

**AÇÃO DA CLORPROMAZINA E DA PROMETAZINA SOBRE
A GLÂNDULA ADRENAL DO RATO
HIPOFISECTOMIZADO (*)**

*DR. R. L. NICOLETTI (**)*

Os dados bibliográficos relacionados com a ação da clorpromazina e da prometazina sobre a glândula adrenal são pouco numerosos e às vezes discordantes.

Em 1953, Guillemin e Fortier Bocher e col. e Benos Nasmyth ⁽¹⁾ verificaram o poder corticotrópico da prometazina.

Cahn e col. ⁽²⁾, injetando na cavidade peritoneal do rato duas doses da mistura de clorpromazina — prometazina, na quantidade de 2,2 mg de cada droga para 100 g de peso corpóreo, em intervalo de 20 minutos, após ter anestesiado o animal com uretana, verificaram queda de 100% nos eosinófilos circulantes. Nos ratos que receberam somente clorpromazina a queda foi de 80%, e naqueles que receberam somente prometazina, a queda foi menor, isto é, 67%. Concluíram êsses autores haver ação corticotrópica dos constituintes desta mistura sendo sua ação máxima quando associados.

Êsses mesmos autores, estudando histologicamente as adrenais decorridas 4 horas desde a administração da droga, encontraram-nas com o seu aspecto histológico normal, com vasodilatação dos capilares sinusóides, da medular e cortical.

(*) Trabalho realizado no Departamento de Histologia (Prof. Dr. L. Lison) e apresentado ao IV Congresso Brasileiro de Anestesiologia, Pôrto Alegre, R. G. S., outubro de 1957.

(**) Instrutor de Anestesiologia. Departamento de Cirurgia. (Prof. Dr. R. Ferreira Santos). Serviço de Anestesia. Faculdade de Medicina de Ribeirão Prêto, da Universidade de São Paulo, Ribeirão Prêto, S.P., Brasil.

AP3126

Roskan e col. ⁽³⁾ verificaram que a ação corticotrópica da clorpromazina desaparecia no rato se a introdução do produto era feita em doses fracas, múltiplas e administradas durante várias horas.

Schaumkell ⁽⁴⁾ estudou as lâminas histológicas das adrenais de ratos sacrificados 60 horas depois da administração de clorpromazina, chegando à conclusão que a droga não tem ação sobre a córtex adrenal que conserva a sua morfologia habitual.

Egdahl e Richards ⁽⁵⁾ determinaram a ação da clorpromazina sobre a função adrenocortical, dosando os 17-hidroxicorticosteróides na veia adrenal de 23 cães após a administração endovenosa da droga. Verificaram resposta adrenal significativa em aproximadamente metade dos animais; como a resposta da adrenal era abolida nos animais hipofisectomizados ⁽²⁾ excluíram os autores ação direta da droga.

Preziosi e col. ⁽⁶⁾ estudaram as modificações da taxa de ácido ascórbico de colesterol e o comportamento dos lípides birrefringentes de ratos submetidos a ação da clorpromazina e da prometazina. Com pequenas doses, não verificaram efeito estimulante sobre a córtex, o que foi observado com grandes doses.

Por êsses dados observa-se que a clorpromazina e a prometazina possuem, segundo a maioria dos investigadores, nítido efeito estimulante sobre a córtex adrenal.

Na presente investigação, estudamos a ação da mistura clorpromazina-prometazina sobre a adrenal do rato hipofisectomizado, procurando, investigar se a ação das drogas efetua-se diretamente sobre a adrenal (cortical e medular) independentemente da hipófise. Usamos técnicas histológicas quantitativas de determinação do volume nuclear — método coriométrico — e do volume das zonas medular e cortical — método planimétrico.

Material e Método

Foram utilizados ratos albinos, Wistar, machos hipofisectomizados provenientes do Biotério Geral da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. O número total de animais foi 6.

A hibernação artificial nos ratos foi provocada por injeções na cavidade peritoneal de solução aquosa contendo, por ml 0,5 mg de clorpromazina e igual quantidade de prometazina.

O estado de hibernação foi mantido repetindo-se a administração das drogas.

Logo após a primeira injeção da mistura de drogas, os animais, sem exceção, tornavam-se hipotérmicos caindo num estado de sonolência acentuada; novas injeções eram feitas toda vez que os animais despertavam.

A hipofisectomia foi feita 30 dias antes do início da experiência segundo a técnica de Ingle e Griffith ⁽⁷⁾. Durante todo esse período de tempo eram pesados cada 2 dias para verificar-se a curva de peso, sendo eliminados os animais que ganharam peso.

Na autópsia examinamos a sela turca destes animais com a ajuda de microscópio binocular de disseção, tendo verificado por este método que, em todos, a hipofisectomia havia sido completa.

Ao fim do prazo preestabelecido, 48 horas, as adrenais eram retiradas, estando os animais sob anestesia por éter, e colocadas, em papel de filtro, onde rapidamente eram libertadas, quanto possível, de toda a gordura e de todo o tecido conjuntivo frouxo-envolvente, tomando-se o cuidado para deixar a cápsula intacta. A seguir eram pesadas, em balança analítica, fixadas por 24 em Bouin ou em Alfac e incluídas simultaneamente em parafina no aparelho de inclusão automática (Histoquine).

As adrenais foram cortadas em série (cortes de 10µ de espessura) e após as manipulações histológicas habituais as lâminas foram coradas pela hematoxilina-eosina.

Para a determinação do volume nuclear, projetamos as imagens dos núcleos com o auxílio do histofotômetro de Lison ⁽⁸⁾ sobre "ecran" obtendo-se um aumento final de 2.000 diâmetros. Escolhemos ao acaso núcleos inteiros, isto é, não atingidos pela lâmina do micrótomo. No desenho, tomávamos sempre o cuidado de verificar se realmente o núcleo inteiro se encontrava na espessura do corte. Desenhamos o contorno de 100 núcleos para cada camada da cortical e da medular. Com papel milimetrado eram medidos 2 diâmetros perpendiculares, segundo o método preconizado por Jacoby ⁽⁹⁾ e Olivo, Porta e Barberis ⁽¹⁰⁾; a partir destes dados calculamos o volume segundo a fórmula

$$V = \frac{\pi}{6} \left(\frac{D_1 + D_2}{2} \right)^3 K$$

onde V é o volume do núcleo, D₁ e D₂ são os dois diâmetros perpendiculares e K é a constante de aumento do desenho. Os volumes foram expressos em micra cúbicos.

Para a determinação do volume total da zona medular e da zona cortical as imagens dos cortes seriados, projetados sobre "ecran" eram desenhados em seus contornos. Segundo Blumenfeld ⁽¹¹⁾ e Christensen ⁽¹²⁾ desenhamos apenas a imagem de um corte em cinco da série, isto é, desprezávamos regularmente 4 cortes seriados para 1 aproveitado. Por intermédio de um planímetro de precisão foram calculadas as áreas dos desenhos; somando-se êstes dados, multiplicando-se a soma por 5 (número de série de cada corte utilizado, por 10 (espessura dos cortes) e pela constante do planímetro (139,75 para ocular 10).

As proporções relativas das áreas correspondentes ao núcleo, citoplasma, conjuntivo e vasos da zona medular foram determinados pelo método de Chalkley ⁽¹³⁾. Essa determinação foi feita em 50 campos usando-se uma ocular com 6 setas (hits).

Resultado

Os animais tratados receberam nos dois dias de experiência 12 injeções, perfazendo o total de 12 mg da mistura clorpromazina-prometazina.

Os resultados que estão resumidos na tabela correspondem à média aritmética das duas adrenais.

Em relação aos volumes medular total e cortical total verificamos pela simples inspeção da tabela, que êsses valores são maiores nos animais hipofisectomizados hibernados em relação aos testemunhos não-hibernados. Tomando-se por base o volume medular total e cortical total médio das adrenais dos ratos hipofisectomizados-testemunhos, podemos admitir acréscimos volumétricos percentuais de 39% para zona medular, 77% para a zona cortical nos animais hibernados.

O volume nuclear das células que compõem a zona medular é também nitidamente maior nos animais hipofisectomizados hibernados que nos hipofisectomizados-testemunhos, podendo-se admitir acréscimo volumétrico percentual da ordem de 60,3%.

Fato interessante podemos observar ao analisar ao percentagem de núcleo e citoplasma na célula. Verificamos que houve apenas, no decorrer da experiência, aumento da percentagem nuclear sem o correspondente aumento da percentagem citoplasmática.

Observou-se também maior percentagem de vasos nos cortes de adrenais dos animais tratados, indicando vaso-

Ratos Machos Hipofisectomizados Tratados e Testemunhos 48 Horas

Pêso do Animal g	104	124	100	96	100	117
	98	116	93	96	97	116
Pêso das Adrenais mg	11	12	15	6,5	9	7,5
Tratamento	Clorpromazine + prometazine	ID	ID	—	—	—
Quantidade total de mistura mg ...	12	12	12	—	—	—
Volume Nuclear médio-Medular - m ³ .	118	133	132	77	78	80
Percentagem de Núcleo na célula	22,0	21,7	22,6	14,0	14,4	12,6
Percentagem de citoplasma na célula ..	78,3	78,3	77,3	86,0	85,5	87,4
Volume medular total m ³	372.10 ⁵	449.10 ⁵	504.10 ⁵	264.10 ⁵	299.10 ⁵	387.10 ⁵
Percentagem de células	84,6	79,4	74,9	87,9	86,4	88,9
Percentagem de conjuntivo	2,6	2,9	5,1	2,8	3,8	4,0
Percentagem de vasos	17,6	17,5	19,8	9,1	9,6	8,9
Volume citoplasma médio m ³	426	480	453	472	465	557
Volume do parênquima m ³	31.471.10 ⁵	35.650.10 ⁵	37.749.10 ⁵	23.205.10 ⁵	25.833.10 ⁵	34.404.10 ⁵
Volume celular médio m ³	545,8	613,0	585,5	548,9	543,3	637,3
Volume Nuclear médio Glomerular m ³	90	108	111	81	76	72
Volume nuclear médio Fascicular m ³	78	85	83	66	71	62
Volume Nuclear médio Reticular m ³ ..	67	67	70	54	51	51
Volume cortical total m ³	2.062.10 ⁵	2.641.10 ⁵	2.652.10 ⁵	1.348.10 ⁵	1.597.10 ⁵	1.211.10 ⁵

dilatação o que já poderia ser verificado pelo exame histológico sendo a determinação qualitativa uma melhor avaliação do fenômeno.

O volume nuclear das células que compõem as três camadas da cortical é claramente maior nos animais hipofisectomizados hibernados que nos hipofisectomizados-testemunhos. Tomando-se por base o volume nuclear médio das células da zona cortical nos ratos-testemunhos, podemos admitir acréscimos volumétricos percentuais nos animais hibernados de 34,8% para a camada glomerular, 24,6% para a camada fascicular e de 30,7% para a camada reticular.

Discussão

Embora a clorpromazina e a prometazina fôssem já ensaiadas experimentalmente por outros autores, a maneira fracionada de administrá-las em animais hipofisectomizados, como usamos, bem como a injeção repetida por vários dias difere das empregadas pela maioria dos investigadores.

Acentuamos esse fato devido a Cahn e col. (1954) e Schaumkell (1956) terem, em animais normais, encontrado a adrenal de histologia habitual depois da administração das drogas. Ao nosso ver esse fato só pode ser explicado devido não terem usado esses autores métodos precisos nas suas verificações histológicas.

Os resultados revelam que a atividade funcional das drogas, verificada pelos diversos autores na cortical de animais normais, também é encontrada em animais hipofisectomizados.

Além de ação cortical evidenciada pelo acréscimo volumétrico percentual de 77% dessa região, encontramos em nossas experiências uma nítida ação das drogas sobre a região medular, obtendo-se para essa região acréscimo volumétrico percentual de 39%.

Essa atividade funcional é também verificada através do volume nuclear das células que compõem a região cortical e a região medular. O aumento do volume nuclear das células de todas as camadas da região cortical e da região medular nos animais hipofisectomizados mostra a existência de ação das drogas diretamente sobre esses elementos da glândula adrenal independentemente da hipófise.

Verificamos nesses animais que não há, acompanhando a hipertrofia nuclear, hipertrofia citoplasmática. Desta forma é permitido supor que a mistura clorpromazina-prometazina atue diretamente sobre as células da região medular da adrenal principalmente em relação ao núcleo

O citoplasma, onde se efetua a síntese das secreções celulares e onde estas secreções seriam armazenadas não sofre hipertrofia. Poderíamos supor que o estímulo celular não é levado, nesse caso, até a fase final.

Não fizemos determinações na região cortical (não compatível com o método) porém se o fato se repetir, isto é, verificar-se a não existência de hipertrofia citoplasmática também nessa região isto poderia explicar os achados até certo ponto discordantes de Egdahl e Richards (1956).

Conclusão

As drogas agem diretamente sobre a glândula adrenal (medular e cortical) produzindo hipertrofia dos núcleos das células da região medular assim como dos núcleos de todas as células da região cortical.

As drogas agem diretamente sobre a região medular e cortical produzindo hipertrofia.

Resumo

O autor estuda as modificações histológicas da região medular e cortical assim como o aumento dessas regiões em ratos hipofisectomizados tratados com clorpromazina-prometazina por injeções na cavidade peritoneal de 12 mg da mistura dessas drogas por 48 horas.

Verificou um seguro efeito estimulante sobre a córtex e medula adrenal evidenciado pelo acréscimo volumétrico percentual de 77% para a primeira região e de 39% para a segunda e pelo acréscimo volumétrico percentual de 60,3% para os núcleos da medular, de 34,8% para os núcleos da camada glomerular e de 24,6% para os núcleos da camada fascicular e de 30,7% para os núcleos da camada reticular.

Summary

EFFECT OF CHLORPROMAZINE AND PROMETAZINE UPON THE ADRENALS (AN EXPERIMENTAL STUDY ON MICE)

Mice were surgically deprived of the hypophysis and treated with chlorpromazine and prometazine. Controls were kept.

The histological findings of the cortex and medulla of the adrenals were studied. The treated mice received an intraperitoneal dose of 6 mg of each drug in 48 hours.

The adrenals were found enlarged, the volumetric percentage was 77% for the medulla and 39% for the cortex. The medullar nuclei were 60,3% enlarged, the glomerular nuclei 34,8%, the fascicular nuclei 24,6% and the reticular nuclei 30,7%.

The usual laboratory experimental procedures were used for the hypophysectomy, the measuring of the nuclei, medulla and cortex

The Author concludes that the drugs cause a direct stimulation of the adrenals resulting in generalized hypertrophy of the nuclei of the medulla and cortex.

Referências

- 1 — *Guillemin et Fortier Bocker e col. e Halpern e Benos Nasmyth* (citados por *George e Cahn*, 1953): Couple hypophyso-surrénalien et hibernation. *Anest. et Analg.* 10: 409, 1953.
 - 2 — *Cahn, J.; Dubrasquet, M.; Georges, G. et Pierre, R.* Réaction endocriniennes a l'agression sous hibernation artificielle. *Anest. et Analg.* 11: 554, 1954.
 - 3 — *Roskan et col.* (citado por *Laborit* 1955). Éssai critique et synthétique sur des phénomènes hypophyso surrenaliens constatés sous neuroplégie et hibernation artificielle. *Anest. et Analg.* 2: 369, 1955.
 - 4 — *Schaumkell, K. N.* Sur les modifications des forms de la surrénale des rats sous l'influence du N-(diméthylamino) — propyl — 3 Chlorophénothiazine. *La Semaine des Hopitaux* 32: 1520, 1956.
 - 5 — *Egdhal, R. E. and Richards, J. B.* Effect of Chlorpromazine on pituitary A.C.T.H. secretion in the dog. *The Amer. Jour. Physiol.* 185: 235, 1956.
 - 6 — *Preziosi, P. Tesauro, B. e Loscalzo, B.* Modificazioni biochimiche et istochimiche del corticosurrene ad opera di derivati fenotiazinici ad attività antistaminica-neuroplegica. *Minerva Anestesiol.* 23: 109, 1957.
 - 7 — *Ingle, D. J. and Griffth, J. Q.* The rat in laboratory investigation. 2nd Edition by *Farris and Griffth, J. B.* Lippincott Company 1949.
 - 8 — *Lison, L.* Etude et réalisation d'un photomètre a l'usage histologique. *Acta Anatom.* 10: 333, 1950.
 - 9 — *Jacoby, W.* Über das rhythmische Wachstum der Zellen durch versoppelung ihres Volumens. *Arch Entw. Mechan.* 106: 124, 1925.
 - 10 — *Olivo, O.; Porta, E. e Barberis, L.* Ricerche sulla velaita di acrescimento delle cellule e degli organi. *Arch. Ital. Anatt.* 30: 34, 1932.
 - 11 — *Blumenfeld, C. M.* The weights and corticomedullary proportions of the suprarenal glands in adult Wistar albino and Long Evans Hybrid rats. *Anat. Rec.* 48: 10, 1931.
 - 12 — *Christensen, B. G.* The size of suprarenal medulla in hypophysectomized rats. *Acta Endocr.* 15: 247, 1954.
 - 13 — *Chalkley, H. W.* Method for quantitative morphologic analysis of tissues. *Jour. of the Nat. Cancer Instit.* 4: 53, 1943.
-

TETRACLICINA BRISTOL COM VITAMINAS

(cápsulas de 250 mg. e suspensão em "nis")

BRISTACICLINA "V"

**O Mais Moderno Antibiótico de Largo Espectro
O Mais Seguro e Mais Eficaz**

- * MAIOR SOLUBILIDADE
- * MAIOR ESTABILIDADE
- * AMPLA MARGEM DE ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

OUTRAS APRESENTAÇÕES:

- * Frascos de 8 e 16 cápsulas de 250 mg.
- * Frascos de 25 cápsulas de 100 mg.
- * Suspensão oral em "nis" com 100 mg. por cm.³
- * Intramuscular de 100 mg. por 5 cm.³
- * Pomada Oftálmica a 1% em tubos 3,50 g.
- * Com SULFAS em "nis" - Suspensão com 100 mg por 5 cm.³
- * ENDOVENOSA de 250 e 500 mg.
- * DIODOCICLINA - (tubo com 20 drágeas).

"nis" veículo não-iônico de gosto agradável

LABORTERÁPICA



BRISTOL S. A.

**Indústria Química e Farmacêutica
Santo Amaro — São Paulo**