

Sobre o mecanismo de intoxicação hemática pela acetilfenilhidrazina, em diferentes animais (*)

pelos

Drs. R. Pimenta de Mello e W. O. Cruz

Foi observado (1), recentemente, na administração de acetilfenilhidrazina em cães, em determinadas doses, uma ação rápida lesando todas as hemáticas circulantes, salvo os reticulócitos. A lesão de hemática pode ser detectada morfológicamente pela presença de um grânulo coravel pelo cristal violeta (grânulo de HEINZ). No cão este grânulo aparece horas após a primeira administração de acetilfenilhidrazina, como um pequeno ponto que aumenta progressivamente até atingir volume apreciável, cerca de um terço da hemática lesada. A hemática com o grânulo, permanece na circulação por alguns dias, até desaparecer repentinamente, fato que juntamente com verificações anatomo-patológicas, indicam um processo de eliminação destas hemáticas afetadas, pelos elementos fagocitários do sistema reticulo-endotelial. Nas doses empregadas, o desaparecimento de todas as hemáticas atingidas significa a destruição completa destes elementos presentes na circulação antes da prova, fato comprovado em trabalho, no qual se verificou a eliminação de pigmentos biliares, em cães com fistulas biliares, após administração de acetilfenilhidrazina, correlacionando-se com a quantidade de hemoglobina anterior à prova (2).

Nos pareceu interessante averiguar no presente trabalho se a formação da lesão em cada hemática e o conseqüente desaparecimento desta, variaria em diferentes mamíferos, usando-se em quase todos os casos a mesma quantidade de acetilfenilhidrazina por quilo de corpo de animal.

MÉTODOS

Os exames hematológicos foram realizados de acordo com os métodos utilizados correntemente na seção (3).

(*) Trabalho da Seção de Hematologia auxiliada por benemerência do Dr. Guilherme Guinle.

Coloração dos granulos de HEINZ — para a coloração dos granulos de HEINZ utilizamo-nos de lâminas previamente preparadas pela deposição de uma gota de solução de cristal violeta a 1% em alcool absoluto evaporando-se rapidamente. Uma gota de sangue do animal a ser examinado é colhida em laminula e em seguida misturada ao cristal violeta. No fim de 10 minutos examinamos as preparações. Os granulos de HEINZ se apresentam corados em violeta escuro, quase negro. Os reticulocitos mostram-se perfeitamente corados, com trama filamentosa bem nítida ligando pequenos granulos de cromatina, sendo estes mais ou menos abundantes de acôrdo com a fase regenerativa do processo.

Apreciação fotométrica do volume dos granulos de HEINZ: — Colocamos 0.1 cm³ de sangue em tubo de hemólise contendo 2 cm³ de água distilada, destinada a provocar a hemólise e conseqüente libertação dos granulos. Depois de completada esta, a turvação resultante é dada unicamente pela presença dos granulos. A mistura é levada ao fotometro de Pulfrich, onde fazemos a leitura utilizando cuba de 5 mm e filtro vermelho S66. Centrifugamos em seguida o material a 3.000 rotações por minuto durante 15 minutos e lê-se novamente. A diferença entre as duas leituras nos dá um resultado que é função do número e do volume dos granulos de HEINZ. De posse desses dados estabelecemos a seguinte formula, que nos dá a extinção luminosa correspondente aos granulos de HEINZ contidos em um por cento das hema-

A-B

tias: — onde A é a leitura obtida no fotometro antes da centrifugação;

n

B a leitura após a centrifugação e finalmente n a percentagem das hematias com granulos.

Determinação do volume absoluto dos granulos de HEINZ pelo hematocrito de VAN ALLEN: — Tentamos determinar o volume dos granulos promovendo previamente pela água distilada a libertação dos mesmos. Não nos deu entretanto, bons resultados, porque, quando os granulos são ainda diminutos, a sedimentação é difícil, impossibilitando uma leitura correta.

EXPERIENCIAS

Em quase todos os animais experimentados empregamos a mesma dóse de acetilfenilhidrazina, 30 mg por quilo de corpo, para que pudessemos comparar os resultados. Na tabela 1, apresentamos agrupados os animais, de acôrdo com o tipo de evolução dos granulos de HEINZ.

TABELA 1

GRUPO	ANIMAL	CARACTERISTICAS DO GRANULO	TEMPO DE PERMANEN- CIA DO GRANULO NA CIRCULAÇÃO
1.....	Coelho..... Rato.....	Granulo volumoso até o fim. Desaparecimento rapido.	9 a 11 dias
2.....	Sagui..... Coebus..... Camodongo	Granulo volumoso até o fim. Desaparecimento lento.....	20 a 35 dias.
3.....	Cão..... M. Rhesus.....	Granulo diminuto no período..... final. Desaparecimento lento.	20 a 22 dias.
4.....	Cobaia.....	Granulo muito pequeno com a dose de 30 mg p. q. e.. Granulo nitido sómente na dose a partir de 300 mg p. q. e.	18 dias.

CÃO

Injetada a acetilfenilhidrazina, subcutaneamente, dissolvida em solução fisiologica, procuramos constatar ao fim de quanto tempo os primeiros granulos eram observados no interior das hematias, pois "in vitro", conforme já referimos, este aparecimento se dá em média dentro de 10 a 20 minutos. "In vivo", no fim de 120 minutos, nota-se, utilizando-se coloração pelo cristal violeta, o aparecimento de pequeninos granulos, que sómente no fim de 24 horas, são encontrados em todas as hematias. A medida da opacimetria, o volume do granulo, a leucocitose e a queda dos valores hemáticos, podem ser apreciados na tabela 2.

Evolução dos granulos: o volume dos granulos aumenta de maneira lenta para alcançar o ponto máximo da curva entre os 4.^o e 7.^o dias (gráfico 1).

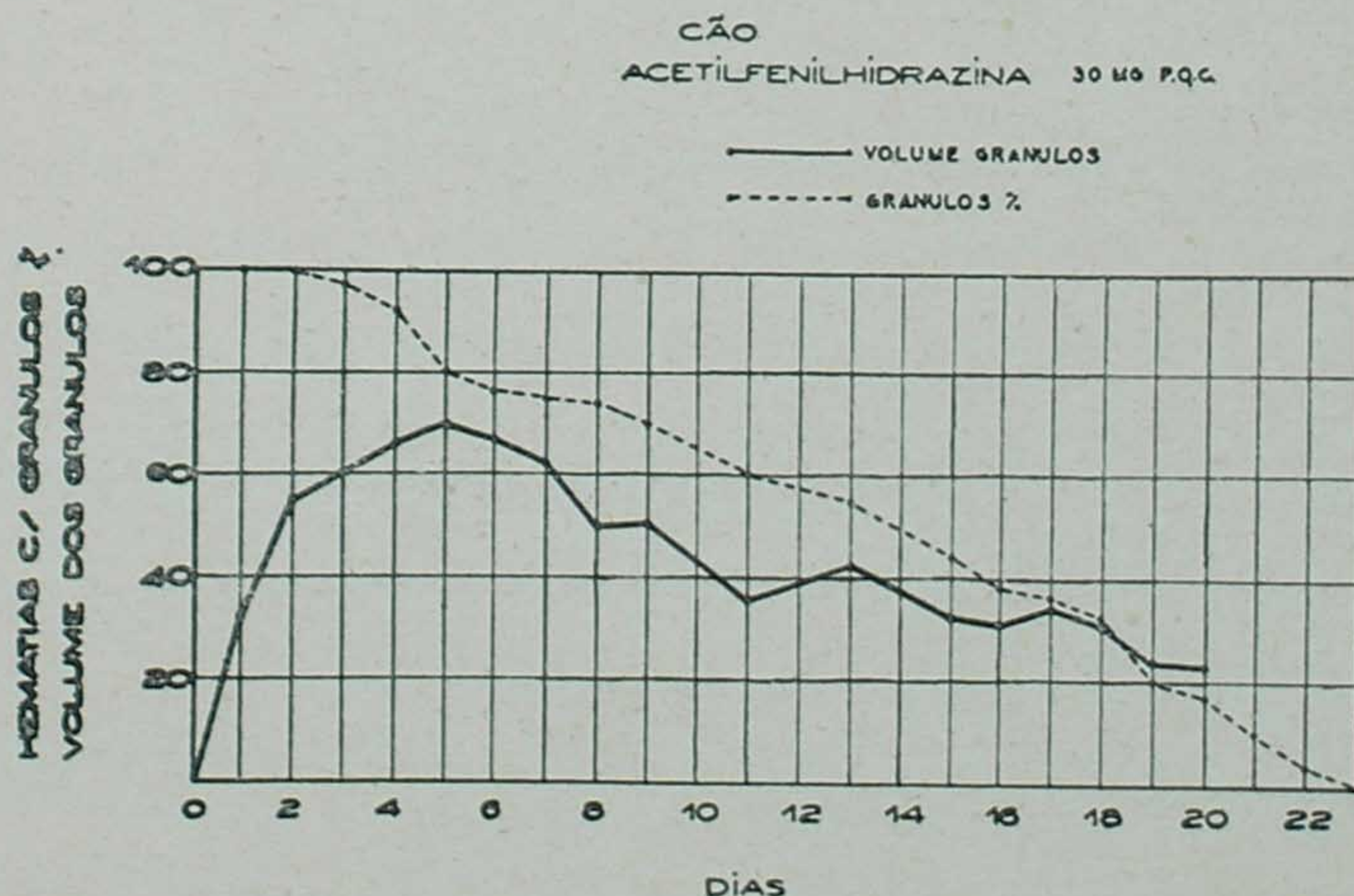


TABELA 2

CÃO 347-5 ACETILFENILHIDRAZINA 30 MG P. Q. C.

DIA	HORA	HEINZ (1)	HEMÓLISE (2)	GRANULOS (%) (3)	NÓVAS (%) (4)	RETICU- LOCITOS (%)	LEUCOCITOS 10 ² /mm ³	HEMATIAS 10 ⁶ /mm ³	HEMO- GLOBINA g/100 cm ³ Sangue	HEMO- TOCRITO %	INDICE DE HEMO- GLOBINA (uu)	VOLUME (5) GRANULOS
0	0	0	5	0	97	3	9.6	4.0	10.0	32	25	0
	30'	0	4	0	98	2	—	—	—	—	—	0
	60'	0	6	0	98	2	—	—	—	—	—	0
	90'	0	5	0	97	3	—	3.9	10.0	31	25.5	0
	120'	3	3	97	0	3	—	3.9	9.6	32	24.5	0.03
	150'	5	3	96	0	4	—	4.0	9.6	33	24	0.05
	180'	12	4	97	0	3	—	3.8	9.6	32	25	0.12
	210'	14	3	98	0	2	—	3.4	8.6	28	25	0.13
	240'	14	4	97	0	3	—	3.5	8.4	27	24.5	0.14
	270'	13	3	96	0	4	—	—	—	—	—	0.13
	300'	15	3	98	0	2	—	3.5	8.4	26	24	0.15
	330'	17	3	98	0	2	—	3.2	7.8	29	24.5	0.17
	360'	16	3	97	0	3	—	3.1	7.8	26	25	0.16
	390'	19	3	97	0	3	—	3.2	7.8	27	24.5	0.20
1	24	31	5	100	0	0	11.4	4.0	7.8	24	26	0.31
2	48	54	4	100	0	0	16.2	2.8	7.0	23	25	0.54
3	72	96	3	98	2	0	20.4	2.9	7.0	23	24	0.60
4	96	59	3	91	4	5	28.4	2.8	6.8	21	24	0.65
5	120	54	3	80	16	4	22.2	2.6	6.0	20	24	0.68
6	144	52	10	73	17	5	24.0	2.9	6.8	24	23.5	0.66
7	168	47	4	76	19	5	20.0	2.6	6.2	22	24	0.62
8	192	36	5	74	24	2	20.0	2.4	5.8	20	24	0.49
9	216	35	12	70	27	3	8.2	2.7	6.2	20	23	0.50
11	264	22	3	60	2	2	13.4	2.4	5.4	17	22	0.36
12	288	—	—	—	—	—	10.0	3.0	6.0	21	20	—
13	312	23	5	55	38	7	12.0	2.7	5.4	20	20	0.41
15	360	14	2	43	50	7	15.0	1.6	3.8	13	24	0.32
16	384	12	3	39	55	6	11.0	1.5	2.8	10	19	0.31
17	408	13	4	38	56	6	11.4	1.5	2.8	10	19	0.34
18	432	10	3	32	60	8	10.0	1.2	2.6	11	22	0.31
19	456	5	3	20	70	10	9.8	1.2	2.5	9	21	0.22
20	480	4	4	18	75	7	11.2	1.3	2.6	10	20	0.22
21	504	0	4	10	84	6	11.8	1.4	3.0	11	21	0
22	528	0	5	5	91	4	12.0	1.8	3.8	13	21	0
23	552	0	6	0	97	3	11.3	2.0	4.2	14	21	0

(1) Extinção luminosa que exprime a turvação dada por 0,1 cm³. de sangue em 2 cm³. de água destilada. — (2) Extinção luminosa da solução anterior após deposição dos granulos por centrifugação. — (3) Hematias com granulos. — (4) Hematias sem granulos. — (5) Expresso em extinção luminosa de 1 % de hematias contendo granulos

Os granulos são em número de 3 a 4 por hematia, de fórmula que o volume obtido pelo HEINZ é a soma dos volumes desses granulos. Apesar disso, o valor em relação ao de outros animais experimentados é baixo (0.68). O número dos granulos em seguida cai vagarosamente para desaparecer completamente no 22º dia da prova, o mesmo acontecendo ao seu volume. Assim, nos dias que precedem o seu completo desaparecimento, os granulos de HEINZ se apresentam como pequeninos pontos dificilmente visiveis, contrariamente ao que acontece com outros grupos de animais.

MACACO RHESUS

O Macaco rhesus reage á acetilfenilhidrazina da mesma maneira que o cão (tabela 3, grafico 2)

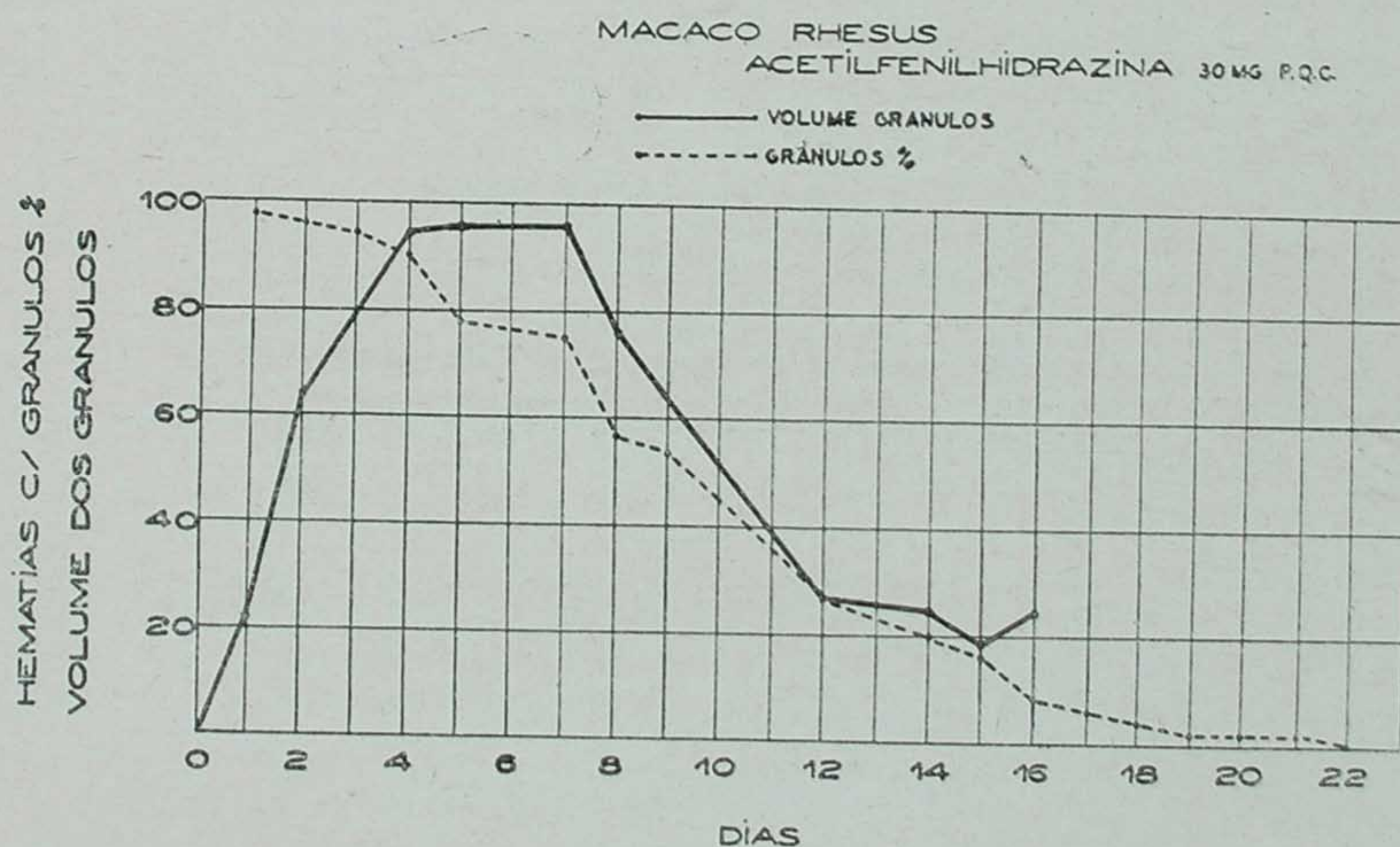


TABELA 3 (*)

MACACO RHESUS 20

Acetilfenilhidrazina 30 mg. p. q. c.

DIAS DE EXPE- RIENCIA	HEINZ	HEMÓLISE	GRANULOS (%)	NÓVAS (%)	RETICULO- CITOS (%)	LEUCOCITOS 10 ² /mm ³	HEMATIAS 10 ⁶ /mm ³	HEMO- GLOBINA g/100 cm ³ Sangue	HEMA- TOCRITO (%)	ÍNDICE HEMO- GLOBINA $\mu\mu$	VOLUME GRANULOS
0.....	0	6	0	98	2	13.6	6.1	13.4	48	22	0
1.....	20	5	98	0	2	13.6	5.6	12.4	42	22	0.21
2.....	61	4	97	0	3	15.2	5.3	11.0	39	21	0.63
3.....	75	4	95	2	3	14.8	4.7	9.4	35	20	0.79
4.....	85	5	90	3	7	13.4	4.7	9.4	35	20	0.95
5.....	76	4	79	13	8	17.8	4.5	9.0	33	20	0.96
7.....	70	5	73	12	15	19.6	4.6	9.4	36	20.5	0.96
8.....	44	5	57	28	15	11.8	4.0	8.8	32	22	0.77
9.....	33	5	53	39	8	9.8	4.7	9.4	33	20	0.62
12.....	7	5	26	68	6	11.2	4.3	8.6	29	20	0.27
14.....	5	5	20	74	6	6.2	3.4	7.2	26	21	0.25
15.....	3	4	16	81	4	14.8	4.4	9.0	29	20	0.19
16.....	2	4	8	89	3	11.8	4.0	8.2	28	20	0.25
17.....	0	5	4	94	2	9.8	5.0	9.4	33	19	0
18.....	0	5	2	96	2	11.0	4.5	9.0	31	20	0
19.....	0	5	1	97	2	9.5	4.8	9.8	34	21	0
20.....	0	5	1	98	1	—	—	—	—	—	0
21.....	0	—	1	98	1	—	—	—	—	—	—
22.....	0	0	0	98	2	—	—	—	—	—	—

(*) Para explicação dos cabeçalhos ver tabela 2

COELHO

Na mesma dose empregada (30 mg p.q.c.) o volume dos granulos é muito elevado 1.26, tendo-se ainda a notar, que nesta dose, somente um granulo por hematia é encontrado. O desaparecimento dos granulos é também muito rápido, conservando, entretanto, um volume bastante apreciavel. A este tipo pertence também o rato.

TABELA 4 (*)

COELHO 11

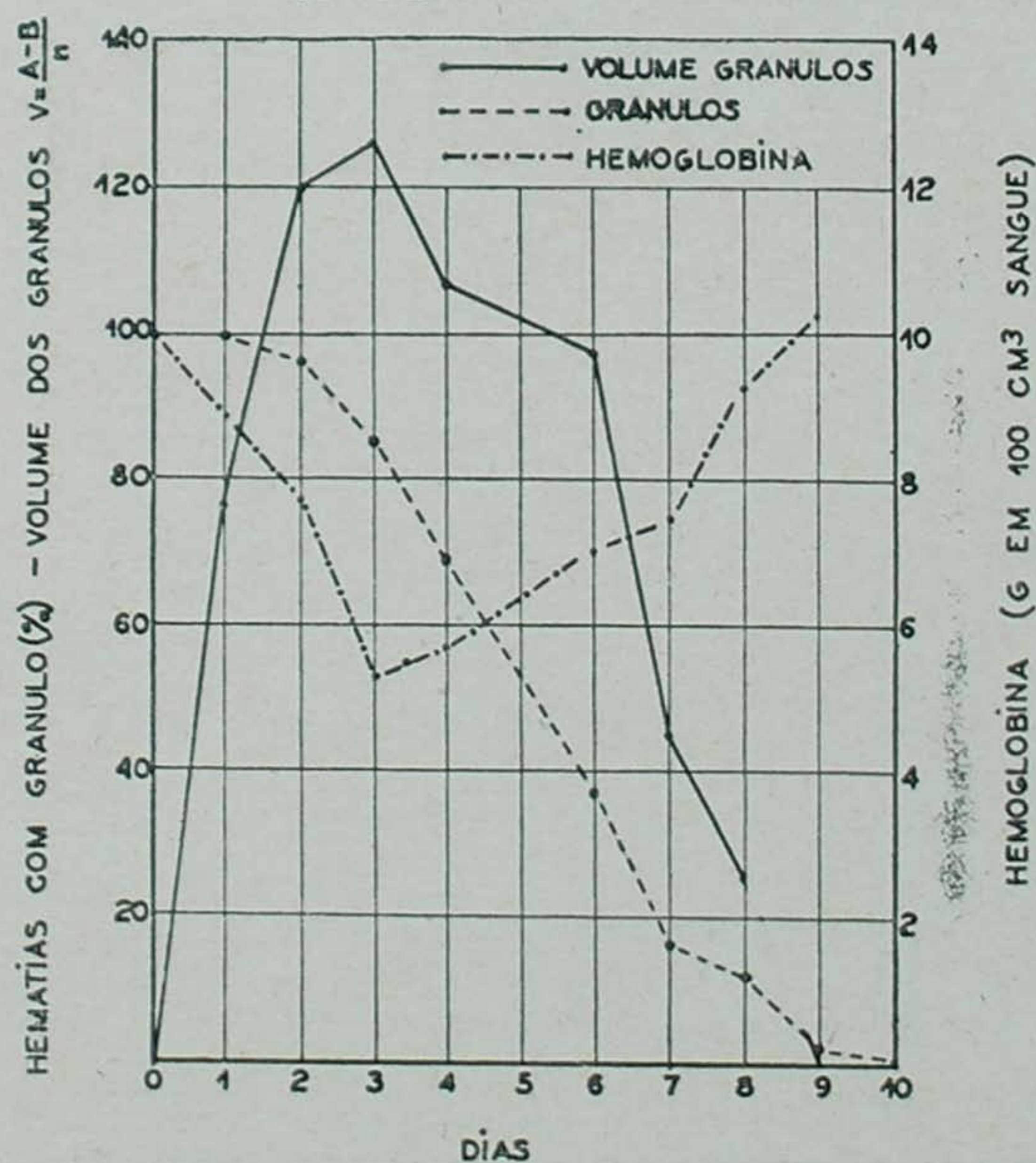
Acetilfenilhidrazina 30 mg p. q. c.

DIAS DE EXPERIENCIA	HEINZ	HEMÓLISE	GRANULOS (%)	NÓVAS (%)	RETICULOCITOS (%)	HEMOGLOBINA g/100 cm ³ Sangue	VOLUME GRANULOS
0.....	0	3	0	99	1	10.00	0
1.....	76	6	100	0	0	8.80	1.76
2.....	118	5	98	2	0	7.80	1.20
3.....	108	4	86	6	8	5.20	1.26
4.....	74	4	68	10	22	5.80	1.09
6.....	37	3	38	33	29	7.00	0.07
7.....	7	3	16	74	10	7.20	0.46
8.....	3	3	12	77	11	9.40	0.25
9.....	0	4	1	96	3	10.20	0
10.....	0	4	0	98	2	—	0

(*) Para explicação dos cabeçalhos ver tabela 2

COELHO

ACETILFENILHIDRAZINA 30 MG P.Q.C.



RATO 11

TABELA 5 (*)

Acetlfenilhidrazina 30 mg. p. q. c.

DIAS DE EXPERIENCIA	GRANULOS (%)	NOVAS (%)	RETICULOCITOS (%)
0.....	0	97	3
2.....	97	0	3
3.....	84	13	3
4.....	70	25	5
7.....	21	71	8
9.....	4	82	14
10.....	2	88	10
11.....	0	96	4

CAMONDONGO

A evolução é quase idêntica à anterior, diferenciando-se unicamente por uma destruição mais lenta (tempo de permanência dos granulos na circulação de 20 a 35 dias). Pertencem a este grupo o sagui e o macaco *Cœbus*.

TABELA 6 (*)

CAMONDONGO

Acetlfenilhidrazina 30 mg p. q. c.

DIAS DE EXPERIENCIA	GRANULOS (%)	NOVAS (%)	RETICULOCITOS (%)
0.....	0	98	2
2.....	95	2	3
3.....	80	16	4
4.....	75	22	3
7.....	56	30	14
9.....	52	41	7
10.....	43	54	3
11.....	36	59	5
13.....	30	67	3
14.....	28	68	4
16.....	23	71	6
17.....	22	69	6
19.....	20	74	6
20.....	18	75	7
21.....	18	77	5
23.....	8	82	10
24.....	7	86	7
25.....	6	89	5
26.....	4	93	3
28.....	1	94	5
30.....	0.2	97	3
31.....	0	98	2

(*) Para explicação dos cabeçalhos ver tabela 2

TABELA 7 (*)

SAGUI 11

Acetilfenilhidrazina 30 mg p. q. c.

DIAS DE EXPERIENCIA	GRANULOS (%)	NOVAS (%)	RETICULOCITOS (%)
0.....	0	99	1
1.....	99	0	1
2.....	99	0	1
4.....	93	5	2
5.....	87	11	2
7.....	80	17	3
8.....	77	19	4
10.....	56	39	5
11.....	50	42	8
12.....	37	59	4
14.....	27	41	32
15.....	12	45	33
16.....	10	76	14
17.....	8	84	8
19.....	2	93	5
21.....	0	90	10

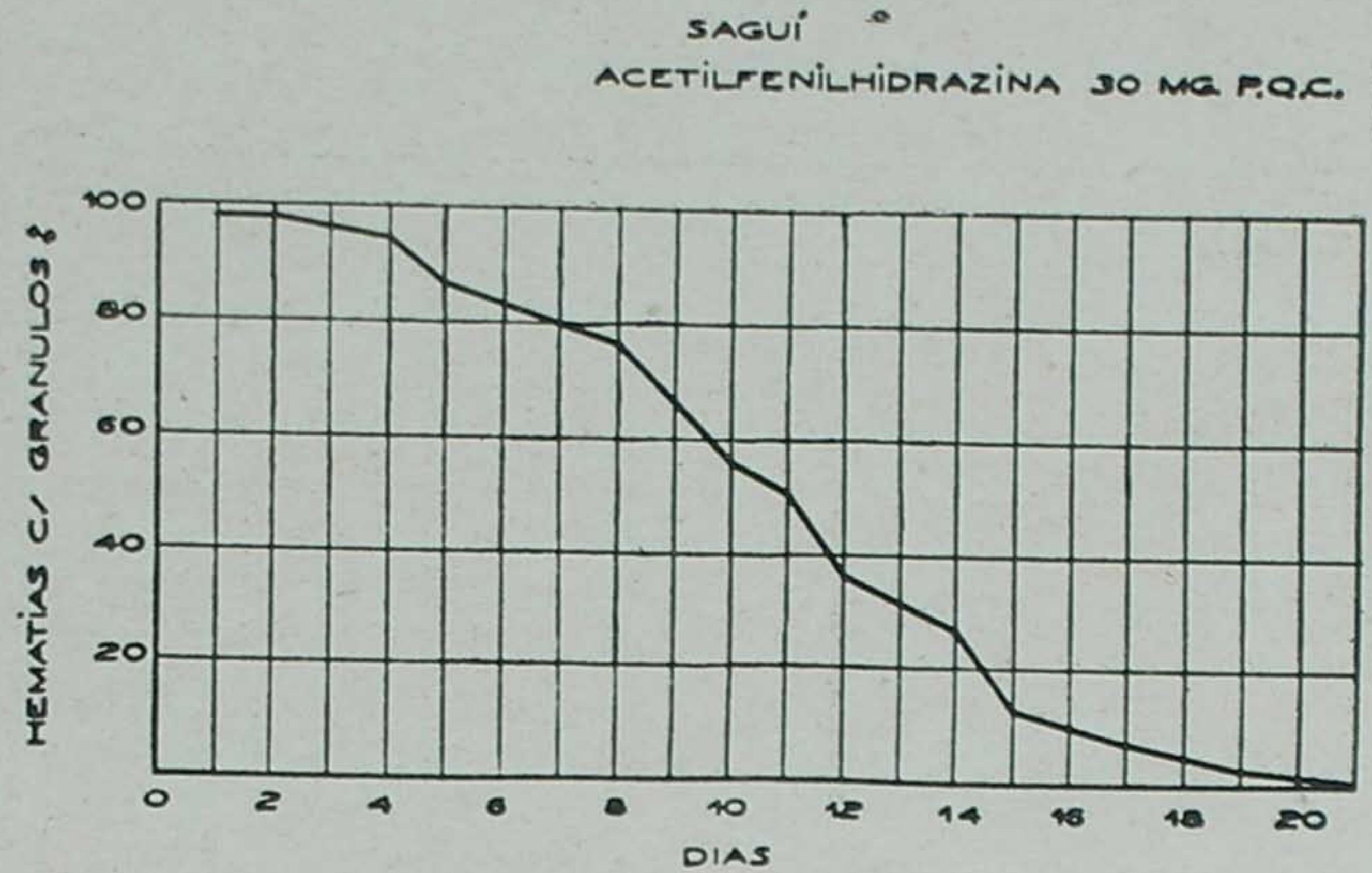
TABELA 8 (*)

COEBUS 1

Acetilfenilhidrazina 30 mg p. q. c.

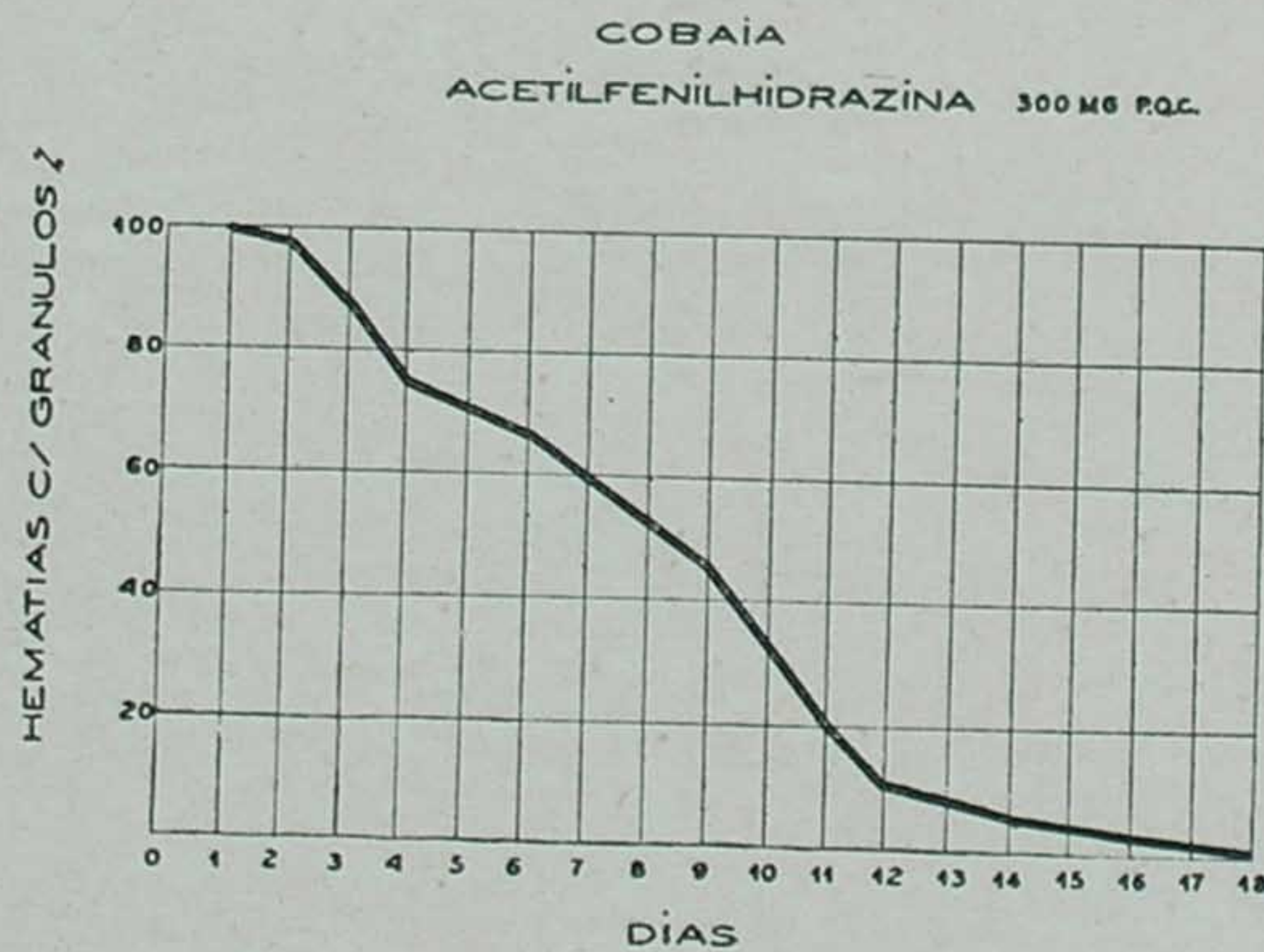
DIAS DE EXPERIENCIA	GRANULOS (%)	NOVAS (%)	RETICULOCITOS (%)
0.....	0	99	1
1.....	99	0	1
2.....	99	1	0
4.....	96	3	1
5.....	85	13	2
7.....	75	19	6
8.....	60	32	8
10.....	49	46	6
12.....	35	57	8
14.....	20	73	7
15.....	10	84	6
17.....	6	87	7
19.....	4	94	2
21.....	3	94	3
23.....	1	92	7
24.....	1	94	5
25.....	0	95	5

(*) Para explicação dos cabeçalhos ver tabela 2

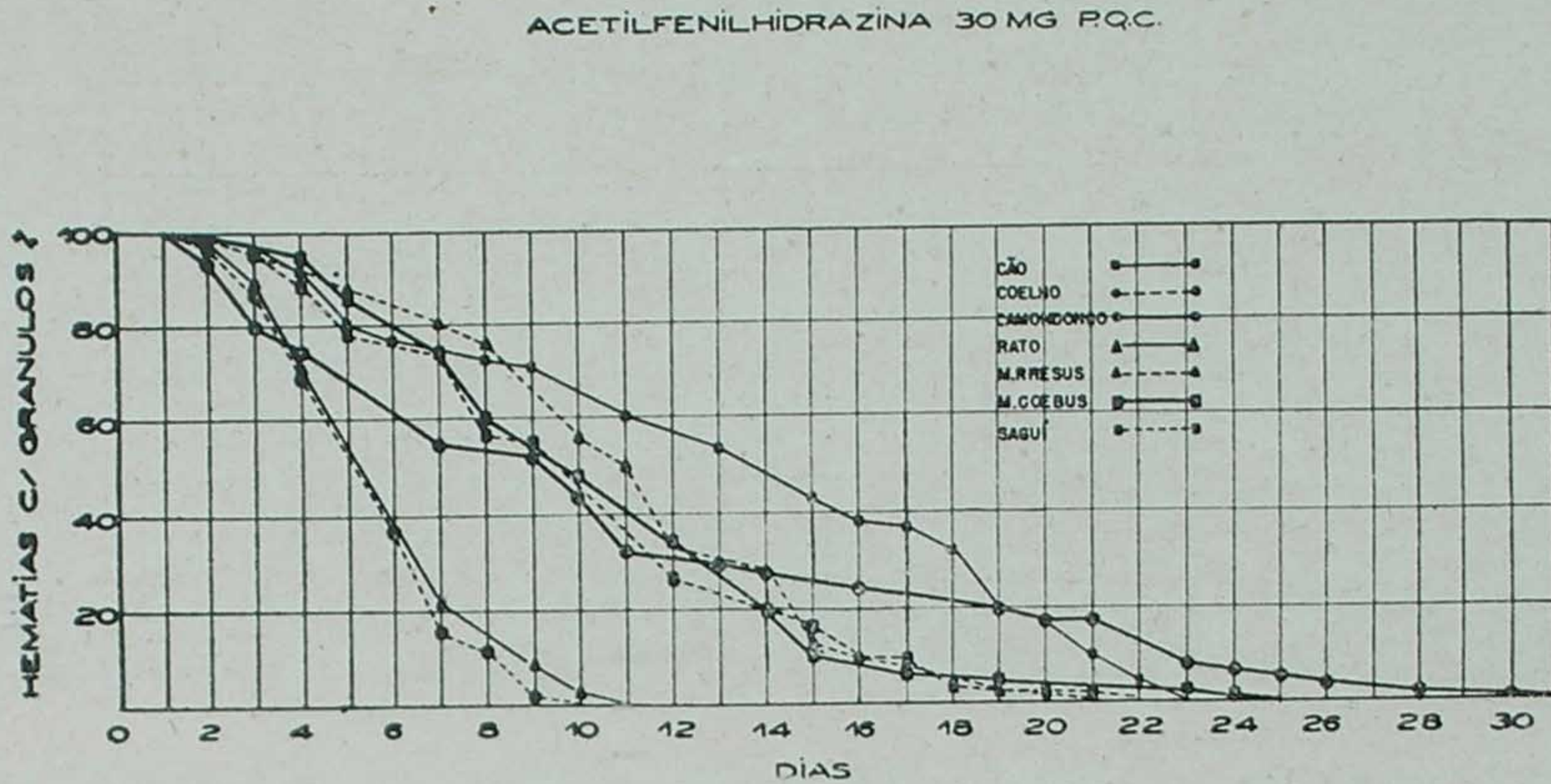


COBAIA

Na dose empregada nos outros animais não observamos formação nítida de granulos, sendo de tamanho reduzido, desaparecendo no fim de 2 a 3 dias. Sómente a partir de 300 mg por quilo de corpo, dose mortal para os outros animais, há formação de granulos de volume apreciavel.



No grafico 6, apresentamos reunidos todos os animais experimentados com a mesma dose de acetilfenilhidrazina (30 mg p.q.c.).



SUMÁRIO E CONCLUSÕES

Os autores estudaram os efeitos da injeção de acetilfenilhidrazina quando empregada na dose de 30 mg. p.q.c. em diferentes animais. O comportamento das hematias com granulos de HEINZ é variavel em cada animal como se póde verificar na tabela anexa.

TABELA

GRUPO	ANIMAL	CARACTERISTICAS DO GRANULO	TEMPO DE PERMANENCIA DO GRANULO NA CIRCULAÇÃO
1.....	Coelho Rato	Granulo volumoso até o fim..... Desaparecimento rapido	9 a 11 dias.
2.....	Sagui Coebus Camondongo	Granulo volumoso até o fim Desaparecimento lento	20 a 35 dias
3.....	Cão M. Rhesus	Granulo diminuto no período final. Desaparecimento lento.....	20 a 22 dias
4.....	Cobaia	Granulo muito pequeno com a dose de 30 mg p. q. c. Granulo nitido somente na dose a partir de 300 mg p. q. c.....	18 dias

SUMMARY

The effect of acetylphenylhydrazine (30 mg per kilo of body weight) have been observed in different animals. The red blood cells damage and destruction is different according to the animal observed as it is shown in the following table:

GROUP	ANIMAL	GRANULE CHARACTERISTICS	TIME IN WHICH THE DAMAGED RED CELL REMAINS IN THE CIRCULATION
1.....	Robbit Rat	Granule remains big until its disappearance..... Abrupt disappearance from the circulation.	9 to 11 days
2.....	"Sagui" monkey Coebus monkey Mouse	Granule remains big until its disappearance..... Slow disappearance from circulation.	20 to 35 days
3.....	Dog Rhesus monkey	Granule very small in time of disappearance from circulation. Slow disappearance from circulation.....	20 to 22 days
4.....	Guinea pig	Granule very small. A clear granule is obtained only with a ten times higher dosage (300 mg per kilo body weight).	18 days

(*) *Callitrix jacchus*

BIBLIOGRAFIA

1. CRUZ, W. O.
1941. Acetylphenylhydrazine Anemia 1 — The mechanism of erythrocyte destruction and regeneration. *Am. J. Med. Sci.*, vol. 202, 781-798.
2. CRUZ, W. O., HAWKINS, W. B. & WHIPPLE, G. H.
1942. Acetylphenylhydrazine Anemia 2 — Bile Pigment elimination and new hemoglobin reconstruction in the bile fistula dog. *Am. J. Med. Sci.*, vol. 203, 848-854.
3. CRUZ, W. O., DA SILVA, E. M. & PIMENTA DE MELLO, R.
1945. Dados hematologicos do cão adulto normal. *Mem. Inst. Osw. Cruz*, tomo 42, fasc. 3, 609-628.

ESTAMPA 1

- Foto 1 — HEINZ 20. Hematias contendo granulo 98%. Reticulocitos 2%. Extinção luminosa dos granulos em 1% de hematias intoxicadas 0.21.
- Foto 2 — HEINZ 61. Hematias contendo granulo 97%. Reticulocitos 3%. Extinção luminosa dos granulos em 1% de hematias intoxicadas 0.63.
- Foto 3 — HEINZ 85. Hematias contendo granulo 90%. Reticulocitos 7%. Hematias sem granulo 3%. Extinção luminosa dos granulos em 1% de hematias intoxicadas 0.95.
- Foto 4 — HEINZ 70. Hematias contendo granulo 73%. Reticulocitos 15%. Hematias sem granulo 12%. Extinção luminosa dos granulos em 1% de hematias intoxicadas 0.96.
- Foto 5 — HEINZ 7. Hematias contendo granulo 26%. Reticulocitos 6%. Hematias sem granulo 68%. Extinção luminosa dos granulos em 1% de hematias intoxicadas 0.27.

ESTAMPA 1

