

# Um novo "test" ponderal para a avaliação da atividade do hormônio cortical (\*)

por

Gilberto G. Villela

(Chefe da Divisão de Química e Farmacologia do Instituto Oswaldo Cruz)

(Com 1 gráfico no texto)

MacKay e MacKay, em 1926, mostraram que a ablação de uma suprarrenal causa a hipertrofia da glândula restante (1). Havendo hipofisectomia esta hipertrofia não se verifica (Smith). No animal normal a ministração de extratos suprarrenais ativos, em doses elevadas, produz atrofia das suprarrenais conforme mostraram Ingle e Kendall (2) (3). A fração adrenotrópica dos extratos antehipofisários, no entanto, previne esta atrofia, o que faz supor ser a hipertrofia da glândula no animal adrenalectomizado unilateralmente a resultante do excesso do estímulo hipofisário não compensado.

MacKay e MacKay verificaram mais tarde que a injeção de extratos ativos de suprarrenal no animal operado, podia prevenir a hipertrofia da glândula restante (4). Se a dose do extrato for elevada resultará uma atrofia da glândula. O crescimento da suprarrenal parece estar condicionado ao estímulo hipofisário que é frenado pela quantidade de hormônio cortical em circulação no organismo. Desde que esse equilíbrio seja rompido aparece a hipertrofia.

Baseados nestas observações, procuramos estabelecer um ensaio da atividade dos extratos corticais que seria representado pela ação antihipertrofiante sobre a glândula não operada.

## TÉCNICA

As operações foram feitas em ratos brancos (tipo Wistar) de peso variando entre 20 e 60 g. e da mesma criação de animais que nos servem

---

\* Recebido para publicação a 8 de fevereiro e dado à publicidade em abril de 1943.

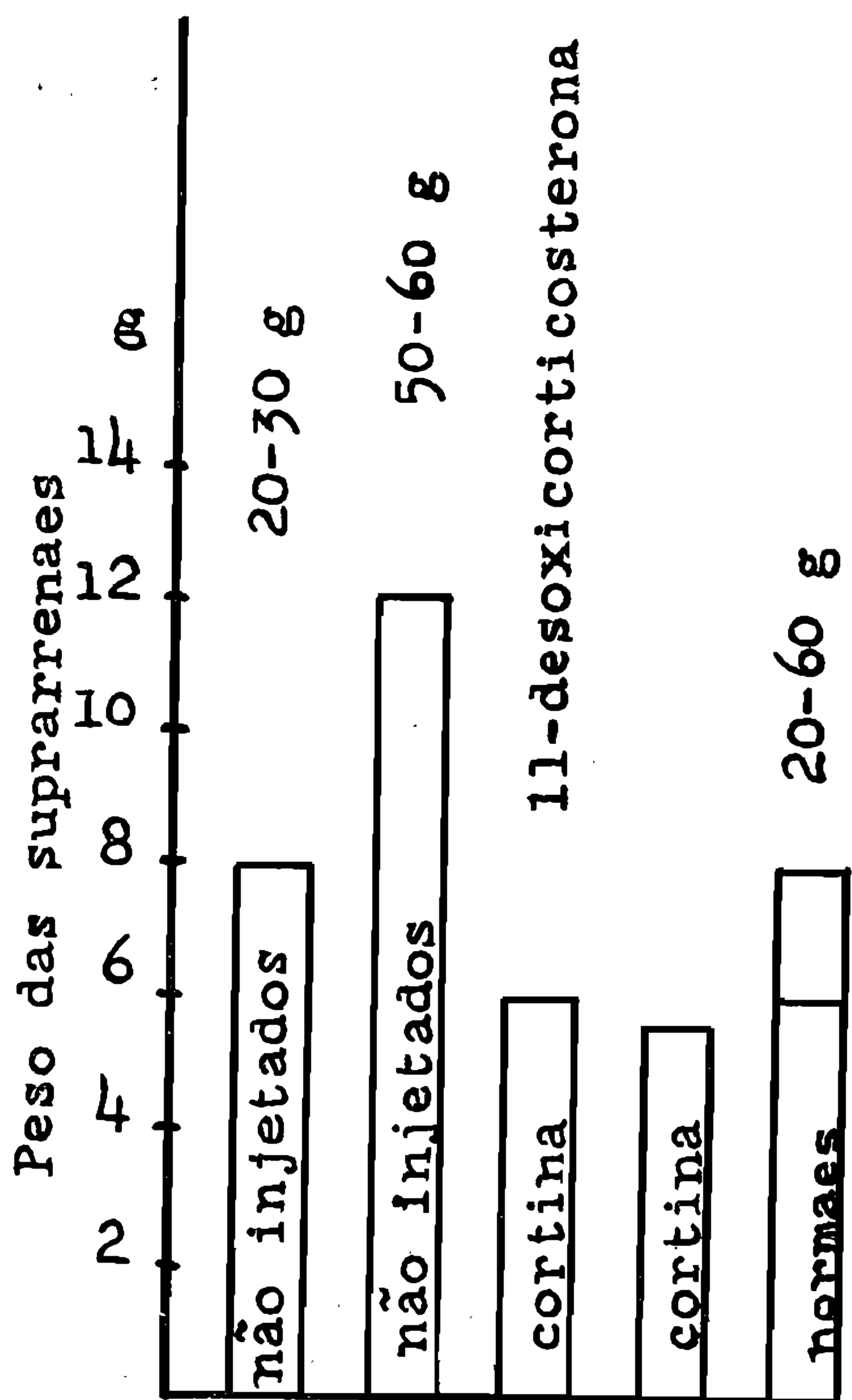
(\*) Trabalho apresentado ao 2.º Congresso Brasileiro de Química reunido em Curitiba (janeiro de 1943).

habitualmente para o "test" de atividade. Estes respondem bem aos extratos corticais, apresentando uma sobrevida média de 7 dias depois da adrenalectomia total.

A adrenalectomia unilateral é feita em 10 a 20 ratos de peso uniforme (variando de 2 a 5 g.) e no mesmo lado. A técnica operatória é a que geralmente empregamos em nosso laboratório para o ensaio dos hormônios corticais (5). A anestesia é feita pelo eter anestésico, em dose mínima, depois do animal ter sido injetado com 0.1 a 0,12 cm<sup>3</sup> da solução de veronal a 10%. A operação se pratica no prazo de 3 a 4 minutos, o animal estando já acordado quando se processa à sutura final. A glândula depois de retirada e livre da gordura que a envolve, é mergulhada na solução fixadora (6), onde permanece 12 a 15 horas. O líquido fixador é uma modificação do de Bouin e tem a seguinte composição :

Solução saturada de ácido picrico .....	750 cm <sup>3</sup>
Aldeido fórmico comercial .....	150 cm <sup>3</sup>
Ácido acetico glacial .....	100 cm <sup>3</sup>
Uréia. . . . .	10 g.

Após 12 horas o órgão é bem seco em papel de filtro e pesado numa balança de torsão. O animal é injetado no mesmo dia da operação e nos dias consecutivos até o 8.º dia quando se retira pelo mesmo processo a glândula restante. Para cada lote de animais é conveniente a princípio usar dois lotes de testemunhas. Um deles é injetado com um extrato de valor conhecido ou com a 11-desoxicorticosterona e o outro não é injetado. Verifica-se que os animais não injetados apresentam ao cabo de 8 dias uma hipertrofia da glândula restante, ao passo que os animais que tomaram o extrato ativo mostram pesos pouco superiores aos da glândula retirada e comparáveis às glândulas do mesmo lado de animais não operados, mas do mesmo tamanho. É importante assinalar aqui que o lote de ratos deve ser homogêneo, porque o peso da suprarrenal varia com o peso do animal. A princípio trabalhamos com ratos de 20 a 30 g., que são os que empregamos para o ensaio de Grollman, mas observamos que se obtem resultados mais nítidos quando se trabalha com ratos de 50 a 60 g. Nestes a diferença de peso das glândulas é sensível e permite uma comparação bem mais nítida. No gráfico I encontram-se os valores obtidos com as glândulas de animais normais, injetados com extratos ativos e com a 11-desoxicorticosterona. O presente "test" pareceu-nos útil sobretudo quando se tem em vista a avaliação da atividade de preparações farmacêuticas contendo outras substâncias tais como vitaminas e extratos tissulares diversos. Acresce ainda que os animais que serviram para o nosso "test" podem ser empregados para o ensaio de sobrevida ou da manutenção de peso.



A unidade ponderal por nós proposta é representada pela quantidade do hormônio cortical capaz de impedir a hipertrofia da glândula suprarrenal do rato de 50-60 g. adrenalectomizado unilateralmente e no prazo de 8 dias.

#### CONCLUSÕES.

A adrenalectomia unilateral do rato determina a hipertrofia da suprarrenal restante. A ministração de extratos corticais ativos impede essa hipertrofia.

É proposto um "test" ponderal baseado na ação frenadora do hormônio cortical sobre o aumento de peso da suprarrenal do animal adrenalectomizado unilateralmente. A quantidade de hormônio suficiente para manter o peso da glândula e comparavel à do rato de mesmo peso e não operado, é considerada como uma unidade antihipertrófica.

#### A NEW PONDERAL TEST FOR DETECTING THE ACTIVITY OF CORTICAL HORMONE EXTRACTS.

Unilateral adrenalectomy caused a marked hypertrophy of the remaining gland, as showed by MacKay and MacKay. In normal animals adre-

nal extracts produced the atrophy of the adrenal glands (Ingle and Kendall). The growth stimulus seems to be dependent from the adrenotropic hormone of the hypophysis. MacKay and MacKay showed later that active cortical extracts were able to prevent the pituitary stimulus in adrenalectomized rats. Based on these findings a biological test was worked out; the weight of the remaining adrenals of the operated rats being taken as a criterium for the activity of the cortical extracts injected.

Rats weighing 20 to 60 g were employed. Adrenalectomy was performed unilaterally and the extract injected the same day until the 8<sup>th</sup> day. At this time the second gland was operated, dried and weighed. For each test, 3 groups of rats were employed, the first group was injected with the unknown extract, the second with 0.5 mg. of 11-desoxycorticosterone and the third not injected. The weight of the adrenals of the rats of the third group showed a marked hypertrophy as compared with the other groups. The weight and size of the glands of the normal rats of the same age showed values comparable with those of the operated rats and injected with active extracts or 11-desoxycorticosterone. When younger rats were used (20 to 30 g) the differences are not very sharp as when older animals were employed (50 to 60 g).

The quantity of the hormone which is able to maintain the weight of the gland of the adrenalectomized rat at the same level as the weight of the nonoperated rat is proposed as 1 anti-hypertrophic rat unit.

#### BIBLIOGRAFIA

1. MACKAY (E. M.) e MACKAY (L. L.)  
Jour. Exp. Med. 43, 395, 1926.
2. INGLE (D. J.) e KENDALL (E. C.)  
Science, 86, 245, 1937.
3. INGLE (D. J.)  
Endocrinology, 31, 419, 1942.  
INGLE (D. J.), HIGGINS (G. M.) e KENDALL (E. C.)  
Anat. Rec. 71, 363, 1938.
4. MACKAY (E. M.) e MACKAY (L. L.)  
Endocrinology, 23, 237, 1938.
5. VILLELA (G. G.) e QUENTAL (J. B.)  
Hormônios, Liv. Odeon, Rio, 1938.
6. BURN (J. H.)  
Biological Standardization, Oxford Medical Publications, 1937, p. 143.