

Tr. Martins. 1952. Estudo de enxertos de órgãos genitais e acessórios de ratos e cobaias em diversas condições hormonais. I. A influência do estrogênio sobre a motilidade e excitabilidade dos órgãos genitais e acessórios de ratos e cobaias. Rev. Brasileira de Biologia, Rio de Janeiro, 12(1): 1-12.

## ESTUDO MORFOLOGICO E FUNCIONAL DE ENXERTOS DE ORGÃOS GENITAIS ACESORIOS DE RATOS E COBAIOS EM DIVERSAS CONDIÇÕES HORMONAIAS

POR

THALES MARTINS; JOSÉ R. VALLE & ANANIAS PORTO

Em trabalhos anteriores deste Laboratorio mostramos que a contratilidade e a excitabilidade farmacologica dos órgãos genitais accessórios masculinos são reguladas pelas condições hormonais dos doadores. No rato, este controle é bem evidenciado pelo exame comparativo "in vitro" dos órgãos provenientes de normais, castrados e de castrados injetados com substancias androgenicas e estrogenicas. Nos cobaios, entretanto, a influencia da castração e a ação inibidora da testosterona não são tão evidentes como no rato; não obstante, o tratamento com estradiol parece exagerar a já notável excitabilidade dos órgãos provenientes de doadores normais. Particularmente interessante nesta especie é a variação dos efeitos da adrenalina: os órgãos provenientes de cobaios normais, castrados ou castrados tratados com testosterona, são excitados, enquanto que os provenientes de doadores tratados com estradiol são deprimidos.

O presente trabalho foi feito com o fito de se verificar si as modificações de comportamento acima descritas e dependentes do tratamento hormonal, seriam tambem observadas nos órgãos transplantados, isto é, deslocados de suas conexões nervosas habituais. Poder-se-ia, deste modo, eliminar a influencia dos centros, analisando mais a fundo o mecanismo de ação dos hormonios sexuais na regulação daquela motilidade.

### MATERIAL E METODO

Foram operados, sob anestesia pelo éter, 21 ratos de 110 a 240 gs. e 30 cobaios de 450 a 700 gs.. Depois da castração total ou unilateral os órgãos eram enxertados na parede muscular dorsal ou abdominal, no estomago ou no mesente-

rio proximo às alças intestinais. No rato foram enxertados o deferente e a vesicula seminal com o lobo cranial da prostata, no cobaio o deferente e o terço distal da vesicula seminal. Em todos os animais operados os orgãos contralaterais eram mantidos "in situ" para estudo comparativo.

Logo depois da operação era iniciado o tratamento hormonal que consistia em injeções subcutâneas, cada 4 ou 6 dias, de 5 a 10 mgs. de propionato de testosterona ou de 0.5 a 1 mg. de benzoato de estradiol, dissolvidos em 0.5 a 1 cc. de óleo de sesamo. (\*)

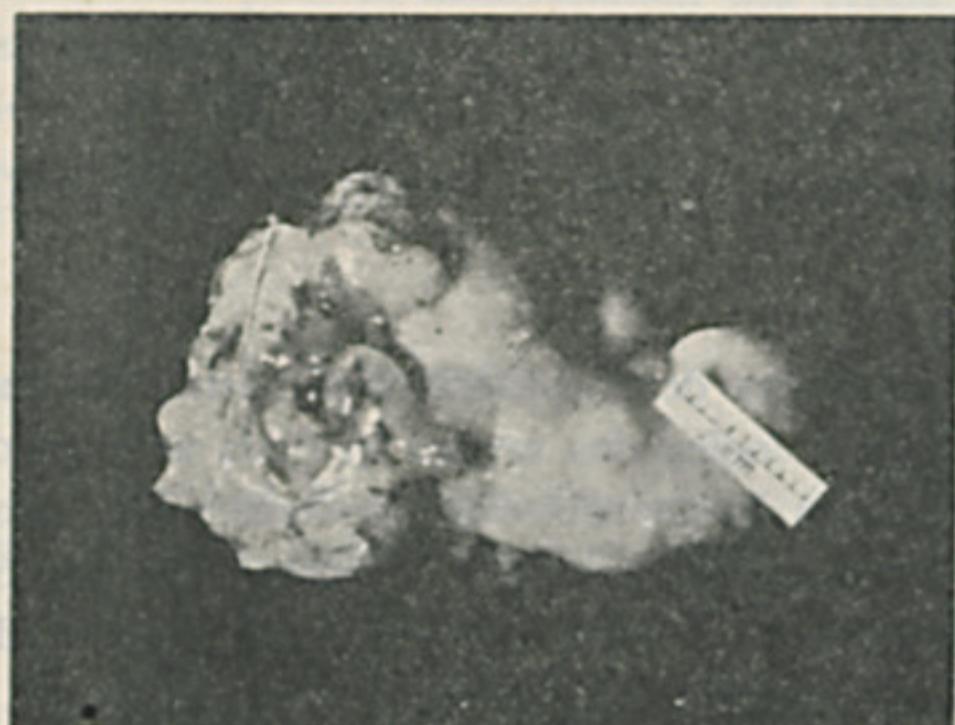


Fig. 1

Vesicula seminal enxertada na face anterior do estomago do rato 6, hemicastrado, operado 63 dias antes e tratado durante este periodo com 45 mgs. de propionato de testosterona (10 mgs. em implantação e 35 mgs. em 7 injeções oleosas cada 4 dias).

Abb. 1

In die Magenwand verpflanzte Samenblase der einseitig kastrierten Ratte 6, 63 Tage vorher operiert und mit 45 mg Testosteronpropionat behandelt.

Na maioria dos casos, para se assegurar das boas condições do enxerto, as injeções de estradiol eram feitas depois de um tratamento previo com testosterona. Nos ratos, em alguns casos, foi utilizada também a implantação subcutânea do hormônio (androsterona, testosterona) em granulos de 5 a 20 mgs. Em alguns

(\*) Agradecemos à Casa Schering o material hormonal posto amavelmente à nossa disposição para a realização destas experiências.

casos, tambem, cerca de um mês depois da operação, era feita uma laparotomia para se observar as condições do enxerto.

Entre 30 a 83 dias depois da operação, os órgãos eram retirados para o estudo morfológico e funcional. Foram utilizados 16 ratos: 2 hemicastrados, 5 castrados, 5 castrados tratados com testosterona e 4 castrados tratados com estradiol e 10 cobaias: 2 hemicastrados, 4 castrados tratados com testosterona e 4 castrados

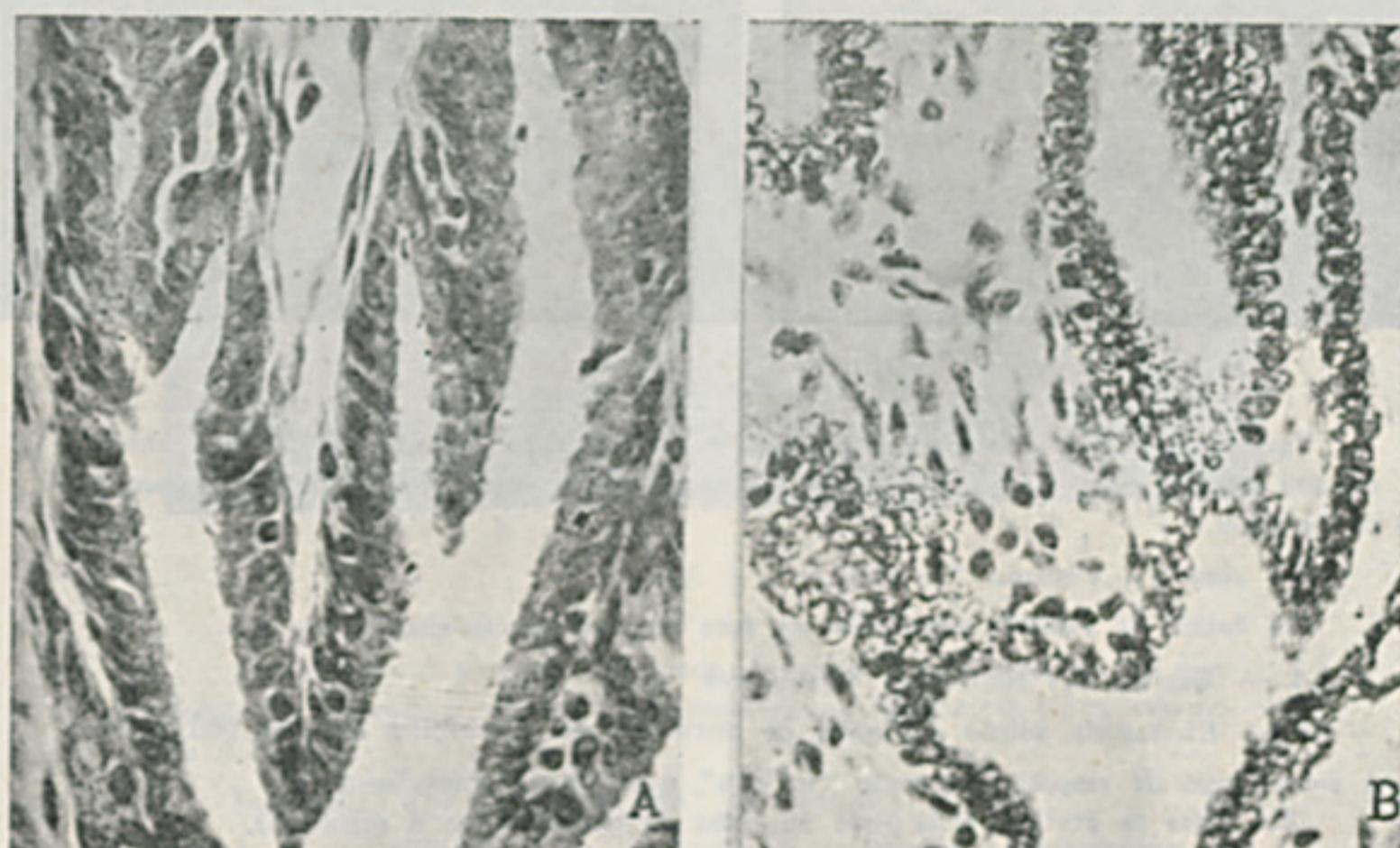


Fig. 2

Microfotos de vesículas seminais de ratos. (Hem. Eos. 530 x).

A — Vesícula enxertada na face anterior do estômago. Rato 10, castrado, operado 62 dias antes e tratado com propionato de testosterona (60 mgs. em 12 injeções oleosas subcutâneas).

B — Vesícula "in situ". Rato 13, castrato, de 56 dias.

Abb. 2

Samenblasen von Ratten (Mikrophot. Hem. Eos. 530x).

A — Verpflanzte Samenblase. Ratte 10, 62 Tage nach der Kastration mit 60 mg Testosteronpropionat, auf 12 Injektionen verteilt, behandelt.

B — Samenblase "in situ". Ratte 13, 56 Tage nach der Kastration.

tratados com estradiol. Depois do exame macroscópico e da retirada de pequeno fragmento para as preparações histológicas, os órgãos eram dissecados e levados para o banho nutridor de Locke, oxigenado e a 38°, para o estudo comparativo em grupos de dois: o orgão transplantado e o orgão "in situ" colocados no mesmo frasco e fixos a alavancas inscritoas com carga de 0.5 a 1 g. e ampliação de 1 x 6.

Depois de um período de 30 a 40 minutos para o registo das contrações espontâneas eventuais, era estudada a ação de varias drogas que, como a adrenalina, a acetilcolina, a pilocarpina, a efedrina, a cocaína e o bário, provocam respostas características nos orgãos de ratos. No caso dos orgãos de cobaias, além do estudo dos efeitos das drogas enunciadas, tinha especial interesse a analise da ação da adrenalina.

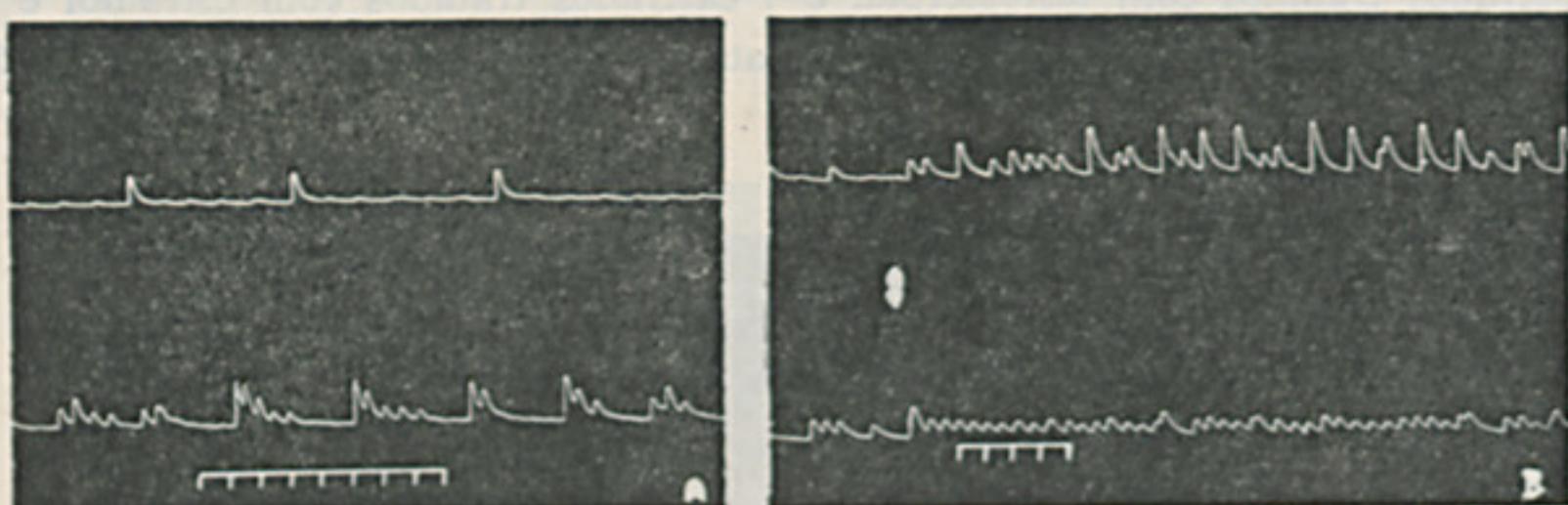


Fig. 3

Vesículas seminais imersas em líquido de Locke. Rato 18, operado 54 dias antes e tratado com 10 mgs. de propionato de testosterona e a seguir com 7 mgs. de benzoato de estradiol.

- Em cima* — Vesicula "in situ".
- Em baixo* — Vesicula enxertada na face anterior do estomago.
- A* — Registo das contrações espontâneas
- B* — Efeitos da adição ao banho de cloridrato de pilocarpina a 1:100.000. Notar o mesmo tipo de resposta do orgão "in situ" e do orgão transplantado.  
(Em todos os graficos cada sinal na linha de tempo marca 6 segundos).

Abb. 3

Samenblasen von Ratte 18 in Locke'scher Lösung eingetaucht, 54 Tage nach der Kastration mit 10 mg Testosteronpropionat und danach mit 7 mg Oestradiolbenzoat behandelt.

- Oben* — Samenblase "in situ".
- Unten* — Verpflanzte Samenblase.
- A* — Spontankontraktionen.
- B* — Wirkung des Pilokarpinchlorhydrates; Verdünnung 1:100.000 Gleiche Wirkung bei beiden Fällen.  
(Bei allen Abbildungen markiert die Zeitlinie Intervalle von 6 Sekunden).

## RESULTADOS

1. *Resultados morfológicos.* a) *Ratos:* Dos 21 animais operados 16 foram aproveitados e forneceram 12 deferentes, 16 vesículas e 14 coaguladoras transplantados. Os orgãos em melhores condições foram os isolados da face anterior e posterior do estomago de animais tratados com a testosterona. As

vesiculas se apresentaram bem vascularizadas e distendidas pelas secreções acumuladas no seu interior (vide Fig. 1), os deferentes facilmente destacaveis e as coaguladoras, em geral, císticas. O exame microscopico confirmou o achado macroscopico. Nos castrados tratados com testosterona o epitelio vesicular normal,

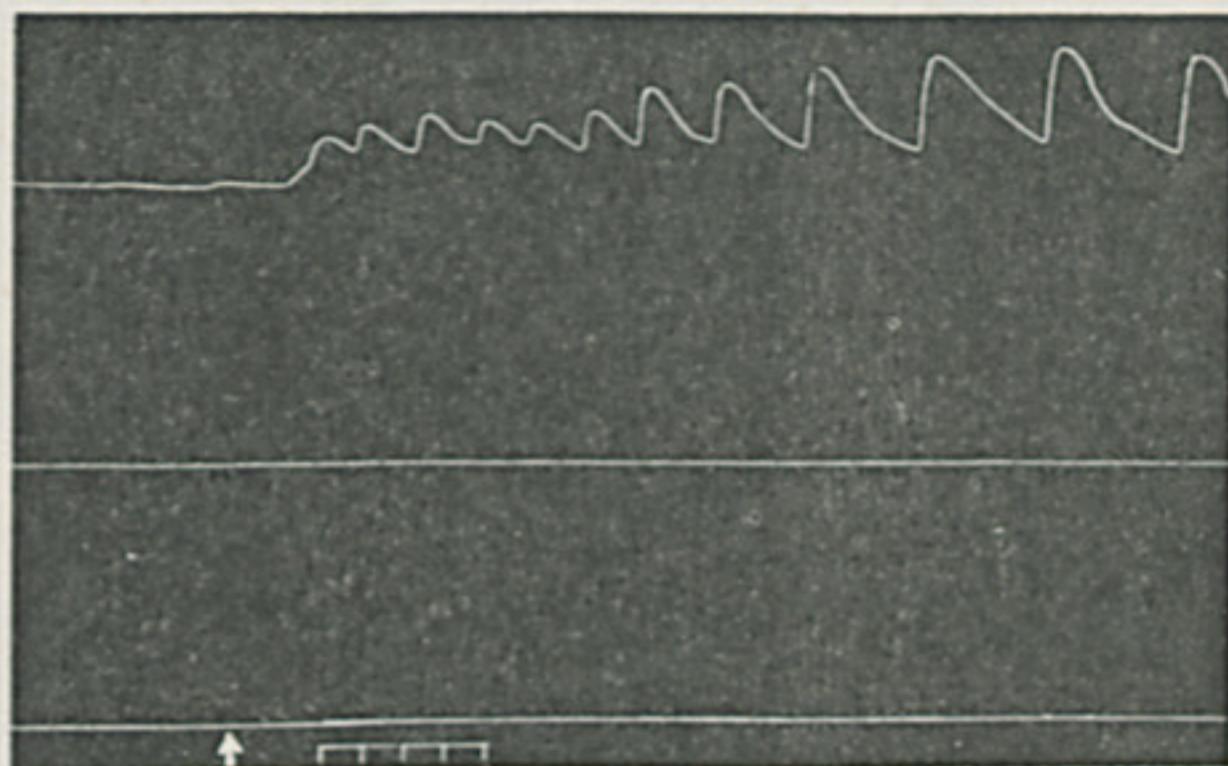


Fig. 4

*Em cima* — Vesicula "in situ" do rato 259, castrado, de 70 dias.

*No centro* — Vesicula enxertada no duodeno do rato 4, 56 dias depois da operação e tratado com propionato de testosterona (Implantação de 15 mgs.).

*Em baixo* — Vesicula "in situ" do rato 4.

A flecha assinala adição ao banho de cloridrato de pilocarpina a 1:50.000. Observar a ausencia de reação tanto no orgão "in situ" como no orgão enxertado do rato 4.

Abb. 4

Samenblasen von Ratten.

*Oben* — Samenblase "in situ" der Ratte 259, 70 Tage nach der Kastration.

*Mitte* — In den Duodenum verpflanzte Samenblase der Ratte 4, 56 Tage nach der Operation und mit 15 mg Testosteronpropionat implantiert.

*Unten* — Samenblase "in situ" der Ratte 4.

Zugabe von Pilocarpinchlorhydrat (1:50.000). Keine Reizung beim Organ "in situ", noch beim verpflanzten der Ratte 4.

isto é, formado de celulas bem individualizadas com protoplasma granuloso, era observado tambem no orgão enxertado. As alterações histologicas de castração, no nosso caso observadas nos orgãos de animais cujo tratamento com a testosterona tinha sido suspenso, foram registadas igualmente nos orgãos transplantados.

b) Cobaios: Nesta especie foi alta a mortalidade operatoria. De 30 animais operados 10 serviram de base para este estudo, tendo sobrevivido somente os animais com enxertos na parede muscular do abdome ou no estomago. De 10 deferentes e 10 vesiculas enxertadas foram identificados à autopsia respectivamente 9 e 4 orgãos, os demais tendo sido reabsorvidos. O melhor aspecto dos orgãos enxertados é encontrado nos castrados tratados com testosterona ou nos hemicastrados. As vesiculas se apresentam de paredes finas e cheias de liquido

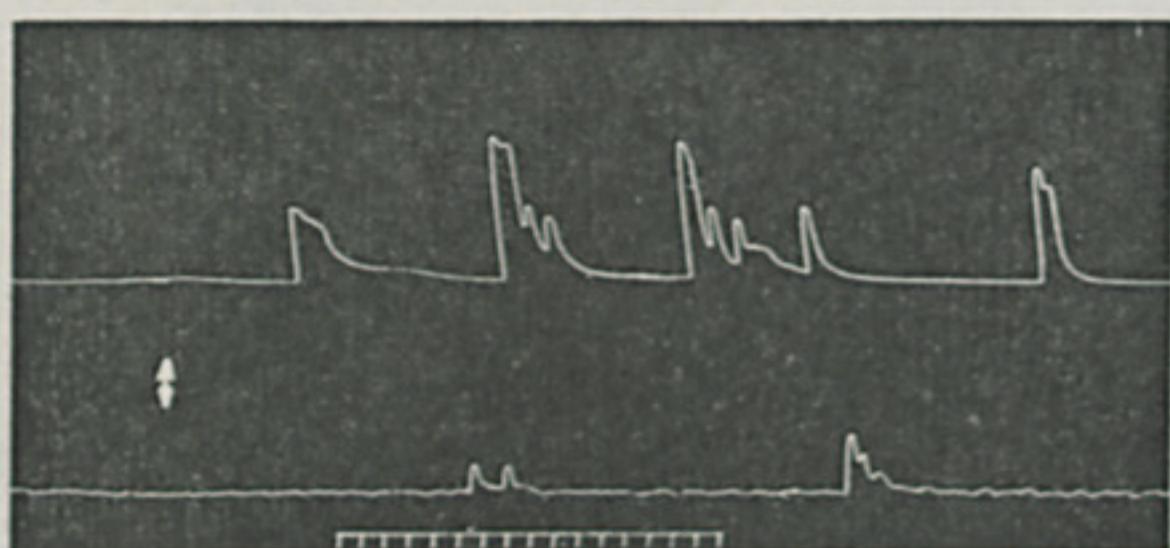


Fig. 5

Canais deferentes. Rato 9, castrado, operado 64 dias antes.

Em cima — Deferente "in situ".

Em bairo — Deferente contralateral enxertado no mesenterio.

Efeitos da adição ao banho de cloridrato de efedrina a 1:50.000.

Abb. 5

Samenleiter. Ratte 9, 64 Tage nach der Kastration.

Oben — Samenleiter "in situ".

Unten — Kontralateraler Samenleiter in das Mesenterium verpflanzt.

Zugabe von Ephedrinchlorhydrat (1:50.000).

fluido; ao exame microscopico as celulas epiteliais se apresentam com protoplasma granuloso e as franjas da mucosa, pelo acumulo de liquido, estão apertadas de encontro à tunica muscular. Em alguns casos, graças ao metodo de Cajal de impregnação pela prata depois da fixação em piridina, não se observou a presença de fibras nervosas nos orgãos transplantados, enquanto que elas são numerosas nos orgãos testemunhas mantidos "in situ".

2. Resultados funcionais. a) Ratos: Nos diferentes grupos experimentais, o estudo comparativo, no mesmo banho, do orgão "in situ" e do orgão transplantado, não mostrou nenhuma particularidade de comportamento, quer quanto ao automatismo, quer quanto à reatividade e ao tipo de resposta às drogas. Como nos orgãos "in situ", os orgãos enxertados, provenientes de animais castrados

tratados com testosterona, não exibiram contrações espontâneas e apresentaram fraca reatividade farmacológica. A incidência de automatismo, tanto no grupo

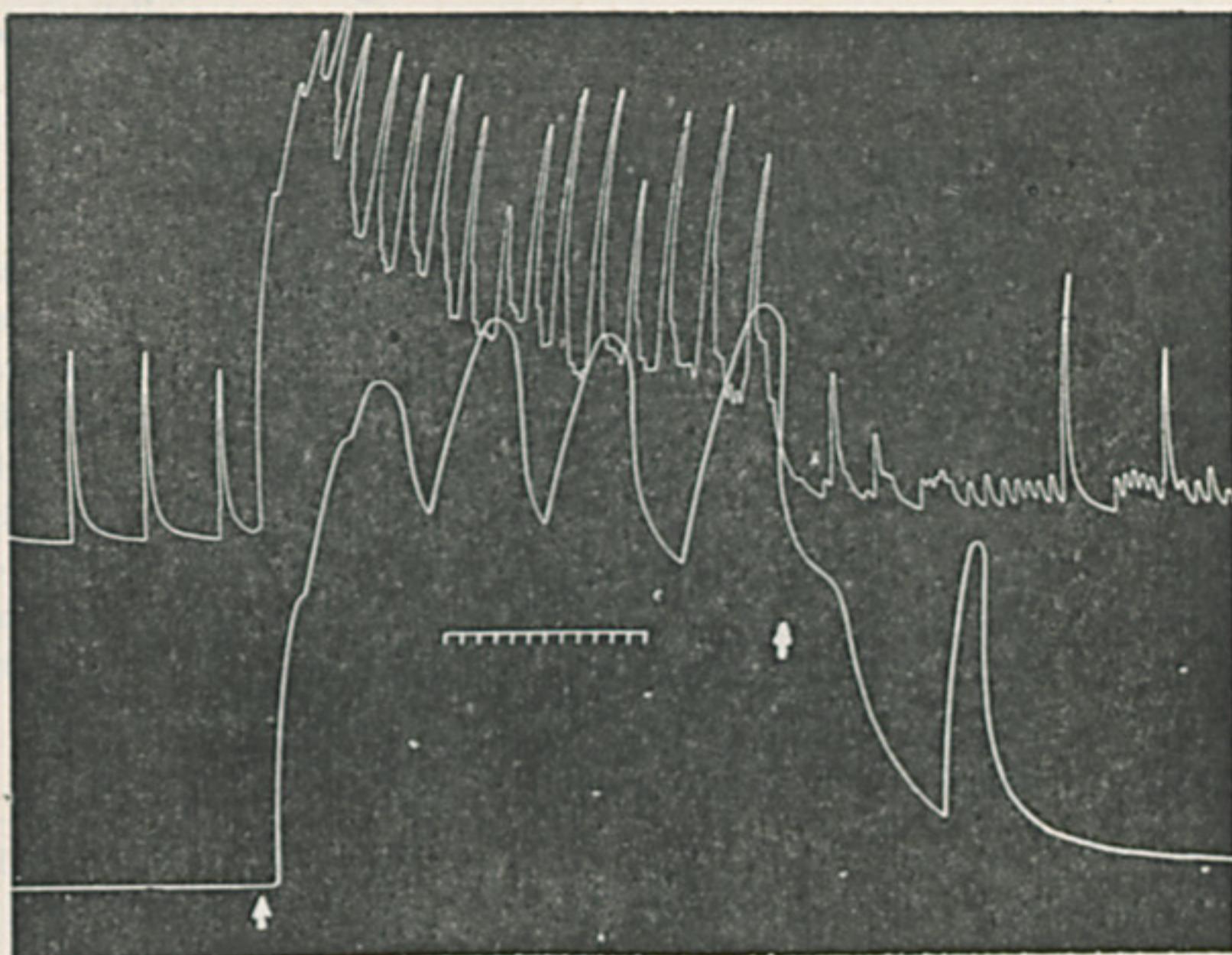


Fig. 6

Canais deferentes. Cobaio 2, operado 71 dias antes, tratado com propionato de testosterona (20 mgs. em 4 injeções) e a seguir com benzoato de estradiol (5 mgs. em 10 injeções).  
*Em cima* — Deferente "in situ".

*Em baixo* — Deferente enxertado na face anterior do estomago.

A primeira flecha assinala a adição ao banho de cloridrato de acetilcolina (1:100 milhões) e a segunda adição de cloridrato de adrenalina (1:10 milhões). Observar que a inibição pela adrenalina foi obtida também no órgão transplantado.

(Órgãos examinados 24 horas depois da conservação em Locke a baixa temperatura).

Abb. 6

Samenleiter vom Meerschweinchen 2, 71 Tage nach der Operation mit 20 mg Testosteron-propionat und danach mit 5 mg Oestradiolbenzoat behandelt.

*Oben* — Samenleiter "in situ".

*Unten* — In die vordere Magenwand verpflanzter Samenleiter.

Der erste Pfeil bezeichnet die Zugabe von Acetylcholinchlorhydrat (1:100 Millionen) und der zweite die Zugabe von Adrenalinchlorhydrat (1:10 Millionen). Die hemmende Wirkung des Adrenalins wurde auch beim verpflanzten Organ beobachtet.

(Die Organe wurden nach 24ständigem Aufbewahren in Locke'scher Lösung im Eisschrank beobachtet.).

de castrados simples, como no grupo de castrados injetados com benzoato de estradiol foi comparável nos órgãos implantados e nos órgãos mantidos "in situ".

As vesículas enxertadas provenientes de animais castrados tratados com testosterona, si bem que de ótimo aspecto, foram os órgãos de menor reatividade observada. E' provável que, além da ação inibidora da testosterona, tenham tido influência depressora as secreções acumuladas no órgão. Aliás, já vimos em trabalhos anteriores que a espermina, constituinte normal destas secreções, exerce efeitos inibidores sobre a contratilidade da musculatura lisa genital masculina.

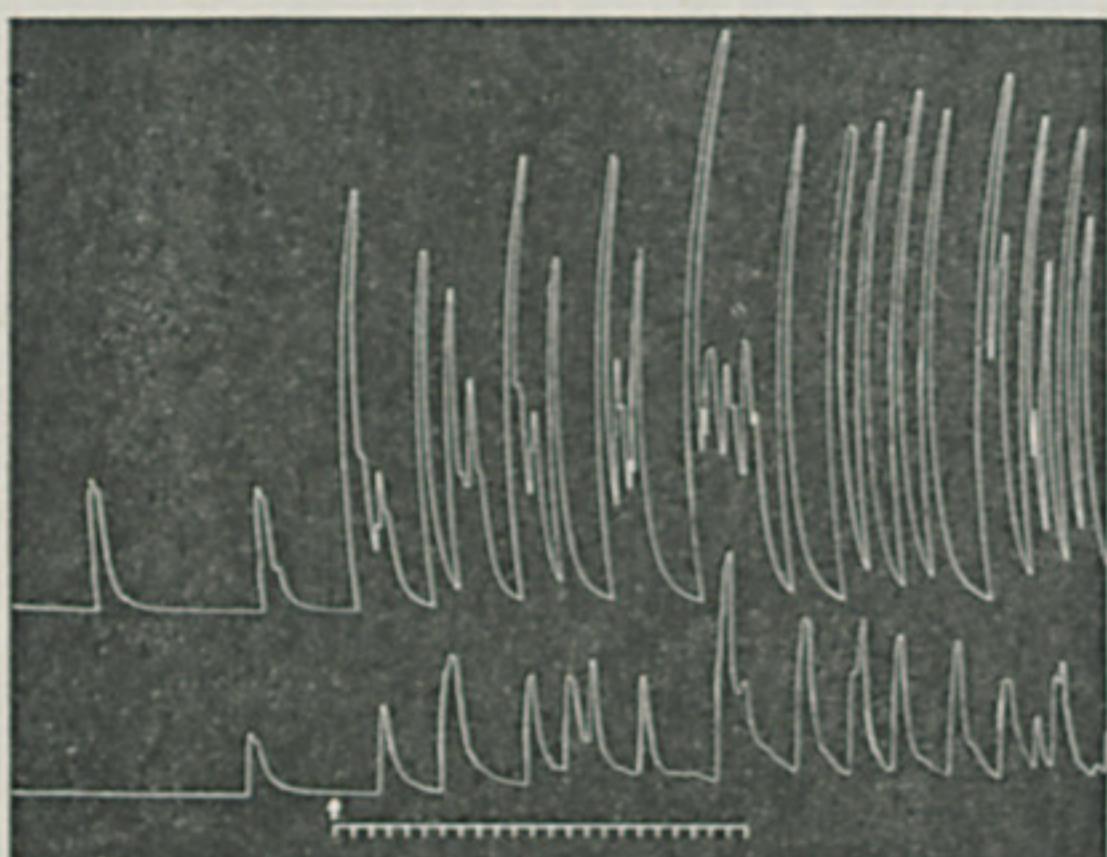


Fig. 7

Canais deferentes do cobaio 141, hemicastrado, operado 68 dias antes.

*Em cima* — Deferente "in situ".

*Em bairo* — Deferente contralateral enxertado na face anterior do estômago.

A flecha assinala adição ao banho de cloreto de bário (1:50.000).

Abb. 7

Samenleiter vom Meerschweinchen 141, hemikastriert, 68 Tage nach der Operation.

*Oben* — Samenleiter "in situ".

*Unten* — Kontralateraler Samenleiter in die Magenwand verpflanzt.

Zugabe von Bariumchlorid (1:50.000).

b) *Cobaios*: A não ser a menor amplitude das contrações em alguns casos e certa diminuição da excitabilidade, não observamos diferenças de comportamento entre os órgãos enxertados e os mantidos "in situ". A inibição provocada pela adrenalina nos órgãos de castrados tratados com estradiol foi observada também nos órgãos enxertados. Este achado é interessante e mostra que, pelo menos nas condições referidas, o deslocamento do receptor não interfere na

obtenção da variação dos efeitos da adrenalina com o tratamento hormonal, apesar dos efeitos opostos observados, quer pela excitação do simpático, quer pela aplicação de adrenalina nos órgãos dos territórios nervosos em questão, v. g., estomago e genitalia.

### RESUMO

Os órgãos genitais accessórios do rato e do cobaio foram enxertados na parede gastrica ou na abdominal. Os animais eram em seguida tratados com hormônios sexuais, retirando-se no fim de 30 a 83 dias os órgãos enxertados e os contralaterais conservados "in loco" para o estudo comparativo "in vitro". Dada a identidade do comportamento farmacológico, as experiências efetuadas permitem deduzir que a regulação da contratilidade e da excitabilidade farmacológica dos órgãos genitais accessórios masculinos do rato e do cobaio é sobretudo periférica, isto é, exercida diretamente sobre os órgãos efetuadores. Se os centros nervosos genitais têm alguma interferência nos fenômenos estudados, esta não é de importância primordial.

### MORPHOLOGISCHE UND FUNKTIONELLE STUDIEN ÜBER DIE VERPFLANZTEN AKZESSORISCHEN GENITALORGANE VON RATTEN UND MEERSCHWEINCHEN IN VERSCHIEDENEN HORMONALEN ZUSTÄNDEN

Das Problem der Kontraktilität der männlichen akzessorischen Genitalorgane und ihre hormonale Kontrolle ist der Gegenstand verschiedener Arbeiten dieses Laboratoriums gewesen. Die Erregbarkeit der Organe kastrierter Ratten ist stärker als die der normalen. Durch Oestradiol-Behandlung wird sie noch verstärkt. Bei den Meerschweinchen scheint der Einfluss der Sexualhormone nicht so deutlich zu sein, aber das Adrenalin "in vitro" ruft bei Organen Testosteron-kastrierter Tiere Kontraktion, und bei Oestradiol-kastrierter Er schlaffung hervor. Um diese hormonale Kontrolle gründlicher zu analysieren, versuchten wir das pharmakologische Verhalten "in vitro" der Genitalorgane von Ratten und Meerschweinchen, welche in die Abdominalwand oder in den Magen verpflanzt worden waren. Es wurden 21 Ratten von 110-240 g und 30 Meerschweinchen von 450-700 g operiert. Bei den Ratten wurde der Samenleiter und die Samenblase mit dem Kraniallappen der Prostata und bei den Meerschweinchen der Samenleiter und das distale Drittel der Samenblase verpflanzt. Die Hormonbehandlung bestand in subcutanen Injektionen alle 4-6 Tage von 5-10 mg Testosteronpropionat und 0.5-1 mg Oestradiolbenzoat.

Zum morphologischen und funktionellen Studium wurden die Organe 30 bis 83 Tage nach der Verpflanzung exstirpiert. Als Versuchstiere dienten 16 Ratten: 2 einseitig kastrierte, 5 kastrierte, 5 kastrierte mit Testosteronpropionat behandelte, 4 kastrierte mit Oestradiolbenzoat eingespritzt und 10 Meerschweinchen: 2 einseitig kastrierte, 4 kastrierte mit Testosteron behandelte und 4 kastrierte mit Oestradiol eingespritzt. Nach der makroskopischen Beobachtung und der Entfernung eines Stückchens für die histologischen Präparate, wurden die Organe in eine Flasche mit Locke'scher Lösung, von 38°, mit Sauerstoff durchströmt, gebracht. Die Versuche wurden immer mit dem verpflanzten Organ und dem "in situ" in derselben Flasche und unter denselben myographischen Bedingungen ausgeführt. Die Längskontraktionen wurden mit Hilfe eines Schreibstiftes registriert, der im Verhältnis von 1 x 6 Vergrösserung aufzeichnete.

Dann wurde die Wirkung der verschiedenen Drogen wie Adrenalin, Acetylcholin, Pilokarpin, Ephedrin, Cocain und Bariumchlorid beobachtet. Das Verhalten der verpflanzten Organe war das Gleiche wie das der kontralateralen *in loco* gehaltenen. Zum Beispiel, in kastrierten Ratten oder Oestradiol-Kastraten ruft das Pilokarpin tonische und rhythmische Kontraktionen in verpflanzten, wie auch in Organen *in situ* hervor (Siehe Abb. 3). Dieselbe Droge ist wirkungslos in Organen von Testosteron-kastrierten Tieren (Siehe Abb. 4).

Bei Meerschweinchen war die Analyse der Effekte des Adrenalins am wichtigsten, denn bei dieser Tierart hat diese Droge wechselnde, von den hormonalen Bedingungen abhängende Wirkung. Auf die Samenleiter und Samenblasen von normalen, kastrierten oder Testosteron-kastrierten Meerschweinchen bewirkt das Adrenalin Kontraktionen. Auf Oestradiol-behandelte jedoch hat diese Drogue hemmenden Effekt. Unter denselben Bedingungen wurde hemmende Wirkung des Adrenalins auch bei den verpflanzten Organen festgestellt (Siehe Abb. 6).

Aus unseren Versuchen konnten wir schliessen, dass der Einfluss der Sexualhormone auf die verpflanzten Genitalorgane derselbe ist wie auf die "in situ". Die hormonale Kontrolle der akzessorischen Genitalien scheint sich hauptsächlich direkt auf die Organe auszuüben. Wenn das Nervensystem dabei eine Rolle spielt, so hat diese keine überwiegende Wichtigkeit.

#### 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 spérmine 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 prostates de rats normaux, castrés ou injectés d'hormones sexuelles — C. R. Soc. Biol. 129:1148.1938.
8. *Martins, Thales; Valle, José R. & Porto, Ananias* — Neure Ergebnisse über die Pharmakologie von normalen, kastrierten und mit Sexualhormonen behandelten Ratten — Ztschr. f. d. ges. Exp. Medizin 105:512-520.1939.
9. *Martins, Thales & Valle, José R.* — Endocrine control of the motility of the male accessory genital organs — Endocrinology 25:80-90.1939.
10. *Valle, José R. & Porto, Ananias* — Contractilité et pharmacologie "in vitro" des canaux déférents et des vésicules séminales des cobayes normaux et castrés — C. R. Soc. Biol. 131:302.1939.
11. *Valle, José R. & Porto, Ananias* — Influence des hormones sexuelles sur le comportement "in vitro" des canaux déférents et des vésicules séminales du cobaye — C. R. Soc. Biol. 131:306.1939.

(Trabalho da Secção de Endocrinologia do Instituto Butantan. Reimpressão com acrescimos do trabalho in Rev. Biol. e Hygiene 10 (2): 156-163.1940).

