharmacologie comparée des canaux déférents et des vésicules séminales "in vitro", de rats normaux et de rats castrés — C. R. Soc. Biol. 127:1381.1938.
3. Martins, Thales; Valle, José R. & Porto, Ananias — Contractilité et réactions pharmacologiques des canaux déférents et des vésicules séminales "in vitro" de rats castrés et traités par les hormones sexuelles — C. R. Soc. Biol. 127:1385.1938.
4. Martins, Thales & Porto, Ananias — Contractilité et réactions pharmacologiques des canaux déférents et des vésicules séminales après conservation à basse température, de rats normaux, castrés et traités par les hormones sexuelles — C. R. Soc. Biol. 127:1389.1938.

5. *Martins, Thales* — Contractilité et pharmacologie comparée "in vitro" de la prostate de rats normaux et de rats castrés et injectés d'hormones sexuelles — C. R. Soc. Biol. 129:71.1938.
 6. *Martins, Thales & Valle, José R.* — Action de la spermine et de la yohimbine sur la contractilité "in vitro" des glandes annexes males de rats, des cobayes et des singes *Cebus* et *rhesus* — C. R. Soc. Biol. 129:1129.1938.
 7. *Martins, Thales; Valle, José R. & Porto, Ananias* — Nouvelles données sur la pharmacologie "in vitro" des canaux déférents, des vésicules séminales et des prostata de rats normaux, castrés ou injectés d'hormones sexuelles — C. R. Soc. Biol. 129:1148.1938.
 8. *Martins, Thales & Valle, José R.* — Endocrine control of the motility of the male accessory genital organs — Endocrinology 25:80-90.1939.
 9. *Martins, Thales; Valle, José R. & Porto, Ananias* — Neuere Ergebnisse über die Pharmakologie von Samenleiter, Samenblase und Prostata "in vitro" von normalen, kastrierten und mit Sexualhormonen behandelten Ratten — Ztschr. f. d. ges. Exper. Medizin. 105:512-520.1939.
 10. *Porto, Ananias* — Contractilité et réactions pharmacologiques "in vivo" des canaux déférents et des vésicules séminales du rat castré et traité par des hormones sexuelles — C. R. Soc. Biol. 131:311.1939.
 11. *Molitor, Hans* — Some undescribed pharmacological properties of bulbocapnin — J. Pharm. & Exper. Therap. 62:16-25.1938.
 12. *Matsumoto, S. & Macht, D. I.* — A pharmacological study of ovarian and corpus luteum extracts, with a special reference to the contractions of the genito-urinary organs — J. of Urology 3:63.1919.

(Trabalho da Secção de Endocrinologia do Instituto Butantan. Entregue em agosto de 1940 e dado à publicidade em dezembro de 1940).

