

ENALAPRIL. E PROTEÇÃO DO MIOCÁRDIO AO ESTRESSE PELO FRIO

CELSE FERREIRA, RUI PÓVOA, NELSON KASINSKI, NEIF MURAD, OSWALDO MOSA,
CELSE FERREIRA FILHO, MARCELO FERREIRA
São Paulo, SP

Objetivo - estudar o possível efeito protetor do enalapril ao miocárdio submetido ao estresse pelo frio, pela análise ultra-estrutural das mitocôndrias.

Métodos - Foram utilizados 15 ratos albinos, machos, adultos, com peso variando de 270 a 300 g e divididos em 4 grupos. O grupo A recebeu dieta normal, o grupo B dieta normal e enalaprilato 1,0 mg/Kg IP, o grupo C dieta hipersódica por 7 dias e indometacina 1,0 mg/Kg IP e o grupo D recebeu, além da dieta hipersódica por 7 dias, indometacina 1,0 mg/kg IP e enalaprilato 1,0 mg/Kg IP, e o último grupo serviu de controle. Em seguida, os animais dos grupos A, B, C e D foram submetidos ao estresse pelo frio. Fragmentos do VE foram obtidos para microscopia eletrônica, e a ocorrência de alterações mitocondriais foi considerada como critério de avaliação do efeito cardioprotetor.

Resultados - Houve ocorrência de cristólise em 16,2% no grupo A; 19,5% no grupo C; 3,2% no grupo B e 8,8% no grupo D.

Conclusão - O enalaprilato protege o cardiomiócito da lesão mitocondrial provocada pelo frio.

Palavras-chave enalapril, estresse, proteção miocárdica.

ENALAPRIL AND MYOCARDIAL PROTECTION FROM STRESS BY COLD

Purpose - To evaluate the myocardial protective effect of enalaprilat in rats submitted to stress by cold.

Methods - Fifteen adults, male rats were studied. They were allocated into four groups: group A received unrestricted diet + intraperitoneal (IP) diluent; group B: unrestricted diet + IP enalaprilat 1.0 mg/Kg; group C. high salt diet (HD) for seven days + IP indomethacin 1.0 mg/kg and group D received high salt diet for seven days + IP indomethacin 1.0 mg/Kg + IP enalaprilat 1.0 mg/Kg. Three animals were the control group. The animals of the groups A, B, C and D were then submitted to stress by cold. Fragments on the left ventricle were obtained for electron microscopy and the occurrence of mitochondrial lysis or preservation of the mitochondrial ultrastructure were considered as parameter for myocardial protective effect evaluation.

Results - Crystolysis (partial or total) was observed in 16.2% group A; 19.5% of group C; 3.2% of group B and in 8.8% of group D.

Conclusion - Enalaprilat protects the cardiomyocyte from the stress by cold.

Key words enalaprilat, stress, myocardial protection.

Arq Bras Cardiol 58/6: 457-460 - Junho 1992

Os mecanismos de ação dos inibidores da enzima conversora da angiotensina (IECA) ain-

da não estão de todo elucidados. Para a terapêutica da hipertensão arterial sistêmica, existem pelo menos dois caminhos principais, que levam a diminuição da resistência vascular sistêmica.

Um deles é dependente das prostaglandinas e, o outro, da diminuição da vaso-constricção proporcionada pela angiotensina II. Existe tam-

Escola Paulista de Medicina.
Correspondência: Celso Ferreira –
Pça Amadeu Amaral, 47, 7º, conj 72 – 01327 – São Paulo, SP.
Recebido para publicação 19/4/91
Aceito em 2/12/91

bém a possibilidade do bloqueio do influxo simpático por ação central.

Para a terapêutica da insuficiência cardíaca, admite-se a diminuição de pós-carga pela vasodilatação. No entanto, chama a atenção na prática clínica, a desproporção, entre a dose e o efeito proporcionado pela droga. Assim não é despropositada a hipótese de que, este fármaco apresente outras ações ainda não elucidadas, para justificar efeitos que acompanham a ação vasodilatadora já bem conhecida. É plausível que mecanismos de ação molecular, como por exemplo a preservação da ATP, cuja diminuição está demonstrada na insuficiência cardíaca, sejam responsáveis também por resultados observados no tratamento da descompensação cardíaca¹⁻³.

Assim sendo, os autores deste trabalho procuraram estudar o efeito do enalapril na conservação da energia produzida pelas mitocôndrias. Utilizaram, como modelo de estudo experimental, a ultra-estrutura do miocárdio ventricular e a avaliação quantitativa e qualitativa da integridade das mitocôndrias de ratos submetidos ao estresse pelo frio.

Para objetivar a ação do frio e o possível efeito protetor do enalapril, consideram o "índice de cristólise", definido como o percentual de mitocôndrias alteradas (vacuolizadas) e as normais. As condições experimentais do modelo pretenderam provocar um aumento da liberação de catecolaminas e com isto a demanda excessiva de oxigênio⁴, fato que também ocorre na descompensação cardíaca. Em decorrência, ocorre lesão mitocondrial e a conseqüente diminuição da ATP. Na insuficiência cardíaca, portanto, existe um substrato ultra-estrutural alterado, evidenciado pela alteração da integridade mitocondrial e a conseqüente diminuição do ATP, combustível energético fundamental para contração da fibra cardíaca. Dai o objetivo dos autores em pesquisarem meios farmacológicos que preservem as mitocôndrias e, conseqüentemente, o conteúdo energético disponível para a função contrátil do coração.

MÉTODOS

Foram utilizados 15 ratos (*rattus norvegicus*, *albinus rodentia mammalia*), machos, adultos da colônia 2BAW (Butantan Albinus Wistar, 2 colônia Ribeiro do Valle, 1949), com peso variando entre 270 e 300g.

Três animais constituíram o grupo controle, e os demais foram subdivididos em 4 grupos

diferentes no que se refere a dieta e ao uso de drogas por via intraperitoneal. Todos foram submetidos ao estresse pelo frio, condicionado pela diminuição da temperatura do ambiente a - 8°C, em que foram colocados durante 6 h.

Os grupos foram os seguintes: a) dieta normal mais diluente IP; b) dieta normal mais enalaprilato IP (1,0 mg/kg/peso); c) dieta hipersódica (1g de NaCl/kg/peso) durante uma semana mais indometacina IP (1,0 mg/kg/peso); d) dieta hipersódica (1g de NaCl/kg/peso) durante uma semana mais enalaprilato IP (1,0 mg/kg/peso) e indometacina 1,0 mg/kg IP.

Em seguida os ratos foram sacrificados e obtidos fragmentos do ventrículo esquerdo, que foram processados para análise em microscopia eletrônica (ME), obtendo-se micrografias 7x7 com ampliação para 18x24.

RESULTADOS

Os resultados da análise ultra-estrutural das mitocôndrias encontram-se na tabela I.

Verifica-se que nos grupos A e C houve percentual de cristólise mais elevado do que nos grupos B e D. Esta diferença mostrou-se signi-

TABELA I—Análise ultra-estrutural das mitocôndrias.

	Mitocôndrias			%
	Íntegras	Cristólise	Total	
Controle	420	12	432	2,8%
A	274	53	327	16,2%*
B	151	5	156	3,2%
C	194	47	241	19,5%*
D	330	32	362	8,8%

A≠B (x² = 15,6 x² crit = 3,84); C≠D (x² = 4,2 x² crit = 3,84); * p < 0,05.

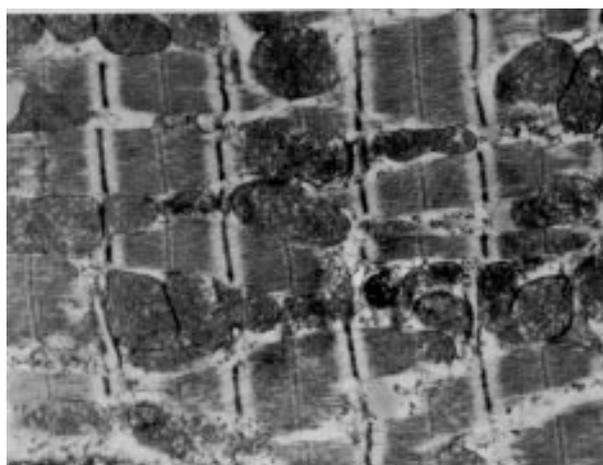


Fig. 1 - Ultra-estrutura miocárdica de ratos normais, não submetidos ao frio.

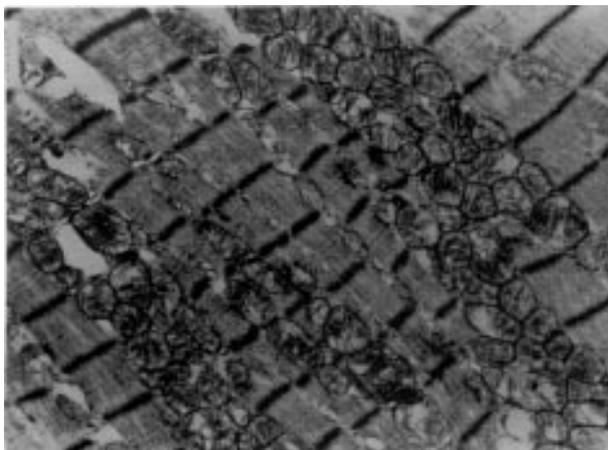


Fig. 2 - Ultra-estrutura miocárdica de ratos submetidos ao frio após injeção de enalaprilato intra-peritoneal.

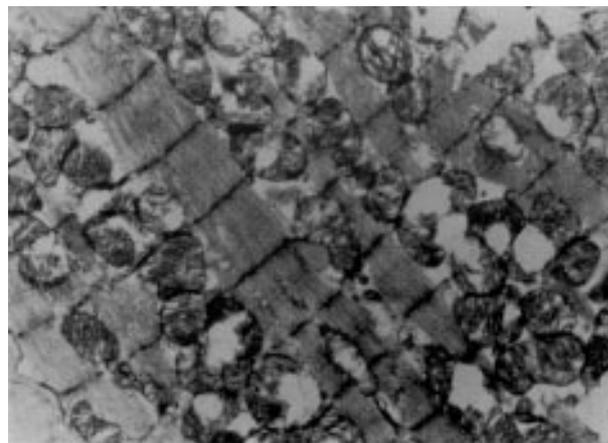


Fig. 3 - Ultra-estrutura miocárdica de ratos submetidos ao estresse pelo frio.

ficante quando analisada pelo teste do Qui-quadrado. Observa-se na figura 1 a ultra-estrutura miocárdica de ratos normais não submetidos ao estresse pelo frio, onde se nota a integridade das mitocôndrias, e o pequeno número de vacúolos no interior destas organelas. Na figura 3 observa-se que nos ratos submetidos ao estresse pelo frio há lise das cristas e vacuolização das mitocôndrias em grande intensidade. Na figura 2 observa-se que após injeção de enalaprilato IP, a ocorrência de lise de cristas e vacuolização é significativamente menor.

COMENTÁRIOS

Os autores pretenderam demonstrar a existência de outros mecanismos de ação dos IECA, além da vasodilatação já suficientemente elucidada. Para tanto, procuraram impedir a vasodilatação proporcionada pelo IECA, bloque-

ando o sistema renina angiotensinogenio- angiotensina (SRAA) pela oferta de sal em excesso (1 g/kg/ peso/dia durante uma semana) e a vasodilatação proporcionada pelas prostaglandinas utilizando um inibidor de sua síntese; no caso a indometacina.

Nos grupos A e C houve uma diferença significativa $p < 0,001$, quando comparados estes grupos com os grupos B e D, nos quais os ratos receberam previamente o enalaprilato.

Desta forma, pela visualização da ultra-estrutura miocárdica constata-se a preservação de seu aspecto morfológico quando utiliza-se este inibidor da enzima conversora, mesmo com a inibição dos mecanismos que condicionam a vasodilatação. Os dados de literatura mencionam a proteção miocárdica utilizando modelos experimentais diferentes, tais como a ligadura experimental de coronária de cães com a utilização prévia de captopril^{5,6}, ou a constatação clínica quando da utilização deste fármaco em portadores de IAM submetidos à trombólise⁷. Comparando nossos resultados com os resultados de Ferrans e Roberts⁸, que realizaram hipóxia aguda em ratos desencadeando o aumento de consumo de oxigênio pelo miocárdio, verificamos que existe uma nítida semelhança quanto as alterações mitocondriais.

De acordo com a opinião de Dzau e col⁹, o efeito protetor do captopril estaria ligado, também, a quelação de radicais livres, liberados por ocasião da isquemia miocárdica. Lembram que este medicamento apresenta sulfidril em sua molécula, freqüentemente presente em quelantes de radicais livres. Inferiram daí, que esta propriedade do captopril seria decorrente da presença de radicais sulfidril em sua fórmula estrutural, o que não ocorreria com o enalaprilato desprovido desta propriedade. Estas afirmações não foram corroboradas pelo presente trabalho, visto que constatou-se a proteção da ultra-estrutura miocárdica, visualizada pela microscopia eletrônica no coração de ratos submetidos ao estresse pelo frio, na presença do enalaprilato previamente aplicado. Aventam ainda, os autores deste trabalho, a possibilidade do enalapril bloquear o influxo simpático, e assim permitir a preservação de ATP e levando a proteção miocárdica¹⁰.

Concluindo, 1) o estresse pelo frio ocasiona lesão ao cardiomiócito constatado pela ME e quantificada pelo índice de cristólise; 2) a utilização do enalaprilato, previamente ao estresse, protege o cardiomiócito, fato constatado pela redução do índice de cristólise; 3) a proteção

ao cardiomiócito continua presente com a injeção do enalaprilato, mesmo após o bloqueio do SRAA por dieta hipersódica e inibição da síntese de prostaglandinas por indometacina, decorrendo, portanto, de outras propriedades dos IECA, independentes da vasodilatação.

REFERÊNCIAS

1. Lindenmayer GE, Sordahal LA, Schwartz A – Reevaluation of oxidative phosphorylation in cardiac muscle from normal animals and animals in heart failure. *Cir Res*, 1968; 23: 439-41.
2. Plaut GWE, Gertler MM – Oxidative phosphorylation studies in normal and experimentally produced congestive heart failure in the guinea pig: a comparison. *Ann NY Acad Sci*, 1959; 72: 5 15-22.
3. Sobel BE, Spann JF, Pool PE – Normal oxidative phosphorylation in mitochondria from failing heart. *Circ Res*, 1967; 21: 355-9.
4. Selye H – The alarm reaction. *Canad Med Ass J*, 1936; 34: 706-14.
5. Ertl G, Kloner RA, Alexander RW, Braunwald E – Limitation of experimental infarct size by angiotensin-converting enzyme inhibitor. *Circulation*, 1982; 65: 40-8.
6. McAlpine HM, Morton JJ, Leckie B, Dargie HJ – Hemodynamic effects of Captopril in acute left ventricular failure complicating myocardial infarction. *J Cardiovasc pharmacol*, 1987; 9: S 25-40.
7. Kingma JH, Louwerenburg HW, Six AJ, Gilst WH, Graeff RA, DeVries RJM – Concomitant use of captopril during thrombolytic therapy in acute myocardial infarction. In: Sonnenblick EH, Laragh JH, Lesch M (ed) – *New Frontiers in Cardiovascular Therapy – Focus on Angiotensin Converting Enzyme Inhibition*. Excerpta Medica Amn Elsevier Company Princeton, 1989; p 277-285.
8. Ferrans VJ, Roberts WC – Myocardial ultrastructure in acute and chronic hypoxia. *Cardiology*, 1971; 56: 146-60.
9. Dzau VJ – Autocrine-paracrine rennin-angiotensin systems in cardiorenal regulation and pharmacology of ace inhibitors. In: Sonnenblick EH, Laragh JH, Lesch M (ed) – *New Frontiers in Cardiovascular Therapy: Focus on Angiotensin Converting Enzyme Inhibition*. Excerpta Medica an Elsevier Company, Princeton, 1989; p 13-28.
10. Antonaccio MJ, Kerwin L – Pre-and postjunctional inhibition of vascular sympathetic function of c aptopril in SHR: Implication of vascular angiotensin II in hypertension and antihypertensive actions of captopril. *Hypertension*, 1981; 3 (suppl I): 1-54.