

Variação Circadiana do Efeito Hipnótico do Propofol em Camundongos*

Esaú Magalhães Filho¹, Alexandre Augusto Lara Menezes²,
Márcio Capriglione³, Nilton B do Vale⁴

Magalhães Filho E, Menezes AAL, Capriglione Márcio, Vale NB - Circadian Variation of Propofol Sleeping Time in Mice

One hundred and forty mice synchronized to a 12 hour light/ 12 hour dark cycle (lights on from 06:00 to 18:00) were submitted to intraperitoneal injection of 1% propofol. The Litchfield-Wilcoxon method was used to evaluate dose-response curves as to the hypnotic effect of the drug, as well as a possible circadian variation in such profile. Onset time for the hypnotic dose 50% (HD50) was shorter at noon (rest) as compared to midnight (activity). Sleeping time for HD50 was shorter in animals injected at midnight, as compared to animals injected at 18:00 and at noon. No circadian variation in drug effects were observed with HD80. These data provide another example of the influence of the circadian rhythms on the action of psychoactive drugs.

Key Words: ANESTHETICS, Venous:propofol; ANIMAL: mice; CHRONOPHARMACOLOGY

A pesquisa cronofarmacológica atende ao interesse clínico na busca de otimizar a eficácia de drogas psicoativas e minimizar seus efeitos colaterais. Por outro lado, o estudo da influência de ritmos circadianos sobre o efeito dos anestésicos e seus adjuvantes em animais permite um melhor entendimento sobre a integração temporal das principais funções do sistema nervoso central (SNC). A partir dos anos 50, a variação circadiana do efeito de drogas psicoativas vem sendo continuamente relatada, tanto no homem quanto em animais de experimentação¹⁻³. Assim, a cronotoxicidade do etanol é significativamente mais elevada nas primeiras horas da fase de atividade: matutina no Homem e noturna no camundongo sincronizado^{4,5}. Na fase de atividade do

camundongo (período escuro), foram detectados o pico do efeito analgésico de morfina e a maior redução de limiar alérgico pela naloxona em consonância com níveis mais elevados de opióides endógenos centrais na fase escura do roedor^{6,7}. Também drogas depressoras do SNC como barbitúricos e benzodiazepínicos podem apresentar maior atividade hipnótica e toxicidade na fase clara do roedor⁸⁻¹⁰. Recentemente, Sousa e col demonstraram que o tempo de sono induzido pelo anestésico endovenoso metileugenol em ratos aumentava significativamente às 8:00, 12:00 e 16:00 h em relação à fase de atividade do animal (20:00, 0:00 e 4:00h)¹¹. Resultado análogo foi obtido por Fukami e col (1980) *in anima nobile* com o anestésico inalatório halotano (maior potência noturna)¹².

O propofol é um derivado fenólico (2,6-diisopropilfenol) altamente hidrofóbico em pH neutro, quando emulsificado em lecitina de ovo, óleo de soja e glicerol a uma temperatura de 25°C¹³⁻¹⁶. Trata-se de um anestésico venoso, cuja vantagem na prática anestésica é a indução suave, hipnose de duração curta com rápida recuperação da consciência, além de ausência de "ressaca" comum a barbituratos e benzodiazepínicos. Além de sua indicação precípua para anestesia ambulatorial, o propofol vem sendo utilizado em doses subhipnóticas no controle do prurido no uso espinhal de opiáceo e como anti-emético¹⁷⁻¹⁸.

* Trabalho realizado no Núcleo de Psicobiologia - CB - Departamento de Fisiologia - Universidade Federal do Rio Grande do Norte

1 Instrutor do CET Natal

2 Prof de Fisiologia da UFRN

3 Prof de Psicobiologia da UFRN

4 Prof de Farmacologia da UFRN e Co-Responsável do CET Natal

Correspondência para Nilton B do Vale
Av Getúlio Vargas 550 Ap 201 (Petrópolis)
59012-360 Natal - RN

Apresentado em 19 de março de 1992
Aceito para publicação em 02 de julho de 1992

© 1992, Sociedade Brasileira de Anestesiologia

No presente trabalho procuramos demonstrar eventual variação circadiana do efeito hipnótico-sedativo do propofol, quando administrados em quatro diferentes horários no decorrer das 24 horas do dia.

METODOLOGIA

Cento e quarenta camundongos albinos, machos adultos (20 animais por gaiola), de 30 a 40 g foram mantidos sob um ciclo claro-escuro (C/E) de 12 h (luzes acesas entre 6:00 e 18:00 h), a uma temperatura de $23 \pm 2^\circ\text{C}$, com água e ração *ad libitum*, pelo menos 2 semanas antes dos experimentos.

Após o período adaptativo ao ciclo C/E, o estudo foi orientado em duas fases: na primeira, quatro lotes de 10 animais foram injetados por via intraperitoneal (ip) com propofol a 1% com quatro doses crescentes (90, 100, 120, 150 mg/kg) no sentido de se estabelecer uma curva dose/resposta para seu efeito hipnótico-sedativo à tarde. A abolição do reflexo postural do animal (indução ao sono) foi quantificada em pontos observados na curva dose-resposta¹⁹ (Fig. 1). Na segunda etapa, após o mesmo período de adaptação, 5 grupos de 10 animais mantidos em gaiolas individuais após a pesagem foram injetados ip com a dose hipnótica 50% (DH50 - 112 mg/kg) do propofol nos

seguintes horários: 12:00, 18:00, 24:00, 06:00 e 12h. Outros cinco grupos de 10 animais receberam pela mesma via a DH80 (135 mg/kg) do agente nos mesmos horários. No experimento à meia-noite, o laboratório foi mantido sob iluminação exclusiva de luz vermelha (15w). O tempo de indução hipnótica (intervalo de tempo entre a injeção e a perda do reflexo postural) e o tempo de sono (tempo decorrido entre a perda e a recuperação espontânea da postura) foram cronometrados em segundos.

As curvas dose-resposta foram analisadas pelo método simplificado de Litchfield-Wilcoxon (1949)¹⁹. Para as medidas intervalares, empregou-se o teste "t" de Student, estabelecendo-se a significância de probabilidade menor que 5% unicaudal em todas as comparações. O método Cosinor foi empregado para analisar a ritmicidade dos dados ($p < 0,05$)^{1,20}.

RESULTADOS

A figura 1 mostra a freqüência (%) de perda do reflexo postural pelos camundongos após a injeção ip das três maiores doses de propofol, estabelecendo-se graficamente a dose hipnótica de 50% (DH 50) e a de 80% (DH80). Os dados anotados sobre o tempo de sono e latência estão apresentados nas

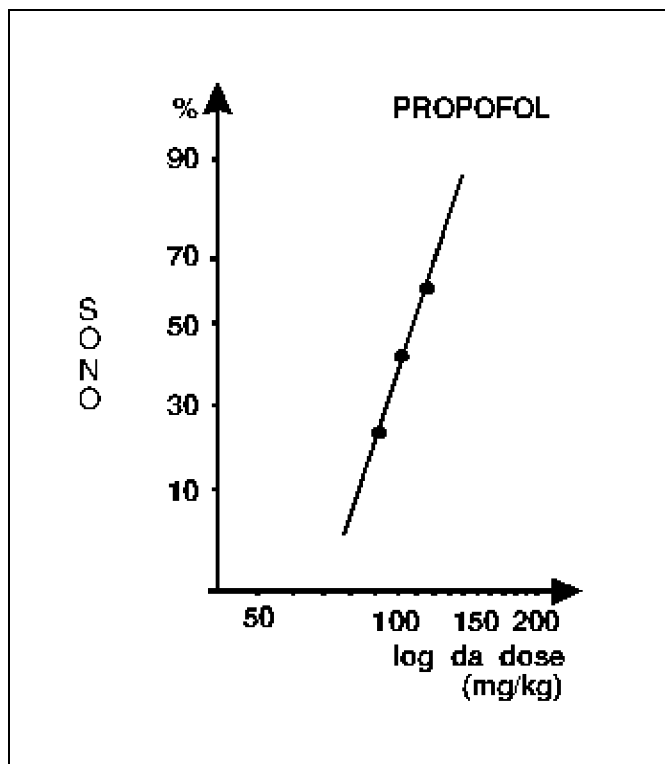


Fig 1 - Curvas dose-resposta para atividade hipnótica do propofol. Na abscissa estão representadas, em escala logarítmica, as doses em mg.kg^{-1} do propofol, e na ordenada, as percentagens de animais que perderam o reflexo postural.

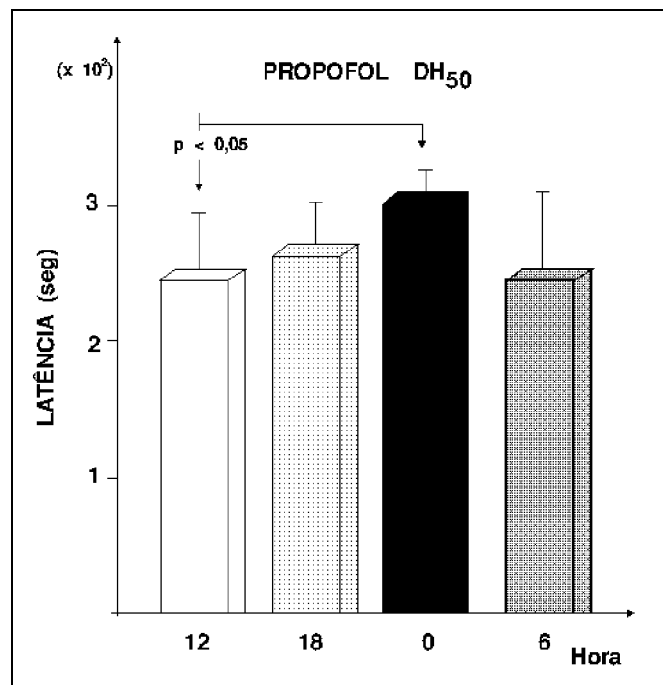


Fig 2 - Variação circadiana do tempo de indução hipnótica do propofol (DH 50) em camundongos (mais lenta à meia-noite). A barra clara corresponde ao período claro (repouso) e a preta à fase escura (atividade). Os dados correspondem à média \pm desvio-padrão para 10 animais.

* = $p < 0,05$ (teste "t" Student).

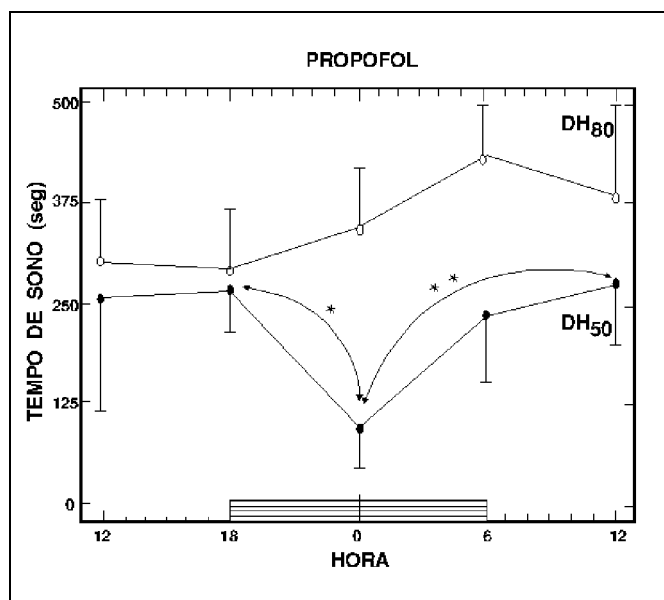


Fig 3 - Variação circadiana do tempo de sono das DH 50 e DH 85 do propofol. Os dados representados correspondem à média (\pm erro-padrão) de lote com 10 animais.

* $p < 0,05$;

** $p < 0,025$ (teste "t" de Student).

figuras 2 e 3, respectivamente. Com a DH50, ficou demonstrado que à meia-noite (período de atividade) o tempo de sono foi mais curto ($92,7 \pm 53,1$ s) em relação à duração de $269,1 \pm 53,1$ s da hipnose às 18 horas ($p < 0,05$) e também quando comparado ao sono do meio-dia (repouso): $240 \pm 90,2$ s ($p < 0,025$; teste "t" de Student). No entanto, a análise pelo teste Cosinor não encontrou ritmicidade na variação observada. A dose mais alta do propofol (DH 80) não determinou significativa variação circadiana no tempo de sono ou na latência hipnótica do agente (Fig. 2). O tempo de latência de sono na fase de atividade - meia-noite - da DH 50 do propofol foi mais lento (298 ± 35 s) quando comparado ao tempo cronometrado ao meio-dia (período de repouso - fase clara): 251 ± 44 s ($p < 0,05$; teste "t" de Student) (Fig. 3).

DISCUSSÃO

A medida mais comum do efeito sedativo ou hipnótico das drogas depressoras do SNC é representada pela duração do tempo de sono do roedor (intervalo entre a perda do reflexo postural e sua recuperação) ou pela latência do início do sono^{8,13,21-23}. Os resultados demonstram um conceito cronofarmacológico básico de que ritmos endógenos influenciam a resposta final do psicofármaco, pois o efeito hipnótico do propofol apresentou significativa variação circadiana, quando administrado em doses

menos próximas a níveis tóxicos (DH 50): na fase clara (repouso) observou-se uma latência mais curta e uma maior duração do tempo de sono ("sleeping time") ao meio-dia estatisticamente significativa. Maior atividade hipnótica na fase de sono do animal também foi detectada para outras drogas depressoras, como hipnóticos, sedativos e anestésicos⁸⁻¹². Todos estes estudos demonstram que drogas depressoras do SNC (agonistas e antagonistas) podem produzir um tempo de sono potencialmente dotado de variação ou ritmicidade circadiana.

Como o propofol se destina principalmente para anestesia ambulatorial ou venosa total sem poluição da sala operatória, vários fatores que podem modificar a ação e efeito anestésico devem ser considerados^{15,23,24}. É reconhecido que os fármacos lipossolúveis podem ter seu efeito final modificado por fatores ligados ao próprio medicamento (pka, solubilidade, etc), ao ambiente (temperatura, estresse etc), ao indivíduo ou animal (espécie, idade, sexo, entre outros) e ao anestesiológico. Os dados obtidos com a latência e duração da hipnose do propofol sugerem que também devem ser levados em conta a ordem temporal interna (marcapasso hipotalâmico) e a hora do dia ("zeitgeber"). Reinberg e Smolensky (1983) sugerem que a variação circadiana que ocorre no SNC e também na excitabilidade neuromuscular pode ser responsável por variações no efeito de drogas anestésicas¹. Assim, já se observou no homem sincronizado (trabalho diurno e repouso noturno) maior potência noturna do halotano; analogamente, o efeito curariforme do brometo de pancurônio no rato foi mais intenso às 8:00 h (fase de repouso), correspondendo a uma maior fadiga muscular^{12,25}. Como o propofol exerce efeitos mínimos sobre a função hepática e a fase de eliminação rápida (meia-vida de 34 a 64 min) representa o metabolismo hepático, possivelmente a rápida recuperação postural do animal esteja relacionada com a redistribuição do propofol^{15,16}. Nossos resultados com doses mais altas do alquiflenol não demonstraram diferenças significativas entre si, quanto à latência e duração da hipnose. (vide fig 2). Provavelmente, doses maiores tornam mais evidentes efeitos relacionados com toxicidade central ou maior profundidade de plano anestésico, sendo capazes de mascarar o sistema multioscilar central que funciona como marcapasso da ritmicidade circadiana, responsável pela manutenção da ordem temporal interna¹⁻³. Outros fatores podem estar relacionados com o provável aumento de potência do propofol na anestesia noturna no homem, além da interação eventual com outras drogas depressoras do SNC utilizadas na anestesia em um plantão no-

o sono natural do paciente sincronizado, pode potencializar o efeito final dos hipnóticos^{1,3}. No sistema cardiovascular (SCV), como a diminuição da pressão arterial sistêmica (30%) do propofol decorre mais de sua ação vasodilatadora periférica do que da diminuição do débito cardíaco, pode haver um sinergismo decorrente da natural redução cronostésica dos níveis tensionais durante a madrugada, inclusive justificando redução de dose na indução e manutenção da anestesia da madrugada^{3,16,26,27}.

Recentemente, Frenkel e Urban (1991), demonstraram pela técnica de "voltage clamp" que o efeito hipnótico do propofol ocorria principalmente no tempo de abertura dos canais de sódio voltagem - independente na córtex do cérebro humano, semelhante ao que ocorre com o pentobarbital²⁸. Nossos resultados de hipnose farmacológica não diferem dos obtidos por outros pesquisadores em ratos e camundongos^{8,9,21,22}. Diferentemente, os anestésicos locais que bloqueiam os canais de sódio voltagem e frequência - dependentes têm sua maior atividade analgésica e tóxica na fase de atividade do animal: maior mortalidade noturna (20:00 h) da bupivacaína no camundongo e maior efeito da anestesia infiltrativa com lidocaína às 16 horas no homem^{29,30}.

Características cronofarmacológicas dos anestésicos e modificações cronostésicas de membranas e receptores cerebrais intra e inter-espécies, representam uma das razões limitantes que não permite generalização direta dos achados laboratoriais para o homem. Assim, novos trabalhos devem ser realizados *in anima nobile* no sentido de configurar clinicamente a ritmicidade ou a variação circadiana do efeito anestésico do propofol. A variabilidade da atividade sedativa-hipnótica em torno das 24 horas demonstrada por nossos resultados ressaltam que, além do controle do trinômio paciente-droga-ambiente, para se obter o efeito hipnótico desejado com efeitos colaterais reduzidos, o propofol deve ser ministrado valorizando o ciclo sono/vigília do paciente. Entre os fatores capazes de modificar o efeito final do anestésico, passa a ser relevante a variação circadiana observada decorrente de alterações rítmicas na cronostesia do SNC e SCV, como também de modificações cronocinéticas e cronérgicas do propofol.

Magalhães Filho E, Menezes AAL, Capriglione Márcio, Vale NB - Variação Circadiana do Efeito Hipnótico do Propofol em Camundongos

Camundongos sincronizados em ciclo claro/escuro de 12 h (repouso e atividade, respectivamente) foram submetidos a injeção intraperitoneal de propofol a 1% no sentido de avaliar a curva dose/resposta para seu efeito hipnótico com doses crescentes (método de Litchifield-Wilcoxon), bem como sua eventual variação circadiana. Os resultados demonstraram que a dose hipnótica 50% (DH50) do agente proporcionou menor latência hipnótica na administração ao meio-dia (fase de repouso) em relação à meia-noite (fase de atividade); também a perda do reflexo postural à meia-noite foi mais curta em relação às 18 horas e ao meio-dia (teste "t" de Student). Não se observou variação circadiana do efeito hipnótico para a DH80. Embora o teste Cosinor não tenha demonstrado ritmicidade, ficou evidente a existência de uma variação circadiana da ação hipnótica do propofol no animal (maior atividade no período de repouso).

UNITERMOS: ANIMAL: camundongo;
CRONOFARMACOLOGIA; TÉCNICA ANESTÉSICA, Venosa: propofol

Magalhães Filho E, Menezes AAL, Capriglione Márcio, Vale NB - Variación Circadiana Del Efecto Hipnótico Del Propofol en Cobayas

Cobayas sincronizadas en ciclo claro/oscuro de 12 hs (reposo y actividad respectivamente) fueron sometidas a inyección intraperitoneal de propofol al 1% en el sentido de evaluar la curva dosis/respuesta para su efecto hipnótico con dosis crescentes (método de Litchifield-Wilcoxon), así como su eventual variación circadiana. Los resultados demostraron que la dosis hipnótica 50% (DH50) del agente proporcionó menor latencia hipnótica en la administración al medio día (fase de reposo) en relación a la media noche (fase de actividad); también la pérdida de reflejo postural en la media noche fue más corta que la de las 18 horas y que la del medio día (Prueba "t" de Student). No se observó variación circadiana del efecto hipnótico para la DH 80. Aunque la prueba Cosinor no haya demostrado ritmicidad, quedó evidente la existencia de una variación circadiana de la acción hipnótica del propofol en el animal (mayor actividad en el período de reposo).

REFERÊNCIAS

01. Reinberg A, Smolensky MH - Biological Rhythms in Medicine, Springer-Verlag, N York, 1983.
02. Reinberg AE, Labrecque G, Smolensky MH - Chronobiologie et Chronothérapie. Médecine-Sciences Flammarion, Paris, 1991.
03. Vale NB, Menezes AL, Capriglione M - Cronofarmacologia e anestesiologia, Rev Bras Anest, 1990; 40: 29-37.
04. Haus E, Halberg F - 24-rhythm in susceptibility of C mice to a toxic dose of ethanol. J Appl Physiol, 1959; 14: 878-880.
05. Reinberg A, Clench J, Aymard N et al - Variations circadiennes des effets de l'éthanol et de l'éthanolémie chez l'homme adulte sain. J Physiol, (Paris), 1975; 70: 435-456.
06. Morris RW, Lutsch EF - Daily susceptibility to morphine-induced analgesia in mice. Nature, 1967; 216: 493-494.
07. Frederickson RCA, Burgis V, Edwards JD - Hyperalgesia induced by naloxone follows diurnal rhythm in responsiveness to painful stimuli. Science, 1977; 198: 756-758.
08. Scheving LE, Vedral DF, Pauly JE - A circadian susceptibility rhythm in rats to pentobarbital sodium. Anesth Rec, 1968; 160: 741-750.
09. Nair V, Casper R - The influence of light on daily rhythm in hepatic drug metabolizing enzymes in rat. Life Sci, 1969; 8: 1291-1298.
10. Ross FR, Sermons AL, Owasoyo JO, Walker CA - Circadian variation of diazepam acute toxicity in mice. Experientia, 1981; 37: 72-73.
11. Sousa MBC, Ximenes MFFM, Mota MTS, Moreira LFS, Menezes AAL - Circadian variation of methyleugenol anesthesia in albino rats. Brazilian J Med Biol Res, 1990; 23: 423-425.
12. Fukami N, Kotani T, Shimoji K, Motiaka T, Isa T - Circadian rhythm and anesthesia. Jpn J Anesthesiol, 1980; 19: 1235-1240.
13. Glen JB, Hunter SC - Pharmacology of an emulsion formulation of ICI 35868. Br J Anaesth, 1984; 56: 617-625.
14. James R, Glen JB - Synthesis, biological evaluation, and preliminary structure-activity considerations of a series of alkylphenols as intravenous anaesthetic agents. J Med Chem, 1980; 23: 1350-1357.
15. Fragen RJ, Hanssen EHJH, Denissen PAF, Booji LHDJ, Crul JF - Disopropofol (ICI 35868) for total intravenous anaesthesia. Acta Anaesthesiol Scand, 1983; 27: 113-116.
16. Chocksoot ID, Briggs LP, Douglas EJ - Pharmacodynamics of propofol in female patients. Br J Anaesth, 1985; 57: 822-824.
17. Borgeat A, Wildersmith OHG, Saiah M, Rifat K - Subhypnotic doses of propofol relieve pruritus induced by epidural and intrathecal morphine. Anesthesiology, 1992; 76: 510-512.
18. Borgeat A, Wildersmith OHG, Saiah M, Rifat K - Subhypnotic doses of propofol possess direct antiemetic properties. Anesth Analg, 1992; 74: 539-541.
19. Litchfield JR, Wilcoxon F - A simplified method of evaluating dose-effects experiments. J Pharmacol Exp Ther, 1949; 96: 99-133.
20. Siegel S - Estatística não-paramétrica. Ed McGraw Hill do Brasil, S. Paulo, 1975.
21. Davis VW - Day-night periodicity in pentobarbital response to mice and influence of socio-psychological conditions. Experientia, 1962; 18: 235-237.
22. Simmons DJ, Lester PA, Sherman NE - Induction of sodium pentobarbital anaesthesia: a circadian rhythm. J Interdiscipl Cycle Res, 1974; 5,71.
23. Redfern PH, Moser PC - Factors affecting circadian variation in responses to psychotropic drugs. Ann Rev Chronopharmacol, 1998; 4: 107-136.
24. Vale NBV, Vale LFB - Osciladores e sincronizadores na anestesia local. Rev Bras Anest, 1990; 40: 39-47.
25. Bouyard P, Bruguerolle B, Jadot B, Mesdjian G, Valli M - Mise en évidence d'un rythme nyctémeral dans le phénomène de la curarization chez le rat. CR soc biol, 1974; 168: 1006-1007.
26. Millar-Craig MW, Bishop CN, Raftery EB - Circadian variation of blood pressure. Lancet, 1978; 20: 795-797.
27. Monk RC, Coates DP, Prys-Roberts C, Turtle MJ, Spelina K - Haemodynamic effects of a prolonged infusion of propofol as a supplement to nitrous oxide anaesthesia. Br J Anaesth, 1987; 59: 954-960.
28. Frenkel C, Urban BW - Human brain sodium channels as one of the molecular target sites for new intravenous anaesthetic propofol (2,6-diisopropylphenol). Eur J Pharmacol, 1991; 208: 75-79.
29. Reinberg A, Reinberg MA - Circadian changes of the duration of action of local anaesthetics agents. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol, 1977; 297: 149-152.
30. Vale NB, Vale LFB - Variação circadiana das atividades convulsivante e anticonvulsivante das amidas anestésicas locais. Rev Bras Anest, 1986; 36: 365-362.