

Condições de formação de methemoglobina pela acetilfenilhidrazina

pelos

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

Com a finalidade de verificarmos a relação entre o aparecimento dos granulos de HEINZ e a formação de methemoglobina, procuramos, utilizando o método de Heilmeyer, dosar esta substância em animais injetados com acetilfenilhidrazina. Em trabalho já realizado (1), observamos que o aparecimento de granulos nas hematias em circulação se dá no fim de 120 minutos, em cães após administração de acetilfenilhidrazina, aumentando de tamanho rapidamente, sendo que ao cabo de 24 horas atinge um volume apreciável. Ora, si com 120 minutos a hematia se apresenta lesada, procuramos dentro das seis primeiras horas, detectar a presença de metemoglobina. Dreschfeld (2), foi o primeiro a constatar a formação de methemoglobina em cães, quando injetados com acetilfenilhidrazina. Long (3), injetando em coelhos, 15 mg p.q.c. de cloridrato de fenilhidrazina, observou no 3.º dia, a presença de faixas características de methemoglobina no espectro. Injetando 440 mg da mesma substância na veia da orelha de coelhos, observou ainda morte imediata, apresentando o sangue cor chocolate, com o espectro de methemoglobina. Bratley e colaboradores (4), observaram a formação de methemoglobina na circulação quando se administrava a animais cloridrato de fenilhidrazina.

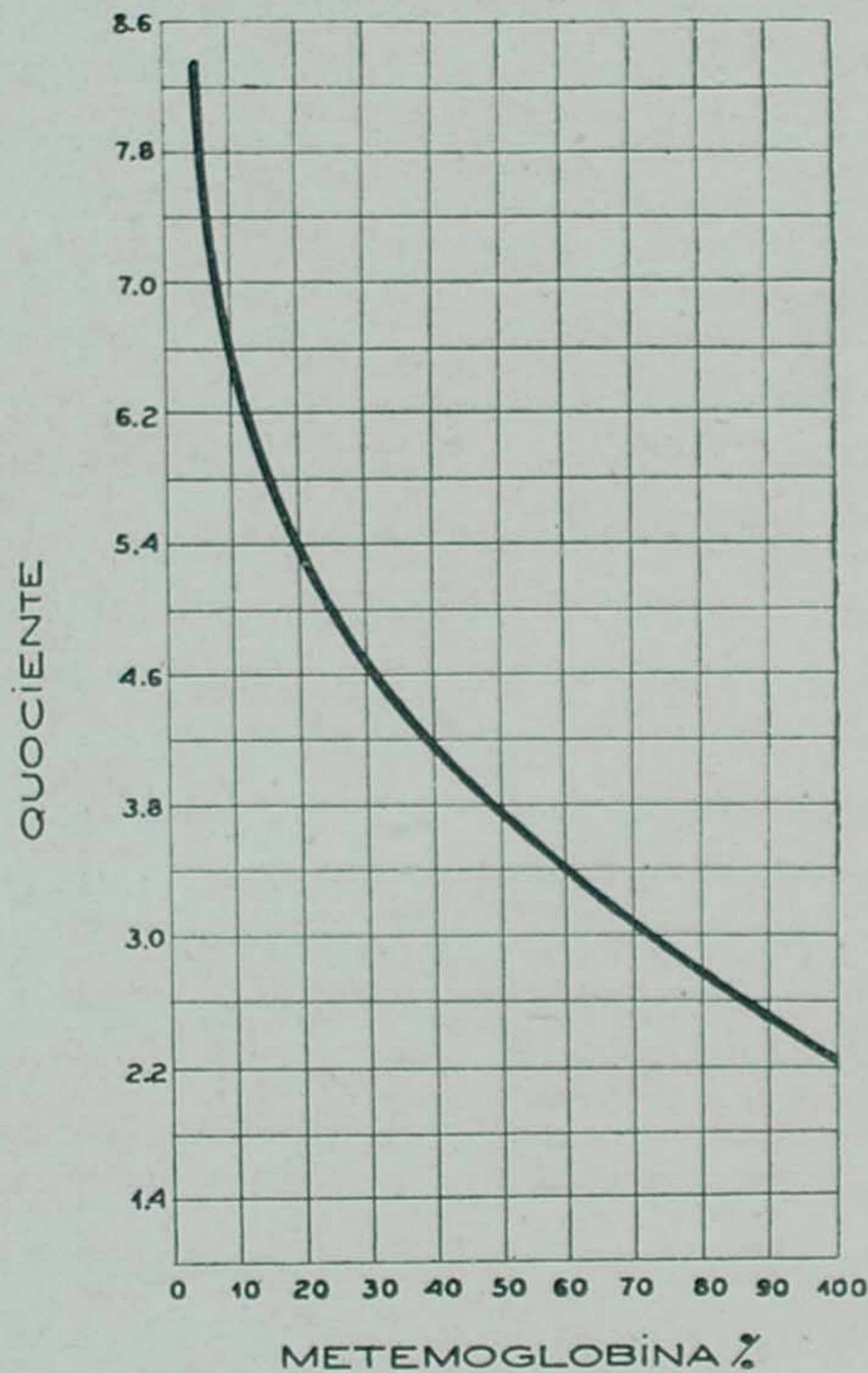
METODOS

Dosagem de methemoglobina: o metodo empregado para dosagem de methemoglobina, descrito por Heilmeyer (4), consiste em utilizar-se o coeficiente de Huffner, isto é a relação entre as leituras das soluções nos pontos de maior e menor absorção da oxihemoglobina no espectro. Este quociente é 576/590, números que representam o comprimento de onda dos filtros usados. Prepara-se a solução de oxihemoglobina, mediante amonia a 0.4% e a de methemoglobina pela adição de 0.020 cm³ de ferricianeto de potassio a 3%. Isto feito,

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

colocando-se as soluções em cubas de 50 mm, e utilizando os filtros S61 e S67 (Fotometro de Pulfrich) teremos na diferença de extinções um resultado que corresponde a 50% de methemoglobina; variando-se a espessura das cubas que contêm a solução de methemoglobina, teremos diversos valores que exprimem percentagens diferentes de methemoglobina. Como no Fotometro de Pulfrich não possuíamos exatamente os filtros de comprimento de onda especificados por Heilmeyer, o nosso quociente (K) é 590/620. De acôrdo com os resultados, estabelecemos a curva utilizando sempre cuba compensadora com água destilada.

Gráfico 1



RESULTADOS

"*In vitro*". Uma solução de cloridrato de fenilhidrazina (10 mg % em soro fisiológico) misturada ao sangue, usando-se como substância hemolítica uma solução de saponina a 1%, mostrou-nos os seguintes resultados, depois de incubação á 38 graus durante 45 minutos.

SANGUE (cm ³)	CLORIDRATO DE FENILHIDRAZINA (10 mg. % em soro fisiológico)	SAPONINA (cm ³)	METHEMOGLOBINA (%)
0.1.....	0.1	1.9	15
0.1.....	0.2	1.8	30
0.1.....	0.3	1.7	42
0.1.....	0.4	1.6	65
0.1.....	0.6	1.4	82

Acetilfenilhidrazina — da mesma maneira que a substância anterior colocamos sangue em contato com uma solução de acetilfenilhidrazina (500 mg. — 100cm³ de soro fisiológico), usando uma solução de saponina a 1% e incubação à 38 graus :

SANGUE (cm ³)	ACETILFENILHIDRAZINA (500 mg. % em soro fisiológico)	SAPONINA (cm ³)	MINUTOS	METHEMOGLOBINA (%)
0.1.....	0.01	2	15	9
0.1.....	0.01	2	30	20
0.1.....	0.01	2	45	27
0.1.....	0.01	2	60	61
0.1.....	0.01	2	75	91

Experiências realizadas "in vivo". Ao contrário do que se encontra "in vitro", não se constatou a formação de methemoglobina, após cinco horas da administração de acetilfenilhidrazina. Isto parece decorrer da dose empregada, muitas vezes inferior á que é necessária para sua produção "in vitro".

CÃO 347	(ACETILFENILHIDRAZINA 30 mg p. q. c.)										
	30'	60'	90'	120'	150'	180'	210'	240'	270'	300'	360'
Methemoglobina.....	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Granulos	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+
HEINZ (Opacimetria) (*).....	0	0	0	3	5	12	14	14	13	15	16
Hemoglobina	9.8	9.8	9.8	10.0	10.0	9.4	9.8	9.2	9.2	10.0	7.6

(*) Leitura que representa a extinção luminosa de 0,1 cm³ de sangue, dada exclusivamente pelos granulos de Heinz.

Em outro cão (348) a pesquisa até 225 minutos após a injeção de acetilfenilhidrazina (45 mg. p.q.c.) para methemoglobina, foi negativa.

SUMÁRIO E CONCLUSÕES

Os autores procuraram verificar "in vivo" e "in vitro" a formação de methemoglobina com acetilfenilhidrazina. O método utilizado para dosagem de methemoglobina foi o descrito por Heilmeyer. "In vitro" na proporção de 0.1 g de acetilfenilhidrazina para 0.1 de sangue na fim de 15 minutos encontraram 9% de methemoglobina. "In vivo" com a dose aproximadamente 5 vezes menor (30 mg. p.q.c.), dentro das primeiras 6 horas após a administração da droga, não verificaram formação de methemoglobina.

SUMMARY

Studies "in vivo" and "in vitro" of methemoglobin formation with acetylphenylhydrazine has been done. Heilmeyer's method has been used in the methemoglobin determination. "In vitro" 0.1 gr. acetylphenylhydrazine in 0.1 ml blood, produces after 15 minutes, 9% methemoglobin. "In vivo", in quantities approximately 5 times less (30 mg per kilo body weight), no methemoglobin formation has been observed in the first six hours after the drug have been administered.

BIBLIOGRAFIA

1. CRUZ, W. O. & PIMENTA DE MELLO, R.
Neste volume, página 81.
2. DRESCHFELD, J.
1888. Brit. Med. J. 2; 881.
3. LONG, P.
1925-26. J. Clin. Invest. 2; 329.
4. BRATLEY, F., BURROUGHS, H., HAMILTON, D. & KERN, C.
1931. Am. J. Med. Sci. 182; 597.
5. HEILMEYER, L.
1943. Spectrophotometry in Medicine. Translated by H. Jordan and Tippell, London, England.