

Este exemplar corresponde a edição final da  
tese defendida pelo candidato

JOSÉ LUIZ TATAGIBA LAMAS



e aprovada pela comissão julgadora.

Rj Ci  
20-12-90

EFEITO DA IDADE E DA TESTOSTERONA SOBRE A EXPRESSÃO  
FISIOLÓGICA DE ADRENOCEPTORES ALFA-1  
EM DUCTOS DEFERENTES DE RATOS

Tese submetida ao Instituto de  
Biologia da Universidade Estadual  
de Campinas, para a obtenção do  
grau de Mestre em Ciências Bio-  
lógicas, na área de Fisiologia

Orientadora: Profa. Dra. Regina Célia Spadari

CAMPINAS - SÃO PAULO

1990



A Elenice, minha esposa,  
por sua presença cons-  
tante em minha vida.

## AGRADECIMENTOS

A meus pais, Manoel e Parecida, que fizeram da educação dos filhos o principal objetivo de suas vidas.

À Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Regina Célia Spadari, pela orientação, pelo convívio, pela acolhida, pela dedicação, pelo respeito...enfim, por tudo.

Ao Prof. Dr. Sérgio de Moraes, pelas opiniões sempre oportunas e pela grande ajuda prestada durante a fase experimental deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Ernesto José D'Ottaviano, pela ajuda e orientação durante o primeiro ano de meu curso de pós-graduação.

A Marli Cardoso Martins Pinge e Silvana Bordin, especialmente pela amizade.

A Vanderci Aparecida dos Santos, pelo apoio técnico durante a fase experimental.

Aos colegas do Laboratório de Adrenoceptores, pela amizade, sugestões e convivência.

Aos professores, funcionários e alunos do Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Biologia da UNICAMP, pela sua participação na minha formação.

Aos professores, funcionários e alunos do Departamento de Enfermagem da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, especialmente aos colegas da Área Fundamental.

À Sr<sup>te</sup> Marisabel R. R. do Amaral, pela ajuda na organização das referências bibliográficas.

A meu irmão, João Lúcio Tatagiba Lamas, pela revisão gramatical do texto final.

A minha irmã, Regina Célia Tatagiba Lamas, pelo excelente serviço de datilografia e impressão deste trabalho.

Ao amigo Rogério José Cerveira Ribeiro, pela ajuda na impressão deste trabalho.

À CAPES e ao CNPq, pela concessão de bolsas de estudo durante parte de meu curso de pós-graduação.

A todos aqueles que, de uma ou outra forma, colaboraram para a realização deste trabalho.

**MINHA GRATIDÃO**

## ÍNDICE

<b>1 - INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
1.1. O ducto deferente de rato: características estruturais, Fisiológicas e Farmacológicas.	2
1.2. Influência da testosterona sobre o desenvolvimento da inervação simpática no ducto deferente.	8
1.3. Influência da idade do animal sobre a sensibilidade de ductos deferentes a agonistas.	10
<b>2 - OBJETIVOS</b>	<b>13</b>
<b>3 - MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>15</b>
3.1. Animais.	16
3.2. Ducto deferente isolado.	16
3.3. Curvas concentração-efeito à noradrenalina.	17
3.3.1. Controle.	17
3.3.2. Bloqueio dos mecanismos de captação e dos adrenoceptores beta.	18
3.3.3. Curvas sem bloqueio da captação neuronal.	19
3.4. Curvas concentração-efeito ao carbacol e ao cloreto de bário.	19

3.5. Avaliação da sensibilidade.	19
3.6. Determinação do valor $pA_2$ do prazosin.	20
3.7. Tratamento com testosterona.	20
3.8. Análise estatística.	21
3.9. Fármacos, sais e soluções.	21
<b>4. RESULTADOS</b>	<b>22</b>
<b>5. DISCUSSÃO</b>	<b>45</b>
<b>6. CONCLUSÕES</b>	<b>59</b>
<b>7. RESUMO</b>	<b>61</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>64</b>

**1 - INTRODUÇÃO**

É recente o interesse dos pesquisadores pelo estudo das alterações fisiológicas experimentadas pelos organismos durante o processo de desenvolvimento ontogenético. Os trabalhos existentes atualmente referem-se, principalmente, às alterações relacionadas ao processo de envelhecimento e, mais especificamente, ao controle exercido pelo sistema nervoso autônomo sobre órgãos periféricos.

Torna-se necessário, entretanto, explicar que as alterações ocorridas desde o nascimento, ou mesmo antes deste, até a vida adulta, referem-se ao processo de amadurecimento, enquanto que aquelas que ocorrem após a idade adulta ter sido atingida, até a morte, relacionam-se ao processo de envelhecimento (Docherty, 1990).

Neste trabalho nós estudamos a sensibilidade da resposta contrátil de ductos deferentes de ratos, mediada por adrenoceptores alfa, em três idades: 21 a 23 dias; 3 a 4 meses; e 22 a 24 meses.

O tempo médio de vida do rato Wistar, nosso modelo experimental, é de 26 a 28 meses. O animal é considerado jovem aos 3 meses de idade, quando está apto para a reprodução. Assim sendo, os animais com 23 a 24 dias de idade foram classificados como pré-púberes; aqueles com idade entre 3 e 4 meses, jovens; aqueles com 22 a 24 meses foram considerados senis.

#### 1.1 - O DUCTO DEFERENTE DE RATO: CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS, FISIOLÓGICAS E FARMACOLÓGICAS.

A musculatura do ducto deferente de rato compreende três camadas: duas longitudinais, sendo uma interna e outra externa, e uma circular, intermediária. Muitas fibras musculares, em cada uma dessas camadas, correm diagonalmen-

te, formando uma estrutura helicoidal (McConnell & col., 1982). As conexões intercelulares do tipo "gap junction" são raras ou ausentes (Merrillees, 1968).

Os neurônios adrenérgicos curtos, que inervam os órgãos da genitália interna do macho, aparecem na periferia dos ductos deferentes nos dois primeiros dias após o nascimento. Dois a três dias mais tarde, formam uma rede que se irradia através das camadas de músculo liso. Um denso plexo se forma, inicialmente nas regiões mais internas, e daí se estende rapidamente, de maneira concêntrica, para ocupar toda a espessura da musculatura, o que ocorre por volta do oitavo ao décimo dia de vida do animal (Swedin, 1972 a/b).

O tecido muscular responde à noradrenalina exógena a partir do segundo dia e à estimulação elétrica a partir do terceiro dia (Swedin, 1972 a/b), o que demonstra que, já nesta idade, os adrenocetores alfa estão presentes. Entretanto, a transmissão adrenérgica não se torna funcional antes da quinta ou sexta semana de idade (MacDonald & McGrath, 1980 b).

Em animais com quatro semanas, o arranjo anatômico das células musculares lisas, assim como a distribuição e a densidade da inervação simpática, são similares aos do animal adulto (MacDonald & McGrath, 1984), cujos ductos deferentes são inervados por uma densa rede de neurônios adrenérgicos, distribuídos principalmente pelas camadas circular e longitudinal externa, de modo que quase todas as células dessas duas camadas apresentam uma ou mais sinapses, frequentemente formadas por varicosidades surgidas de vários neurônios (Richardson, 1962; McConnell & col., 1982; Burnstock, 1986). Isso faz com que a concentração de noradrenalina nesse órgão seja maior do que aquela observada em outros órgãos sexuais acessórios do rato, tais como a vesícula seminal e a próstata (Sjöstrand & Swedin, 1976), ou também ór-

gãos componentes de outros sistemas, como o jejuno, os brônquios, a aorta ou a veia cava (Avellar & col., 1987).

Faltam informações a respeito de possíveis alterações morfológicas em ductos deferentes de ratos senis. Porém, sabe-se que, em ductos deferentes humanos, o envelhecimento não altera a área ocupada pelo músculo liso, indicando que este componente não se degenera nem se desenvolve a partir da fase adulta. No entanto, a quantidade de tecido conjuntivo (Cohen & col., 1979) e de fibras elásticas entre as camadas musculares aumenta durante o processo de envelhecimento, sendo estas últimas inexistentes em crianças e máximas em indivíduos idosos (Paniagua & col., 1983). Com o avançar da idade, ocorre também aumento do conteúdo de colágeno e diminuição da quantidade de proteína não-colágena em ductos deferentes humanos (Nakada & col., 1989).

Do ponto de vista estrutural, o ducto deferente de rato foi dividido em três porções, localizadas em diferentes regiões do corpo do animal (Hamilton & Cooper, 1978): proximal (localizada na bolsa escrotal), distal (localizada na região inguinal) e terminal (localizada na região pélvica abdominal). A porção proximal caracteriza-se por possuir feixes musculares longitudinais interno e externo, com uma camada muscular circular disposta entre eles. A camada epitelial e o suprimento vascular são pouco desenvolvidos, mas a inervação é densa. A porção distal apresenta camadas musculares longitudinais mais espessas e um epitélio bem desenvolvido, com células cilíndricas apresentando microvilosidades. Na porção terminal, este tipo de epitélio desaparece, dando lugar a agrupamentos de pequenas células cilíndricas, capazes de fagocitar espermatozóides. A camada muscular circular perde sua identidade e se entremeia nas duas camadas longitudinais (Kennedy & Heidger, 1979). A aposição entre as camadas musculares ao longo do ducto deferente de ratos é perfeita, não havendo células intersticiais intervenientes

(Richardson, 1962), enquanto em humanos e em gatos feixes de tecido conjuntivo se interpõem entre as camadas musculares, tornando-as mais distantes uma da outra (McConnell & col., 1982). A densidade de inervação adrenérgica e o conteúdo de noradrenalina variam ao longo do órgão, sendo maiores na porção distal ou prostática (Avellar & col., 1990).

Para Kennedy & Heidger (1979), as mudanças observadas nas características do epitélio do ducto deferente de rato ao longo de seu comprimento são indicações de que, além de conduzir o esperma, este órgão pode desempenhar outras funções, como fagocitar espermatozóides ou modificar o conteúdo luminal por meio de mecanismos seletivos de absorção e secreção.

Farmacologicamente, o ducto deferente de rato adulto foi classificado por Bülbring & Tomita (1987) como um órgão quiescente, mas altamente excitável por impulsos nervosos que geram potenciais de ação em pico, do tipo tudo-ou-nada. Esta classificação, no entanto, não é válida para ductos deferentes de ratos de três semanas, os quais apresentam atividade espontânea (MacDonald & McGrath, 1984).

A contração do ducto deferente em resposta à estimulação elétrica da terminação nervosa pode ser separada em dois componentes: o primeiro consiste de uma contração fásica, bastante rápida e breve, e o segundo componente apresenta uma contração tônica prolongada (McGrath, 1978). Antagonistas de adrenoceptores alfa-1 bloqueiam o segundo componente da contração, deixando intacto o componente rápido, que é bloqueado por nifedipina (Brown & col., 1983). O primeiro componente também é bloqueado por antagonistas de receptores purinérgicos, sugerindo que a resposta fásica é produzida pelo ATP (adenosina trifosfato), liberado das terminações simpáticas juntamente com a noradrenalina (Fedan & col., 1981; Vizi & Burnstock, 1988). A aplicação de noradre-

nalina e ATP exógenos a porções prostáticas de ductos deferentes isolados de ratos demonstrou sinergismo pós-juncional dessas duas substâncias. Isoladamente, o ATP mimetizou o componente rápido da contração desse órgão, enquanto a noradrenalina mimetizou o componente lento. O uso de antagonistas seletivos demonstrou que a resposta ao ATP é mediada por receptores purinérgicos do tipo P-2 (Huidobro-Toro & Parada, 1988).

A divisão do ducto deferente em porções prostática e epididimal revelou que, nesta última, encontramos as duas fases da contração, havendo um predomínio do componente tônico, enquanto que na porção prostática só se observa o primeiro componente da resposta (McGrath, 1978; Brown & col., 1983). Apesar de ser maior que a porção epididimal, a porção prostática apresenta menor capacidade contrátil, evidenciada por contrações isotônicas e isométricas de menor amplitude (Brito & col., 1989). Este fato se deve, provavelmente, ao importante papel desempenhado pela porção epididimal durante a fase de emissão do esperma, na ejaculação (Batra, 1974; Hamilton & Cooper, 1978). Outra diferença importante entre as duas porções é que na extremidade prostática a resposta à fenilefrina não ultrapassa 20% da resposta ao cloreto de bário ou ao carbacol, enquanto na extremidade epididimal não há diferença entre as respostas máximas a estes agonistas. Isto parece indicar que, na porção prostática, há menor eficiência do acoplamento fármaco-mecânico de agonistas adrenérgicos quando comparados ao cloreto de bário ou a agonistas colinérgicos. A sensibilidade à fenilefrina, carbacol e cloreto de bário também apresenta diferenças entre as duas porções, sendo maior na epididimal (Brito & col., 1989).

Encontramos ainda no ducto deferente de rato uma população homogênea de adrenocceptores beta-2, responsáveis pela mediação da resposta de relaxamento à noradrenalina (Bülbring & Tomita, 1987; Brito & Jurkiewicz, 1988).

A concentração de noradrenalina varia ao longo do ducto deferente de rato, sendo alta na porção prostática e baixa na porção epididimal (Avellar & col., 1987; Celuch & Sloley, 1988). Ductos deferentes de ratos de 12 meses apresentam aumento da concentração de noradrenalina na porção prostática e diminuição na porção epididimal, quando comparados a ductos deferentes de ratos de quatro meses. Essas alterações são, entretanto, transitórias, pois aos 20 meses os níveis observados em ductos deferentes de ratos de quatro meses já estão restabelecidos. O envelhecimento não altera a concentração de noradrenalina em ductos deferentes totais (Avellar & col., 1987). Já em ductos deferentes humanos a concentração de noradrenalina diminui com o avançar da idade (Nakada & col., 1989).

Os mecanismos de captação neuronal e extra-neuronal, que desempenham importante papel na metabolização da noradrenalina (Dengler & col., 1961; Iversen & Salt, 1970), também são afetados pelo envelhecimento. Avellar & Markus (1988) demonstraram redução da captação neuronal em canais deferentes de ratos de 20 meses, quando comparados a ratos de 4 e 12 meses. Estes resultados foram confirmados por Avellar & col. (1990). Ao contrário, a captação extra-neuronal em coração de ratos aumenta com o avançar da idade (Daly & col., 1989).

Duas enzimas são responsáveis pela metabolização da noradrenalina: a monoamino oxidase (MAO) e a catecol-O-metil transferase (COMT) (Bell, 1967). O emprego de cocaína e de inibidores seletivos dessas duas enzimas, isoladamente ou em conjunto, demonstrou que a principal via de inativação de noradrenalina exógena ou liberada por estimulação elétrica é a oxidação pela MAO, realizada após sua recaptação pelas terminações nervosas. A reação de conjugação catalisada pela COMT tem uma importância secundária, assim como

a oxidação do catabólito O-metilado (Bell, 1967). Com o envelhecimento, ocorre diminuição de atividade da MAO em bexiga de rato (Johnson & col., 1988), em cérebro de ratos e humanos (Strolin Benedetti & Dostert, 1989) e em rim de ratos (Roberts, 1983). Com relação aos efeitos do envelhecimento sobre a atividade da COMT, Roberts (1983) não observou alterações em coração e fígado de ratos, mas relatou diminuição no rim do mesmo animal.

## 1.2 - INFLUÊNCIA DA TESTOSTERONA SOBRE O DESENVOLVIMENTO DA INERVAÇÃO SIMPÁTICA NO DUCTO DEFERENTE

Em ratos, as células de Leydig são observadas já no período fetal, alcançando um pico de crescimento no 19o. dia de vida intra-uterina (Roosen-Runge & Anderson, 1959). Seu número diminui rapidamente durante a primeira semana após o nascimento e, de uma forma mais lenta, ao longo da segunda e terceira semanas (Niemi & Ikonen, 1963). A partir de então elas se multiplicam, atingindo um pico no 50o. dia, seguido de um decréscimo até os níveis adultos (Knorr & col., 1970).

Ratos de cinco dias de idade respondem à injeção intramuscular de gonadotrofina coriônica humana com um aumento significativo da secreção de testosterona (Lin & col., 1985). Determinações dos níveis plasmáticos deste andrógeno revelaram que há uma diminuição de sua secreção logo após o nascimento, chegando aos valores mais baixos entre o 21o. e o 25o. dia de vida. A partir de então ocorre um aumento agudo, atingindo níveis adultos entre o 45o. e o 55o. dia (Ketelslegers & col., 1978; Forest, 1979).

Ductos deferentes de ratos jovens apresentam atividade espontânea, a qual parece ser de origem miogênica

ca, uma vez que esta não é afetada por antagonistas de receptores alfa-adrenérgicos ou muscarínicos, nem por tetrodo-toxina (MacDonald & McGrath, 1984)

Atividade espontânea do ducto deferente *in vitro* foi previamente observada após castração (Martins & Valle, 1939; MacDonald & McGrath, 1980 a), tratamento com reserpina (Pollock & col., 1972; Lee & col., 1975), durante abstinência à morfina (Pollock & col., 1972), após desnervação cirúrgica (Lee & col., 1975), após transplante do ducto para uma região adjacente à parede do cólon (Jurkiewicz, N.H. & col., 1977) e após a simpatectomia química com guanetidina ou 6-hidroxi-dopamina (MacDonald & McGrath, 1980 a). Um dos fatores comuns, postulados para cada uma destas situações, nas quais foi encontrada atividade espontânea, é a desnervação adrenérgica funcional. Com efeito, MacDonald & McGrath (1982) demonstraram falha da transmissão adrenérgica em ductos deferentes de ratos sexualmente imaturos. Como a atividade espontânea em ductos deferentes de ratos desaparece com o aparecimento da inervação adrenérgica funcional, isto sugere que um estado de supersensibilidade pós-juncional, pré-inervação, exista em ratos jovens. Esta seria devida à falta da influência restritiva dos nervos adrenérgicos sobre a sensibilidade pós-juncional do músculo liso do ducto deferente (MacDonald & McGrath, 1984).

A diminuição progressiva e o desaparecimento da atividade espontânea que ocorre entre 40 e 50 dias de vida coincide com o aumento da secreção de testosterona no rato (Knorr & col., 1970; Ketelslegers & col., 1978; Forest, 1979). Este fato permite supor que a maturação da função dos nervos adrenérgicos e, portanto, a existência ou não de atividade espontânea, depende dos níveis de testosterona, da mesma forma que foi postulada para ratos castrados (MacDonald & McGrath, 1980 a).

### 1.3 - INFLUÊNCIA DA IDADE DO ANIMAL SOBRE A SENSIBILIDADE DE DUCTOS DEFERENTES A AGONISTAS

Existem poucas informações e muita controvérsia sobre a sensibilidade a diferentes agonistas de ductos deferentes de ratos senis. Não foi possível demonstrar variação de sensibilidade à noradrenalina em função da idade do animal (MacDonald & McGrath, 1980 b; Higuchi & col., 1982), mas porções epididimais de ductos deferentes de ratos jovens apresentaram sensibilidade à oximetazolina maior do que aquela encontrada em animais adultos (MacDonald & McGrath, 1980 b). Entretanto, Takayanagi & col. (1987) apontam para um aumento progressivo da sensibilidade de ductos deferentes de ratos à noradrenalina, estabilizando-se na 18ª semana. A resposta máxima, expressa em gramas de tensão desenvolvida por grama de peso úmido de tecido, apresenta um comportamento inverso. Lai & col. (1983) verificaram subsensibilidade à clonidina em canais deferentes de ratos de seis a oito semanas quando comparados a ratos de 6 a 8 meses, não havendo diferença de sensibilidade entre os dois grupos quando o agonista utilizado foi a fenilefrina. Kobashi & col. (1987) observaram um aumento de sensibilidade à noradrenalina e adrenalina em porções prostáticas de ductos deferentes de ratos, associado ao envelhecimento, enquanto na porção epididimal não houve qualquer diferença. O tratamento com cocaína anulou a diferença de sensibilidade observada na porção prostática e gerou, na porção epididimal, um aumento de sensibilidade tanto para a noradrenalina como para a adrenalina, que foi mais pronunciado em ratos de quatro meses de idade do que naqueles de 12 e 20 meses. Estes dados sugerem que aos 20 meses a captação neuronal está diminuída na porção prostática, enquanto que na porção epididimal este processo não se altera com o avançar da idade. Essa sugestão foi confirmada por Avellar & Markus (1988).

Estudos usando a técnica de "binding" de antagonistas marcados revelaram que o número de adrenoreceptores  $\alpha_1$  e de receptores muscarínicos no ducto deferente total aumenta com a idade, sem haver, no entanto, alterações qualitativas nos mesmos (Higuchi & col., 1982; Takayanagi & col., 1986).

A influência do envelhecimento sobre outros tipos de receptores também tem sido objeto de estudo, tanto em ductos deferentes como em outros tecidos. Conforme demonstrado por Carneiro & Markus (1988), a resposta máxima de ductos deferentes de ratos à acetilcolina é reduzida pelo envelhecimento, especialmente na porção prostática, que também é mais sensível à ação do hexametônio. Kobashi & col. (1985) não encontraram diferença de sensibilidade à acetilcolina em jejuno de ratos de 4 e 20 meses de idade, havendo, no entanto, subsensibilidade a este agonista em jejuno de ratos de 12 meses. Foi observado por estas mesmas autoras um aumento de atividade de acetilcolinesterase em jejuno de ratos de 12 e 20 meses, quando comparados a ratos de 4 meses. Tal aumento seria, pelo menos em parte, responsável pela subsensibilidade à acetilcolina observada aos 12 meses. O fato de que a sensibilidade a este agonista, em jejuno de ratos de 20 meses retorna ao mesmo nível observado em animais de 4 meses é atribuído, pelas autoras, a um mecanismo de adaptação pós-juncional ao aumento crônico da atividade enzimática. Moritoki & col. (1988) sugerem que a diminuição da vasodilatação promovida pela histamina encontrada em ratos senis é devida tanto a uma redução da capacidade de síntese de fator relaxante endotelial como a uma diminuição da produção de monofosfato cíclico de guanina (GMPc).

Como visto, as características fisiológicas e farmacológicas do ducto deferente de rato têm sido intensamente estudadas. Entretanto, os efeitos dos processos de maturação

sexual e de envelhecimento sobre a reatividade deste órgão a diferentes agonistas ainda não estão bem estabelecidos, havendo muita controvérsia a respeito deste assunto. Pareceu-nos útil, portanto, estudar os efeitos da testosterona e do avançar da idade sobre a reatividade farmacológica de ductos deferentes de ratos, procurando caracterizar a influência destes fatores sobre a sensibilidade e a afinidade de receptores alfa-adrenérgicos à noradrenalina e ao prazosin.

2 - OBJETIVOS

São objetivos deste trabalho:

- a) verificar os efeitos dos processos de desenvolvimento e envelhecimento sobre a resposta de ductos deferentes isolados de ratos à noradrenalina, carbacol e cloreto de bário;
- b) analisar a influência da administração de uma dose de testosterona sobre a resposta à noradrenalina e cloreto de bário de ductos deferentes isolados de ratos pré-púberes;
- c) verificar os efeitos dos processos de desenvolvimento e envelhecimento e da administração de uma dose de testosterona sobre a afinidade de ductos deferentes isolados de ratos ao prazosin.

3 - MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1 - ANIMAIS

Utilizamos ratos Wistar (Rattus norvegicus, var. Berkenhout), albinos, fornecidos pelo Centro de Bioterismo da Universidade Estadual de Campinas, distribuídos em três grupos:

- a) ratos pré-púberes (21-23 dias de idade);
- b) ratos jovens (3-4 meses de idade);
- c) ratos senis (22-24 meses de idade).

À exceção dos pré-púberes, os ratos foram mantidos no Biotério do Departamento de Fisiologia e Biofísica por uma semana antes de qualquer manipulação experimental, alojados em gaiolas coletivas, contendo seis animais cada, e submetidos a um ciclo claro/escuro de 12/12 horas (luzes acesas às 7:00 horas). Água e ração padronizada foram fornecidas à vontade. Os ratos pré-púberes foram sacrificados no dia seguinte à sua chegada ao Departamento.

### 3.2 - DUCTO DEFERENTE ISOLADO

Os animais foram sacrificados por um golpe na cabeça seguido de secção dos vasos cervicais. Utilizamos apenas um ducto deferente de cada animal, o qual foi removido, limpo do excesso de tecido conjuntivo e adiposo e preparado para registro isométrico de suas contrações, em cubas para órgão isolado, contendo 7 ml de solução de Krebs-Henseleit, com a seguinte composição (mM): NaCl 115; KCl 4,7; CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 2,5; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1,2; MgSO<sub>4</sub> 2,5; NaHCO<sub>3</sub> 25; glicose

11; ácido ascórbico 0,11. O líquido de incubação foi mantido a 36,5° C e continuamente aerado com 95% O<sub>2</sub>/ 5% CO<sub>2</sub>. As preparações foram submetidas às seguintes tensões:

a) pré-púbere - a tensão aplicada foi aquela necessária para manter a preparação no seu comprimento ótimo. Este foi determinado a partir de curva comprimento-tensão, realizada em cada preparação imediatamente após o período de estabilização. A tensão ótima obtida para ductos deferentes de ratos pré-púberes foi igual a 0,25 ± 0,02 gf;

b) jovem e senil - tensão de 1 gf (Brown & col., 1979; Saban & col., 1982).

As respostas contráteis à adição de agonistas foram registradas através de um transdutor isométrico de tensão Narco Bio-System, modelo F-60, em um fisiógrafo Narco Bio-System, modelo Narcotrace 40.

### 3.3 - CURVAS CONCENTRAÇÃO-EFEITO À NORADRENALINA

As curvas concentração-efeito à noradrenalina (NA) foram obtidas de acordo com os seguintes protocolos:

#### 3.3.1) Controle

Cada tecido foi mantido durante 60 minutos em Krebs-Henseleit, trocado a cada 15 minutos, para estabilização. Em seguida, foi obtida uma curva concentração-efeito à NA, pelo método das doses isoladas. O tempo de contato do

agonista com a preparação foi aquele necessário para que a resposta atingisse o seu valor máximo, até o limite de três minutos. O intervalo entre as doses foi de 15 minutos.

### 3.3.2) Bloqueio dos mecanismos de captação e dos adrenoceptores beta

Após um período de equilíbrio de 45 minutos, com troca da solução de Krebs-Henseleit a cada 15 minutos, os ductos deferentes foram submetidos a desnervação *in vitro* com 6-hidroxi-dopamina (6-OHDA), de acordo com o método proposto por Aprigliano & Hermsmeyer (1976), modificado por Callia & De Moraes (1984): o líquido de incubação foi trocado por uma solução de igual composição, exceto que foram suprimidos o  $\text{NaHCO}_3$  e o  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , e adicionados glutathiona ( $2 \times 10^{-5}\text{M}$ ) e 6-OHDA ( $1,2 \times 10^{-5}\text{M}$ ). Esta solução permaneceu em contato com a preparação por 15 minutos.

A seguir o tecido foi lavado e tratado com solução de Krebs-Henseleit, contendo  $2 \times 10^{-6}\text{M}$  de beta-estradiol, para inibir a captação extra-neuronal (Iversen & Salt, 1970);  $10^{-7}\text{M}$  de propranolol, para bloquear adrenoceptores beta (Doxey & col., 1977);  $10^{-5}\text{M}$  de cocaína, para bloquear a captação neuronal (Ruffolo & col., 1982). Foi permitido, então, um novo período de equilíbrio, de 60 minutos, com troca da solução a cada 15 minutos. Foram obtidas curvas concentração-efeito à NA na presença de beta-estradiol, propranolol e cocaína, pelo método das doses isoladas. O tempo de contato de cada dose de NA com o tecido foi aquele necessário para determinar o pico máximo de contração, até o limite de três minutos. O intervalo entre as doses foi de 15 minutos. Em alguns experimentos o bloqueio da captação neuronal foi obtido por adição de desipramina ( $10^{-7}\text{M}$ ) (Takaiyanagi & col., 1987) ao líquido de incubação.

### 3.3.3) Curvas sem bloqueio da captação neuronal

Foram realizadas curvas concentração-efeito à NA em ductos deferentes isolados submetidos ao mesmo tratamento descrito no item 3.3.2, à exceção da cocaína.

## 3.4 - CURVAS CONCENTRAÇÃO-EFEITO AO CARBACOL E AO CLORETO DE BÁRIO

Após um período de equilíbrio de 60 minutos em solução de Krebs-Henseleit trocada a cada 15 minutos, foram obtidas curvas concentração-efeito ao carbacol (Cch) ou Cloreto de Bário ( $Ba^{++}$ ). Nos experimentos realizados com  $Ba^{++}$  a solução de Krebs-Henseleit foi substituída por uma solução tampão descrita por Jurkiewicz, N.H. & col. (1977), com a seguinte composição (mM): NaCl 138; KCl 5,7;  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  1,8;  $NaH_2PO_4$  0,36;  $NaHCO_3$  15; glicose 5,5. Este tampão foi utilizado para evitar a precipitação dos sais na presença de concentrações molares elevadas de  $Ba^{++}$ . O tempo de contato foi aquele necessário para o registro do pico máximo de contração, até o limite de três minutos, no caso do Cch. O intervalo entre as doses foi de 15 minutos.

## 3.5 - AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE

Variações de sensibilidade foram avaliadas pela determinação das  $CE_{50}$ , que correspondem às concentrações molares de agonista que determinam uma resposta correspondente a 50% da resposta máxima. Os valores médios das  $CE_{50}$  são apresentados acompanhados por seus respectivos intervalos de confiança para 95% (Fleming & col., 1972). Ao final

dos experimentos, os ductos deferentes foram pesados para cálculo da tensão desenvolvida por 100 mg de peso úmido de tecido.

### 3.6 - DETERMINAÇÃO DO VALOR $pA_2$ DO PRAZOSIN

O valor  $pA_2$  do prazosin, um antagonista competitivo seletivo para adrenocetores alfa-1 (U'Prichard & col., 1978), foi determinado segundo Arunlakshana & Schild (1959). Cada par de ductos deferentes provenientes do mesmo rato foi preparado para registro isométrico da tensão desenvolvida em duas cubas para órgão isolado. Os tecidos foram submetidos ao tratamento descrito no item 3.3.2. Prazosin (1 a 100 nM) foi adicionado a uma das cubas, diluído no líquido de incubação. Após 60 minutos, foram obtidas curvas concentração-efeito à noradrenalina em ambos os tecidos. As  $CE_{50}$  obtidas na presença e na ausência do prazosin foram utilizadas para o cálculo da razão entre concentrações equi-efetivas (CR) e o valor  $pA_2$  foi calculado pela seguinte equação (MacKay, 1978):

$$pA_2 = \log (CR - 1) - \log [B],$$

onde [B] corresponde à concentração molar do antagonista. O valor  $pA_2$  só foi considerado válido quando o coeficiente angular da reta de regressão do gráfico de Schild não diferiu estatisticamente de 1,0.

### 3.7 - TRATAMENTO COM TESTOSTERONA

Um grupo de ratos pré-púberes foi tratado com testosterona dissolvida em óleo de amendoim (Calixto & col., 1983), por via subcutânea, na dose de 1 mg/kg, 24 horas antes do experimento.

### 3.8 - ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram avaliados pelo teste t de Student e análise monofatorial de variância. As regressões lineares foram determinadas pelo método dos quadrados mínimos (Snedecor & Cochran, 1967). Foram considerados estatisticamente significativos valores de  $P < 0,05$ .

### 3.9 - FÁRMACOS, SAIS E SOLUÇÕES

Foram utilizados os seguintes fármacos: cloridrato de (-)-noradrenalina, hidrobrometo de 6-hidroxiopamina, cloridrato de (±)-propranolol, beta-estradiol-3-benzoato, cloridrato de prazosin, propionato de testosterona, cloridrato de desipramina e glutathione ácido livre (Sigma Co.); cloridrato de cocaína, cloreto de bário e carbacol (Merck AG). Todos os sais utilizados eram padrão A.C.S.

As soluções foram preparadas previamente em água desionizada e diluídas em Krebs-Henseleit imediatamente antes do uso, à exceção do beta-estradiol, que foi dissolvido em etanol, e da testosterona, dissolvida em óleo de amendoim.

#### 4 - RESULTADOS

A figura 1 mostra as curvas concentração-efeito à noradrenalina obtidas em ductos deferentes isolados de ratos pré-púberes, jovens e senis. Estes tecidos não receberam nenhum tratamento *in vitro* previamente à obtenção das curvas. Não foi encontrado desvio significativo entre as três curvas, ao nível da CE<sub>50</sub>, indicando que não há diferença de sensibilidade à noradrenalina em ductos deferentes de ratos pré-púberes, jovens e senis (tabela 1).

Na figura 2 estão representadas as curvas concentração-efeito à noradrenalina obtidas em ductos deferentes de ratos após desnervação *in vitro* com 6-hidroxiopamina e na presença de beta-estradiol, propranolol e cocaína. Este tratamento determinou um desvio significativo à esquerda na curva concentração-efeito à noradrenalina de animais jovens (6,7 vezes), senis (23,8 vezes) e pré-púberes (40,4 vezes). O grupo pré-púbere passou a apresentar supersensibilidade à noradrenalina em relação aos grupos jovem e senil (tabela 2). Este último, por sua vez, apresentou-se supersensível a este mesmo agonista, em relação ao grupo jovem ( $P < 0,05$ ).

As curvas concentração-efeito à noradrenalina obtidas na presença de beta-estradiol e propranolol (figura 3) foram deslocadas à direita em relação às curvas obtidas na presença de beta-estradiol, propranolol e cocaína. Esse desvio foi significativo tanto para canais deferentes de ratos jovens (8,9 vezes) como para aqueles de animais pré-púberes (18,4 vezes). Estes últimos, porém, continuaram a apresentar supersensibilidade à noradrenalina, em relação ao grupo jovem (tabela 3), mantendo um desvio de 2,8 vezes.

A figura 4 apresenta as curvas concentração-efeito à noradrenalina obtidas em ductos deferentes de ratos pré-púberes em três condições experimentais: não submetidos a pré-tratamento; pré-tratados *in vitro* com beta-estradiol e propranolol; e pré-tratados *in vitro* com beta-estradiol,

propranolol e desipramina ( $10^{-7}M$ ). O pré-tratamento foi realizado após desnervação com  $\delta$ -hidroxidopamina. O bloqueio dos adrenoreceptores beta e do processo de captação extra-neuronal promoveu um desvio de 2,2 vezes à esquerda na curva concentração-efeito, ao nível da  $CE_{50}$  ( $P < 0,05$ ). O bloqueio adicional do processo de captação neuronal desviou a curva concentração-efeito ainda mais para a esquerda (41,8 vezes em relação ao grupo não submetido a pré-tratamento), indicando grande atividade da captação neuronal nesta preparação.

Na figura 5 são apresentadas as curvas concentração-efeito à noradrenalina obtidas em ductos deferentes de ratos jovens nas mesmas condições experimentais descritas para a figura 4, exceto que o bloqueio da captação neuronal foi feito com cocaína. O bloqueio dos adrenoreceptores beta e da captação extra-neuronal não promoveu desvio significativo na curva concentração-efeito, a nível da  $CE_{50}$ . A adição de cocaína ao líquido de incubação promoveu um desvio de 6,6 vezes para a esquerda ( $P < 0,05$ ). Estes resultados indicam redução de atividade dos processos de captação neuronal e extra-neuronal em ductos deferentes isolados de ratos de três meses, quando comparados àqueles de ratos com 21 dias de idade.

A diferença de sensibilidade à noradrenalina (5,9 vezes) observada entre os grupos pré-púbere e jovem levou-nos a realizar curvas concentração-efeito a este agonista em ductos deferentes de ratos pré-púberes tratados *in vivo* com uma dose de testosterona. O tratamento hormonal provocou um desvio à direita da curva concentração-efeito, eliminando a diferença de sensibilidade entre animais pré-púberes e jovens (figura 6 e tabela 4).

A resposta máxima à noradrenalina, expressa em gramas de tensão desenvolvidas por 100 miligramas de peso úmido de tecido, apresentou redução associada ao avançar da

idade, não importando o protocolo utilizado.

Em ductos deferentes de ratos que não receberam nenhum tipo de tratamento (tabela 1) a resposta máxima à noradrenalina foi cinco vezes maior no grupo pré-púbere que no grupo jovem e seis vezes maior do que no grupo senil ( $P < 0,05$ ). Não houve diferença entre os grupos jovem e senil.

A desnervação, seguida de tratamento com beta-estradiol, propranolol e cocaína, reduziu a resposta máxima de ductos pré-púberes em 50%, não afetando a resposta obtida em ductos deferentes de ratos jovens. O grupo pré-púbere continuou apresentando diferença significativa em relação aos outros dois grupos. A resposta máxima de ductos deferentes de ratos senis foi reduzida em 29%, tornando-se significativamente menor que a resposta máxima observada no grupo jovem (tabela 2).

Na tabela 3 são apresentados os valores de resposta máxima obtidos em ductos deferentes de ratos pré-púberes e jovens submetidos a desnervação *in vitro* com 6-hidroxidopamina e pré-tratamento com beta-estradiol e propranolol. A retirada da cocaína do líquido de incubação restabeleceu a resposta máxima observada em ductos deferentes de ratos pré-púberes que não receberam nenhum tipo de pré-tratamento e não afetou aquela de ductos adultos. No grupo pré-púbere a resposta foi cinco vezes maior que no grupo jovem ( $P < 0,05$ ). A substituição de cocaína por desipramina ( $10^{-7}M$ ) na solução de Krebs-Henseleit também não provocou redução da resposta máxima de canais deferentes de ratos pré-púberes, quando comparados a experimentos em que o pré-tratamento não foi realizado (tabela 5).

O tratamento *in vivo* com testosterona, embora tenha alterado a sensibilidade à noradrenalina do ducto defe-

rente do rato pré-púbere, não produziu o mesmo efeito sobre a resposta máxima, que se manteve igual à do grupo que não recebeu o tratamento e maior que a do grupo jovem (tabela 4).

Não observamos diferenças de sensibilidade ao carbacol entre ductos deferentes de ratos pré-púberes, jovens e senis (figura 7 e tabela 6). A resposta máxima (tabela 6) encontrada no grupo pré-púbere foi quatro vezes maior que aquela dos grupos jovem e senil ( $P < 0,05$ ). Não houve diferença entre os grupos jovem e senil. Quando comparamos as tabelas 1 e 6, observamos que a resposta máxima ao carbacol em ductos deferentes de ratos pré-púberes é significativamente menor que a resposta máxima à noradrenalina. Em ductos deferentes de ratos jovens e senis essa diferença não foi observada.

A sensibilidade dos ductos deferentes ao cloreto de bário foi igual em todos os grupos estudados, não havendo qualquer desvio significativo entre as curvas concentração-efeito (figura 8 e tabela 7). A resposta máxima foi significativamente maior no grupo pré-púbere que nos grupos adulto e senil, sendo que não foi encontrada diferença entre estes últimos (tabela 7). O tratamento *in vivo* com testosterona reduziu a resposta máxima ao cloreto de bário em ductos deferentes de ratos pré-púberes, ao contrário do que ocorreu nas curvas concentração-efeito à noradrenalina, quando tal pré-tratamento não alterou a resposta máxima, mas sim a sensibilidade (tabela 4).

O uso do antagonista competitivo prazosin, seletivo para adrenoreceptores do subtipo alfa-1, provocou um desvio à direita, dependente de concentração, das curvas concentração-efeito à noradrenalina, com recuperação da resposta máxima. Em todos os grupos estudados, o coeficiente angular da reta de regressão do gráfico de Schild não diferiu signifi-

cativamente de 1,0 (tabela 8). Assim sendo, o valor  $pA_2$  obtido para o prazosin representa a constante de afinidade aparente da população de adrenocetores pelo antagonista. A figura 9 e a tabela 8 mostram que, em ductos deferentes isolados de animais pré-púberes o valor  $pA_2$  é 21 vezes maior do que aquele de canais deferentes isolados de animais jovens ( $P < 0,05$ ). Este resultado indica que, em animais pré-púberes, a afinidade da população de adrenocetores alfa-1 pelo prazosin é maior do que a de animais jovens. Apesar de menor (seis vezes), a diferença entre os valores  $pA_2$  obtidos nos grupos pré-púbere e senil permanece significativa. O tratamento com testosterona alterou o valor  $pA_2$  do prazosin em ductos deferentes de ratos pré-púberes, tornando-o semelhante àqueles obtidos para os grupos jovem e senil. Este grupo, por sua vez, apresentou valor  $pA_2$  estatisticamente maior que o do grupo jovem (2,2 vezes).

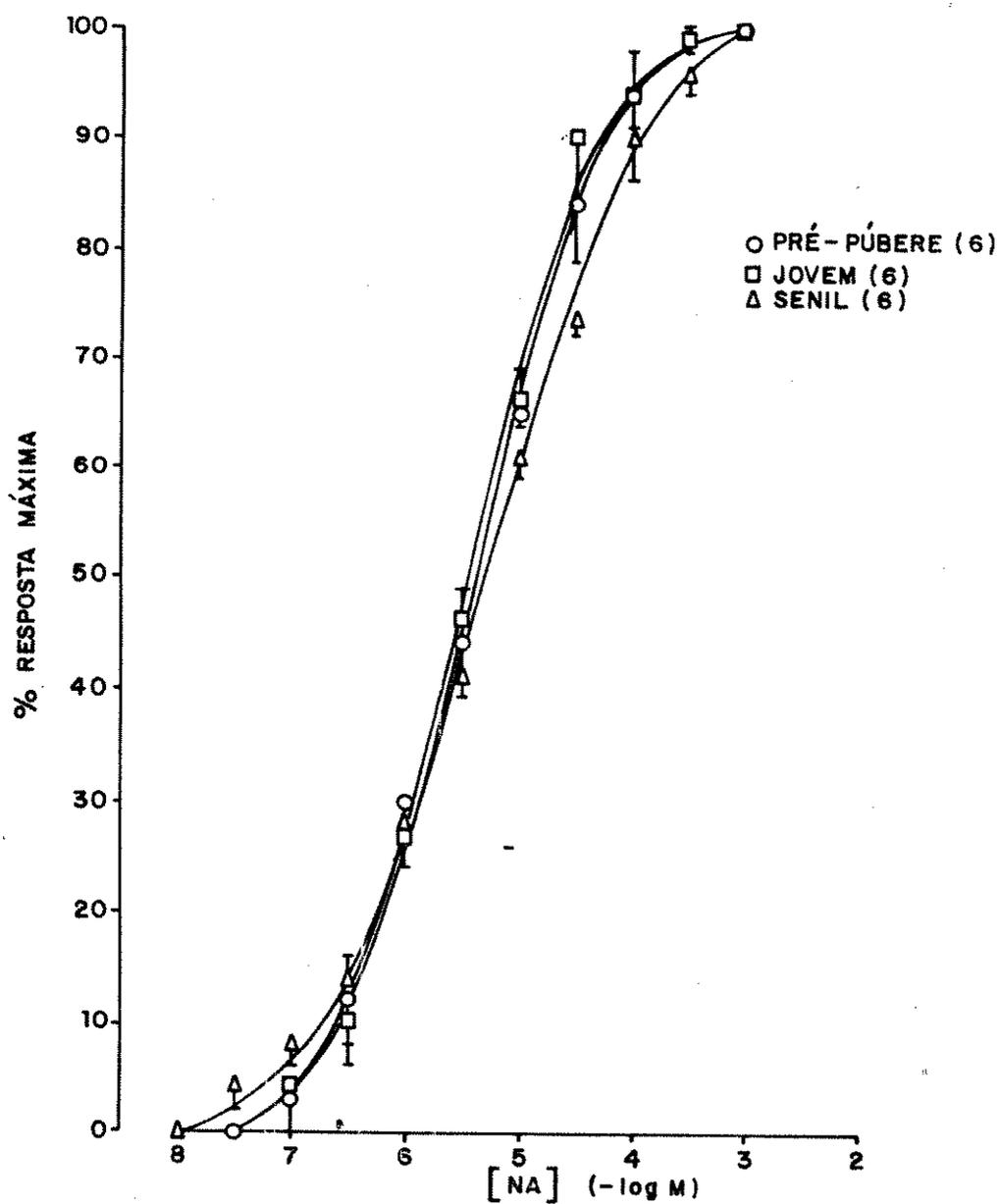


Figura 1 - Curvas concentração-efeito à noradrenalina (NA) obtidas em ductos deferentes de ratos pré-púberes, jovens e senis. As barras verticais indicam o erro padrão da média. O número de experimentos está indicado entre parênteses.

Tabela 1 - Resposta à noradrenalina em ductos deferentes de ratos pré-púberes (FUB), jovens (JOV) e senis (SE).

	CE <sub>50</sub> (x10 <sup>-7</sup> M)(a)	Razão(b)	R.Máx.(c) ± EP(d)	n(e)
FUB	40,4 (28,8 - 56,7)	1,1	20,5 ± 2,4	6
JOV	38,0 (27,0 - 53,6)	---	4,1 ± 0,4*	6
SE	52,4 (37,2 - 73,8)	1,4	3,4 ± 0,5*	6

(a) Concentração do agonista que produz uma resposta correspondente a 50% da resposta máxima acompanhada do intervalo de confiança para 95%

(b) Razão entre as CE<sub>50</sub>

(c) Resposta máxima média expressa em gramas de tensão desenvolvidas por 100 miligramas de peso úmido de tecido

(d) Erro Padrão da Média

(e) Número de experimentos

\* Diferença significativa em relação ao grupo pré-púbere (P < 0,05)

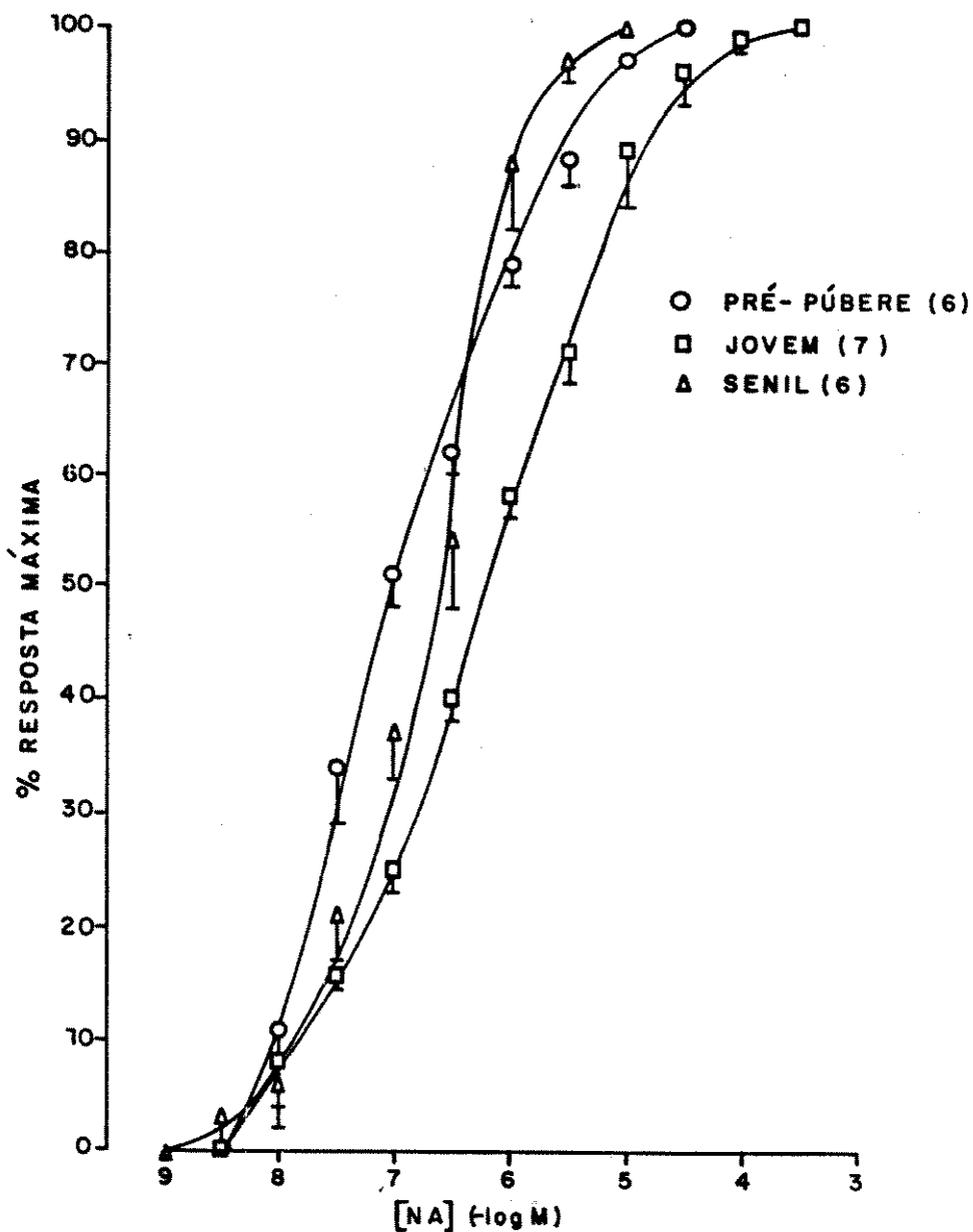


Figura 2 - Curvas concentração-efeito à noradrenalina (NA) obtidas em ductos deferentes de ratos pré-púberes, jovens e senis submetidos a desnervação *in vitro* com 6-hidroxidopamina e pré-tratamento com beta-estradiol ( $2 \times 10^{-6}M$ ), propranolol ( $10^{-7}M$ ) e cocaína ( $10^{-5}M$ ). As barras verticais indicam o erro padrão da média. O número de experimentos está indicado entre parênteses.

**Tabela 2** - Resposta à noradrenalina em ductos deferentes de ratos pré-púberes (PUB), jovens (JOV) e senis (SE) submetidos a desnervação *in vitro* com 6-hidroxidopamina e pré-tratamento com beta-estradiol ( $2 \times 10^{-6} M$ ), propranolol ( $10^{-7} M$ ) e cocaína ( $10^{-5} M$ )

	CE <sub>50</sub> ( $\times 10^{-7} M$ ) (a)	Razão (b)	R. Máx (c) ± EPM (d)	n (e)
PUB	1,0 (0,5 - 1,9)	40,4	10,4 ± 1,2	6
JOV	5,7* (3,3 - 9,9)	6,7	4,5 ± 0,7*	7
SE	2,1*! (1,1 - 4,1)	23,8	2,4 ± 0,6*!	6

(a) Concentração do agonista que produz uma resposta correspondente a 50% da resposta máxima acompanhada do intervalo de confiança para 95%

(b) Razão em relação aos experimentos da tabela 1

(c) Resposta máxima média expressa em gramas de tensão desenvolvidas por 100 miligramas de peso úmido de tecido

(d) Erro Padrão da Média

(e) Número de experimentos

\* Diferença significativa em relação ao grupo pré-púbere (P < 0,05)

! Diferença significativa em relação ao grupo jovem (P < 0,05)

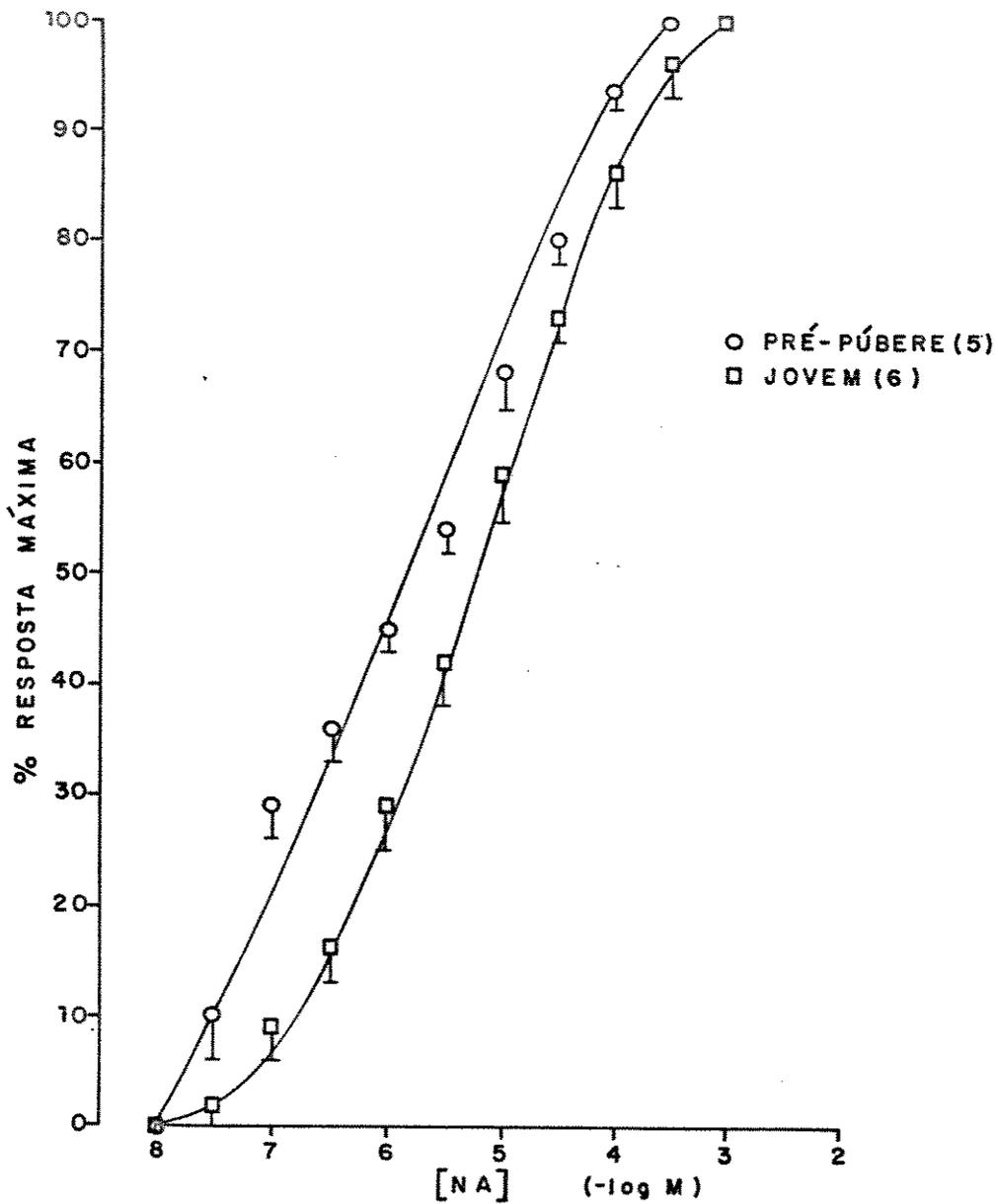


Figura 3 - Curvas concentração-efeito à noradrenalina (NA) obtidas em ductos deferentes de ratos pré-púberes e jovens submetidos a desnervação *in vitro* com 6-hidroxidopamina e pré-tratamento com beta-estradiol ( $2 \times 10^{-6}$  M) e propranolol ( $10^{-7}$  M). As barras verticais indicam o erro padrão da média. O número de experimentos está indicado entre parênteses.

**Tabela 3** - Resposta à noradrenalina em ductos deferentes de ratos pré-púberes (PUB) e jovens (JOV), submetidos a desnervação *in vitro* com 6-hidroxiopamina e pré-tratamento com beta-estradiol ( $2 \times 10^{-6}M$ ) e propranolol ( $10^{-7}M$ )

	CE <sub>50</sub> ( $\times 10^{-7}M$ ) (a)	Razão (b)	R. Máx (c) ± EPM (d)	n (e)
PUB	18,4 (10,7 - 31,8)	18,4	20,2 ± 2,0	5
JOV	50,8* (25,3 - 102,0)	8,9	4,1 ± 0,4*	6

(a) Concentração do agonista que produz uma resposta correspondente a 50% da resposta máxima acompanhada do intervalo de confiança para 95%

(b) Razão em relação aos experimentos da tabela 2

(c) Resposta máxima média expressa em gramas de tensão desenvolvidas por 100 miligramas de peso úmido de tecido

(d) Erro Padrão da Média

(e) Número de experimentos

\* Diferença significativa em relação ao grupo pré-púbere (P < 0,05)

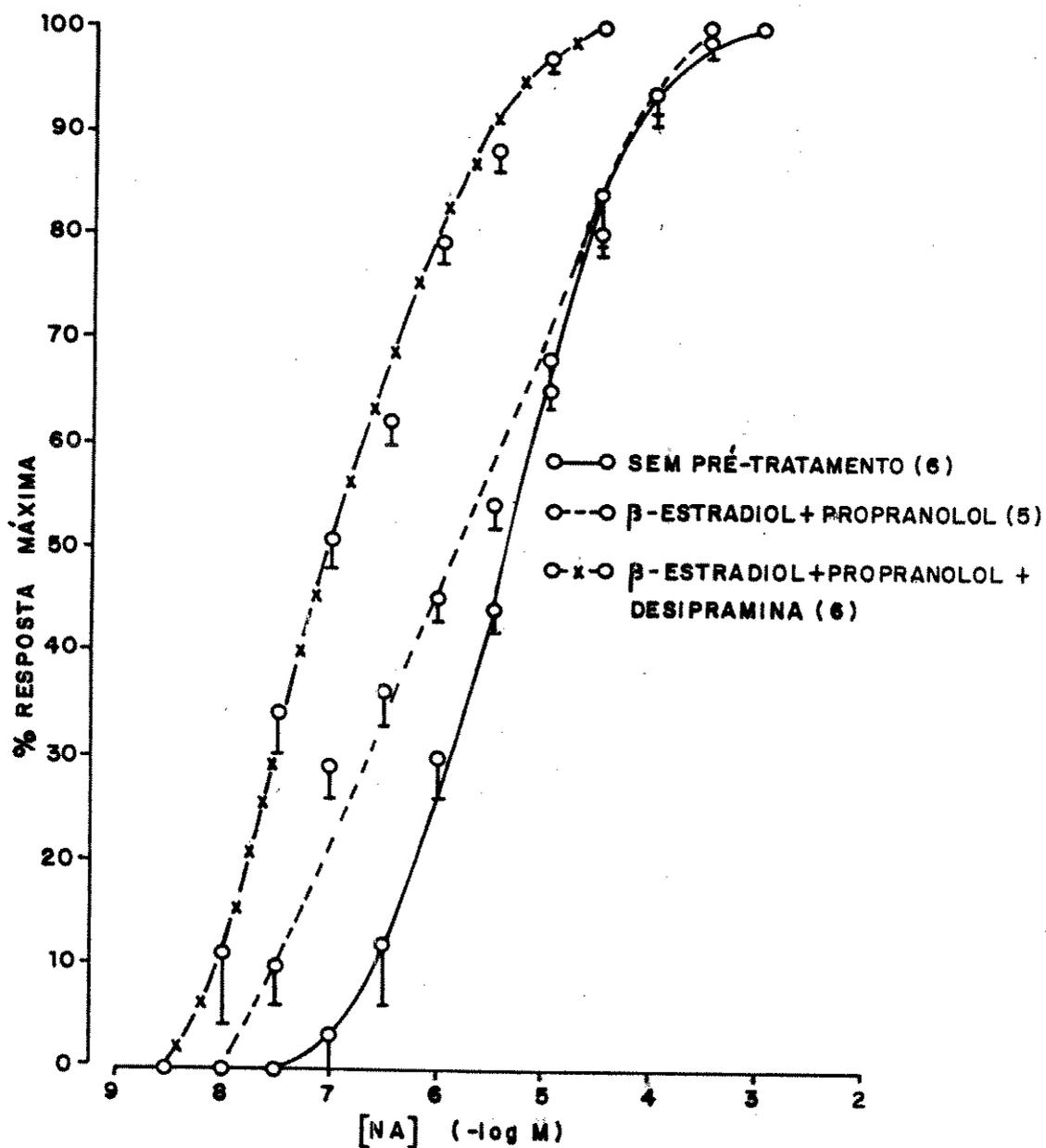


Figura 4 - Curvas concentração-efeito à noradrenalina (NA) obtidas em ductos deferentes de ratos pré-púberes em três condições experimentais: sem pré-tratamento, pré-tratados *in vitro* com beta-estradiol ( $2 \times 10^{-6}M$ ) e propranolol ( $10^{-7}M$ ) e pré-tratados *in vitro* com beta-estradiol ( $2 \times 10^{-6}M$ ), propranolol ( $10^{-7}M$ ) e desipramina ( $10^{-7}M$ ). O pré-tratamento *in vitro* foi realizado após desnervação com 6-hidroxidopamina. As barras verticais indicam o erro padrão da média. O número de experimentos está indicado entre parênteses.

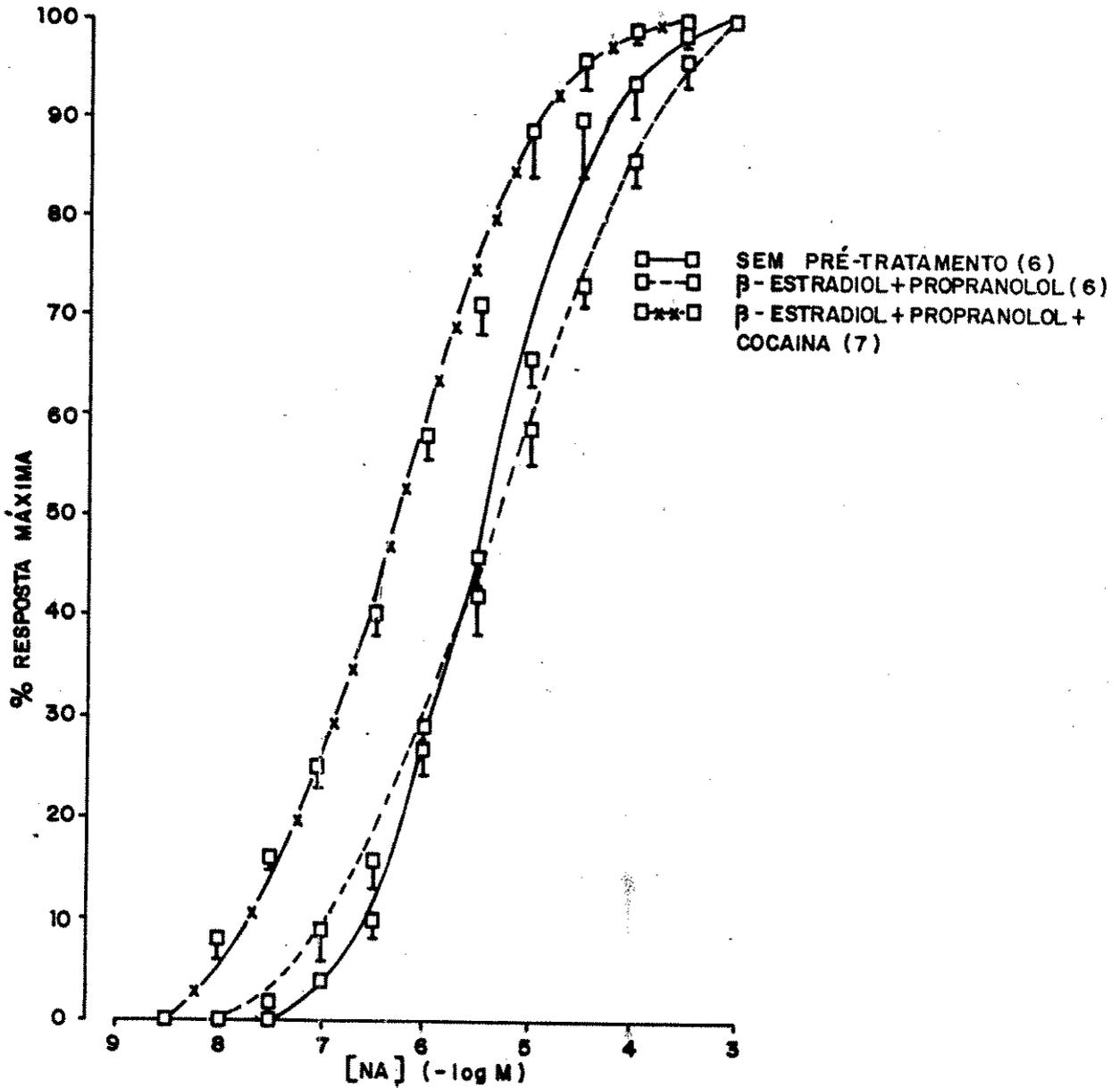


Figura 5 - Curvas concentração-efeito à noradrenalina (NA) obtidas em ductos deferentes de ratos jovens em três condições experimentais: sem pré-tratamento, pré-tratados *in vitro* com beta-estradiol ( $2 \times 10^{-6}M$ ) e propranolol ( $10^{-7}M$ ) e pré-tratados *in vitro* com beta-estradiol ( $2 \times 10^{-6}M$ ), propranolol ( $10^{-7}M$ ) e cocaína ( $10^{-5}M$ ). O pré-tratamento *in vitro* foi realizado após desnervação com 6-hidro-xidopamina. As barras verticais indicam o erro padrão da média. O número de experimentos está indicado entre parênteses.

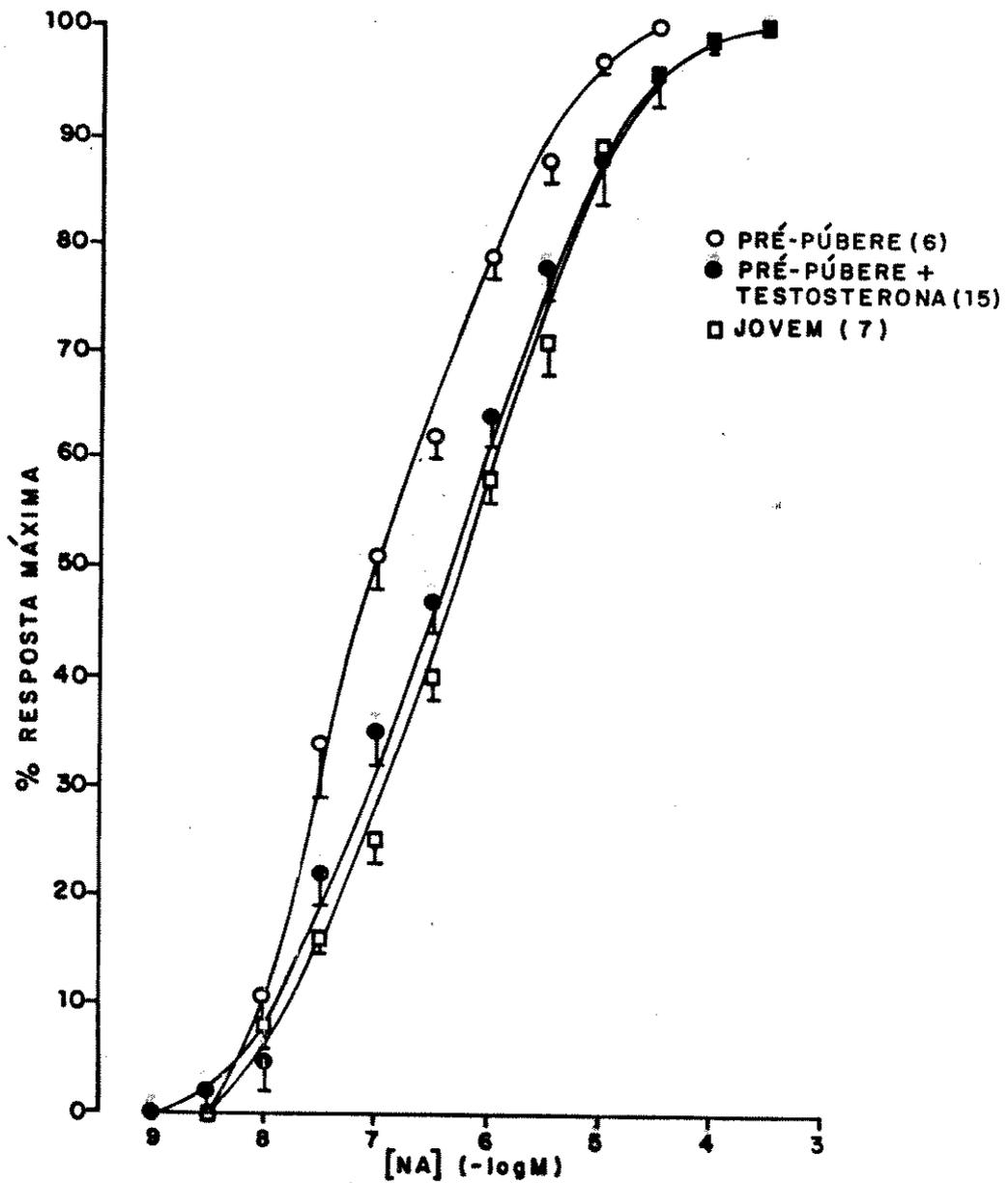


Figura 6 - Curvas concentração-efeito à noradrenalina (NA) obtidas em ductos deferentes de ratos pré-púberes tratados ou não com testosterona (1 mg/kg, SC, 24 horas antes do experimento) e jovens submetidos a desnervação *in vitro* com 6-hidroxidopamina e pré-tratamento com beta-estradiol ( $2 \times 10^{-6}$ M), propranolol ( $10^{-7}$ M) e cocaína ( $10^{-5}$ M). As barras verticais indicam o erro padrão da média. O número de experimentos está indicado entre parênteses.

**Tabela 4** - Resposta à noradrenalina em ductos deferentes de ratos pré-púberes tratados (PUBT) ou não (PUB) com testosterona e jovens (JOV), submetidos a desnervação *in vitro* com 6-hidroxidopamina e pré-tratamento com beta-estradiol ( $2 \times 10^{-6}M$ ), propranolol ( $10^{-7}M$ ) e cocaína ( $10^{-5}M$ ).

	CE <sub>50</sub> ( $\times 10^{-7}M$ )(a)	Razão(b)	R.Máx(c) $\pm$ EP(d)	n(e)
PUB	1,0 (0,5 - 1,9)	0,2	10,4 $\pm$ 1,2	6
PUBT(f)	3,7* (2,2 - 6,3)	0,7	11,9 $\pm$ 0,8	15
JOV	5,7* (3,3 - 9,9)	---	4,5 $\pm$ 0,7*	7

(a) Concentração do agonista que produz uma resposta correspondente a 50% da resposta máxima acompanhada do intervalo de confiança para 95%

(b) Razão entre as CE<sub>50</sub>

(c) Resposta máxima média expressa em gramas de tensão desenvolvidas por 100 miligramas de peso úmido de tecido

(d) Erro Padrão da Média

(e) Número de experimentos

(f) 1 mg/kg, subcutâneo, 24 horas antes do experimento

\* Diferença significativa em relação ao grupo pré-púbere (P < 0,05)

**Tabela 5** - Resposta máxima à noradrenalina em ductos deferentes de ratos pré-púberes (PUB) e jovens (JOV) submetidos a desnervação *in vitro* com 6-hidroxidopamina e pré-tratamento com beta-estradiol ( $2 \times 10^{-6}M$ ), propranolol ( $10^{-7}M$ ) e desipramina ( $10^{-7}M$ ).

	R. Máx. (a) $\pm$ EPM (b)	n (c)
PUB	23,7 $\pm$ 1,7	6
JOV	3,4 $\pm$ 0,3*	7

(a) Resposta máxima média expressa em gramas de tensão desenvolvidas por 100 miligramas de peso úmido de tecido

(b) Erro Padrão da Média

(c) Número de experimentos

\* Diferença significativa em relação ao grupo pré-púbere (P < 0,05)

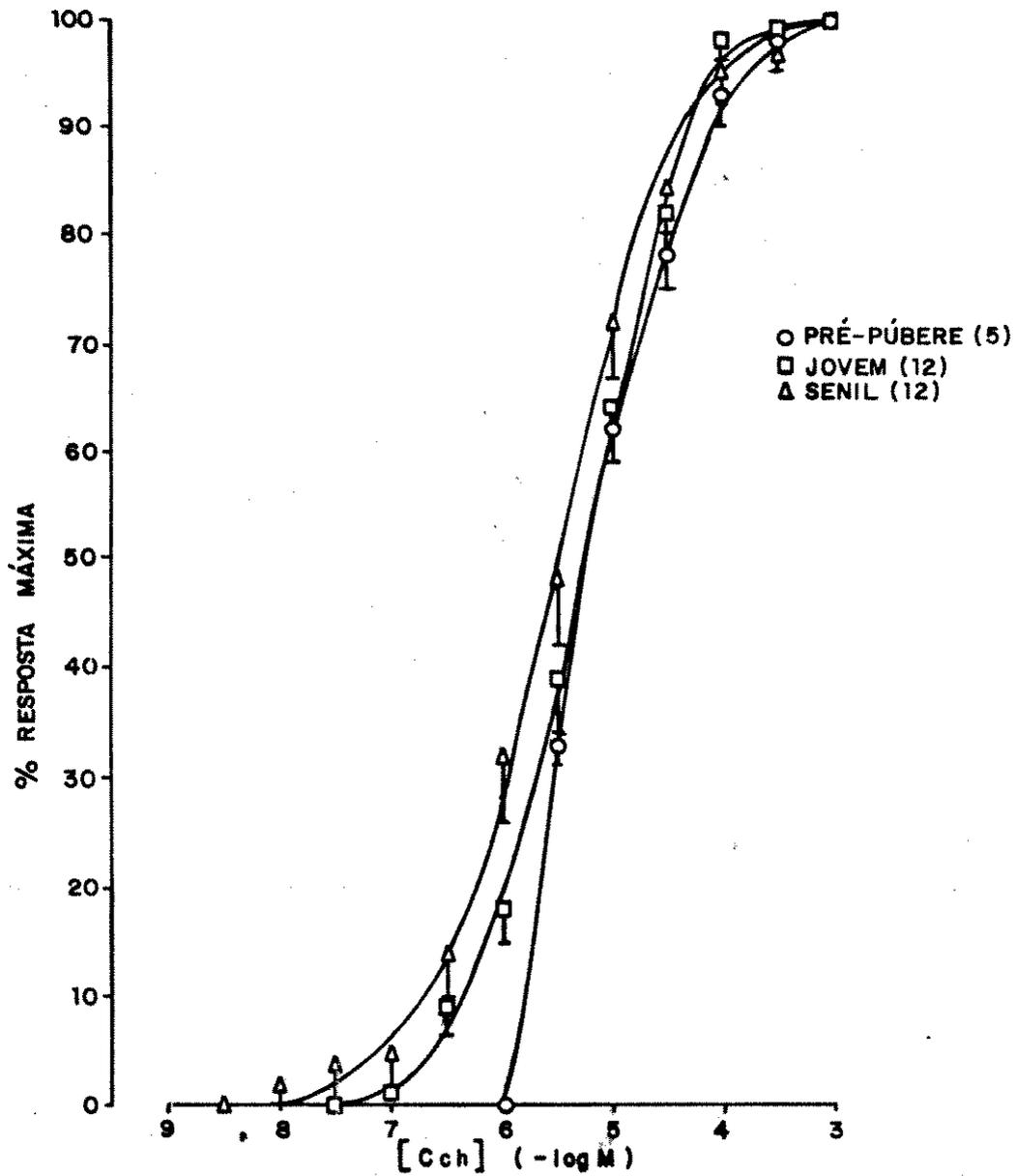


Figura 7 - Curvas concentração-efeito ao carbacol (Cch) obtidas em ductos deferentes de ratos pré-púberes, jovens e senis. As barras verticais indicam o erro padrão da média. O número de experimentos está indicado entre parênteses.

**Tabela 6** - Resposta ao carbacol em ductos deferentes de ratos pré-púberes (PUB), jovens (JOV) e senis(SE).

	CE <sub>50</sub> (x10 <sup>-6</sup> M) (a)	Razão <sup>(b)</sup>	R.Máx <sup>(c)</sup> ± EPM <sup>(d)</sup>	n <sup>(e)</sup>
PUB	6,3 (4,8 - 8,3)	1,2	12,2 ± 1,3	5
JOV	5,3 (3,3 - 8,6)	---	2,9 ± 0,5*	12
SE	3,5 (1,9 - 6,4)	0,7	2,9 ± 0,4*	12

(a) Concentração do agonista que produz uma resposta correspondente a 50% da resposta máxima acompanhada do intervalo de confiança para 95%

(b) Razão entre as CE<sub>50</sub>

(c) Resposta máxima média expressa em gramas de tensão desenvolvidas por 100 miligramas de peso úmido de tecido

(d) Erro Padrão da Média

(e) Número de experimentos

\* Diferença significativa em relação ao grupo pré-púbere (P < 0,05)

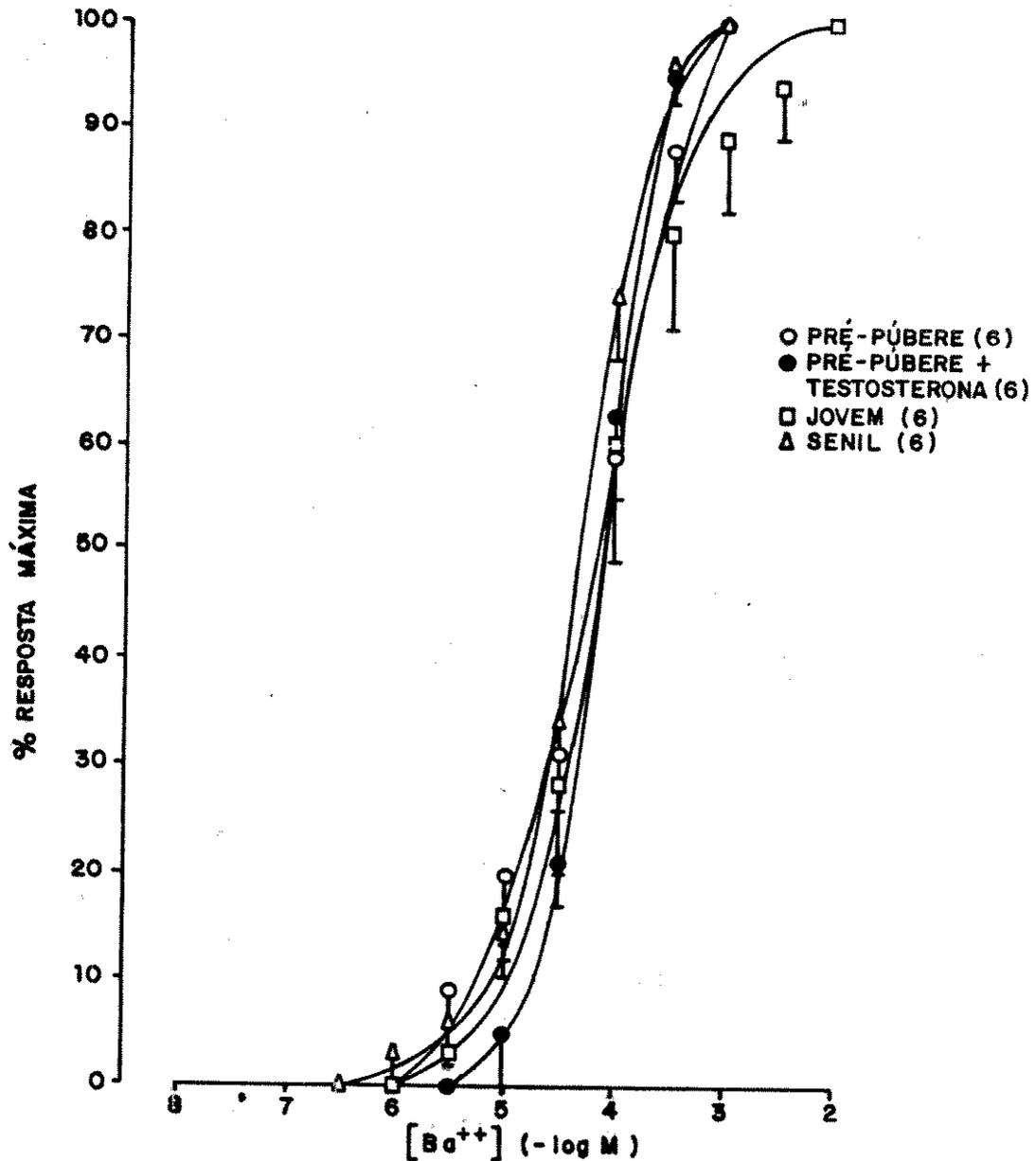


Figura 8 - Curvas concentração-efeito ao cloreto de bário ( $Ba^{++}$ ) obtidas em ductos deferentes de ratos pré-púberes tratados ou não com testosterona (1 mg/kg, SC, 24 horas antes do experimento), jovens e senis. As barras verticais indicam o erro padrão da média. O número de experimentos está indicado entre parênteses.

**Tabela 7** - Resposta ao cloreto de bário em ductos deferentes de ratos pré-púberes tratados (PUBT) ou não (PUB) com testosterona, jovens (JOV) e senis(SE).

	CE <sub>50</sub> ( $\times 10^{-5}$ M)(a)	Razão(b)	R.Máx(c) $\pm$ EP(d)	n(e)
PUB	6,8 (4,7 - 9,8)	0,8	24,7 $\pm$ 2,1	6
PUBT(f)	7,0 (5,2 - 9,5)	0,8	17,8 $\pm$ 0,9*	6
JOV	8,4 (2,6 - 26,4)	---	6,3 $\pm$ 1,2*#	6
SE	5,1 (3,4 - 7,6)	0,6	4,3 $\pm$ 0,6*#	6

(a) Concentração do agonista que produz uma resposta correspondente a 50% da resposta máxima acompanhada do intervalo de confiança para 95%

(b) Razão entre as CE<sub>50</sub>

(c) Resposta máxima média expressa em gramas de tensão desenvolvidas por 100 miligramas de peso úmido de tecido

(d) Erro Padrão da Média

(e) Número de experimentos

(f) 1 mg/kg, subcutâneo, 24 horas antes do experimento

\* Diferença significativa em relação ao grupo pré-púbere (P < 0,05)

# Diferença significativa em relação ao grupo pré-púbere tratado com testosterona (P < 0,05)

**Tabela 8** - Valor  $pA_2$  do prazosin em ductos deferentes de ratos pré-púberes tratados (PUBT) ou não (PUB) com testosterona, jovens (JOV) e senis (SE).

	$pA_2^{(a)} \pm EPM^{(b)}$	Coef. Ang. (c) $\pm EPM^{(b)}$	r	n (d)
PUB	$9,6 \pm 0,1$	$0,78 \pm 0,26$	0,96	16
PUBT (e)	$8,6 \pm 0,1^*$	$1,07 \pm 0,10$	0,67	24
JOV	$8,3 \pm 0,1^*$	$1,14 \pm 0,14$	0,95	14
SE	$8,8 \pm 0,1^*!$	$1,11 \pm 0,12$	0,82	11

(a) Logaritmo negativo da constante de dissociação do antagonista

(b) Erro Padrão da Média

(c) Coeficiente angular da reta de regressão do gráfico de Schild

(d) Número de experimentos

(e) 1 mg/kg, subcutâneo, 24 horas antes do experimento

\* Diferença significativa em relação ao grupo pré-púbere  
( $P < 0,05$ )

! Diferença significativa em relação ao grupo jovem  
( $P < 0,05$ )

r Coeficiente de correlação

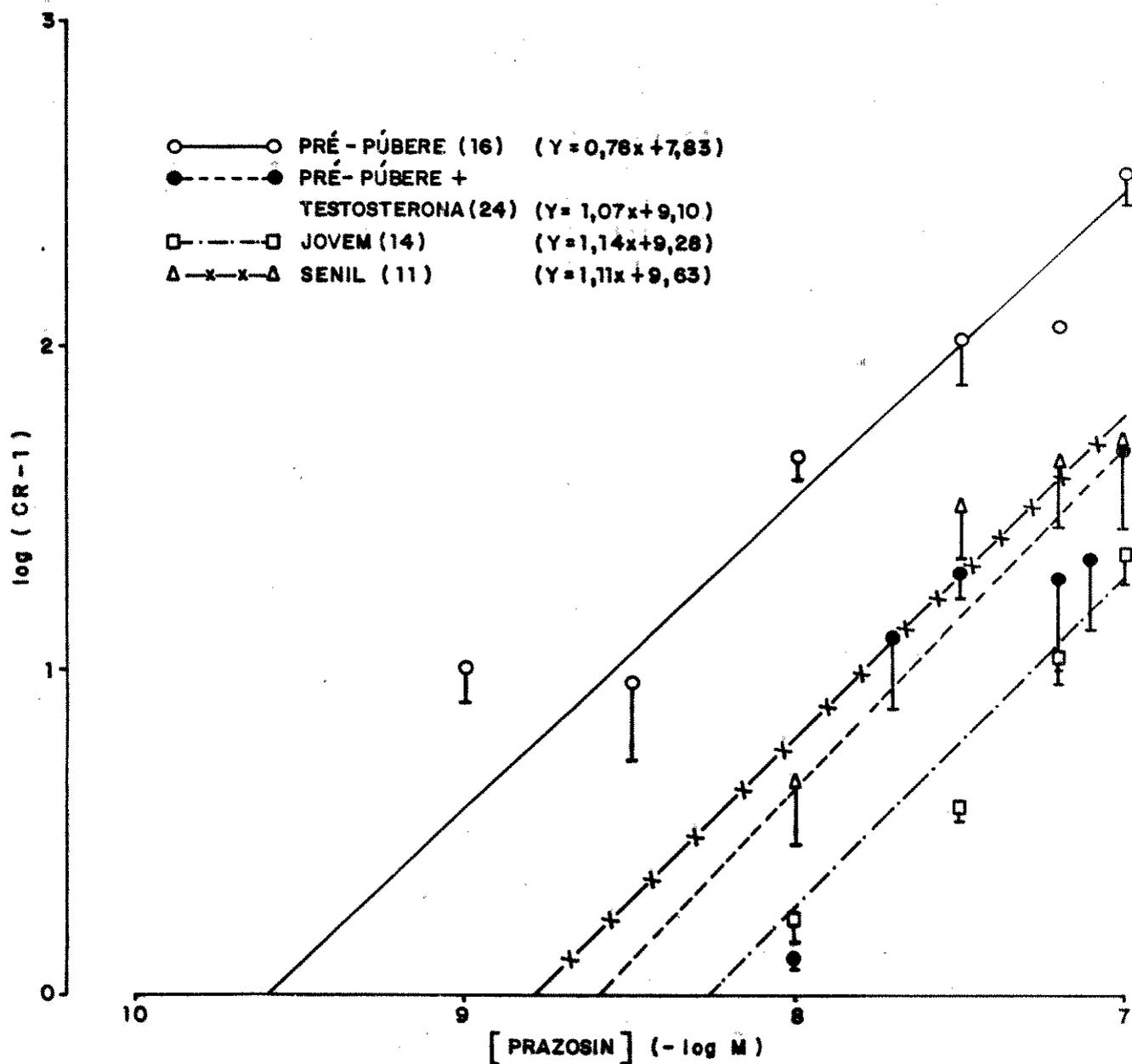


Figura 9 - Gráficos de Schild obtidos em ductos deferentes de ratos pré-púberes tratados ou não com testosterona (1 mg/kg, SC, 24 horas antes do experimento), jovens e senis. As barras verticais indicam o erro padrão da média, omitido quando apresentou valor inferior a 0,10. O número de experimentos está indicado entre parênteses. Em todos os casos o coeficiente angular das retas de regressão não diferiu significativamente de 1,0. A equação de cada reta está indicada entre parênteses logo após o número de experimentos.

5 - DISCUSSÃO

Sabemos que várias funções orgânicas são alteradas durante o avançar da idade. Podemos citar como exemplo a diminuição da atividade sexual em homens, avaliada por meio de parâmetros como o número de ejaculações por unidade de tempo, a capacidade de apresentar orgasmos repetidos em um prazo curto e a frequência de ereções penianas durante o sono (Tsitouras, 1987). Outro exemplo é a diminuição da atividade dos sistemas dopaminérgico, serotoninérgico, encefalinérgico e adrenérgico em várias áreas do cérebro, associada a um aumento na atividade da monoamino oxidase (MAO) nessas mesmas áreas (Brunello & col., 1988; Petkov & col., 1988). Há ainda diminuição do transporte ativo de cálcio em membranas basolaterais do intestino delgado de ratos de 12 meses, quando comparados a ratos de dois meses (Armbrecht & col., 1988), além da conhecida diminuição da fertilidade observada em mulheres idosas, devida, segundo De Mouzon & col. (1988), a uma falha generalizada das funções reprodutoras femininas.

No sistema nervoso simpático, a idade promove uma diminuição de responsividade à ativação dos adrenocetores beta, manifestada tanto em seu efeito cronotrópico, a nível cardíaco (Spadari & De Moraes, 1987), como em seu efeito vasodilatador (Pan & col., 1986). Sugere-se que essa redução seja devida a uma menor capacidade de produção de monofosfato cíclico de adenosina (AMPC) pela célula, após a interação entre o agonista e o adrenoceptor (Tsujimoto & col., 1986). Para Scarpace (1988), este efeito resulta de dessensibilização dos adrenocetores beta, provocada pela elevação dos níveis circulantes de catecolaminas observada em animais senis. Spadari & De Moraes (1987) sugerem diminuição da atividade do processo de captação extra-neuronal em átrios direitos de ratos com 22 meses de idade.

Com relação às respostas mediadas por adrenocetores alfa-1, os efeitos do envelhecimento ainda não estão determinados com clareza. Estudos realizados com ductos defe-

rentes totais indicam aumento (Takayanagi & col., 1987) ou nenhuma alteração (Lai & col., 1983; Takayanagi & col., 1986) na sensibilidade destes receptores a agonistas, seletivos ou não, em função da idade.

Nossos resultados iniciais não apontam diferenças na sensibilidade à noradrenalina em ductos deferentes de ratos pré-púberes, jovens ou senis, estando em concordância com os resultados obtidos por Takayanagi & col. (1986), embora estes autores tenham utilizado animais em idades diferentes daqueles por nós utilizados. Ductos deferentes de ratos Sprague-Dawley também não apresentam variações de sensibilidade à noradrenalina entre a segunda e a trigésima-nona semana de vida (Higuchi & col., 1982). A sensibilidade à fenilefrina, outro agonista de adrenoreceptores alfa-1, também não foi alterada pela idade em ductos deferentes de ratos jovens (6 a 8 semanas) e ratos sexualmente maduros (6 a 8 meses) (Lai & col., 1983).

Este quadro de homogeneidade, no entanto, é alterado pelo tratamento farmacológico com cocaína, beta-estradiol e propranolol. Os dados aqui apresentados indicam que, após este tratamento, os ductos deferentes de ratos pré-púberes passam a apresentar maior sensibilidade à noradrenalina que aqueles de ratos jovens e senis. Kobashi & col. (1987) demonstraram que a porção prostática de ductos deferentes de ratos apresenta aumento de sensibilidade à noradrenalina e adrenalina entre 4 e 20 meses, enquanto que, na porção epididimal, a sensibilidade a ambos os agonistas diminui com o avançar da idade. As autoras atribuíram tais diferenças a uma redução da captação neuronal na porção prostática, observada aos 20 meses de idade, e a mudanças na reatividade pós-sináptica da porção epididimal, a partir dos 12 meses, somente evidenciada após o bloqueio da captação neuronal, sugestão confirmada por Avellar & col. (1990).

Nossos experimentos parecem também comprovar esta hipótese, pois o desvio à esquerda observado entre as curvas concentração-efeito à noradrenalina, em ductos deferentes de ratos pré-púberes após o pré-tratamento com cocaína, beta-estradiol e propranolol é de cerca de 42 vezes (tabela 2), enquanto para ductos deferentes de animais jovens, nas mesmas condições experimentais, esse desvio foi significativamente menor (aproximadamente 7 vezes). Esse mesmo desvio, para o grupo senil, foi de 24 vezes à esquerda, portanto maior que para o grupo jovem. Este fato, porém, não contradiz necessariamente a hipótese de que ocorre redução do processo de captação neuronal com o avançar da idade, podendo ser explicado pelos resultados obtidos por Daly & col. (1989), que apontam um aumento de atividade do processo de captação extra-neuronal com o avançar da idade.

Ribeiro & Jurkiewicz (1979) descreveram supersensibilidade à noradrenalina devida à cocaína maior em ductos deferentes de ratos adultos do que em ductos deferentes de ratos infantis. Neste estudo, porém, não foram utilizados bloqueadores da captação extra-neuronal e dos adrenoreceptores beta que, como nossos resultados demonstram, provocam desvio significativo à esquerda nas curvas concentração-efeito à noradrenalina (tabela 3). Sabemos que a noradrenalina apresenta maior afinidade pela captação neuronal que, no entanto, estaria fisiologicamente inibida em animais senis (Avellar & col., 1990). Nestas condições, a noradrenalina poderia ser captada pelo sistema extra-neuronal (Bönisch, 1980). Desta forma, a supersensibilidade à noradrenalina observada em ductos deferentes de animais pré-púberes pode ser devida ao bloqueio da captação neuronal, mais ativa nesta preparação, enquanto a supersensibilidade observada em ductos deferentes de ratos senis pode ser devida ao bloqueio da captação extra-neuronal, que apresenta maior atividade em animais idosos.

Takayanagi & col. (1987), entretanto, encontraram aumento da sensibilidade à noradrenalina em ductos deferentes de ratos entre a terceira e a décima-oitava semanas de vida, estabilizando-se a partir daí. Não há nenhum motivo aparente para a diferença entre estes resultados e aqueles que nós obtivemos, já que o protocolo experimental é muito semelhante.

O desvio à esquerda observado na presença de cocaína foi reduzido nos experimentos em que esta droga não foi utilizada. Na figura 3 e na tabela 3 vemos que as curvas concentração-efeito à noradrenalina de ductos deferentes de animais pré-púberes, na ausência de cocaína, apresentaram desvio à direita de 18,4 vezes em relação aos experimentos em que a cocaína foi utilizada ( $P < 0,05$ ). No grupo jovem este desvio foi de 8,9 vezes. Estes resultados reforçam a sugestão de Kobashi & col. (1987) de que o processo de captação neuronal está reduzido em animais com 20 meses de idade. No que diz respeito à captação extra-neuronal, estes resultados são contrários à sugestão de Daly & col. (1989) de um aumento da atividade deste processo associado à idade. Porém, os dados apresentados na tabela 2 parecem apoiar esta sugestão. Como estes autores utilizaram ratos com 6, 12 e 24 meses de idade, é possível que esta discrepância tenha sido verificada em função das diferentes faixas etárias utilizadas nos dois estudos. Os resultados descritos por Daly & col. (1989), tomados em conjunto com aqueles apresentados nas tabelas 2 e 3, parecem sugerir que o processo de captação extra-neuronal sofre um decréscimo em sua atividade entre a terceira e a décima-segunda semanas de vida, tendência que se reverte a partir dos seis meses de idade.

O efeito trófico da testosterona sobre a inervação simpática do ducto deferente de rato foi demonstrado por Martins & Valle (1939). Este efeito é próprio da testosterona e não é obtido em ductos deferentes de animais castrados

tratados com estrógenos (Martins & Valle, 1939; Markus & col., 1980). MacDonald & McGrath (1980 a/b) descreveram que ductos deferentes de ratos adultos submetidos a castração 12 semanas antes dos experimentos passaram a apresentar respostas a agonistas exógenos ou estimulação elétrica no mesmo padrão que fora observado em ductos deferentes de ratos imaturos. Tais resultados levaram esses autores à conclusão de que em ratos de 3 semanas há um estado de supersensibilidade pós-juncional pré-inervação (MacDonald & McGrath, 1984). Nossos resultados demonstram que o tratamento prévio de animais pré-púberes com testosterona, nos moldes aqui descritos, altera a sensibilidade dos ductos deferentes destes animais à noradrenalina, tornando-os subsensíveis em relação a ductos deferentes de ratos que não receberam este tratamento e situando-os no mesmo nível de sensibilidade observado para ductos deferentes de ratos jovens e senis. Estes resultados parecem contrariar a sugestão de MacDonald & McGrath (1984) a respeito da supersensibilidade pós-juncional pré-inervação. Este fenômeno é atribuído à ausência da influência restritiva da inervação adrenérgica sobre a musculatura lisa do ducto deferente de rato. Wakade & Kirpekar (1973) e Wakade & col. (1975) demonstraram que a castração promove uma redução da massa muscular, do conteúdo de noradrenalina, da captação de noradrenalina radiativa e da atividade da dopamina-beta-hidroxilase em ductos deferentes de ratos e cobaias adultos, efeitos completamente revertidos pela administração crônica de testosterona e potencializados pela administração de estrógenos. MacDonald & McGrath (1980 a) demonstraram que ratos adultos castrados submetidos a tratamento crônico com testosterona apresentam um padrão de resposta a agonistas exógenos similar àquele observado em animais não castrados. Nossos resultados estão demonstrando que o tratamento agudo com testosterona altera a sensibilidade de ductos deferentes de ratos pré-púberes à noradrenalina, reforçando a hipótese de que a função dos nervos adrenérgicos depende dos níveis de testosterona (MacDonald &

McGrath, 1984). Não nos parece provável, no entanto, que uma única dose de testosterona possa, no prazo de 24 horas, alterar o nível de maturação dos nervos adrenérgicos a ponto de permitir a ação restritiva destes sobre a musculatura lisa. Além disso, como será discutido adiante, o pré-tratamento com testosterona não altera a resposta máxima de ductos deferentes de ratos pré-púberes, sugerindo que a alteração de sensibilidade observada é promovida por alguma influência do hormônio a nível do receptor.

O comportamento da resposta máxima à noradrenalina seguiu o mesmo padrão, não importando o protocolo utilizado: foi maior para o grupo pré-púbere que para os grupos jovem e senil, quando expressa em gramas de tensão desenvolvida por 100 miligramas de peso úmido de tecido. Porém, quando esta variável é expressa em gramas de tensão desenvolvida, a resposta máxima aumenta com a idade. Este padrão uniforme está de acordo com os resultados obtidos por vários autores (Higuchi & col., 1982; Lai & col., 1983; Takayanagi & col., 1986 e 1987; Toda & Shimizu, 1987) em ductos deferentes de ratos e artérias mesentéricas de cães, o que mostra ser este um comportamento encontrado em mais de um tipo de músculo liso. Docherty (1988) não observou diferença entre as respostas máximas à fenilefrina em anéis de aorta de ratos com 6 e 24 meses de idade, o que também está de acordo com nossos resultados.

A depressão da resposta máxima observada em ductos deferentes de ratos pré-púberes após tratamento da preparação com beta-estradiol, propranolol e cocaína parece ser um efeito desta última, uma vez que a ausência da cocaína do líquido de incubação ou sua substituição por desipramina restituiu a resposta máxima a seu valor controle. Este efeito, no entanto, não foi observado em ductos deferentes de ratos jovens ou senis. Sabe-se que a cocaína apresenta efeito anestésico local (Ritchie & Greene, 1987), não comparti-

lhado pela desipramina (Baldessarini, 1987), o que poderia explicar a depressão observada. No entanto, tal explicação não é provável, uma vez que a dose de cocaína utilizada promove desvio à esquerda das curvas concentração-efeito à noradrenalina, efeito improvável de uma droga que esteja promovendo anestesia local.

A resposta máxima à noradrenalina de ductos deferentes de ratos de três semanas obtida por Takayanagi & col. (1987) corresponde a aproximadamente metade do valor por nós demonstrado. Entretanto, os valores indicados por esses autores para ductos deferentes de ratos de 18 e 40 semanas são semelhantes àqueles que relatamos para os grupos jovem e senil no presente trabalho. Há duas diferenças metodológicas importantes entre os dois trabalhos: a concentração de propranolol utilizada e a tensão aplicada sobre a preparação. Takayanagi & col. (1987) utilizaram propranolol em concentração 10 vezes maior que aquela por nós utilizada. Sabe-se que o propranolol apresenta efeito anestésico local semelhante ao da lidocaína (Weiner, 1987). Assim, é possível que a maior concentração de propranolol utilizada por esses autores tenha provocado uma redução de resposta máxima, que foi específica para ductos deferentes de ratos pré-púberes. A tensão de repouso utilizada por esses autores foi, por sua vez, o dobro da tensão ótima que encontramos para ductos deferentes de ratos com três semanas de vida. A tensão aplicada pode produzir diferentes graus de estiramento das fibras musculares lisas, alterando a resposta isométrica obtida. O efeito da diferença de tensão tem, provavelmente, menor importância para ductos deferentes de animais com 12 semanas ou mais, uma vez que, para ratos nesta faixa etária, é comum o emprego de 0,5 gf de tensão para o registro de contrações isométricas ou isotônicas (Saito & col., 1982; Calixto & col., 1983), havendo inclusive trabalhos onde se utilizam tensões variáveis, entre 0,5 e 1,0 gf (Jurkiewicz, A. & col., 1977; Jurkiewicz, N.H. & col., 1977). De qualquer for-

ma, essas diferenças metodológicas podem ser responsáveis pelas diferentes respostas máximas descritas nos dois trabalhos para ductos deferentes de ratos com três semanas de idade.

A administração de testosterona a animais pré-púberes não alterou a resposta máxima à noradrenalina, embora tenha reduzido a sensibilidade em aproximadamente quatro vezes, situando-a no mesmo nível que foi observado em ductos deferentes de animais jovens. Estes resultados tornam claro que o tratamento agudo com testosterona não alterou a capacidade contrátil de ductos deferentes de ratos pré-púberes, provavelmente não alterando também o nível de maturação do tecido.

O uso de antagonistas para caracterizar as populações de receptores em diferentes tecidos tem sido frequente nas últimas décadas. Em nossos experimentos, o prazosin preencheu os critérios necessários para definir um antagonismo competitivo, os quais incluem promover um desvio à direita, dependente de concentração, da curva concentração-efeito ao agonista, sem alterar a resposta máxima e fornecer retas de regressão para o gráfico de Schild com coeficiente angular não diferente de 1,0 (Kenakin, 1982). Este antagonista foi classificado por U'Prichard & col. (1978) como altamente seletivo para adrenoreceptores alfa-1, o que nos permitiria afirmar a priori que, em todas as preparações aqui estudadas, encontramos uma população homogênea de adrenoreceptores alfa-1.

Apesar disso, a constante aparente de afinidade do prazosin em ducto deferente de rato é alterada tanto pelo avançar da idade como pelo tratamento com testosterona. Uma análise mais cuidadosa dos coeficientes angulares indicados na tabela 8 nos mostra que, no grupo pré-púbere, o erro padrão da média apresentou um valor muito elevado, atingindo

um terço do valor do coeficiente angular. O intervalo de confiança (0,52 - 1,04) inclui o número 1,0, o que nos leva a concluir que o coeficiente angular não difere da unidade. No entanto, não podemos descartar a possibilidade de que este valor seja diferente de 1,0, devido ao elevado valor encontrado para o erro padrão da média, indicando grande variação nos valores experimentais individuais.

A população de adrenoreceptores pós-sinápticos do ducto deferente de rato adulto foi classificada por U'Prichard & col. (1978) como homogênea, consistindo de receptores do subtipo alfa-1. Nos últimos anos têm surgido evidências de heterogeneidade nesta população, mas, de acordo com McGrath (1982), não há razões para se acreditar que existam adrenoreceptores alfa-2 pós-juncionais no ducto deferente de rato, uma vez que ambos os subtipos encontrados se aproximam mais das características do subtipo alfa-1. Morrow & Creese (1986) propuseram uma subdivisão em que os adrenoreceptores alfa-1 são classificados em alfa-1<sub>a</sub> e alfa-1<sub>b</sub>, apresentando, respectivamente, alta e baixa afinidade pelo prazosin. Han & col. (1987) descreveram que no ducto deferente de rato adulto, o efeito da noradrenalina é mediado por uma população homogênea de adrenoreceptores do subtipo alfa-1<sub>a</sub>.

A diferença por nós encontrada entre os valores pA<sub>2</sub> do prazosin em ductos deferentes de ratos pré-púberes e jovens ou senis pode ser devida à manifestação, nos diferentes grupos experimentais, dos dois subtipos de adrenoreceptores alfa-1. Ductos deferentes de ratos pré-púberes apresentam maior valor pA<sub>2</sub>, com um coeficiente angular da reta de regressão de Schild igual a 0,78. De acordo com Kenakin (1982), quando um agonista ativa dois receptores diferentes que mediam o mesmo efeito e o antagonista utilizado bloqueia preferencialmente ou apresenta maior afinidade por um deles, o coeficiente angular da reta de regressão será menor que 1,0. Embora não possamos afirmar que em ductos deferentes de

animais pré-púberes a população relativa de adrenocetores alfa- $1\beta$  tenha maior importância fisiológica do que aquela existente nos demais grupos, podemos dizer que há diferenças entre a população de receptores do grupo pré-púbere e dos outros grupos experimentais.

Docherty (1990) define maturação como as mudanças ocorridas desde o nascimento até a idade adulta (três a seis meses, no caso de ratos) e envelhecimento como as mudanças que ocorrem depois da idade adulta. Podemos então dizer que a diferença entre os valores  $pA_2$  observada entre os grupos pré-púbere e jovem é devida ao processo de desenvolvimento. O processo de envelhecimento promove uma alteração de valor  $pA_2$  no sentido contrário, sem haver alteração no coeficiente angular da reta de regressão do gráfico de Schild. De acordo com Furchgott (1972) este fato constitui evidência de alguma alteração a nível do receptor, provavelmente em sua estrutura. Por outro lado, os diferentes valores  $pA_2$  encontrados para os grupos pré-púbere e jovem nos permitem supor que a expressão da diferente população de receptores encontrada em ductos deferentes de ratos do grupo pré-púbere poderia ser inibida pelo desenvolvimento.

O pré-tratamento com testosterona tornou o valor  $pA_2$  do grupo pré-púbere semelhante ao do grupo senil. Nossos resultados não permitem esclarecer o mecanismo pelo qual este efeito da testosterona é exercido. Já foi demonstrado que, em intervalos variando de 15 a 60 minutos após a injeção subcutânea ou intra-venosa de andrógenos radiativos, os hormônios marcados são encontrados no núcleo de células do coração, hipófise, rins, órgãos sexuais acessórios (incluindo o canal deferente) e algumas áreas cerebrais (McGill & col., 1980; Schleicher & col., 1985 e 1989) Collins & col. (1988) demonstraram que a castração promove redução do número de sítios ligantes do composto ICI 118.551 (seletivo para adrenocetores beta-2) em membranas obtidas da parte ventral

da próstata de ratos. O tratamento destes animais com testosterona, injetada por via subcutânea, promoveu uma recuperação do número de sítios ligantes, atingindo 80% do valor controle 12 horas após a injeção. Além disso, estes mesmos autores demonstraram uma elevação dos níveis de RNA mensageiro após a injeção de testosterona em ratos castrados. Esta elevação foi transitória, atingindo o pico entre 8 e 12 horas após o tratamento. Assim, é possível que o tratamento com testosterona por nós realizado interfira com a síntese dos adrenoceptores de canais deferentes da ratos pré-púberes. Também é possível que ele esteja alterando a expressão destes receptores, por um mecanismo de internalização ou desacoplamento. Outro fator importante a ser lembrado é que os experimentos do grupo pré-púbere foram feitos com ratos entre 21 e 23 dias de idade, quando se encontram os menores níveis plasmáticos de testosterona da vida do animal (Ketelsleger & col., 1978; Forest, 1979). Este fato reforça a hipótese de que a testosterona inibe a expressão de parte dos receptores alfa-adrenérgicos existentes em canais deferentes de ratos pré-púberes pois, se isto é verdade, é de se esperar que a expressão desses receptores seja máxima quando os níveis desse hormônio são mínimos.

A diferença de valor  $pA_2$  entre os grupos pré-púbere tratado com testosterona e jovem é de 2,2 vezes. Esta diferença, embora seja significativa estatisticamente, não atinge o nível mínimo de três vezes proposto por Furchgott (1972) para que se considere farmacologicamente diferente um par de valores  $pA_2$  e, por isso, tal diferença não pode ser considerada significativa do ponto de vista farmacológico.

Nossos resultados, portanto, fornecem fortes evidências de que há uma alteração nos adrenoceptores alfa-1 de ductos deferentes de ratos, influenciada tanto pelo desenvolvimento como pelo envelhecimento. Esta alteração está relacionada com os níveis de testosterona, uma vez que o tra-

tamento hormonal prévio torna o valor  $PA_2$  obtido para o grupo pré-púbere semelhante àqueles encontrados nos grupos jovem e senil. Estes resultados estão de acordo com aqueles apresentados por Markus & col. (1990).

A sensibilidade ao carbacol não foi alterada com o avançar da idade. Este resultado está de acordo com o que foi relatado por Higuchi & col. (1982) utilizando a acetilcolina como agonista. Brito & Jurkiewicz (1988) descrevem valor  $pD_2$  para metacolina em ductos deferentes de ratos adultos semelhantes aos descritos por nós para o carbacol e por Higuchi & col. (1982) para a acetilcolina. A diminuição, por nós observada, da resposta máxima por peso úmido de tecido durante o processo de desenvolvimento, também foi descrita por Higuchi & col. (1982). Estes autores atribuem esta diminuição a uma redução na eficácia do acoplamento entre a ativação do receptor e as respostas contráteis com o avançar da idade. Nossos resultados não permitem chegar a tal conclusão.

A sensibilidade ao cloreto de bário também não foi alterada pelo desenvolvimento ou envelhecimento. A resposta máxima, expressa em gramas de tensão desenvolvidas por 100 miligramas de peso úmido de tecido, foi reduzida pelo desenvolvimento, assim como aconteceu quando utilizamos noradrenalina ou carbacol como agonistas. Breuing & col. (1987) indicam que, na presença de cálcio, o bário mobiliza este íon através de canais de cálcio dependentes de voltagem e que, na ausência de cálcio, o bário entra na célula para mobilizar os estoques intracelulares de cálcio. A redução da resposta máxima ao cloreto de bário em ductos deferentes de ratos tratados com testosterona poderia indicar que a testosterona interfere com o mecanismo de ação dessa substância, provavelmente a nível de canais de cálcio, uma vez que este íon esteve presente em todos os experimentos descritos neste trabalho. No entanto, se a testosterona interfere com a en-

trada de cálcio na célula, deveria reduzir a resposta máxima à noradrenalina de ductos deferentes de ratos pré-púberes, o que não aconteceu. Portanto, o efeito da testosterona sobre a resposta máxima ao cloreto de bário não pode ser esclarecido pelos resultados aqui apresentados, necessitando de maiores investigações.

6 - CONCLUSÕES

A análise dos dados aqui apresentados nos permite concluir que:

- a) a sensibilidade do ducto deferente total de rato à noradrenalina varia durante a vida do animal, sendo maior em animais pré-púberes e diminuindo em animais adultos, para aumentar novamente durante o envelhecimento;
- b) a resposta máxima de ductos deferentes de ratos à noradrenalina, carbacol e cloreto de bário, expressa em gramas de tensão desenvolvidas por 100 miligramas de peso úmido de tecido, é reduzida durante o processo de desenvolvimento e não é afetada pelo envelhecimento;
- c) durante o processo de desenvolvimento a afinidade dos adrenocetores alfa-1 do ducto deferente de rato pelo prazosin diminui; o processo de envelhecimento aumenta essa afinidade, sem, no entanto, atingir os níveis encontrados em animais pré-púberes;
- d) ductos deferentes de ratos pré-púberes apresentam população de adrenocetores alfa pós-sinápticos diferente daquela encontrada em ductos deferentes de ratos jovens e senis; esta diferença desaparece após administração de testosterona ao animal;
- e) o processo de envelhecimento promove alteração nos receptores alfa-1 de ductos deferentes isolados de ratos, evidenciada pela mudança do valor  $pA_2$  do prazosin.

7 - RESUMO

O objetivo deste trabalho é determinar o efeito do processo de desenvolvimento e envelhecimento e de uma dose de testosterona, administrada no 22o. dia de vida, sobre a resposta contrátil de ductos deferentes de ratos Wistar pré-púberes (3 semanas), jovens (3 meses) e senis (22 meses). Um grupo de ratos pré-púberes foi tratado com testosterona (1 mg/kg, SC) 24 horas antes do experimento. Foram obtidas curvas concentração-efeito à noradrenalina em ductos deferentes submetidos a três condições experimentais: sem pré-tratamento *in vitro*; pré-tratados *in vitro* com beta-estradiol ( $2 \times 10^{-6}M$ ) e propranolol ( $10^{-7}M$ ); pré-tratados *in vitro* com beta-estradiol ( $2 \times 10^{-6}M$ ), propranolol ( $10^{-7}M$ ) e cocaína ( $10^{-5}M$ ). Também foram obtidas curvas concentração-efeito ao carbacol e cloreto de bário. O valor  $pA_2$  do prazosin foi determinado. Os resultados obtidos demonstram que a sensibilidade à noradrenalina de ductos deferentes submetidos a pré-tratamento *in vitro* diminui com o avançar da idade, estabilizando-se a partir do 3o. mês. A comparação das curvas concentração-efeito à noradrenalina obtidas em ductos deferentes de ratos pré-púberes e jovens nas três condições experimentais sugere que em ductos deferentes de ratos pré-púberes o processo de captação neuronal apresenta maior atividade. A sensibilidade ao carbacol e ao cloreto de bário não foi alterada pelo avançar da idade. A resposta máxima para qualquer dos agonistas, expressa em gramas de tensão desenvolvidas por 100 miligramas de peso úmido de tecido, apresentou redução associada ao desenvolvimento, mas não se alterou durante o envelhecimento. O tratamento prévio com testosterona reduziu a sensibilidade à noradrenalina, sem alterar a resposta máxima. O valor  $pA_2$  do prazosin também foi alterado pelo avançar da idade e pelo tratamento com testosterona. Estes resultados nos permitem concluir que:

- os processos de desenvolvimento e envelhecimento afetam de maneira diferente a resposta contrátil de ductos deferentes de ratos à noradrenalina, carbacol e cloreto de bário;

- a população de adrenocetores alfa pós-sinápticos de ductos deferentes de ratos pré-púberes difere daquela encontrada em ductos deferentes de ratos jovens e senis; a administração de testosterona ou o desenvolvimento eliminam essa diferença;
- o envelhecimento promove alteração nos adrenocetores alfa-1 de ductos deferentes de ratos.

## 8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APRIGLIANO, O. & HERMSMEYER, K. In vitro denervation of the portal vein and caudal artery of the rat. J. Pharmacol. Exp. Ther., 198: 568 - 77, 1976
- ARMBRECHT, H.J.; DOUBEK, W.G. & PORTER, S.B. Calcium transport by basal lateral membrane vesicles from rat small intestine decreases with age. Biochim. Biophys. Acta, 944: 367 - 73, 1988
- ARUNLAKSHANA, O. & SCHILD, H.O. Some quantitative uses of drug antagonists. Br. J. Pharmacol. Chemother., 14: 48 - 58, 1959
- AVELLAR, M.C.W.; KOBASHI, Y.L. & MARKUS, R.P. Efeito do envelhecimento no conteúdo de noradrenalina em diferentes músculos lisos de ratos. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DAS SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 2a., 1987, Caxambu. Anais... p. 327
- AVELLAR, M.C.W. & MARKUS, R.P. Age-related changes in neuronal uptake of catecholamines. Braz. J. Med. Biol. Res., 21: 553 - 5, 1988
- AVELLAR, M.C.W.; KOBASHI, Y.L. & MARKUS, R.P. Age-related changes in neuronal uptake of noradrenaline. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 341: 295 - 300, 1990
- BALDESSARINI, R.J. Drogas e tratamento de distúrbios psiquiátricos. In GILMAN, A.G.; GOODMAN, L.S.; RALL, T.W. & MURAD, F., eds. As Bases Farmacológicas da Terapêutica, 7a. ed., Rio de Janeiro, Guanabara, 1987. p. 254 - 91
- BATRA, S.K. Sperm transport through vas deferens: review of hypotheses and suggestions for a quantitative model. Fertil. Steril., 25: 186 - 202, 1974

- BELL, C. Effects of cocaine and of monoamine oxidase and catechol-O-methyl transferase inhibitors on transmission to the guinea-pig vas deferens. Br. J. Pharmacol. Chemother., 31: 276 - 89, 1967
- BÖNISCH, H. Extraneuronal transport of catecholamines. Pharmacology, 21: 93 - 108, 1980
- BREUING, E.P.; KAMINSKAS, R.; KOBASHI, Y.L. & MARKUS, R.P. Effects of sodium and calcium concentration on the barium chloride-induced electrical and contractile responses of the guinea pig vas deferens. Braz. J. Med. Biol. Res., 20: 231 - 41, 1987
- BRITO, A.R.M.S. & JURKIEWICZ, A. Some pharmacological properties of the circular smooth muscle layer of the rat vas deferens. J. Pharm. Pharmacol., 40: 781 - 6, 1988
- BRITO, A.R.M.S.; MEDEIROS, I.A. & MARKUS, R.P. Do differences in innervation result in different post-synaptic responses to exogenous agonists? Gen. Pharmacol., 20: 65 - 9, 1989
- BROWN, C.M.; McGRATH, J.C. & SUMMERS, R.J. The effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists on responses of transmurally stimulated prostatic and epididymal portions of the isolated vas deferens of the rat. Br. J. Pharmacol., 66: 553 - 64, 1979
- BROWN, D.A.; DOCHERTY, J.R.; FRENCH, A.M.; MacDONALD, A.; McGRATH, J.C. & SCOTT, N.C. Separation of adrenergic and non-adrenergic contractions to field stimulation in the rat vas deferens. Br. J. Pharmacol., 79: 379 - 93, 1983

- BRUNELLO, N.; RIVA, M.; ROVESCALLI, A.C.; GALIMBERTI, R. & RACAGNI, G. Age-related changes in rat serotonergic and adrenergic systems and in receptor responsiveness to subchronic desipramine treatment. Pharmacol. Toxicol., 63: 150 - 5, 1988
- BULBRING, E. & TOMITA, T. Catecholamine action on smooth muscle. Pharmacol. Rev., 32: 49 - 96, 1987
- BURNSTOCK, G. The changing face of autonomic neurotransmission. Acta Physiol. Scand., 126: 67 - 91, 1986
- CALIXTO, J.B.; AUCÉLIO, J.G. & JURKIEWICZ, A. Influence of castration of the neonatal rat on the contractile effects of barium chloride and adrenaline in isolated vas deferens: the role of calcium. Biol. Reprod., 22: 1057 - 62, 1983
- CALLIA, M.L. & De MORAES, S. Heterogeneity of beta-adrenoceptors in right atria isolated from cold-exposed rats, J. Pharmacol. Exp. Ther., 230: 450 - 4, 1984
- CARNEIRO, R.C.G. & MARKUS, R.P. Influência do envelhecimento nas respostas de ductos deferentes de ratos a agentes colinérgicos. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DAS SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 3a., 1988, Caxambu. Anais... p. 234
- CELUCH, S.M. & SLOLEY, B.D. Regional distribution of dopamine, 5-hydroxytryptamine and noradrenaline in the rat vas deferens. Neurochem. Res., 13: 967 - 72, 1988
- COHEN, J.; FOSTER, E. & GILLENWATER, J.Y. Quantitative age related histologic changes in the human vas deferens. Invest. Urol., 16: 305 - 6, 1979

- COLLINS, S.; QUARMBY, V.E.; FRENCH, F.S.; LEFKOWITZ, R.J. & CARON, M.G. Regulation of the beta-2 adrenergic receptor and its mRNA in the rat ventral prostate by testosterone. FEBS Lett, 233: 173 - 6, 1988
- DALY, R.N.; GOLDBERG, P.B. & ROBERTS, J. The effect of age on pre-synaptic alpha-2 adrenoceptor autoregulation of norepinephrine release. J. Gerontol, 44: B59 - B66, 1989
- De MOUZON, J.; PIETTE, C. & BACHELOT, A. Decreased fertility in relation to women's age: findings from in vitro fertilization. J. Reprod. Fertil. (Abstract Series), 2: 19, 1988
- DENGLER, H.J.; SPIEGEL, H.E. & TITUS, E.O. Effects of drugs on uptake of isotopic norepinephrine by cat tissues. Nature, 191: 816 - 7, 1961
- DOCHERTY, J.R. The effects of ageing on vascular alpha-adrenoceptors in pithed rat and rat aorta. Eur. J. Pharmacol., 144: 1 - 5, 1988
- DOCHERTY, J.R. Cardiovascular responses in ageing: a review. Pharmacol. Rev., 42: 103 - 24, 1990
- DOXEY, J.C.; SMITH, C.F.C. & WALKER, J.M. Selectivity of blocking agents for pre- and postsynaptic alpha-adrenoceptors. Br. J. Pharmacol., 60: 91 - 6, 1977
- FEDAN, J.S.; HOGABOOM, G.K.; O'DONNELL, J.P.; COLBY, J. & WESTFALL, D.P. Contribution by purines to the neurogenic response of the vas deferens of the guinea pig. Eur. J. Pharmacol., 62: 41 - 53, 1981

- FLEMING, W.W.; WESTFALL, D.P.; DE LANDE, I.S. & JELLETT, L.B. Log-normal distribution of equieffective doses of norepinephrine and acetylcholine in several tissues. J.P. Pharmacol. Exp. Ther., 181: 339 - 45, 1972
- FOREST, M.G. Plasma androgens (testosterone and 4-androstenedione) and 17-hydroxyprogesterone in the neonatal, prepubertal and peripubertal periods in the human and the rat: differences between species. J. Steroid Biochem., 11: 543 - 8, 1979
- FURCHGOTT, R.F. The classification of adrenoceptors (adrenergic receptors). An evaluation from the standpoint of receptor theory. In: BLASCHKO, H. & MUSCHOLL, E., eds., Catecholamines: Handbook of Experimental Pharmacology, Berlin, Springer, 1972. V. 33. p. 283 - 335
- HAMILTON, D.W. & COOPER, T.G. Gross and histological variations along the length of the rat vas deferens. Anat. Rec., 190: 795 - 810, 1978
- HAN, C.; ABEL, P.W. & MINNEMAN, K.P. Alpha-1 adrenoceptor subtypes linked to different mechanisms for increasing intracellular  $Ca^{2+}$  in smooth muscle. Nature, 329: 333 - 5, 1987
- HIGUCHI, H.; TAKEYASU, K.; WATANABE, Y.; UCHIDA, S. & YOSHIDA, H. Developmental changes in alpha-adrenergic and muscarinic receptor-mediated contractions of rat vas deferens. Jpn. J. Pharmacol., 32: 671 - 8, 1982
- HUIDOBRO-TORO, J.P. & PARADA, S. Co-transmission in the rat vas deferens: postjunctional synergism of noradrenaline and adenosine 5'-triphosphate. Neurosci. Lett., 85: 339 - 44, 1988

- IVERSEN, L.L. & SALT, P.J. Inhibition of catecholamine uptake by steroids in the isolated rat heart. Br. J. Pharmacol., 40: 528 - 30, 1970
- JOHNSON, J.M.; SKAU, K.A.; GERALD, M.C. & WALLACE, L.J. Regional noradrenergic and cholinergic neurochemistry in the rat urinary bladder: effects of age. J. Urol., 32: 611 - 5, 1988
- JURKIEWICZ, A.; LANGELOH, A. & GUEDES, A.O. Time-response curves for barium and noradrenaline in vas deferens of castrated rat. Eur. J. Pharmacol., 45: 145 - 51, 1977
- JURKIEWICZ, N.H.; JURKIEWICZ, A.; GOMES, C.B. & AUCÉLIO, J.G. Pharmacodynamic analysis of the rat isolated vas deferens after transplantation to intestinal wall. J. Pharmacol. Exp. Ther., 203: 112 - 9, 1977
- KENAKIN, T.P. The Schild regression in the process of receptor classification. Can. J. Physiol. Pharmacol., 60: 249 - 65, 1982
- KENNEDY, S.W. & HEIDGER, P.M., Jr. Fine structural studies of the rat vas deferens. Anat. Rec., 124: 159 - 80, 1979
- KETELSLEGERS, J.M.; HETZEL, W.D.; SHERINS, R.J. & CATT, K.J. Developmental changes in testicular gonadotropin receptors: plasma gonadotropins and plasma testosterone in the rat. Endocrinology, 103: 212 - 22, 1978
- KNORR, D.W.; VANHA-PERTULLA, T. & LIPSETT, M.B. Structure and function of rat testis through pubescence. Endocrinology, 86: 1298 - 304, 1970

- KOBASHI, Y.L.; BREUING, E.F. & MARKUS, R.F. Age-related changes in the reactivity of the rat jejunum to cholinergic agonists. Eur. J. Pharmacol., 115: 133 - 8, 1985
- KOBASHI, Y.L.; AVELLAR, M.C.W. & MARKUS, R.F. Envelhecimento e a reatividade de simpatomiméticos em ductos deferentes seccionados de ratos. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DAS SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 2a., 1987, Caxambu. Anais... p.327
- LAI, R.-T.; WATANABE, Y. & YOSHIDA, H. The influence of aging on alpha-adrenoceptors in rat heart and vas deferens. Jpn. J. Pharmacol., 33: 241 - 5, 1983
- LEE, T.J.-F.; WESTFALL, D.P. & FLEMING, W.W. The correlation between spontaneous contractions and post junctional supersensitivity of the smooth muscle of the rat vas deferens. J. Pharmacol. Exp. Ther., 192: 136 - 48, 1975
- LIN, Y.C.; FUKAYA, T. & RIKIHISA, Y. Effects of age and luteinizing hormone antiserum on human chorionic gonadotropin-stimulated testosterone secretion in young male rats. Life Sci., 32: 481 - 8, 1985
- MacDONALD, A. & McGRATH, J.C. The effects of castration on neurotransmission in the rat vas deferens. Br. J. Pharmacol., 62: 49 - 58, 1980 a
- MacDONALD, A. & McGRATH, J.C. Effects of nerve stimulation and agonist drugs on the vas deferens of immature rats. Br. J. Pharmacol., 72: 527P - 528P, 1980 b
- MacDONALD, A. & McGRATH, J.C. Lack of functional adrenergic transmission in the vas deferens of immature rats. Br. J. Pharmacol., 72 (Suppl.): 475P, 1982

- MacDONALD, A. & McGRATH, J.C. Post-natal development of functional neurotransmission in rat vas deferens. Br. J. Pharmacol., 82: 25 - 34, 1984
- MacKAY, D. How should values of  $pA_2$  and affinity constants for pharmacological competitive antagonists be estimated? J. Pharm. Pharmacol., 30: 312 - 3, 1978
- MARKUS, R.P.; LAPA, A.J. & VALLE, J.R. Spontaneous contractions and membrane activity of castrated guinea-pig vas deferens. J. Pharmacol. Exp. Ther., 214: 423 - 6, 1980
- MARKUS, R.P.; CARNEIRO, R.C.G. & AVELLAR, M.C.W. Envelhecimento e adrenocceptores pós-sinápticos. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DAS SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 5a., 1990, Caxambu. Anais... p. 307
- MARTINS, T. & VALLE, J.R. Endocrine control of the motility of the male accessory genital organs. Endocrinology, 25: 80 - 90, 1939
- McCONNELL, J.; BENSON, G.S. & WOOD, J.G. Autonomic innervation of the urogenital system: adrenergic and cholinergic elements. Brain Res. Bull., 2: 679 - 94, 1982
- McGILL, H.C., Jr.; ANSELMO, V.C.; BUCHANAN, J.M. & SHERIDAN, P.J. The heart is a target organ for androgen. Science, 202: 775 - 7, 1980
- McGRATH, J.C. Adrenergic and "non-adrenergic" components in the contractile response of the vas deferens to a single indirect stimulus. J. Physiol. London, 283: 23 - 39, 1978

- McGRATH, J.C. Evidence for more than one type of post-junctional alpha-adrenoceptor. Biochem Pharmacol, 31: 467 - 84, 1982
- MERRILLEES, N.C.R. The nervous environment of individual smooth muscle cells of the guinea pig vas deferens. J Cell Biol, 32: 794 - 817, 1968
- MORITOKI, H.; TANIOKA, A.; MAESHIBA, Y.; IWAMOTO, T.; ISHIDA, Y. & ARAKI, H. Age-associated decrease in histamine-induced vasodilatation may be due to reduction of cyclic GMP formation. Br J Pharmacol, 95: 1015 - 22, 1988
- MORROW, A.L. & CREESE, I. Characterization of alpha-1 adrenergic receptor subtypes in rat brain: a reevaluation of [<sup>3</sup>H]WB4101 and [<sup>3</sup>H]prazosin binding. Mol Pharmacol, 22: 321 - 30, 1986
- NAKADA, T.; SASAGAWA, I.; FURUTA, H.; KATAYAMA, T. & SHIMAZAKI, J. Age-related differences in norepinephrine and non-collagenous protein in human vas deferens. J Urol, 141: 998 - 1002, 1989
- NIEMI, M. & IKONEN, M. Histochemistry of the Leydig cells in the post natal prepubertal testis of the rat. Endocrinology, 72: 443 - 8, 1963
- PAN, H.Y.-M.; HOFFMAN, B.B.; PERSHE, R.A. & BLASCHKE, T.F. Decline in beta adrenergic receptor-mediated vascular relaxation with aging in man. J Pharmacol Exp Ther, 232: 802 - 7, 1986
- PANIAGUA, R.; REGADERA, J.; NISTAL, M. & SANTAMARÍA, L. Elastic fibres of the human ductus deferens. J Anat, 132: 467 - 76, 1983

- PETKOV,V.D.; PETKOV,V.V. & STANCHEVA,S.L. Age-related changes in brain neurotransmission. Gerontology, 34: 14 - 21, 1988
- POLLOCK,D.; MUIR,T.C.; MacDONALD,A. & HENDERSON,G. Morphine-induced changes in the sensitivity of the isolated colon and vas deferens of the rat. Eur. J. Pharmacol., 20: 321 - 8,1972
- RIBEIRO,M.L.M. & JURKIEWICZ,A. Dados adicionais sobre a farmacologia de ductos deferentes de ratos infantis. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA, 31a., 1979, Fortaleza. Anais... p. 526
- RICHARDSON,K.C. The fine structure of autonomic nerve endings in smooth muscle of the rat vas deferens Anat., 26: 427 - 42, 1962
- RITCHIE,J.M. & GREENE,N.M. Anestésicos Locais, In: GILMAN,A. G.; GOODMAN,L.S.; RALL,T.W. & MURAD, F., eds., As Bases Farmacológicas da Terapêutica, 7a. ed., Rio de Janeiro, Guanabara, 1987. p. 198 - 210
- ROBERTS,J. Autonomic drugs, in GOLDBERG,P.B. & ROBERTS, J. Handbook on Pharmacology of Aging, Florida, CRC, 1983. p. 155 - 85
- ROOSEN-RUNGE,E.C. & ANDERSON,D. The development of the interstitial cells in the testis of the albino rat. Acta Anat., 32: 125 - 37, 1959
- RUFFOLO,R.R.,Jr.; WADDELL,J.E. & YADEN,E.L. Heterogeneity of postsynaptic alpha adrenergic receptors in mammalian aortas. J. Pharmacol. Exp. Ther., 221: 309 - 14, 1982

- SABAN, R.; CAPAZ, F.R. & De MORAES, S. Adrenoceptor supersensitivity in the isolated rat vas deferens during barbitol withdrawal. Eur. J. Pharmacol., 82: 37 - 45, 1982
- SAITO, A.; KASUYA, Y. & GOTO, K. A comparative study of changes in innervation and development of supersensitivity in the rat vas deferens after various procedures. Jpn. J. Pharmacol., 32: 169 - 79, 1982
- SCARPACE, P.J. Decreased receptor activation with age: can it be explained by desensitization? J. Am. Geriatr. Soc., 36: 1067 - 71, 1988
- SCHLEICHER, G.; STUMPF, W.E.; DREWS, U.; THIEDEMANN, K.U. & SAR, M. Differential distribution of <sup>3</sup>Hdihydrotestosterone and <sup>3</sup>Hestradiol nuclear binding sites in mouse male accessory sex organs. An autoradiographic study. Histochemistry, 82: 453 - 61, 1985
- SCHLEICHER, G.; STUMPF, W.E.; GURLEY, J.M. & DREWS, U. Differential nuclear binding of [<sup>3</sup>H] testosterone and its metabolites to androgen and estrogen receptors in brain, pituitary, heart, kidney and accessory sex gland of the mouse: an autoradiographic study. J. Steroid Biochem., 33: 581 - 7, 1989
- SJÖSTRAND, N.O. & SWEDIN, G. Influence of age, growth, castration and testosterone treatment on the noradrenaline levels of the ductus deferens and the auxiliary male reproductive glands of the rat. Acta Physiol. Scand., 98: 323 - 38, 1976
- SNEDECOR, G.W. & COCHRAN, W.G. Statistical Methods, Ames, Iowa State University Press, 1967

- SPADARI, R.C. & De MORAES, S. Aging and rat pacemaker sensitivity to beta-adrenoceptor agonists. Braz. J. Med. Biol. Res., 20: 591 - 4, 1987
- STROLIN BENEDETTI, M. & DOSTERT, P. Monoamine oxidase, brain ageing and degenerative diseases. Biochem. Pharmacol., 38: 555 - 61, 1989
- SWEDIN, G. Postnatal development of the mechanical response of the isolated rat vas deferens to nerve stimulation. Acta Physiol. Scand., 84: 217 - 23, 1972 a.
- SWEDIN, G. Effect of nerve stimulation in vitro on the noradrenaline content of the rat vas deferens in the presence of inhibitors of noradrenaline uptake and synthesis. Acta Physiol. Scand., 84: 224 - 230, 1972 b.
- TAKAYANAGI, I.; KOIKE, K.; MAEDA, O. & ISHIZUKA, M. A difference in alpha-adrenoceptor mechanisms in vasa deferentia isolated from young and old rats. Jen. J. Pharmacol., 41: 533 - 6, 1986
- TAKAYANAGI, I.; MAEDA, O. & KOIKE, K. Postsynaptic alpha-1 adrenoceptor mechanisms in rat vas deferens and aging. J. Pharm. Pharmacol. 39: 754 - 7, 1987
- TODA, N. & SHIMIZU, I. Neuroeffector function in mesenteric arteries isolated from beagles of different ages. J. Pharmacol. Exp. Ther., 240: 223 - 7, 1987
- TSITOURAS, P.D. Effects of age on testicular function. Endocrinol. Metab. Clin. North Am., 14: 1045 - 59, 1987

- TSUJIMOTO, G.; LEE, C.-H. & HOFFMAN, B.B. Age related decrease in beta adrenergic receptor-mediated vascular smooth muscle relaxation. J. Pharmacol. Exp. Ther., 232: 411 - 5, 1986
- UPRICHARD, D.C.; CHARNESSE, M.E.; ROBERTSON, D. & SNYDER, S.H. (1978) Prazosin: differential affinities for two populations of alpha-noradrenergic receptor binding sites, Eur. J. Pharmacol., 50: 87 - 9, 1978
- VIZI, E.S. & BURNSTOCK, G. Origin of ATP release in the rat vas deferens: concomitant measurement of [<sup>3</sup>H] noradrenaline and [<sup>14</sup>C]ATP. Eur. J. Pharmacol., 158: 69 - 77, 1988
- WAKADE, A.R. & KIRPEKAR, S.M. "Trophic" influence on the sympathetic nerves of the vas deferens and seminal vesicle of the guinea pig. J. Pharmacol. Exp. Ther., 196: 528 - 36, 1973
- WAKADE, A.R.; GARCIA, A.G. & KIRPEKAR, S.M. Effect of castration on the smooth muscle cells of the internal sex organs of the rat: influence of the smooth muscle on the sympathetic neurons innervating the vas deferens, seminal vesicle and coagulating gland. J. Pharmacol. Exp. Ther., 193: 424 - 34, 1975
- WEINER, N. Drogas que inibem os nervos adrenérgicos e bloqueiam os receptores adrenérgicos. In GILMAN, A.G.; GOODMAN, L.S.; RALL, T.W. & MURAD, F., eds., As Bases Farmacológicas da Terapêutica, 7a. ed., Rio de Janeiro, Guanabara, 1987. p. 119 - 40