

ESTUDO DA AÇÃO DA NIFEDIPINA EM CORAÇÃO ISOLADO E VASOS

EGAS ARMELIN, MARLY APARECIDA DE OLIVEIRA, FANN MEEI LIY,
ROSE INAH NOGUEIRA DA SILVA, DELMONT BITTENCOURT, RADI
MACRUZ, ADIB JATENE, FULVIO PILEGGI

Para se avaliar a ação da nifedipina (Nif) sobre o miocárdio e vasos, realizaram-se 2 experimentos: a) Em preparações de coração isolado de ratos (N = 14), perfundido segundo a técnica de Langendorff, a contração cardíaca foi medida no ventrículo esquerdo (VE), pelo valor da pressão intraventricular. Os resultados da ação da Nif ($7,22 \times 10^{-8}$ M) em 8 preparações demonstraram que não houve variação significativa na pressão diastólica ventricular, enquanto que a pressão sistólica variou significativamente ($p < 0,05$), reduzindo a pressão de VE, 7 num valor porcentual de 68,9%. Nas 6 preparações restantes, investigou-se a curva de contratilidade, variando-se a pós-carga ventricular correspondente à altura da coluna de perfusão. b) Em preparações de veia safena humana (N = 4) e artéria femoral de cão (N = 3), contrações foram produzidas por noradrenalina: (NA) e KCl Na concentração de $2,9 \times 10^{-3}$ M, a Nif previamente incubada durante 15 min, diminuiu a contração de NA e KCl, em 75% e 65% respectivamente em veia safena humana e em 50% e 59% respectivamente em artéria femoral de cão. Em preparações de artéria coronária de cães (N = 3), o relaxamento produzido por NA e KCl aumentou em 23% e 20% respectivamente, após a ação de Nif.

Pode-se sugerir que a Nif tem efeito benéfico em algumas situações patológicas em que se deseja a diminuição da força do miocárdio, um aumento do seu fluxo e uma diminuição de pós-carga. Para se aplicar a droga clinicamente, deve-se ter em conta o balanço desses seus efeitos em seres humanos.

Vários trabalhos comprovam que a nifedipina possui ação inibitória no influxo de cálcio nas células do miocárdio e dos músculos vasculares, diminuindo a contratilidade do miocárdio e a resistência vascular^{1,3}. Entretanto, a sua ação sobre a contratilidade ventricular ainda não está totalmente elucidada, como se verifica através de trabalhos aparentemente controversos na literatura, que demonstram ação inotrópica positiva⁴ ou inotrópica negativa^{2,3}.

Com a finalidade de avaliar a ação da nifedipina sobre o sistema cardiovascular, realizaram-se 2 experimentos: coração isolado de rato, segundo a técnica de Langendorff e vasos isolados.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se 14 preparações de coração isolado de "Rattus norvegicus" de ambos os sexos, com peso médio de 200 g. Os animais foram sacrificados por golpe na cabeça e o coração rapidamente retirado. A preparação foi montada segundo a técnica de

Langendorff⁵, que consiste na perfusão retrógrada através da aorta.

O sistema de perfusão constituiu-se de um reservatório contendo a solução nutriente, aquecida por um sistema que manteve a temperatura a 37°C.

A solução utilizada foi de Krebs-Henseleit Buffer, composta por 120 mM de NaCl; 4,8 mM de KCl, 1,2 mM de CaCl₂; 1,2 mM de MgSO₄; 25 mM de NaHCO₃; 1,2 mM de KH₂PO₄ e 8 mM de glicose. O pH final da solução foi mantido em 7,4, borbulhando-se com 95% de O₂ e 5% de CO₂.

A contratilidade miocárdica foi avaliada por meio de um cateter introduzido no ventrículo esquerdo, (VE) através do átrio esquerdo, ligado a um transdutor de pressão (HP 1200). Essa variável, após amplificação adequada, foi registrada em um registrador gráfico (HP 680 M). Foram medidas a pressão sistólica (Ps), pressão diastólica (Pd) e pressão de pulso (Pp), tomada como a diferença entre pressão sistólica e pressão diastólica.

O efeito da nifedipina ($2,9 \times 10^{-6}M$) no músculo liso vascular foi também estudado "in vitro". Foram estudadas 4 preparações de veia safena humana (VSH) (obtida de pacientes submetidos à cirurgia cardíaca para tratamento de obstrução coronária) 3 preparações de artéria femoral (AF) e de artéria coronária circunflexa esquerda (ACCE), obtidas de cães mestiços de ambos os sexos, anestesiados com pentobarbital sódico (30 mg/Kg)

Os segmentos vasculares ($n = 10$) foram montados verticalmente em banho com capacidade de 20 ml, contendo solução de Krebs-Henseleit-Buffer oxigenada, com pH final de 7,4 e temperatura $37^{\circ}C$. Os segmentos vasculares de AF e de ACCE foram cortados em forma helicoidal (1 a 2 mm de largura e 10 a 20 mm de comprimento). Foi utilizado um transdutor isométrico, em conexão com um sistema de amplificação adequada, registrando-se o deslocamento através de um registrador HP 7100 BM.

Para se avaliar o efeito da nifedipina em coração isolado de rato, foram estudadas, inicialmente, 8 preparações, submetidas a 40 aplicações de nifedipina na concentração de $7,22 \times 10^{-8} M$, mantendo-se a coluna de perfusão à altura constante de 100 cm, segundo a técnica de Langendorff. A Pp foi analisada na situação-controle (C) e na fase de ação máxima, de nifedipina (Nif).

Nas 6 preparações restantes, com a finalidade de investigar a curva de contratilidade ventricular, a pós-carga ventricular correspondente à altura da coluna de perfusão foi variada de 100 cm para 75 cm, 50 cm e 25 cm. Realizaram-se as medidas das variáveis, conforme o estabelecido, usando-se o mesmo volume e concentração de nifedipina. Obteve-se assim uma curva de função indicativa da variação da contratilidade ventricular pela ação da nifedipina.

Para avaliar o efeito da nifedipina no músculo liso vascular, estudou-se, inicialmente, a ação da droga ($2,9 \times 10^{-6}M$) frente a contrações obtidas por noradrenalina ($6 \times 10^{-5}M$) e cloreto de potássio (127 -mM) (fig. 1 e 2)

RESULTADOS

A análise estatística (teste t pareado) demonstrou uma diferença significativa nos valores obtidos entre PsC ($53,7 \pm 8,0$ mm Hg) e PsNif ($20,0 \pm 7,1$ mmHg) ($P < 0,05$). Não houve, entretanto, diferença significativa entre os valores da PdC ($4,2 \pm 1,1$ mm Hg) e PdNif ($4,3 \pm 1,2$ mm Hg). Consequentemente, a Pp, variou de $49,7 \pm 8,2$ mm Hg para $15,7 \pm 6,5$ mm Hg, resultando numa diminuição porcentual de 69% em relação ao controle (tab. I).

Os resultados mostraram que a nifedipina possui uma ação inotrópica negativa no coração isolado de rato, ação essa que se mantém, ainda que se altere a pós-carga ventricular (tab. II e III).

A nifedipina produziu um efeito relaxante na VSH de 52% em relação à contração produzida por noradrenalina (NA) e de 67% em relação à contração

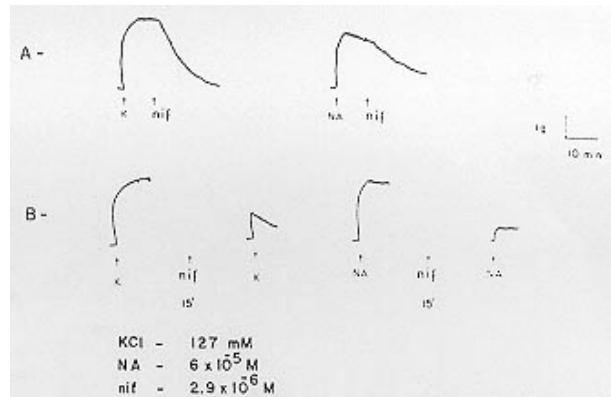


Fig. 1 - A) Mostra a resposta contrátil dada pelo cloreto de potássio (K 127 mM) e noradrenalina (NA $6 \times 10^{-5}M$) na veia safena humana. A nifedipina (nif, $2,9 \times 10^{-6}M$) é adicionada à preparação após a obtenção do efeito máximo de contração. B) Ação da nif. sobre a veia safena humana previamente incubada no banho durante min e estimulada posteriormente com K e Na.

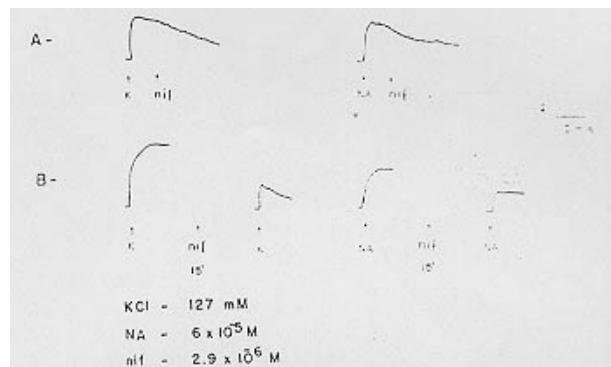


Fig. 2 - A) Mostra a resposta contrátil dada pelo cloreto de potássio (K 127 mM) e noradrenalina (NA $6 \times 10^{-5}M$) na artéria femoral de cão. A nifedipina (nif, $2,9 \times 10^{-6}M$) é adicionada à preparação após a obtenção do efeito máximo da contração. B) Ação da nif. sobre a artéria femoral de cão previamente incubada no banho durante 15 min e estimulada posteriormente com K e Na.

produzida por KCl. A nifedipina produziu também um efeito relaxante na AF de cão de 43% em relação à contração produzida por NA e 37% em relação à contração produzida por KCl. Na ACCE, tanto a NA como o KCl induziram um relaxamento do vaso, que aumentou em 23% e 26% respectivamente quando se aplicou a nifedipina na preparação (fig. 3).

Em uma segunda etapa, a nifedipina ($2,9 \times 10^{-6}M$) foi previamente incubada no banho e, somente após 15 min., aplicou-se Na e KCl. Os resultados mostraram que a nifedipina, quando incubada previamente, diminui a contração induzida por KCl em 65% na VSH e 59% na AF. Diminui também a contração induzida por NA em 75% na VSH e 50% na AF. (fig. 1 e 2).

Esses resultados indicam um nítido efeito relaxante da nifedipina sobre a VSH e AF e um discreto aumento do efeito de relaxamento produzido pela NA e pelo KCl na ACCE.

Tabela I - Pressão sistólica, diastólica e de pulso medidos em coração isolado de rato, para uma coluna de perfusão com 100 cm de altura.

Pressões mmHg	Controle			Nifedipina *		
	Ps	Pd	Pp	Ps	Pd	Pp
62	4	58	21	4	17	
72	4	68	23	4	19	
71	4	67	24	4	20	
68	4	64	35	4	31	
69	4	65	26	4	22	
63	4	59	25	4	21	
60	5	55	27	5	22	
55	5	50	25	5	20	
53	5	58	27	5	22	
59	5	54	24	5	19	
56	5	51	23	5	18	
52	5	47	19	5	14	
52	5	47	20	5	15	
47	5	42	18	5	13	
52	5	47	22	6	16	
52	5	47	29	6	23	
54	6	48	29	6	23	
53	6	47	29	6	23	
57	6	51	28	6	22	
53	6	47	27	6	21	
54	6	48	25	7	18	
55	3	52	15	3	12	
59	3	56	24	3	21	
59	3	56	26	3	23	
54	3	51	23	3	20	
52	3	49	19	3	16	
57	3	54	16	3	13	
38	5	33	13	5	8	
42	5	37	15	5	10	
45	5	40	18	5	13	
40	4	36	8	4	4	
48	4	44	11	4	7	
50	3	47	11	3	8	
51	3	48	13	3	10	
51	2	49	13	3	10	
51	3	48	12	3	9	
51	3	48	12	4	8	
47	3	44	9	3	6	
44	3	41	8	3	5	
40	3	37	9	3	6	
N =	40					
X	53,7	4,2	49,7	20,0	4,3	15,7
Sx	8,0	1,1	8,2	7,1	1,2	6,5
Sx	1,3	0,2	1,3	1,1	0,2	1,0

Ps = pressão sistólica; Pd = pressão diastólica; Pp = pressão de pulso; N = número de injeções. * Injeção de 1 ml de nifedipina ($7,22 \times 10^{-8}$ M); Sx = desvio padrão.

DISCUSSÃO

Os resultados observados indicam que a nifedipina (4-(2 nitrofenil) 2,6 dimetil - 3,5 dicarbometoxina - 1,4 dihidropiridina), na dose usada, deprime a contratilidade miocárdica, em coração isolado de rato e produz vasodilatação coronária e periférica. Esse efeito seria devido ao bloqueio do influxo inicial de cálcio durante a despolarização celular⁶⁻⁹. A nifedipina bloqueia o influxo inicial de Ca^{++} através da membrana celular, inibindo assim a contração miocárdica e vascular^{6,10}, produzindo uma queda da pressão ventricular e redução da resistência vascular,

Tabela II - Pressão sistólica, diastólica e de pulso medidos em coração isolado de rato variando-se a altura da coluna de perfusão (pós-carga).

Altura cm	Controle											
	Ps	Pd	Pp	Ps	Pd	Pp	Ps	Pd	Pp	Ps	Pd	Pp
25	6,0	2,0	4,0	33,0	2,0	31,0	38,0	2,5	35,5	41,0	3,0	38,0
50	10,0	2,0	8,0	32,0	2,0	30,0	37,0	2,5	34,5	38,0	3,0	35,0
75	12,0	4,0	8,0	33,0	4,0	29,0	33,0	4,0	29,0	33,0	4,0	29,0
100	17,0	4,5	12,5	34,0	4,0	30,0	38,0	4,0	32,0	40,0	4,0	36,0
	15,0	3,0	12,0	20,0	3,0	17,0	27,0	3,0	24,0	32,0	3,0	29,0
	14,0	5,0	9,0	34,0	6,5	27,5	46,0	7,0	39,0	52,0	7,5	44,5
	24,0	6,5	17,5	42,0	7,0	35,0	52,0	7,0	45,0	54,0	7,0	47,0
	25,0	6,0	19,0	46,0	6,5	39,5	64,0	7,0	57,0	73,0	7,0	66,0
N = 8												
X	15,4	4,1	11,2	34,2	4,4	29,9	41,9	4,6	37,0	45,1	4,8	40,5
Sx	6,5	1,7	5,1	7,6	2,0	6,5	11,7	2,0	10,2	13,7	2,0	12,1
Sx	2,3	0,6	1,8	2,7	0,7	2,3	4,1	0,7	3,6	4,8	0,7	4,3

Ps = Pressão sistólica; Pd = Pressão diastólica; Pp = Pressão de pulso; N = Número de experimentos.

Tabela III - Ação da nifedipina sobre a pressão sistólica, diastólica e de pulso medidos em coração isolado de rato, variando-se a altura da coluna de perfusão (pós-carga).

Altura cm	* Nifedipina											
	Ps	Pd	Pp	Ps	Pd	Pp	Ps	Pd	Pp	Ps	Pd	Pp
25	5,5	2,5	3,0	10,0	4,0	6,0	15,0	7,0	8,0	15,0	6,0	9,0
50	12,0	6,0	6,0	11,0	4,0	7,0	16,0	5,0	11,0	7,0	3,5	3,5
75	5,0	4,0	1,0	6,0	3,0	3,0	7,0	4,5	2,5	10,0	4,5	5,5
100	7,0	4,0	3,0	9,0	4,5	4,5	14,0	9,0	5,0	13,0	4,0	9,0
	8,0	4,0	4,0	9,0	4,5	4,5	11,0	7,0	4,0	13,0	7,0	6,0
	9,0	7,0	2,0	9,0	4,0	5,0				8,0	4,0	4,0
				16,0	8,0	8,0				16,0	9,0	7,0
				9,0	7,0	2,0				12,0	8,0	4,0
N =	6	6	6	8	8	8	5	5	5	8	8	8
X	9,4	4,6	3,2	9,9	5,3	5,0	12,6	6,5	6,1	11,7	5,7	6,0
Sx	3,5	1,6	1,7	2,8	2,1	2,0	3,3	1,8	3,4	3,2	2,1	2,2
Sx	1,4	0,6	0,7	1,0	0,7	0,7	1,5	0,8	1,5	1,1	0,7	0,8

Ps = pressão sistólica; Pd = pressão diastólica; Pp = pressão de pulso; N = número de injeções. * Injeção de 1 ml de nifedipina ($7,22 \times 10^{-8}$ M); Sx = desvio padrão.

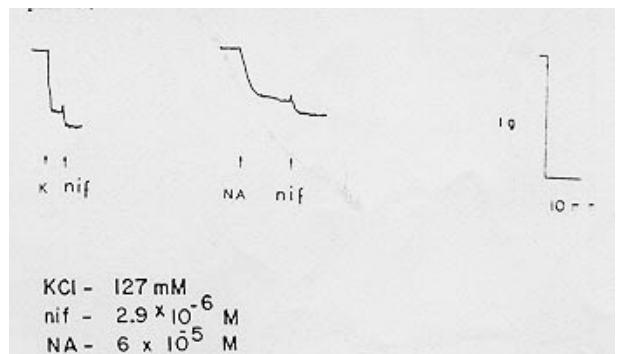


Fig. 3 - Ação da nifedipina (nif. $2,9 \times 10^{-6}$ M) sobre o relaxamento produzido por cloreto de potássio (K 127 mM) na artéria coronária circunflexa de cão.

corroborando com os nossos resultados. A queda depressão ventricular leva à diminuição da tensão do miocárdio, com queda do consumo de oxigênio a nível celular e redução do volume sistólico, o que diminui o débito cardíaco.

A redução da resistência vascular, com diminuição do tono arterial, reduz a pós-carga, facilitando a ejeção ventricular. A vasodilatação mesmo discreta da artéria coronária tende a melhorar a perfusão do miocárdio.

Assim, pode-se sugerir que a nifedipina tem efeito benéfico em algumas situações patológicas, tais como infarto agudo do miocárdio, angina de peito instável, hipertensão arterial sistêmica, isquemia miocárdica, em que é desejável a diminuição do esforço do miocárdio, um aumento do fluxo coronário, associado à diminuição da pós-carga ventricular.

SUMMARY

To evaluate nifedipine activity on Myocardial and vessels, 2 sets of experiments were done: a) in isolated heart of rats (n = 14 - Langendorff technic), cardiac contraction was measured in the left ventricle (LV) through the value of the intraventricular pressure. The results of nifedipine ($7,22 \times 10^{-8}M$) activity in 8 preparations showed that there was no significant variation of the diastolic ventricular pressure, while the systolic pressure changed significantly ($p = 0,05$), which was reduced by 68,9%. In the remaining 6 preparations the contractility curve was evaluated by changing the after ventricular load by the height of the perfusion column. b) in preparations of human saphenous vein (n = 4) and femoral artery of dogs (n = 3), contractions were induced by noradrenaline (NA) and KCl. Nifedipine ($2,9 \times 10^{-6}M$), previously added and incubated for 15 minutes, decreased NA and KCl - induced contractions, 75% and 65%, each, for saphenous vein and 50% and 59% each for femoral artery. In preparations of coronary artery of dogs (n = 3), nifedipine increased NA and KCl induced relaxing effect by 23%

and 26%, each. Our results indicate that nifedipine has a role in decreasing LV pressure, reducing the peripheral arterial and venous tonus and relaxing coronary artery. This action seem to be due, according to conclusions drawn by other authors, to nifedipine interference on calcium stores in heart and vessels walls. Therefore, it can be suggested that nifedipine has a beneficial effect in some pathological situations in which it is desired a reduction of myocardial contractility, an increase of flow and a decrease of afterload. It is necessary to take into consideration the net effect of nifedipine activity to use it in humans.

REFERÊNCIAS

1. Antman E. et al - Nifedipine therapy for coronary artery spasm: experience in 127 patients. *N. Engl. J. Med.* 302: 1269, 1980.
2. Beer, N. - Eficácia de la Nifepina sublingual en el tratamiento agudo de la hipertension sistémica 1^{er} Simpósio Interamericano sobre Nifedipina - Buenos Aires, Argentina, 1981. p. 220.
3. Cingolani, H. E. - Acción de La Nifedipine sobre la relajación miocárdica 1^{er} Simpósio Interamericano sobre Nifedipine, Buenos Aires Argentina, 1981. p. 7.
4. Lichtlen, P. - The influence of nifedipine on left ventricular and coronary dynamics at rest and during exercise in patients with coronary artery disease. In the First Nifedipine Symposium University of Tokyo Press, Tokyo, Japan, 1975. p. 14.
5. Langendorff, O. - Untersuchungen am uberlebenden Säugethierherzen. *Arch. Ges. Physiol.* 61: 291, 1895.
6. Fleckenstein A. - Specific pharmacology of calcium in myocardium cardiac pacemakers smooth muscle. *Ann Ver. Pharmacol. Toxicol.* 17: 149, 1977.
7. Hinke J.; Wilson, M. L.; Burnham, S. C. - Calcium and the contractility of arterial smooth muscle. *Am. J. Physiol.* 206: 211, 1964.
8. Hiraoka M.; Wamagishi, S.; Sano, R. - Role of calcium in the contractions of vascular smooth. *Am. J. Physiol* 214: 1084, 1968.
9. Freeman, D. J.; Daniel, E. E. - Calcium movement in vascular Smooth muscle and its detection using Lanthanum as a tool. *Can. J. Physiol Pharmacol* 51: 900 1973.
10. Antaman, E. - Calcium Channel Blocking. Agents in the Treatment of Cardiovascular Disorders. Part. I: Basic and Clinical Electrophysiologic Effects. *Ann. Intern. Med.* 93: 975 1980.