

ACÇÃO EOSINOPÊNICA DA CLORPROMAZINA (*)

Estudo experimental realizado em ratos normais, suprarrenalectomizados, hipofisectomizados e suprarrenalectomizados-hipofisectomizados.

VICTORINO VALERI (**)

RUBENS LISANDRO NICOLETTI, E.A.,S.B.A. (***)

AP3061

Sob a ação da Clorpromazina Holzbauer e Vogt (1) observaram diminuição do ácido ascórbico da cortex da suparrenal de ratos e Preziosi, Tesauro e Loscalzo (2), além da diminuição do ácido ascórbico, observaram diminuição do colesterol e dos lípides bi-refringentes. Concluem êsses autores que a droga possui efeito corticotrófico. Êste efeito córtico-estimulante foi confirmado pelos trabalhos de Egdahl e Richards (3), que verificaram aumento dos 17-hidroxycorticosteróides no sangue da veia adrenal de cães após a administração intravenosa da droga, e de Nicoletti (4), que observou aumento do volume dos núcleos das células da camada cortical da suprarrenal de ratos tratados com a Clorpromazina.

A ação corticotrófica da Clorpromazina evidenciada através de eosinopenia no sangue periférico foi descrita por vários autores (5, 6). No entanto, não foi verificada a influência da suprarrenalectomia e da hipofisectomia sobre a ação eosinopênica da Clorpromazina.

(*) Trabalho apresentado no VI Congresso Brasileiro de Anestesiologia, Belo Horizonte, M. G., Outubro de 1960, realizado no Departamento de Histologia e Embriologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. (Prof. Dr. L. Lison).

(**) Assistente de Histologia.

(***) Assistente de Anestesiologia. Departamento de Cirurgia. (Prof. Dr. R. Ferreira Santos).

A finalidade do presente trabalho é a de verificar os efeitos da Clorpromazina sobre os eosinófilos circulantes de ratos normais, suprarrenalectomizados, hipofisectomizados e suprarrenalectomizados-hipofisectomizados.

MATERIAL E MÉTODO

Foram utilizados ratos Wistar, adultos jovens, machos, cujo peso estava compreendido entre 160 e 200 g. Os animais foram divididos em 4 grupos experimentais de 10 ratos cada: a) normais intactos, b) suprarrenalectomizados bilateralmente, c) hipofisectomizados, d) hipofisectomizados e suprarrenalectomizados bilateralmente.

A suprarrenalectomia foi realizada por via de acesso lombar, sob anestesia por inalação de éter. No pós-operatório imediato injetou-se na cavidade peritoneal 2 ml de soro fisiológico (ClNa a 0,9%). A água ofertada a esses animais foi acrescida de sal de cosinha, (2%).

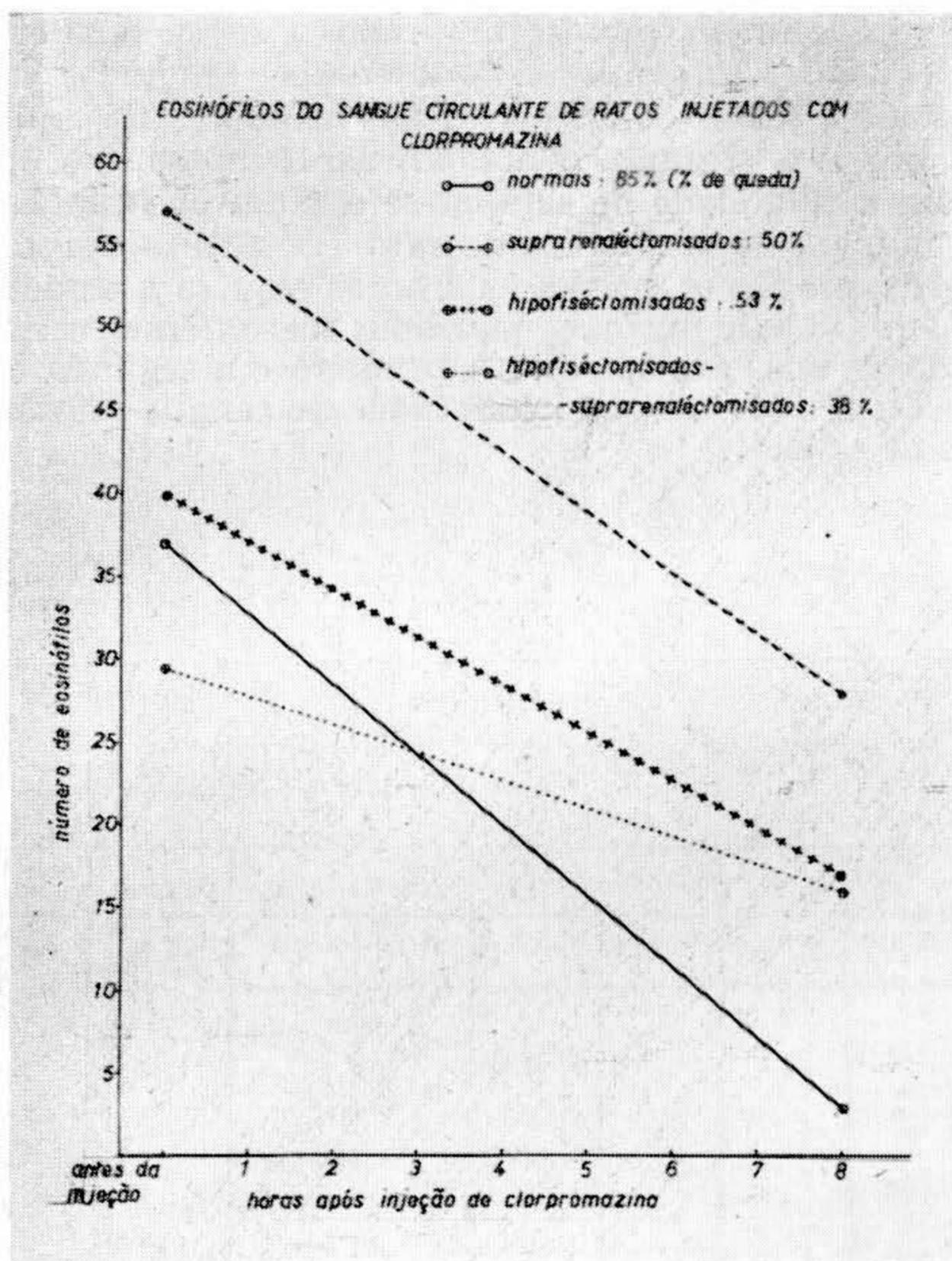
A hipofisectomia foi efetuada por via retro faríngeana, sob anestesia com éter. O base esfenoide foi trepanado com broca de dentista (n.º 7) e a hipófise retirada por aspiração. Os animais foram observados por 10 dias antes de ser iniciada a experiência; durante esse período foram pesados cada 2 dias, a fim de avaliar-se a curva de crescimento. Apenas foram utilizados animais que não ganharam peso durante esse intervalo. Terminada a experimentação, quando os animais foram necropsiados, examinou-se a sela túrcica a fim de comprovar-se a eficiência da operação.

Em todos os grupos experimentais foi realizada uma primeira contagem de eosinófilos antes da injeção de Clorpromazina. Uma segunda contagem foi realizada no mesmo animal, 8 horas depois da administração da droga.

Para contagem de eosinófilos, o sangue foi obtido cortando-se a extremidade da cauda do rato, sendo as primeiras 2 ou 3 gotas desprezadas. O sangue foi aspirado com pipeta diluidora de glóbulos brancos. O líquido diluidor empregado foi o de Manners (7), sendo a diluição 1/20. As pipetas foram agitadas por 2 minutos e as células contadas em câmaras de Fuchs-Rosenthal.

Todos os animais receberam uma única injeção de Clorpromazina diluída em soro fisiológico. O grupo de animais intatos recebeu 20 mg de Clorpromazina em 2 ml de soro fisiológico. Os demais grupos receberam 5 mg de Clorpromazina em 0,5 ml de soro fisiológico. Os animais desses grupos receberam dose menor por serem mais sensíveis à ação da droga (Nicoletti, (8)).

A dose injetada nos diferentes grupos experimentais provocou estado de sonolência e queda da temperatura corporal durante 8 horas, intervalo entre a primeira e a segunda contagem dos eosinófilos. Nesse espaço de tempo os animais não se alimentaram.



Essa experiência é constituída por uma fatorial 2×2 , permitindo analisar os efeitos da droga sobre os eosinófilos circulantes em animais hipofisectomizados, em animais supra-renalectomizados, e, a interação (influência recíproca) entre estes dois tratamentos (⁸).

Os dados obtidos foram analisados estatisticamente pela técnica da análise de variância. Pela existência de duas sé-

ries de valores para os eosinófilos, dentro de cada grupo (antes da injeção de Clorpromazina e 8 horas depois), foi possível no presente trabalho, utilizar, na análise estatística, a diferença entre os logaritmos dos valores iniciais e finais obtidos na contagem de eosinófilos. De maneira geral, os valores obtidos inicialmente foram sempre maiores daqueles obtidos 8 horas após a injeção da Clorpromazina (com exceção de um animal hipofisectomizado e suprarrenalectomizado), em todos os grupos experimentais. Em todos grupos de animais a primeira contagem de eosinófilos foi realizada às 8 horas e a segunda contagem às 16 horas.

Com a finalidade de estudar-se a possível variação diária do número de eosinófilos do rato (¹⁹), realizaram-se duas contagens, uma pela manhã às 8 horas e outra a tarde às 16 horas, em animais normais, mantidos nas mesmas condições que a dos grupos anteriores. A primeira e a segunda contagem de eosinófilos era sempre efetuada no sangue proveniente do mesmo animal.

TABELA I

Valores dos eosinófilos circulantes em ratos normais, suprarrenalectomizados, hipofisectomizados e hipof-suprarrenalectomizados submetidos a injeção peritoneal única de Clorpromazina (20 mg)

normais		suprarrenalectom.		hipofisectom.		hipofia-suprarren.		
inicial	final	inicial	final	inicial	final	inicial	final	
63	7	55	24	70	31	22	14	
53	4	73	61	36	13	5	6	
26	3	53	33	23	10	6	3	
16	5	31	12	30	10	37	27	
56	0	49	27	17	14	41	13	
19	2	48	22	54	17	57	34	
32	6	72	29	24	14	13	6	
32	3	101	35	84	19	60	25	
17	1	31	14	48	37	22	15	
56	2	-	-	9	4	-	-	
média	37	3,3	57	28,5	40	16,9	29,2	15,8

Os valores representados na tabela foram obtidos contando-se uma área de 12mm² na câmara de FUCHS-ROSENTHAL após diluição do sangue no líquido de MANNERS (1/20).

RESULTADOS

Os valores obtidos na contagem dos eosinófilos nos diferentes grupos experimentais, antes e após a injeção de Clorpromazina, estão expressos na tabela I e no gráfico. Nesta tabela pode-se observar o nítido aumento dos eosinófilos circulantes após a adrenalectomia, fato já constatado por vários autores (10).

O resultado final da análise de variância está expresso na tabela II.

TABELA II

Experiência fatorial 2X2. Efeito da Clorpromazina sobre o numero de eosinófilos circulantes em animais suprarrenale tomizados e hipofisectomizados

tratamento	Sx	GL	QMD	F	P <
suprarrenalectom.	1 273 106	1	1, 273 106	25,9	0,01
hipofisectomizado	1 400 448	1	1 400 448	28,4	0,01
inter-ação	667 089	1	667 089	13,55	0,01
erro	1 674 085	34	49 233		

$F_{0,05} = 4,13$ $F_{0,01} = 7,44$

Examinando-se esta tabela verifica-se que a Clorpromazina provoca eosinopenia altamente significativa tanto nos animais suprarrenalectomizados ($F = 25,9$ para 1 e 34 graus de liberdade, $F = 0,01 - 7,44$), quanto nos animais hipofisectomizados ($F = 28,4$); verifica-se, também, inter-ação altamente significativa entre a suprarrenalectomia e a hipofisectomia. Em outros termos, este resultado mostra que a eosinopenia provocada pela injeção de Clorpromazina, no grupo de animais submetidos aos dois tipos de operações, é significativamente menor que a eosinopenia apresentada pelos animais submetidos a uma das duas operações isoladamente.

Pelo exame da tabela III verifica-se que não houve variação significativa no número de eosinófilos circulantes entre as duas colhetas de sangue, apesar de mostrar redução da ordem de 19% (entre as médias) nos valores das 16 horas em relação aos das 8 horas da manhã.

TABELA III

Valores dos eosinófilos em animais normais
(variação do número dos eosinófilos durante o dia)

ratos	8 horas	16 horas
1	72	71
2	76	59
3	87	39
4	60	30
5	42	39
6	46	47
7	13	25
8	17	18
9	20	21
10	42	35

média

47,5

38,4

DISCUSSÃO

A existência de vários fatores que regulam o número de eosinófilos no sangue circulante é demonstrada clínica e experimentalmente, salientando-se o papel da corticotrofina e dos glicocorticóides (11). A ação corticotrófica da Clorpromazina fica demonstrada, no presente trabalho, com a significativa queda dos eosinófilos circulantes observada nos animais normais, após uma única injeção de 20 mg da droga. Este resultado está em concordância com o de vários autores (1, 2, 3, 5, 9).

Nos animais normais, a eosinopenia observada poderia ser explicada pelos seguintes fatores: a) pela ação corticotrófica da Clorpromazina; b) pela ação vasoplégica da droga (12). Este segundo fator seria o responsável pela saída dos eosinófilos do sangue circulante. A admissão de um fator com tal modalidade de ação estaria de acordo com as idéias de Wegelius e Teir (11), segundo as quais, a ação da cortisona sobre a taxa de eosinófilos do sangue, circulante, se faria facilitando a passagem destes eosinófilos do sangue circulante para o tecido conjuntivo, incluindo o da lâmina própria do estômago. Este fato ficou demonstrado pelos citados autores, que verificaram aumento do número de eosinófilos na lâmina própria do estômago após injeção de cortisona, com a correspondente diminuição no número de eosinófilos circulantes.

Os resultados do presente trabalho mostram, também, que existe diminuição do número dos eosinófilos circulantes, sob os efeitos da Clorpromazina mesmo, em animais suprarrenalectomizados e hipofisectomizados. Poder-se-ia fazer a seguinte hipótese: a eosinopenia observada nos grupos experimentais operados (suprarrenalectomia, hipofisectomia mais suprarrenalectomia) seria devida unicamente à ação vasoplégica da Clorpromazina, uma vez que foi suprimida a ação corticotrófica da droga. Estaria, então, esclarecido o resultado da análise estatística, que mostrou ser a diminuição do n.º de eosinófilos nos animais suprarrenalectomizados e hipofisectomizados, significativamente menor do que a verificada em animais normais, quando injetados com Clorpromazina.

Experiências estão sendo desenvolvidas para estudar a influência do fator vasoplégico da Clorpromazina sobre o número de eosinófilos sanguíneos e tissulares.

Em síntese, a Clorpromazina produz queda do número de eosinófilos do sangue circulante por sua ação sobre a cortical da glândula suprarrenal e por sua ação vasoplégica.

RESUMO

Os eosinófilos do sangue circulante de ratos intactos apresentam queda significativa (85%) após 8 horas de uma única injeção intra-peritoneal de 20 mg de Clorpromazina.

Existe queda da taxa de eosinófilos após injeção de 5 mg de Clorpromazina em animais suprarrenalectomizados (50%), em animais hipofisectomizados (53%) e em animais hipofisectomizados-suprarrenalectomizados (38%). A percentagem de queda nestes três últimos grupos experimentais é significativamente menor do que

a do grupo de animais intactos. Para explicar a ação eosinopênica da Clorpromazina dois fatores são lembrados: ação corticotrófica e ação vasoplégica. A ação vasoplégica facilitaria a passagem dos eosinófilos do sangue circulante para o tecido conjuntivo.

S U M M A R Y

EOSINOPENIC EFFECTS OF CHLORPROMAZINE

Experimental studies in adrenalectomized, hypophysectomized, adrenal-hypophysectomized and normal mice.

There is a significant drop (85%) of circulating eosinophils in normal mice eight hours after a single intraperitoneal dose of 20 mg. of chlorpromazine. After 5 mg. of chlorpromazine the eosinophil count fell 50% in the adrenalectomized, 53% in the hypophysectomized and 38% in the adrenal-hypophysectomized animals. The percentual fall was significantly smaller than in the control normal mice.

The eosinopenic effects of chlorpromazine may be explained by the corticotrophic and the vasoplegic effects of the drug. The vasoplegic effect would hasten the transfer of eosinophils from circulating blood to connecting tissue.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) HOLZBAUER, M. and VOGT, M.: The action of Clorpromazine on diencephalic sympathetic activity and on the release of adrenocorticotrophic hormone. *Brit. J. Pharmacol. and Chemotherapy*. 9: 402, 1954.
- 2) PREZIOSI, P., TESAURO, B. e LOSCALZO, B.: Modificazioni biochimiche ed istocchimiche del corticossurrene ad opera di derivati fenotiazinici ad attività anti-tistaminica-neuro-plégica. *Minerva Anestes.* 23: 110, 1957.
- 3) EGDAHL, R. E. and RICHARDS, J. B.: Effect of Clorpromazine on pituitary A. C. T. H. secretion in the dog. *Amer. Jour. Physiol.* 185: 235, 1956.
- 4) NICOLETTI, R. L.: Estudo histológico quantitativo da ação da Clorpromazina e Prometazina sobre a glândula adrenal do rato. Tese de Doutorado. F. M. R. P. 1958.
- 5) GEORGES, G. et CAHN, J.: Couple hypophyso-surrénalien et hibernation. *Anesth. et Analg.* 10: 409, 1953.
- 6) NICOLETTI, R. L.: Ação da Clorpromazina e da Prometazina sobre a glândula adrenal do rato hipofisectomizado. *Rev. Bras. de Anest.* 8: 159, 1958.
- 7) MANNERS, T. A.: New diluting fluid for the eosinophil count. *Brit. M. Journ.* 2: 1429, 1951.
- 8) LISON, L.: Statistique appliquée a la biologie expérimentale. La planification de l'analyse des resultats. Gauthier — Villars Editeur. 1958.
- 9) SPEIRS, R. S., PANZENHAGEN, H. e SULLIVAN, J. Assay of A.C.T.H. Activity based on the eosinopenic response in normal and hypophysectomized mice. *Endocrinology*. 52: 300, 1953.
- 10) SPEIRS, R. S. and MEYER, R. K.: A method of assaying adrenal cortical hormones based on a decrease in the circulating eosinophil cells of adrenalectomized eosinophil. *Endocrinology*, 98: 316, 1951.
- 11) WEGELIUS, O. and THEIR, H.: The effect of cortisone, adrenalectomy and hypophysectomy on the tissue eosinophil count in the glandular stomach of the rat. *Acta Endocrinol.* 28: 197, 1958.
- 12) LABORIT, H.: La vasoplégie progressive dans la conduite de la transfusion au cours des déséquilibres vaso-moteurs post agressifs. *Presse Medicale* 60: 692, 1952.