

Hélio C. Salgado \*  
Edson Dias Moreira \*\*  
Eduardo M. Krieger \*\*\*

## EFEITOS DO VERAPAMIL SOBRE O MECANISMO REFLEXO DE REGULAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL

*Foi estudado o efeito do verapamil sobre os mecanismos de regulação reflexa da pressão arterial no rato. No teste de oclusão das carótidas comuns, realizado no rato acordado, a infusão por 15 minutos do verapamil (200 µg/kg/min) provocou depressão de intensidade comparável na pressão arterial controle e nas respostas reflexas. Uma hora após a suspensão da substância, a pressão arterial continuava ligeiramente deprimida nas o reflexo de oclusão já se recuperava totalmente. A infusão de nitroprussiato de sódio (4 µg/kg/min) provocou queda da pressão arterial e do reflexo apenas durante a administração da substância, com imediata recuperação das variáveis cardiovasculares analisadas. No estudo da faixa de funcionamento dos pressorreceptores aórticos realizado no rato anestesiado através de eletroneuronografia, o verapamil (100 µg/kg/min) produziu um deslocamento intenso (30% no limiar de descarga após uma hipotensão discreta, com duração de 10 minutos).*

*Os resultados indicam que o verapamil acelera o processo de adaptação dos pressorreceptores à hipotensão.*

Os antagonistas do cálcio interferem no processo de acoplamento excitação-contração do miocárdio e do músculo liso dos vasos provocando efeitos antiarrítmicos de dilatação das coronárias e de vasodilatação sistêmica (Fleckenstein, 1977<sup>1</sup>). Uma dessas substâncias, o verapamil \*, vem sendo utilizada também como agente anti-hipertensor <sup>2-4</sup> porque reduz a resistência periférica associada em grau variável à diminuição do desempenho ventriculares <sup>7</sup>. Além desses efeitos, uma das experiências clínicas <sup>8</sup> sugeriu a possibilidade de o verapamil atuar nos mecanismos de regulação da pressão arterial. Observações feitas "in vivo" com os pressorreceptores aórticos de rato <sup>9</sup> e estudos do reflexo do seio carotídeo no gato anestesiado <sup>10</sup> mostraram que as alterações na concentração de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>++</sup> e também do Ca<sup>++</sup> no seu tema de perfusão modificam o funcionamento destas preparações.

O objetivo do presente trabalho é verificar se o antagonismo exercido pelo verapamil sobre o Ca<sup>++</sup> produz alterações na regulação reflexa da pressão arterial do rato. Os efeitos da infusão do verapamil foram estudados em duas preparações: no reflexo provocado pela oclusão das

carótidas comuns no rato acordado, e na faixa de funcionamento dos pressorreceptores aórticos, analisada pela eletroneuronografia, no rato anestesiado.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados ratos Wistar, machos ou fêmeas, com peso na faixa de 250 a 300g. A anestesia pelo éter foi empregada para a implantação de cateteres arteriais e venosos e também para a implantação dos oclusores nas carótidas. O pentobarbital sódico (Nembutal, Abbot) foi utilizado na dose de 40 mg/kg para os estudos da atividade eletroneurográfica dos pressorreceptores aórticos do rato. O registro da pressão arterial no rato acordado foi feito através de um cateter de polietileno (PE-10) implantado na femoral e conectado a um polietileno (PE-50) exteriorizado no dorso, por via subcutânea; os pulsos arteriais recolhidos por um transdutor Statham P23-Db foram registrados em um polígrafo térmico de 4 canais (Hewlett-Packard, 7754-A). A pressão arterial média foi registrada simultaneamente em 2 canais, através de pré-amplificadores Hewlett-Packard (8805 B), sendo um primeiro com escala normal e um segundo com escala expandida.

\* Dilacoron ®, Knoll S/A Prod. Químicos e Farmacêuticos

## RESULTADOS

A infusão das substâncias foi feita por uma bomba de perfusão (ICB-USP) através de um cateter de polietileno (PE-10 conectado a um P 50) implantado na veia femoral e exteriorizado no dorso do animal.

A implantação e preparação dos oclusores para as carótidas comuns foi feita através de técnica desenvolvida em nosso laboratório<sup>11,12</sup>. A implantação é feita sob anestesia do éter, através de uma incisão mediana anterior e subsequente divulsão da musculatura pré-traqueal para o isolamento de ambas as carótidas. Os oclusores são fixados ao redor dos vasos por meio de laços com fios de sutura. O preparo do oclusor é feito com um tubo de polietileno (PE50) com 5 cm de comprimento, cujas extremidades são dilatadas por aproximação ao calor. Um segundo tubo (PE 320) de 7 mm de comprimento, também dilatado nas extremidades e selecionado longitudinalmente, é perfurado com uma agulha hipodérmica (18 x 30) no centro da parede oposta à fenda. Uma membrana de borracha (tubo de Penrose) é fixada firmemente na extremidade do PE-50, formando um diafragma distensível que veda facilmente a luz do tubo quando preenchido por solução fisiológica sob pressão. A seguir, encaixa-se a extremidade do PE-50 vedada pela membrana de borracha no orifício do PE-320, completando-se assim o oclusor. Um segundo oclusor é implantado na outra carótida, sendo ambos exteriorizados na região dorso-cervical do animal e interligados através de um Y de metal ou plástico, o que permite exercer pressão simultânea em ambos.

O registro da atividade dos pressorreceptores foi feito de acordo com a técnica usada regularmente no laboratório para estudo dos pressorreceptores aórticos do rato<sup>10,11</sup>. Inicialmente, isolam-se as fibras dos pressorreceptores que trafegam junto à cadeia simpática cervical, ou junto ao nervo laringeo inferior, no animal anestesiado com pentobarbital sódico. Após a intubação da traquéia com um tubo PE-240, as fibras dos pressorreceptores aórticos são identificadas por um microscópio com ampliação de 16 vezes e um sistema de som acoplado ao sistema de registro. Os eletrodos são feitos de aço inoxidável e os sinais recolhidos vão a um pré-amplificador diferencial (Gras-PI5) acoplado a um filtro "passa-faixa" (RFM) com frequência de corte de 500 Hz e 2 kHz, de onde vão para o osciloscópio (Tektronix 502-A). A imagem do osciloscópio é registrada através de uma câmara quimográfica (Grass-C4R) em papel fotográfico (Kodak, Kinch 1732).

Substâncias utilizadas: 1) verapamil em doses de 200 µg/kg/min, i.v., nos experimentos com animais acordados e 100 µg/kg/min, i.v., nos animais anestesiados; 2) nitroprussiato de sódio na dose de 4 µg/kg/min, i.v.

A análise estatística dos resultados foi feita utilizando os testes t de Student, simples nas comparações entre grupos e separados quando os animais eram controles de si mesmos<sup>13</sup>. Os resultados são apresentados como média erro padrão da média e os resultados foram considerados significantes para  $p < 0,05$ .

### 1 - Efeitos do verapamil e do nitroprussiato de sódio sobre a pressão arterial de rato acordados

- As respostas da pressão arterial média dos 10 animais acordados, à infusão de verapamil e nitroprussiato de sódio, encontram-se na figura 1, que mostra as variações percentuais em relação aos respectivos controles tomados como 100%. Observa-se que, durante a infusão do verapamil, houve queda significativa de 9% da pressão média (de 120 t 2 para 109: 5 mmHg) e que 10 min após a infusão a queda ainda se mantinha em torno de 10% (de 120 -t 2 para 108 -t 3 mmHg); aos 30 e 60 min após a infusão, nota-se recuperação parcial da pressão média para cerca de 95% do valor-controle (114 ± 2 mm Hg), sendo a diferença de 5% ainda significativa.

A infusão do nitroprussiato de sódio produziu uma queda significativa da pressão média semelhante à obtida com o verapamil, com valor de aproximadamente 11% (120 ± 1 para 107 ± 2 mmHg). Contrariamente ao que ocorreu com o verapamil, cerca de 10 minutos após o término da infusão do nitroprussiato de sódio havia uma recuperação completa da pressão para os níveis controles.

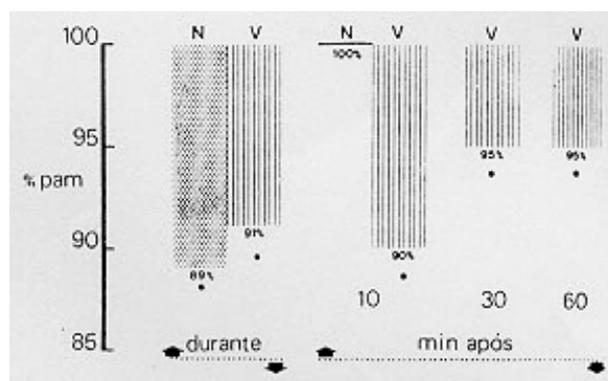


Fig. 1- Variações percentuais da pressão arterial média (PAM) de ratos acordados durante a infusão de verapamil (V) na dose de 200 µg/kg/min, i.v. e de nitroprussiato de sódio (N), na dose de 4 µg/kg/min, i.v. Valores da PAM controle são tomados como 100%. Asterisco (\*) representa diferença significativa para  $P < 0,05$ . (N + 10 ratos).

### 2- Efeitos do verapamil e do nitroprussiato de sódio sobre as respostas de oclusão das carótidas em animais acordados

- A figura 2 ilustra o tipo de resposta da pressão arterial provocada pela oclusão bilateral da carótida comum em rato acordado. O tempo de oclusão variou de 5 a 60 segundos, notando-se que o teste de oclusão com duração de 20s (TO<sub>20s</sub>) já apresentava a resposta hipertensora máxima<sup>20s</sup>, o que determinou que se padronizasse esse tempo para analisar as alterações provocadas pela infusão das substâncias.

As alterações provocadas pelo verapamil e pelo nitroprussiato de sódio encontram-se na figura 3, onde as respostas da pressão arterial à oclusão são apresentadas como variações percentuais da pressão controle. Durante a infusão do verapamil, o TO<sub>20s</sub> que era de 35%, no período controle caiu significativamente para 20% (resposta da pressão média de 22 ± 2 mm Hg), permanecendo praticamente inaltera-

do em cerca de 24% ( $26 \pm 4$  mmHg) aos 10 minutos após a infusão. Aos 30 min após a infusão, havia uma recuperação do teste para o valor de 30% ( $34 \pm 3$  mmHg) significativamente abaixo do valor controle (35%); 60 min após a infusão, o  $TO_{20s}$ , voltou praticamente aos níveis normais, apresentando um valor 33% ( $38 \pm 4$  mmHg) que não diferia significativamente do encontrado no período controle.

A redução de 35% para 23% ( $42 \pm 2$  para  $25 \pm 3$  mmHg) produzida pela infusão de nitroprussiato no  $TO_{20s}$  foi semelhante à verificada com o verapamil; no entanto, 10 minutos depois de ser suspensa a infusão, o teste já se havia normalizado, alcançando níveis de 32% ( $38 \pm 3$  mmHg).

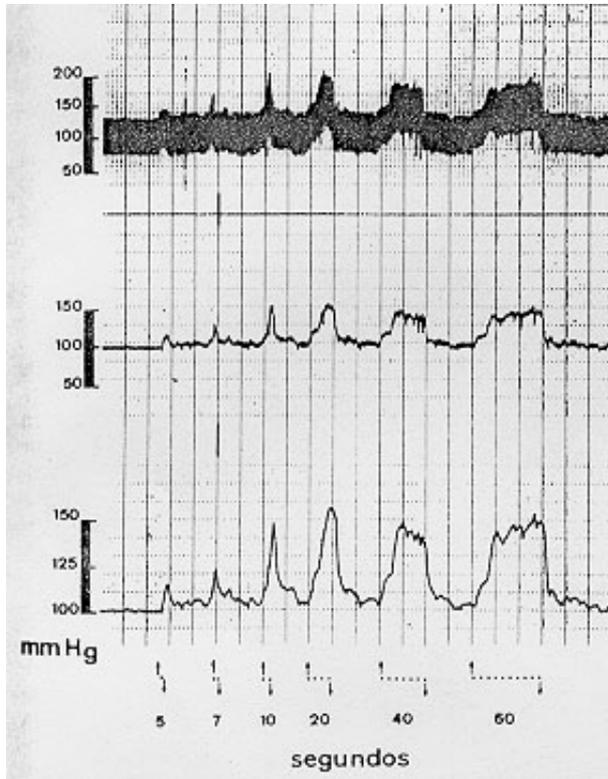


Fig. 2- Respostas da pressão arterial (mm Hg) de um rato acordado à oclusão bilateral das carótidas comuns durante períodos de 5, 7, 10, 20, 40 e 60 segundos. Pressão pulsátil (traçado superior), pressão média (traçado intermediário) e pressão média expandida (traçado inferior).

**3. Efeitos do verapamil sobre o limiar de descarga dos pressorreceptores aórticos** - A figura 4 ilustra o deslocamento na faixa de funcionamento dos pressorreceptores aórticos para níveis de hipotensão provocada pela infusão de verapamil ( $100 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{i.v.}$ ) com duração de apenas 15 minutos e que produziu uma queda na pressão arterial de 123 para 93 mmHg. Nota-se que houve diminuição de cerca de 30% nos valores de pressão arterial que provocam a descarga normal dos pressorreceptores e também nos valores de pressão responsáveis pela descarga limiar. Esse último índice, de acordo com trabalhos anteriores<sup>16,18</sup>, é o indicador mais seguro para a análise dos deslocamentos da faixa de funcionamento dos pressorreceptores como um todo.

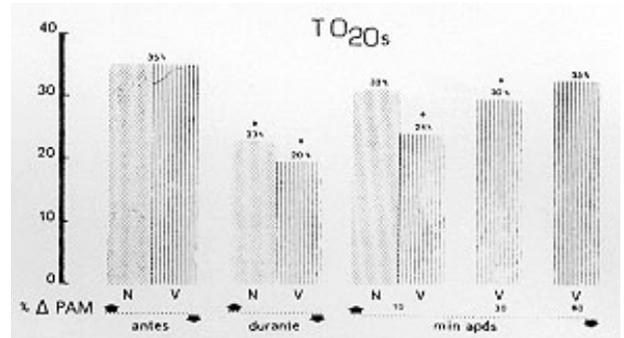


Fig. 3- Variações percentuais da pressão arterial média (PAM) de ratos acordados, em resposta ao teste de oclusão das carótidas com duração de 20 segundos ( $TO_{20s}$ ), nos períodos controle (antes), durante, e 10 a 60 minutos após a infusão i.v. de verapamil (V), na dose de  $200 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  de nitroprussiato de sódio (N) na dose de  $4 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ . Valores da PAM controle são tomados como 100%. Asterisco (\*) representa diferença significativa para  $P < 0,05$ . (N = 10 ratos).

Os resultados da evolução da pressão pulsátil dos 8 animais que receberam verapamil, juntamente com os valores de pressão arterial que provocam as descargas limiarias dos pressorreceptores, aparecem na figura 5. No período-controle havia concordância entre a pressão sistólica de  $109 \pm 6$  mmHg que determinava os limiarias de descarga e a pressão diastólica de  $107 \pm 4$  mmHg mantida pelos animais. Juntamente com a queda de pressão provocada pelo verapamil de  $142 \pm 3/107 \pm 4$  para  $78/81 \pm 3$  mmHg, houve também um grande deslocamento das faixas para os níveis de hipotensão.

Nota-se adaptação quase completa dos pressorreceptores aos novos níveis de pressão arterial, não havendo diferença significativa entre a pressão arterial sistólica ( $90 \pm 7$  mmHg) responsável pelas descargas limiarias e a pressão arterial diastólica ( $81 \pm 3$  mmHg) registrada nos ratos.

## DISCUSSÃO

Em trabalho anterior<sup>16</sup>, foi verificado que uma hipotensão severa provocada por hemorragia controlada no rato,

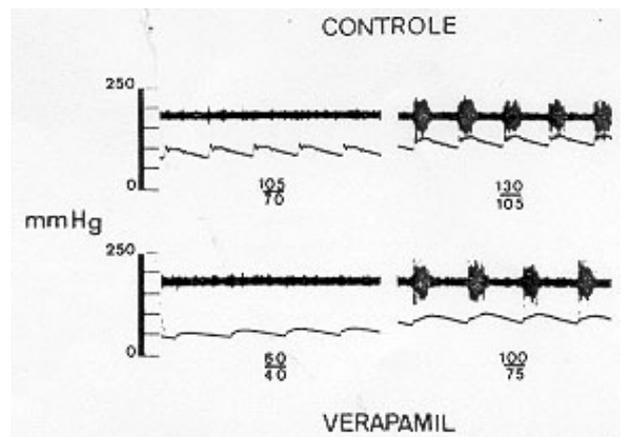


Fig. 4- Registro da pressão arterial na carótida (mm Hg) e dos potenciais de ação dos pressorreceptores aórticos de um rato anestesiado com nembital ( $40 \text{ mg}/\text{kg}/\text{i.p.}$ ) nos períodos controle e após a infusão de verapamil ( $100 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ , i.v.) durante 15 minutos. Nos painéis da esquerda estão as pressões arteriais que iniciam as atividades dos pressorreceptores (limiar de descarga) e nos painéis da direita valores de pressão arterial que produzem um padrão "normal" de descarga.

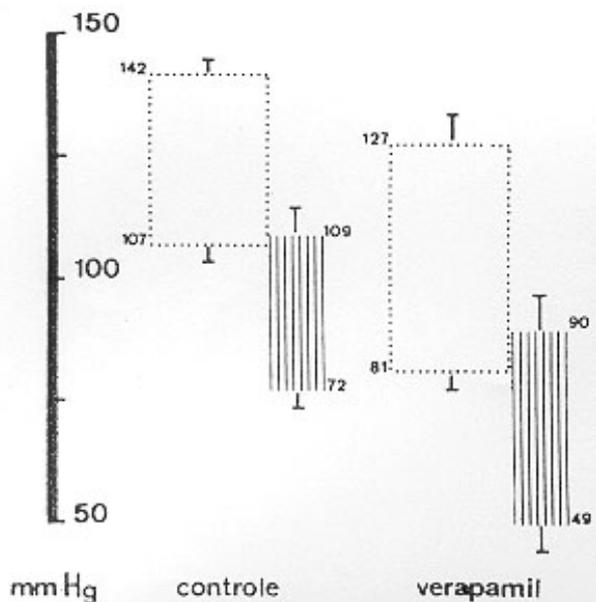


Fig. 5- Valores em mm Hg da pressão arterial pulsátil (linhas pontilhadas) e da pressão que produz as descargas limiáres (barras) dos pressorreceptores aórticos de um grupo (N = 8) de ratos anestesiados com nembutal (40 mg/kg/i.p.) nos períodos de controle e após a infusão de verapamil (100 µg/kg/min) durante 15 minutos.

levando a pressão arterial média de valores de 120 mm Hg para níveis de 70 mm Hg, mantida durante 15 minutos, produzia um deslocamento de apenas 11% na pressão limiar de descarga dos pressorreceptores (de  $87 \pm 5$  para  $77 \pm 4$  mm Hg, de pressão média). Após 1 hora o deslocamento era de 16% e com 6 horas de hipotensão a queda na faixa de funcionamento dos pressorreceptores era de 26%, mas ainda não se verificava a adaptação completa para os níveis de hipotensão. Isso somente ocorria nas observações feitas após 48 horas de hipotensão mantida. O tempo requerido para a adaptação dos pressorreceptores à hipotensão coincidia com aquele verificado anteriormente, quando se instalava uma hipertensão<sup>15</sup>. Conseqüentemente, é necessário que uma alteração da pressão arterial persista por 1 a 2 dias para que se complete a adaptação dos pressorreceptores. No presente trabalho constatou-se que a hipotensão moderada provocada pelo verapamil (levando a pressão arterial média de 120 para 100 mm Hg), durante apenas 10 minutos, produziu uma diminuição apreciável (26%) na pressão que provoca o limiar de excitação dos pressorreceptores (de  $87 \pm 4$  para  $65 \pm 4$  mm Hg, de pressão média). Praticamente, houve uma adaptação completa dos receptores aos níveis de hipotensão. Isso sugere que o antagonismo ao  $Ca^{++}$  provocado pelo verapamil pode ter aumentado a sensibilidade dos pressorreceptores confirmando, em condições próximas das fisiológicas, o que já havia sido demonstrado "in vivo" quando a diminuição do  $Ca^{++}$  baixou o limiar de excitação de fibras do nervo aórtico do rato<sup>9</sup>. Esse mesmo grupo de pesquisadores<sup>10</sup> demonstrou que a diminuição do  $Ca^{++}$  no líquido de perfusão do selo carotídeo do gato anestesiado eleva a sensibilidade das respostas reflexas. O mecanismo íntimo pelo qual a queda do  $Ca^{++}$  atua poderia ser pela redução na tensão da musculatura lisa dos vasos que contêm

os pressorreceptores, alternando, assim, o acoplamento, parede-receptor; por outro lado a redução do  $Ca^{++}$  poderia também diminuir o limiar de descarga dos pressorreceptores<sup>9,10</sup>.

As infusões de verapamil e do nitroprussiato de sódio que produziram igual queda da pressão arterial no rato acordado determinam também depressão idêntica nas respostas reflexas da pressão arterial provocadas pela oclusão das carótidas. Tanto a pressão arterial como o reflexo voltaram prontamente ao normal quando foi suspensa a administração do nitroprussiato de sódio. Com o verapamil houve recuperação apenas parcial da pressão arterial, que ainda permanecia com pequena redução (5%), mas estatisticamente significativa, 1 hora após a infusão. Efeito semelhante foi visto no reflexo de oclusão, que apresentou recuperação parcial 30 minutos após a administração do verapamil voltando ao normal 1 hora após, quando a pressão arterial ainda se encontrava ligeiramente deprimida. Houve, conseqüentemente, boa correlação para as duas substâncias, entre o efeito hipotensor e a depressão verificada nas respostas reflexas de pressão arterial à oclusão das carótidas. Esse fato seria esperado, uma vez que na hipotensão, de maneira geral, há depressão do reflexo de oclusão das carótidas; sendo menor a estimulação sobre os pressorreceptores menor também será o contingente simpático que está sendo inibido e que será liberado pela oclusão<sup>17</sup>. O deslocamento mais rápido da faixa de funcionamento dos pressorreceptores para os níveis de hipotensão verificados pela eletroneuronografia faria com que a resposta reflexa fosse menos deprimida. Isso poderia explicar por que a resposta reflexa no rato acordado voltou ao normal 1 hora após a infusão do verapamil, embora persistissem os efeitos sobre a pressão arterial.

Verificou-se, anteriormente, que nas primeiras horas de normalização da pressão arterial em ratos com hipertensão crônica, os pressorreceptores ainda adaptados a operarem nos níveis de hipertensão<sup>18</sup> comandavam uma resposta reflexa do simpático que se opunha à queda de pressão<sup>19</sup>. Conseqüentemente, se o agente empregado como anti-hipertensivo, ao mesmo tempo acelerar a velocidade com que a faixa dos pressorreceptores acompanha a queda de pressão arterial, ele será mais efetivo como anti-hipertensivo, pois estará encurtando a duração e a intensidade de atuação reflexa do simpático que se opõe à normalização da pressão arterial. A partir das informações presentemente obtidas com a administração de verapamil no rato normotenso é interessante verificar se, de fato, ele acelera a readaptação dos pressorreceptores à normotensão quando aplicado em ratos com hipertensão crônica.

#### SUMMARY

The effect of verapamil on the mechanisms of reflex arterial pressure regulation of the rat was studied. In conscious animals, infusion of Verapamil (200 µg/kg/min) for 15 minutes depressed the arterial pressure and the reflex response of bilateral carotid occlusion to the same extent. One hour after the infusion, the arte-

rial pressure was slightly depressed, whereas the reflex response returned to normal. When sodium nitroprusside was infused ( $4 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) for the same period (15 minutes), both arterial pressure and reflex response to bilateral carotid occlusion were depressed, but only during infusion, i.e. the cardiovascular parameters became normal immediately after the cessation of administration of sodium nitroprusside. An electroneurographical study in anesthetized rats showed a marked (30%) downward displacement of the threshold pressure for baroreceptor activation after verapamil ( $100 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ ) administration for 15 minutes, which produced a mild hypotension. These data show that verapamil administration accelerates the baroreceptor resetting to hypotensive levels.

#### REFERÊNCIAS

1. Fleckenstein, A. - Specific pharmacology of calcium in myocardium, cardiac pacemakers and vascular smooth muscle. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 17: 149, 1977.
2. Fleckenstein, A.; Dwering, H. J.; Hammermeir, H. - Einfluss von Beta-Rezeptorenblockern und verwandten substanz auf Erregung, Kontraktion und Energiestoffwechsel der Myokardfaser. *Klin. Wochenscher*, 46: 343, 1968.
3. Diamant, L.; Pechosa, J.; Borges, G. G.; Gomes, G. M. - Tratamento da crise hipertensiva com verapamil. *Arq. Bras. Cardiol.* 25: 112, 1972.
4. Gushi, N.; Mateos, D. A. F.; Magaldi, J. B. - Uso clínico do verapamil nas crises hipertensivas. *Arq. Bras. Cardiol.* 29: 67, 1976.
5. Rydén, L.; Saet, H. - The hemodynamic effect of verapamil. *Europ. J. Clin. Pharmacol.* 3: 153, 1971.
6. Studart, P. C. C.; Amino, J. G. C.; Duarte, E. P.; Abrio, C.; Peixoto, E. S.; Villela, R. A.; Maia, I. G.; Brito, A. H. X.; Dohmann, H. J. F. - Ação hemodinâmica do verapamil na pré-carga, pós-carga e estado contrátil. Repercussão sobre a performance ventricular. *Arq. Bras. Cardiol.* 32: 273, 1979.
7. Ortiz, J.; Barreto, A. C. P.; Savioli, R. M.; Barbato, A. J. G.; Neto, M. P.; Monaco, C. A.; Del Nero, E. Jr.; Tranchesi, J.; Pillegi, F. - Ação do verapamil em dose única por via oral na hipertensão arterial. Avaliação pela ecocardiografia e fonomecanocardiografia. *Arq. Bras. Cardiol.* 32: 63, 1979.
8. Carrasco, R. M.; Ribeiro, L. C.; Luna, R. L. - O verapamil no tratamento da hipertensão grave e acelerada - potencialização de drogas hipotensoras e sensibilização dos pressorreceptores pela infusão seriada de verapamil. *Arq. Bras. Cardiol.* 32: 129, 1979.
9. Andresen, M. C.; Kuraoka, S.; Brown, A. M. - Individual and combined actions of calcium, sodium, and potassium ions on baroreceptors in the rat. *Circ. Res.* 45: 757, 1979.
10. Kunze, D. L. - Calcium and magnesium sensitivity of the carotid baroreceptor reflex in cats. *Circ. Res.* 45:815, 1979.
11. Maio, A. A.; Moreira, E. D.; Salgado, H. C.; Krieger, E. M. - Respostas cardiovasculares obtidas no rato acordado pela oclusão de artérias. Em: Resumos do Congresso Anual da Sociedade Brasileira de Fisiologia, Ribeirão Preto, SP, 1980, p. 82.
12. Moreira, E. D.; Krieger, E. M. - Oclusão bilateral das carótidas comuns em ratos acordados. Em: Resumos do 12.º Congresso Anual da Sociedade Brasileira de Fisiologia, Ribeirão Preto, sp, 1980, P. 83.
13. Dixon, W. J.; Massey, F. J. Jr. - The mean estimation and tests of hypotheses. In: *Introduction to statistical analysis*. MacGraw Hill, Book Co. New York. 1957, pp. 112-138.
14. Krieger, E. M.; Marseillan, R. F. - Neural control in experimental renal hypertension. The role of baroreceptor and splanchnic fibers. *Acts. Physiol. Latinoam.*, 26: 343, 1966.
15. Krieger, E. M. - Time course of baroreceptor resetting in acute hypertension. *Am. J. Physiol.* 218: 486. 1970.
16. Salgado, H. C.; Krieger, E. M. - Time course of baroreceptor resetting in short-term hypotension in the rat. *Am. J. Physiol.* 234: H552, 1978.
17. Krieger, E. M. - Integração cardiovascular. In Krieger, E. M. - *Fisiologia Cardiovascular*, Fundo Editorial Bik-Prociencx, São Paulo, 1976, pp. 346-369.
18. Salgado, H. C.; Krieger, E. M. - Reversibility of baroreceptor adaptation in chronic hypertension. *Clin. School. Med.* 45: 123s, 1973.
19. Krieger, E. M.; Brenes, J. R.; Salgado, H. C.; Assan, C. J.; Salgado, M. C. O. - Role of the baroreceptor reflex in the early phases after removing the renal artery constriction in conscious renal hypertensive rats. *Acta Physiol Latinoam.* 27: 49, 1977.