

Departamento de Química Orgânica e Biológica
Diretor: Prof. Dr. Fonseca Ribeiro

DA AÇÃO DO ÁCIDO ASCÓRBICO SÔBRE O OVIDUTO DO SAPO, BUFO MARINUS (L.) (*)

José de Fatis Tabarelli Neto

Assistente

1 estampa (2 figuras)

CONSIDERAÇÕES GERAIS

Durante êstes últimos anos, tem sido evidenciado, por um número não pequeno de experiências, que o ácido ascórbico toma parte importante na regulação do processo reprodutivo normal e que a utilização da vitamina C, deve se encontrar, ao menos em parte, sob o controle endócrino.

Assim, dentre os inúmeros trabalhos a respeito, podemos citar aqui num apanhado geral, aqueles que nos pareceram mais ligados ao assunto desta tése.

INGIER, citado por BISKIND e GLICK (12), demonstrou que cobaias sujeitas a uma dieta deficiente em vitamina C, nos estados iniciais da prenhez, abortavam ou os fetos nasciam mortos. Êste trabalho teve a confirmação de REYHER e colaboradores (1). BESSESEN (2), constata em cobaias a atrofia dos ovários durante o escorbuto. LINDSAY e MEDES (3), verificam que cobaias machos com escorbuto crônico, foram incapazes de reproduzir, observando ainda alterações histológicas no epitélio germinal dos testículos. GOETTSCH (4), obtem resultados similares, verificando porém, que a incapacidade procriativa dos machos com escorbuto, não residia na infertilidade dos mesmos, pois esfregaços do epidídimo demonstraram a presença de espermatozóides moveis que provaram ser férteis pela inseminação artificial. BESSEY e KING (5), estudando a distribuição da vitamina C em órgãos normais, verificaram que o corpo amarelo continha aproximadamente a mesma quantidade de ácido ascórbico das supra-renais.

KRAMER e colaboradores (6), e VOGT (7), procurando investigar melhor as perturbações sôbre a reprodução e as modificações ovarianas induzidas em cobaias sujeitas a uma dieta deficiente em vitamina C, constataram o abôrto, a infertilidade e a degeneração dos folículos de De Graaf, com a conseqüente incapacidade de desenvolvimento dos corpos amarelos, nos animais em prova.

(*) Tese apresentada para o concurso à docência-livre de Fisiologia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo.

Segundo MOURIQUAND e SCHOEN (8), cobaias prenhes, abortam quando submetidas ao regime escorbútico, porém, a avitaminose C, contrariamente ao fato observado por INGIER (loc. cit.), não se manifesta tão precocemente, pois segundo observações destes autores, a gestação parece ter uma influência protetora sobre a carência em vitamina C, proteção essa oriúnda, talvez, do poder do feto em sintetisar o ácido ascórbico o qual iria proteger a fêmea grávida das manifestações escorbúticas. Tanto assim é, que, após o abôrto, as lesões escorbúticas se desenvolvem, atingindo rapidamente a importância daquelas dos animais testemunhos. A contradição parece ser explicada pelo fato de INGIER ter submetido os seus animais a um regime pluricarienciado que determinou perturbações graves e rápidas, perturbações evitadas pelo regime adotado por MOURIQUAND e SCHOEN.

BOURNE(9), baseado nesse trabalho, procura investigar se a vitamina C do corpo amarelo, órgão no qual existe ela num teor elevado, é de origem fetal ou se tem por fonte o ácido ascórbico do alimento. Para tal, submete cobaias grávidas e virgens ao regime escorbútico, administrando à estas últimas a Antuitrina S, hormônio luteinizante, que embora não produzindo nestes animais um corpo amarelo definitivo, ocasiona a luteinização de grupos de células, que a análise revela conter o ácido ascórbico. Todos os animais do lote testemunha, (cobaias virgens não tratadas pelo hormônio luteinizante), morrem de escorbuto no fim de 15 dias. As grávidas demonstram unicamente uma pequena redução no peso corporal, e as virgens, tratadas pela Antuitrina S, embora demonstrando uma considerável baixa no seu peso, não apresentam sinais de escorbuto. Estes resultados sugerem que o tecido luteal é capaz de sintetisar a vitamina C, não negando porém, ao feto, a mesma capacidade.

HUSZÁK(10), impede o escorbuto em cobaia submetida a dieta escorbútica, pela administração de extratos de corpo amarelo. SAFFRY e FINERTY(11), trabalhando em cobaias grávidas chegaram a resultados semelhantes aos de KRAMER(6), e outros, pois verificaram que os animais colocados em dieta livre de vitamina C, abordavam ou se iniciava a reabsorção dos seus embriões dentro de 20 a 30 dias após a cópula; contudo, não conseguiram prolongar, nestes animais, o período de gestação pela administração diária de extratos de corpo luteo.

BISKIND e GLICK(12), além de confirmarem os trabalhos de BESSEY e KING(5), notaram que a quantidade de ácido ascórbico do corpo amarelo era paralela ao grau de desenvolvimento luteal, e que o corpo luteo da gravídês continha duas vezes mais vitamina C que o corpo luteo e não gravídico. Alias, HUSZÁK, citado por êstes autores,

havia já verificado, em porcas, essa diferença na concentração em ácido ascórbico entre corpos amarelos jovens e involuídos. PINCUS e BERKMAN⁽¹³⁾, estudando em coelhas, a concentração do ácido ascórbico no ovário e útero, durante as diversas fases da prenhez, notaram um aumento na concentração da substância nestes órgãos, notadamente durante os primeiros dias da gravidez, havendo correspondentemente um aumento na taxa de vitamina C na urina.

Estes resultados sugeriram a possível existência de uma relação causal entre o crescimento do corpo amarelo e a sua concentração em ácido ascórbico e fizeram supôr que o já observado paralelismo entre a concentração de vitamina C e a função de determinadas glândulas endócrinas não podia ser considerado mera coincidência. Assim, BOURNE⁽¹⁴⁾, baseando-se na alta concentração de vitamina C nas células do lobo anterior da hipófise, supra-renais, corpo amarelo e células intersticiais das gônadas, sugere que o ácido ascórbico está intimamente relacionado com a produção dos hormônios daqueles órgãos. Dêste modo, LEY⁽¹⁵⁾, baseado na hipótese de que o ácido ascórbico pudesse estimular um corpo amarelo deficiente, consegue tratar com sucesso, através da vitamina C, 10 mulheres que sofriam de aborto freqüente. ISRAEL e MERANZE⁽¹⁶⁾, baseados na acersão de BOURNE⁽¹⁴⁾, segundo a qual a vitamina C está, de qualquer modo, relacionada com a produção da progesterona, conseguem induzir, por meio de ácido ascórbico, a proliferação progestacional do endométrio de camundongas, ratas e coelhas. Este trabalho, contudo, não pôde ser confirmado mais tarde por PRATT⁽¹⁷⁾, que não obteve os mesmos resultados ao tratar coelhas com ácido ascórbico administrado não só pela via subcutânea, como também pela aplicação local sôbre a mucosa uterina.

GIEDOSZ⁽¹⁸⁾, procurando verificar se a vitamina C poderia agir sensibilizando a ação do hormônio gonadotrópico, injetou coelhas adultas com hormônio ou com ácido ascórbico. Notou que os ovários dos animais pertencentes ao último grupo tornaram-se maiores que aqueles dos animais injetados com hormônio gonadotrópico exclusivamente. Conclui o citado autor que entre vitaminas e hormônios devem existir relações importantes; que as vitaminas são necessárias para o funcionamento regular das glândulas endócrinas e que o efeito da hormônioterapia pode depender do estado de saturação do organismo, em vitaminas.

DICIO e SCHTEINGART⁽¹⁹⁾, pela injeção simultânea de 25 U. R. de hormônio gonadotrópico e 25 mg de ácido ascórbico, diariamente durante 20 a 30 dias, em ratos machos e fêmeas de 2 a 4 meses de idade, verificaram nestes animais um aumento muito maior no desenvolvi-

mento das gônadas, do que naqueles que foram injetados unicamente com o hormônio. O peso do testículo do animal tratado pela adição de ácido ascórbico e hormônio, foi sempre o dôbro daquele tratado só com o hormônio. As gônadas dos animais tratados unicamente com o ácido ascórbico, não evidenciaram modificação alguma. Contrariamente ao fato observado por GIEDOSZ, êstes autores não conseguiram notar qualquer efeito sôbre os ovários de coelhas adultas, injetando vitamina C associada ao hormônio gonadotrópico. Notaram ainda que nenhum efeito foi observado em ratos, após curtos periodos de tratamento (3 dias), e que a combinação de ácido ascórbico e hormônio gonadotrópico não produziu do mesmo modo, efeito aparente em ratos adultos.

ANDREWS e ERB⁽²⁰⁾, trabalhando com pintos, observaram que a injeção de ácido ascórbico não influenciou sôbre o peso dos testículos, e que o ácido ascórbico injetado em combinação com o hormônio gonadotrópico do sôro de égua prenhe, não reforçou a ação dêste último. Verificaram ainda, não existir nos pintos uma relação aparente entre a taxa de ácido ascórbico do plasma sanguíneo e o peso dos testículos. ERB e ANDREWS⁽²¹⁾, pela injeção subcutânea de hormônio gonadotrópico de sôro de égua prenhe, determinaram uma redução na taxa de ácido ascórbico do plasma sanguíneo, de 42 a 67% em touros e de 20 a 50% em vacas, dentro de um período de 24 horas que se seguiu a injeção. A volta do teor em ácido ascórbico aos limites normais, requereu de 8 a 10 dias nas vacas e um espaço de tempo maior para os touros. Ainda os mesmos autores⁽²²⁾, procurando investigar se as gônadas tomavam parte no mecanismo pelo qual é responsável a queda da taxa de vitamina C do plasma, após a injeção do hormônio gonadotrópico, ou se o hormônio agia independentemente daquelas, verificaram que a injeção de 1000 e 2000 U. R. do hormônio gonadotrópico do sôro de égua prenhe, em bovinos castrados, determinou uma redução da taxa de ácido ascórbico sanguíneo de 42 e 56% respectivamente, dentro de um período de cinco horas. A volta da taxa aos limites normais decorreu dentro de 44 a 68 horas. Sendo aqui a recuperação muito mais rápida, julgam os autores que o efeito do hormônio sôbre a gônada, foi tal, que deprimiu temporariamente a taxa de vitamina C do plasma. Supõem ainda, que a ineficácia frequente da terapêutica pelos hormônios gonadotrópicos, pode ser em parte explicada pela queda temporária do teor em vitamina C do plasma, que se segue à ação do hormônio.

PHILLIPS e colaboradores⁽²³⁻²⁴⁾, verificaram que a injeção subcutânea de ácido ascórbico foi de valor na restauração da fertilidade

em determinados casos de impotência em touros, e que tratamento semelhante, feito em vacas, determinou a correção de alguns casos de esterilidade. Observaram ainda, uma elevação na taxa do ácido ascórbico sanguíneo em vacas no período do estro, e a relação importante que existe entre a capacidade fecundante de um touro e a concentração do ácido ascórbico no sêmen do mesmo. (Esta nova ação terapêutica da vitamina C, tem obtido um grande número de confirmações na clínica veterinária, KLUSENDORF⁽²⁵⁾, e outros).

REECE e WEATHERBY⁽²⁶⁾, trabalhando com ratos, concluíram que o tratamento destes últimos animais, pelo ácido ascórbico nenhuma influência trazia sobre o conteúdo em hormônios gonadotrópicos da hipófise.

ACÇÃO DO ÁCIDO ASCÓRBICO SOBRE O OVIDUTO DE SAPOS

Baseados nestes conhecimentos desejamos verificar a ação do ácido ascórbico sobre o oviduto do sapo, *Bufo marinus* (L.).

Como sabemos, nestes animais, os óvulos saem ao exterior formando uma larga cadeia cujo elemento de união é uma substância gelatinosa secretada pelas glândulas do oviduto. Não só a ovulação como também a atividade destas últimas glândulas encontram-se sobre o contróle hipofisário anterior. Pois que basta a implantação hipofisária para que se desencadeiem os fenômenos acima referidos.

Como se comportariam as glândulas secretoras do oviduto em relação ao ácido ascórbico? Demonstraria a vitamina C, nestes animais, com respeito aos fenômenos reprodutivos o mesmo papel demonstrado em vários animais de sangue quente? E' o que nos propuzemos verificar. Para tal, utilizamos a técnica de ALLENDE⁽²⁷⁻²⁸⁾, já por nós usada no estudo da ação da hipófise de peixe sobre o oviduto do sapo, *Bufo marinus* (L.), colaborando com FONSECA RIBEIRO⁽²⁹⁾.

Sobre a técnica propriamente dita e os motivos pelos quais ela se impõe importa referir:

Segundo ALLENDE⁽²⁷⁻²⁸⁾, o que se designa, nos batráquios anuros, pelo nome de "oviduto", só em parte corresponde ao conduto homônimo dos mamíferos. Com efeito, tanto estrutural como funcionalmente, é só a chamada "parte reta" do mesmo, (equivalente apenas a 5% do comprimento total) que corresponde ao oviduto daqueles. O resto constitui um órgão nitidamente glandular (segundo ALLENDE, anatômica e funcionalmente equivalente ao útero dos mamíferos), destinado a munir o óvulo da substância gelatinosa já mencionada, que os une entre si em cadeias e que contribui a reforçar suas reservas nutritivas, constituindo mesmo o primeiro alimento da larva.

Esta atividade lhe confere um significado funcional semelhante talvez ao das glândulas secretoras do leite dos mamíferos e a do leite do papo (engluvia), de certas aves, como no pombo notadamente. Nestes animais, portanto, o índice mais seguro da atividade funcional do oviduto, está representado pela descarga da substância gelatinosa elaborada pelas suas glândulas.

Uma vez que as variações sofridas pelo oviduto na espessura, côr e vascularização das suas paredes são pouco notáveis e que o quadro histológico do órgão em repouso e em atividade, pelo menos com as técnicas habituais de coloração, não oferece contrastes nítidos, o referido índice foi conseguido por ALLENDE⁽²⁷⁻²⁸⁾, da forma a mais satisfatória, incluindo entre duas ligaduras uma porção do oviduto, antes de injetar a substância cuja influência sobre o órgão se deseja investigar. Nos casos positivos, o segmento bloqueado sofre uma distensão e entumescimento manifestos, como resultado da acumulação dos produtos secretados. Si a ação fôr nula, nenhuma alteração de volume é verificada; num ou outro caso isolado, aparece um leve entumescimento em comparação com o oviduto não ligado, porém, o conteúdo evidentemente escasso em comparação com o dos casos positivos é completamente aquoso e não gelatinoso como nestes. A prova é decisiva e não deixa dúvidas. Os resultados são lidos 24 horas após a injeção da substância de prova.

MATERIAL E MÉTODO

As experiências foram levadas a efeito em sapos, *Bufo marinus* (L), que em número de 14, foram divididos em 2 lotes, um de prova composto de 11 animais (seis dos quais injetados durante o mês de outubro e os demais em janeiro) e um lote testemunho representado pelos 3 restantes.

Anestesiávamos o sapo colocando-o dentro de uma campânula de vidro, no interior da qual encontrava-se algodão embebido no éter. Uma vez anestesiado e fixado o animal em decúbito ventral, localizávamos o oviduto por meio de uma incisão de dois centímetros aproximadamente, feita na região lombar e junta à coluna vertebral. A seguir em lugar de incluímos um segmento do oviduto entre duas ligaduras, como até então tínhamos feito⁽²⁹⁾, em obediência à técnica de ALLENDE, ligávamos unicamente a parte mais distal do mesmo, uma vez que pelas nossas experiências, verificamos que a ligação única em nada interferia no bom andamento da prova, até pelo contrário, vinha torna-la mais fácil e reduzia em muito o traumatismo do órgão. Fechávamos depois o corte suturando a camada muscular e a pele separada-

mente. Em seguida a cada animal do lote de prova injetávamos pela via subcutânea 1 cm³ da solução a 10% de ascorbato de sódio (0,1 g), e aos pertencentes ao lote testemunho 1 cm³ de soro fisiológico, após o que eram os animais conservados, na temperatura do laboratório, dentro de campânulas de vidro que continham no seu interior um pouco de água. Após 24 horas eram os animais sacrificados a-fim-de se fazer a leitura da prova.

Expômos na página imediata os resultados por nós obtidos, sendo que a resposta, menor ou maior das glândulas de secreção do oviduto, considerada em face da quantidade de substância gelatinosa produzida, foi representada por cruces.

Obtivemos pois, em 10 dos sapos do lote de prova, uma reação de ALLENDE positiva para o ascorbato de sódio, reação esta aliás, semelhante a obtida por ALLENDE⁽²⁷⁻²⁸⁾ em *Bufo arenarum* HENSEL, não só pela homoiplantação de hipófise, como pela injeção de prolactina, e, por nós, como já nos referimos⁽²⁹⁾, em *Bufo marinus* (L.) com hipófise de peixe.

As reações positivas variaram, como se vê do quadro, em grau de intensidade, parecendo existir relação entre a intensidade da resposta e o estado de evolução dos ovários e oviduto, fenômeno este que se torna claro, se levarmos em conta o comportamento dos órgãos gonadais do sapo fêmea, com relação ao seu ciclo sexual. A-fim-de melhor esclarecer este ponto, passamos a dar alguns detalhes da literatura existente sobre o assunto.

O estudo do ciclo sexual do sapo fêmea, *Bufo arenarum* HENSEL, foi feito na Argentina (Córdoba), por ALLENDE⁽³⁰⁾. Embora trabalhassemos com sapo de espécie diferente (*Bufo marinus* (L.)), os dados dessa autora, segundo as nossas observações, condizem, de maneira aproximada, com o ciclo sexual da espécie por nós utilizada, deferindo talvez, não quanto à natureza das fases do ciclo, mas antes quanto à sua duração, uma vez que as condições climáticas não são precisamente as mesmas. (Assim nos referimos por não ter sido feito, aqui, entre nós, ao que sabemos, um estudo detalhado sobre o ciclo sexual do *Bufo marinus* (L.).

Segundo ALLENDE existe um ciclo anual bem discriminado, constituído por fases de duração muito desigual as quais foram denominadas: *de repouso, de atividade e de recuperação*.

a) *Fase de repouso:*

Abrange grande parte do outono e todo o inverno, e tanto o ovário como o resto do trato genital apresentam um desenvolvimento anatômico máximo. Nessa fase encontramos no ovário três gerações

Sapo	Pêso em g	Sêro fisiológico injetado	Vitamina C em mg	Data	Resultados	Fase do ciclo sexual
1	135	—	100	15/10/44	—	Ovários pouco desenvolvidos, contendo unicamente óvulos imaturos. <i>Fase de recuperação</i>
2	140	—	100	"	+	Ovários regularmente desenvolvidos, contendo poucos óvulos maduros. <i>Idem</i>
3	193	—	100	"	+	Ovários bem desenvolvidos com predominância porém de óvulos imaturos. <i>Idem</i>
4	200	—	100	"	++	Ovários regularmente desenvolvidos com predominância de óvulos imaturos. <i>Idem</i>
5	210	—	100	"	+++	Ovários bem desenvolvidos com predominância de óvulos maduros. <i>Fase de repouso</i>
6 fig. 1	225	—	100	"	+++	Ovários bem desenvolvidos com predominância de óvulos maduros. <i>Idem</i>
7	124	—	100	10/1/45	+	Ovários pouco desenvolvidos contendo somente óvulos imaturos. <i>Fase de recuperação</i>
8	175	—	100	"	+	<i>Idem</i>
9	180	—	100	"	+++	Ovários bem desenvolvidos com predominância de óvulos maduros. <i>Fase de repouso</i>
10	155	—	100	"	+	Ovários pouco desenvolvidos contendo somente óvulos imaturos. <i>Fase de recuperação</i>
11	140	—	100	"	++	Ovários em evolução adiantada, com grande número de óvulos, tendendo para a maturidade. Oviduto regularmente desenvolvido. <i>Idem</i>
12 fig. 2	190	1 cm ³	—	15/10/44	—	Ovários bem desenvolvidos com predominância de óvulos maduros. <i>Fase de repouso</i>
13	200	1 cm ³	—	"	—	<i>Idem</i>
14	220	1 cm ³	—	"	—	Ovários pouco desenvolvidos contendo unicamente óvulos imaturos. <i>Fase de recuperação</i>

de óvulos: *óvulos pequenos*, que se apresentam como vesículas claras e transparentes; *óvulos médios*, de cor amarela uniforme e com meio milímetro de diâmetro aproximadamente; *óvulos grandes e pigmentados*, prontos para serem emitidos e fecundados na próxima época reprodutiva.

O oviduto se mantém num estado estacionário, com um grau de desenvolvimento suficientemente avançado para que possa entrar em função a qualquer momento. Assim é que, neste período, as implantações hipofisárias provocam a atividade funcional do órgão, revelada pela abundante secreção gelatinosa de suas glândulas.

b) *Fase de atividade:*

Apresenta-se durante a primavera, e corresponde a época da desova, em consequência da qual o ovário e oviduto ficam anatomicamente muito reduzidos; permanecem no ovário, unicamente, as duas gerações ovulares mais jovens.

c) *Fase de recuperação:*

Inicia-se imediatamente após a desova e se completa durante o verão e princípios do outono (época em que a alimentação é abundante); ovário e oviduto recuperam o seu desenvolvimento ótimo, sendo que a recuperação dos ovários é algo mais lenta que a do oviduto.

Aqui em nosso meio, pelo que podemos observar, nem todos os animais se apresentam, em um dado momento, na mesma fase do ciclo. Assim, confrontando-se no quadro dos resultados, o estado de evolução das gônadas dos 6 primeiros sapos, injetados durante o mês de outubro (primavera), com os 4 últimos, injetados durante o mês de janeiro (verão), poderemos verificar essa verdade. Porém, nada mais desejamos adiantar a respeito, uma vez que estudos melhores sobre a questão, não foram ainda levados a efeito.

DISCUSSÃO

Não será fácil, por ora, interpretar esta ação do ácido ascórbico sobre o oviduto do sapo.

Nos mamíferos, como podemos verificar pelo resumo bibliográfico, a maioria das experiências têm evidenciado, que a vitamina C encontra-se intimamente relacionada com a função do corpo amarelo, ou mais precisamente com o seu hormônio, a progesterona. Nestes animais esta interpretação é facilitada pelo motivo de se conhecer, quasi nos seus detalhes mais íntimos, não só a influência dos diferentes hormônios hipofisários e ovarianos na determinação das diversas fases do ciclo sexual como também, a relação existente entre a função destas glândulas endócrinas e a sua concentração em ácido ascórbico. Assim, os princípios gonadotrópicos da hipófise agem diretamente sobre os ovários, e aos hormônios ovarianos produzidos pelo estímulo hipofisário, é que devemos, não só o desenvolvimento anatômico como a atividade das demais estruturas componentes do trato genital feminino. A progesterona, entre outras ações, cabe, como sabemos, primei-

ramente estimular a função da mucosa uterina (secreção; transformação pré-gravídica do endométrio), criando desta maneira condições ótimas para a nidação do ôvo, e, secundariamente proteger a prenhez na sua fase inicial.

Nestes conhecimentos fisiológicos e nos resultados das suas experiências baseia-se a concordância da maioria dos autores, na ação da vitamina C, acima exposta, sugerindo mesmo, BISKIND e GLICK⁽¹²⁾, que a presença do ácido ascórbico seja necessária para a produção normal do hormônio do corpo amarelo, quer mantendo a integridade das estruturas responsáveis pela sua formação, ou mais diretamente influenciando as reações químicas envolvidas na síntese da progesterona.

No sapo, porém, pouco sabemos sobre os fatores determinantes das diversas fases do seu ciclo sexual, e o que há de estabelecido até agora, é que a hipófise representa um agente primordial no desencadeamento dos processos de ovulação e de secreção do oviduto.

Neste sentido a ação da hipófise contrasta nitidamente com o observado nos mamíferos, pois se nestes últimos animais, a implantação hipofisária se caracteriza por determinar processos de natureza *produtiva*: aumento em número e tamanho dos elementos celulares existentes e formação de estruturas novas, como acontece por exemplo, no caso do corpo amarelo, — no sapo esta sua ação possui um caráter plenamente *desintegrativo*: ovário e oviduto ficam anatomicamente muito reduzidos pela perda de óvulos e das substâncias constitutivas da secreção gelatinosa.

Por outro lado, ALLENDE⁽²⁷⁾, verificou, em sapos, que a hipofisectomia determina, embora de forma lenta, processos involutivos nos órgãos gonadais, fenômeno êste demonstrativo de uma ação hipofisária importante sobre os processos anabólicos envolvidos na evolução do aparelho genital. Contudo, não ficou esclarecido, se esta influência da hipófise é de caráter *específico*, existindo nesse caso um princípio ativo com a missão de desempenhar aquela função, ou que se trate de uma influência *inespecífica*, resultante de ações metabólicas de ordem geral.

Outra observação curiosa, ainda devida a ALLENDE⁽²⁷⁾ é que o oviduto dêstes batráquios encontra-se sob o controle hipofisário anterior, *mas de um modo direto*, pois que se obtêm respostas positivas, dêste último órgão, quando a homoimplantação de hipófise é feita em sapos ovariectomizados.

Como vemos, aqui também, esta ação da hipófise contrasta com o que se verifica nos mamíferos, uma vez que o útero dêstes últimos animais (o oviduto pode ser, anatômica e funcionalmente comparado

a este último órgão), encontra-se sob a influência direta dos hormônios ovarianos.

Considerando-se a inexistência de corpos amarelos nestes batráquios — animais ovíparos — e ainda o controle direto da hipófise sobre o oviduto, é lógico admitir que a ação da vitamina C sobre este último órgão é determinada quer por uma influência *inespecífica* resultante de ações metabólicas de ordem geral, quer por uma influência *específica*, agindo nesse caso diretamente sobre a hipófise, influenciando no princípio responsável pelo desencadeamento da secreção gelatinosa do oviduto, si é que este princípio exista, do mesmo modo que intervem sobre os corpos amarelos dos mamíferos.

CONCLUSÕES

1 — A injeção de ascorbato de sódio determinou uma reação no oviduto do sapo *Bufo marinus* (L.) semelhante àquela obtida pelas homoiplantações de hipófise anterior.

2 — Utilizando, nas experiências, a técnica de ALLENDE, obtivemos em 11 animais injetados, 10 respostas positivas.

3 — As reações positivas variaram em grau de intensidade parecendo existir relação entre a intensidade da resposta e o estado de evolução dos ovários e oviduto.

4 — Considerando-se os conhecimentos atuais sobre os fenômenos reprodutivos, assim como a regulação endócrina dos mesmos, nos batráquios, não se pode concluir por ora, se esta ação do ascorbato de sódio depende de uma influência direta ou indireta sobre o oviduto.

SUMMARY

1) — *The injections of the sodium salt of ascorbic acid have determined a reaction on the oviduct of the toad (Bufo marinus (L.), similar to that obtained by homoiplantation of the anterior hypophysis.*

2) — *By employing, in the above experiments, ALLENDE's technique, we obtained 10 positive responses, out of 11 injected animals.*

3) — *It seems that the intensity of the positive reactions depends on the degree of maturation of both ovaries and oviducts.*

4) — *Considering the present state of our knowledge on reproductive phenomena, as well as their endocrine regulation, in batrachia, we cannot say, for certain, whether the sodium salt of ascorbic acid acts directly or indirectly on the oviduct.*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 — REYHER, P. — WALKHOFF, E. — WALKHOFF, O. — 1928 — Studien über die Wirkung C - hypovitaminotischer Nahrung auf Schwangere, Feten und Neugeborene. *Münch. Med. Wschr.*, 75 (49): 2087-90
- 2 — BESSESEN, D. H. — 1922 — Changes in organ weights of the guinea-pig during experimental scurvy. *Am. J. Physiol.*, 63: 245-56
- 3 — LINDSAY, B. — MEDES, G. — 1926 — Histological changes in the testis of the guinea-pig during scurvy and inanition. *Amer. Jour. Anat.*, 37 (2): 213-36
- 4 — GOETTSCH, M. — 1930 — Relationship between vitamin C and some phases of reproduction in the guinea-pig. *Am. J. Physiol.*, 95: 64-70
- 5 — BESSEY, A. O. — KING, C. G. — 1933 — The distribution of vitamin C in plant and animal tissues, and its determination. *J. Biol. Chem.*, 103: 687-98
- 6 — KRAMER, M. M. — HARMAN, M. T. — BRILL, A. K. — 1933 — Disturbances of reproduction and ovarian changes in the guinea-pig in relation to vitamin C deficiency. *Am. J. Physiol.*, 106: 611-22
- 7 — VOGT, E. — 1934 — Vitamin C und Fortpflanzung. *Münch. Med. Wschr.*, 81 (21): 791-2
- 8 — MOURIQUAND, G. — SCHOEN, J. — 1933 — Influence protectrice de la gestation sur la carence en vitamine C. *Compt. Rend. Acad. Sci., Paris*, 197: 203-4
- 9 — BOURNE, G. — 1935 — Synthesis of vitamin C by luteal tissue. *Nature*, London, 26: 148-9
- 10 — HUSZÁK, S. — 1935 — Über den Ascorbinsäuregehalt der "Corpora lutea". "in" *Biol. Absts.*, 9: 2894
- 11 — SAFFRY, O. B. — FINERTY, J. C. — 1940 — Injection of "corpora lutea" extract in pregnant guinea-pigs on a vitamin C-limited diet. "in" *Biol. Absts.*, 14: 13211
- 12 — BISKIND, G. R. — GLICK, D. — 1936 — Studies in Histochemistry. V:— The vitamin C concentration of the "corpus luteum" with reference the stage of the estrous cycle and pregnancy. *J. Biol. Chem.*, 113: 27-34
- 13 — PINCUS, G. — BERKMAN, J. — 1937 — Ascorbic acid during pregnancy in the rabbit. *Am. J. Physiol.*, 119: 455-62
- 14 — BOURNE, G. — 1935 — The distribution of vitamin C in the organs of the fox ("Vulpes vulpes"). *Australian Jour. Exper. Med. & Med. Sc.*, 13: 113-25
- 15 — LEY, L. — 1937 — Ueber die Behandlung des habituellen Abortus mit Vitamin C. *Münch. Med. Wschr.*, 84 (46): 1814-6
- 16 — ISRAEL, S. L. — MERANZE, D. R. — 1941 — The progesterone-like effects of ascorbic acid (Vitamin C) on the endometrium. *Endocrinology*, 29 (2): 210-14.
- 17 — PRATT, P. C. — 1943 — Evidence against a progesterone-like action of ascorbic acid. *Endocrinology*, 32 (1): 92-6
- 18 — GIEDOSZ, B. — 1938 — Sensibilisation de l'action de l'hormone gonadotrope par la vitamine C. *Compt. Rend. Soc. Biol.*, 129 (26): 339-41
- 19 — DICIO, A. V. — SCHTEINGART, M. — 1942 — The influence of ascorbic acid on the activity of gonadotropic hormones. *Endocrinology*, 30 (2): 263-4

- 20 — ANDREWS, F. N. — ERB, R. E. — 1943 — Ascorbic acid-gonadotropic hormones relationships in the chick. *Endocrinology*, 32 (2): 140-4
- 21 — ERB, R. E. — ANDREWS, F. N. — 1942 — Effect of the gonadotropic substance of pregnant mare's serum on the blood plasma-ascorbic acid of the bovine. *Endocrinology*, 30 (2): 258-62
- 22 — ANDREWS, F. N. — ERB, R. E. — 1942 — Effect of the gonadotropic substance of pregnant mare's serum on the blood plasma-ascorbic acid of the castrate bovine. *Endocrinology*, 30 (5): 671-4
- 23 — PHILLIPS, P. H. — LARDY, H. A. — 1940 — Sperm stimulation in the bull through the subcutaneous administration of ascorbic acid. *Jour. Dairy Sci.*, 23: 873-8
- 24 — PHILLIPS, P. H. — LARDY, H. A. — BOYER, P. D. — WERNER, G. M. — 1941 — The relationship of ascorbic acid to reproduction in the cow. *Jour. Dairy Sci.*, 24: 153-8
- 25 — KLUSENDORF, R. C. — 1941 — Ascorbic acid (vitamin C) for the treatment of impotency in bulls and sterility in cows. *Canadian Jour. Comp. Med.*, 5 (9): 267-8
- 26 — REECE, R. P. — WEATHERBY, W. J. — 1942 — The influence of ascorbic acid on the gonadotropic hormone content of the male rat pituitary gland. *Jour. Dairy Sci.*, 25: 707
- 27 — ALLENDE, I. L. C. DE — 1938 — Influencia direta de la hipófisis sobre el oviducto de los bacrtracios. *Rev. Soc. Arg. Biol.*, 14 (8): 505-8
- 28 — ALLENDE, I. L. C. DE — 1939 — Acción de la prolactina sobre el oviducto de los bacrtracios. *Rev. Soc. Arg. Biol.*, 15: 190-3
- 29 — FONSECA RIBEIRO — TABARELLI NETO, J. F. — 1943 — Ação da hipófise de peixe sôbre o oviduto do sapo, *Bufo marinus* (L.). *Rev. Fac. Med. Vet., S. Paulo*, 2 (3): 99-102
- 30 — ALLENDE, I. L. C. DE — 1938 — Ciclo sexual del "Bufo arenarum" hembra. *Rev. Soc. Arg. Biol.*, 14 (8): 515-22

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

- Fig. 1** — Sapo n.º 6. Animal de prova. O oviduto ligado está indicado pela flexa. Note-se a grande distensão do mesmo.
- Fig. 2** — Sapo n.º 12. Animal testemunha. O oviduto ligado está indicado pela flexa, não há intumescência.

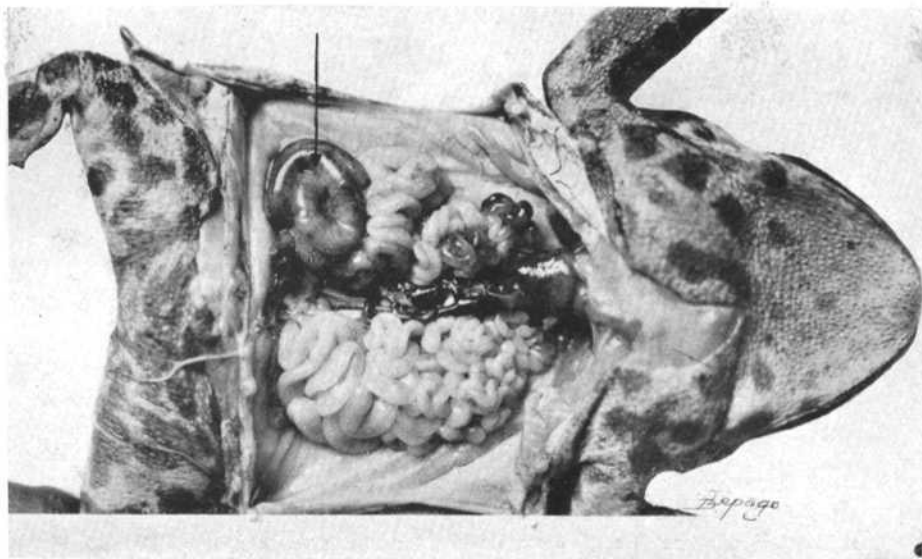


Fig. 1

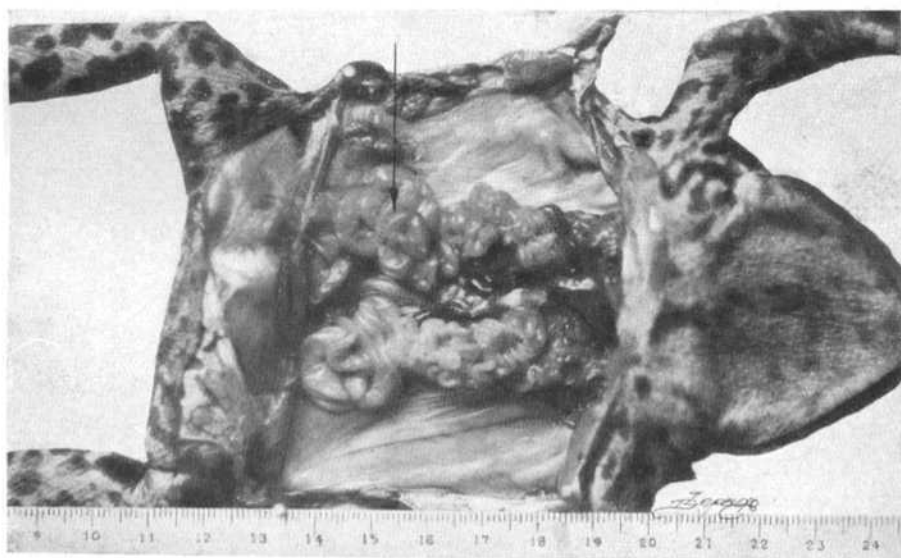


Fig. 2