

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA CLORPROMAZINA SOBRE A ATIVIDADE DA GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE (D-GLICOSE-6-P: NADP OXIREDUCTASE-1.1.1.49) E VALORES HEMATOLÓGICOS EM CÃES (*Canis familiaris*)

Effects of Chlorpromazine in the Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase and Hematologic Values in the Dog

Nadia Regina Pereira*, Luiz Carlos Ribeiro Fan** e
Marcílio Dias do Nascimento***

RESUMO

Foram avaliadas, por método semi-quantitativo, a atividade da glicose-6-fosfato desidrogenase (G6Pd) e valores hematológicos de 25 cães submetidos à tranquilização pela clorpromazina, dose de 1mg/kg de peso, e verificou-se que 52% dos animais apresentaram a deficiência após a aplicação do fármaco, sendo que 8% se mostraram deficientes antes mesmo da utilização deste. Observou-se, também, notada redução dos valores eritrocitários. Concluiu-se que esta droga é capaz de promover a deficiência enzimática e alterações hematológicas em pacientes susceptíveis.

UNITERMOS: sangue, glicose-6-fosfato desidrogenase, enzimas, clorpromazina, valores hematológicos.

SUMMARY

The activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase and hematologic values were evaluated in 25 mixed breed dogs submitted to tranquilization by 1mg/kg dose of chlorpromazine. It was observed that 52% of animals showed defficiency after administration of the pharmaco. Eight per cent of the animals showed defficiency prior utilization. It was also observed that marked decrease of erythrocytic values. It was concluded that the chlorpromazine is able to promot enzymatic deffi-

* Aluna do Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria; Professora Auxiliar da disciplina de Meios Auxiliares de Diagnóstico, Univ. Fed. Fluminense - RJ.

** Professor Adjunto. Departamento de Clínica de Pequenos Animais, C. Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria. 97.119 Santa Maria, RS.

*** Professor Adjunto. Laboratório de Patologia Veterinária, Universidade Federal Fluminense. 24.220 Niterói, RJ.

ciency and hematologic alterations in susceptible patients.

KEY WORDS: blood, glucose-6-phosphate, dehydrogenase, enzyme, chlorpromazine, hematologic values.

INTRODUÇÃO

Os eritrócitos dos mamíferos são desprovidos de núcleo, mitocôndrias, ergastoplasma e outras organelas. São corpúsculos pobres, não contendo ácidos nucléicos nem certas cadeias energéticas como o ciclo de Krebs e a cadeia respiratória. Para estes glóbulos é impossível sintetizar moléculas completas e não podem realizar o metabolismo das gorduras, conforme descreveram KANEKO & CORNÉLIUS (13), LEAVELL & THORUP (16), CYSCAR & FARRERAS (9), SOARES & PARREIRA (25), KARLSON et alii (14), LEES et alii (17), BREWER (6), BACILA (3), QUEVAL (23) e BEUTLER et alii (5). Sua função bioquímica é cumprida através de uma bem equilibrada economia. As hemácias submetem-se a fatores químicos e físicos e transportam CO_2 e O_2 , sendo este último altamente oxidativo e que o glóbulo transporta em elevadas concentrações. A hemácia irá perdendo, gradativamente, o vigor, provavelmente por depleção de enzimas e co-fatores que é incapaz de repor e, conforme descreveram KARLSON et alii (14), quando o valor do ATP* cai para 20% do normal, os processos de transporte ativo não podem mais ser mantidos, o sódio entra para a célula, o potássio sai, o eritrócito adquire uma forma cilíndrica, é retirado da circulação e é fagocitado.

Na fase inicial da glicólise, a glicose recebe uma molécula de fosfato, aumentando sua carga energética, independente do processo degradativo que irá seguir, se a glicose anaeróbica ou a via das pentoses fosfato. Segundo KANEKO & CORNÉLIUS (13), KARLSON et alii (14) e BACILA (3), uma pequena porção de glicose segue a via pentoses; entretanto, obtém-se uma estimável quantidade de energia. Este desvio produz uma coenzima energética, o NADPH**, que é agente redutor nos processos de oxidação da hemoglobina. Nas fases iniciais desta via é que ocorrem as possíveis alterações que se manifestam em quadros clínicos.

Após a fosforilação da glicose, por ação da hexoquinase, a glicose-6-fosfato se transforma em 6-fosfogluco lactona, por ação da G6Pd e em presença de glutathione e glutathione reductase. Nesta fase há perda de dois átomos de hidrogênio para a coenzima NADP***, produzindo também

* ATP - Trifosfato de adenosina.

** NADPH - Nicotina adenina dinucleotídeo fosfato reduzido.

*** NADP - Nicotina adenina dinucleotídeo fosfato.

lactato, CO_2 , ATP e grande quantidade de hexose pode iniciar um outro ciclo degradativo (9, 13, 14).

As formas de expressão da deficiência da G6Pd são bastante variáveis (9, 21, 22, 25) e, em humanos, estão sempre relacionadas à ingestão de certos tóxicos ou de medicamentos que revelam a deficiência em indivíduos que até então eram assintomáticos.

Com o advento dos derivados aminados da fenotiazina, ganhou vulto o emprego destes na pré-anestesia e tranquilização devido às inúmeras propriedades de que são possuidores, além da ação sedativa (4). Dentre eles destaca-se a clorpromazina, devido à sua larga utilização na prática da medicina veterinária, principalmente na contenção farmacológica e na potencialização das drogas usadas na anestesia. Devido a este grande e rotineiro emprego desta substância na anestesiologia e o atrativo que é vislumbrado ao se trabalhar com substâncias inerentes aos processos metabólicos essenciais à vida, motivou este primeiro passo e posterior utilização desta linha de pesquisa, na tentativa de colaborar para ampliar os conhecimentos de tão vasta e importante área científica.

O objetivo deste experimento é avaliar a atividade de G6Pd e valores hematológicos em cães submetidos à tranquilização pela clorpromazina, visto a pouca literatura existente referente ao assunto dentro do que foi possível estudar.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 25 cães sem raça definida, sendo 19 machos e 6 fêmeas, com peso e idade variados, provenientes do Instituto Municipal de Medicina Veterinária Jorge Waisman, no Rio de Janeiro.

Após exames físicos, coletavam-se 4ml de sangue, através de punção da veia cefálica, utilizando-se o sistema vacutainer* com EDTA. Na etapa seguinte os animais foram submetidos à tranquilização pela clorpromazina** na dose de 1mg/kg de peso, segundo FIALHO (12), por via endovenosa. Após 30 minutos, coletava-se nova amostra de sangue, de maneira idêntica à da primeira. Para cada colheita, confeccionavam-se dois esfregaços sanguíneos.

As amostras de sangue total eram colocadas em recipientes térmicos de isopor à temperatura de refrigeração e encaminhados ao

* Becton, Dickinson Ind. Cirúrgicas S.A.

** Amplictil - Roche.

laboratório do Instituto para a realização da determinação enzimática e hemograma completo.

Os hemogramas consistiram da determinação da hematimetria, volume globular, hemoglobimetria, leucometria global e leucometria específica, segundo determinações de SCHALM et alii (24). O volume globular foi determinado pelo método de microhematócrito; as contagens de leucometria global e hematimetria foram realizadas em câmara de Neubauer e obtiveram-se os resultados da hemoglobimetria, pelo método da cianometahemoglobina utilizando o Kit Labtest*, que se baseia na conversão da hemoglobina, meta-hemoglobina e carboxihemoglobina em cianometahemoglobina, com leitura efetuada em fotocolorímetro** com filtro verde.

A coloração dos esfregaços sanguíneos foi efetuada pelo método de Giemsa para a realização da leucometria específica, hematoscopia e leucocitoscopia. A pesquisa de microfilárias foi realizada pelo método de Knott modificado.

A determinação da glicose-6-fosfato desidrogenase foi feita por método visual semi-quantitativo (Kit Sigma***).

RESULTADOS

Mensurando semi-quantitativamente a atividade enzimática da glicose-6-fosfato desidrogenase, observou-se que, nos 25 animais estudados, os quais não apresentavam sinais clínicos aparentes da doença hemolítica, 11 desenvolveram a deficiência da enzima e dois já eram portadores da insuficiência antes da administração da clorpromazina, conforme Tabela 1. Confirmou-se, assim, ocorrer em cães a deficiência enzimática causada pela droga e também espontaneamente. Entre os animais estudados, 19 eram machos e 6, fêmeas. Entretanto, quando verificaram-se os animais que desenvolveram a deficiência, viu-se que a proporção era de 1:1, ou seja, 10 machos e 3 fêmeas se mostraram deficientes.

Os valores encontrados no hemograma, antes e após a aplicação do fármaco, revelaram que os dados relativos ao hemograma tiveram um decréscimo acentuado em relação à segunda tomada de sangue, conforme Tabela 2.

* Labtest Sistemas Diagnósticos Ltda.

** Erma Optical Works Ltd., Japan.

*** Sigma Diagnósticos. P.O. Box 14508. St. Louis, MO 63178 - USA.

TABELA 1. Atividade da G6Pd nos cães em estudo, antes e após 30 minutos da aplicação da clorpromazina na dose de 1mg/kg de peso.

Identificação (nº)	Sexo	Antes	Após 30 minutos*
01	masculino	normal	deficiente
02	masculino	deficiente	deficiente
03	feminino	normal	deficiente
04	feminino	normal	normal
05	masculino	normal	deficiente
06	feminino	deficiente	deficiente
07	masculino	normal	deficiente
08	masculino	normal	normal
09	masculino	normal	normal
10	feminino	normal	normal
11	masculino	normal	deficiente
12	masculino	normal	normal
13	masculino	normal	normal
14	masculino	normal	normal
15	feminino	normal	normal
16	masculino	normal	deficiente
17	masculino	normal	normal
18	masculino	normal	normal
19	masculino	normal	deficiente
20	masculino	normal	normal
21	masculino	normal	deficiente
22	masculino	normal	deficiente
23	masculino	normal	deficiente
24	feminino	normal	deficiente
25	masculino	normal	normal

* Tempo de leitura.

TABELA 2. Valores eritrocitários médios encontrados em 25 animais examinados antes e 30 minutos após a administração de clorpromazina.

	Eritrócitos (mm ³) x 10 ⁶	Hemoglobina (%)	Volume globular (%)	VCM (fl)	CHcM (%)
Antes	5,7 (±0,5)	12,1 (±1)	37,8 (±4,5)	66,9 (±2,5)	32,0 (±0,5)
Após	4,3 (±0,5)	9,3 (±1)	29,1 (±3)	67,3 (±3)	31,9 (±0,8)

As alterações hematológicas observadas foram: eosinofilia, relativa em 5 casos, sendo que em três esta apareceu após a tranquilização, atipia linfocitária em dois e anisocitose e policromasia em um. Observou-se a presença de microfilárias em três casos, havendo em um a deficiência da enzima após a droga. Em dois animais haviam formas parasitárias compatíveis de *Ehrlichia canis* sem que estes desenvolvessem deficiência enzimática.

DISCUSSÃO

Houve redução significativa da atividade da enzima entre os animais estudados quando da administração de clorpromazina. Estas observações são bastante análogas às já descritas em relação a outras drogas com propriedades oxidantes por KANEKO & CORNELIUS (13), LEAVELL & THORUP (16), CYSCAR & FARRERAS (9), MARONPOT (21), SCHALM et alii (24), SOARES & PARREIRA (25), KARLSON et alii (14), LYNCH et alii (19), LEES et alii (17), BREWER (6), AGNES et alii (1), SÅLEM, 26), AKOGLU et alii (2), MAGNANI et alii (20), PASSIU et alii (22) e BEUTLER et alii (5). MARONPOT (21) e SOARES & PARREIRA (25) citam, inclusive, a fava (*Vicia faba*) como capaz de promover a deficiência enzimática com crises hemolíticas em humanos.

Observou-se em dois dos animais estudados (Tabela 1) uma redução prévia da atividade enzimática, concordando com os trabalhos de MARONPOT (21), que em 1972 estudou os efeitos de antimaláricos e sulfonamidas em humanos e ovinos, observando o agravamento da redução da atividade da glicose-6-fosfato desidrogenase em pacientes já possuidores da deficiência. Assim como SCHALM et alii (24), que relataram deficiência enzimática com crises hemolíticas em potros recém-natos.

No presente estudo a clorpromazina foi o agente causador e agravante da deficiência, à semelhança dos estudos de AKOGLU et alii (2), em 1984, quando estudaram pacientes humanos submetidos à primaquina.

Em relação ao sexo dos animais estudados, observou-se que a deficiência se manteve proporcional entre machos e fêmeas nesta fase primária, conforme descreveram SOARES & PARREIRA (25), que caracterizam a patologia como ligada ao sexo. Estes mesmos autores, porém, reconheceram a dificuldade de se estabelecer um padrão genético devido ao desconhecimento das origens dos pacientes humanos com que eles trabalharam. O mesmo aconteceu neste trabalho por se tratarem de cães de rua. Estes autores admitiram, ainda, que o gene patológico está ligado ao cromossomo, o X, porém com expressividade variável, pois nos indivíduos machos o cromossomo Y não impediria a expressão de um X patológico e, nas fêmeas, a doença seria atenuada por um cromossomo X normal.

Animais que eram possuidores de patologias como filaríase (3) e erlichiose (2) não apresentaram a deficiência antes da administração da droga, sendo que em um observou-se a deficiência, mas somente após a utilização do fármaco, o que difere de LUBAS et alii (18), que afirmaram ser esta primeira patologia sempre causadora de deficiência da G6Pd.

Na análise dos esfregaços sangüíneos não foram observadas alterações dignas de nota, assim como ocorreu nos trabalhos de MARONPOT (21). Este autor concluiu que as alterações não aparecem de imediato. No quadro leucocitário, a eosinofilia observada foi relacionada a parasitoses em geral, que ocorrem com muita frequência nos animais de rua, conforme SCHALM et alii (24), e não pela simples ação do fármaco.

Após a utilização da droga constatou-se um decréscimo acentuado nos valores do eritograma. Autores como LYNCH et alii (19) e LUBAS et alii (18) falaram de anemia aguda significativa devido à hemólise causada pela deficiência enzimática, que KARLSON et alii (14) justificaram pelo desequilíbrio do metabolismo do cálcio, com enrijecimento da membrana do eritrócito. MARONPOT (21), porém, afirmou que esta não ocorre em fase tão precoce. Segundo CASTRO et alii (8), a queda significativa destes valores ocorre após o uso de anestésicos e pré-anestésicos. Os mesmos autores acrescentaram que os derivados fenotiazínicos (grupo do qual a clorpromazina faz parte) e benzotiazéínicos produzem decréscimo acentuado nos valores do eritograma. Soliman, apud CASTRO et alii (8), relatou marcada redução do número total de hemácias logo após a administração de baytenal em vários cães, enquanto CANOLA et

alii (7) observaram acentuada diminuição no volume globular, teor de hemoglobina, número de eritrócitos e leucócitos quanto trabalharam com maleato de acepromazina associado ao cloridrato de cetamina na anestesia geral em cães. EURIDES et alii (10) também observaram redução acentuada destes índices eritrocitários, 30 minutos após a administração do maleato de acepromazina.

A queda dos valores hematológicos observados nos animais, neste experimento, foi relacionada à supressão adrenérgica proporcionada pela clorpromazina, de acordo com LANG et alii (15). Estes autores concluíram que o cão possui um baço rico em inervação adrenérgica e a liberação de catecolaminas produz contração da cápsula, liberando as hemácias para a corrente sangüínea. Durante a sedação, entretanto, a resposta à catecolamina está deprimida e o baço relaxa-se, seqüestrando as hemácias, determinando diminuição destas na corrente sangüínea. Porém, LEAVELL & THORUP (16) e KARLSON et alii (14) disseram que a esplenomegalia não é obrigatória e CASTRO et alii (8) relataram a redução dos níveis eritrocitários séricos em cães esplenectomizados, após o uso de propionilpromazina, sugerindo a existência provável de outro setor orgânico de reserva eritrocitária. FAN et alii (11), trabalhando com cães esplenectomizados, observaram não haver alteração nos valores eritrocitários destes animais quando submetidos à adrenalina, ocorrendo acentuada eritrocitose nos não esplenectomizados.

Esta redução dos valores eritrocitários, independente da existência ou não do baço, poderá estar ligada a algum mecanismo de seqüestro devido ao derivado fenotiazínico. Estas observações, porém, sugerem a possibilidade de pesquisas específicas e estabelecimento dos mecanismos reais das alterações.

CONCLUSÕES

Através dos dados obtidos neste trabalho, pode-se concluir que:

- 1- A clorpromazina pela via venosa é capaz de reduzir a atividade da glicose-6-fosfato desidrogenase em cães susceptíveis.
- 2- Alguns cães podem possuir a deficiência enzimática antes da aplicação do fármaco.
- 3- A clorpromazina causa redução significativa dos valores da aplicação do fármaco.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGNES, F.; SARTORELLI, P.; CORNELLI, M. Attiveta della glucosio-6-fosfato deidrogenase eritrocitaria in Varie Razzi bovine. *Cln. Vet.*, 2(8):52-7, 1981.
2. AKOGLU, T.; OZDOGU, H.; ERDOGAN, R. & UZER, F.L. Erythrocyte membrane ATPase activity of G-6-Pd defficient individuals and the effect of primaquine metabolite(s) on membrane ATPase enzymes. *J. Tropical Med. and Hygiene*, 87(5):219-24, 1984.
3. BACILA, L. Água e fluídos biológicos. In: BACILA, L. *Bioquímica Veterinária*. São Paulo, J.M. Varela Livros, 1980. p.65-120.
4. BERNIS, W.O. & LAZZERI, Z. Efeitos da premedicação com clorpromazina sobre a anestesia geral pelo pentobarbital sódico em cães. *Arq. Esc. Sup. Vet.*, 12(4):111-26, 1959.
5. BEUTLER, E.; KUHLE, W. & GELBART, T. 6-phosphogleico-lactomase defficiency, a hereditary erythrocytic enzyme defficiency: possible interaction with glucose-6-phosphate dihydrogenase defficiency. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 82(8):3876-8, 1985.
6. BREWER, G.X. Distúrbios congêritos do metabolismo e da membrana do eritrócito. *Clínicas Médicas da América do Norte*, 64(4): 581-97, 1980.
7. CANOLA, J.C.; FIALHO, S.A.G.; RAISER, A.G.; FAN, L.C.R.; DALECK, C.R.; EURIDES, D. & POTIER, G.M.A. Efeitos do maleato de acepromazina, associado ao cloridrato de cetamina, na anestesia geral de cães. *Rev. Centro Ci. Rurais*, 11(2-3):143-52, 1981.
8. CASTRO, G.B.; RANZANI, J.J.T.; KOHAYAGAWA, A.; MASSONE, F. & GANDOLFI, W. Alterações hematológicas após o uso de propionil-promazina e tiopental sódico. I. Quadro hemático. *Rev. Bras. Med. Vet.*, 6(5):153-5, 1984.
9. CYSCAR, E.R. & FARRERAS, P.V. *Diagnóstico hematológico*. 3ª ed. Barcelona, Editorial Jens, 1972. 1963p.
10. EURIDES, D.; PIPPI, N.L.; FIALHO, S.A.G.; FAN, L.C.R.; RAISER, A.G.; DALECK, C.R.; CANOLA, J.C. & POTIER, G.M.A. Influência do maleato de acepromazina sobre o hemograma de cães. *Rev. Centro Ci. Rurais*, 11(2-3):111-4, 1981.
11. FAN, L.C.R.; RODASKI, S.; BUSANELLO, T.M.R.; FARIA, M.A.R. & SCHUTZ, L.M.C.S. Efeito da adrenalina e da esplenectomia sobre os índices eritrocitários no cão. *Rev. Bras. Med. Vet.*, 6(6): 190-1, 1984.
12. FIALHO, S.A.G. Medicação pré-anestésica. In: FIALHO, S.A.G. *Anestesiologia Veterinária*. 2ª ed. São Paulo, Nobel, 1986. p.40-66.
13. KANEKO, J.J. & CORNELIUS, C.E. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 2nd ed. New York, Academic Press, 1971. 2v.
14. KARLSON, P.; GEROK, W. & GROSS, W. *Patobioquímica*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1978. 321p.
15. LANG, S.M.; EGLER, R.M. & HENRY, A.C. Acetylpromazine administration: its effect on canine haematology. *Vet. Rec.*, 105(6): 397-8, 1979.
16. LEAVELL, B.S. & THORUP, O.A. *Fundamentals of Clinical Hematology*. 4th ed. Philadelphia, Saunders, 1971. 755p.

17. LESS, G.E.; POLZIN, D.J.; PERMAN, V.; HAMMAR, R.F. & SMITH, J.A. Radiopathic heins body hemolytic anemia in three dogs. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 15(2):143-51, 1979.
18. LUBAS, G.J.; CROCE, G.D.; BUONACCORSI, A. & DELGADILLO, A.J. Il comportamento di alcuni enzime e metabolite intra eritrocitari in diversi processe morbasì nel cane. *Clin. Vet.*, 102(2):148-53, 1979.
19. LYNCH, G.P.; SMITH, D.F.; COPE, R.C. & FISHER, M. Heins body formation in calf erythrocytes. *J. Dairy Sci.*, 61(8):1161-6, 1978.
20. MAGNANI, M.; STOCCHI, V.; FAZI, A.; DACHA, M. & FORNAINI, G. Relationship between the rate of erythrocyte hencose monophosphate pathway and the glucose-6-phosphate concentration. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 125(1):14-7, 1984.
21. MARONPOT, R.R. Erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase and glutathione defficiency in sheep. *Can. J. Comp. Med.*, 36(7): 55-60, 1972.
22. PASSIU, G.; MELA, Q.; PERPIGNANO, G. & CARCASSI, O. Studio della sopravivenza eritrocitaria in saggiti G-6-Pd- carenti durante samministrazione de suprafine. *Boll. Chins. Farm.*, 123(8): 615-45, 1984.
23. QUEVAL, R. La glucose-6-phosphate dishydrogenase erythrocytaire chez des races bovines trypanosensibles et trypanotolerantes de l'avest afreccien. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays. Trop.*, 35(2): 131-6, 1982.
24. SCHALM, O.W.; JAIN, N.C. & CARROL, E.J. *Veterinary Hematology*. 3rd ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1975. 807p.
25. SOARES, A.D. & PARREIRA, F. Hematologia. In: SOARES, A.D. & PARREIRA, F. *Propedêutica Médica*. 3ª ed. Lisboa, Fundação Gulbenkian, 1975. p.6-592.
26. SOLEM, E. Glucose-6-phosphate dehydrogenase defficiency: an easy and sensitive quantitative assay for the detection of female heterozygotis in red blood cels. *Clinica Chemica Acta*, 142(3): 153-60, 1984.