

ACÇÃO DA NIFEDIPINA “IN VITRO” SOBRE AS FUNÇÕES CARDIOVASCULARES; “IN VITRO” E “IN SITU” SOBRE O PERFIL CATIÔNICO DA AORTA, MIOCÁRDIO E MÚSCULO ESQUELÉTICO EM RÃS

EVA MARIA AUGUSTA BOECKH HAEBISCH *, MARCELO GENOFRE VALLADA **, CARMEN CASTILHO ALONSO ***

O efeito inotrópico negativo direto da nifedipina sobre o coração isolado não é observado após a administração oral da droga, sugerindo efeitos indiretos atenuantes.

*Estudou-se em rãs (*Rana catesbeiana shaw*) a alteração do perfil catiônico por nifedipina, “in vitro” e “in situ”, como contribuição para o esclarecimento do efeito direto e indireto da droga, por meio de: a) perfusão do coração isolado com nifedipina ($1 \times 10^{-7} M$) e avaliação do inotropismo por meio da determinação do volume sistólico; b) perfusão das patas posteriores com a mesma solução (preparação de Trendelenburg) com medição de fluxo; c) após perfusão “in vitro” e após administração oral de nifedipina (10 mg/dia, durante 10 dias) “in situ”, analisaram-se, em amostras teciduais, os teores de Zn^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Na^{+} e K^{+} , em espectrofotômetro de absorção atômica (Techtron AA 120).*

Nossos resultados confirmam o efeito inotrópico negativo direto sobre o coração. As alterações eletrolíticas encontradas no estudo “in vitro”, foram: depleção de Mg^{2+} e Ca^{2+} e retenção de K^{+} em miocárdio e músculo esquelético; depleção de Na^{+} em átrio e aorta; retenção de Na^{+} em músculo esquelético. No estudo “in situ” observaram-se: depleção de Na^{+} em músculo esquelético e retenção de Ca^{2+} e Mg^{2+} em átrio e aorta.

Pode-se concluir que a nifedipina age de modo diferente sobre as várias estruturas; a diferença do efeito direto e indireto provavelmente está ligada a alterações na condutância de Na^{+} e K^{+} .

Nifedipina [4-(2 nitrofenil) 2,6 dimetil-3,5 dicarbomoxina-1,4 dihidropiridina] p.m 346,34, é um derivado dihidropiridina sintetizado pela Bayer em 1971. É um dos compostos bloqueadores dos canais de cálcio, cujo mecanismo de ação a nível celular já foi muito bem estudado¹⁻³. A nifedipina e seus derivados bloqueiam os canais lentos de cálcio, inibindo o influxo transmembrana desse íon; esse mecanismo é importante em situações patológicas onde há aumento de cálcio intracelular, como em hipóxia tecidual, por evitar a hiperconcentração cálcica.

Os compostos conhecidos como bloqueadores dos canais de cálcio interferem em todas as funções normais e patológicas do cálcio no organismo, mas com maior seletividade sobre o sistema cardiovascular. Foi demonstrado que a nifedipina diminui a contratilidade do miocárdio em coração isolado e a con-

tração induzida por noradrenalina e cloreto de potássio em artéria coronária e vasos periféricos, sugerindo seu possível efeito benéfico em situações patológicas onde seria desejável diminuição do trabalho do miocárdio, associado à diminuição da pós-carga ventricular e aumento do fluxo coronário⁴.

O mecanismo de excitação-contração de tecidos musculares depende de características estruturais específicas, como condutância eletrolítica através de membranas e consequentes potenciais de ação, da cinética eletrolítica intracelular e dos processos energéticos catalisados pelos sistemas enzimáticos. Embora o papel do cálcio na fisiologia de diferentes órgãos seja muito estudado⁵, há poucas referências sobre o possível envolvimento de outros eletrólitos, como por exemplo o magnésio^{6,7}.

Trabalho realizado no Departamento de Farmacologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

* Professor Assistente-Doutor do Departamento de Farmacologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

** Acadêmico da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

*** Professor Livre-Docente do Departamento de Farmacologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

Em literatura, não se encontram dados a respeito de um possível envolvimento da nifedipina com outros eletrólitos além do cálcio. Com o intuito de contribuir para melhor compreensão da ação da nifedipina, estudou-se seu efeito sobre a distribuição de vários eletrólitos nos diferentes tecidos musculares e as conseqüentes reações cardiovasculares.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se anfíbios (*Rana castebeiana shaw*) de ambos os sexos, pesando entre 150 e 250g.

Os teores de magnésio (Mg^{2+}), cálcio (Ca^{2+}), sódio (Na^+), potássio (K^+) e zinco (Zn^{2+}) em amostras teciduais de miocárdio, átrio, aorta ascendente e músculo esquelético (gastrocnêmio) foram determinados em espectrofotômetro de absorção atômica, modelo Techtron-Varian AA 120.

Para o estudo da ação da nifedipina "in situ", determinaram-se os teores de eletrólitos nesses 4 órgãos de animais-controle e tratados com 10 mg diários p.o de nifedipina (Oxcord^R, Laboratório Biosintética), durante 10 dias.

Para o estudo "in vitro", procedeu-se à perfusão de órgãos isolados. As preparações-controle foram perfundidas durante 60 min com solução de Ringer, enquanto as preparações experimentais foram perfundidas durante os primeiros 30 min com solução de Ringer, para controle individual e, nos 30 min seguintes, com solução $1 \times 10^{-7}M$ de nifedipina (nifedipina, Laboratório Bayer) dissolvida em solução etanólica a 0,01%, sob condições que evitam fotossensibilização.

Os corações de rãs foram perfundidos sob condições de afluxo e efluxo constantes, contra uma resistência de 12 m de H₂O; determinaram-se o fluxo (ml/min), a frequência

cardíaca (bpm) e o volume sistólico (ml).

As patas posteriores foram perfundidas de acordo com a técnica de Trendelenburg, onde o afluxo pela aorta foi mantido constante e medido o efluxo pela veia abdominal (volume perfundido, ml/min).

A significância das diferenças entre duas médias foi avaliada usando-se o teste "t" não pareado de Student, com níveis de significância de 1 a 5%.

RESULTADOS

A nifedipina administrada via oral (10mg/dia) durante 10 dias não causou alterações compartimentais nos animais. No 2.º dia de tratamento, foi observado aumento ponderal de + 4,3%. O peso médio dos animais-controle foi de $255 \pm 24g$ e o grupo tratado variou de um peso médio inicial de $246 \pm 24g$ para um peso médio final de $257 \pm 31g$.

A droga provocou discreta retenção hídrica tecidual; a maior retenção ocorreu na aorta (+5%) seguida pelo músculo esquelético, miocárdio e átrio (tab. 1). Ainda conforme mostram a tabela I e a figura 1, os animais tratados com nifedipina apresentaram as seguintes alterações nos teores eletrolíticos, em comparação com as amostras de animais-controle: 1) o Mg^{2+} foi reduzido no miocárdio e no músculo esquelético e aumentado nos átrios e na aorta ascendente; 2) o Ca^{2+} foi reduzido no miocárdio e no músculo esquelético e aumentado nos átrios, não sofrendo alteração na aorta; 3) o Na^+ foi aumentado no miocárdio e reduzido no músculo esquelético; 4) o K^+ foi aumentado no miocárdio e músculo esquelético; 5) o Zn^{2+} foi aumentado na aorta e reduzido no músculo esquelético.

TABELA I - Efeito de Nifedipina nas concentrações hídricas e eletrolíticas em diferentes órgãos.

In situ após aplicação		Teor		Concentrações eletrolíticas (m moles/g tecido úmido)				
		n	H ₂ O (%)	2+	+	+	+	2+
Nifedipina via oral 10 mg/dias				Mg	Ca	Na	K	Zn
MIOCÁRDIO								
	controle	20	85.1 ± 0.8	9.5 ± 1.5	22.5 ± 5.4	42.5 ± 9.3	2.8 ± 0.9	0.43 ± 0.09
	Nifedipina	15	86.6 ± 1.8	5.3 ± 0.7 **	4.0 ± 1.1 **	50.5 ± 5.5*	12.0 ± 3.6**	0.44 ± 0.13
ÁTRIOS								
	controle	8	92.8 ± 3.3	1.6 ± 0.3	2.3 ± 0.7	45.9 ± 8.7	3.8 ± 1.1	0.40 ± 0.02
	Nifedipina	14	93.3 ± 0.9	2.5 ± 0.6 *	4.0 ± 0.7 **	39.8 ± 7.9	2.8 ± 1.1	0.37 ± 0.04
AORTA								
	controle	8	88.5 ± 4.3	1.6 ± 0.5	8.0 ± 3.9	31.9 ± 7.3	4.8 ± 1.9	0.31 ± 0.01
	Nifedipina	13	93.4 ± 3.3	2.5 ± 0.4 **	9.2 ± 4.6	34.9 ± 5.6	3.4 ± 1.2	0.51 ± 0.11 **
MIOSCULO ESQUELÉTICO								
	controle	20	77.5 ± 5.0	11.2 ± 2.2	14.0 ± 5.0	52.6 ± 7.4	8.3 ± 3.3	0.18 ± 0.1
	Nifedipina	13	30.6 ± 0.8	6.6 ± 1.1	3.7 ± 1.9 **	36.5 ± 9.5 **	20.2 ± 8.5 **	0.07 ± 0.01 **
TODOS TECIDOS								
	controle	56	86.0 ± 6.5	6.0 ± 5.1	11.7 ± 8.6	43.2 ± 5.6	4.9 ± 2.4	0.33 ± 0.1
	Nifedipina	55	88.5 ± 6.1	4.2 ± 2.1 **	5.22 ± 2.6 **	404 ± 7.0 *	9.6 ± 8.2 **	0.35 ± 0.2

* = P < 0.05

** = P < 0.01

In situ: amostras teciduais obtidas de animais controle e tratados com nifedipina, via oral (10 mg/dia) durante 10 dias. Cada valor representa a média em mmoles/g tecido úmido, ± desvio padrão.

Os efeitos da nifedipina sobre os eletrólitos, levando-se em consideração as alterações provocadas nos órgãos estudados, foram: tendência para retenção hídrica (+3%); depleção de Mg²⁺ (-30%), em consequência à depleção em miocárdio e músculo esquelético; depleção de Ca²⁺

(-55%), com efeito mais evidente no miocárdio e músculo esquelético; retenção de K⁺ (+96%), conseqüente à retenção em miocárdio e músculo esquelético; depleção de Na⁺ (-6,5%), conseqüente à depleção em músculo esquelético e retenção em miocárdio.

TABELA II - Efeito de Nifedipina nas concentrações hídricas e eletrolíticas em diferentes órgãos.

in vitro após perfusão		Teor	Concentrações eletrolíticas (m moles/g tecido úmido)					
Nifedipina (1 x 10 ⁻⁷ M)		H ₂ O (%)	2+ Mg	+ Ca	+ Na	+ K	2+ Zn	
MIOCÁRDIO								
controle	10	87.9 ± 2.3	4.9 ± 0.84	11.5 ± 4.7	29.6 ± 6.5	3.1 ± 0.8	0.35 ± 0.06	
Nifedipina	10	88.3 ± 2.4	2.4 ± 1.1**	2.5 ± 0.8**	36.5 ± 13.5	7.8 ± 3.0*	0.24 ± 0.05*	
ÁTRIOS								
controle	10	88.4 ± 2.1	2.5 ± 0.5	4.5 ± 0.8	55.9 ± 2.8	4.0 ± 0.6	0.11 ± 0.04	
Nifedipina	10	91.9 ± 2.5	2.9 ± 0.6	3.0 ± 0.9*	37.4 ± 10.1**	3.8 ± 1.1	0.13 ± 0.05	
AORTA								
controle	10	92 ± 1.8	3.8 ± 0.9	5.3 ± 0.7	31.3 ± 3.4	7.7 ± 0.8	0.17 ± 0.05	
Nifedipina	9	93 ± 2.9	5.3 ± 1.6	6.2 ± 1.9	24.4 ± 5.8*	7.2 ± 2.1	0.52 ± 0.06**	
MÚSCULO ESQUELÉTICO								
controle	13	85.5 ± 3.2	7.2 ± 1.0	12.5 ± 5.1	27.0 ± 10.4	6.4 ± 2.8	0.25 ± 0.11	
Nifedipina	13	84.4 ± 2.1	5.3 ± 0.5**	5.0 ± 1.7*	50.0 ± 10.6*	16.6 ± 4.1**	0.18 ± 0.04*	
TODOS TECIDOS								
controle	43	88.4 ± 2.7	4.6 ± 1.9	8.4 ± 4.1	35.9 ± 13.4	5.3 ± 2.1	0.22 ± 0.10	
Nifedipina	42	89.4 ± 3.9	4.0 ± 1.5	4.2 ± 1.7**	37.2 ± 10.7	8.8 ± 5.5**	0,27 ± 0.18*	

P < 0.05

P < 0.01

In vitro: amostras teciduais obtidas após perfusão de órgãos isolados (coração e patas posteriores) com Ringer (controle) seguida de Nifedipina (1 x 10⁻⁷M), durante 30 minutos- Cada valor representa a média ± DP em mmoles/g tecido úmido.

Em órgãos isolados (tab. II) perfundidos com solução de nifedipina (1 x 10⁻⁷M) verificaram-se intensas alterações eletrolíticas, associadas a uma discreta tendência para retenção hídrica tecidual (+1,1%). Os efeitos, levando-se em consideração os órgãos estudados, foram redução da concentração de Ca²⁺ (-50%) e aumento das concentrações de K⁺ (+66%) e Zn²⁺ (+23%). As maiores variações foram encontradas no miocárdio, com diminuição das concentrações de Mg²⁺, Ca²⁺ e Zn²⁺ e aumento de K⁺ no músculo esquelético onde, além dessas alterações, houve aumento acentuado de Na⁺. No átrio houve redução das concentrações de Ca²⁺ e Na⁺; na aorta o Na⁺ sofreu diminuição, enquanto que o teor de Zn²⁺ aumentou (tab. II).

Nos experimentos “in vitro”, a nifedipina provocou redução do quociente Na/K em todos os órgãos estudados enquanto que, “in situ”, esse quociente se apresentou nitidamente reduzido em miocárdio e músculo esquelético e aumentado em aorta e átrio (fig. 2).

A figura 2 apresenta também o efeito da nifedipina sobre o quociente $\frac{[Na] \times [K]}{[Mg] \times [Ca]}$, que foi se-

melhante em ambas as condições experimentais, isto é, tanto “in situ” como “in vitro”, houve nítido aumento desse quociente em miocárdio e músculo es-

quelético, em consequência à depleção tecidual de Ca²⁺ e Mg²⁺ e retenção de K⁺. Em aorta e átrios, principalmente “in situ”, houve redução devido à retenção de Mg²⁺; nos átrios essa redução esteve associada à retenção de Ca²⁺. “in vitro”, nos mesmos órgãos, a redução do quociente foi conseqüência da depleção de Na⁺.

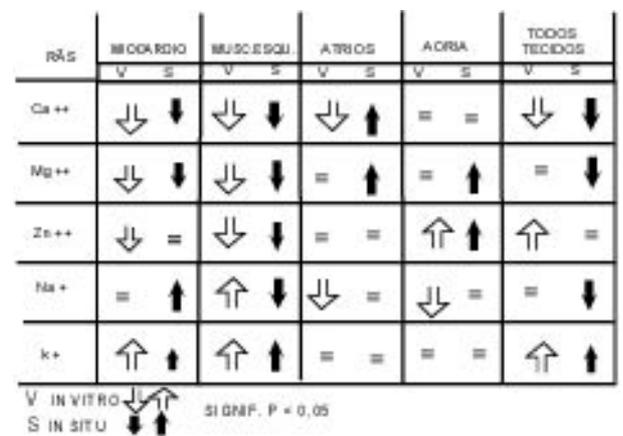


Fig. 1 - Alterações eletrolíticas provocadas por perfusão com solução de Nifedipina 1 x 10⁻⁷ M (in vitro) e por administração oral de 10 mg/dia, durante 10 dias (in situ).

Na preparação de Trendelenburg, durante a perfusão das patas posteriores de rãs com a solução de nifedipina, o fluxo foi reduzido de forma nítida, prin-

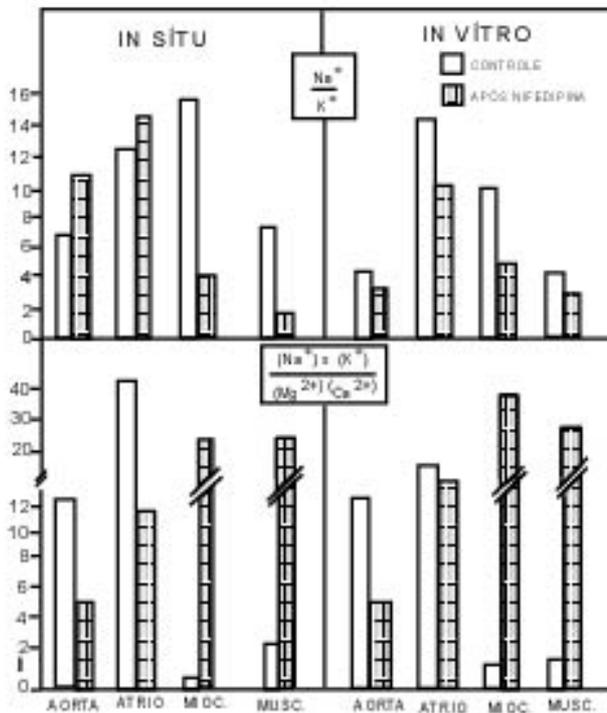


Fig. 2 - Quocientes eletrolíticos de aorta, átrio, miocárdio e músculo esquelético. **In situ** refere-se aos dados obtidos do grupo tratado com nifedipina via oral (10 mg/d. durante 10 dias) e **in vitro** aos dados obtidos de órgãos perfundidos com solução de Ringer (controle), e seguida de perfusão com nifedipina (1×10^{-7} M) durante 30 minutos.

principalmente na fase inicial da perfusão. Em seguida, o fluxo mostrou variações com alternância de gotejamento rápido e lento, simultaneamente à formação de edemas subcutâneos periféricos (fig. 3A).

No coração isolado, a perfusão com solução de nifedipina não alterou a média da frequência cardíaca, mas observou-se inicialmente um discreto e fugaz aumento da frequência. O fluxo e o volume sistólico foram diminuídos acentuadamente. Houve um declínio do desvio-padrão nesses parâmetros, indicando maior estabilização da preparação no fim de 30 minutos; durante a fase inicial da perfusão, houve variações do efeito: algumas preparações reagiram de imediato, embora fugazmente, à perfusão com nifedipina, apresentando aumento do fluxo, da frequência cardíaca e, conseqüentemente, do volume sistólico (fig. 3B).

COMENTÁRIOS

Nosso modelo experimental permitiu verificar: a) as possíveis diferenças de efeito da nifedipina quando estudada “in situ”! e “in vitro”; b) se a droga interfere na concentração tecidual de outros eletrólitos catiônicos, além do Ca^{2+} ; c) se a nifedipina provoca respostas comparáveis em diferentes tecidos, como miocárdio, músculo liso vascular e músculo esquelético.

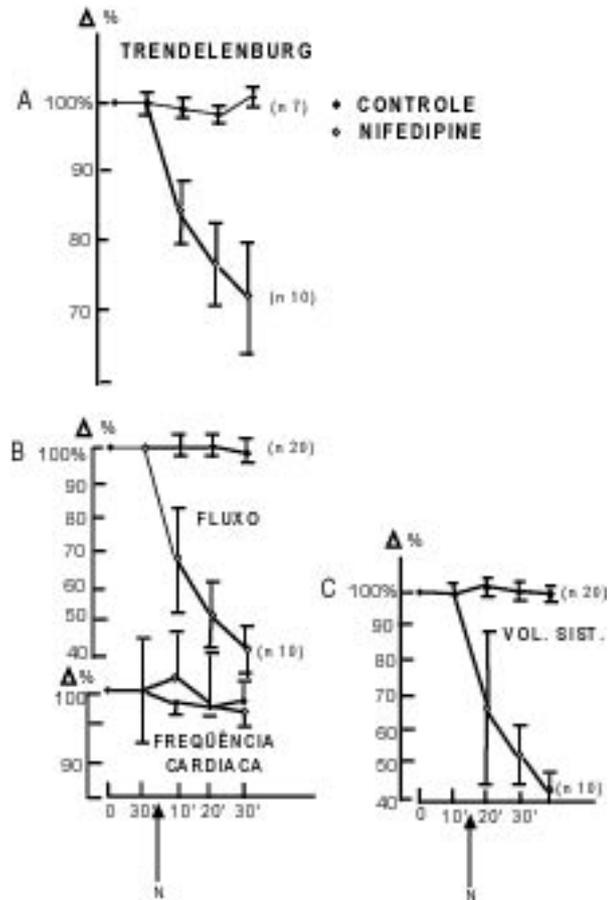


Fig. 3 - Efeitos da nifedipina (N) nos órgãos isolados de rãs. (A) variação percentual do fluxo de perfusão das patas posteriores (preparação de Trendelenburg); (B) variação percentual do fluxo de perfusão, da frequência cardíaca espontânea e (C) volume sistólico, no coração isolado.

Pelo método de análise disponível e aplicado, não é possível fazer-se distinção entre distribuição eletrolítica intra e extracelular, o que limita bastante a interpretação dos resultados.

Os dados obtidos no presente trabalho confirmam a ação inotrópica negativa da nifedipina no coração “in vitro”, já observada em outras espécies ^{4,8-11}. Esse efeito está relacionado certamente à depleção de Ca^{2+} intracelular. Na maioria das nossas preparações, o efeito inotrópico negativo foi precedido de uma fase fugaz de inotropismo e cronotropismo positivos. No primeiro contato da nifedipina com o tecido, possivelmente houve aumento da concentração de Ca^{2+} extracelular, responsável pela curta fase inicial estimulante e/ou liberação de catecolaminas do miocárdio (o miocárdio de anfíbios contém adrenalina e não noradrenalina, como transmissor simpático) ¹². É de amplo conhecimento que estruturas denervadas apresentam aumento de sensibilidade à ação de catecolaminas.

O estudo dos quocientes $\frac{[Na] \times [K]}{[Ca] \times [Mg]}$ foi efetuado para uma avaliação global das concen-

trações eletrolíticas e detecção de possíveis desvios da homeostase.

A distribuição dos eletrólitos teciduais, após perfusão de órgãos isolados “in vitro”, resulta de efeito direto da droga, enquanto que, após administração oral “in situ”, esse efeito pode ser modificado por vários fatores endógenos, resultando, então, um efeito indireto.

Em estruturas musculares, o potássio está presente predominantemente dentro da célula, enquanto que o sódio se localiza extracelularmente. Essa diferença de concentrações catiônicas em ambos os lados da membrana requer um mecanismo energético celular. Qualquer alteração das concentrações implica excitabilidade tecidual. A distribuição transcelular de potássio depende de pH, da ação de catecolaminas e de insulina. A nifedipina provocou redução do quociente Na/K em miocárdio e músculo esquelético, tanto “in situ”, como “in vitro”. Em átrios e aorta, os efeitos foram diferentes de acordo com o tipo de experimentação, isto é, redução “in vitro” e aumento “in situ”, refletindo, provavelmente, um efeito indireto.

No quociente $\frac{[\text{Na}] \times [\text{K}]}{[\text{Ca}] \times [\text{Mg}]}$, o produto [Na] x

[K] representa fatores envolvidos na excitação tecidual e o produto [Ca] x [Mg], processos energéticos e contráteis da musculatura. Independentemente das condições experimentais, a nifedipina provocou nítido aumento desse quociente em miocárdio e músculo esquelético de rãs, devido à depleção tecidual de cálcio e magnésio e retenção de potássio. Nos átrios, na aorta, a diminuição do quociente resulta da retenção de magnésio (maior “in situ”) e depleção de sódio (maior “in vitro”) (fig. 1 e 2).

As variações nas concentrações de cálcio, de acordo com a via de administração (nos átrios; “in vitro”, depleção, “in situ”, retenção) e de sódio (no músculo esquelético: “in vitro”, retenção; “in situ”, depleção) podem estar associadas a mecanismos indiretos, como por exemplo, alterações da atividade do sistema renina-angiotensina^{13,14}. Do mesmo modo, a captação de potássio (no miocárdio e músculo esquelético “in vitro” e “in situ”), pode estar relacionada com catecolaminas liberadas e sua ação sobre receptores adrenérgicos¹⁵.

Por outro lado, somente “in situ” é observada uma tendência para retenção hídrica tecidual, indicando uma possível efeito indireto hormonal.

Segundo Naylor¹⁶, a nifedipina age seletivamente inibindo o influxo de Ca^{2+} pelos canais lentos voltagem dependentes, sem interferir com a cinética do próprio canal, nem com os canais rápidos de Na^+ . Em consequência, não há alteração do potencial de ação¹⁷ mas, com a menor concentração intracelular de cálcio livre, há depressão do mecanismo contrátil. A região da superfície interna da membrana celular é o lugar de armazenamento e liberação de cálcio, do qual dependem as contrações^{18,19}. A nifedipina, à semelhança de outros antagonistas de cálcio,

é uma droga lipofílica capaz, portanto, de penetrar nas células; as propriedades antagonônicas relacionam-se com a interferência na entrada e distribuição de cálcio na face interna da membrana celular²⁰. A redução da concentração de cálcio intracelular, especialmente na área da superfície interna da membrana, constitui fator inibitório para a corrente de efluxo de potássio; assim se explica porque a nifedipina não altera a duração da fase 2 (platô) do potencial de ação²¹.

A nifedipina age sobre os tecidos de anfíbios (rãs) da mesma maneira, sobre o miocárdio e músculo esquelético, com depleção de cálcio. Ambos os tecidos contêm o sistema T-tubular, um retículo sarcoplasmático bem evoluído; a tropomina é o local da regulação de cálcio, enquanto que na musculatura lisa é a miosina. No miocárdio, a contratibilidade depende do influxo de cálcio e de sua liberação da parte interna da membrana celular; na musculatura esquelética, a intensidade das contrações depende do cálcio livre intracelular. A reação inotrópica negativa observada no coração isolado parece estar atenuada quando a nifedipina é administrada oralmente, por retenção de cálcio nos átrios.

Nos tecidos onde foi encontrada depleção de cálcio (miocárdio e músculo esquelético), as concentrações de potássio foram aumentadas pela nifedipina, representando mais as concentrações intra do que extracelulares. Para as experiências “in vitro”, pode-se supor que o aumento de concentração de potássio nesses tecidos seja consequência da diminuição celular de cálcio. “In situ”, pela possível ação indireta da nifedipina, catecolaminas favoreceriam a captação de potássio nos tecidos.

A nifedipina depletou magnésio nos tecidos e estruturas que contêm túbulos transversais, como miocárdio e músculo esquelético e não nos tecidos ricos em fibras elásticas e colágenas, como átrio e aorta e nas fibras da musculatura lisa (aorta). O magnésio extracelular compete com o cálcio ligado à membrana celular; um excesso de magnésio extracelular, por ação direta sobre a musculatura lisa, causa vasodilatação. Intracelularmente, o magnésio também pode competir com o cálcio em sítios específicos para certos cátions bivalentes. O fato de o raio iônico do magnésio ser menor (0,78 Å) do que o do cálcio (1,06 Å) facilitaria a substituição de cálcio por magnésio²².

Independente das vias de administração, a nifedipina causou nítida retenção de zinco na aorta e depleção na musculatura esquelética. Parece que as variações de zinco encontradas na aorta, principalmente na sua parte ascendente, refletem uma ação sobre o sistema enzimático endotelial, sendo a enzima conversora de angiotensina (ACE) uma metaloenzima (dipeptil carboxipeptidase)²³. Essa observação poderia explicar dados clínicos que relatam ações

diferentes da nifedipina em pacientes normo e hipertensos²⁴.

Por outro lado, fatores que alteram a concentração de cálcio, interferem também com os teores de zinco. Um exemplo seria a queda de concentração do zinco circulante, quando do uso de quelantes de cálcio²⁵. Outro sistema possivelmente envolvido seria a histidin-carboxilase, também uma zinco-metaloenzima, essencial para a síntese de histamina²⁶.

A nifedipina é considerada um agente relaxante da musculatura lisa vascular²⁷; clinicamente tem sido demonstrado que a droga aumenta a circulação periférica pela dilatação arterial²⁸. Em preparações de vasos isolados, foi demonstrado que a nifedipina inibe e bloqueia as contrações induzidas por cálcio, potássio, serotonina, histamina e noradrenalina na musculatura lisa vascular. Os autores concluíram que a nifedipina age no segmento terminal arterial pré-capilar e tem pouca atividade na área pós-capilar ou venular^{29,30}. O mecanismo contrátil da musculatura lisa depende do transporte transmembrana de cálcio; a inibição desse transporte determina menores contrações.

Van Meel e col.³¹ verificaram que os bloqueadores da entrada de cálcio inibem, de forma efetiva e específica, as respostas pressoras decorrentes da estimulação dos receptores adrenérgicos alfa 2 pós-sinápticos, impedindo o influxo de cálcio nas fibras da musculatura lisa vascular. Por outro lado, os autores não encontraram um antagonismo alfa, para vasoconstrição arteriolar. É de esperar que a resposta seja diferente quando se trata de estruturas denervadas. Tem sido demonstrado que a denervação de um órgão retém noradrenalina, sem alterar a concentração de adrenalina e que agentes que inibem uma vasoconstrição adrenérgica causam um desvio de líquido do compartimento intersticial para o compartimento vascular, em consequência do efeito sobre vasos pré e pós-capilares de resistência³².

Na preparação de Trendelenburg, a imediata diminuição do fluxo de perfusão das patas posteriores isoladas e desnervadas indica que a nifedipina certamente não possui ação vasodilatadora. A observação de acentuada variação do fluxo, com redução global do mesmo e a formação de edema, sugere uma variação rítmica (ciclos de 30 segundos até 1 minuto) de resistência ao fluxo pelos vasos pré-capilares, em combinação com um aumento da permeabilidade da parede capilar e venular. Pequenos vasos pré-capilares e esfíncteres capilares relaxam e contraem-se espontaneamente, independente da inervação³³. A distensibilidade das paredes vasculares é uma propriedade passiva, que depende das fibras elásticas existentes na parede vascular, assim, de acordo com a lei de Poyseulle-Hagen, pequenas variações da pressão intravascular podem causar grandes variações do fluxo.

A proporção de elementos contráteis-elásticos é variável nos vasos arteriais e venosos. No lado arterial (da aorta

até as arteríolas pré-capilares), na proporção em que o conteúdo de partes elásticas se reduz, aumentam as fibras da musculatura lisa. No lado venoso, os vasos de capacitância (veias e vasos pulmonares) contêm maiores quantidades de elementos. Da observação que a nifedipina provoca retenção de magnésio em tecido rico em fibras elásticas (aorta ascendente), pode-se inferir que o mesmo ocorra na parte venosa. Em veias isoladas de ratos, sob condições de reduzidas concentrações de magnésio extracelular, houve aumento da atividade rítmica espontânea, decorrente de estímulos mecânicos³⁴. As variações eletrolíticas (Mg^{2+} e Ca^{2+}) tornaram o sistema vascular sensível à distensão, respondendo com contrações e, desse modo, apresentando um fluxo intermitente.

Resumindo, a nifedipina provocou efeito inotrópico negativo no coração isolado da *Rana catesbeiana shaw*, confirmando os resultados observados em outras espécies. Na perfusão das patas posteriores, a nifedipina alterou o gradiente arteriovenoso, com conseqüente variação do fluxo, ou seja, diminuição inicial seguida de fluxo alternante, simultaneamente com a formação de edema. A nifedipina alterou as concentrações catiônicas teciduais, principalmente de cálcio, magnésio, zinco e potássio. É possível que as diferenças encontradas de acordo com o tipo de experimentação (“in situ” e “in vitro”), principalmente em relação ao cálcio nos átrios e ao sódio na musculatura esquelética, estejam relacionadas com uma interação com fatores endógenos.

SUMMARY

Direct negative inotropic effects of nifedipine on the isolated heart were not observed, when the drug was administered orally, suggesting an indirect attenuating effect of the drug. The cationic tissue concentrations were studied in vitro and in situ in amphibians so as to elucidate the direct and indirect effects of the drug. The following points were examined in vitro: 1) the inotropic effect on the isolated heart, perfused with nifedipine ($1 \times 10^{-7}M$); 2) the peripheral circulation in the Trendelenburg preparation. After oral administration (10 mg/day during 10 days), in situ analysis of the tissue samples was for Zn^{++} , Mg^{++} , Na^{+} and K^{+} in an atomic absorption spectrophotometer (Techtron AA 120). The results confirm the direct negative inotropic effects on the isolated frog heart. In the perfused tissue, these studies indicated Mg^{++} and Ca^{++} depletion and K^{+} retention in the myocardial and skeletal muscle, while in the atria and aorta there was Na^{+} depletion. After oral administration, in situ, Na^{+} depletion in the muscle and Ca^{++} and Mg^{++} retention in the atria and aorta were observed. We conclude therefore that nifedipine acts in different ways in the various tissue structures; the different direct and indirect effects may be related to Na^{+} and K^{+} conductancy.

REFERÊNCIAS

1. Fleckenstein, A. - Specific pharmacology of calcium in myocardium, cardiac pacemakers and vascular smooth muscle. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 17: 149, 1977.
2. Millard, R. W.; Lathrop, D. A.; Grupp, G.; Ashraf, M.; Grupp, J.; Schwartz, A. - Differential cardiovascular effects of calcium channel blocking agents: potential mechanisms. *Am. J. Cardiol.* 49: 499, 1982.
3. Batlouni, M. - Bloqueadores dos canais de cálcio. *Arq. Bras. Cardiol.* 44: 423, 1982.
4. Armelin, E.; De Oliveira, M. A.; Liy, F. M.; Silva, R. I. N.; Bittencourt, D.; Macruz, R.; Jatene, A.; Pileggi, F. - Estudo da ação da nifedipina em coração isolado e vasos. *Arq. Bras. Cardiol.* 43: 115, 1984.
5. Sperelakis, N.; Schneider, J. A. - A metabolic control mechanism for calcium ion influx that may protect the ventricular myocardial cell. *Am. J. Cardiol.* 37: 1079, 1976.
6. Chipperfield, B.; Chipperfield, J. R. - Magnesium and the heart. *Am. Heart J.* 93: 629, 1977.
7. Faintuch, J. J.; Faintuch, J.; Serro Azul, L. G. - O magnésio em cardiologia. *Arq. Bras. Cardiol.* 40: 369, 1983.
8. Robson, R. H.; Vishwanath, M. C. - Nifedipine and betablockade as a cause of cardiac failure. *Br. Med. J.* 284: 104, 1992.
9. Zsoter, T. T. - Calcium antagonist. *Am. Heart J.* 99: 805, 1980.
10. Chiba, S.; Furukawa, Y.; Kobayashi, M. - Effect of nifedipine on frequency-force relationship in isolated dog left ventricular muscle. *Jpn. J. Pharmacol.* 28: 783, 1978.
11. Anderson, K. E.; Hoegstaett, E. D. - On the mechanism of calcium antagonist. *Proceedings of a Symposium in Gothenburg, Sweden, 1982. Acts. Med. Scand. (Suppl. 681):* 11, 1984.
12. Grundy, H. F. - Cardiovascular system. In Grundy, H. F. ed. - *Lecture Notes on Pharmacology.* Oxford, London, Edinburgh, Boston, Palo Alto, Melbourne, Blackwell Scientific Publications, 1985. p. 212.
13. Keeton, T. K.; Campbell, W. B. - Control of renin release and its alteration by drugs. In Anotonaccio, M. ed. - *Cardiovascular Pharmacology, 2.^a ed.* New York, Raven Press, 1984. p. 65.
14. Keeton, T. K.; Campbell, W. B. - The pharmacologic alteration of renin release. *Pharmacol. Rev.* 32: 81, 1980.
15. Weiner, N.; Taylor, P. - Neurohumoral transmission: the autonomic and somatic motor nervous systems. In Gilman, A. G.; Goodman, L. S.; Rall, T. W., Murad, F. eds. - *The Pharmacological Basis of Therapeutics, 7.th ed.* New York, MacMillan Publishing Co, 1985. p. 73.
16. Nayler, W. G.; Poole-Wilson, P. - Calcium antagonists: definition and mode of action. *Basic Res. Cardiol.* 76: 1, 1981.
17. Bayer, R.; Rodenkirchen, R.; Kaufmann, R. - The effects of nifedipine on contraction and monophasic action potential of isolated cat myocardium. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 301: 29, 1977.
18. Langer, G. A. - Events at the cardiac sarcolemma: localization and movement of contractile dependent calcium. *Fed. Proc.* 35: 1274, 1976.
19. Langer, G. A. - Excitation-contraction coupling: the structure and function of the myocardial cell surface. *Am. J. Physiol.* 235: 461, 1978.
20. Hescheler, J.; Pelzer, D.; Trube, G.; Trautwein, W. - Does the organic calcium channel blocker D600 act from inside or outside on the cardiac cell membrane? *Pflugers Arch.* 393: 287, 1982.
21. Kass, R. S.; Tsien, R. W. - Multiple effects of calcium antagonists on plateau currents in cardiac Purkinje fibers. *J. Gen. Physiol.* 66: 169, 1975.
22. Altura, B. M.; Altura, B. T. - Magnesium and contraction of arterial smooth muscle. In Aikawa, J. K. ed. - *Magnesium: its biologic significance.* Boca Raton, CRC Press, 1918. p. 77.
23. Ondetti, M. A.; Rubin, ; Cushman, D. W. - Design of specific inhibition of angiotensin-converting enzyme: new class of orally active antihypertensive agents. *Science*, 196: 441, 1977.
24. Corea, L.; Miele, N.; Bentivoglio, M.; Boschetti, E.; AgabitiResei, E.; Mutesan, G. - Acute and chronic effects of nifedipine on plasma renin activity and plasma adrenaline and noradrenaline in controls and hypertensive patients. *Clin. Sci.* 57: 115, 1979.
25. Proksch, E.; Koelmel, K. - Zinkmangelssyndrom als Nebenwirkung von Chelatbildnern. *Dtsch. med. Wschr.* 110: 1001, 1985.
26. Schmidt, K.; Bayer, W. - Die Bedeutung des Zinks in der Medizin: Mineralien und Spurenelemente in Klinik and Praxis. Heidelberg, Verlag fuer Medizin Dr. Ewald Fischer, 1983.
27. Fleckenstein-Grun, G.; Fleckenstein, A. - Calcium-Antagonismus, ein Grundprinzip der Vasodilation. In Fleckenstein, A.; Toakamm, M. eds. *Calcium Antagonismus,* New York, BerlinHeidelberg, Springer-Verlag, 1980. P. 191.
28. Needleman, P.; Corr, P. B.; Johnson Jr., E. M. - Drugs used for the treatment of angina, organic nitrates, calcium channel blockers, and b-adrenergic antagonists. In Gilman, A. G.; Goodman, L. S.; Rall, T. W.; Murad, F. eds. - *The Pharmacological Basis of Therapeutics, 7.^a ed.* New York, MacMillan Publishing Co. 1985. p. 806.
29. Robinson, B. F.; Dobbs, R. J.; Kelsey, C. R. - Effects of nifedipine on resistance vessels, arteries and veins in man. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 10: 433, 1980.
30. Mosbeck A.; Partsch, A.; Perschl, L. - Extracardial effects of nifedipine: measurements of liver bloodflow in animal and human and peripheral circulation in the lower limbs. In Hashimot, K. et al. eds. - *International Nifedipine "Adalat" symposium, 1, Tokyo, 1975.* p. 136.
31. Van Meel, J. C. A.; De Jonge, A.; Kalkman, M. O. et al. - organic and inorganic calcium antagonist reduce vasoconstriction in vivo mediated by post synaptic 2 adrenoceptors *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 316: 228, 1981.
32. Hollenberg, N. K.; Nickerson, M. - Changes in pre and postcapillary resistance in pathogenesis of hemorrhagic shock. *Am J. Physiol.* 219: 1483, 1970.
33. Baum, T. - Fundamental principles governing regulation of circulation function. In: Antonaccio, M. ed. - *Cardiovascular Pharmacology, 2.^a ed.* New York, Raven Press, 1984. p. 1.
34. Altura, B. M.; Altura, B. T. - Extracellular magnesium and contraction of vascular smooth muscle in excitation-contraction coupling in smooth muscle. In Casteels, R.; Godfroid, T.; Ruegg, T. C. eds. *Proc. Int. Symp. Excitation-Contraction Couplings in smooth Muscle.* Amsterdam, Elsevier, 1977. p. 137.