

## COMPARAÇÃO DOS EFEITOS ELETROCARDIOGRÁFICOS DE DOSES INOTRÓPICAS EQUIPOTENTES DE AMRINONE E DE OUABAÍNA EM CORAÇÕES ISOLADOS DE COBAIA

CESAR C. A. FURLAN \*, PAULO J. F. TUCCI \*\*

*Os efeitos eletrocardiográficos de doses de amrinone (A) e de ouabaína (O) capazes de desenvolver ações inotrópicas equípotentes foram estudados em corações isolados de cobaia mantidos em perfusão de Langendorff, nutridos por solução de Krebs-Henseleit. Um balão de látex, em comunicação com um transdutor de pressão, era mantido dentro do ventrículo esquerdo, que contraía isovolumetricamente. Nessas condições, a pressão desenvolvida durante as contrações é o indicador do inotropismo cardíaco. Eléttodos epicárdicos possibilitavam o registro do eletrocardiograma. Foi verificado que a concentração de A (140 mg/l) necessária para elevar a pressão desenvolvida (PD) em 100% é cerca de 200 vezes maior que a dose de O (0,65 mg/l). Para doses equípotentes, A provocou discreta taquicardia ( $195 \pm 25$  bpm para  $220 \pm 25$  bpm;  $p < 0,05$ ) e raras extra-sístoles. Sob infusão com O, não houve variação de frequência cardíaca ( $183 \pm 32$  bpm para  $180 \pm 27$  bpm; ns) e ocorreu retardo da condução A-V do estímulo (PRi passou de  $0,08 \pm 0,03$  para  $0,12 \pm 0,04$ ;  $p < 0,01$ ). Em todas as preparações infundidas com O ocorreram extra-sístoles freqüentes seguidas de arritmias mais complexas (fibrilação ventricular, taquicardia paroxística supraventricular). Esses resultados estão de acordo com relatos da literatura de que A pode exercer efeitos inotrópicos equivalentes aos de digitálicos, sem as arritmias habitualmente provocadas pelos glicosídeos.*

Parece legítimo considerar que o tratamento clínico da insuficiência cardíaca vem apresentando avanços com o correr dos anos. Contribuições importantes para o controle das descompensações cardíacas advieram da descoberta de novas drogas dotadas de capacidade natriurética e da introdução de vasodilatadores arteriais e venosos.

Dada que, na grande maioria dos cardiopatas, a depressão da função ventricular é o fundamento comum da síndrome congestiva, a melhora do inotropismo cardíaco desempenha papel crítico na preservação do estado hemodinâmico adequado desses pacientes. Os glicosídeos digitálicos mantêm-se como a medicação cardiotônica preferida, há quase 200 anos. Entretanto, sua estreita faixa terapêutica constitui preocupação durante o acompanhamento de cardiopatas, pelos riscos constantes de arritmias. Nos Estados Unidos, a intoxicação digitálica é uma das mais comuns reações adversas induzidas por drogas<sup>1</sup>. A identificação de agente inotrópico desprovido

de efeitos arritmogênicos, efetivo durante administração prolongada por via oral, contribuirá de forma relevante para o controle clínico da insuficiência cardíaca.

Recentemente, a literatura internacional vem veiculando<sup>4-14</sup> resultados alentadores com o uso de um derivado dibenzilínico, o amrinone (fig. 1). Sua ação cardioativa não guarda relação com os mecanismos próprios dos digitálicos<sup>2,3</sup> ou dos ativadores da adenilciclase<sup>2,6</sup>, acompanha-se de vasodilatação arteriolar<sup>7-13</sup> e os ensaios clínicos documentaram efeitos terapêuticos sustentados durante administração por via oral<sup>14</sup>.

Neste trabalho, são relatados os resultados verificados com a infusão de amrinone em corações isolados de cobaias mantidos em contrações isovolumétricas

A preocupação prioritária foi confrontar a capacidade do medicamento em estimular a contratilidade miocárdica com seus efeitos sobre o eletrocar-

Este trabalho foi realizado na vigência de convênio de auxílio à Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP n.º 43.83.0787.00).

\* Residente de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP.

\*\* Professor-Adjunto do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP. Bolsista pesquisador do CNPq (processo 3006/9./80-CL-07).

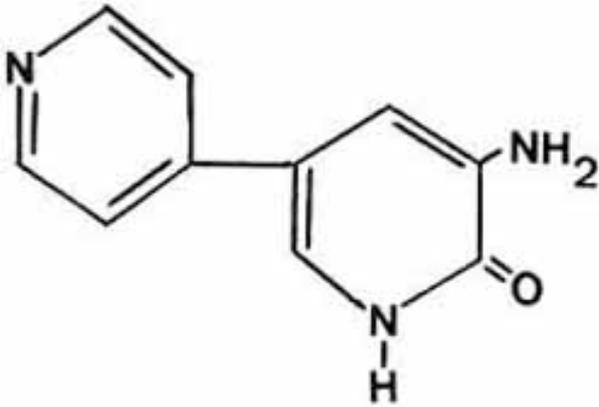


Fig. 1 - Fórmula estrutural do amrinone.

diograma. Tendo em conta que o fundamento da análise foi a busca de uma opção substitutiva aos inconvenientes das arritmias despertadas pelos digitálicos, a investigação foi conduzida em comparação com doses arritmogênicas de um digitálico cuja ação farmacológica está definida: a ouabaína.

#### MATERIAL E MÉTODOS

Os corações isolados foram instalados segundo técnica divulgada anteriormente<sup>15</sup>. Resumidamente, após extração do tórax, os corações eram perfundidos, à pressão de 40 mmHg, pela técnica de Langendorf, com solução de Krebs-Henseleit aquecida a 36°C e oxigenada por mistura gasosa contendo O<sub>2</sub> (95%) e CO<sub>2</sub> (5%).

A composição da solução nutritiva era: 115 mM NaCl; 6,6 mM KCl; 25mM NaHCO<sub>3</sub>; 1,9 mM Na HPO<sub>4</sub>; 1,9mM MgSO<sub>4</sub>; 2,5 mM CaCl<sub>2</sub>, e 5mM glicose.

O átrio esquerdo era aberto e o ápice do ventrículo esquerdo (VE) era perfusado para drenar a solução que atingia o interior da cavidade ventricular pela circulação de Thebesio. Uma sutura em bolsa, feita na base do átrio esquerdo, permitia fixar, no interior do VE, um balão de látex montado na extremidade de uma cânula. A outra extremidade da cânula era ligada a um transdutor P231D. A preparação era mergulhada em solução nutritiva que, após perfundir o coração, era coletada em recipiente "termostatizado" em 36°C. No mesmo recipiente, eram coletados elétrodos para obtenção de eletrocardiograma (ECG). O ECG, a pressão intraventricular e a primeira derivada temporal da pressão intraventricular (dp/dt), obtida por circuito diferenciador RG, com constante de tempo de 0,01s, eram registrados em polígrafo VR-12 da Electronics for Medicine.

O balão era insuflado com a quantidade de líquido necessária para que a pressão diastólica ventricular se situasse entre zero e 8 mmHg e período de 15 a 30 minutos era aguardado para que a preparação alcançasse estado de equilíbrio. Um registro de controle era realizado e iniciava-se a perfusão cardíaca com solução de Krebs-

Henseleit, contendo amrinone ou ouabaína. A perfusão com droga inotrópica era mantida por 15 minutos.

As relações dose efeito para a amrinone e para a ouabaína, foram analisadas em 27 experiências-piloto. Verificou-se que a ouabaína é, aproximadamente, 200 vezes mais potente que o amrinone na produção da ação inotrópica, quando são comparados os efeitos de mesmas quantidades das drogas, em miligramas. Doses de 0,65 mg/l de ouabaína e de 140 mg/l de amrinone provocam efeitos inotrópicos equípotentes, duplicando o valor da pressão desenvolvida durante a contração. Em outras vinte preparações, foram analisados os efeitos dessas doses das drogas sobre o ECG. Dez preparações foram submetidas à infusão de amrinone e dez, à infusão de ouabaína.

Quando necessário, o tratamento estatístico constou de teste "t" de Student para dados emparelhados, estabelecendo-se o nível de significância de 0,05.

#### RESULTADOS

Os efeitos inotrópicos máximos do amrinone e da ouabaína estabeleceram-se nos primeiros 3 a 5 minutos de perfusão. Exemplo de registro obtido com amrinone em uma experiência é apresentado na figura 2. Na figura 3, são expostos os valores médios e desvios-padrão das médias da pressão desenvolvida e da dp/dt nas 20 preparações estudadas.

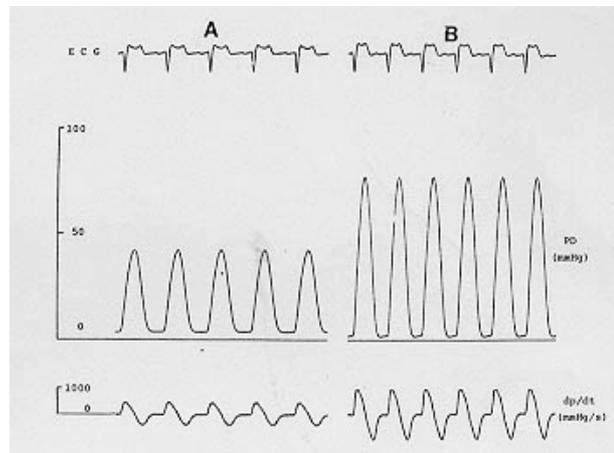


Fig. 2 - Registros obtidos em uma das experiências em que se utilizou a solução de Krebs-Henseleit acrescida de 140 mg/l de amrinone. Estão registrados de alto a baixo: o eletrocardiograma, a pressão intraventricular e a primeira derivada temporal da pressão ventricular. Em A, é apresentado o registro de controle e, em B, o registro obtido durante a infusão de 140 mg/l da droga.

Tais valores ocorreram antes que qualquer alteração do eletrocardiograma pudesse ser identificada. Após atingido o efeito inotrópico máximo, o ECG foi acompanhado até completarem-se os 15 minutos de perfusão.

Os dados relativos à frequência cardíaca (FC) e ao espaço PR (PRi) são apresentados na tabela I e na figura 4. A duplicação da capacidade contrátil foi

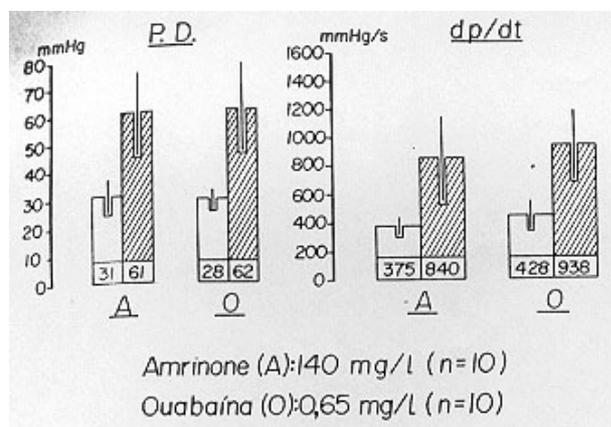


Fig. 3 - Valores médios  $\pm$  desvio-padrão da pressão desenvolvida (PD) e da primeira derivada temporal da pressão ventricular (dp/dt) em 10 preparações submetidas à infusão de 140 mg/l de amrinone (A) e 0,65 mg/l de ouabaína (O).

**TABELA I - Valores médios e desvios-padrão das médias da Frequência cardíaca (FC) e do espaço PR (PRi, antes (A) e durante (D) a infusão de Amrinone (140 mg/dl) e Ouabaína, (0,65 Mg/l).**

		FC	PRi
Amrinone:	A	195 $\pm$ 25	0,08 $\pm$ 0,01
	D	220 $\pm$ 25	0,08 $\pm$ 0,01
	(p)	< 0,05	ns
Ouabaína:	A	183 $\pm$ 32	0,08 $\pm$ 0,03
	D	180 $\pm$ 27	0,12 $\pm$ 0,04
	(p)	ns	< 0,05

alcançada nas preparações perfundidas com ouabaína em associação com alterações profundas do ECG. A condução atrioventricular foi retardada em todas as preparações. Em duas experiências, estabeleceu-se bloqueio AV do 2.º grau tipo Mobitz. Em oito ocasiões, ocorreu apenas prolongamento do Pri e o tratamento estatístico relativo a essa variável indicou existir diferença significativa do PR com digitálico. Todas as preparações perfundidas com ouabaína desenvolveram extra-sístoles supraventriculares e/ou ventriculares e evoluíram para taquiarritmias mais complexas. Duas desenvolveram fibrilação ventricular. Em duas, a frequência e o polimorfismo das extra-sístoles configuraram situação de anarquia ventricular. Em quatro preparações, instalou-se taquicardia ventricular. Em uma, ocorreu arritmia interpretada como taquicardia bidirecional, em outras, taquicardia paroxística supraventricular. Algumas dessas arritmias são mostradas na figura 5. Nessas preparações, o valor da FC, sob a ação do medicamento, foi avaliada antes que as arritmias complexas se manifestassem e não foi verificada diferença significativa em relação aos níveis de controle.

Nas preparações perfundidas com a amrinone, ocorreu elevação da FC e não houve modificação dos valores médios do PRi. Raras extra-sístoles ventriculares foram observadas durante a perfusão com a droga. Sua frequência não permitiu distingui-las de estímulos ectópicos que espontaneamente podem manifesta-se nessas preparações.

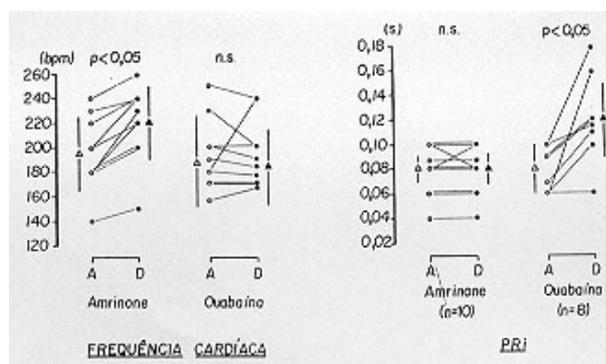


Fig. 4 - Valores individuais (círculos), médias (triângulos) e desvio-padrão das médias (traços verticais) para a frequência cardíaca (FC) e o espaço PR (PRi) antes (A) e durante (D) a infusão de amrinone e de ouabaína. Em 2 experiências em que a ouabaína foi infundida, ocorreu bloqueio atrioventricular do 2.º grau e os valores dos respectivos PRi não foram incluídos na análise estatística.

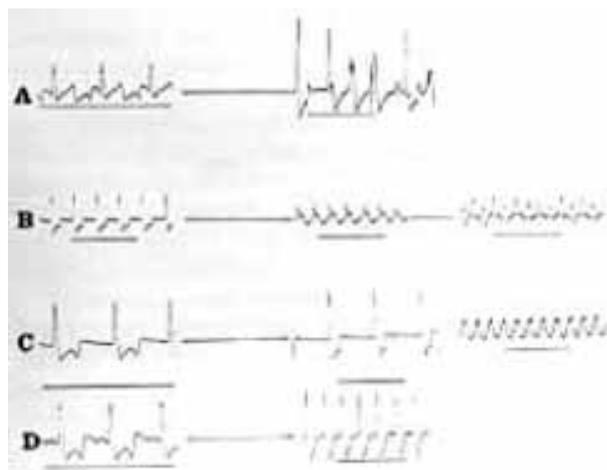


Fig. 5 - Eletrocardiograma (ECG) ilustrativo das alterações promovidas pela infusão ouabaína (0,65 mg/l). À direita, estão representados o s ECG controles e à esquerda após 15 minutos de infusão. EM A, o ritmo sinusal é substituído por focos múltiplos de extra-sístole ventriculares, que configuram situação de anarquia ventricular. Em B, um foco ectópico assume o comando do ritmo cardíaco e, em seguida, ocorre quadro eletrocardiográfico considerado taquicardia bidirecional. Em C, estabelece-se bloqueio AV 2:1 substituído, depois por taquicardia ventricular. Em D, o ritmo é assumido por focos ectópicos supraventricular, sob forma de taquicardia. Os registros foram obtidos com diferentes velocidade do papel; as barras horizontais abaixo do traçados de ECG demarcaram 0,1 s.

## DISCUSSÃO

O estado inotrópico é a propriedade mais difícil de ser quantificada entre os fatores determinantes do desempenho cardíaco.

Na preparação utilizada no presente trabalho, o volume ventricular é mantido fixo e são eliminadas as variações do estiramento diastólico e do encurtamento sistólico. Excluindo a interferência do mecanismo de Frank-Starling e da resistência ao esvaziamento ventricular sobre desempenho mecânico do coração, esse passa a depender, exclusivamente, da contratilidade miocárdica. Resulta desse artifício

a validade de admitir-se a pressão desenvolvida durante as contrações como indicadora do estado contrátil das miofibrilas. Desde que a frequência de contrações regula o inotropismo<sup>16-18</sup> e que, sob a ação do amrinone ocorreram flutuações do automatismo cardíaco, é necessário considerar que o efeito inotrópico identificado para essa droga não se deve apenas à sua ação farmacológica direta sobre o mecanismo íntimo da contração. Não obstante, não parece haver razões suficientes para invalidar-se a premissa de que as doses de amrinone e de ouabaína se equivalham em seu efeito inotrópico, dado que foi pequena (cerca de 12% do controle) a variação de FC verificada sob a ação do dibenzilínico.

Ficou evidenciado que doses inotrópicas equipotentes de amrinone e de ouabaína, duplicadoras da capacidade contrátil, têm influências arritmogênicas marcadamente distintas sobre o coração isolado de cobaia. Destaque-se a semelhança entre os tipos de arritmias identificadas na preparação e aqueles habitualmente observados em humanos, sob a ação de digitálicos.

Ainda não foram definidos os mecanismos pelos quais o amrinone promove acentuação da capacidade contrátil da miofibrila. Estudos anteriores informam que o efeito inotrópico não é alterado por bloqueadores beta-adrenérgicos<sup>2,3,5,19</sup> nem pela reserpina<sup>2,3</sup> e não depende de enzimas do sarcolema responsáveis pelas trocas Na-K envolvidas na ação digitálica<sup>2,3</sup>.

Adams e col.<sup>19</sup> consideram possível que a droga aumente o influxo de cálcio pelos canais lentos e supõem que, nessa ação, haja envolvimento de receptores histaminérgicos. Para Azari e Huxtable<sup>4</sup>, o amrinone retarda a saída de Ca<sup>++</sup> da miofibrila. Endoh e col.<sup>5</sup> apresentaram resultados que favorecem a idéia de que a contração seja fortalecida a partir de inibição da fosfodiesterase, à qual se seguiria acúmulo de AMP cíclico intracelular, fosforilação da membrana e interiorização de Ca<sup>++</sup>. Essa hipótese, que vem sendo considerada como a mais plausível, foi contrariada por trabalhos que não verificaram elevação do AMP cíclico intracelular, sob efeito do amrinone<sup>2,4</sup>. Visto que esse é o mecanismo de ação da teofilina e da papaverina, Endoh e col.<sup>5</sup> compararam a ação do amrinone com aquela promovida por esses medicamentos e verificaram que, qualitativamente, seus efeitos se superpõem. Acresça-se que, tal qual ocorre com a teofilina e com a papaverina, o amrinone é dotado de efeito vasodilatador, consistentemente documentado em animais de experimentação<sup>2,10</sup> e em humanos<sup>7-9,11-13,20</sup>.

Independentemente de qual seja o mecanismo de ação do amrinone, já foi demonstrado que seu efeito inotrópico se estabelece sem modificações consideráveis do potencial transmembrana. Alousi e col.<sup>2</sup> verificaram, em fibras de Purkinje, que a droga não altera: o potencial de repouso, a amplitude e a velocidade de despolarização da fase O, o período refratário efetivo e a velocidade de condução do estímulo. Mencionar que o dibenzilínico promove discreta

redução da amplitude do "plateau" e retardo da fase 3 do potencial de ação. Descrevem, também, acentuação da velocidade de despolarização espontânea da fase 4. É possível que esse último efeito seja responsável pelo aumento do automatismo descrito em alguns trabalhos e verificado, também, em nossas experiências.

É digna de menção a ocorrência do efeito inotrópico em intensidade apreciável, após o uso de doses que não alteraram a frequência de contrações<sup>4,7,8,11,20</sup>.

Os estudos clínicos com amrinone comprovam que suas ações inotrópica e vasodilatadora resultam em benefício terapêutico durante o tratamento da insuficiência cardíaca, seja quando utilizado por infusões intravenosas<sup>7-9,12,13,20</sup>, seja quando administrado por via oral<sup>7,8,11,13,14,21</sup>. São raras as referências a desarranjos do ritmo cardíaco<sup>22</sup> e não foram notados inconvenientes de associar o dibenzilínico aos digitálicos ou outros medicamentos comumente utilizados em cardiopatas descompensados<sup>8,9,12,14,20,22</sup>. Da mesma forma, é infreqüente a referência à ausência de ação inotrópica<sup>12,22</sup>. As investigações clínicas evidenciaram, também, reações adversas induzidas pelo uso prolongado de amrinone<sup>13,14,22</sup>, que regrediram após a sua suspensão. Entre elas, é dado maior destaque à trombocitopenia. Esses efeitos colaterais levaram à busca de outros dibenzilínicos que, retendo as propriedades cardiovasculares do amrinone, sejam desprovidos de reações adversas. Os primeiros resultados com essas drogas começaram a ser divulgados<sup>23,24</sup>.

A situação atual fundamenta uma expectativa otimista de se poder contar, em futuro próximo, com nova classe de drogas com ação cardiotônica efetiva e influências eletrofisiológicas irrelevantes.

## SUMMARY

The effects of equipotent inotropic doses of amrinone (A) and ouabain (O) on the electrocardiogram of isolated isovolumic guinea-pig hearts were analyzed. Utilizing developed pressure (DP) as the inotropic index, it was verified that the concentration of A necessary in the Krebs-Henseleit solution in order to promote twice elevation of DP (140mg/l) was 200 higher than the concentration of O (0,65me/l). In these concentration, A evoked tachycardia ( $195 \pm 1,25$  b/m to  $222 \pm 25$  b/m;  $p < 0,05$ ) and no other modification of the EKG could be related to the drug. Under the infusion of O, there was no variation of the heart rate ( $183 \pm 32$  b/m to  $180 \pm 27$  b/m; ns), the AV conduction was retarded (PRi changed from  $0,08 \pm 0,03$ s to  $0,12 \pm 0,04$ ;  $p < 0,01$ ) and, in every case, there were frequent premature ectopic beats followed by malignant arrhythmias (ventricular fibrillation, ventricular tachycardia, bidirectional tachycardia, supraventricular tachycardia). These results are in accordance with the literature in that amrinone can exert inotropic effects equivalents to those

promoted by the digitalics without the induction of the arrhythmias so commonly verified with the use of the cardiac glycosides.

### Agradecimentos

O amrinone utilizado neste trabalho foi gentilmente cedido pelo Laboratório Libbs S/A, por interferência do Sr. João Costa. Os autores agradecem ao Sr. Irineu Pereira Dias pela competente participação na montagem das preparações.

### REFERÊNCIAS

- Manson, D. T.; Zelis, R.; Lee, G.; Hughes, J.; Spann, J.; Amsterdam, A. E. - Current concepts and treatment of digitalis toxicity. *Am. J. Cardiol.* 27: 546, 1971.
- Alousi, A. A.; Farah, A. E.; Lescher, G. Y.; Opalka, C. J., Jr. - Cardiotonic activity of amrinone - Win 40680 5-amino-3,4'-bipyridin - 6(1H) - one. *Circ. Res.* 45: 666, 1979.
- Farah, A. E.; Alousi, A. A. - New cardiotonic agents: a search for digitalis substitute. *Life Sci.* 22: 1139, 1978.
- Azari, J.; Huxtable, R. J. - Differential effects of amrinone on contractility and taurine influx in rat and guinea pig hearts. *Eur. J. Pharm.* 7: 347, 1980.
- Endoh, M.; Yamashita, S.; Taira, N. - Positive inotropic effect of amrinone in relation to cyclic nucleotide metabolism in the canine ventricular muscle. *Pharmacop Exp. Ther.* 221: 775, 1982.
- Ward, A.; Brogden, R. N.; Heel, R. C.; Speight, T. M.; Avery, G. S. - Amrinone. A preliminary review of its pharmacological properties and therapeutic use. *Drugs*, 26: 468, 1983.
- Benotti, J. R.; Grossman, W.; Braunwald, E.; Davolos, D. D.; Alousi, A. A. - Hemodynamic assessment of amrinone. A new inotropic agent. *N. Engl. J. Med.* 299: 1373, 1978.
- Benotti, J. R.; Grossman, W.; Braunwald, E.; Carabello, B. A. - Effects of amrinone on myocardial energy metabolism and hemodynamics in patients with severe congestive heart failure due to coronary artery disease. *Circulation*, 62: 28, 1980.
- Klein, N. A.; Siskind, S. J.; Frishman, W. H.; Connenblick, E. H.; Le Jemtel, T. H. - Hemodynamic comparison of intravenous amrinone and dobutamine in patients with chronic congestive heart failure. *Am. J. Cardiol.* 48: 170, 1981.
- Einzig, S.; Raio, G. H. R.; Pierpont, M. E.; White, J. G. - Acute effects of amrinone on regional myocardial and systemic blood flow distribution in the dog. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 60: 811, 1982.
- Bayliss, J.; Norell, M.; Canepa-anson, R.; Reuben, S. R.; Poole-Wilson, P. A.; Sutton, G. C. - Acute hemodynamic comparison of amrinone and pirbuterol in chronic heart failure. *Br. Heart J.* 49: 214, 1983.
- Wilmshurst, P. T.; Thompson, D. S.; Jenkins, B. S.; Coltart, D. J.; Webb-Peploe, M. M. - Haemodynamic effects of intravenous amrinone, in patients with impaired left ventricular function. *Br. Heart J.* 49: 77, 1983.
- Wilmshurst, P. T.; Webb-Peploe, M. M. - Side effects of amrinone therapy. *Br. Heart J.* 49: 447, 1983.
- Dunkman, W. B.; Wilen, M. M.; Franciosa, J. A. - Adverse effects of long-term amrinone administration in congestive heart failure. *Am. Heart J.* 105: 861, 1983.
- Tucci, P. J. F.; Maciel, R. E. - Estabilidade funcional do coração isolado de cobaia se contraíndo isovolumetricamente. *Arq. Bras. Cardiol.* 30: 423, 1977.
- Blinks, J. R.; Koch-Weser, J. - Analysis of the effects of changes in rate and rhythm upon myocardial contractility. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 134: 373, 1961.
- Kahn, M. L. - Frequency-force relationships of mammalian ventricular muscle in vivo and in vitro. *Am. J. Physiol.* 230: 631, 1976.
- Suga, H. S. - Heart rate - independent energetics and systolic pressure-volume area in dog heart. *Am. J. Physiol.* 224: H206, 1983.
- Adams, H. R.; Rhody, J.; Sutko, J. L. - Amrinone activates K<sup>#</sup> depolarized atrial and ventricular myocardium of guinea pigs. *Circ. Res.* 51: 662, 1982.
- Siskind, S. J.; Sonnenblick, E. H. - Acute substantial benefit of inotropic therapy with amrinone on exercise hemodynamics and metabolisms in severe congestive heart failure. *Circulation*, 64: 966, 1981.
- Benotti, J. R.; Lesko, L. J.; McCue, J. E. - Acute pharmacodynamics and pharmacokinetics of oral amrinone. *J. Clin. Pharmacol.* 22: 425, 1982.
- Leier, C. V.; Hermiller, J. B.; Magorien, R. D.; Bashore, T. M.; Unverferth, D. V. - Amrinone therapy for congestive heart failure in outpatients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am. J. Med.* 52: 304, 1983.
- Baim, D. S.; McDowell, A. V.; Chernilles, J.; Parker, J. A.; Braunwald, E.; Grossman, W. - Evaluation of a new bipyridine inotropic agent - Milrinone-in patients with severe congestive heart failure. *N. Engl. J. Med.* 309: 748, 1983.
- Maskim, C. S.; Sinoway, L.; Chadwick, B.; Sonnenblick, E. H.; Le Jemtel, T. H. - Sustained hemodynamic and clinical effects of a new cardiotonic agent, WIN 47203, in patients with severe congestive heart failure. *Circulation*, 67: 1065, 1983.