

## CONTRATILIDADE "IN VITRO" DE CANAIS DEFERENTES, VESICULAS SEMINAIS E PROSTATAS DE RATOS CASTRADOS E INJETADOS SIMULTANEAMENTE COM PROPIONATO DE TESTOSTERONA E BENZOATO DE ESTRADIOL

POR

THALES MATINS; ANANIAS PORTO & JOSÉ R. VALLE

### INTRODUÇÃO

A regulação hormonal da contratilidade e da excitabilidade farmacológica da musculatura lisa genital masculina de ratos, macacos *rhesus*, gatos e cobaias, tem sido objeto de varias publicações deste Laboratorio (1-8). Além dos efeitos funcionais bem conhecidos para a genitalia feminina (ação das substâncias estrogenicas sobre a motilidade uterina, dessensibilização do útero à pituitrina pela progesterona, etc.) vimos que os hormônios sexuais exercem um papel importante na motilidade da genitalia masculina.

As ações inibidora da testosterona e excitadora do estradiol são facilmente demonstradas "in vitro", utilizando, por exemplo, canais deferentes, vesículas seminais e prostatas de ratos em diversas condições hormonais. Com a técnica bastante conhecida de imersão em banho oxigenado e aquecido de Locke, mas estudando ao mesmo tempo o comportamento de 2 a 3 órgãos de doadores com passado hormonal diferente, pudemos analisar não só a motilidade espontânea, mas ainda o efeito de varias drogas e o tipo de resposta obtida.

Os órgãos genitais acessórios provenientes de ratos normais ou castrados tratados com propionato de testosterona não apresentam automatismo e são pouco excitáveis; ao contrario, os órgãos de doadores castrados ou de castrados injetados com benzoato de estradiol têm movimentos espontâneos e são bem excitáveis pelas drogas de emprego corrente, sobretudo pelas chamadas parasimpaticomiméticas. Interessante que as diferenças de comportamento não são apenas de ordem quan-

titativa e sim tambem qualitativas. As respostas dos orgãos de doadores normais ou de castrados tratados com as substancias androgenicas são do tipo tonico ou, então, tonico com oscilações ritmicas; já nos orgãos de castrados ou tratados com as substancias estrogenicas domina o tipo ritmico. Ha mesmo drogas que, como a pilocarpina, são excitantes sobretudo de orgãos provenientes de ratos castrados ou, melhor ainda, de ratos que receberam o tratamento estrogenico.

Vimos que estas alterações funcionais de castração (automatismo, aumento da excitabilidade farmacologica, predominancia de resposta ritmica, aparecimento de reação a drogas normalmente inativas) são precoces, isto é, independentes das alterações morfológicas produzidas pela castração ou pelo tratamento hormonal (8).

Diante dos dados que acabamos de resumir, seria interessante analisar o comportamento "in vitro" daqueles orgãos provenientes de animais tratados simultaneamente com propionato de testosterona e benzoato de estradiol. Poder-se-ia, assim, verificar dentro das doses utilizadas o antagonismo entre os dois hormonios.

#### METODO

As conclusões deste nosso trabalho se baseiam no estudo comparativo "in vitro" da musculatura lisa genital masculina de grupos de ratos de 120 a 250 gs., castrados 10 a 31 dias antes e tratados ou com propionato de testosterona ou com benzoato de estradiol ou, então, simultaneamente com os dois hormonios (\*). As injeções eram feitas subcutaneamente e repetidas com intervalos de 4 dias. No primeiro grupo os ratos recebiam de 0.25 a 4 mgs. *pro dosi* de propionato de testosterona; no segundo grupo a mesma dose de testosterona mais 0.2 a 5 mgs. de benzoato de estradiol; finalmente, os animais do terceiro grupo eram tratados somente com estradiol.

Depois de 2 a 6 injeções os ratos eram anestesiados com eter e os canais deferentes, vesiculas seminais e glandulas coaguladoras eram extirpados, desembaraçados dos tecidos adjacentes e levados para um frasco, contendo liquido de Locke aquecido e oxigenado. As condições experimentais foram as mesmas referidas nos nossos trabalhos anteriores. Repetimos que eram colocados no mesmo banho os orgãos de 2 a 3 ratos em condições hormonais diversas, realizando-se ao mesmo tempo, em 3 frascos, as experiencias com os deferentes, as vesiculas e as prostatas. Assim foi possível o estudo comparativo do comportamento dos orgãos nas mesmas condições experimentais — temperatura e volu-

(\*) Usamos nas nossas experiencias os hormonios *Testoviron* e *Progynon*, que a Casa Schering poz amavelmente à nossa disposição.

me do banho, concentração das drogas adicionadas, etc.. É óbvio que as diferenças registadas correram por conta do passado hormonal dos doadores.

Foram estudados 21 deferentes, 21 vesículas seminais e 17 prostatas de ratos castrados e tratados com testosterona; 30 deferentes, 30 vesículas e 23 prostatas de ratos castrados e tratados simultaneamente com testosterona e estradiol; e 14 deferentes, 14 vesículas e 12 prostatas de ratos injetados com estradiol.

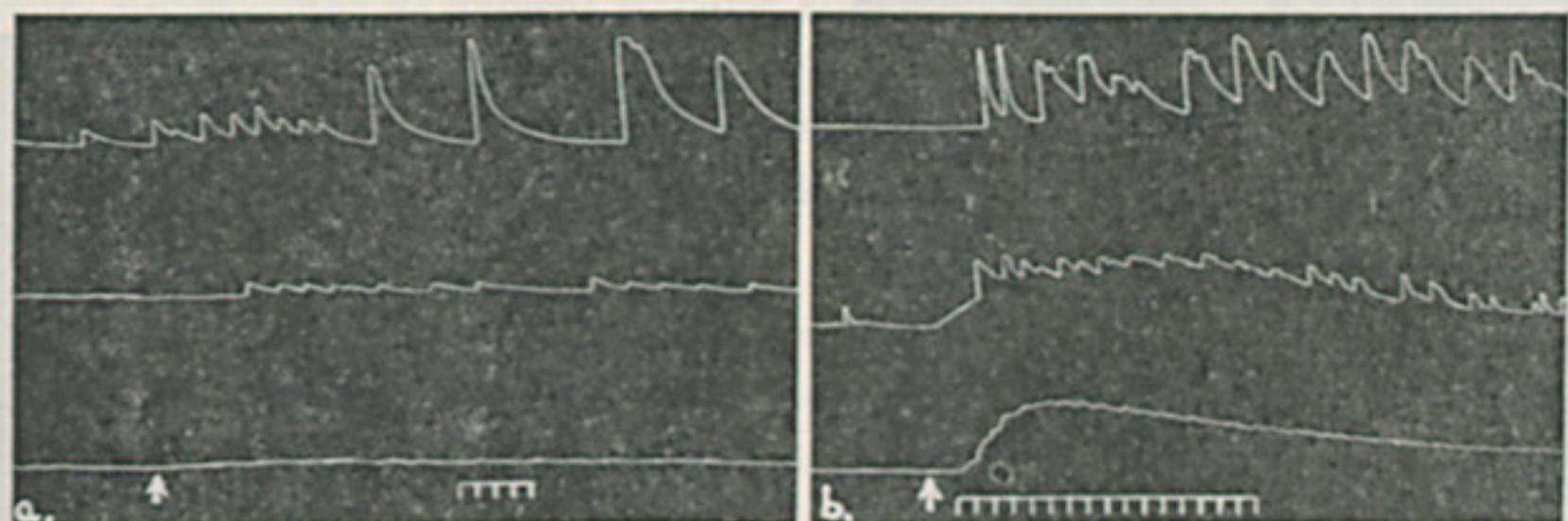


Fig. 1

*Em cima:* rato 246, tratado com estradiol (4 injeções de 0,5 mg.); *No meio:* rato 245, tratado com benzoato de estradiol (4 injeções de 0,5 mg.) e propionato de testosterona (4 injeções de 0,25 mg.); *Em baixo:* rato 244, tratado com propionato de testosterona (4 injeções de 0,25 mg.).

- Efeitos da adição ao banho de cloridrato de pilocarpina a 1:60.000.
  - Cloridrato de cocaina a 1:30.000.
- Em todas as figuras: Tempo 6 segundos.

Fig. 1

Canaux déférents de rat 15 jours après la castration. De haut en bas: rat 246 traité par le benzoate d'oestradiol (4 injections de 0,5 mg.), rat 245, traité par le b. d'oestradiol (4 inj. de 0,5 mg.) plus propionate de testostérone (4 inj. de 0,25 mg.); rat 244, traité par le p. de testostérone (4 inj. de 0,25 mg.).

- Addition de chlorhydrate de pilocarpine (1:60.000).
  - Addition de chlorhydrate de cocaine (1:30.000).
- Ligne de temps: 6 seconds.

De 30 a 60 minutos depois de levados para o frasco e depois das observações concernentes à motilidade espontânea dos órgãos, iniciavamos o exame das reações às seguintes drogas: adrenalina (1:500.000 - 1:2.000.000); acetilcolina (1:30.000 - 1:200.000); cocaine (1:12.500 - 1:50.000); pilocarpina (1:25.000 - 1:100.000); efedrina (1:16.000 - 1:50.000); nicotina (1:500.000); esparteina (1:10.000 - 1:30.000); cloreto de bário (1:50.000 - 1:120.000).

## RESULTADOS

O comportamento dos órgãos provenientes de animais castrados tratados com um dos hormônios isoladamente foi o mesmo referido nos nossos trabalhos

anteriores e resumido na introdução. Já no grupo que recebeu tratamento misto, o tipo de resposta às drogas ensaiadas se modificou no sentido tonico, ritmico ou tonico-ritmico na dependencia das doses empregadas. Assim, para as doses maiores de testosterona (2 a 4 mgs.), o tratamento simultaneo com estradiol

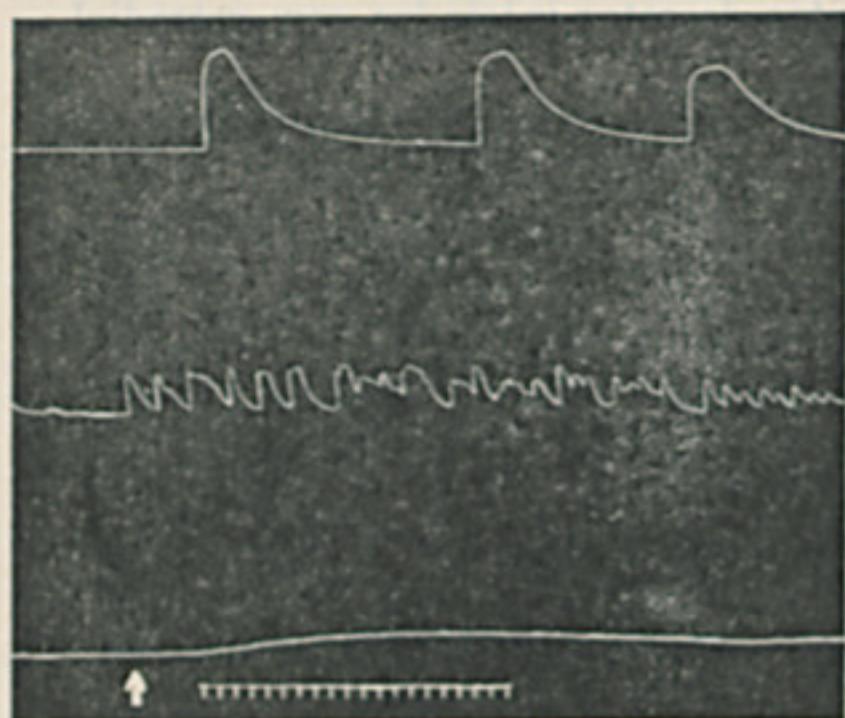


Fig. 2

Canais deferentes de ratos castrados de 19 dias. *Em cima:* rato 243, tratado com benzoato de estradiol (5 injeções de 1 mg.); *No meio:* rato 142, tratado com benzoato de estradiol (5 injeções de 0,5 mg.) e propionato de testosterona (5 injeções de 0,5 mg.); *Em baixo:* rato 241, tratado com propionato de testosterona (5 injeções de 0,5 mg.). A flecha assinala a adição ao banho de cloridrato de efedrina a 1:25.000.

Fig. 2

Canaux déférants de rat, 19 jours après la castration. De haut en bas: rat 243, traité par le benzoate d'oestradiol (5 injections de 1 mg.); rat 242, traité par le propionate de testostérone (5 injections de 0,5 mg.); plus b. d'oestradiol (5 injections de 1 mg.); rat 241 traité par le p. de testostérone (5 injections de 0,5 mg.). Addition du chlorhydrate d'ephédrine (1:25.000).

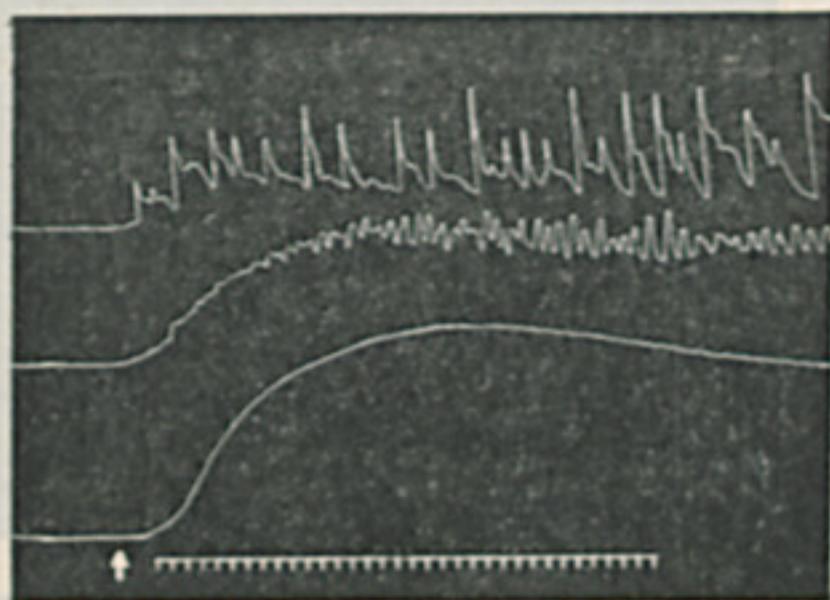


Fig. 3

Canais deferentes de ratos castrados de 22 dias. *Em cima:* rato 224, tratado com benzoato de estradiol (5 injeções de 1 mg.); *No meio:* rato 223, tratado com benzoato de estradiol (5 injeções de 1 mg.), com p. de testosterona (5 injeções de 2 mg.); *Em baixo:* rato 222, tratado com p. de testosterona (5 injeções de 2 mg.).

Efeito do cloreto de bário (1:120.000).

Fig. 3

Canaux déférants de rat, 22 jours après la castration. De haut en bas: rat 224, traité par le benzoate d'oestradiol (5 injections de 1 mg.); rat 223, traité par le b. d'oestradiol (5 injections de 1 mg.) plus p. de testostérone (5 injections de 2 mg.); rat 222, traité par le p. de testostérone (5 injections de 2 mg.).

La flèche signale l'addition au bain du chlorure de baryum (1:120.000).

não modificou de maneira apreciável o comportamento que foi do tipo normal. Já para as doses menores de propionato de testosterona (0.25 a 1 mg.), em bom numero de casos, os deferentes apresentaram maior excitabilidade farmacologica, predominando o tipo tonico-ritmico na resposta às drogas ensaiadas. Entre estas, a cocaine e a efedrina são as melhores para se analisar as diferenças de comportamento registadas nas condições experimentais que estamos estudando. Mesmo naqueles casos em que a reação às demais drogas era do tipo

tonico, a resposta à efedrina se apresentava do tipo ritmico ou, então, tonico com oscilações ritmicas.

A pilocarpina, quasi inativa sobre os órgãos de normais ou de castrados tratados com testosterona, é bom excitante dos órgãos provenientes de castrados e de castrados-estradiol, é tambem um bom reativo para as condições hormonais dos doadores que recebem tratamento misto. Nas nossas experiencias, 14 diferentes provenientes de animais tratados simultaneamente com propionato de testosterona e benzoato de estradiol, responderam à adição de pilocarpina ao banho nutridor com contrações ritmicas em 11 casos. Nos órgãos provenientes de ratos tratados só com testosterona foram verificadas 10 reações fracas, sendo 6 do tipo tonico.

Quanto às vesiculas seminais e prostatas, não se verificou, com as doses hormonais utilizadas, uma diferença sensivel de comportamento entre os órgãos provenientes de animais tratados com a testosterona e aqueles cujos doadores receberam tratamento misto. Em muitos casos, mesmo, o tratamento simultaneo pareceu diminuir a excitabilidade dos órgãos mais do que o tratamento só pela testosterona. Entretanto, na serie de 33 ratos injetados com os dois hormonios, 4 apresentaram no fim do tratamento um estado permanente de turgescencia do penis, com a glande fóra do prepucio. Na literatura corrente este estado é frequentemente designado por priapismo.

Podemos concluir do que ficou relatado que, relativamente ao comportamento "in vitro" da musculatura lisa genital masculina de ratos submetidos ao tratamento misto, isto é, recebendo simultaneamente a testosterona e o estradiol, desapareceram aquelas diferenças esquematicas que são observadas entre os órgãos de normais e castrados ou injetados com um dos dois hormonios isoladamente.

Nos animais castrados, tratados com doses fracas de testosterona, mas já ativas sobre a atrofia de castração, o tratamento simultaneo com o benzoato de estradiol pôde anular parcialmente a ação do hormonio masculino sobre a contratilidade dos canais deferentes. Parece que o rato, no que respeita a contratilidade "in vitro" dos órgãos genitais acessorios, é relativamente mais sensivel à testosterona do que ao estradiol.

## RESUMO

O estudo "in vitro" da musculatura lisa genital masculina de ratos tratados simultaneamente com propionato de testosterona e benzoato de estradiol mostrou o desaparecimento, em grande numero de casos, das diferenças esquematicas observadas nos órgãos de normais e castrados ou de tratados com os dois

hormônios isoladamente. A ação antagonica do estradiol é menos nítida nas vesículas seminais e prostatas do que nos canais deferentes. Dentro das condições experimentais referidas, o rato se mostrou relativamente mais sensível à testosterona do que ao estradiol.

#### CONTRACTILITÉ "IN VITRO" DES CANAUX DÉFÉRENTS, DES VÉSICULES SÉMINALES ET DES PROSTATES DE RATS CHÂTRÉS ET INJECTÉS SIMULTANÉMENT AVEC DU PROPIONATE DE TESTOSTÉRONE ET DU BENZOATE D'OESTRADIOL

On a étudié dans des travaux antérieurs le comportement "in vitro" des canaux déférents, des vésicules séminales et des prostates de rats, macaques *rhesus* et chats, et il a été démontré que les hormones sexuelles ont un rôle important dans la régulation de la motilité de ces organes.

Les organes, provenant de rats châtrés ou de rats châtrés et traités au benzoate d'oestradiol, présentent des contractions spontanées "in vitro" et réagissent mieux aux drogues additionnées au bain de liquide de Locke, que les organes des animaux normaux traités par la testostérone. De plus, il existe des différences qualitatives dans le type de contraction; les réactions des animaux normaux ou traités par la testostérone sont de type tonique tandis que celle des animaux châtrés ou traités au benzoate d'oestradiol son rythmiques.

Dans ce travail, nous recherchons les effets de traitement mixte des animaux, afin de vérifier si le benzoate d'oestradiol a quelque action neutralisante de la testostérone.

*Méthode:* Après avoir châtré les rats d'un poids de 120 à 250 grammes, on commença le traitement avec des hormones dissous dans 0,5 ou 1 cc. d'huile de sésame, en injections sous-cutanées.

Les rats étaient toujours répartis par groupes de 2 ou 3, dans les mêmes conditions; dans chaque groupe, un animal prenait une dose déterminée de propionate de testostérone; un autre, la même dose de testostérone plus une dose de benzoate d'oestradiol; parfois un troisième rat recevait seulement la dose de benzoate d'oestradiol. Les injections, commencées le jour même de la castration, étaient répétées de 4 en 4 jours. Les doses de propionate de testostérone variaient, par injection, de 0,25 à 4 milligrammes, celles de benzoate d'oestradiol de 0,2 à 5 mgr. (\*)

(\*) Dans la série de 33 rats étudiés, 4 présentèrent à la fin du traitement un état permanent de turgescence du pénis, avec la glande hors du prépuce; dans la littérature courante cet état est fréquemment appelé priapisme. Il est intéressant de le noter, ces animaux étaient tous soumis au traitement mixte, c'est à dire traitement au propionate de testostérone plus le benzoate d'oestradiol.

On étudia 21 déférents, 21 vésicules et 17 prostates (lobe crânien) de rats châtrés et injectés avec du propionate de testostérone; 30 déférents, 30 vésicules séminales et 23 prostates de rats châtrés et traités au propionate de testostérone plus du benzoate d'oestradiol; et 14 déférents, 14 vésicules séminales et 12 prostates de rats châtrés et traités au benzoate d'oestradiol.

De 10 à 31 jours après la castration, les organes étaient disséqués et mis dans un bain de liquide de Locke, dans les conditions décrites dans les travaux antérieures. On mettait toujours dans le même bain les organes de 2 ou 3 rats appartenant au même groupe expérimental.

On a étudié les effets de l'addition au bain des drogues suivantes: adrénaline (1:500.000 à 1:2.000.000); acétylcholine (1:30.000 à 1:200.000); cocaine (1:12.500 à 1:50.000); pilocarpine (1:25.000 à 1:100.000); éphédrine (1:16.000 à 1:50.000); nicotine (1:500.000); sparteine (1:10.000 à 1:30.000); baryum (1:50.000 à 1:120.000).

*Résultats:* Pour les doses plus grandes de testostérone, de 2 à 4 mgrs., le traitement simultané de benzoate d'oestradiol ne modifia pas d'une façon appréciable le comportement, qui fut du type normal.

Pour les doses moindres de propionate de testostérone (0,25 à 1 mgr.) dans un bon nombre de cas, les déférents des rats soumis au traitement mixte ont montré une excitabilité plus grande aux drogues et une contraction de type mixte.

Lorsque les contractions n'étaient pas purement rythmiques comme chez les animaux châtrés ou traités seulement au benzoate d'oestradiol, on a constaté un effet tonique, mais avec des oscillations rythmiques.

Parmi les drogues essayées, l'éphédrine et la cocaine semblent les meilleurs pour révéler ces différences de comportement. Même dans les expériences où les réactions à d'autres drogues étaient de type tonique, la réponse à l'éphédrine, était dans la grande majorité des cas, chez les rats traités par la testostérone plus oestradiol, rythmique, ou tonique avec des oscillations rythmiques.

Un autre "réactif différentiel" est la pilocarpine qui, comme nous l'avons vu dans les travaux antérieurs, est un bon excitant des animaux châtrés ou traités par l'oestradiol et presque inactive sur les organes des normaux ou traités par la testostérone. 14 déférents, traités par la testostérone plus oestradiol présentèrent des contractions, après l'addition de cette drogue, dont 11 de type rythmique. Chez les animaux traités par la testostérone seulement, il se produisit 10 réactions faibles, dont 6 de type tonique.

Quant aux vésicules séminales et prostates on ne vérifia pas, avec les doses d'hormone employées, une différence sensible entre les animaux traités par la testostérone et les traités par la testostérone plus benzoate d'oestradiol. En de

nombreux cas l'excitabilité, chez les animaux soumis au traitement mixte, semblait même moindre, et le type de contraction plus proche du normal, que chez les animaux traités seulement par la testostérone.

De la vue d'ensemble des effets des diverses drogues essayées, nous pouvons conclure que, chez les animaux traités avec des doses faibles de propionate de testostérone, déjà proches du seuil actif sur l'atrophie de castration, le traitement simultané au benzoate d'oestradiol peut annuler partiellement l'action de l'hormone masculine sur la contractilité des canaux déférents. Mais ce n'est pas un résultat constant et il est loin des différences schématiques, que nous avons décrites, entre animaux normaux, châtrés, et châtrés injectés seulement avec une des hormones citées. Il semble que le rat, pour ce qui concerne la contractilité "in vitro" des organes génitaux accessoires, est relativement plus sensible à la testostérone qu'au oestradiol.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Martins, Thales & Valle, José R. — Endocrine control of the motility of 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. 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.
4. 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 Rhesusaffen — *Pflügers Arch. f. d. ges. Phys. des Menschen u. d. Tiere* 242:134.1939.
5. 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(3):243.1940.
6. Valle, José R. — Farmacologia do canal deferente e da vesicula seminal do cobaio (Papel dos hormônios sexuais) — S. Paulo, 1939.
7. Martins, Thales; Valle, José R. & Porto, Ananias — Estudo morfológico e funcional de enxertos de órgãos genitais accessórios de ratos e cobaio em diferentes condições hormonais — *Rev. Biol. e Higiene de S. Paulo* (em impressão).
8. Martins, Thales; Valle, José R. & Porto, Ananias — Sobre a duração do tratamento necessário para que os hormônios sexuais influam sobre a contratilidade "in vitro" dos canais deferentes e das vesículas seminais de ratos castrados — *Memorias Inst. Butantan* 14: .1940.

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