

## RESUMO

O propranolol, utilizado frequentemente na patologia cardíaca por seu efeito bloqueador  $\beta$ -adrenérgico, está freqüentemente associado com efeitos sexuais colaterais. Esses efeitos não parecem estar relacionados ao bloqueio  $\beta$ -adrenérgico. O efeito do propranolol sobre o metabolismo dos fosfolípidios e do diacilglicerol tem sido referido na literatura. No presente trabalho foi estudado o envolvimento da via de tradução do sinal do diacilglicerol/proteína quinase C (DAG/PK-C) na ação do propranolol sobre a secreção de testosterona em células intersticiais testiculares de rato. O tratamento agudo com propranolol estimulou a secreção de testosterona *in vitro* com concentrações da droga variando de 1  $\mu$ M a 100  $\mu$ M. O H-7 (20  $\mu$ M), inibidor da PK-C, reduziu esse efeito em aproximadamente 50%. Na concentração de 75  $\mu$ M o S-propranolol reduziu 50% da ligação do [ $^3$ H]12,13-dibutirato de forbol ([ $^3$ H]PDBu) às células enquanto que no homogeneizado dessas células a redução da ligação foi de apenas 5%. Esses resultados sugerem que o efeito do S-propranolol sobre a ligação do [ $^3$ H]PDBu poderia ser indireto, possivelmente por aumentar a concentração de um mediador químico que interage com o domínio regulatório da PK-C. Em concentrações ainda mais baixas (1 nM a 100 nM), o S- ou R-propranolol adicionado diretamente à mistura de reação com PK-C parcialmente purificada das células intersticiais aumentou a fosforilação da histona. Essa fosforilação foi comparável àquela obtida com (25  $\mu$ M) fosfatidilserina, não ocorreu em ausência de  $Ca^{2+}$  e foi revertida com 20  $\mu$ M H-7. O tratamento crônico com propranolol por via intraperitoneal (30 mg/Kg/8 dias) bloqueou o efeito estimulatório do S-propranolol e dos ativadores da PK-C (PDBu e LHRH) sobre a secreção de testosterona em células intersticiais testiculares *in vitro*, sugerindo a dessensibilização da via

do DAG/PK-C nessas células. Contudo, a atividade da PK-C não foi modificada. O tratamento mais prolongado, por via oral, com propranolol (500 mg/L/5 semanas) produziu uma dessensibilização mais suave na resposta secretória das células, não modificou a ligação do [<sup>3</sup>H]PDBu e não modificou a atividade, em valores absolutos, da PK-C. Esses resultados sugerem que a PK-C não está envolvida na dessensibilização da resposta secretória. A especificidade dessa dessensibilização é sugerida pela não modificação (redução) do efeito inibitório do propranolol sobre a secreção de testosterona estimulada pelo hCG e dbAMPc, ativadores indireto e direto da PK-A. Concluindo, os resultados sugerem que a PK-C pode ser a quinase putativa envolvida no efeito agudo estimulatório do propranolol sobre a secreção de testosterona pelas células intersticiais testiculares e que a dessensibilização dessas células após tratamento crônico com propranolol não envolve diminuição da atividade ou de concentração dessa enzima.

**Palavras chave:** Propranolol – Tradução de sinal – Proteína quinase C – Esteroidogênese – Testículo

**Endereço eletrônico:** [carminhacmartins@yahoo.com.br](mailto:carminhacmartins@yahoo.com.br)

[mccm@ufpi.br](mailto:mccm@ufpi.br)

## ABSTRACT

Propranolol is a drug frequently used in cardiac pathology for its adrenergic  $\beta$ -blocker effect. It is frequently associated with collateral sexual effects. These effects appeared to be unrelated with the  $\beta$ -adrenergic blockade. The propranolol effect on the phospholipids and diacylglycerols metabolism has been reported. In this work the diacylglycerol/kinase C protein (DAG/PK-C) signal transduction pathway involvement in the propranolol action on the testosterone secretion in rat testicular interstitial cells was studied. The propranolol acute treatment stimulated the in vitro testosterone secretion at concentrations ranging from  $1\mu\text{M}$  a  $100\mu\text{M}$ . The PK-C inhibitor H-7 ( $20\mu\text{M}$ ) reduced this effect in 50% approximately. S-propranolol in the  $75\mu\text{M}$  concentration reduced 50% of [ $^3\text{H}$ ]phorbol 12,13-dibutyrate ([ $^3\text{H}$ ]PDBu) binding to the interstitial cells while that in homogenate of the these cells the binding reduction was by only 5%. These findings suggest that the effect of the S-propranolol on [ $^3\text{H}$ ]PDBu binding could be indirect, possibly by increasing the concentration of a chemical mediator interacting with the PK-C regulatory domain. At even lower concentrations, propranolol L- or D- ( $1\text{nM}$  a  $100\text{nM}$ ) directly added to the reaction mixture with PK-C partially purified from interstitial cells increased the histone phosphorylation. This phosphorylation was comparable to that obtained with ( $25\mu\text{M}$ ) phosphatidylserine. It did not occur in  $\text{Ca}^{2+}$  absence and it was reverted with  $20\mu\text{M}$  H-7. The propranolol chronic treatment by intraperitoneal administration ( $30\text{ mg/Kg/8 days}$ ) blocked the stimulatory effect of S-propranolol and PK-C activators (PDBu and LHRH) on the in vitro testosterone secretion in testicular interstitial cells, that suggests the DAG/PK-C pathway desensitization in these cells. However, the PK-C activity was not modified. The more prolonged treatment propranolol ( $500$

mg/L/5 weeks) by oral administration has produced a softer desensitization in the secretory reply of the cells, but it did not modify the [<sup>3</sup>H]PDBu binding and PK-C activity, in absolute values. These results suggest that the PK-C is not involved in the secretory reply desensitization. The especificity of this desensitization is suggested by the absence of modification (reduction) of the propranolol inhibitory effect on the stimulated testosterone secretion by hCG and dbcAMP, PK-C activators indirect and direct. In conclusion, the results suggest that PK-C could be the putative quinase involved in the propranolol stimulatory acute effect on the testosterone secretion for the testicular interstitial cells and that the desensitization of these cells after chronic propranolol treatment does not involve activity or concentration reduction of this enzyme.