

# **SOBRE A DURAÇÃO DO TRATAMENTO NECESSARIO PARA QUE OS HORMONIOS SEXUAIS INFLUAM SOBRE A CONTRA- LIDADE "IN VITRO", DOS CANAIS DEFERENTES E VESICULAS SEMINAIS DE RATOS CASTRADOS**

POR

THALES MARTINS; JOSÉ R. VALLE & ANANIAS PORTO

Em trabalhos anteriores demonstramos que a testosterona tem ação inibidora e o estradiol excitadora da contratilidade e da excitabilidade dos canais deferentes, vesiculas seminais e prostatas de ratos (1,2), macacos *rhesus* (3) e gatos (4), a julgar pelo seu comportamento "*in vitro*".

Os canais deferentes, vesiculas seminais e prostatas de ratos castrados apresentam, na sua quasi totalidade, movimentos espontaneos; reagem bem à pilocarpina, efedrina, cocaína e outras drogas excitantes ensaiadas; tambem o tipo de contração, além de mais amplo, é qualitativamente diferente: preponderantemente ritmico no castrado e preponderantemente tonico no normal.

Dadas estas diferenças de comportamento "*in vitro*" da musculatura lisa genital masculina de ratos, dependentes das condições hormonais dos doadores, seria interessante determinar qual o periodo minimo de aparecimento dos sintomas funcionais da castração e qual o limiar dos efeitos corretivos da testosterona. Poderia ser analisada nesse sentido, tambem, a influencia do benzoato de estradiol.

## **MATERIAL E METODO**

Os ratos adultos de 160 a 220 gs. utilizados foram divididos em dois grupos experimentais:

a) *Tratamento preventivo*, em que, logo após a castração um certo numero de ratos recebia uma injeção de propionato de testosterona (5 ou 10 mgs. em 1 cc. de oleo de sesamo) ou de benzoato de estradiol (1 ou 2 mgs. em 1 cc. de oleo), conservando-se outros sem tratamento.

b) *Tratamento corretivo*, neste caso, os animais só recebiam a injeção 4 a 21 dias depois da castração (\*).

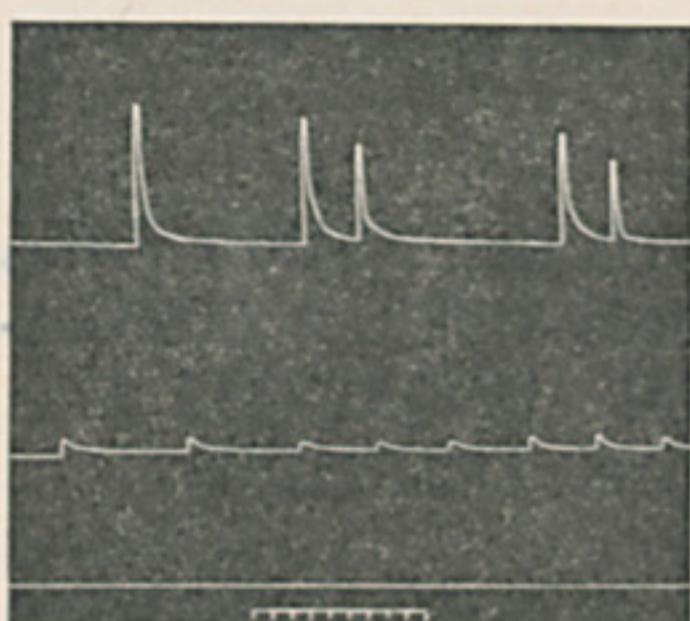


Fig. 1

Canais deferentes de ratos, 6 dias depois da castração. *Em cima*: rato 311, 30 horas depois de uma injeção subcutânea de 1 mg. de benzoato de estradiol; *No meio*: rato 312, 30 horas após a injeção de 1 cc. de óleo de sésamo; *Em baixo*: rato 313, 30 horas depois de uma injeção de 5 mgs. de propionato de testosterona.

Ausência de contrações espontâneas no tratado com testosterona e maior amplitude das observadas no tratado com estradiol. Na linha de tempo em todas as figuras os intervalos são de 6 segundos.

Fig. 1

Canaux déférants de rats, 6 jours après la castration. De haut en bas: rat 311, 30 heures après une injection de 1 mg. de benzoate d'oestradiol; rat 312, témoin; rat 313, 30 heures après une injection de 5 mgs. de propionate de testosterone.

L'amplitude des mouvements spontanés est plus grande dans le rat traité par l'oestradiol que dans le rat châtré témoin. Inhibition de l'automatisme par la testosterone.

Temps: 6 sec.

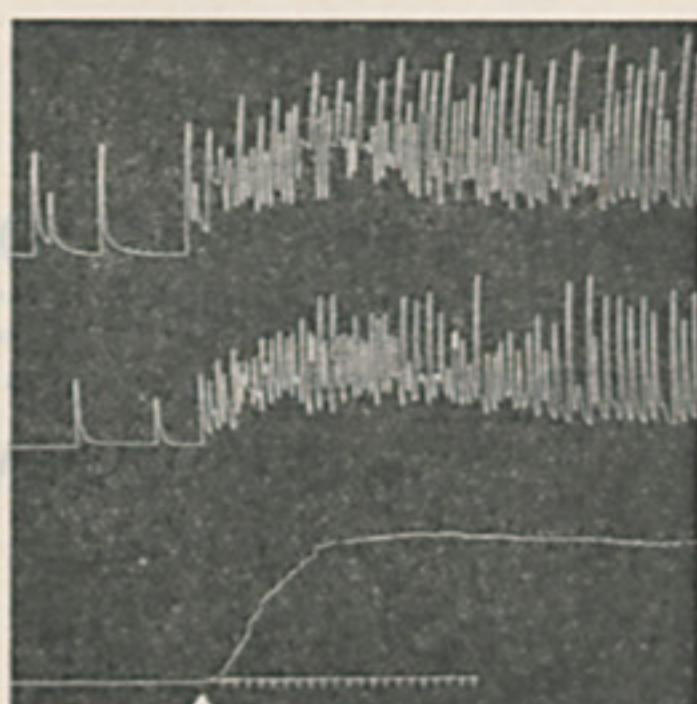


Fig. 2

Canais deferentes de ratos, 72 horas depois da castração. *Em cima*: rato 294, castrado testemunha; *No meio*: rato 293, 72 horas depois de uma injeção de 1 mg. de benzoato de estradiol; *Em baixo*: rato 292, 72 horas depois de uma injeção de 5 mgs. de propionato de testosterona.

A flecha assinala a adição ao banho de cloridrato de efedrina a 1:120 mil.

Fig. 2

Canaux déférants de rat 72 heures après la castration. De haut en bas: rat 294, châtré témoin; rat 293, 72 heures après une injection de 1 mg. de benzoate d'oestradiol; rat 292, 72 heures après une injection de 5 mgs. de propionate de testosterone (Addition de chlorhydrate d'ephédrine 1:120.000).

No primeiro grupo foram estudados 7 canais deferentes e 7 vesículas seminais de ratos castrados tratados com propionato de testosterone; 8 deferentes e 8 vesículas de castrados tratados com benzoato de estradiol e 6 deferentes e 6 vesículas de castrados testemunhas. No segundo grupo foram estudados 64

(\*) Agradecemos à Casa Schering os hormônios — Testoviron, Progynon — cedidos gentilmente para a realização destas experiências.

orgãos, sendo 32 deferentes e 32 vesículas assim distribuídos: 14 deferentes e 14 vesículas de ratos castrados e tratados com propionato de testosterona, 5 deferentes e 5 vesículas de animais castrados, tratados com benzoato de estradiol; 5 deferentes e 5 vesículas de ratos castrados e tratados com óleo puro e 8 deferentes e 8 vesículas de castrados não tratados.

Depois da anestesia dos doadores com eter os orgãos eram extirpados, desembraçados dos tecidos adjacentes e levados para um frasco, contendo líquido de Locke oxigenado, mergulhado num termostato a 36°-38°, tomado-se ao mesmo tempo e no mesmo banho os traçados das contrações longitudinais de 2 a 3 orgãos pertencentes a animais diferentes. Em todos os grupos as experiências "in vitro" foram feitas 24, 30, 50, 54, 72 e 120 horas após a injeção hormonal.

Para bem interpretar as experiências, é bom sublinhar que no grupo a) os resultados mais interessantes são os que revelam o aparecimento dos sintomas de castração, nos animais não tratados com testosterona; e, no grupo b), o desaparecimento daqueles sinais, nos tratados com este hormônio.

## RESULTADOS

*Tratamento preventivo:* Os orgãos de animais tratados pelo propionato de testosterona conservaram seu tipo normal de comportamento.

Nos castrados testemunhas ou nos tratados pelo estradiol já há leves sinais de alteração nos deferentes, revelando um aumento da excitabilidade nas primeiras 24 horas: reação leve à pilocarpina e esboçando-se tipo ritmico misto (tonus com oscilações) à junção das outras drogas (acetilcolina, adrenalina, cocaína e cloreto de bário nas concentrações referidas em nossos trabalhos anteriores).

As diferenças vão se acentuando à medida que se alonga o período de tratamento, chegando ao "grand complet" em 72 horas. No que concerne ao automatismo, só apareceram, nesta série, casos positivos nos grupos de 54 horas em diante. Todavia, em experiências anteriores, já obtivemos casos de automatismo nitido de deferentes com 24 e 48 horas após a castração. Quanto ao papel do benzoato de estradiol, si bem que não seja dos mais pronunciados, nos períodos curtos citados, é bem constatável; de fato, o automatismo foi mais nitido nos órgãos dos ratos injetados com este hormônio, que apresentam também um tipo de ritmo mais puro sob a ação das drogas.

Quanto às vesículas seminais, o aparecimento das alterações de castração é mais lento para certos sintomas. Até 72 horas nenhuma vesícula de castrados não tratados com testosterona demonstrou automatismo ou reação à pilocarpina.

Entretanto, a reação à efedrina (que é negativa nas vesículas de normais ou tratados pela testosterona) já é positiva com 24 horas, tornando-se cada vez mais ampla com o decorrer do tempo. A reação ritmica ou mista às outras drogas começa a ser constatada com 30 horas e a reação à cocaína com 54 horas. No grupo de 72 horas faltam apenas o automatismo e a reação à pilocarpina para completar todos os sinais da castração. Não se verificou ação nítida de benzoato de estradiol no sentido de acelerar o aparecimento dos sinais de castração.

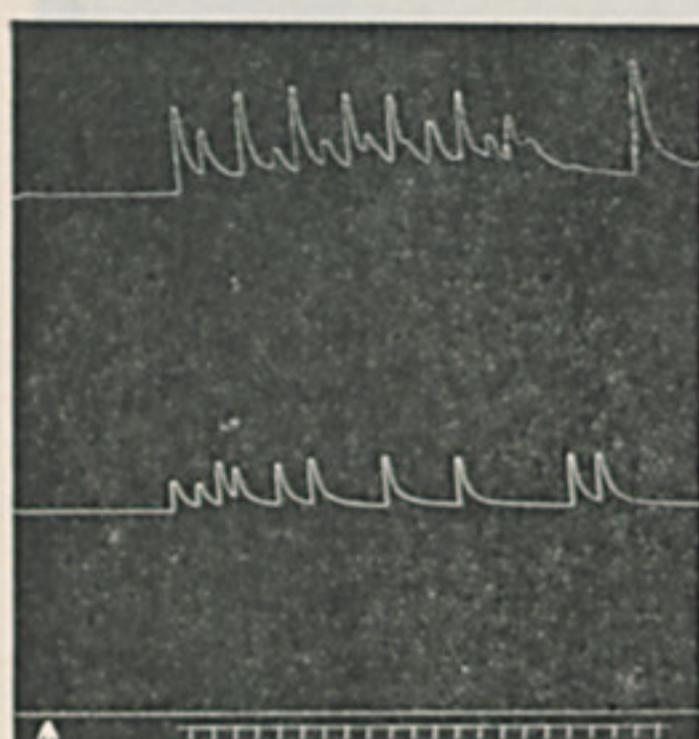


Fig. 3

Canais deferentes de ratos castrados 72 horas antes. *Em cima*: rato 305, 72 horas depois de uma injeção de 1 mg. de benzoato de estradiol; *No meio*: rato 306, castrado, testemunha; *Em baixo*: rato 307, 72 horas depois de uma injeção de 10 mgs. de propionato de testosterona.

Efeitos da adição ao banho de cloridrato de pilocarpina a 1:100 mil.

Fig. 3

Déférents de rats 72 heures après la castration. De haut en bas: rat 305, 72 heures après une injection de 1 mg. de benzoate d'oestradiol; rat 306 châtré temion; rat 307, 72 heures après une injection de 10 mgs. de propionate de testosterone. Addition de chlorhydrate de pilocarpine (1:100.000).

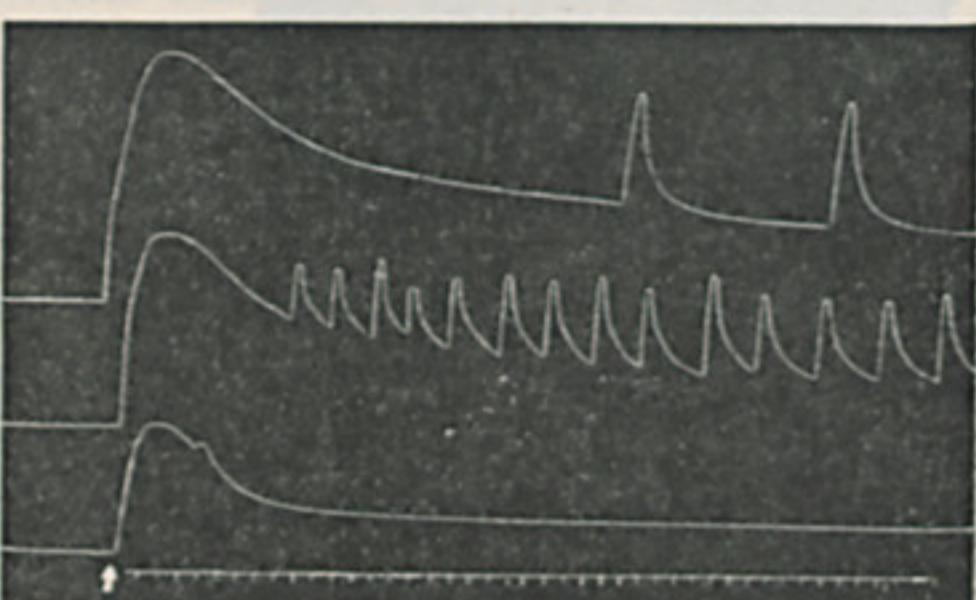


Fig. 4

Vesículas seminais de ratos castrados 10 dias antes. *Em cima*: rato 302, 30 horas depois de uma injeção de 1 mg. de benzoato de estradiol; *No meio*: rato 304, testemunha; *Em baixo*: rato 303, 30 horas depois de uma injeção de 10 mgs. de propionato de testosterone. Efeitos da adição de cloridrato de acetilcolina a 1:100 mil.

Fig. 4

Vésicules seminales de rat, 10 jours après la castration. De haut en bas: rat 302, 30 heures après une injection de 1 mg. de benzoate d'oestradiol; rat 304 témoin; rat 303, 30 heures après une injection de 10 mgs. de propionate de testosterone.

Addition d'acetylcholine (1:100.000).

**Tratamento corretivo:** Nos castrados não tratados o comportamento é evidentemente o típico da castração. Procuramos, neste caso, o tempo necessário para que, sob a ação da testosterona, a contratilidade volte ao tipo normal. Os efeitos são aqui mais rápidos nas vesículas do que nos deferentes. De fato, já

com 30 horas após a injeção de propionato de testosterona desapareceu a reação à pilocarpina nas vesículas e na resposta às outras drogas começa a dominar o efeito tonico. Nas vesículas de 72 horas de tratamento só ha de discrepante a reação positiva à efedrina. Nos deferentes, si bem que em alguns já se delineiem certas modificações com 24 a 30 horas pode-se admitir 48 horas de tratamento com testosterona como o periodo de diferenças incontestaveis: ausencia de automatismo e de reação à pilocarpina; tonus cada vez mais pronunciado após a adição de drogas. Com 72 horas a recuperação do tipo normal é praticamente completa.

*Em conclusão:* As modificações do comportamento "in vitro" dos canais deferentes e vesículas seminais e que se traduzem num aumento da contratilidade e excitabilidade dos mesmos, após a castração, aparecem com relativa rapidez após a extirpação das gonadas (30 — 72 horas), sendo completamente prevenidas pela injeção de propionato de testosterona. Por outro lado, o tratamento com este hormonio, de ratos 4 a 21 dias após a castração, já exerce efeitos constataveis a partir de 30 horas para as vesículas e 48 horas para os deferentes; como limites para a apreciação de resultados indiscutiveis podemos fixar respectivamente 48 e 72 horas. O espaço de tempo relativamente curto para a manifestação dos efeitos da testosterona aqui descritos, além de outros argumentos já citados em trabalhos anteriores deste laboratorio, fazem-nos crêr que a ação dos hormonios sexuais, neste caso, é principalmente funcional, sem grande dependencia das ações morfogenicas exercidas pela testosterona sobre os órgãos aqui estudados.

## RESUMO

As alterações funcionais de castração traduzidas pelo aparecimento de automatismo e aumento da excitabilidade farmacologica "in vitro" da musculatura lisa genital masculina de ratos começam a aparecer para os canais deferentes 24 horas e para as vesículas seminais 30 horas depois da extirpação das gonadas. Depois de 72 horas os sinais são completos nos deferentes mas nas vesículas faltam ainda o automatismo e a resposta à efedrina. Já no tratamento corretivo, isto é, feita a injeção depois de instalados aqueles sintomas, a vesicula é mais sensivel do que o deferente à presença de testosterona circulante. As alterações funcionais de castração começam a desaparecer nas vesículas 30 horas e nos deferentes 48 horas depois da injeção hormonal. Quanto ao benzoato de estradiol, foi observado que, para os canais deferentes, nas primeiras 72 horas, ele pode aumentar a incidencia de automatismo e reforçar o tipo ritmico da resposta às drogas ensaiadas.

SUL LA DURÉE DU TRAITEMENT NÉCESSAIRE POUR QUE LES HORMONES SEXUELLES INFLUENT SUR LA CONTRACTILITÉ "IN VITRO" DES CANAUX DÉFÉRENTS ET DES VÉSICULES SÉMINALES DE RATS CHÂTRÉS

Il serait intéressant de déterminer quelle est la durée minima de traitement nécessaire pour que puissent se constater les effets des hormones sexuelles que nous avons déjà décrits. Pour la bonne compréhension nous résumerons les principales différences de comportement entre les organes de rats normaux et châtrés lorsqu'ils sont placés dans le liquide de Locke "*in vitro*". Les déférents, les vésicules séminales et les prostates des animaux châtrés, présentent, dans leur quasi totalité, des mouvements spontanés; ils réagissent bien à la pilocarpine, à l'éphédrine, à la cocaïne et à d'autres drogues excitantes essayées. Le type de contraction est aussi qualitativement différent: prépondéramment rythmique dans l'animal châtré, et tonique chez le normal.

*Méthode:* Les organes, après extirpation, étaient placés dans un flacon contenant du liquide de Locke, à la température de 36 à 38°; on prenait en même temps, et dans le même bain, les tracés des contractions longitudinales de 2 ou 3 organes appartenant à des animaux différents.

a) *Traitemenr préventif:* Le jour même de la castration, un certain nombre de rats recevait une injection de propionate de testosterone (5 ou 10 mgs dans 1 cc. d'huile de sésame) ou de benzoate d'oestradiol (1 ou 2 mgs. dans 1 cc. d'huile); d'autres rats étaient conservés sans traitement.

Dans ce groupe il y a éut 7 déférents et 7 vésicules de rats châtrés et traités au propionate destosterone, 8 déférents et 8 vésicules de rats châtrés traités au benzoate d'oestradiol et 6 déférents et 6 vésicules de rats châtrés témoins.

b) *Traitemenr correctif:* Dans ce cas, les animaux recevaient l'injection de 4 à 21 jours après la castration. On étudia 64 organes, dont 32 déférents parmi lesquels 14 furent traités au propionate de testostérone, 5 au benzoate d'oestradiol et 13 châtrés simples; et des vésicules, en nombre et traitement identiques. Dans tous ces groupes, les expériences "*in vitro*" furent faites 24, 30, 50, 54, 72 et 120 heures après l'injection de l'hormone. Le poids des rats varia de 160 à 220 gs..

Pour bien interpréter les expériences il est bon de souligner que dans le groupe a) les résultats les plus intéressants sont ceux qui révèlent l'apparition de symptomes de castration, sous le point de vue de la contractilité, dans les animaux non traités par la testostérone; et dans le group b) la disparition de ces signes chez les animaux traités avec cette hormone.

*Résultats: Traitement préventif* — Les organes d'animaux traités au propionate de testostérone conservèrent leur type normal de comportement.

Chez les animaux châtrés témoins ou chez ceux traités au oestradiol il y a déjà de symptômes d'altération des déférents, révélant une augmentation d'excitabilité dans les premières 24 heures: réaction légère à la pilocarpine et ébauche du type rythmique ou mixte (tonus avec oscillations) après la jonction des autres drogues (acétylcholine,adrénaline,cocaïne et chlorure de barium) dans les concentrations rapportées dans nos travaux antérieurs. Les différences augmentent à mesure que s'allonge la période de traitement, arrivant au grand complet en 72 heures. Pour ce qui concerne l'automatisme, des cas positifs apparaissent seulement après 54 heures. Toutefois, dans des expériences antérieures, nous avons obtenu des cas d'automatisme net de déférents, 24 et 48 heures après la castration. Quant au rôle du benzoate d'oestradiol, bien qu'il ne soit pas des plus prononcés, dans les courtes périodes citées, il est bien constatable. De fait, l'automatisme fût plus net chez les organes des rats injectés avec cette hormone, lesquels présentent aussi un type de rithme plus pur sous l'action des drogues. Quant aux vésicules séminales, l'apparition des altérations de la castration est plus lent. Jusqu'à 72 heures, aucune vésicule d'animaux châtrés témoins ne démontre automatisme ou réaction à la pilocarpine. Cependant la réaction à l'éphédrine (qui est négative dans les vésicules d'animaux normaux ou traités par la testostérone) est déjà positive après 24 heures, devenant de plus en plus ample avec le temps. La réaction rythmique ou mixte à d'autres drogues commence à être constatée après 30 heures et la réaction à la cocaïne après 54 heures. Dans le groupe de 72 heures manquent à peine l'automatisme et la réaction à la pilocarpine pour compléter tous les symptômes de la castration. Il ne se vérifia pas d'action nette du benzoate d'oestradiol dans le sens d'accélérer l'apparition des signaux de castration.

*Traitement correctif* — Chez les animaux châtrés non traités, le comportement est évidemment celui typique de la castration. Nous rechercherons, dans ce cas le temps nécessaire pour que, sous l'action de la testostérone, la contractilité revienne au type normal. Les effets sont ici plus rapides chez les vésicules que chez les déférents. De fait, 30 heures après l'injection de propionate de testostérone, disparut la réaction des vésicules à la pilocarpine, et l'effet tonique commence à dominer dans la réponse aux autres drogues; cependant, la réaction positive à l'éphédrine peut persister jusqu'à 72 heures. Chez les déférents, bien que dans quelques cas certaines modifications s'ébauchent déjà après 24 heures ou 30 heures, on peut admettre 48 heures de traitement par la testostérone comme période de différences bien appréciables: absence d'automatisme et de réaction à la pilocarpine; tonus de plus en plus prononcés après l'addition des drogues. Après 72 heures, la récupération du type normal est pratiquement complète.

*Conclusion:* Les modifications du comportement "in vitro" des canaux déférents et des vésicules séminales et qui se traduisent par une augmentation de la contractilité et de l'excitabilité des mêmes, après la castration, apparaissent avec une relative rapidité après l'extirpation des gonades (30 à 72 heures), et sont évitées par le traitement avec la testostérone. D'autre part, le traitement des rats, 4 à 21 jours après la castration, avec le propionate de testosterone, exerce déjà des effets constatables à partir de 30 heures (vésicules) et 48 heures (déférents), après la première injection. Comme limites pour l'appréciation de résultats indiscutables nous pouvons fixer respectivement 48 et 72 heures. L'espace de temps relativement court pour la manifestation des effets de la testostérone nous fait croire que l'action des hormones sexuelles sur la contractilité des organes génitaux étudiés est principalement fonctionnelle, sans grande dépendance des actions histogéniques exercées par la testostérone.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Martins, Thales & Valle, José R. — Endocrine control of the motility of the male accessory genital organs — *Endocrinology* 25:80.1939.
2. Martins, Thales; Valle, José R. & Porto, Ananias — Neure 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* 105:512.1939.
3. Martins, Thales; Valle, José R. & Porto, Ananias — Die endokrine Kontrolle der Motilität der männlichen akzessorischen Genitalorgane. Vergleichende Pharmakologie "in vitro" der Samenleiter und Samenblasen von normalen, kastrierten und mit Sexualhormonen behandelten Thesusaffen — *Pflügers Arch. f. d. ges. Phys. des Manschen u. d. Tiere* 242:134.1939.
4. Martins, Thales & Valle, José R. — Vergleichende Pharmakologie "in vitro" der Samenleiter normaler, kastrierter und mit Sexualhormonen behandelter Katzen — *Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol.* 243:243.1940.

(Trabalho da Secção de Endocrinologia do Instituto Butantan. Dado à publicidade em dezembro de 1940).