

SOBRE A PASSAGEM DE SUBSTANCIAS ANDROGÊNICAS NAS PARABIOSES DE RATOS CASTRADOS COM RATOS NORMAIS

POR

ANANIAS PORTO

INTRODUÇÃO

Uma das técnicas mais correntes em endocrinologia e que tem servido para o esclarecimento de inumeros problemas é a de parabiose. Termo criado por Sauerbruch e Heyde, em 1908, embora a técnica já fosse utilizada em 1862 por Paul Bert, parabiose é, segundo a definição de Thales Martins (1) "a união cirurgica de dois ou mais animais, suturados um ao outro, de modo que após a cicatrização vivam em comum, com trocas humorais mutuas, atravez de uma comunhão da rede capilar limitrofe, ou mesmo de vasos visiveis a olho nú". A parabiose pode ser feita apenas pela pele ou então pela chamada celioanastomose, que é a técnica de Sauerbruch e Heyde. Consiste esta em uma incisão longitudinal da pele lateral, do quadril ao omoplata, abertura da parede muscular da cavidade abdominal e sutura dos labios da ferida em dois planos. Com esta técnica as cavidades abdominais ficam em comunicação e não são raras as aderencias intestinais entre os parabiontes. Compreende-se facilmente que por esta técnica as trocas são bem intensas, dada a grande superficie de união.

TRABALHOS ANTERIORES

Matsuyama (2) em 1921 na parabiose de um rato normal com um castrado, sem importar o sexo deste, notava, no normal, alterações interessantes para o lado da genitalia. Si femea os ovarios cresciam, tornando-se cisticos ou luteinizados, o utero se hipertrofiava, com aumento das secreções, e, si macho, aumento do testiculo e das glândulas accessorias. No companheiro castrado nada

observava, além da involução natural, como nos castrados isolados. O A. apenas constatou o fato, sem procurar explica-lo. No ano seguinte, Goto (3) confirma esses trabalhos e admite a existência, no castrado, de uma substância — o Kastrhormon — como responsável por estas alterações.

Martins (4), Kallas (5) e Fels (6), independentemente uns dos outros, retomaram a questão e a esclareceram, utilizando os dados sobre a fisiologia da hipófise, já então conhecidos. Admitem todos, sem discordância, que a castração produz uma hipertrofia da hipófise e que o hormônio gonadoestimulante circulando em excesso passa para o parabionte normal, determinando os efeitos conhecidos. A prova crucial do problema, porém, foi dada por Martins e Mello (7) que uniram um rato normal com um castrado hipofisoprivo. Nestes casos o normal não apresentava a hipertrofia da gonada, por falta naturalmente do hormônio gonadoestimulante, do parceiro castrado. Deste modo o fato admitido é que o hormônio gonadoestimulante (H. G. E.) de natureza proteica, circulando em excesso num parabionte castrado, passa através da rede capilar de união, ao companheiro normal.

Com os hormônios sexuais já não se dá o mesmo. Na união de duas fêmeas, sendo uma castrada, nesta verificou Martins (8) o aparecimento de períodos estrais prolongados, indicando a passagem dos estrogênios. Há autores que discordam, como Fels (9), Moeller-Christensen (10), Kallas (11), ao passo que outros o confirmam, como Hill (12) etc., ficando hoje assente que as substâncias estrogênicas, neste tipo de experiência passam, se se utiliza como prova o aparecimento de estro na castrada. Os resultados negativos podem ser explicados pela deficiência na rede capilar de união. O método sempre seguido por Martins foi o de celioanastomose.

Para a progesterona, há os trabalhos de Hill, em ratas (13) e González Collazo (14). Castrava, o primeiro deles, uma das ratas e fazia com que se tornasse prenhe a parceira. Deste modo, na castrada, desaparecia o estro, só reaparecendo após o parto. Isto indicava que a progesterona dos corpos amarelos gravídicos agindo na castrada, produzia aquela mucificação vaginal típica da ação deste hormônio.

Quanto aos androgênios o caso muda completamente de figura: mesmo usando a celioanastomose, ou ainda o artifício da redução dos receptores do normal, como fez Martins (15) não se conseguiu demonstrar essa passagem.

Fels (16) usando ratos, fez a parabiose de dois animais castrados. Num deles injetava testosterona, procurando os resultados na genitália do outro. Para obter estímulo às genitálias deste último era necessária a dose diária de 5 mg no parceiro quando ambos eram fêmeas, dizendo o autor que tal quantidade, um rato normal nunca elaboraria em condições fisiológicas. Portanto para haver a passagem seria preciso aumentar a produção do normal.

Há um fato interessante na verificação da passagem das substâncias estrogênicas: os diversos A. A. tomam sempre como test, o aparecimento do estro na parabionte castrada. O que nenhum autor mostrou foi o crescimento dos cornos uterinos. Todos são unânimes em apresentar um utero atrofico, de castração. Em outras palavras: não existisse a reação vaginal, cuja docilidade é de todos conhecida, ainda talvez, estivessemos para os estrogênios, como estamos para os androgênios, isto é, na dúvida si eles passam ou não.

Portanto, quando Fels diz ser preciso para haver passagem um aumento na produção do hormônio pelo normal, achamos que tal aumento não é necessário e sim um abaixamento do limiar de reação do test utilizado. Em outras palavras: passagem há nas condições fisiológicas da parabiose, a questão é um test bastante sensível para demonstrá-la.

Baseados nesta hipótese retomamos a questão, utilizando um test muito sensível: o da colchicina.

MATERIAL E TÉCNICA

A técnica de parabiose por nós utilizada foi a celioanastomose de Sauerbruch e Heyde. Os ratos eram albinos, da linhagem B A W (descendentes de Wistar originais e Wistar importados de Buenos Aires) de nosso Laboratório.

Utilizamos inicialmente a parabiose simples de dois ratos num total de 34 pares e depois a união de três animais — parabiose triplice — em que fizemos 30 experiências (*). Neste caso o castrado sempre colocado no meio, receberia uma quantidade dupla de sangue e portanto de hormônio, daqueles em parabioses de dois.

Os tests para androgênios, quando se utiliza a genitalia acessória de pequenos roedores, podem ser de dois tipos, como propoz Martins (17): o profilático e o regenerativo.

No primeiro caso o tratamento começa no mesmo dia da castração, impedindo assim a atrofia da genitalia acessória. No segundo tipo o tratamento só é iniciado alguns dias após a retirada dos testículos, isto é, após tempo suficiente para obter a atrofia post-operatoria. Neste 2.º tipo a quantidade de hormônio necessária deverá ser maior que no primeiro, pois se trata não do impedimento da atrofia, mas sim de corrigir uma atrofia já instalada. A dose não será, portanto, de manutenção e sim de crescimento.

Outro test para androgênios, mas ainda utilizando a genitalia acessória dos roedores é o da colchicina.

(*) Para melhor fixar os animais utilizamos uma canga de arame de aço No. 25 idealizada por nosso auxiliar técnico Francisco Ribeiro Gomes.

Dustin (18) mostrou que o alcaloide de *Colchicum autumnale* L. tem a propriedade de fazer parar numa de suas fases, em geral metafase, as células em reprodução. Martins (19) utilizando esta propriedade propoz o test da colchicina para os androgenos. Consiste o método em injetar-se a substancia a ser testada em ratos castrados, que 14 horas depois recebem colchicina, sendo os animais sacrificados 10 horas após esta ou 24 horas a contar da injeção da substancia desconhecida. Corta-se a vesicula ou prostata e procuram-se as células em mitose. Com esta técnica pode-se "fotografar as células em reprodução, num determinado tempo".

Loew e Voss (20) haviam proposto como test as células em mitose da genitalia acessoria, porem, como poucas eram as células surpreendidas em reprodução, foi o mesmo abandonado, até o advento da colchicina.

O trabalho de Martins foi logo confirmado e aplicado a outros hormonios, como prolantina por Leblond e Allen (21); tireotropico, Bastemil e Zylberszac (22); Allen, Smith e Gardner (23), para os estrogenos, etc.

Test bastante sensivel, pois segundo Burkhart (24) revela quantidades iguais a 0,013 mg de propionato de testosterona, foi por nós tambem utilizado.

Ainda mais, com o intuito de forçar a passagem, utilizamos um artificio de técnica, já usado por Martins: (17) a retirada tão ampla, quanto possivel, dos genitais accessorios do normal, isto é, vesicula seminal, prostata, canais deferentes e epididimos. Com isto esperavamos que, por falta de consumidores, sobrasse mais androgenos, para circulando em maior teor no normal, passar para o castrado. Neste ainda retiravamos a maior parte da genitalia acessoria, deixando somente a prostata e uma vesicula, ou um só lobo prostatico. Assim todo o hormonio disponivel pelo castrado iria agir em pequeno territorio, tornando mais nítidos seus efeitos.

Com a redução dos receptores no rato normal, em que só conservavamos os dois testiculos na bolsa, a regra era a degeneração da seminal, porem sabemos que os caracteres sexuais secundarios neste caso são conservados sem alteração. No entanto como para retirar uma vesicula no castrado eramos obrigados a ligar na base, poderia, por falta de irrigação, a outra deixar de reagir. Fizemos algumas indagações preliminares para elucidar esta questão. Assim em normais retiravamos uma vesicula, pesavamos e completavamos a redução, conservando os testiculos na bolsa. Tempos após reabrimos o rato, retiravamos a vesicula restante e a pesavamos, fazendo assim o controle da ligadura. Um exemplo é o rato número 3 do par 17. A vesicula esquerda no dia da redução pesou 24 mg e 30 dias depois a direita pesou 80 mg. Apesar da redução dos receptores do normal (*), ser a mais cuidadosa possivel ficava sempre ou quasi sempre, restos de

(*) Sempre que utilizarmos a designação "rato normal" compreende-se que são normais quanto à produção de substancias capazes de manter a genitalia acessoria em seus caracteres normais.

prostata. Utilizavamos estes restos como controle do funcionamento dos testículos, pois resta sempre a possibilidade de nesta operação previa, prejudicar-se a irrigação testicular.

Em alguns animais, inicialmente, tentamos a hepatectomia parcial, ainda com o mesmo espírito: eliminar o mais possível os destruidores do hormônio, pois o fígado tem essa propriedade. Porém como a porção restante do fígado rapidamente se regenera, como verificou Jáuregui Guillermo (25) e dado serem nossas experiências de longa duração, ao fim de certo tempo nossa operação se tornava inútil, motivo porque abandonamos tal prática.

Dada a variação de técnica utilizada nas 38 parabioses observadas até o fim, das 64 feitas, vamos analisar as mesmas por grupos, tornando assim mais fácil a exposição.

1) Parabioses de dois animais.

a) Test regenerativo.

Utilizamos 15 pares, num dos quais — o número 20 — só as prostatas foram conservadas para o test da colchicina, não sendo, portanto, pesadas. No quadro abaixo temos os pesos dos animais nos dias da parabiose e autopsia; dias de duração de castração e dias de sobrevivência em parabiose. Nos casos em que empregamos a colchicina o foi na dose de 2-3 mg por kg num volume variável de 0.2 a 0.4 cm³ e a leitura era feita 7 horas após. Os órgãos fixados em Bouin, corte de 5 micra e coloração pela H. E., em alguns casos, hematoxilina ferrica.

b) Test profilático.

Neste grupo fizemos duas variantes: na primeira os animais eram unidos sem previa redução de receptores e, só após cicatrização, castrávamos um e retirávamos a genitalia acessória do outro. A segunda variante foi a de fazermos a redução dos receptores do normal e a criptorquidia no futuro castrado. Com a criptorquidia obtem-se a degeneração da seminal, hipertrofia da hipófise, como no castrado (inclusive o aparecimento de células de castração) mas manutenção dos caracteres sexuais secundários normais da genitalia acessória. Obtinhamos assim um estímulo previo ao testículo do normal, sem a degeneração post-castração. Só após a cicatrização da parabiose, em média de 7 dias, fazíamos a castração do criptorquidico e reduzíamos-lhe os receptores. Neste grupo empregamos 8 pares cujos detalhes se encontram no quadro abaixo:

QUADRO I

PARABIOSES DE 2 RATOS

Test Regenerativo

Par No.	Rato No. e condições	Dias de Castração ou Redução Receptores	Dias de Para- biose	Peso de 1 Vesícula em mg		Peso do Rato em g	
				Dia		Dia	
				Castração	Autopsia	Castração	Autopsia
3	1 castrado	22	17	85	29	115	104
	6 normal	22		82	—	106	104
4	8 castrado	31	25	49	26	117	112
	4 normal	31		86	53	125	112
5	9 castrado	23	21	67	26	125	120
	1 normal	23		95	—	133	120
6	7 castrado	18	14	43	35	120	132
	12 normal	18		104	93	162	132
7	4 castrado	27	21	74	32	166	150
	5 normal	27		84	39	165	150
8	8 castrado	28	22	150	53	166	140
	3 normal	28		175	—	179	140
10	2 castrado	84	23	20	16	114	181
	11 normal	41		65	46	172	181
11	6 castrado	42	21	87	25	137	142
	12 normal	42		46	—	140	142
12	3 castrado	70	25	12	43	110	150
	2 normal	54		94	—	147	150
13	4 castrado	76	42	160	5	163	195
	6 normal	76		196	585	143	195
14	9 castrado	46	19	57	23	125	177
	1 normal	46		54	—	140	177
15	7 castrado	46	18	97	32	151	175
	3 normal	46		73	626	155	175
16	3 castrado	63	29	163	126	160	210
	6 normal	63		131	575	182	210
17	2 castrado	63	21	23	12	130	152
	9 normal	63		24	205	132	152
20	1 castrado	40	16	—	—	114	112
	3 normal	40		—	556	114	112

No par 20 só se conservou a prostata para colchicina. Na coluna de pesos das vesículas no dia da autopsia os pesos anotados se referem, nos animais normais, a restos de prostatas encontrados.

QUADRO II

PARABIOSES DE 2 RATOS

Test Profílativo

Par No.	Rato No. e condições	Dias de Castração ou Redução Receptores	Dias de Para- biose	Peso de 1 Vesícula em mg		Peso do Rato em g	
				Dia		Dia	
				Castração	Autopsia	Castração	Autopsia
21	1 castrado	16	26	110	33	145	136
	1 normal	16		85	169		
23	1 castrado	21	32	80	36	135	145
	1 normal	21		150	162		
24	9 castrado	14	25	111	37	175	112
	11 normal	14		137	—		
27	8 castrado	8	16	52	38	128	122
	7 normal	8		20	—		
29	6 castrado	4	11	84	82	132	126
	3 normal	4		122	—		
30	5 castrado	14	28	83	47	135	124
	9 normal	14		46	—		
31	12 castrado	13	21	62	40	160	131
	4 normal	13		109	—		
33	8 castrado	15	26	67	32	141	125
	3 normal	15		120	—		

Os pesos anotados na coluna das vesículas no dia da autopsia, nos ratos normais, referem-se a restos de prostatas.

2) Parabioses de três animais.

Dividimos também aqui em 2 grupos, o profílativo e o regenerativo, sendo o castrado sempre colocado no meio, entre dois normais.

a) Test profílativo.

Neste grupo utilizamos 3 tríplexes, cujos detalhes se encontram no quadro abaixo:

QUADRO III
PARABIOSES DE 3 ANIMAIS

Test Profilático

Tríplice No.	Rato No. e condições	Dias de Castração ou Redução Receptores	Dias de Parabiose	Peso de 1 Vesícula em mg		Peso do Rato em g	
				Dia		Dia	
				Castração	Autopsia	Castração	Autopsia
9	1 normal	6	14	55	—	130	123
	3 castrado	6		64	53	130	123
	2 normal	6		47	—	130	123
10	1 normal	22	31	83	—	123	136
	3 castrado	22		60	36	123	136
	2 normal	22		53	—	123	136
15	1 normal	10	22	133	76	210	181
	3 castrado	10		73	39	210	181
	2 normal	10		140	64	210	181

Na coluna de pesos das vesículas no dia da autopsia os pesos assinalados para os ratos normais se referem a restos de prostatas encontrados.

b) Test regenerativo.

Este grupo foi subdividido em dois: no primeiro a redução dos receptores do castrado era feita em animais já adultos, precedendo de poucos dias a parabiose e no 2.º era feita em animais infantis de 40 dias (a dos normais em adultos). A união era feita 40 dias após a redução dos receptores do castrado, portanto ratos de 80 dias de idade.

Usamos 12 tríplices. Os detalhes estão no quadro IV.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela análise dos quadros I, II, III e IV, vemos que em quasi todos os casos houve uma diferença, para menos, no peso das vesículas entre o dia da redução dos receptores e o da autopsia. As exceções foram o para 12 e os tríplices 13, 18 e 19.

A diferença notada entre estes últimos não é significativa, pois além de ser muito pequena, os valores absolutos são muito baixos, no limiar do crescimento somático, independente portanto da ação do hormônio. Além disso o aspecto macro e microscópico é o de uma vesícula completamente atrofiada, de castração antiga.

QUADRO IV
 PARABIOSES DE 3 ANIMAIS
 Test Regenerativo

Tríplice No.	Rato No. e condições	Dias de Castração ou Redução Receptores	Duração da Parabiose	Peso de 1 Vesícula em mg		Peso do Rato em g	
				Dia		Dia	
				Castração	Autopsia	Castração	Autopsia
1	1 normal	38	38	—	395	124	110
	2 castrado	38		—	—	120	110
	3 normal	38		—	626	128	110
2	4 normal	36	10	—	—	100	142
	6 castrado	36		—	—	100	142
	5 normal	36		—	—	105	142
3	4 normal	31	11	—	315	120	111
	6 castrado	31		—	—	118	111
	5 normal	31		—	317	124	111
4	1 normal	31	10	—	80	128	100
	3 castrado	31		—	40	124	100
	2 normal	31		—	176	125	100
6	3 normal	30	14	43	205	119	123
	4 castrado	30		33	15	121	123
	9 normal	29		15	624	121	123
7	5 normal	32	13	11	230	123	117
	8 castrado	32		39	19	122	117
	7 normal	32		20	117	122	117
13	5 normal	40	15	106	—	145	133
	4 castrado	70		3	8	50	133
	6 normal	57		127	—	145	133
17	4 normal	40	20	141	363	166	143
	2 castrado	100		3	3	55	143
	1 normal	57		113	—	155	143
18	5 normal	38	16	117	126	155	123
	1 castrado	89		3	4	45	123
	6 normal	38		139	162	160	123
19	3 normal	25	17	186	—	224	145
	2 castrado	89		3	5	44	145
	4 normal	25		120	195	205	145
20	1 normal	28	18	96	204	190	143
	3 castrado	92		4	4	51	143
	2 normal	28		126	630	189	143
21	5 normal	27	14	164	—	193	155
	1 castrado	84		7	5	60	155
	6 normal	27		109	—	189	155

Nos triplices 1-2-3 e 4 só as prostatas foram conservadas para colchicina, não sendo pesadas as vesículas. Na coluna de pesos das vesículas no dia da autopsia, os pesos assinalados para os ratos normais referem-se a restos de prostatas encontrados. O mesmo significa para o rato castrado 3 do triplice 4.

A única exceção real que ocorreu foi a do par 12. O exame histológico da peça, no entanto, revela um epitelio atrofico de castração, com ausência de mitoses, embora o animal fosse tratado com colchicina. Dada a uniformidade dos resultados negativos, e o aspecto histológico da vesícula, encaramos esse achado com as devidas reservas.

Pelo test da colchicina os resultados também não foram significativos. Enquanto que nos castrados adultos uma ou outra mitose foi encontrada, quer nos isolados, quer nos parabiosados com normais, naqueles que foram castrados infantis o encontro de uma mitose era raro, não havendo em ambos os casos uma diferença significativa.

Podemos então concluir, que, com a técnica e os tests por nós utilizados, não pudemos comprovar a passagem das substancias androgenicas, quando se parabiosam ratos normais e castrados.

Para explicar o resultado negativo duas hipóteses ocorrem: a primeira é que realmente não passam, seja por não atingirem no normal limiar suficiente para isso, em virtude da destruição pelo fígado, por exemplo, seja por serem destruídos nos capilares, ao nível da zona de passagem. É pouco provavel a passagem depender dum limiar ou melhor dizendo duma determinada concentração no normal pois teríamos de admitir para os androgenos uma propriedade até então não assinalada — a de substancia dotada de limiar de excreção — e aos capilares uma capacidade funcional semelhante ao rim, isto é, propriedade de eliminar, no caso deixar-se atravessar, por certas substancias somente após atingirem concentração determinada. É portanto hipótese muito pouco provavel.

Quanto à destruição pelos proprios capilares é também pouco razoavel, pois si passa uma proteina — o gonado estimulante e um esteroide — a estrina — por que só os androgenos — também esteroides — devem ser destruídos e somente nestes capilares? Aliás Fels, no trabalho citado, demonstrou ser possivel a passagem, pelo menos quando são parabiosadas duas femeas, ambas castradas.

A segunda hipótese que ocorre é que realmente passam mas não atingem, no castrado, uma concentração suficiente para provocar efeito na genitalia. Seria apenas uma questão de destruição, pelos destruidores normais, maior que o fornecimento, e a concentração nunca atingiria limiar suficiente para a reação. Aliás é necessario não confundir limiar de passagem com limiar de ação.

Si o test fosse mais sensível essa pequena quantidade que passa, tal como acontece com os estrogenos, seria evidenciada.

Podemos então concluir que a demonstração da passagem exige um test muito mais sensível que os que atualmente possuímos, inclusive o test da colchicina.

RESUMO

No presente trabalho o A. estuda o problema da circulação de substâncias androgênicas em ratos parabiosados e realiza experiências procurando demonstrar o estímulo da genitalia do castrado pelos androgênicos provenientes do normal. O estímulo foi procurado empregando-se o test da colchicina, de mitoses na próstata ventral, atualmente o mais sensível para as substâncias androgênicas. Mesmo com o emprego de artifícios de técnica, como a redução dos receptores, tanto do normal como do castrado e de parabioses tríplexes, com o castrado entre dois normais, não foi possível demonstrar a passagem dos androgênicos para o animal castrado. Tudo faz crer, porém, que o hormônio masculino passe do normal para o castrado, não alcançando, no entanto, neste último, talvez devido à destruição, concentração suficiente para o limiar de resposta do test utilizado. A questão parece depender também de um test bastante sensível capaz, como o esfregaço vaginal para os estrogênicos, de revelar as quantidades mínimas seguramente circulante no castrado.

ABSTRACT

Circulation of androgens from normal to castrate male rats in parabiosis was studied by aid of the most sensitive test available: the colchicine method.

Even by employings devices as the reduction of receptors — seminal vesicles, coagulating glands, etc., or triplets, the castrate among two normals, it was impossible to detect a positive reaction revealed by the increased number of mitotic figures in the ventral prostate of the castrated partner.

This result, however, does not mean that the male hormone cannot pass through the capillaries of the parabionts. A destruction of the hormone by the liver for example, may occur bringing an insufficient level for the reaction in the castrate but we must consider also the sensitivity of the test employed. As far as the vaginal smear for estrogens is concerned, perhaps another more sensitive test for androgens could reveal the little amount indoubtly circulating in the castrate.

BIBLIOGRAFIA

1. *Martins, Thales* — Glândulas sexuais e hipófise anterior. Cia. Editora Nacional. pg. 296. 1935.
2. *Matsuyama, R.* — Experimentelle Untersuchung mit Rattenparabiose. Frankf. z. f. Path. 25:97. 1921.
3. *Goto, N.* — Experimentelle Untersuchung der inneren Sekretion des Ovariums durch Parabiosentiere — Arch. exp. Path. u. Pharm. 94:124. 1922.

4. *Martins, Thales* — Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Supl. 10 e 11:265.1929.
5. *Kallas, H.* — Puberté précoce par parabiose — C. R. Soc. Biol. 100:979.1929.
6. *Fels, E.* — Klin. Woch. 8:570.1929 e 9:1345.1930.
7. *Martins, Thales e Mello, Raul Franco de* — Mem. Inst. Butantan 8:353.1934.
8. *Martins, Thales* — Echanges hormonaux chez des animaux en parabiose. Passage de l'hormone ovarienne des sujets normaux aux sujets chatrés — C. R. Soc. Biol. 102:605.1929 e 115:1342.1934.
9. *Fels, E.* — in *Martins, Thales* (1).
10. *Moeller-Christensen, E.* — in *Martins, Thales* (1).
11. *Kallas, H.* — Parabiose und hypophysenvordelappen. — Pflüg. Arch. f. d. g. Physiol. 223:232.1929-30.
12. *Hill, R.* — Estrous reactions in female rats united with castrate parabionts — Endocrinology 17:414.1933.
13. *Hill, R.* — Exchange of estrin and corpus luteum hormones in parabioc female rats. — Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 28:866.1931.
14. *Gonzales Collazo, A. O.* — in *Fels, E.* (16).
15. *Martins, Thales* — Echanges hormoniqnes chez les animaux en parabiose. Hormones du lobe anterieur de l'hypophyse et du testicule — C. R. Soc. Biol. 103:1341.1929.
16. *Fels, E.* — Investigaciones experimentales sobre el intercambio de las hormonas sexuales en la parabiosis. I. Las cantidades hormonales necesarias para el intercambio — Anales de la Fac. de Med. de Montevideo — Livro Jubilar Prof. L. Fraenkel, pg. 142.1940.
17. *Martins, Thales & Silva, A. Rocha e* — Utilisation des vésicules séminales de la souris blanche comme test des hormones testiculaires — C. R. Soc. Biol. 102:480 e 485.1929 e 105:107.1930.
18. *Dustin, A. P.* — in *Martins, Thales* (19).
19. *Martins, Thales* — Test rapide de l'hormone masculine: mitoses dans la genitalie accessoire des mâles castrés — C. R. Soc. Biol. 126:131.1937.
20. *Loewe, S. & Voss, H.* — in *Martins, Thales* (19).
21. *Leblond, C. P. & Allen, E.* — Emphasis of the growth effect of prolactin on the crop gland of the pigeon by arrest of mitoses with colchicine — Endocrinology 21:455.1937.
22. *Bastenie, P. & Zylberszac, S.* — Mise en évidence de stimulations hormonales para la colchicine. Détection de stimulation thyroïdienne par l'extrait anti-hypophysaire — C. R. Soc. Biol. 126:446.1937.
23. *Allen, E.; Smith, G. & Gardner, W. V.* — A short test for ovarian follicular hormone and other estrogens — Endocrinology 21:412.1937.
24. *Burkhardt, E. Z.* — A study of the early effects of androgenic substances in the rat by the aid of colchicine — J. Exp. Zool 89:135.1942.
25. *Jáuregui Guillermo, R.* — Inactivación de los estrogénos por el hígado — Rev. Soc. Arg. Biol. 19:3.1943.

(Trabalho da Seção de Endocrinologia do Instituto Butantan, Entregue para publicação em 3 de setembro de 1943 e dado à publicidade em dezembro de 1943).

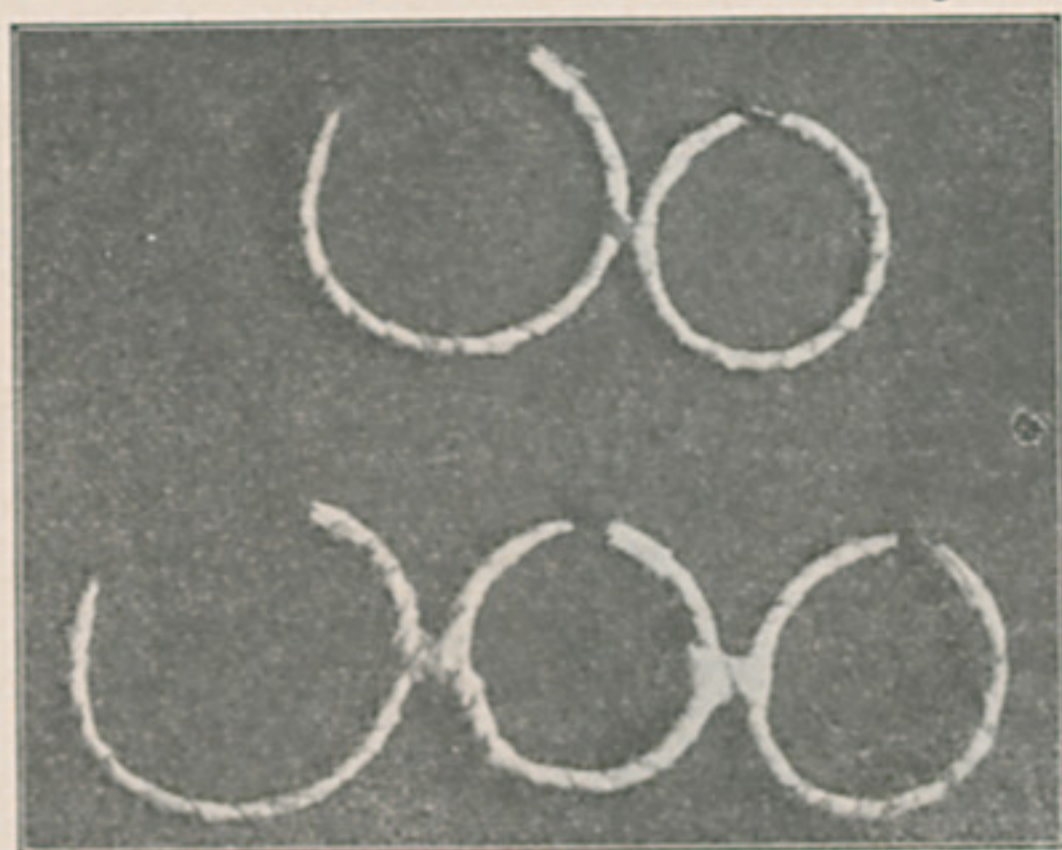


FIG. 1

Cangas utilizadas na contenção dos ratos em parabiose de dois e tres animais.



FIG. 2

Parabiose de tres ratos. O do centro é castrado e os dois laterais são normais.



FIG. 3

Corte de vesícula seminal do rato 3, castrado, do par 12. Apesar do aumento absoluto do peso (de 12 para 43 mg) notar o aspecto atrofico do epitelio. Este rato que recebeu colchicina não apresenta células em mitose.
Col. H. E. 5 micra 85X

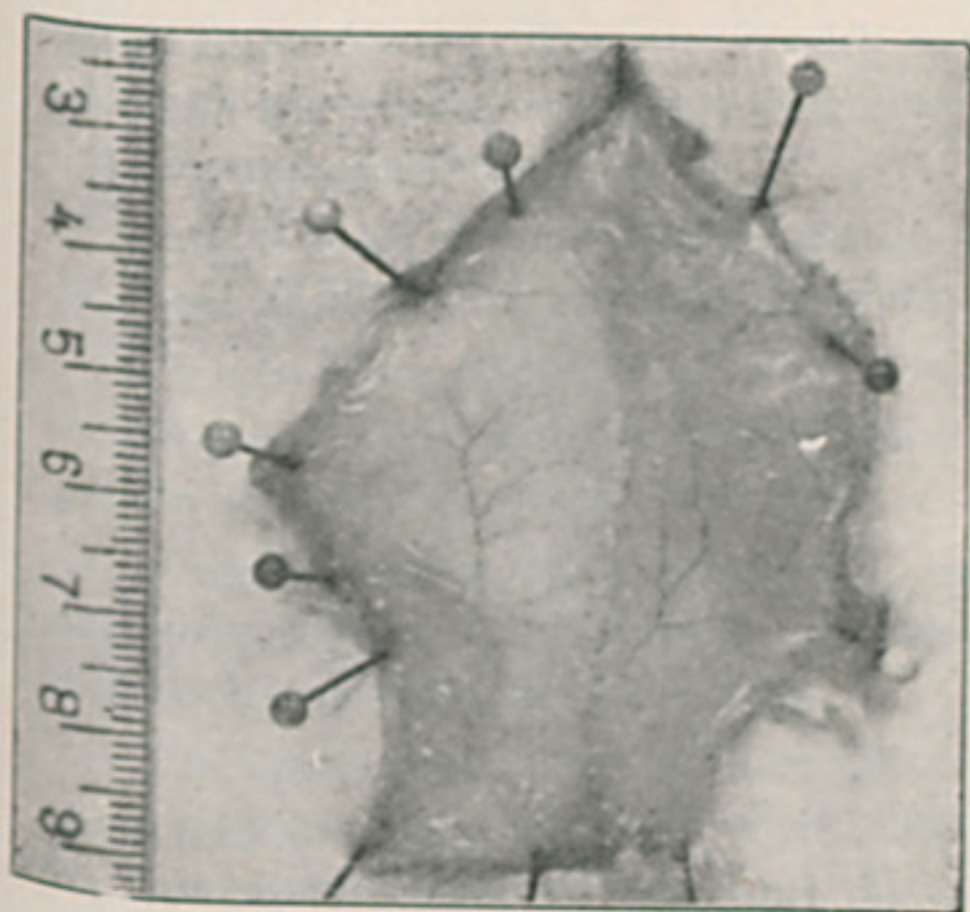


FIG. 4

Pele de dois ratos parabiosados no ponto de sutura. Notar os vasos visiveis a olho nú.

