

EFEITOS DA ADENOSINA EM ARRITMIAS INDUZIDAS
POR OUABAINA

por

ROSALVO TADEU HOCHMÜLLER FOGAÇA

Tese
615.1
FG83e
1987

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação
em Farmacologia como requisito parcial para obtenção
do Grau de Mestre.

FC-00002637-4

FORTALEZA, 1987

Esta Dissertação foi submetida como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Farmacologia, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, e encontra-se à disposição dos interessados na Biblioteca Central da referida Universidade.

ROSALVO TADEU HOCHMÜLLER FOGAÇA

Dissertação aprovada em:

Dr. José Henrique Leal Cardoso
Prof. Adjunto de Fisiologia da UFC.
- Orientador da Dissertação -

Dr. Marcus Raimundo Vale
Prof. Adjunto de Fisiologia da UFC.

Dr. Pedro José Negreiros de Andrade
Prof. Adjunto de Fisiologia da UFC.

UFC	BIBLIOTECA GENERAL
Nº.	512591
01 / 10 / 98	

UFC
BIBLIOTECA GENERAL

UFC	BIBLIOTECA GENERAL	
Nº.	995	
03	04	1989

Este trabalho foi realizado com suporte financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES); Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e da Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP).

AGRADECIMENTOS

Meus agradecimentos ao Prof. José Henrique Leal Cardoso, pela sugestão do tema desta dissertação, pela orientação durante a fase de investigação e apoio dedicados durante a elaboração desta tese.

Sou grato aos professores Kleber Gaspar da Silva e Reno Rogério Vieira, do Centro de Ciências Agro-Veterinárias da Fundação Educacional de Santa Catarina, pelo incentivo dado no início de minha formação científica, bem como aos professores do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará.

Agradeço ao Prof. Jairo Diniz Filho e, "in memoriam", ao Prof. Aldo Francisco Castelon, pela preciosa colaboração e companheirismo. Sou também grato pelo apoio recebido, aos professores Jamil A. Filho, Fernando Q. Cunha, Carlos A. Flores, Vietla Sattyanarayna Rao e Francisca Eloisa Pinheiro Marques.

Agradeço aos Srs. José Valdir de Oliveira e José Maria Ferreira pelo apoio técnico laboratorial e ao Sr. Adriano José da Costa Sampaio pelo excelente trabalho datilográfico.

Meus agradecimentos a minha filha Rafaela e minha esposa Eliete pela compreensão, dedicação e carinho dados durante todas as fases deste trabalho.

Agradeço, pelo apoio financeiro recebido as instituições: CAPES, CNPq, FINEP e Universidade Estadual do Ceará.

Dedico esta tese aos meus pais, D. Nena "in memoriam" e Oswaldo Fogaça.

INDICE

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	01
1.1 Propriedades eletrofisiológicas do coração.....	01
1.2 Homeostasia do íon cálcio intracelular.....	05
1.2.1 Corrente lenta de íons cálcio.....	06
1.2.2 Retículo sarcoplasmático.....	08
1.2.3 Mitocôndrias.....	09
1.2.4 Sistema da troca $\text{Na}^+ \rightleftharpoons \text{Ca}^{++}$	10
1.2.5 Bomba de cálcio localizada no sarcolema.....	12
1.3 Mecanismos de regulação da atividade elétrica cardíaca normal.....	12
1.4 Arritmias cardíacas.....	13
1.4.1 Arritmias devido à geração de impulso anormal.	14
1.4.1.1 Arritmias causadas pelas células que apresen <u>tam</u> automaticidade normal.....	14
1.4.1.2 Arritmias causadas por automatismo anormal..	14
1.4.1.3 Arritmias causadas por pós-despolarizações ("Triggered Acitivity").....	14
1.4.2 Arritmias devido condução anormal do impulso e reentrada do estímulo.....	17
1.5 Efeitos eletrofisiológicos dos digitálicos.....	18
1.6 Efeitos cardíacos da adenosina.....	19

	Página
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	22
2.1 Experimentos "in vivo".....	22
2.2 Experimentos "in vitro".....	23
2.2.1 Coração isolado de cobaio.....	23
2.2.2 Tiras de aurícula esquerda de cobaio e ven- trículo de sapo.....	26
2.2.3 Medida do potencial transmembrana.....	27
2.3 Drogas e Soluções.....	29
2.4 Análise estatística.....	29
3. RESULTADOS.....	30
3.1 Caracterização do efeito anti-arrítmico da ade- nosina.....	30
3.1.1 Experimentos "in vivo".....	30
3.1.2 Coração isolado de cobaio.....	30
3.1.3 Coração isolado de cobaio com exerece de âtrios.....	34
3.1.4 Coração isolado de cobaio estimulado eletri- camente.....	40
3.1.4.1 Estudo da força de contração.....	40
3.2 Estudos dos mecanismos de ações da atividade anti-arrítmica da adenosina.....	42
3.2.1 Avaliação do período de pausa pós-estimula- tória.....	42
3.2.2 Participação do sistema de troca $Na^+ - Ca^{++}$	45
3.2.3 Alteração do potencial diastólico máximo pe- la ouabaina e adenosina.....	45

	Página
4. DISCUSSÃO.....	49
4.1 Conclusões.....	61
5. APÊNDICE.....	62
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	70
7. RESUMO.....	95

1. INTRODUÇÃO

A atividade normal do coração depende do funcionamento de todos os tipos celulares que o compõe. Estudos eletrofisiológicos têm fornecido informações importantes acerca dos complexos mecanismos subcelulares envolvidos na geração e condução de impulsos elétricos, bem como da atividade contrátil das células do miocárdio. A medida em que são esclarecidos os fenômenos envolvidos na atividade cardíaca normal, torna-se possível também, conhecerem-se causas de alterações elétrica e mecânica observadas nesse órgão.

1.1. Propriedades eletrofisiológicas do coração

Nas células do tecido especializado, bem como no nódulo sinusal, nas fibras dos tratos internodais, na região juncional do nódulo atrioventricular e do sistema de His-Purkinje, ocorrem espontaneamente potenciais de ação, que são gerados pela participação de diferentes correntes iônicas (Para revisão ver 117).

Nos feixes de His-Purkinje o potencial de ação apresenta 5 fases (Vide Fig. 1). Nesse tecido nem sempre se observa automaticidade (principalmente nas concentrações fisiológicas de potássio extracelular). Quando ela ocorre, o intervalo entre dois potenciais de ação (Fase 4) não apresenta um potencial de repou

so, pois não é estável, nele verificando-se lenta queda do potencial transmembrana (despolarização diastólica lenta).

Estudos recentes sugerem que nesse tecido a despolarização diastólica lenta resulta principalmente da ativação de um canal iônico que conduz uma corrente (i_F) promovida em larga escala por um aumento da condutância ao íon sódio (40, 41). Nos momentos finais da despolarização diastólica lenta, quando o potencial de membrana se aproxima do potencial de excitação, além da corrente i_F participa também um crescente influxo de íons sódio através de um outro canal iônico. Em seguida esse último canal que por ser capaz de desenvolver uma alta condutância ao sódio se chama de canal rápido de sódio, sofre ativação total e promove a fase de despolarização do potencial de ação (Fase 0), tornando o potencial de membrana positivo (11, 47, 50, 95, 98, 156). Um aumento da condutância ao cloro e inativação da condutância ao sódio, provoca uma repolarização parcial da membrana (Fase 1). Por manutenção de uma baixa ativação residual do canal rápido de íons sódio e principalmente por diminuição da condutância ao potássio (levando a um descréscimo da corrente i_{K1}), e ativação de um canal iônico chamado canal lento de cálcio que conduz íons cálcio, sódio e potássio (corrente lenta para dentro ou i_{Si}), mas em presença dos valores fisiológicos de gradiente de concentração desses íons conduz principalmente íon cálcio, verifica-se uma fase na qual o potencial transmembrana mantém-se em torno de 0 mV (plateau ou Fase 2) (12, 124, 132). Ocorre a seguir, o período de repolarização (Fase 3) promovido por um aumento da condutância ao potássio (corrente i_{K1}) e da inativação da corrente lenta de cálcio para dentro (i_{Si}) (114, 115). Ao fim da Fase 3 o potencial transmembrana alcança valor mais negativo

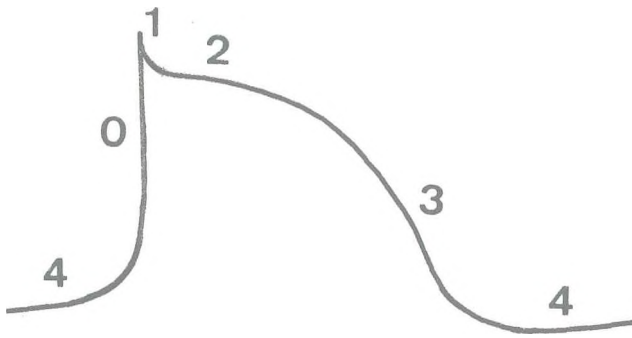
durante o ciclo de variações elétricas dessas fibras (potencial diastólico máximo), e logo em seguida se inicia a Fase 4.

As células musculares atriais e ventriculares apresentam todas as fases do potencial de ação descritas para as fibras do tecido de Purkinje. Contudo, na Fase 4, normalmente não apresentam despolarização diastólica lenta. Entretanto, em condições anormais quando o potencial de repouso alcança níveis acima de - 60 mV (despolarização parcial), a despolarização diastólica lenta pode ocorrer e causar iniciação repetitiva do impulso (26, 82).

No nódulo sinusal e atrioventricular ocorrem diferenças marcantes em relação aos potenciais de ação acima citados. Nestes tipos celulares o potencial de ação apresenta 3 fases. Neles a Fase 0 ocorre devido à corrente I_{si} , carregada principalmente por cálcio, para o interior da fibra. A repolarização (Fase 3) é causada por uma corrente para fora de íons potássio, i_{K1} . Ocorre a seguir, por diminuição da condutância ao potássio que altera a corrente i_{K1} , e em combinação com uma corrente contínua de background para dentro (i_B) de cálcio e sódio, a fase de despolarização diastólica lenta (Fase 4). O influxo de íons sódio, cálcio e cloro e o efluxo de íons potássio, verificado durante o potencial de ação, ocasionaria uma redução no gradiente de concentração transmembrana desses íons, após vários potenciais de ação, caso as células não fossem dotadas de mecanismos capazes de redistribuir esses íons. Portanto, os mecanismos de redistribuição iônica, que evitam que o gradiente de potencial eletroquímico seja desfeito, desempenham papel fundamental no funcionamento celular (inclusive na excitabilidade) e por decorrência, no organismo como um todo.

A bomba eletrogênica de $Na^+ - K^+$ desempenha um papel di

FIG. 1 - Ilustração diagramática das variações na voltagem de uma fibra de Purkinje. Os números indicam as respectivas fases do potencial de ação. Para explicação ver texto. (Transcrito de Leal-Cardoso (91))



reto na restauração do gradiente transmembrana desses íons (39). O sódio é transportado para o espaço extra celular, o potássio o é em direção oposta (3, 4). Tal sistema influencia, indiretamente, a distribuição de outros íons como o cloro, através do cotransporte acoplado ainda não bem identificado, e o íon cálcio, através do sistema de troca sódio-cálcio (52, 94, 154).

Dentre os mecanismos de regulação das concentrações desses íons, dar-se-á particular atenção àqueles que controlam a atividade do íon cálcio intracelular, pois o mesmo, além de ter papel importante na geração e condução de potenciais de ação, desempenha também papel fundamental no processo de acoplamento-excitação-contração de fibras miocárdicas de trabalho, e na modulação das correntes de vários canais iônicos, estando assim, muitas vezes, envolvido na geração de arritmias cardíacas (60, 62, 69, 154).

1.2. Homeostasia do íon cálcio intracelular

Empregando-se a técnica de microeletrodo intracelular sensível ao íon cálcio, torna-se possível determinar com precisão a concentração intracelular desse íon (31). Os valores obtidos em células no estado de repouso situam-se entre 5×10^{-8} a 5×10^{-7} M e no estado de contração máxima da fibra atinge a ordem de 10^{-4} M (154). Outra técnica que indiretamente (através da tensão mecânica gerada) pode informar a respeito do cálcio intracelular é o da técnica de fibra descorticada (fibra em que há retirada mecânica da membrana ou destruição, por meio químico, da permeabilidade seletiva). Essa medida indireta é feita através do correlacionamento da concentração de íons cálcio na solução

nutritora e tensão desenvolvida. Ela confirma os dados obtidos com a técnica de medida direta (55). A técnica do microeletrodo intracelular, entretanto, só lentamente consegue acompanhar variações iônicas, não sendo portanto, apropriada para investigar as oscilações na atividade desse íon durante os batimentos cardíacos (31).

A descoberta de uma fotoproteína (aequorina) sensível ao íon cálcio, tornou possível a análise das oscilações de cálcio intracelular (6, 157). Experimentos têm demonstrado uma boa correlação entre a intensidade de luz emitida e a concentração de íons cálcio no citoplasma (154, 160).

Em fibras de Purkinje o emprego combinado da técnica de emissão de luz pela aequorina e de fixação de voltagem (voltage clamp), tem demonstrado que o sinal (emissão de luz) apresenta um comportamento bifásico. Com um pulso despolarizante a intensidade luminosa aumenta e rapidamente se reduz. Após um retardo (85 msec), obtem-se um novo pico seguido de lenta redução. Esses resultados sugerem que a primeira fase é ocasionada por influxo de íons cálcio através de canais lentos do sarcolema e a segunda, devido a liberação de cálcio de estruturas intracelulares (57). Contudo, sem o fluxo de cálcio através da membrana citoplasmática a contração não atinge valores fisiológicos. Acredita-se que a contração do músculo seja, na sua quase totalidade, devido ao íon cálcio proveniente de duas fontes: espaço extracelular e retículo sarcoplasmático (31, 154, 157).

1.2.1 Corrente lenta de íons cálcio

Esta corrente difere em muitos aspectos da corrente rápida

da de sódio. Ela requer um nível mais positivo de despolarização (de -50 a -35 mV) e um curso temporal bem mais longo (dezenas de milissegundos) para ser ativada (69, 106, 116, 144). Ela não é abo lida por bloqueadores de canais rápidos de sódio (tetrodotoxina) e é dependente da concentração extracelular de íon cálcio. O flu xo de corrente através dos canais lentos é regulado por uma sê- rie de variáveis (portões) de ativação e inativação que aumentam e diminuem em resposta a mudanças do potencial transmembrana, sendo também tempo dependente (99, 106). Esta corrente pode gerar potenciais de ação ditos lentos (com uma razão de variação do potencial trans membrana em relação ao tempo (dV/dT) da fase 0 diminuta), o que implica numa velocidade de condução (0,01 a 0,10 m/seg) lenta, com parada com a do potencial resultante da ativação do canal rápido de íons sódio (69, 163, 169).

Essa corrente lenta pode ser inibida por agentes farma- cológicos como o verapamil, nifedipina, diltiazem e os metoxide- rivados D-600 (100, 96), e modulada pelos neurotransmissores do sistema nervoso simpático e parassimpático. As catecolaminas au- mentam a corrente lenta de cálcio por aumentarem os níveis intra celulares de AMP_C (adenosina monofosfatocíclica), provocando por tanto maior duração e maior positividade da Fase 2 do potencial de ação, aumentando a força contrátil, produzindo resposta crono trópica positiva e restaurando a excitabilidade em fibras despo- larizadas por alta concentração extracelular de íon potássio (123, 125, 140, 144). A acetilcolina reduz a I_{Si} , provavelmente por aumentar os níveis de GMP_C (guanosina monofosfato cíclica) (48) e /ou aumentar as correntes de potássio para fora (155).

Em determinadas condições o nível de cálcio citoplasmá- tico pode alterar as correntes de potássio. Tem-se demonstrado

que as correntes de potássio responsáveis pela repolarização aumentam com a elevação da concentração intracelular de íon cálcio (10).

A corrente lenta de íon cálcio também desempenha um importante papel na liberação de íons cálcio de estoques existentes no meio intracelular. Tais organelas são constituídos principalmente pelo retículo sarcoplasmático e em certas condições pelas mitocôndrias (116, 161).

1.2.2 Retículo Sarcoplasmático

Constituído por um sistema reticular contínuo, limitado por membranas, sua organização se sobrepõe à das miofibrilas e, geralmente se acopla ao sistema tubular transverso (Sistema T), ou mesmo à membrana celular.

Duas teorias foram propostas para explicar o mecanismo de liberação de íons cálcio pelo retículo sarcoplasmático.

Empregando-se retículo sarcoplasmático isolado de músculo esquelético, e cardíaco, tem-se demonstrado que essa liberação é, dentro de certos limites, função do gradiente de concentração do cálcio livre através da membrana dessas vesículas (55). Esses dados sugerem que o aumento da atividade de íons cálcio livre no meio citoplasmático pode promover a liberação do íon cálcio armazenado no retículo sarcoplasmático. Essa é a teoria do "calcium induced calcium release" (liberação de cálcio induzida por cálcio) (56, 57).

A outra teoria proposta é de que a liberação de cálcio pelo retículo sarcoplasmático seria decorrente da despolarização de suas membranas. Nessa teoria assume-se que o interior da vesí

cula seria polarizado positivamente em relação ao seu exterior (33).

Dados visando avaliar a capacidade do retículo sarcoplasmático em captar e armazenar cálcio, indicam que a quantidade liberada é suficiente para desencadear o processo de contração muscular, e sua recaptação é suficiente para induzir o relaxamento muscular em coração com batimentos normais (154). Essa recaptação de cálcio pelo retículo sarcoplasmático requer ATP, é bloqueada por ionóforos de íons cálcio, sugerindo a existência de uma bomba de cálcio localizada nas membranas desse organela (32,154).

1.2.3 Mitocôndrias

Dados experimentais sugerem que também as mitocôndrias apresentam grande potencialidade para sequestrar íons cálcio. Em mitocôndrias isoladas de músculo cardíaco tem-se demonstrado que esse sequestro se torna importante a medida que a atividade do cálcio extramitocondrial ascende a valores superiores a 10^{-4} M (32). Como esses valores citoplasmáticos de atividade de íons cálcio ocorrem apenas durante a contração muscular, questiona-se a importância fisiológica da captação mitocondrial de íons cálcio para o controle dos níveis desse íon no citoplasma.

Por outro lado sabe-se que essa captação é modulada pela atividade citoplasmática de íons sódio. Há liberação de íons cálcio armazenados quando a concentração de íons sódio no meio de incubação ultrapassa o valor de aproximadamente 15 mM, valor esse próximo a faixa fisiológica de concentração de íons no citoplasma (5 a 11 mM) (32), da célula cardíaca. Também em preparações de músculo cardíaco submetidas a soluções que diminuem a a-

tividade intracelular do íon sódio, o efluxo de íons cálcio pelas mitocôndrias torna-se inibido (32, 88, 112). Esses resultados têm sido interpretados no sentido de advogar um papel mais importante das mitocôndrias no controle do íon cálcio livre citoplasmático, principalmente quando alterações iônicas do meio extracelular ou agentes farmacológicos como os digitálicos, que alteram a concentração intracelular de íons sódio, estão presentes (88).

1.2.4 Sistema de troca sódio-cálcio

Evidências experimentais da existência de um sistema de membrana envolvido na troca de sódio-cálcio, foi demonstrado por Reuter and Seitz (121). Esses autores demonstraram que a taxa de efluxo de íons cálcio era dependente do gradiente de potencial eletroquímico do sódio através da membrana. Demonstrou-se também que, em axônio de lula, junto com o movimento de sódio para o interior da célula, ocorria movimento acoplado para fora (8). Inversamente, uma elevação da concentração de sódio interno aumentava o influxo de íons cálcio. Tem-se demonstrado também, através de alterações do gradiente de concentração celular de íons sódio e cálcio, em células cardíacas, a existência do mesmo mecanismo acoplado de transporte dessas duas espécies iônicas (Para revisão ver 88). Tal mecanismo promove um largo aumento no influxo de íons cálcio quando da remoção do íon sódio extracelular. Isso, entretanto, pode não elevar a atividade de íons cálcio intracelular o suficiente para promover a contração muscular, pois esse íon é captado por organelas intracelulares, principalmente pelo retículo sarcoplasmático. Essa contração contudo,

manifesta-se de maneira conspícua quando o músculo é colocado em presença de agentes como a cafeína, que bloqueia a captação de íons cálcio pelo retículo sarcoplasmático (20). Variações dessa contração têm sido utilizadas como um instrumento indireto de avaliação de alterações do mecanismo de troca sódio-cálcio em fibras cardíacas (31). Drogas ou procedimentos que reduzem o funcionamento da bomba de $\text{Na}^+ - \text{K}^+$, também interferem com o mecanismo de troca $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{++}$, pois reduzindo o gradiente de potencial eletroquímico transmembrana do sódio, aumentam a concentração de íons cálcio (39).

Em axônio de lula, a hiperpolarização aumenta o influxo de íons cálcio, enquanto a despolarização a reduz, indicando que o sistema de troca sódio-cálcio é eletrogênico (107). Fazendo-se a determinação da atividade intracelular dos íons sódio e de cálcio, o potencial de equilíbrio para o sódio (V_{Na^+}) e cálcio ($V_{\text{Ca}^{++}}$) poderão ser determinados.

Medindo-se o potencial de membrana (V_m), torna-se possível se determinar a taxa de acoplamento (n) do $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ de acordo com a equação:

$$n = \frac{2(V_{\text{Ca}} - V_m)}{(V_{\text{Na}} - V_m)}$$

Os valores de n calculados por Shing-Sheu e Fozzard (141) foram de 2,5 a 2,6.

A eletrogenicidade torna o movimento do carreador sensível ao potencial de membrana durante o curso da excitação. O potencial de reversão (V_R) para o carreador é definido por (99):

$$V_R = \frac{n V_{\text{Na}} - 2 V_{\text{Ca}}}{n-2}$$

Empregando os valores de 73 mV para V_{Na} , 116 mV para o V_{Ca} , e $n = 3$ o potencial de reversão assume o valor de - 13 mV. Portanto a troca será no sentido da entrada de cálcio durante a fase de plateau do potencial de ação e de saída, durante o repouso (88).

1.2.5 Bomba de cálcio localizada no Sarcolema

É amplamente aceito a existência de uma bomba de cálcio dependente de ATP, localizada na membrana celular. No entanto estudos realizados, sugerem que sua participação na retirada do cálcio intracelular é relativamente pequena, sendo responsável por cerca de 1/30 a 1/100 daquela carregada pelo sistema de troca $Na^+ - Ca^{++}$ (32, 112).

1.3. Mecanismos de regulação da atividade elétrica cardíaca normal

Os potenciais de ação gerados pelo marcapasso dominante (nódulo sinusal), propagam-se para os átrios e, através dos tratos internodais, alcançam o nódulo átrio ventricular. Deste, são conduzidos através do sistema de His-Purkinje às células musculares ventriculares.

A frequência de iniciação do impulso das células do nódulo sinusal é comumente maior do que em qualquer outro local do coração. Isso normalmente impede a geração do impulso por outros tecidos cardíacos, não só porque o marcapasso, tendo uma maior frequência, se antecipa aos outros, mas também porque um ritmo mais rápido inibe a frequência espontânea de marcapassos laten-

tes. Essa inibição, denominada de "overdrive supression" (supressão de marcapasso), deve-se provavelmente, a um aumento da atividade da bomba eletrogênica sódio-potássio (152, 153). Esse constitui-se num mecanismo que dificulta a geração de arritmias cardíacas.

A velocidade de condução do impulso gerado no nódulo sinusal depende da taxa de despolarização e da amplitude do potencial de ação (Fase 0), da geometria e das propriedades de cabo desses vários tecidos cardíacos (116). No coração de coelho a velocidade de condução nos átrios oscila entre 0,5 a 1,0 m/s, decaindo no nódulo atrioventricular para 0,05 a 0,1 m/seg, para, no sistema de His-Purkinje atingir 2 a 4 m/seg (139). Além disso, os feixes de Purkinje, próximo a sua junção (cerca de 2 a 3 mm) com o miocárdio ventricular de trabalho apresentam um período refratário funcional (devido a sua larga duração: 200 a 300 m/seg em cobaias), maior do que em qualquer outro local do coração (108, 109, 116). A alta velocidade (em termos de coração) de condução e o grande período refratário do tecido condutor ventricular constituem fatores de proteção contra a instalação de arritmias, o primeiro por sincronizar a despolarização dos ventrículos e o segundo por aumentar a inexcitabilidade do tecido condutor, ambos dificultando a reentrada (vide 1.4.) de estímulo (108, 116).

1.4. Arritmias cardíacas

As arritmias são ocasionadas por anormalidades na iniciação do estímulo e/ou na sua condução. Inúmeros mecanismos celulares podem desencadear tais anormalidades. Como mecanismos celulares entende-se aqueles mecanismos básicos comprováveis através

da eletrofisiologia celular.

Segundo Wit et. al. (168), as arritmias cardíacas são classificadas em:

1.4.1 Arritmias devido a geração de impulso anormal

1.4.1.1 Arritmias causadas pelas células que apresentam automaticidade normal

As células dos tecidos especializados, que apresentam despolarização diastólica lenta, podem assumir o controle da atividade elétrica e mecânica do coração, quando sua atividade automática estiver exarcebada (75, 148, 168) e/ou por falha da atividade supressora do nódulo sinusal (153).

1.4.1.2 Arritmias causadas por automatismo anormal

Apesar das fibras musculares atriais e ventriculares normalmente não apresentarem a fase de despolarização diastólica lenta (34) elas poderão gerar impulsos anormais, se o potencial diastólico máximo estiver suficientemente baixo (despolarização parcial) (26, 82). Nestas mesmas condições, automaticidade anormal poderá ocorrer também em fibras de Purkinje (133). As correntes iônicas envolvidas na gênese destas arritmias dependerão do nível do potencial transmembrana destas células. Dados experimentais sugerem que para potencial de membrana em torno de - 50 mV, o potencial de ação seria ocasionado pela ativação de corrente lenta para o interior da fibra carregada por íons cálcio (69,111, 169), ou da ativação das correntes carregadas por potássio para fora (corrente I_{K1}) (133).

1.4.1.3 Arritmias causadas por pós despolarizações ("triggered activity")

Triggered activity (60, 62, 163, 165, 166, 168) é um tipo de automatismo anormal causado por oscilações do potencial transmembrana que podem atingir o potencial limiar de excitação e que é absolutamente dependente do potencial de ação que o precede. Assim, não há triggered activity onde não houve anteriormente potenciais de ação (36, 75).

Essas oscilações se chamam "afterdepolarizations" (pós-despolarizações) e podem surgir durante o final da Fase 3 ou durante a Fase 4 do potencial de ação, após a fibra ter apresentado o potencial diastólico máximo (129, 168). Na primeira e na última hipótese ela se chama de "early afterdepolarization" (pós-despolarização prematura) e de "delayed after depolarization" (pós-despolarização retardada), respectivamente. Os pós-potenciais têm amplitude que variam da ordem de unidades à ordem de dezenas de milivolts, tem duração da ordem de várias dezenas de milisegundos, e frequentemente se fazem acompanhar de um aumento também oscilatório da tensão da fibra (22, 61). Os pós-potenciais oscilatórios tendem a aparecer ou a sofrer amplificação em presença de manobras que aumentam o inotropismo, como aumento da frequência, da concentração do cálcio extracelular e de agentes farmacológicos (61, 129, 130). Eles ocorrem em vários tecidos cardíacos, como átrios (70), ventrículos (61, 63) e feixe de His-Purkinje (60), células marginais das válvulas átrio ventriculares (165) e seio coronariano (166). A pós-despolarização prematura, geralmente surge durante potenciais de ação de fibras que no seu início apresentam alto nível de potencial de membrana (- 95 mV a - 75 mV) (75).

Os pós-potenciais oscilatórios foram inicialmente observados por Bolzer e Delahayes (22, 23), que os interpretaram como

sendo alterações do potencial transmembrana devido a alterações químicas do meio intracelular.

Mais recentemente Ferrier e Moe (60) e Davis (37) entre outros (77, 78, 93), observaram que esses potenciais são uma característica das alterações elétricas verificadas durante a intoxicação digitálica. Observou-se que ocorrem em grande frequência em preparações expostas às catecolaminas (30) e histamina (91, 92).

No início desses estudos questionou-se a autenticidade dos potenciais oscilatórios sugerindo-se que talvez fossem apenas o resultado da propagação decremental de potenciais de ação lentos. Essas dúvidas foram dirimidas quando se demonstrou a diferença entre potenciais de ação lentos e pós-potenciais oscilatórios, através do estudo em preparações longas com duplo microeletrodo, e em preparações diminutas (com comprimento inferior à metade da constante espacial) (72, 73), e de agentes como o manganês que bloqueia bem mais rapidamente o potencial de ação lento do que o pós-potencial oscilatório (60).

Os estudos dos mecanismos iônicos envolvidos nos pós-potenciais oscilatórios tem sido realizados principalmente por Lederer, Weinegart, Kass e Tsien (79, 80, 81, 93). Eles demonstraram que esses pós-potenciais oscilatórios se devem a uma corrente (i_{Ti}) cujo potencial de reversão se situa entre -5 e -10 mV e portanto deve envolver a participação de vários íons, como sódio, cálcio e potássio. A concomitância dos pós-potenciais oscilatórios com a oscilação de tensão levou a formular-se a hipótese de que a ativação da i_{Ti} seria devida a uma liberação transitória de íons cálcio pelo retículo sarcoplasmático, que promovendo um aumento da atividade de cálcio no citoplasma, promoveria

um aumento da tensão mecânica e da condutância do canal para a i_{Ti} (149). Essa hipótese tem sido confirmada por estudos mais recentes que demonstram que agentes que depletam o cálcio do retículo sarcoplasmático, bloqueiam o pós-potencial oscilatório (42).

Atividade rítmica sustentada poderá ocorrer após a primeira pós-despolarização, e acredita-se que estes potenciais de ação são devidos a ativação de corrente lenta para o interior da fibra (36, 133, 168). Dados experimentais sugerem que arritmias induzidas por altas concentrações de catecolaminas (30, 162), digitálicos (60, 62), hipertrofia do miocárdio (7), infartos sub-endocárdicos (52), seriam desencadeados por pós-despolarizações retardadas. Redução ou mesmo a abolição destes pós-potenciais oscilatórios, são obtidos pelo emprego de bloqueadores de canais de cálcio (60, 128), ou de sódio (130) ou ainda por procedimentos que levam a hiperpolarização prévia da membrana celular (70).

1.4.2 Arritmias devido condução anormal do impulso e re-entrada do estímulo

Em certas condições especiais, a frente de despolarização após ter ativado completamente o coração, pode não se extinguir, e voltar a reexcitar os átrios ou ventrículos, quando nestes, estiver findado o período refratário (75, 167, 168).

A reentrada do estímulo por vias que mudam no tempo de tamanho e localização, estão relacionadas com fibrilação atrial e ventricular (105, 169), e quando por vias relativamente fixas, a taquicardia, extrasístoles e "flutter" atriais ou ventriculares (167, 168). Para ambos os casos, no entanto, os pré-requisitos eletrofisiológicos são idênticos, sendo condições essenciais

para a geração de reentrada: condução unidirecional e tempo de propagação maior do que o período refratário do potencial de ação no local onde poderá ocorrer a reentrada. No coração normal as velocidades são de tal ordem a exigir percursos bem maiores do que os anatomicamente encontráveis (90, 167, 168).

A diminuição da velocidade ou mesmo bloqueio na propagação da onda de despolarização poderá ocorrer por inativação parcial da corrente de sódio durante a Fase 0 do potencial de ação (124), por diminuição do gradiente eletroquímico desse íon e geração de pós-potenciais oscilatórios devido a correntes lentas de cálcio para o interior da fibra (122). No coração com lesão os potenciais de ação lentos estabelecem velocidade de condução muito baixas e permitem a ocorrência de reentrada em percursos encontráveis anatomicamente (162, 164). Bloqueio na condução poderá ocorrer também tanto na presença como na ausência de um obstáculo anatômico. No segundo caso a atividade repetitiva por reentrada da excitação pode ser induzida em tecido atrial, através de um único estímulo prematuro apropriado (5).

Estudos demonstram que o músculo cardíaco é uma estrutura uniformemente anisotrópica, e que reentrada do estímulo pode ocorrer em conseqüências das membranas celulares apresentarem diferentes propriedades passivas (142).

1.5 Efeitos eletrofisiológicos dos digitálicos

O efeito inotrópico positivo provocado pelos digitálicos, faz com que estas drogas sejam amplamente utilizadas no tratamento da insuficiência cardíaca. Estes glicosídeos cardíacos são altamente seletivos na inibição da $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPase das mem-

branas celulares (2, 3), resultando na elevação da atividade do íon sódio intracelular e de cálcio, por mudanças no sistema de troca $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{++}$ (4). Procedimentos que aumentam a concentração intracelular de Na^+ , como aumento na frequência de estimulação, tendem a aumentar a toxicidade dos digitálicos, por redução da capacidade de reserva da bomba de $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ (4, 84, 118).

Clínica ou experimentalmente, arritmias ventriculares estão comumente associadas com intoxicação digitálica (17, 76, 104). Os mecanismos envolvidos na geração destas arritmias devem se mais frequentemente, a um aumento da taxa de despolarização diastólica lenta em fibras do sistema de His-Purkinje (62, 127, 129), e/ou por desencadeamento de "triggered activity", a partir de pós-potenciais oscilatórios (delayed afterdepolarizations), tanto em células musculares atriais e ventriculares quanto em fibras do tecido especializado (54, 61, 63, 78). Estes efeitos poderão também diminuir a velocidade de propagação da frente de despolarização, bem como ocasionar bloqueio unidirecional e, assim, desencadear reentrada do estímulo (129, 134).

1.6 Adenosina

O isolamento e a caracterização da adenosina a partir de extratos de coração de cobaio, bem como a avaliação de algumas de suas atividades fisiológicas, foi realizada por Drury e Szent-Gyorgy em 1929 (49). Trabalhos posteriores demonstram que a adenosina produz uma grande variedade de efeitos biológicos e bioquímicos (para revisão ver 65).

Tem sido demonstrado que a adenosina é um potente vasodilatador, e provavelmente desempenha importante papel na regu-

lação fisiológica da circulação coronariana (18). Este efeito deve-se, provavelmente, a uma diminuição na captação de íons pela musculatura lisa vascular (59). Procedimentos que aumentam o trabalho e o metabolismo cardíaco, como a administração de catecolaminas, constrição aórtica e estimulação nervosa simpática, bem como hipoxia e isquemia do miocárdio, provocam aumento na liberação desse nucleosídeo (137, 67, 85, 66).

Dados experimentais obtidos em átrio ou coração isolado de cobaio, em estado de hipoxia ou de oxigenação normal, mostram que a adenosina inibe os efeitos inotrópico e cronotrópico positivos induzidos por catecolaminas (44, 67, 137), por diminuição da ativação beta adrenérgica da adenil ciclase (45, 136). Em tiras de coração de cobaio com batimentos espontâneos, a potência na depressão da automaticidade ventricular provocada pela adenosina é cerca de 30 vezes maior do que a auricular (146). Em fibras nodal sino atrial e de Purkinje esse nucleosídeo provoca, de forma dose dependente, diminuição da taxa de despolarização diastólica lenta (146), e bloqueio na condução atrioventricular em miocárdio isquêmico de cães (14). A adenosina provoca diminuição da duração, da taxa de aumento da amplitude e o plateau de potenciais de ação lento desencadeados por norepinefrina, em músculo atrial de cobaio despolarizados com íon potássio, presumivelmente em decorrência da inibição do influxo de Ca^{++} (13, 135). Tem-se demonstrado que pós-potenciais oscilatórios e "triggered activity", induzidos por isoproterenol em miócitos de ventrículo de bovino e cobaio, são bloqueados por adenosina (16).

Esse nucleosídeo tem sido utilizado experimentalmente no tratamento da taquicardia paroxística supraventricular (43). Tem-se demonstrado que arritmias (taquicardia e fibrilação ven-

tricular provocadas por ligadura da artéria coronária esquerda em ratos, foram significativamente bloqueadas pela infusão endovenosa de adenosina (58). No entanto taquiarritmias estão frequentemente associadas a isquemia regional do miocárdio (19). De monstrou-se também que a anoxia suprime arritmias induzidas por digitálicos (29). Dados experimentais sugerem que a liberação de adenosina pelo músculo cardíaco aumenta grandemente quando o aporte de O_2 diminui (67) ou quando a sua demanda aumenta (85). Portanto é razoável supor que a adenosina esteja envolvida na fisiopatogenia das arritmias cardíacas. As arritmias induzidas pelos digitálicos se caracterizam por serem causadas preponderantemente por "triggered activity", e o papel da adenosina nesse tipo de arritmia ainda não foi investigada. Sendo algumas alterações eletrofisiológicas da intoxicação digitálica comum a outros tipos de arritmias, reveste-se de particular importância o estudo do papel da adenosina nas arritmias promovidas por digitálico. As observações do estudo dessa interação tem portanto, um largo campo de aplicações. Por esses motivos estudaram-se os efeitos desse nucleosídeo na intoxicação digitálica, em preparações "in vivo" e "in vitro". Investigou-se também os mecanismos envolvidos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Para a execução desse trabalho, utilizaram-se cobaios a dultos, pesando entre 350-900 gramas, gentilmente fornecidos pelo Laboratório Alfa-Conlab, e sapos (*Bufus paracnemis*) provenientes da região periférica de Fortaleza e do município de São Gonçalo.

Os experimentos "in vitro" foram realizados em cobaios e sapos, e empregou-se somente cobaios para experimentos "in vivo".

2.1 Experimentos "in vivo"

Cobaios adultos pesando entre 700 e 900 gramas foram anestesiados com nembutal sódico (50 mg/kg), por via intraperitoneal. A seguir fez-se traqueostomia para manutenção de respiração artificial. Essa foi mantida com bomba fabricada pela Ciemci (SP), movimentando o volume de $8 \pm 2 \text{ cm}^3$ de ar atmosférico a frequência de 35 ± 7 ventilações/minuto. Realizou-se a canulação da veia jugular com duplo cateter, dos quais um utilizou-se para a administração contínua de drogas, e o outro para coleta de amostras de sangue e administrações intermitentes.

O sinal da atividade elétrica do coração foi colhido através de eletrodos constituídos de agulhas de aço inoxidável (ca

libre 25/7) introduzidas (1 cm) no tecido subcutâneo de diferentes regiões do tórax. Os eletrodos foram conectados a pré-amplificador de fabricação local com entrada diferencial, impedância de entrada de 10^{12} Ohms, que amplificou 10 vezes o sinal e o transferiu para polígrafo (Narco Byosistem, desk model). A colocação dos eletrodos foi feita no início do experimento, procurando-se, por tentativas, aquela fornecedora do melhor registro, a partir de então, mantida por todo o experimento. Foi usado o registro bipolar.

A promoção de arritmias cardíacas por ouabaina foi realizada de acordo com método similar ao de Sekya e Vaughan-Williams (138). Foi feita a administração endovenosa intermitente de 4 ug de ouabaina diluída em 0,05 ml de solução salina fisiológica durante 30 segundos e repetida a cada 2 minutos. Determinou-se a dose limiar para indução de extra-sístoles.

Para se avaliarem seus efeitos cardíacos na intoxicação digitálica, a adenosina, por ter vida média curta na circulação, foi administrada por via endovenosa de forma contínua (0,02 ml/min de uma solução salina contendo 10^{-2} M), mediante o emprego de bomba peristáltica (Harvard Apparatus). Coletaram-se amostras de sangue venoso (0,15 ml) com a finalidade de se determinar o pH aos 0, 60 e 120 minutos do experimento. Para tal determinação empregou-se um analisador de gás e pH sanguíneo (Instrumentation Laboratory Inc.).

2.2 Experimentos "in vitro"

2.2.1 Coração isolado de cobaio

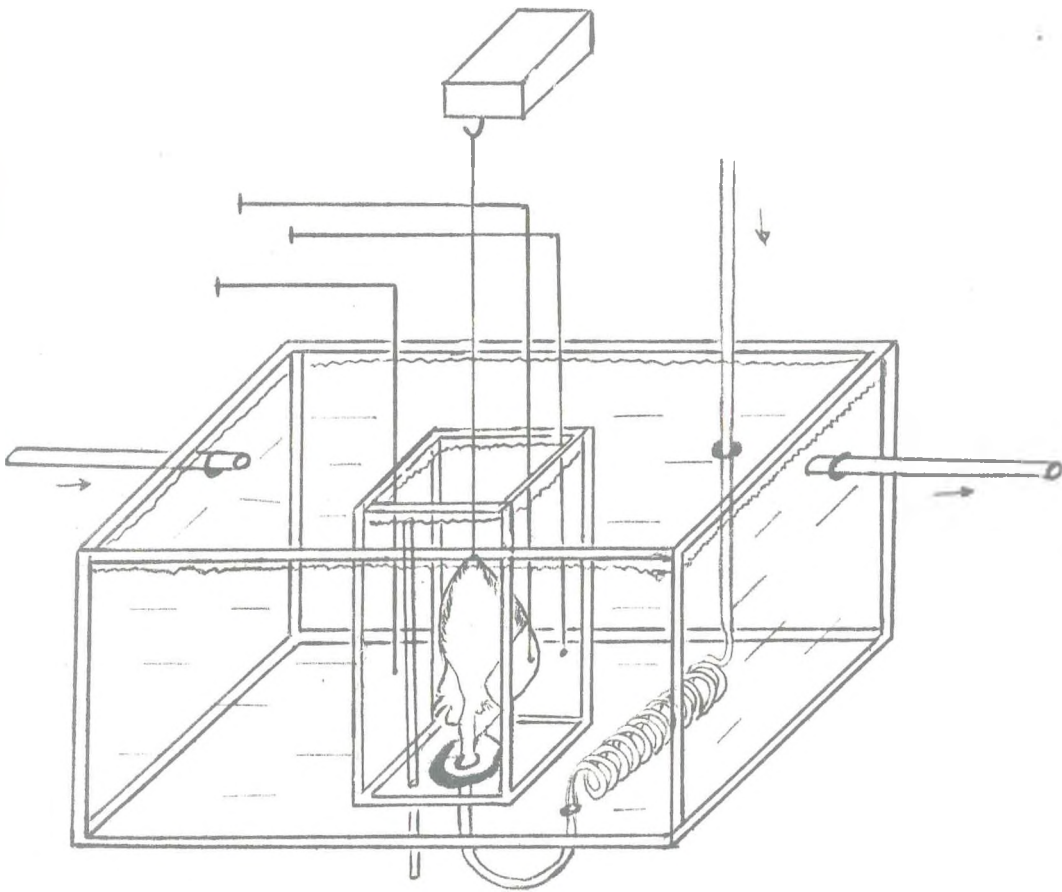
Animais pesando entre 350-450 gramas foram sacrificados

por deslocamento cervical. Após toratocomia e injeção intraventricular de heparina (5 UI), fez-se a remoção do coração através de secção cuidadosa dos vasos da base num tempo inferior a 1 minuto. Em seguida iniciou-se a perfusão retrógrada (6 a 8 ml/minuto), através de cânula introduzida e fixada na aorta com solução de "Tyrode", pH 7,4, oxigenada por borbulhamento no reservatório e mantida a 37° C. O fluxo promovido pela força gravitacional e controlado por gotejador, foi mantido constante durante o experimento. A preparação foi mantida no interior de uma câmara a 37° C e esta dentro de um banho ligado a um aquecedor circulador (modelo Haake) para manutenção da temperatura (vide fig. 02). Em alguns experimentos a preparação foi mantida imersa em solução nutritora e em outros a câmara permaneceu vazia. Fez-se registros da contração cardíaca conectando-se um transdutor de força (Mio-graph, modelo F - 60) para medida isométrica ao ápice do coração, mediante corrente e pinça metálica. A preparação foi submetida a uma tensão basal de 350 a 450 mg, através de ajustes na altura do transdutor de força por uma cremalheira (Palma). O sinal elétrico da atividade cardíaca, obtido através de eletrodos epicardiais são traumatizantes de aço inoxidável, foi amplificado e registrado conforme visto em 2.1.

Quando necessário, realizou-se estimulação elétrica epicardial do coração, mediante eletrodos não traumatizantes conectados a um isolador de estímulos de fabricação local (25), com saída isolada em relação à terra de 10^{10} Ohms, comandado por estimulador capaz de fornecer pulsos constituídos por ondas quadradas de voltagem.

Para a indução do fenômeno de supressão do marcapasso (Vide 1.3), aplicou-se trens de estímulo elétrico com as seguin

FIGURA 02 - Sistema de perfusão para coração isolado.



tes características: voltagem: 2,5 vezes a limiar; duração do pulso: 1,5 a 3,0 mseg; duração do trem: 30 segundos. A frequência foi constante em cada trem e entre os trens variou de 2,5 e 5,0 Hz. Fez-se a estimulação elétrica em preparações nas seguintes condições experimentais: controle (ausência de drogas, grupo controle), perfundidos com adenosina (grupo adenosina), com adenosina e ouabaina (grupo adenosina-ouabaina) e com ouabaina somente (grupo ouabaina). Manteve-se um intervalo de 3 minutos entre os trens de estímulo e de 50 entre as condições experimentais. Mediu-se a força da contração durante os batimentos espontâneos e durante o trem de estímulo. Para quantificação da intensidade de "overdrive supression", mediu-se o intervalo de tempo entre o último estímulo extrínscico e a primeira atividade elétrica espontânea (pausa pós estimulatória).

Investigou-se o efeito da adenosina na intoxicação digitalica em corações com exerece de átrios. Para tal, fez-se, após o período necessário para a obtenção do equilíbrio da preparação, a retirada cirúrgica dos átrios, com auxílio de pinças e tesouras oftalmológicas. Manteve-se a perfusão da preparação durante esse período. O registro da força de contração foi feito conforme descrito anteriormente, e o sinal elétrico, com eletrocardiograma modelo 4 FUNBEC.

2.2.2 Tiras de aurícula esquerda de cobaio e ventrículo de sapo

Após a remoção do coração, a qual foi realizada de maneira idêntica ao descrito em 2.2.1, fez-se a transferência para uma câmara constituída de placa de Petri com o fundo revestido com cera para dissecação de tecidos vivos (ref. 62-9100, Carolina Biological Supply Company), contendo solução de "Tyrode", oxii

genada por borbulhamento e mantida a temperatura ambiente. Mediante fixação com alfinetes inoxidáveis e auxílio de um microscópio (Intec, R.J.), procedeu-se a abertura da aurícula esquerda e, observando-se o sentido longitudinal das fibras, retirou-se uma tira de aproximadamente 1 mm de largura por 0,7 cm de comprimento. Fixou-se uma das extremidades no fundo de uma câmara de superusão vertical, mantida em um banho a 37° C, com capacidade para 5 ml, e a outra mediante fio metálico, a um transdutor de força (Modelo Myograph F-60), acoplado, para registro isométrico, em polígrafo (Narco Byosistem - Desk Model). Fez-se a superusão da preparação (3 a 5 ml/min), com solução de "Tyrode" oxigenada por borbulhamento de oxigênio na câmara. Após um período de 30 minutos necessários para se obter o equilíbrio da preparação, a mesma foi posta a contrair por curtas exposições (7 minutos) a baixas concentrações de íon sódio extracelular, intervaladas por 20 minutos. Nos 5 minutos anteriores e durante tais períodos a preparação foi exposta a 5 mM de cafeína, para potencializar a contratatura.

De acordo com o protocolo acima citado, mas empregando-se solução de Ringer batráquio à temperatura ambiente, fizeram-se experimentos com tiras de ventrículo de sapo. A espessura e largura dessas foram mantidas em dimensões inferiores a 1 mm.

2.2.3 Medida do potencial transmembrana

Após o sacrifício do animal e a retirada do coração como descrito em 2.2.2, fez-se a remoção atrial em uma câmara de dissecação já descrito, preenchida com solução de Krebs mantida a temperatura ambiente e equilibrada com uma mistura gasosa de 90% de O₂ e 5% de CO₂. A seguir, com auxílio de microscópio e me

diante uma incisão longitudinal a partir do anel átrio-ventricular ao ápice do coração e secção da cordoalha tendinosa, fez-se a exposição da superfície endocardial. Retirou-se peças da parede septal da câmara ventricular esquerda contendo feixes de His-purkinje sub-endocardial. Estas apresentaram um comprimento inferior a 4 mm, 2 mm de largura e 1 mm de espessura. Estes tecidos foram fixados com alfinetes especiais de aço inoxidável em uma câmara com fundo preenchido com "silastic" com capacidade para 1,8 ml. A preparação foi perfundida com fluxo de 8,5 a 10 ml/min. A temperatura na câmara foi mantida a 37° C com auxílio de um termorregulador (Haake). Passou-se a solução de superfusão através de um tubo de silastic (Dow Corning) com 100 cm de comprimento, 0,196 e 0,15 cm de diâmetro externo e interno respectivamente, mantido em fase gasosa contendo 95% de O₂ e 5% de CO₂ e a uma atmosfera de pressão. Tal procedimento manteve a solução na câmara com uma pressão de oxigênio de 475 Torr e em pH 7,4.

O potencial elétrico transmembrana das células cardíacas foi medido com microeletrodo preenchido com solução de KCl, 3 M. Os microeletrodos foram conectados a um eletrometro (WPI, modelo 750) de duplo canal, tendo cada um duas saídas. Destes o sinal não amplificado foi monitorizado em um osciloscópio (Tektronix 5113), e aquele amplificado 6 vezes, a um diferenciador eletrônico. O sinal diferenciado foi continuamente monitorizado no osciloscópio.

A preparação foi posta a equilibrar por 45 minutos, e os parâmetros eletrofisiológicos foram registrados durante os últimos 15 minutos desse período. Iniciou-se os experimentos quando as variáveis analisadas apresentaram-se estáveis. Manteve-se um intervalo de 30 minutos entre a exposição às drogas (ouabaina, 1×10^{-6} M e/ou adenosina, 5×10^{-5} M).

2.3. Drogas e Soluções

A adição à solução nutritora de cafeína (Merck e Co. Inc. Alemanha), adenosina e ouabaina (Sigma Chemical Company - USA), necessária para se obter a concentração desejada foi realizada imediatamente antes de iniciar-se os experimentos. As soluções nutritoras empregadas tiveram as seguintes composições (em mM): Tyrode: NaCl 137,0; KCl 5,4; CaCl₂ 1,8; MgCl₂ 1,05; Tris Hidroximetil Aminometano (Trizma) 5,0 e Glicose 11,0; Ringer Batráquio: NaCl 110,0; KCl 4,02; CaCl₂ 2,0; Trizma 10,0 e Glicose 11,0; Krebs: NaCl 137,0; KCl 5,4; MgCl₂ 1,05; CaCl₂ 1,8; NaHCO₃ 10,22 e Glicose 5,5.

2.4. Análise estatística

Os dados foram considerados significativamente diferentes quando a possibilidade de ocorrência da hipótese nula foi igual ou inferior a 5% ($p < 0,05$).

Para variáveis nominais, significância foi determinada pelo teste de Fischer e Q quadrado. Para comparação de uma única condição experimental em relação ao controle, no mesmo experimento, empregou-se o teste "t" de Student pareado, e entre experimentos diferentes, o não pareado. Para múltiplas condições experimentais utilizou-se análise de variância para medidas repetidas no mesmo experimento e para análise dos contrastes empregou-se o teste de Tukey. Os valores estão expressos como a média \pm erro padrão.

3. RESULTADOS

Os resultados obtidos, poderão ser descritos em dois blocos, de acordo com as etapas experimentais desenvolvidas.

3.1 Caracterização do efeito anti-arrítmico da adenosina

Nessa fase, verificou-se em experimentos "in vivo" e em coração isolado de cobaio com e sem atrios, os efeitos da adenosina nas arritmias desencadeadas por ouabaina.

3.1.1 Experimentos "in vivo"

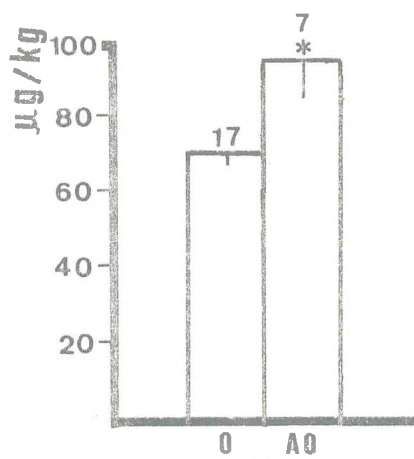
A dose média de ouabaina para o desencadeamento da primeira extra-sístole, foi na ausência e na presença de adenosina de $69,81 \pm 2,45$ e $95,30 \pm 8,02$ ug/kg de peso corporal, respectivamente (Fig. 3 Tab. 1). A diferença é estatisticamente significativa ($P < 0,01$, teste "t" não pareado), mostrando que a adenosina é capaz de minorar as alterações cardíacas da intoxicação digitalica.

3.1.2 Coração isolado de cobaio

Os resultados acima mencionados sugeriram que a indução de arritmias por ouabaina poderia ser bloqueada pela adenosina. Para testar tal hipótese, fizeram-se experimentos em coração isolado de cobaio. Nessa preparação, afasta-se a participação de fatores neuro-humorais extra-cardíacos, reduzindo assim o grau de

FIGURA 03 - Efeito da adenosina na dose limiar de ouabaina para a indução de extra-sístoles em experimentos vivo". A dose de ouabaina, injetada com (AO) e (O) a administração concomitante de adenosina tá expressa em ug/kg de peso corporal (ordenada linha vertical e os números no topo de cada col representam o erro padrão e a quantidade de experimentos, respectivamente.

* indica, significância estatística ($P < 0,01$, teste "t" de Student, não pareado).



dificuldade na interpretação dos resultados.

Inicialmente realizou-se uma série de experimentos com a finalidade de determinar a concentração de ouabaina, que, nas nossas condições experimentais, rapidamente (em minutos) desencadeasse arritmias cardíacas em alta percentagem das preparações. Essa concentração foi $3,3 \times 10^{-6}$ M. Ela induziu arritmias num tempo de perfusão inferior a 20 minutos. A concentração de adenosina empregada variou de 1×10^{-5} M a 5×10^{-5} M. Escolheram-se esses valores porque eles se situam na faixa de concentrações encontráveis em miocárdio isquêmico, a qual pode atingir 1×10^{-4} M (137).

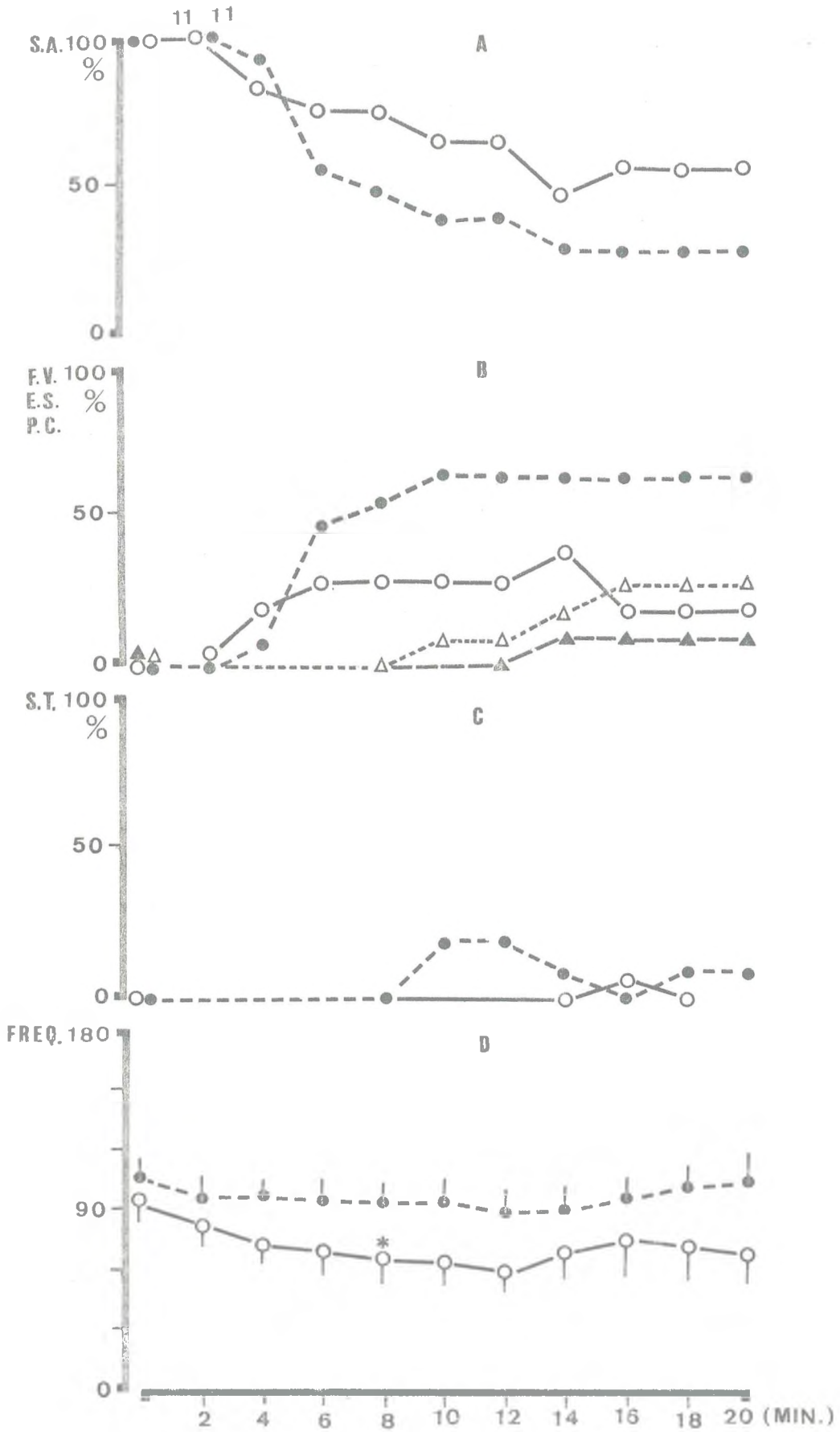
Os parâmetros da intoxicação digitálica analisados ao longo do tempo de perfusão foram: presença de extra-sístoles, surtos de taquicardia e parada cardíaca precedida ou não de fibrilação ventricular. Os dados obtidos em coração isolado de cobaio com átrios, perfundidos com ouabaina na presença e ausência de adenosina, estão demonstrados na Figura 4, e os respectivos valores na Tabela 2. Tais valores estão expressos em termos percentuais em relação ao controle.

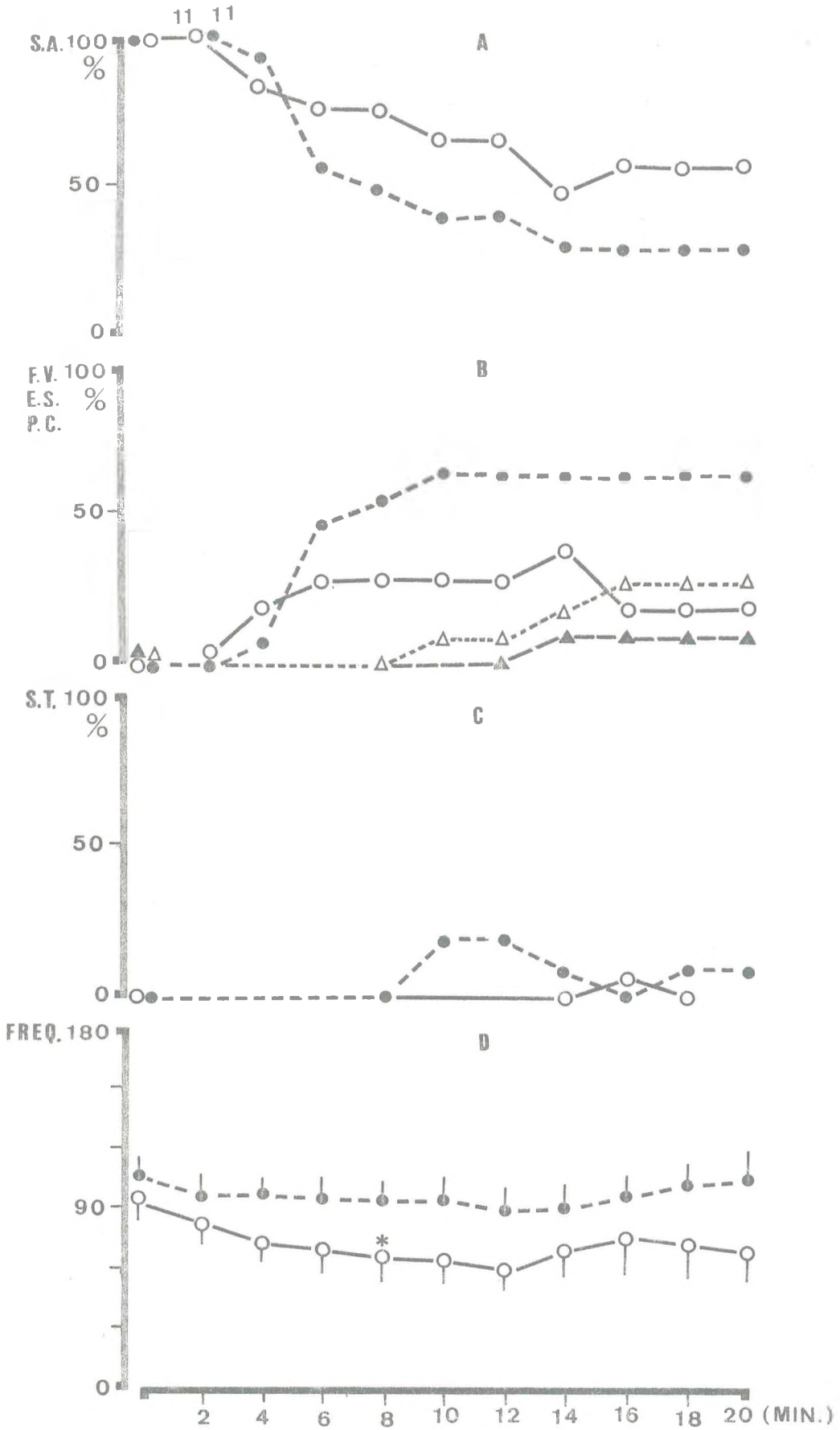
A incidência de extra-sístoles (E.S.), que em 11 preparações perfundidas com ouabaina, aumentou rapidamente e ocorreu em 63% das preparações, (Figura 4 B) atingiu em média a proporção de 1 extra-sístole para cada 4 batimentos normais, aos 10 minutos de perfusão. Após esse lapso de tempo, registrou-se 1 parada cardíaca precedida de fibrilação e 2 surtos de taquicardia em duas preparações.

Em corações submetidos a perfusão simultânea de ouabaina e adenosina, ocorreram extra-sístoles em 18,2% das preparações no 4º minuto, 27,2% do 6º ao 12º minuto, 36,3% no 14º minuto e 18,2% do 16º ao 20º minuto. Essa queda na percentagem de cora-

FIGURA 04 - Efeito da adenosina (1×10^{-5} M) em alguns parâmetros, da intoxicação promovida por ouabaina ($3,10^{-6}$ M) em coração isolado de cobaio. Em A, B, e D são mostrados os cursos temporais desses parâmetros em presença apenas de ouabaina (símbolo cheio) e adenosina (símbolo vazio). Em A, corações sem ritmias (S.A.); em B, os triângulos representam parada cardíaca (P.C.) e os círculos, extra-sístoles (E.S.); em C, surtos de taquicardia (S.T.), e em D, frequência cardíaca.

Ordenadas: em A, B e C, percentagem de ocorrência variável especificada, em D, batimentos cardíacos por minuto.





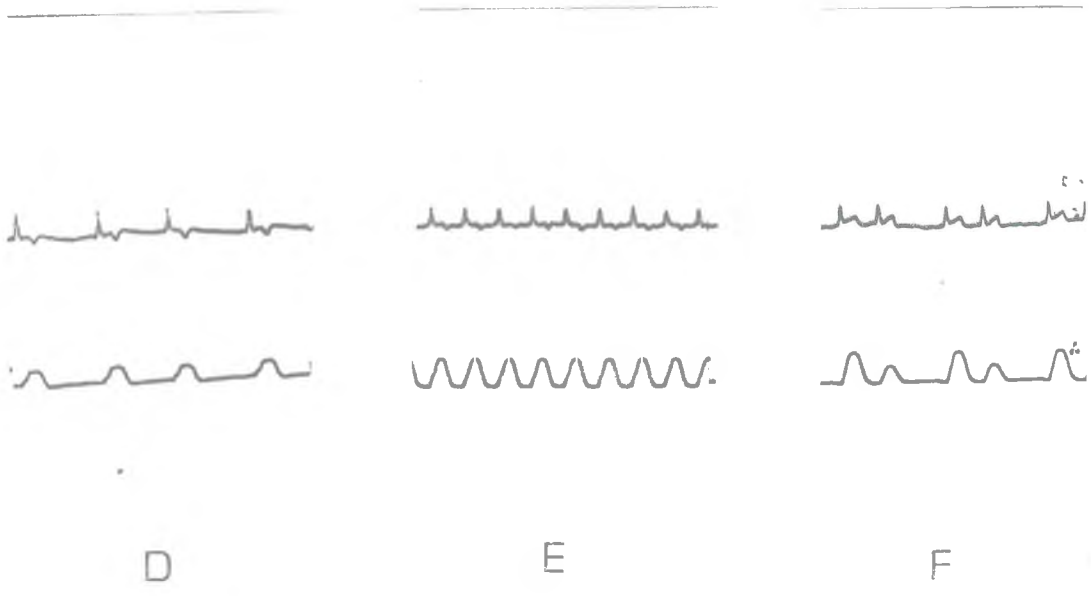
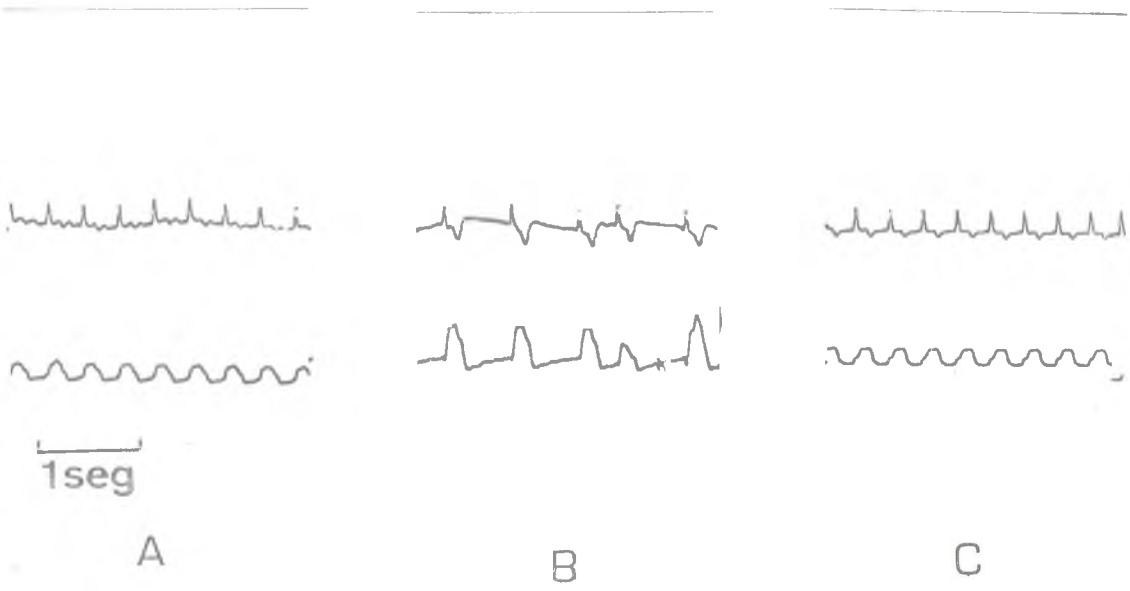
ções com extra-sístoles, entre o 14º e 16º, foi devida ao fato de que em um coração as extra-sístoles cessaram e em outro houve parada cardíaca. Parada cardíaca sem fibrilação ventricular ocorreu em 3 preparações (27,2%), no 16º minuto e uma preparação apresentou surtos de taquicardia no 16º minuto de perfusão (Figura 4 C). Desses 3 corações que sofreram parada cardíaca sem fibrilação ventricular apenas um apresentou extra-sístole (Vide Tabela 2). A frequência cardíaca foi diminuída pela adenosina. A diferença entre os grupos tratamentos e controle testada no 8º e 16º minuto, foi estatisticamente significativa no primeiro desses momentos.

Registros eletrocardiográficos característicos de coração perfundido com ouabaina apenas e ouabaina conjuntamente com adenosina estão representados na Figura 5. A ouabaina induziu o aparecimento de bigeminismo (em B e F), o que não ocorreu quando da administração conjunta do glicosídeo com adenosina.

3.1.3 Coração isolado de cobaio com exerece de átrios

Tem-se demonstrado que a adenosina é mais potente em suprimir a automaticidade ventricular do que a atrial (146). Por outro lado a gravidade da intoxicação digitálica decorre, preponderantemente, da geração de focos ectópicos ventriculares. Levando-se em consideração esses fatos e a possibilidade de que a ação do marcapasso atrial viesse a mascarar efeitos ventriculares da adenosina, julgou-se útil investigar o efeito dessa substância na intoxicação digitálica, em coração com exerece de átrios. Os experimentos foram realizados usando protocolo e medidas de parâmetros idênticos aos descritos em 1.2. Onze preparações foram perfundidas com ouabaina ($3,3 \times 10^{-6}$ M). Os resultados são mos-

FIGURA 05 - Experimento representativo dos efeitos da adenosina (1×10^{-5} M) em arritmias induzidas por ouabaina ($3,3 \times 10^{-6}$ M) em coração isolado de cobaio. A, controle; C e E, aos 30 minutos de recuperação após o período experimental; B e F: efeito da perfusão da preparação com ouabaina no 7º e 5º minuto, respectivamente. Em D: efeitos da administração concomitante de adenosina e ouabaina no 15º minuto. Traçado superior, eletrocardiograma; inferior, o registro da força de contração. Calibração horizontal, idêntica em toda a figura. A ordem alfabética corresponde a sequência temporal.



trados na Figura 6. A percentagem de corações com extra-sístoles no 8º minuto de exposição a ouabaina, foi de 81,8. A partir desse momento houve redução desse valor devido a progressiva incidência de parada cardíaca. No 20º minuto, 45,5% tiveram parada cardíaca sem e 27,2 com fibrilação ventricular (Figura 6 B). Surtos de taquicardia oscilaram de 9,1% a 45,5% ao longo do tempo de exposição. A frequência cardíaca elevou-se de 104 ± 7 batimentos por minuto para 160 ± 7 , no oitavo minuto de perfusão com ouabaina. (Vide Tabela 3).

Na administração concomitante de ouabaina e adenosina, a incidência de extra-sístole (16,6%) foi retardada para o 24º minuto. Não ocorreu parada cardíaca nem fibrilação ventricular. Ocorreram 4 surtos de taquicardia em 12,5% das preparações entre o 6º e o 24º minuto. A frequência cardíaca no 8º minuto reduziu-se de 103 ± 11 para 46 ± 4 batimentos por minuto. Registros eletrocardiográficos de dois experimentos representativos estão demonstrados nas Figuras 7 e 8.

A parada cardíaca tem efeito mutuamente exclusivo em relação a ocorrência de extra-sístole (em um dado momento da preparação). Devido a isso calculou-se a diferença, em relação as situações com e sem adenosina, no 8º minuto para ocorrência de extra-sístoles e 16º para incidência de parada cardíaca precedida ou não de fibrilação ventricular. O valor desses dois parâmetros foi significativamente reduzido pela adenosina (avaliação pelo teste de Fisher), com uma $P < 0,01$ para o 1º deles (Figura 6) e $P < 0,05$ para o segundo, não mostrado na Figura 6. Por uma questão de uniformidade mediram-se a significância estatística das alterações de frequência cardíaca no 8º minuto. Nesse caso compararam-se as frequências (Vide Figura 6) em ambas as situações ex

FIGURA 06 - Efeitos da adenosina (5×10^{-5} M) em parâmetros, expressos em termos percentuais, da intoxicação induzida por ouabaina ($3,3 \times 10^{-6}$ M) em coração isolado de cobaio com exerece de âtrios. Em A, B, C e D são mostrados os cursos temporais desses parâmetros em presença de ouabaina (símbolo cheio) e de ouabaina e adenosina (símbolo vazio). Em A, corações sem arritmias (S.A.). Em B, os triângulos representam parada cardíaca precedida de fibrilação e os retângulos na ausência de fibrilação; os círculos indicam extra-sístole (E.S.); em E, surtos de taquicardia (S.T.) e em D, frequência cardíaca. Ordenada; A, B, C percentagem de ocorrência da variável especificada, em D, batimentos por minuto. * e ** indicam valores estatisticamente significantes a nível de 1% (teste de Fisher) e a 0,2% (teste "t" não pareado), respectivamente. ⊗ indica valor estatisticamente significativo ($P < 0,01$) em relação ao controle (tempo 0).

30 28 26 24 22 20 18 16 14 12 10 8 6 4 2 (MIN)

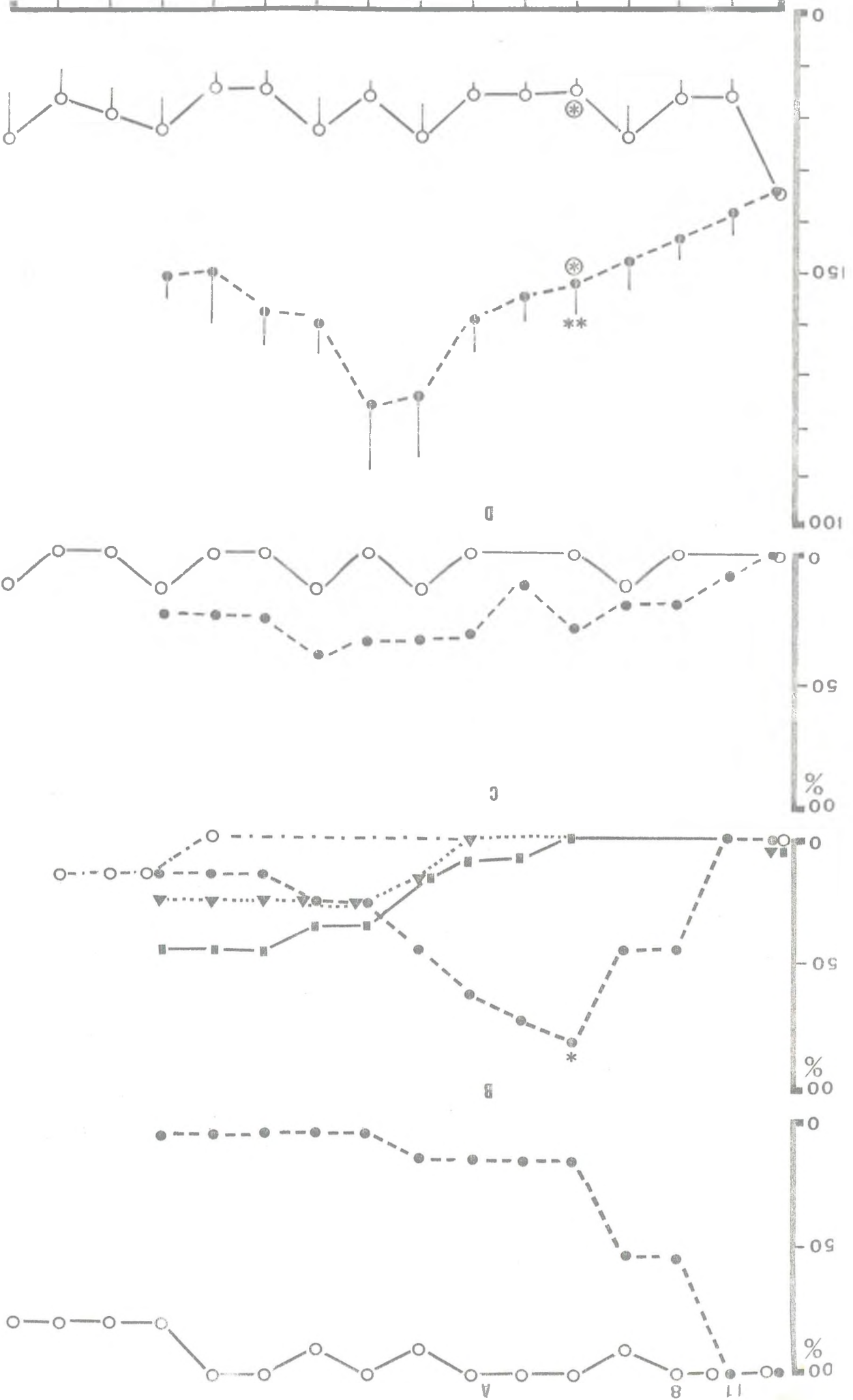


FIGURA 07 - Registro eletrocardiográfico de um experimento representativo dos efeitos da adenosina (5×10^{-5} M) em arritmias promovidas por ouabaina ($3,3 \times 10^{-6}$ M) em coração isolado de cobaio sem átrios.

Em A, controle; B, C e D, durante a intoxicação digitalítica e em E, parada cardíaca. Em F, período controle com normalização parcial do ritmo cardíaco. Durante a exposição simultânea da preparação à ouabaina e adenosina, verifica-se bradicardia mas sem extra-sístoles (G e H). Imediatamente após o término da perfusão com ouabaina e da adenosina, observa-se o aparecimento de extra-sístoles com alta frequência (I), seguindo-se de normalização do ritmo cardíaco (em J). A subsequente exposição da preparação à ouabaina induz o surgimento de extra-sístoles (K), e fibrilação ventricular (em L) seguida de parada cardíaca (em M).

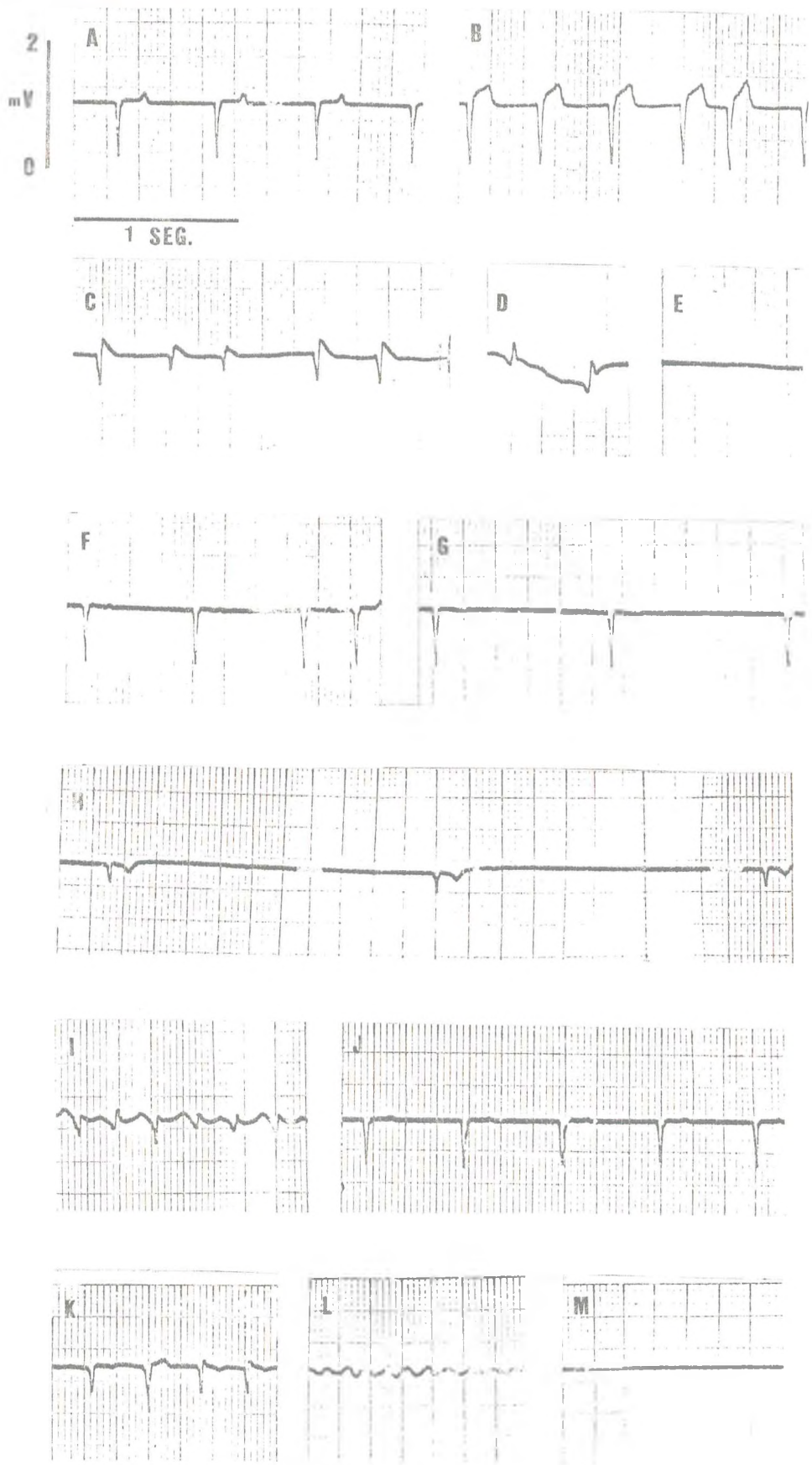
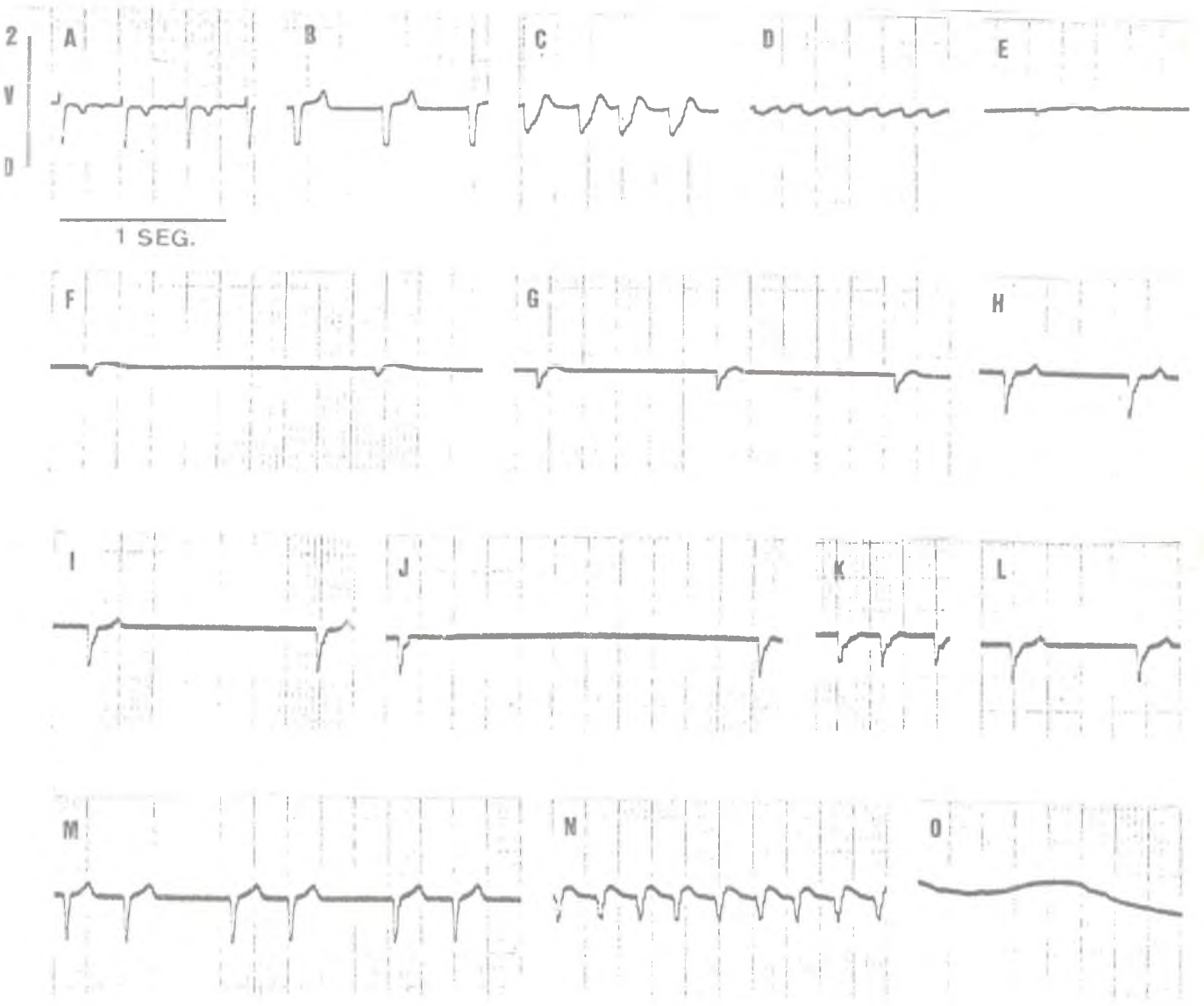


FIGURA 08 - Experimento representativo dos efeitos da adenosina (5×10^{-5} M), em arritmias promovida por ouabaina ($3,3 \times 10^{-6}$ M) em coração isolado de cobaio com exereses de átrios.

Em A: coração com átrios. B: coração com exereses de átrios; C, D e E, efeitos da ouabaina aos 5º, 17º e 18º minuto de perfusão, respectivamente; em F e G: efeitos da superimposição da adenosina à perfusão com ouabaina aos 2º e 22º minutos de perfusão, respectivamente; em H, K e L, ao controle aos 10º, 2º e 22º minutos da retirada das drogas; em I e J, efeitos da perfusão da preparação com adenosina e ouabaina aos 7º e 15º minutos, respectivamente; M, N e O, efeitos da ouabaina aos 8º, 14º e 15º minutos, respectivamente.



perimentais (apenas ouabaina e ouabaina conjuntamente com adenosina) entre si e com a frequência controle (tempo 0), tendo as diferenças mostrado significância estatística.

3.1.4 Coração isolado de cobaio estimulado eletricamente

Nesse modelo experimental investigou-se o papel da adenosina (1×10^{-5} M), da ouabaina (1×10^{-6} M) e da combinação de ambos na força de contração e no período de pausa pós-estimulatória.

3.1.4.1 Estudo da força de contração

O estudo da força de contração ventricular foi realizado em preparações submetidas a estimulação elétrica epicardial durante 30 segundos, com frequência de 3,5 a 4,0 e de 4,5 a 5,0 Hz. A força de contração foi medida imediatamente antes do período de estimulação (tempo 0), e de cinco em cinco segundos ao longo do trem de estímulo, nos 4 grupos: controle, adenosina, adenosina e ouabaina e ouabaina. Verificou-se que para frequência de 4,5 a 5,0 Hz (Figura 9 A) há diferença entre os 4 grupos que contudo não se mostraram significativas. Esse fato talvez seja devido ao número reduzido de experimentos, pequeno em relação a grande dispersão dos dados. A força (em g) no tempo 0 oscilou de 0,5 a 2,6 no controle ($1,87 \pm 0,28$) e de 0,6 a 2,4 ($1,65 \pm 0,32$), de 1,8 a 5,6 ($3,0 \pm 1,0$) e de 1,0 a 4,8 ($3,35 \pm 0,47$) nos grupos adenosina, adenosina e ouabaina e ouabaina, respectivamente. Não houve diferença significativa no 30º segundo de estimulação. Observa-se durante o período de estimulação um declínio gradativo na força de contração dos grupos ouabaina e ouabaina e adeno-

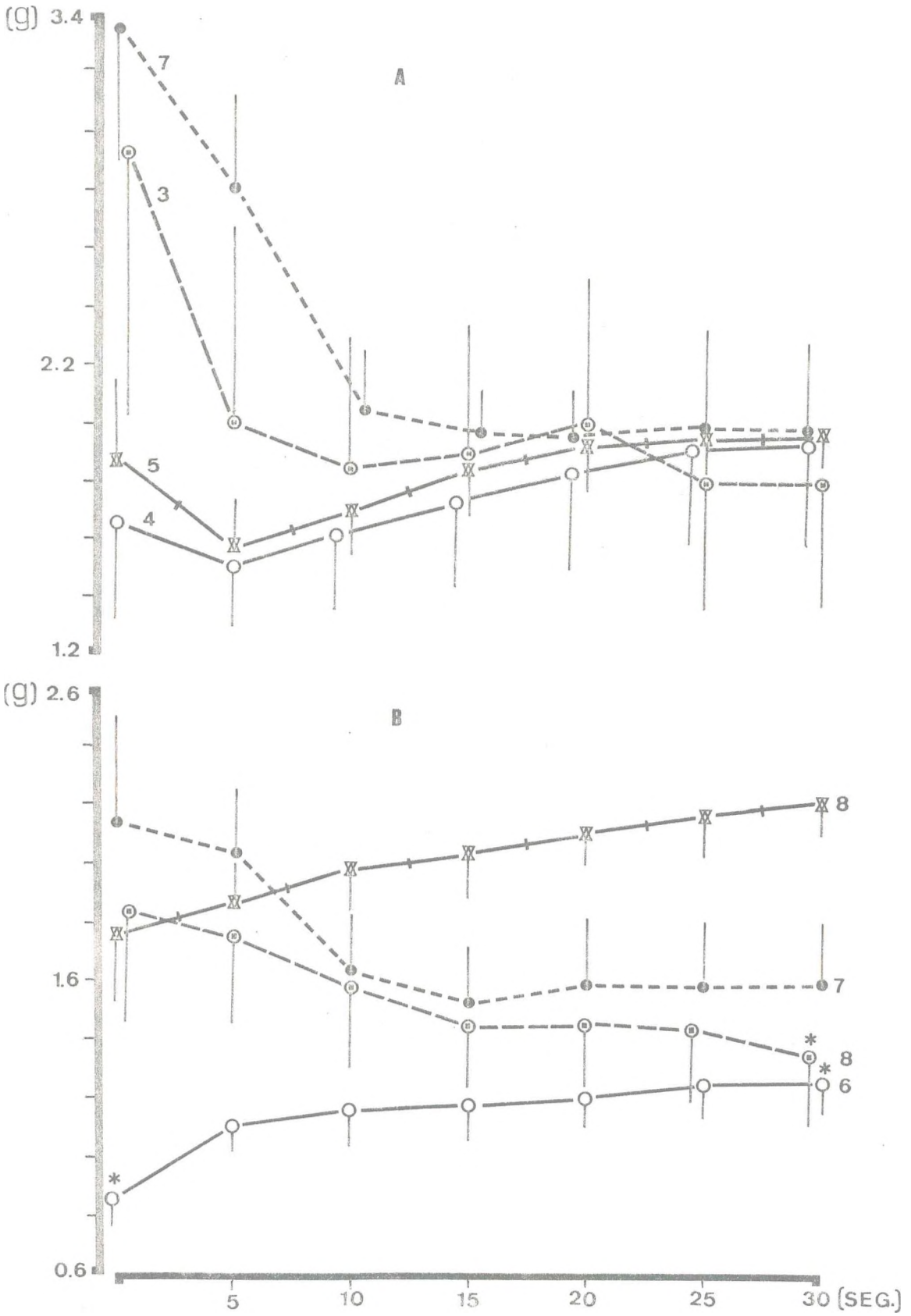
FIGURA 09 - Força (g) de contração de coração isolado de co-
baio estimulado eletricamente, durante 30 segun-
dos.

Em A: a frequência de estimulação foi mantida em
4,5 a 5,0 Hz, e em B a preparação foi estimulada
com 3,5 a 4,0 Hz.

⌘: controle; ○: adenosina (1×10^{-5} M);
●: ouabaina (1×10^{-6} M); ⊙: ouabaina e

adenosina. As barras verticais indicam o erro pa-
drão. As medidas foram feitas aos 5, 10, 15, 20,
25 e 30 segundos, e alguns pontos foram um pouco
afastados de sua correspondente localização exata
no tempo, para permitir maior clareza do gráfico.
Abcissa: tempo em segundos e ordenada, força em
gramas.

* indica diferença estatisticamente significativa
em relação ao controle, em tempo correspondente (a-
nálise de variância; contraste, teste de Tukey).



sina, enquanto um incremento gradativo nos grupos controle e adenosina. Ocorrendo portanto, convergência para níveis de força de 1,9 g, no 30º segundo de estimulação.

Para frequências de 3,5 a 4,0 Hz, a adenosina diminuiu significativamente a força de contração em relação ao controle no tempo 0 (Figura 9 B). Não houve contudo, diferença significativa nos outros grupos. Durante o período de estimulação a força aumentou de forma gradativa no controle e no grupo da adenosina. Medida no 30º segundo ela diferiu significativamente em relação ao controle nos grupos da adenosina e adenosina e ouabaina.

3.2 Estudos dos mecanismos de ações da atividade anti-arrítmica da adenosina

As arritmias cardíacas decorrem de alterações de complexos mecanismos iônicos envolvidos na geração e propagação de potenciais de ação (Vide 1.4). Foram investigados dois possíveis mecanismos de ações que poderiam estar envolvidos na atividade anti-arrítmica da adenosina.

3.2.1 Avaliação do período de pausa pós-estimulatória

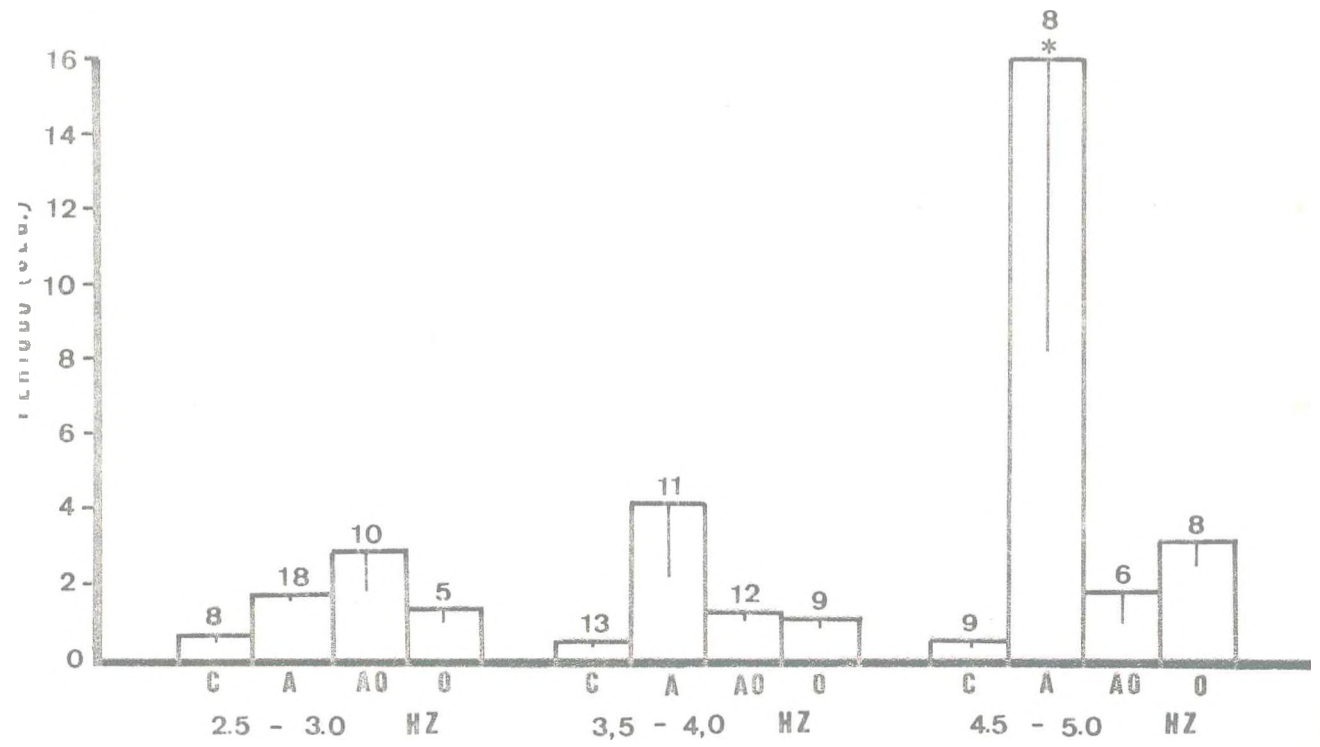
Tendo-se como o critério de classificação a frequência de estimulação, 3 blocos de preparações foram constituídos: o primeiro estimulado com 2,5 a 3,0 Hz; outro com 3,5 a 4,0 Hz e outro com 4,5 a 5,0 Hz. Dentro de cada bloco temos os grupos controle, adenosina, adenosina-ouabaina e ouabaina (Vide 2.2.1). Os valores da pausa pós-estimulatória, estão demonstrados na Figura 10 e Tabela 5. No grupo de preparações estimuladas com 2,5 a 3,0 Hz a pausa pós-estimulatória (em segundos) oscilou entre 0,6 a

FIGURA 10 - Supressão de marcapasso por estimulação elétrica em coração isolado de cobaio. O período de pausa, medido em segundos (ordenada) em preparações controle (C), na presença de adenosina (1×10^{-5} M) (A), ouabaina (1×10^{-6} M) (O) e de adenosina - ouabaina (AO), foi realizado após um trem de estímulo com duração de 30 segundos com frequências de 2,5 a 3,0 Hz; 3,5 a 4,0 Hz e 4,5 a 5,0 Hz. As barras verticais indicam o erro padrão.

* indica diferença estatisticamente significativa (avaliação pela análise de variância, com teste de Tukey, para contraste).

FIGURA 10 - Supressão de marcapasso por estimulação elétrica em coração isolado de cobaio. O período de pausa, medido em segundos (ordenada) em preparações controle (C), na presença de adenosina (1×10^{-5} M) (A) ou abaina (1×10^{-6} M) (O) e de adenosina - ouabaina (AO), foi realizado após um trem de estímulo com duração de 30 segundos com frequências de 2,5 a 3,0 Hz; 3,5 a 4,0 Hz e 4,5 a 5,0 Hz. As barras verticais indicam o erro padrão.

* indica diferença estatisticamente significativa (avaliação pela análise de variância, com teste de Tukey, para contraste).



0,8 ($0,65 \pm 0,28$); 0,5 a 12,0 ($1,73 \pm 0,6$); 0,6 a 10,0 ($2,92 \pm 1,05$) e 0,9 a 2,0 ($1,34 \pm 0,17$), nos grupos controle, adenosina, adenosina-ouabaina e ouabaina, respectivamente. Não há diferença estatisticamente significativa dos vários grupos em relação ao controle.

Para frequências de estimulação de 3,5 a 4,0 Hz os valores do período de pausa obtidos tiveram uma variação de 0,3 a 0,65 ($0,51 \pm 0,04$) no controle, de 0,6 a 27,0 ($4,13 \pm 2,35$) no grupo de experimentos perfundidos com adenosina, de 0,4 a 3,0 ($1,26 \pm 0,20$) nos que receberam adenosina e ouabaina e de 0,4 a 1,8 ($1,19 \pm 0,14$) segundos nos expostos a ouabaina. Não há diferença estatisticamente significativa dos valores dos grupos em relação ao controle.

Em frequência de estimulação de 4,5 a 5,0 Hz os valores do período de pausa oscilaram de 0,32 a 0,8 ($0,38 \pm 0,01$) no controle, de 1,0 a 62,0 ($15,06 \pm 7,8$) quando perfundidos com adenosina, de 0,4 a 6,0 ($1,8 \pm 0,86$) em presença de adenosina e ouabaina e de 0,4 a 5,6 ($2,17 \pm 0,63$) no grupo que recebeu ouabaina. Para essa frequência de estimulação as preparações perfundidas com adenosina tiveram um período de pausa significativamente maior do que o controle.

A observação cuidadosa dos dados das tabelas parece sugerir que os valores dos três blocos de frequência para o grupo da adenosina provêm de diferentes populações, pois dentro desses grupos, 2 sub-grupos com valores distintos de período de pausa pós-estimulatória poderiam ser constituídos: um bem maior que oscilaram entre 0,5 a 4,8, e outro com valores entre 12,0 a 62,0 segundos, dependendo da frequência de estimulação empregada. Os valores desse segundo sub-grupo são provenientes de 3 experimentos.

3.2.2 Participação do sistema de troca Na^+ - Ca^{++}

Com o objetivo de verificar a participação do sistema de troca sódio-cálcio na atividade anti-arrítmica da adenosina, realizaram-se experimentos com tiras de aurícula de cobaio superfundidas com solução nutritora com diferentes concentrações de íon sódio.

Os valores percentuais da força de contração de tiras de aurícula de cobaio medida no 7º minuto de superfusão com uma concentração de íon sódio de 27,4 mM e de 13,7 mM, foram respectivamente de $31,2 \pm 25,23$ e $56,38 \pm 13,79\%$ na ausência e de $25,23 \pm 4,55$ e $67,7 \pm 23\%$ na presença de adenosina (1×10^{-5} M) (Figura 11). Estes valores não diferiram de forma estatisticamente significativa. (Vide Tabela 06).

Outros experimentos foram realizados com tiras de ventrículo de sapo, empregando-se o mesmo protocolo experimental. A força (g) de contração induzida pela remoção do íon sódio extracelular, medida no sétimo minuto na presença e ausência de adenosina, foi respectivamente de $2,01 \pm 0,43$ e de $2,2 \pm 0,45$, não havendo diferença estatisticamente significativa. Estes resultados estão demonstrados na Figura 12, e os respectivos valores na Tabela 7.

3.2.3 Alteração do potencial diastólico máximo pela ouabaina e adenosina

Em três experimentos realizados em tiras de septo interventricular com presença de feixe de His-Purkinje, mediram-se as alterações do potencial diastólico máximo e da frequência de potenciais de ação em células desse feixe, tendo sido esses valo-

FIGURA 11 - Força, induzida pela exposição de tiras de aurícula de cobaio, a uma solução com baixa concentração de íon sódio.

Em A, a concentração de íon sódio foi reduzida para 27,4 mM e em B para 13,7 mM. A adição de adenosina (1×10^{-5} M), não alterou de forma estatisticamente significativa o valor de estado estacionário da resposta contrátil. Os valores de força (ordenada) estão expressos em termos percentuais em relação a resposta contrátil máxima obtida por remoção total de íon sódio da solução nutritora, em função do tempo (abscissa). Círculo cheio, controle; círculo vazio, em presença de adenosina.

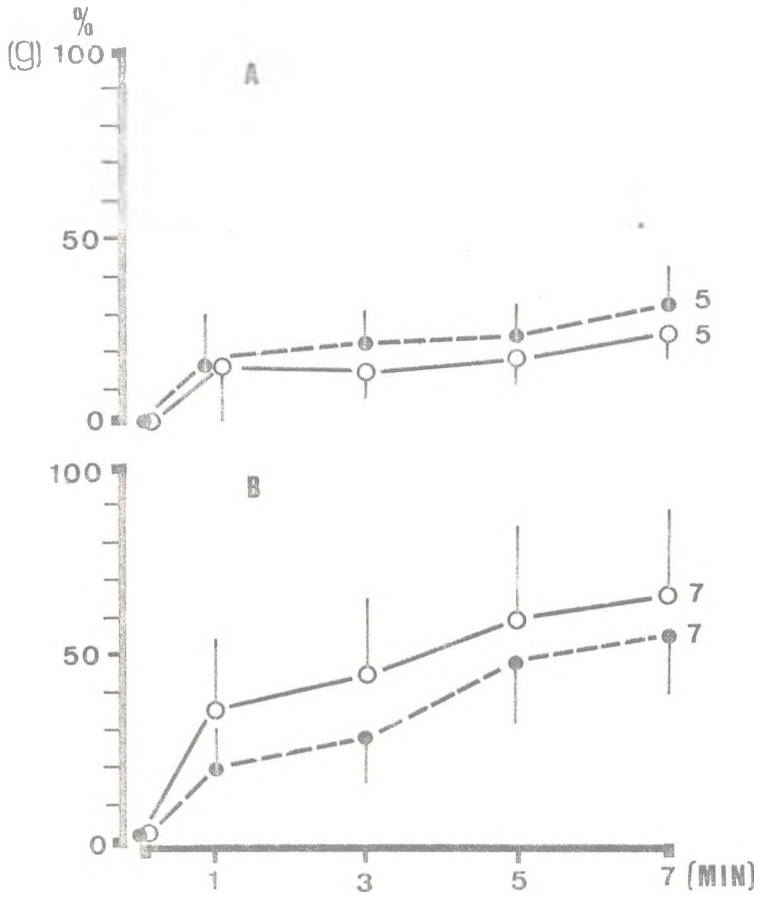
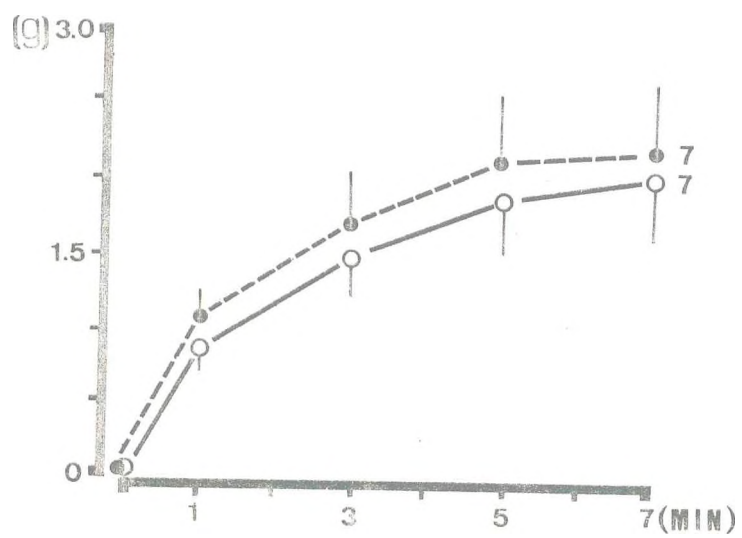


FIGURA 12 - Força (g) desenvolvida por tiras de ventrículo de sapo, submetida a ausência de íon sódio na solução nutritora.

A adição de adenosina (1×10^{-5} M) (símbolo vazio), não alterou de forma estatisticamente significativa os padrões da resposta contrátil, no controle (símbolo cheio).



res no controle $88 \pm 1,8$ mV e $56,3 \pm 9,5$ potencial de ação por minuto, respectivamente. Em medidas realizadas entre o 15º e 35º minuto (2 medidas por experimento) em presença de ouabaina (1×10^{-6} M) o potencial diastólico máximo a frequência deslocaram-se para $81 \pm 2,4$ e $83 \pm 12,8$, respectivamente, tendo havido despolarização em todos os três experimentos. Quando a adenosina (5×10^{-5} M) foi adicionada à solução com ouabaina, houve hiperpolarização em todos os três experimentos, e o potencial diastólico máximo e a frequência de potenciais de ação mediram $85 \pm 2,1$ e $68 \pm 13,6$, respectivamente.

res no controle $88 \pm 1,8$ mV e $56,3 \pm 9,5$ potencial de ação por minuto, respectivamente. Em medidas realizadas entre o 15º e 35º minuto (2 medidas por experimento) em presença de ouabaina (1×10^{-6} M) o potencial diastólico máximo a frequência deslocaram-se para $81 \pm 2,4$ e $83 \pm 12,8$, respectivamente, tendo havido despolarização em todos os três experimentos. Quando a adenosina (5×10^{-5} M) foi adicionada à solução com ouabaina, houve hiperpolarização em todos os três experimentos, e o potencial diastólico máximo e a frequência de potenciais de ação mediram $85 \pm 2,1$ e $68 \pm 13,6$, respectivamente.

4. DISCUSSÃO

A adenosina demonstrou ser eficiente em elevar a dose de ouabaina necessária ao desencadeamento de extra-sístole em experimento "in vivo". Esse resultado sugere que a adenosina apresenta atividade anti-arrítmica nesse modelo experimental. Experimentos similares realizados por Sekya e Vaughan-Williams (138), demonstraram ser o surgimento da primeira extra-sístole, um parâmetro adequado à investigação de drogas com potencialidade anti-arrítmica. Esses autores obtiveram no controle, em relação aos dados desse trabalho, valores superiores na dose limiar de ouabaina. Tal fenômeno, entre outros fatores, pode ser devido às diferenças entre os nossos experimentos e os desses autores, que constaram principalmente da idade dos animais empregados e a diferença no intervalo da administração intermitente de ouabaina. A primeira diferença é uma hipótese plausível para explicar a disparidade nos achados, pois baseando-se no peso dos animais empregados, é presumível que tenham utilizado animais mais jovens, pois nesse trabalho empregaram-se nesses experimentos animais com peso de 700 a 900 gramas, enquanto Sekya e Vaughan-Williams utilizaram animais com peso entre 400 a 600 gramas. Tem-se demonstrado que os animais mais jovens são menos sensíveis a ação dos digitálicos (102). É improvável que a segunda diferença tenha sido a causa dessa discrepância, pois como utilizou-se um intervalo maior entre as doses, o tempo para estabelecimento dos efeitos

de uma dada dose acumulada foi maior nesse trabalho.

A adenosina elevou a dose limiar para a indução de extra-sístole de 69,8 para 95,3 ug/kg de peso (Vide 3.1.1) enquanto que o propranolol (5 mg/kg) nos dados de Sekya e Vaughan-Williams a elevou, de maneira não estatisticamente significativa, de 128,0 para 140 ug/kg. Esses dados demonstram que a adenosina tem um efeito anti-arrítmico no que concerne à promoção de extra-sístole e sugerem que ela também protege contra disritmias mais graves como a fibrilação ventricular, pois esse nucleosídeo promoveu uma alteração na dose limiar estatisticamente significativa e maior do que a referida dose de propranolol, que de forma significativa protegeu contra fibrilação ventricular e parada cardíaca.

A avaliação das propriedades eletrofisiológicas cardíacas da adenosina em experimentos "in vivo" é muito escassa, apesar desse nucleosídeo ser de natureza endógena, alterar propriedades elétricas das células do coração e ser liberada em grandes quantidades em condições relacionadas com a geração de arritmias cardíacas. Tem-se demonstrado que a adenosina bloqueia arritmias induzidas por constricção coronariana em ratos (58), promove bloqueio âtrio-ventricular em cães (14), sendo também eficiente em abolir arritmias cardíacas que envolvem o nódulo-âtrio-ventricular (como a taquicardia paroxística supraventricular no homem) (43), sugerindo que essa substância desempenha importante papel na eletrofisiologia celular de tecidos cardíacos. Tem-se demonstrado, em experimentos "in vitro" que a adenosina inibe os efeitos eletrofisiológicos e mecânicos induzidos por catecolaminas em músculo liso vascular (59), fibras de Purkinje (120) e miócitos isolados (16). Demonstrou-se também, que a adenosina reduz a liberação de norepinefrina de terminações nervosas em resposta

a estimulação elétrica (66, 71, 97).

Dados existentes na literatura demonstram que o efeito arritmogênico da ouabaina é decorrente de ações diretas no sistema de condução especializado e/ou de alterações nas células do miocárdio. Tais ações ocasionam exacerbação da atividade automática, redução da velocidade de condução e provocam bloqueio unidirecional, condições estas necessárias para induzir arritmias por reentrada do estímulo (134, 62, 128, 167, 76, 104, 127, 62, 87, 151).

Outros trabalhos, no entanto, afirmam que estes efeitos são ocasionados, pelo em menos em parte, pela liberação de catecolaminas endógenas, pois a reserpinização prévia ou a administração de beta bloqueadores reduz o inotropismo e a ação arritmogênica dos digitálicos (53, para revisão ver 68, 89). Esses resultados tornam evidente que a elevação da dose de ouabaina, necessária ao desencadeamento da la.extra-sístole, quando associada à adenosina, pode ser devida a um efeito indireto desse nucleosídeo.

A existência de complexos mecanismos de regulação da atividade cardíaca em animais intactos e a existência de interações de múltiplos mecanismos celulares de geração de arritmias dificultam a avaliação do(s) mecanismo(s) envolvido(s) na geração e manutenção desses distúrbios do ritmo cardíaco.

Em coração isolado de cobaio, apesar de não se ter detectado diferença estatisticamente significativa, a adenosina consistentemente reduziu o curso temporal dos parâmetros diretamente relacionados com arritmias promovidas por digitálico. A figura 4 demonstra que houve, ao longo do tempo, uma maior quantidade de corações com normalidade, quando a adenosina se manteve

presente. No 20º minuto 55% das preparações perfundidas com adenosina e ouabaina não apresentaram alterações do ritmo cardíaco, enquanto que na presença de apenas ouabaina esse valor reduziu-se para 28% (Figura 4 A). Fato similar ocorreu em relação ao curso temporal de preparações com extra-sístoles e surtos de taquicardia. Dados aparentemente discrepantes foram aqueles das 3 preparações que apresentaram parada cardíaca (27,2%) até o 16º minuto de perfusão com ouabaina e adenosina. Dessas 3 preparações, 2 não apresentaram previamente extra-sístoles, sugerindo que tal fenômeno decorre do efeito inotrópico negativo da adenosina e não do efeito arritmogênico da ouabaina. A outra apesar de ter apresentado extra-sístoles evoluiu a parada cardíaca sem ter apresentado fibrilação ventricular. Das preparações perfundidas somente com ouabaina, a parada cardíaca apresentada por uma delas foi precedida de fibrilação ventricular. As substâncias ou procedimentos considerados anti-arrítmicos não só elevam a dose de ouabaina necessária ao desencadeamento de parada cardíaca como fenômeno terminal da arritmia, mas frequentemente abolem o desenvolvimento da fibrilação ventricular prévio a assistolia (1, 53, 24, 28). Assim das duas preparações que apresentaram arritmia cardíaca e parada cardíaca, aquela exposta apenas a ouabaina teve uma evolução condizente com um efeito arritmogênico mais severo.

Em corações com exereses de átrios a adenosina demonstrou ter um efeito anti-arrítmico muito mais conspícuo. Verifica-se significância estatística para todos os parâmetros analisados no 6º e 16º minuto. Observe-se no 20º minuto, que o número de corações submetidos à ouabaina sem anormalidade, foi de 9,1% e 100% na ausência e na presença de adenosina, respectivamente.

Os corações com exereses de átrio apresentaram um desenvolvimento dos efeitos arritmogênicos da ouabaina bem mais rápido do que aqueles com a presença dos átrios. Essa diferença é bem mais conspícua em relação à frequência cardíaca (compare 3.1.2 com 3.1.3), parâmetro que, diferentemente de uma pequena alteração nos corações com átrios apresentou acentuado aumento nos corações com exereses. Essa diferença dificilmente pode ser explicada por fatores como a supressão do marcapasso e desacoplamento átrio-ventricular. Em relação ao primeiro desses dois fatores poderia levantar-se a hipótese de que o marcapasso atrial possa suprimir os focos ventriculares, inclusive os de automatismo normal, e assim impor uma relativa constância na frequência cardíaca. Entretanto observa-se que nos corações com e sem exereses a frequência imediatamente anterior à exposição à ouabaina foi semelhante. Já que a supressão de marcapassos ocorre à medida que um deles tem frequência intrínseca maior que dos outros, fica difícil explicar essa diferença pela supressão do marcapasso. Em relação ao desacoplamento átrio-ventricular, esperar-se-ia que na ocorrência desse fenômeno os ventrículos se tornassem livres da supressão sino-atrial e portanto os corações com átrio apresentassem comportamento similar àquele dos corações com exereses de átrio, o que não ocorreu.

Faz-se portanto necessário levantar outras hipóteses para explicar o fenômeno. Duas delas sobressaem. É possível que funcionalmente, em relação a alguma variável não controlada e não conhecida, os corações dos experimentos com e sem exereses de átrios tenham constituído dois diferentes grupos e seja essa a causa das diferenças. A evolução das alterações de frequência nos corações com átrios foi similar ao descrito na literatura (119) e

portanto esses corações não devem ser considerados um grupo anômalo. Outra hipótese que também pode explicar esses resultados seria uma atuação indireta dos átrios sobre todo o coração. Poderia por exemplo, haver a liberação de alguma substância pelos átrios que bloqueariam parcialmente os efeitos de ouabaina, retardando o estabelecimento dos seus efeitos arritmogênicos. Os dados apresentados nesse trabalho, não possibilitam distinguir-se entre essas duas hipóteses. Contudo o número de corações (n = 11) com exérese de átrios submetidos somente a ouabaina já é suficientemente largo para dele esperar-se uma relativamente boa amostragem da população e isso favorece à segunda hipótese.

A redução da toxicidade digitálica observada nesse trabalho pode ser devida a diferentes mecanismos que atuando em conjunto ou isoladamente tenderão a conferir uma maior estabilidade elétrica à preparação.

A adenosina poderá ter atuado através da redução do automatismo normal ou anômalo. Os dados desse trabalho e de outros mostram não só que essa substância em ausência de ouabaina tem um efeito cronotrópico negativo (49, 45, 14, 83), mas que ela é capaz de promover a supressão de marcapassos de maneira notória (158). Ambos os fenômenos poderiam contribuir para reduzir as disritmias induzidas por digitálicos.

O efeito cronotrópico negativo por reduzir a frequência de batimentos de preparação, diminuiria a probabilidade de aparecimento de "triggered activity" (151, 36), podendo inclusive reduzir a chance de arritmia por reentrada do estímulo (35). Nesse trabalho a adenosina reduziu significativamente a frequência de batimentos promovida pela ouabaina, para valores em torno de

50 a 70 batimentos por minuto. Adamatidis e cols. (1), demonstraram que a manutenção da frequência em torno desse valor reduz as arritmias da intoxicação digitálica, aumenta a dose de digitálico necessária para induzir assistolia e bloqueia totalmente o aparecimento de fibrilação ventricular. Observa-se que a redução da frequência cardíaca foi mais rápida e mais profunda nos corações com exerece de átrios. Esse dado está de acordo com outros (49, 45, 14, 83) em que foi documentado maior sensibilidade dos ventrículos ao efeito cronotrópico da adenosina (146) e provavelmente está relacionado com o maior efeito antiarrítmico da adenosina nos corações com exerece de átrios.

O aumento da supressão de marcapassos poderia explicar um efeito anti-arrítmico por frear o aparecimento de focos ectópicos criados pela exacerbação do automatismo normal ou instalação de automatismo anormal. Tal efeito não foi mantido pela adenosina quando em presença de ouabaina. Isso torna difícil a atribuição a esse fenômeno do efeito anti-arrítmico da adenosina nos corações com átrio desse trabalho e em corações de cobaias com acoplamento átrio-ventricular de uma maneira geral. É possível que os focos de automatismo ventricular sejam também mais sensíveis ao efeito supressor de marcapasso da adenosina. Se correta essa hipótese, nos corações com exerece de átrio desse trabalho, a ação supressora de marcapasso dessa substância pode ter contribuído para o efeito anti-arrítmico observado. Entretanto, é provável que essa contribuição não seja a predominante, pois está demonstrado que em corações de cobaias com desacoplamento átrio-ventricular a supressão de marcapasso da adenosina é largamente, mas não totalmente, bloqueada pela ouabaina (158).

Valores de pausa pós-estimulatória em presença de apenas adenosina similares aos desse trabalho, inclusive no que concerne a larga dispersão, foram observados também por Wesley e Belardinelli (158). Esses autores classificaram as preparações, no que concerne ao aumento da pausa pós-estimulatória, em sensíveis e não sensíveis à adenosina. Em relação aos dados desse trabalho, pode-se sugerir que a dispersão se deva a diferenças de sensibilidade. Contudo, é razoável questionar-se também se não se deveria ela parcial ou totalmente à participação de diferentes graus de bloqueio átrio-ventricular em presença de maior sensibilidade dos marcapassos ventriculares ao efeito supressor da adenosina.

A indução de automatismo anômalo (Vide 1.4.1.3), geralmente se associa à "triggered activity", também chamada de "overdrive enhancement", mecanismo em muitos aspectos, oposto ao overdrive supression, e que se origina de pós-potenciais oscilatórios (162, 36, 166, 165, 62). Como esses pós-potenciais se devem a um acúmulo de íons cálcio no meio intra-celular e três entre os principais mecanismos envolvidos no controle da atividade citoplasmática desse íon são a captação de Ca^{++} pelo retículo sarcoplasmático, o mecanismo de troca $Na^+ - Ca^{++}$ e indiretamente, a bomba $Na^+ - K^+$, investigou-se a interferência da adenosina nesses mecanismos.

Em relação à bomba $Na^+ - K^+$, sabe-se que os digitálicos, em doses semelhantes àquelas empregadas nesse trabalho, tem suas ações, inclusive o bloqueio da supressão do marcapasso, decorrentes do bloqueio a esse mecanismo de transporte (2, 3, 4). Substâncias ou procedimentos que ativam esse tipo de transporte tem efeito antagônico ao dos digitálicos. Dados em artéria coronária e mesentérica de coelho (64) tem sugerido que a adenosina ativa a

bomba de $\text{Na}^+ - \text{K}^+$. Nesse trabalho os valores da pausa pós-estimulatória em presença de ouabaina e adenosina não se mostraram diferentes daqueles em presença de apenas ouabaina, sugerindo que nessa preparação a adenosina não interfere no transporte ativo $\text{Na}^+ - \text{K}^+$. Essa mesma conclusão foi também atingida e informada (comunicação pessoal) pelos pesquisadores Noel, F. e Leal-Cardoso, J. H., que mediram diretamente a ação da adenosina na atividade da $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPase, não encontrando alterações nem no controle, nem em presença de ouabaina.

Em relação ao mecanismo de troca $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{++}$ e a função do retículo sarcoplasmático reguladora da atividade de Ca^{++} do sarcoplasma, os resultados mostram que a adenosina não alterou a resposta contrátil promovida pela redução da concentração de sódio em tiras de aurícula de cobaio e ventrículo de sapo. Nesse modelo empregou-se a cafeína para potencializar a resposta contrátil, pois ele promove a liberação de Ca^{++} do retículo sarcoplasmático em músculo esquelético e músculo cardíaco (20). São duas portanto, as fontes de Ca^{++} necessárias à contração nesses experimentos. Uma é a transferência de cálcio através do sarcolema e outra é o retículo sarcoplasmático. Já que a adenosina exógena em concentrações de até 1×10^{-4} M (137) é metabolizada na sua passagem através da membrana sarcoplasmática, é pouco provável que ela venha a interferir diretamente com a liberação do íon cálcio desse organela, mesmo sabendo-se que ela antagoniza ações da cafeína no coração (38). Entretanto, estudos enzimáticos sugerem que a adenosina no meio intracelular é largamente deaminada a inosina pela enzima adenosina deaminase, mas em pequena escala pode servir como precursor à formação de AMP numa reação de fosforilação catalizada pela adenosina quinase (para re

visão ver 65, 143). Os dados desse trabalho sugerem fortemente que a adenosina exógena não interfere quer direta quer indiretamente através de seus metabólitos, com o mecanismo de troca $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{++}$ e com a liberação de íons cálcio do retículo sarcoplasmático, pois é muito pouco provável que ela atuasse simultaneamente nos dois sistemas, com efeitos antagônicos e iguais em módulo, a ponto de não aparecer alterações mensuráveis da força de contração. Essa sugestão é inclusive reforçada pelo fato de que se trabalhou com diferentes graus de redução da concentração do íon sódio extracelular para, produzindo diferentes níveis da contração resultante, evitar que alterações promovidas pela adenosina fossem mascaradas pela saturação da contração.

Outro fator importante no controle do nível de Ca^{++} livre no citoplasma da célula cardíaca e de importância direta para a geração de arritmias é a corrente desse íon através do canal lento de sódio e cálcio. Acredita-se que a adenosina bloqueia esse canal, pois ela bloqueia o potencial de ação lento (135,86, 13). Sabe-se que os bloqueadores desse canal antagonizam a "triggered activity", embora o façam bem mais lentamente do que em relação ao potencial de ação lento (128, 52), o que é coerente com o fato de alterações desse canal só lentamente se refletirem em alteração da atividade citoplasmática de Ca^{++} . Assim, esperar-se ia que a adenosina bloqueasse também os pós-potenciais oscilatórios e a "triggered activity", mas os achados experimentais disponíveis no momento negam essa hipótese (158). E na medida em que se afastar a hipótese de atuação na "triggered activity" como mecanismo de ação anti-arrítmica da adenosina, resta apelar principalmente para o bloqueio do potencial de ação lento e a hiperpolarização promovidos por esta substância, além da já mencio

nada diminuição do cronotropismo. É provável que bloqueio dos potenciais de ação lentos e portanto do mecanismo de reentrada do estímulo tomem parte na ação anti-arrítmica da adenosina, pois está demonstrado que as condições que geram arritmia frequentemente o fazem através da atuação simultânea da exacerbação do automatismo e da reentrada do estímulo (34, 127, 163, 164). Entretanto, a comprovação desse duplo mecanismo celular de arritmogênese em corações inteiros está além das possibilidades técnicas de hoje (169).

A hiperpolarização promovida pela adenosina é um candidato forte para um importante papel na ação anti-arrítmica dessa substância. Ela, aumentando os valores da variável h , reduzindo a inativação do canal rápido de sódio (74), aumenta a velocidade de propagação do potencial e dificulta a geração de arritmias por reentrada do estímulo. Além disso a hiperpolarização, tornando mais negativo o potencial transmembrana durante a Fase 4, presumivelmente dificulta o aparecimento de "triggered activity" pois aumenta a amplitude mínima necessária para que o "oscillatory afterpotencial" atinja o potencial limiar de excitação.

Hiperpolarizações promovidas por adenosina em vários tecidos cardíacos e condições já estão documentadas na literatura (14, 110, 15, 159). Ela se deve a um aumento da condutância ao potássio e é em tudo semelhante àquela promovida pela acetilcolina (15, 110, 147). É conspícua em nodo sino-atrial e átrio (159, 103, 46, 15). É geralmente nula em ventrículo e tecido condutor ventricular com potencial diastólico máximo em torno de - 90 mV, mas é evidente quando esse potencial se torna muito positivo em relação a esse valor (131).

Entre os fatores indiretos capazes de contribuir para

o efeito anti-arrítmico da adenosina, poder-se-ia aventar a dilatação coronariana que ela produz, com a conseqüente melhora da perfusão miocárdia. Esse fator deve ser levado em consideração nos experimentos "in vivo" desse trabalho. Contudo, nos experimentos "in vitro" sua contribuição não deve ter sido apreciável, pois o fluxo coronariano foi mantido constante ao longo do experimento.

As medidas de força de contrações ao nível do apex do coração, apesar de terem sido colhidas apenas para servirem de uma comprovação mecânica dos distúrbios do ritmo, mostraram que a adenosina tem um efeito inotrópico negativo, enquanto que a ouabaina tem um efeito inotrópico positivo, fatos já documentados na literatura por outros autores (21, 27, 44). Mostraram também que a adenosina antagoniza apenas parcialmente o efeito inotrópico da ouabaina. Esse achado é interessante, pois sugere que se possa conseguir os efeitos anti-arrítmicos da adenosina nas disritmias promovidas por digitálicos sem abolir todo o efeito inotrópico positivo desses agentes.

Esses fatos demonstram que a adenosina, mesmo em concentrações endogenamente encontráveis, contribui para a estabilidade elétrica e mecânica do coração. A avaliação e a caracterização de novas propriedades eletrofisiológicas desse nucleosídeo abre perspectivas para a sua utilização seja como método diagnóstico de certas enfermidades, seja como um recurso terapêutico a mais a ser empregado, como já ocorre em relação a taquicardia paroxística supra-ventricular. Torna-se necessário também, a obtenção de análogos da adenosina que sejam estáveis, bem como de substâncias que bloqueiem de forma específica os receptores purinérgicos ou de agentes que impeçam a recaptação desse nucleosí-

dio pelas células do coração.

4.1 CONCLUSÕES

4.1.1 - Apesar de a literatura referir ausência de ação da adenosina nos pós-potenciais oscilatórios produzido por ouabaina, e ser a "triggered activity" considerada a principal causa em termos de mecanismo celular, das arritmias induzidas por digitálicos, a adenosina teve efeito anti-arrítmico evidente em preparações "in vivo" e "in vitro".

4.1.2 - Esse efeito não pode ser atribuído a capacidade da adenosina de induzir "overdrive supression", nem de alterar o Ca^{++} intracelular, através do sistema de troca $Na^+ - Ca^{++}$.

4.1.3 - Observou-se que a rapidez de instalação dos efeitos disrítmicos foi muito mais rápida nos corações com exere-se de átrios, o que sugere um efeito protetor dos átrios na intoxicação digitálica.

TABELA 01 - Efeito da adenosina sobre a dose de ouabaina limiar para o desencadeamento de extra-sístole, em experimentos "in vivo". Administrou-se a adenosina de forma contínua (0,02 ml/min. de uma solução contendo 10^{-2} M) e ouabaina de modo intermitente (0,05 ml/2 min. de solução contendo 80 ug/ml); \bar{x} , média aritmética; e.p. erro padrão; n, número de experimentos. Cada observação em experimentos diferentes.

DOSE (ug/kg)	
ouabaina	ouabaina adenosina
100	74,17
68	81,43
74	78,32
67,41	136,98
60,46	95,77
64	115,15
53,33	85,33
56	-
65,93	-
74,07	-
70	-
70,32	-
82,19	-
73,14	-
67,53	-
67,60	-
72,72	-
μ 69,81	95,30
e.p. 2,45	8,02
n = 17	7

TABELA 02 - Efeitos da adenosina (1×10^{-5} M), em alguns parâmetros da intoxicação por ouabaina ($3,3 \times 10^{-6}$ M), em coração isolado de cobaio. Os valores de preparações sem arritmias (S.A.) com extra-sístoles (E.S.), parada cardíaca (P.C.), fibrilação ventricular (F.V.) e surtos de taquicardia (S.T.) são expressos em termos percentuais, enquanto aqueles referentes à frequência cardíaca (F.C.), em batimentos por minuto, o foram como a média \pm erro padrão (e.p.); n, número de observações.

		TEMPO DE PERFUSÃO (MIN.)										
CONDIÇÃO	PARÂMETRO	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
OUABAINA	S.A.	100	100	90,8	54,5	45,5	36,3	36,3	27,2	27,2	27,2	27,2
	n	11	11	10	6	5	4	4	3	3	3	3
	E.S.	0	0	9,1	45,5	54,5	63,6	63,6	63,6	63,6	63,6	63,6
	P.C.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	F.V.	0	0	0	0	0	0	0	9,1	9,1	9,1	9,1
	S.T.	0	0	0	0	0	18,2	18,2	9,1	0	9,1	9,1
	F.C.	106	99	98	95	94*	94	92	91	98	104	106
	E.P.	10	8,0	7,0	7,0	8,0	10,0	10,0	10,0	7,0	8,0	12,0
OUABAINA ADENOSINA	S.A.	100	100	81,8	72,8	72,8	63,7	63,7	45,5	54,5	54,5	54,5
	n	11	11	9	8	8	7	7	5	6	6	6
	E.S.	0	0	18,2	27,2	27,2	27,2	27,2	36,3	18,2	18,2	18,2
	P.C.	0	0	0	0	0	9,1	9,1	18,2	27,2	27,2	27,2
	F.V.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	S.T.	0	0	0	0	0	0	0	0	9,1	0	0
	F.C.	97	81	74	70	65*	64	60	69	77	72	70
	E.P.	7,0	7,0	7,0	8,0	9,0	9,0	9,0	9,0	14,0	10,0	9,0

TABELA 03 - Efeitos de adenosina (5×10^{-5} M), em alguns parâmetros da intoxicação por ouabaina ($3,3 \times 10^{-3}$ M), em coração isolado de cobaio com exereses de átrios. Os valores de preparações sem arritmias (S.A.), com extra-sístoles (E.S.), parada cardíaca (P.C.), fibrilação ventricular (F.V.) e surtos de taquicardia (S.T.) são expressos em termos percentuais, enquanto aqueles referentes à frequência cardíaca (F.C.) o foram como a média erro padrão (e.p.); n, número de observações.

*,** indica diferença estatisticamente significativa, a 1% (teste de Fisher) e a 0,2% (teste "t" de Student, não pareado).

⊗ indica diferença estatisticamente significativa a 1% em relação ao tempo 0 (controle), (teste "t" de Student, pareado).

		TEMPO DE					
CONDIÇÃO	PARÂMETRO	0	2	4	6	8	10
OUABAINA	S.A.	100	100	54,5	54,5	18,2	18,2
	n	11	11	6	6	2	2
	E.S.	0	0	45,5	45,5	*81,8	72,7
	P.C.	0	0	0	0	0	9,1
	F.V.	0	0	0	0	0	0
	S.T.		9,1	18,2	18,2	27,2	9,1
	F.C.	104	117	132	144	**160	170
	E.P.	7	9	9	13	17	14
	OUABAINA ADENOSINA	S.A.	100	100	100	87,5	100
n		8	8	8	7	8	8
E.S.		0	0	0	0	0	0
P.C.		0	0	0	0	0	0
F.V.		0	0	0	0	0	0
S.T.					12,5		
F.C.		103	50	48	72	⊕46	51
E.P.		11	10	9	18	4	5

PERFUSÃO (MINUTOS)

12	14	16	18	20	22	24	26	28	30
18,2	18,2	9,1	9,1	9,1	9,1	9,1			
2	2	1	1	1	1	1			
63,6	45,5	27,2	27,2	18,2	18,2	18,2			
9,1	18,2	36,3	36,3	45,5	45,5	45,5			
9,1	18,2	27,2	27,2	27,2	27,2	27,2			
27,2	27,2	27,2	36,3	27,2	27,2	27,2			
182	223	233	182	176	151	155			
17	37	34	22	16	32	15			
100	87,5	100	87,5	100	100	83,4	83,4	83,4	83,4
8	7	8	7	7	7	5	5	5	5
0	0	0	0	0	0	16,6	16,6	16,6	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	12,5		12,5			16,5	0	0	16,5
50	73	50	72	45	45	69	60	52	75
4	19	5	19	5	5	18	14	14	26

TABELA 04 - Valores individuais de força de contração (g) gerada em preparação de coração isolado de cobaio, estimulado eletricamente durante 30 segundos.

⊗ Indica valor estatisticamente significativo
($p < 0,05$, a nova, contraste, teste do Tukey)

CONDIÇÃO	TEMPO DE ESTIMULAÇÃO (seg) COM 3,5 - 4,0 Hz						
	0	5	10	15	20	25	30
CONTROLE	1,2	1,4	1,6	1,6	1,8	1,9	2,0
	2,2	2,4	2,5	2,5	2,6	2,6	2,6
	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
	2,0	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4
	1,9	1,8	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9
	0,5	1,1	1,5	1,7	2,0	2,2	2,3
	2,6	2,4	2,4	2,5	2,6	2,6	2,6
	1,8	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6	1,8
	μ^+ -e.p.	$1,77^{\pm 0,21}$	$1,86^{\pm 0,17}$	$1,98^{\pm 0,13}$	$2,02^{\pm 0,13}$	$2,1^{\pm 0,11}$	$2,15^{\pm 0,12}$
ADENOSINA	1,2	1,3	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
	0,45	0,8	0,8	0,8	0,9	1,0	1,0
	1,1	1,1	1,05	1,0	1,0	1,0	1,0
	0,7	1,4	1,5	1,5	1,6	1,6	1,6
	0,9	1,0	1,15	1,3	1,4	1,5	1,5
	0,8	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
μ^+ -e.p.	$0,86^{\pm 0,1}$	$1,1^{\pm 0,08}$	$1,15^{\pm 0,1}$	$1,16^{\pm 0,1}$	$1,21^{\pm 0,1}$	$1,25^{\pm 0,1}$	$1,25^{\pm 0,1}$
ADENOSINA	3,5	3,0	2,75	2,5	2,5	2,5	2,5
OUABAINA	2,0	2,0	1,75	1,5	1,5	1,5	1,5
	1,0	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,0
	1,2	1,1	1,1	1,0	0,9	0,8	0,8
	1,0	1,4	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2
	1,2	0,9	0,8	0,7	0,6	0,6	0,55
	3,8	3,2	2,8	2,6	2,6	2,5	2,4
	1,2	1,0	0,9	0,9	1,0	1,0	1,0
	μ^+ -e.p.	$1,86^{\pm 0,38}$	$1,76^{\pm 0,29}$	$1,6^{\pm 0,26}$	$1,48^{\pm 0,23}$	$1,47^{\pm 0,24}$	$1,45^{\pm 0,24}$
OUABAINA	2,2	2,0	1,8	2,0	2,2	2,2	2,2
	1,0	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
	2,6	2,2	1,8	1,8	1,8	1,8	2,0

CONDIÇÃO	TEMPO DE ESTIMULAÇÃO (seg) COM 4,5 - 5,0 Hz						
	0	5	10	15	20	25	30
CONTROLE	4,2	3,2	2,0	1,8	1,8	1,6	1,6
	2,2	2,5	2,2	2,2	2,4	2,4	2,4
	1,2	2,5	2,2	2,2	2,4	2,4	2,4
	1,6	1,4	1,0	0,8	0,8	0,8	0,8
μ^+ -e.p.	$2,14 \pm 0,37$	$2,04 \pm 0,23$	$1,62 \pm 0,15$	$1,54 \pm 0,19$	$1,6 \pm 0,22$	$1,57 \pm 0,22$	$1,6 \pm 0,22$
	1,9	1,55	1,6	1,7	1,8	1,9	1,9
	2,6	2,2	2,3	2,4	2,4	2,4	2,4
	1,8	1,4	1,4	1,6	1,6	1,6	1,6
	1,85	1,3	1,4	1,5	1,6	1,6	1,7
	0,5	1,1	1,3	1,6	1,85	2,0	2,0
	2,6	2,0	2,2	2,2	2,2	2,2	2,2
μ^+ -e.p.	$1,87 \pm 0,28$	$1,59 \pm 0,16$	$1,7 \pm 0,16$	$1,83 \pm 0,14$	$1,91 \pm 0,12$	$1,95 \pm 0,12$	$1,96 \pm 0,11$
ADENOSINA	2,4	2,0	2,3	2,4	2,6	2,8	2,8
	0,6	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
	1,8	1,6	1,6	1,8	1,9	2,0	2,0
	1,8	1,6	1,8	2,0	2,2	2,2	2,2
X^+ -e.p.	$1,65 \pm 0,32$	$1,5 \pm 0,21$	$1,62 \pm 0,27$	$1,75 \pm 0,3$	$1,87 \pm 0,34$	$1,95 \pm 0,36$	$1,95 \pm 0,36$
OUABAINA	1,8	0,6	0,6	0,7	0,8	0,8	0,8
ADENOSINA	1,6	2,0	2,2	2,4	2,6	2,6	2,6
	5,6	3,4	2,8	2,6	2,6	2,0	2,0
μ^+ -e.p.	$3,0 \pm 1,0$	$2,0 \pm 0,66$	$1,86 \pm 0,53$	$1,9 \pm 0,49$	$2,0 \pm 0,49$	$1,8 \pm 0,43$	$1,8 \pm 0,43$
OUABAINA	3,0	2,6	2,2	2,1	2,0	2,0	2,0
	4,8	3,6	2,6	2,4	2,4	2,4	2,4
	4,6	3,6	2,4	2,0	2,0	2,0	2,0
	2,6	2,8	2,2	2,0	2,4	2,6	2,6
	1,0	1,0	1,8	1,2	1,0	0,8	0,8
	3,08	2,6	2,0	1,8	1,8	1,8	1,8
	4,4	3,4	2,4	2,4	2,2	2,4	2,2
μ^+ -e.p.	$3,35 \pm 0,47$	$2,8 \pm 0,31$	$2,08 \pm 0,2$	$1,98 \pm 0,14$	$1,97 \pm 0,17$	$2,0 \pm 0,32$	$1,97 \pm 0,32$

TABELA 05 - Valores individuais do período de pausa (seg) induzido por estimulação elétrica em coração isolado de cobaio. C - controle; ADO - adenosina (10^{-5} M) OUA - ouabaina (1×10^{-6} M); μ = média dos valores; c.p. = erro padrão*estatisticamente significativo a 5% em relação ao controle (calculado por ANOVA).

PERÍODO DE PAUSA

C	2,5 a 3,0 Hz			3,5 a 4,0 Hz				4,5 a 5,0 Hz			
	ADO	ADOOUA	OUA	C	ADO	ADOOUA	OUA	C	ADO	ADOOUA	OUA
0,6	0,8	1,4	2,0	0,8	0,8	0,4	1,0	0,5	1,8	1,2	5,6
0,8	1,0	10,0	1,2	0,65	4,2	0,6	1,0	0,32	24,0	1,2	1,2
0,6	2,0	0,8	1,6	0,3	2,0	1,0	1,2	0,5	1,8	0,4	3,6
0,6	1,1	2,6	1,0	0,36	2,2	1,0	0,4	0,4	4,4	0,4	0,8
-	1,4	0,6	0,9	0,6	3,4	0,8	1,8	0,4	1,0	6,0	1,4
0,8	0,5	1,2	-	0,8	0,6	0,4	1,4	0,8	1,4	1,6	0,4
0,6	0,8	9,0	-	0,38	0,6	1,2	0,9	0,34	32,0	-	1,2
0,6	0,8	1,0	-	0,4	1,4	1,3	1,4	0,4	62,4	-	3,2
0,6	0,8	1,9	-	0,6	4,8	3,0	1,6	0,6	-	-	-
-	0,8	0,7	-	0,34	27,4	2,2	-	-	-	-	-
-	2,0	-	-	0,6	2,0	0,8	-	-	-	-	-
-	0,8	-	-	0,4	-	1,4	-	-	-	-	-
-	12,0	-	-	0,4	-	-	-	-	-	-	-
-	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	2,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	0,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	0,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
u = 0,65	1,73	2,92	1,34	0,51	4,13	1,26	1,19	0,38	16,05*	1,8	2,17
e.p. 0,028	0,6	1,05	0,17	0,04	2,35	0,20	0,14	0,01	7,8	0,86	0,67

TABELA 06 - Efeito de adenosina (10^{-5} M) nos valores individuais de força de contração de tiras de aurícula de cobaio, induzida pela redução da $(Na^+)_o$. Foi adicionada cafeína (5 mM) à solução nutritora, 5 minutos antes de se proceder a redução da $(Na^+)_o$, e mantida durante a resposta contrátil.

CONDIÇÃO	FORÇA (mg) MEDIDA AO LONGO DO TEMPO (MIN.)								
	1º MIN		3º MIN		5º MIN		7º MIN		
	C	ADO	C	ADO	C	ADO	C	ADO	
Na ⁺ _o =27,4mM	30	33	230	133	330	200	530	300	
	200	200	366	300	360	300	360	300	
	0,0	0,0	100	100	100	100	100	100	
	0,0	0,0	50	0,0	150	100	150	200	
	0,0	0,0	0,0	0,0	75	25	100	125	
	μ	46	46	149	106	203	145	254	205
e.p.	34	34	59	49	52	42	80	37	
Na ⁺ _o =13,7mM	0,0	100	200	1000	700	1500	700	1500	
	100	100	200	200	400	400	600	600	
	200	400	600	500	800	550	850	550	
	0,0	0,0	50	50	50	150	100	300	
	0,0	0,0	50	100	200	100	300	100	
	50	50	100	100	150	150	200	250	
μ	58,33	108,33	200	325	383,3	475	458,3	550	
e.p.	29,85	55,79	77,28	137,3	114,66	198,1	112,6	167,8	
Na ⁺ _o =0 mM	700	-	1900	-	1820	-	1820	-	
	300	-	850	-	1100	-	1100	-	
	800	-	1900	-	2100	-	2100	-	
	700	-	900	-	750	-	750	-	
	200	-	600	-	600	-	600	-	
	100	-	250	-	300	-	300	-	
	250	-	650	-	650	-	650	-	
	100	-	406	-	583,3	-	616,6	-	
	0,0	-	75	-	375	-	550	-	
	0,0	-	200	-	300	-	300	-	
	150	-	360	-	360	-	360	-	
	155	-	425	-	600	-	600	-	
	μ	287,9	-	709,6	-	794,8	-	812,2	-
	e.p.	78,3	-	168,2	-	163,4	-	160,5	-

TABELA 07 - Força desenvolvida por cada tira de ventrículo de sapo submetido a ausência de íons sódio na solução nutritora e em presença de 5 mM de cafeína. A força (g) foi medida ao longo de 7 minutos.
C - controle; ADO - adenosina (10^{-5} M).

	1φ MIN		3φ MIN		5φ MIN		7φ MIN	
	C	ADO	C	ADO	C	ADO	C	ADO
	1,1	1,0	1,95	1,7	2,62	2,2	2,62	2,2
	1,4	1,1	2,55	2,0	3,25	2,9	3,55	3,4
	1,55	1,4	3,05	2,9	3,75	3,7	4,05	4,0
	0,5	0,45	0,8	0,85	1,07	1,05	1,15	1,15
	0,425	0,45	0,65	0,75	0,7	0,8	0,7	0,8
	0,95	0,95	1,125	1,1	1,125	1,1	1,12	1,1
	1,75	0,65	2,05	1,05	2,4	1,35	2,4	1,45
И	1,096	0,85	1,739	1,47	2,13	1,87	2,22	2,01
e.p.	0,178	0,12	0,318	0,26	0,41	0,38	0,45	0,43

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- O1 ADAMANTIDIS, M. M.; DURIEZ, P. R.; VICENT, A. C.; DU-
PUIS, B. A. Digoxin-induced toxicity and experimental
atrioventricular block in dogs. Relation between ventri-
cular arrhythmias and oscillatory afterpotentials. J.
Pharmacol., Paris, 14 (3):333-49, 1983.
- O2 AKERA, T. Membrane adenosine triphosphatase: A digitalis
receptor? Science, 198:569-74; 1977.
- O3 AKERA, T. & BRODY, T. M. The role of Na⁺, K⁺ ATPase in the
inotropic action of digitalis. Pharmacol. Rev., 29:197-
220; 1977.
- O4 _____. Myocardial membranes: Regulation and function of
the sodium pump. Ann. Rev. Physiol., 44:375-88; 1982.
- O5 ALESSIE, M. A.; BONKE, F. I. M.; ASCHOPMAN, F. J. G. Cir-
cus movement in rabbit atrial muscle as a mechanism of
tachycardia III - The "leading circle". Concept: A new
model of circus movement in cardiac tissue without the
involvement of an anatomical obstacle. Cir. Res., 41, 1,
9-18; 1977.

- 06 ALLEN, D. G. & LINKS JR. Calcium transients in aequorin-injected frog muscle. Nature, 273:509-13, 1978.
- 07 AROSON, R. S. Afterpotentials and triggered activity in hypertrophied myocardium from rats with renal hypertension. Circ. Res., 48:720, 1981.
- 08 BAKER, P. F.; BLAUSTEIN, M. P.; HODGKIN, A. L.; STEINHARDT, R. A. Apud LANGER, G. A. Sodium calcium exchange in the heart. Annu. Rev. Physiol., 44:435-9, 1982.
- 09 BASSET, A. L.; FENOGLIO JR., J. J.; WIT, A. L.; MYERBURG, R. J.; GELBAND, H. Electrophysiological and ultrastructural characteristics of the canine tricuspid valve. Am. J. Physiol., 230:1366-73, 1976.
- 10 BASSINGTHWAIGHTE, J. B.; FRY, C. H.; MCGUIGAN, J. A. S. Relationship between internal calcium and outward current in mammalian ventricular muscle: A mechanism for the control of the action potential duration. J. Physiol.; London, 262:15-37, 1976.
- 11 BEELER, G. W. & REUTER, H. Reconstruction of the action potential of ventricular myocardial fibers. J. Physiol., London, 268:177-210, 1977.
- 12 _____ . Membrane calcium current in ventricular myocardial fibers. J. Physiol., London, 207:191-209, 1970.

- 13 BELARDINELLI, L.; RUBIO, R.; BERNE, R. M. Blockade of Ca^{+2} dependent rat atrial slow action potentials by adenosine and lanthanum. Pflügers Arch., 280:19-27, 1979.
- 14 BELARDINELLI, L.; MATTOS, E. C.; BERNE, R. M. Evidence for adenosine mediation of atrioventricular block in the ischemic canine myocardium. J. Clin. Invest., 68: 195 - 205, 1961.
- 15 BELARDINELLI, L. & ISENBERG, G. Isolated atrial myocytes; adenosine and acetylcholine increase potassium conductance. Am. J. Physiol., 244:H734-7, 1983.
- 16 _____ . Action of adenosine and isoproterenol on isolated mammalian ventricular myocytes. Circ. Res., 53: 287-97, 1983.
- 17 BELLER, G. A. T. W.; SMITH, W. H.; ABELMANN, E.; HABER, W. B. Hood. Digitalis intoxication: A prospective clinical study with serum level correlations. N. Engl. J. Med. 284:989, 1971.
- 18 BERNE, R. M. The role of adenosine in the regulation of coronary blood flow. Circ. Res., 46(6):807-13, 1980.
- 19 BIGGER, J. T.; DRESDALE, R. J.; HEINSEN BUTTER, R.H.; WELD, F. M.; WIT, A. L. Ventricular arrhythmia in ischemic heart disease; Mechanism, prevalence, significance and management. Prog. Cardiovasc. Dis., 19:255-300, 1977.

- 20 BLAYNEY, L.; THOMAS, H.; MUIR, J.; HENDERSON, A. Action of caffeine on calcium transport by isolated fractions of myofibrils, mitochondria, and sarcoplasmic reticulum from rabbit heart. Circ. Res., 43:520-6, 1981.
- 21 BOHM, M.; BRUCKNER, R.; HACKBARTH, I.; HAUBITZ, B.; SCHITZ, W.; SCHOLZ, H. Adenosine inhibition of catecholamine-induced increase in force of contraction in guinea-pig atrial and ventricular heart preparations. Evidence against a Cyclic AMP - and Cyclic GMP - dependence effect. J. Pharmacol. Exp. Ther., 230:483-92, 1984.
- 22 BOLZER, E. Tonus changes in cardiac muscle and their significance for the initiation of impulses. Am. J. Physiol. 139:477-80, 1943.
- 23 BOLZER, E. & DELAHAYES, J. F. Mechanical and electrical oscillations in cardiac muscle of the turtle. J. Gen. Physiol., 62:523-34, 1973.
- 24 BOUYAJY, I. D. & NASH, C. G. Alteration of ouabain toxicity by cardiac denervation. Toxicol. Appl. Pharmacol., 9:199-208, 1966.
- 25 BRASIL, R. O. & LEAL-CARDOSO, J. H. Isolador de estímulo para uso em eletofisiologia. In: Reunião Anual da Federação das Sociedades de Biologia Experimental, 19, 1986. Resumo 309.

- 26 BROWN, H. F. & NOBLE, S. J. Membrane currents underlying delayed rectification and pacemaker activity in frog atrial muscle. J. Physiol., London, 204:717, 1969.
- 27 BRUCKNER, R.; FENNER, A.; MEYER, W.; NOBIS, T. L.; SCHMITZ, W.; SCHOLZ, H. Adenosine analogs in guinea-pig atrial and ventricular preparations evidence against a role of Cyclic AMP and Cyclic GMP. J. Pharmacol. Exp. Ther., 234:766-74, 1985.
- 28 CAGIN, N.; SOMBERG, J.; BOUNOUS, H.; MITTAG, T.; RAINES, A.; LEVITT, B. The influence of spinal cord transection on the capacity of digitoxin to induce cardiotoxicity. Arch. Int. Pharmacodyn, Ther., 207:340-7, 1974.
- 29 CARBONIN, P.; DIGENNARO, M.; VALLE, R.; WEISZ, A.M. Inhibitory effects of anoxia on reperfusion - and digitalis - induced ventricular tachyarrhythmias. Am. J. Physiol., 240 (Heart Circ. Physiol., 9):H 730-7, 1981.
- 30 CARMELIET, E. & VEREECKE, J. Adrenaline and the plateau phase of the cardiac action potential. Pflügers Arch., 313:300-15, 1969.
- 31 CHAPMAN, R. A.; CORAY, A.; MCGUIGAN, A. S. Sodium-Calcium exchange in mammalian heart; The maintenance of low intracellular calcium concentration. In: DRAKE-HOLLAND, A. N. & NOBLE, M. I. M. eds. Cardiac Metabolism.

- 32 CHAPMAN, R. A. Control of cardiac contractility at the cellular level. Am. J. Physiol., 245 (Heart Circ.Physiol.,14): H 535-52, 1983.
- 33 CONSTANTIN, L. L. & PODOLSKY, R. J. Apud FABIATO, A. & FABIATO, F. Calcium Release from the sarcoplasmic reticulum. Circ. Res., 40:119-29, 1977.
- 34 CRANEFIELD, P.; WIT, A. L.; HOFFMAN, B. Genesis of Cardiac Arrhythmias. Circ. Res., 47:190-204, 1973.
- 35 CRANEFIELD, P. F. The conduction of the cardiac impulse : the slow response and cardiac arrhythmias. Mount Kisco, NY, Futura Publishing, 1975.
- 36 _____ . Action potentials, afterpotentials, and arrhythmias. Circ. Res., 41:415-23, 1977.
- 37 DAVIS, L. D. Effect of changes in cycle length on diastolic depolarization produced by ouabain in canine Purkinje fibers. Circ. Res., 32:206-14, 1973.
- 38 DEGUBAREFF, T. & SLEATOR Jr., W. Effects of caffeine on mammalian atrial muscle and its interaction with adenosine and calcium. J. Pharmacol. Exp. Ther., 148:202 - 14, 1965.
- 39 DEWERR, P. Cellular sodium-potassium transport in the

Kidney: physiology and pathophysiology. In SELDIN, D. W. & GIEBISCH, G. eds. New York, Raven Press, 1985. p. 31-48.

40 DiFRANCESCO, D. A study of the ionic nature of the pace-maker current in calf Purkinje fibers. J. Physiol., 314: 377-92, 1981.

41 _____ . A new interpretation of the pace-maker current in calf Purkinje fibers. J. Physiol., 314:359-76, 1981.

42 DIGENNARO, M.; VALLE, R.; PAHOR, M.; CARBONIN, P. Abolition of digitalis tachyarrhythmias by caffeine. Am. J. Physiol. 244:H 215-22, 1983.

43 Di MARCO, J. P.; SELLERS, T. D.; BERNE, R. M.; WEST, G. A.; BELARDINELLI, L. Adenosine: electrophysiologic effects and therapeutic use for terminating paroxysmal supraventricular tachycardia. Circulation, 68:1254-63, 1983.

44 DOBSON Jr., J. G. Adenosine reduces catecholamine contractile responses in oxygenated and hypoxic atria. Am. J. Physiol., 245 (Heart Circ. Physiol.: 14):H 468-74, 1983.

45 _____ . Mechanism of adenosine inhibition of catecholamine-induced responses in heart. Circ. Res., 52:151-60, 1983.

46 _____ . Interaction between adenosine and inotropic interventions in guinea pig atria. Am. J. Physiol., 245

(Heart Circ. Physiol., 14):H 475-80, 1983.

- 47 DRAPER, M. H. & WEIDMANN, S. Cardiac resting and action potentials recorded with an intracellular electrode. J. Physiol., London, 115:74-94, 1951.
- 48 DRUMMOND, G. I. & SEVERSON, D. L. Cyclic nucleotides and cardiac function. Circ. Res., 44:145-53, 1979.
- 49 DRURY, A. N. & SZENT-GYORGIY. The physiological activity of adenine compounds with special reference to their action upon the mammalian heart. J. Physiol., London, 68: 213-37, 1929.
- 50 EBIHARA, L. & JOHNSON, E. A. Fast sodium current in cardiac muscle. Biophys. J., 32:779-90, 1980.
- 51 EISNER, D. A.; LEDERER, W. J.; VAUGHAN-JONES, R. D. The quantitative relationship between twitch tension and intracellular sodium activity in sheep cardiac Purkinje fibers. J. Physiol., 355:251-66, 1984.
- 52 EL-SHERIF, N.; ZEILER, R.; GOUGH, W. B. Effects of catecholamines, verapamil and tetrodotoxin on triggered automaticity in canine ischemic Purkinje fibers. Circulation: 62 (4 pt.2):281, 1980. Abstracts.
- 53 ERLIJ, D. & MENDEZ, R. Modification of digitalis intoxication by excluding adrenergic influences on the heart. J.

Pharmacol. Exp. Ther., 144:97-103, 1964.

- 54 ETTINGER, P. O.; CALABRO, J.; REGAN, T. J.; OLDEWARTEL, H.
Origin of acetylcholinesterase-induced ventricular ar-
rhythmias. J. Clin. Invest., 59:192-202, 1977.
- 55 FABIATO, A. & FABIATO, F. Contractions induced by a cal-
cium-triggered release of calcium from the sarcoplasmic
reticulum of single skinned cardiac cells. J. Physiol.,
London, 249:469-95, 1975.
- 56 _____ . Calcium release from the sarcoplasmic reticulum.
Circ. Res., 40:119-29, 1977.
- 57 _____ . Calcium-induced release of calcium from the car-
diac sarcoplasmic reticulum. Am. J. Physiol., 245:C 14,
1983.
- 58 FAGBEMI, O. & PARRATI, J. R. Antiarrhythmic actions of
adenosine in the early stages of experimental myocardial
ischaemia. Eur. J. Pharmacol., 100:243-44, 1984.
- 59 FENTON, R. M. Effect of adenosine on calcium uptake by in-
tact and cultured vascular smooth muscle. Am. J. Physiol.,
242 (Heart Circ. Physiol., 11):H 797-804, 1982.
- 60 FERRIER, G. R. & MOE, G. K. Effect of calcium on acetylcholin-
esterase-induced transient depolarizations in canine
Purkinje tissue. Circ. Res., 33:508-15, 1973.

- 61 FERRIER, G. R. The effects of tension on acetylstrophanthidin-induced transient depolarization and aftercontractions in canine myocardial and Purkinje tissues. Circ. Res., 38:156-62, 1976.
- 62 _____. Digitalis arrhythmias: Role of oscillatory afterpotentials. Prog. Cardiovasc. Dis., 19:459-74, 1977.
- 63 _____. Effects of transmembrane potential on oscillatory afterpotentials induced by acetylstrophanthidin in canine ventricular tissues. J. Pharmacol. Exp. Ther., 215:332-41, 1980.
- 64 FOLEY, D. H. Diminished arterial smooth muscle response to adenosine during $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ Pump inhibition. Pflügers Arch., 400:88-95, 1984.
- 65 FOX, H. I. & KELLEY, W. N. The role of adenosine and 2' deoxyadenosine in mammalian cells. Annu. Rev. Biochem., 47:655-86, 1978.
- 66 FREDHOLM, B. B.; HEDQVIST, P.; LINDSTROM WENNMALM, M. Release of nucleosides and nucleotides from the rabbit heart by sympathetic nerve stimulation. Acta Physiol. Scand., 116:285-95, 1982.
- 67 GEWIRTZ, H.; BRAUTIGAN, D. L.; OLSSON, R. A.; BROWN, P.; MOST, A. S. Role of adenosine in the maintenance of coronary vasodilatation distal to severe coronary artery

- stenosis. Circ. Res., 53:42-51, 1983.
- 68 GILLIS, R. A. & QUEST, J. A. The role of nervous system in the cardiovascular effects of digitalis. Pharmacol.Rev., 31:19-97, 1979.
- 69 GILMOUR, R. F.; ZIPES, D. P. Slow inward current and cardiac arrhythmias. Am. J. Cardiol., 55:89 B-101 B, 1985.
- 70 HASHIMOTO, K. & MOE, G. K. Transient depolarizations induced by acetylcholine in specialized tissue of dog atrium and ventricle. Cir. Res., 32:618-24.
- 71 HEDQVIST, P. & FREDHOLM, B. B. Inhibitory neuroeffector transmission in the rabbit heart. Acta. Physiol. Scand., 105:120-2, 1979.
- 72 HIRAOKA, M.; OKAMOTO, Y.; SANO, T. Effects of Ca^{+} and K^{+} on oscillatory afterpotentials in dog ventricular muscle fibers. J. Mol. Cell. Cardiol., 11:999-1015, 1979.
- 73 _____ . Oscillatory afterpotentials in dog ventricular muscle fiber. Circ. Res., 48:510-8, 1981.
- 74 HODGKIN B. F. & HUXLEY, A. F. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. J. Physiol., London, 117:500-44, 1952.

- stenosis. Circ. Res., 53:42-51, 1983.
- 68 GILLIS, R. A. & QUEST, J. A. The role of nervous system in the cardiovascular effects of digitalis. Pharmacol.Rev., 31:19-97, 1979.
- 69 GILMOUR, R. F.; ZIPES, D. P. Slow inward current and cardiac arrhythmias. Am. J. Cardiol., 55:89 B-101 B, 1985.
- 70 HASHIMOTO, K. & MOE, G. K. Transient depolarizations induced by acetylcholinesterase in specialized tissue of dog atrium and ventricle. Cir. Res., 32:618-24.
- 71 HEDQVIST, P. & FREDHOLM, B. B. Inhibitory neuroeffector transmission in the rabbit heart. Acta. Physiol. Scand., 105:120-2, 1979.
- 72 HIRAOKA, M.; OKAMOTO, Y.; SANO, T. Effects of Ca^{+} and K^{+} on oscillatory afterpotentials in dog ventricular muscle fibers. J. Mol. Cell. Cardiol., 11:999-1015, 1979.
- 73 _____ . Oscillatory afterpotentials in dog ventricular muscle fiber. Circ. Res., 48:510-8, 1981.
- 74 HODGKIN B. F. & HUXLEY, A. F. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. J. Physiol., London, 117:500-44, 1952.

- 75 HOFFMAN, B. F. & ROSEN, M. R. Cellular mechanisms for Cardiac arrhythmias. Circ. Res., 49:1-15, 1981.
- 76 IRONS, G. V. & ORGAIN, E. S. Digitalis-induced arrhythmias and their management. Prog. Cardiovasc. Dis., 8:539-69, 1966.
- 77 KARAGUEUZIAN, H. S. & KATZUNG, B. Relative inotropic and arrhythmogenic effects of five cardiac steroids in ventricular myocardium: oscillatory afterpotentials and the role of endogenous catecholamines. J.Pharmacol.Exp. Ther., 218:348-56, 1981.
- 78 _____ . Voltage-clamps studies of transient inward current and mechanical oscillations induced by ouabaine in ferret papillary muscle. J. Physiol., London, 327: 255-71, 1982.
- 79 KASS, R. S.; LEDERER, W. J.; TSIEN, R. W.; WEIGART, R. Role of calcium ions in transient inward currents and aftercontractions induced by strophanthidin in cardiac Purkinje fibers. J. Physiol., London, 281:197-208, 1978.
- 80 KASS, R. S.; TSIEN, R. W.; WEINGART, R. Ionic basis of transient inward current induced by strophanthidin in cardiac Purkinje fibers. J. Physiol., London, 281: 209-26, 1978.
- 81 KASS, R. S. & TSIEN, R. W. Fluctuations in membrane current

driven by intracellular calcium in cardiac Purkinje fibers. Biophys. J., 38:259-69, 1982.

- 82 KATZUNG, B. G. & MORGENSTERN, J. A. Effects of extracellular potassium on ventricular automaticity and evidence for a pacemaker current in mammalian myocardium. Circ. Res., 40:105, 1977.
- 83 KENAKIN, T. P. The potentiation of cardiac responses to adenosine by benzodiazepines. J. Pharmacol. Exp. Ther., 222 (3):752-B, 1982.
- 84 KENNEDY, R. H.; AKERA, T.; BRODY, T. M. How increased sodium influx enhances digoxin-induced arrhythmias in guinea-pig atrial muscle. Eur. J. Pharmacol., 89:199-209, 1983.
- 85 KNABB, R. M.; ELY, S. W.; BACCHUS, A. N.; RUBIO, R.; BERNE, R. M. Consistent parallel relationship among myocardial oxygen consumption, coronary blood flow, and pericardial infusate adenosine concentration with various interventions and blockade in the dog. Circ. Res., 53:33-41, 1983.
- 86 KNABB, M. T.; RUBIO, R.; BERNE, R. M. Potentiation of slow action potentials with theophylline or "micro" adenosine deaminase. Am. J. Physiol., 244 (Heart Circ. Physiol., 13):H 454-7, 1983.

- 87 KOJIMA, M. & SPERELAKIS, N. Properties of oscillatory after potentials in young embryonic chick hearts. Circ. Res., 55:497-503, 1984.
- 88 LANGER, G. A. Sodium-Calcium exchange in the heart. Annu Rev. Physiol., 44:435-9, 1982.
- 89 LATHERS, C. M. & ROBERTS, J. Digitalis cardiotoxicity revisited. Life Sci., 27:1713-33, 1980.
- 90 LAZARRA, R.; EL-SHERIF, N.; SCHERLAG, B. J. Eletrophysiological properties of canine, Purkinje cell in one-day-old myocardial infarction. Circ. Res., 33:722, 1973.
- 91 LEAL-CARDOSO, J. H. Eletrophysiological effects of histamine and adenosine on the cardiac Purkinje tissue of the dog and guinea pig. Georgia, 1981. Thesis (Doctor). Faculty of the School of Graduate Studies. Medical College of Georgia.
- 92 LEAL-CARDOSO, J. H. & DELAHAYES, J. F. Histamine promotes oscillatory and triggered activity in Purkinje fibers of guinea-pig. Physiologist, 23(4):161, 1980.
- 93 LEDERER, W. J. & TSIEN, R. W. Transient inward current underlying arrhythmogenic effects of cardiotonic steroids in Purkinje fibers. J. Physiol., London, 263:73-100, 1976.

- 94 LEE, C. O.; ABETE, P.; PECKER, M.; SONN, J. K.; VASSALLE, M. Strophanthidin inotropy: role of intracellular sodium ion activity and sodium-calcium exchange. J. Mol. Cell. Cardiol., 17:1043-53, 1985.
- 95 LEE, K. S.; WEEKS, T. A.; KAO, R. L.; AKAIKE, N.; BROWN, A. M. Sodium current in single heart muscle cells. Nature, 278:269-71, 1979.
- 96 LEE, K. S.; TSIEN, R. W. Mechanism of calcium channel blockade by verapamil D-600, diltiazem and nitrendipine in single dialyzed heart cells. Nature, 302:790-4, 1983.
- 97 LOKHANDWALA, M. F. Inhibition of cardiac sympathetic neurotransmission by adenosine. Eur. J. Pharmacol., 60:353-7, 1979.
- 98 McALLISTER, R. E.; NOBLE, D.; TSIEN, R. W. Reconstruction of the electrical activity of cardiac Purkinje fibers. J. Physiol., London, 251:1-59, 1975.
- 99 McDONALD, T. The slow inward calcium current in the heart. Annu. Rev. Physiol., 44:425-34, 1982.
- 100 McDONALD, T. F.; PELZER, D.; TRAUTWEIN, W. On the mechanism of slow calcium channel block in the heart. Pflügers Arch., 385:175-9, 1980.

- 101 MARBAN, E.; RINK, T. J.; TSIEN, R. W.; TSIEN, R. Y. Free calcium in heart muscle at rest and during contraction measured with Ca^{++} sensitive microelectrodes. Nature, 286: 845-50, 1980.
- 102 MARSH, A. J.; LLOYD, B. L.; TAYLOR, R. R. Age dependence of myocardial $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPase activity and digitalis intoxication in the dog and guinea-pig. Circ. Res., 48: 329-33, 1981.
- 103 MESZÁROS, J.; KELEMEN, K.; KECSKEMÉTI, V.; SZEGI, J. Antagonism between adenosine and bromobenzoyl-methyladenetylamine, a K^+ channel blocker, in atrial myocardium of guinea pig. Eur. J. Pharmacol., 98:265-8, 1984.
- 104 MOD, G. K. & MENDEZ, R. The action of several cardiac glycodides on the conduction velocity and ventricular excitability in the dog heart. Circulation, 4:429-34,1951.
- 105 MOORE, E. N. & SPEAR, J. F. Ventricular fibrillation threshold. Arch. Intern. Med., 135:445-53, 1975.
- 106 MORAD, M. & TUNG, L. Ionic events responsible for the cardiac resting action potential. Am. J. Cardiol., 49:584-94, 1982.
- 107 MULLINS, L. J. & BRINLEY, F. J. Jr. Apud LANGER, G. A. Sodium-calcium exchange in the heart. Annu. Rev. Physiol., 44:435-9, 1982.

- 108 MYERBURG, R. J.; STEWART, J. W.; HOFFMAN, B. F. Electro - physiological properties of the canine peripheral A. V. conducting system. Circ. Res., 26:361-78, 1970.
- 109 MYERBURG, R. J.; GELBAND, H.; HOFFMAN, B. F. Functional characteristics of the gating mechanism in the canine A. V. conducting system. Circ. Res., 28:136-47, 1971.
- 110 NAWRATH, H. & JOCHEM, G. Adenosine activates a potassium conductance in guinea pig atrial heart muscle. J. Mol. Cell. Cardiol. (15 Suppl) 1:255, 1983.
- 111 NEW, W. & TRAUTWEIN, W. The ionic nature of the slow inward current and its relation to contraction. Pflügers Arch., 334:24-38, 1972.
- 112 NICHOLLS, D. G. Intracellular calcium homeostasis. Br. Med. Bull., 42:353-8, 1986.
- 113 NOBLE, D. & TSIEN, R. W. The kinetics and rectifier properties of the slow potassium current in cardiac Purkinje fibers. J. Physiol., London, 195:185, 1968.
- 114 _____. Reconstruction of the repolarization process in cardiac Purkinje fibers based on voltage clamp measurements of the membrane current. J. Physiol., 200:233-54, 1969.

- 115 _____ . Outward membrane currents activated in the plateau range of potentials in cardiac Purkinje fibers. J. Physiol., 200:205-31, 1969.
- 116 NOBLE, D. Initiation of heart beat. 2nd. Ed. Billings & Son, Guilford, Oxford University Press, 1979.
- 117 _____ . The surprising heart: a review of recent progress in cardiac electrophysiology. J. Physiol., 353: 1-50, 1984.
- 118 PARK, M. K. & VICENZI, F. F. Rate of onset of cardiotonic steroid-induced inotropism: Influence of temperature and beat interval. J. Pharmacol. Exp. Ther., 195:140, 1975.
- 119 PERES, M. A.; SARABANDA, A. V. L.; PADILHA, W. L. N.; MASUDA, M. O. Effect of salicylate and digoxin-intoxicated isolated rabbit heart. Braz. J. Med. Biol. Res. 17:189-96, 1984.
- 120 RARDON, D. P. & BAILEY, J. C. Adenosine attenuation of the electrophysiological effects of isoproterenol on canine cardiac Purkinje fibers. J. Pharmacol. Exp. Ther. 228:792-8, 1984.
- 121 REUTER, H. & SEITZ, N. The dependence of calcium efflux from cardiac muscle on temperature and external ion composition. J. Physiol., London, 195(2):451-70, 1968.

- 122 REUTER, H. & SCHOLZ, H. A study of the ion selectivity and the kinetic properties of the calcium dependent slow inward current in mammalian muscle. J. Physiol., London, 264:17-47, 1977.
- 123 _____. The regulation of the calcium conductance of cardiac muscle by adrenaline. J. Physiol., London, 264:49-62, 1977.
- 124 REUTER, H. Properties of two inward currents in the heart. Annu. Rev. Physiol., 41:413-24, 1979.
- 125 _____. Calcium channel modulation by neurotransmitters, enzymes and drugs. Nature, 301:569-74, 1983.
- 126 ROBERTS, J.; ITO, R.; REILLY, J.; CAIROLI, V. J. Influence of reserpine and beta TM-10 on digitalis induced ventricular arrhythmias. Circ. Res., 13:149-58, 1963.
- 127 ROSEN, M. R.; GELBAND, H.; HOFFMAN, B. F. Correlation between effects of ouabain on the canine electrocardiogram and transmembrane potentials of isolated Purkinje fibers. Circulation, 47:65-72, 1973.
- 128 ROSEN, M. R.; ILVENTO, J.; GELBAND, H.; MERKER, C. Effects of verapamil on the electrophysiologic properties of canine cardiac Purkinje fibers. J. Pharm. Exp. Ther., 189:414-23, 1974.

- 129 ROSEN, M. R.; WIT, A. L.; HOFFMAN, B. F. Electrophysiology and pharmacology of cardiac arrhythmias IV. Cardiac antiarrhythmic and toxic effects of digitalis. Am. Heart J., 89:391-9, 1975.
- 130 ROSEN, M. R.; FISH, C. L.; HOFFMAN, B. F.; DANILO, P.; LOVELACE, P. E.; KNOEBEL, S. B. Can accelerated atrioventricular junctional escape rhythms be explained by delayed afterdepolarizations? Am. J. Cardiol., 45:1272-84, 1980.
- 131 ROSEN, M. R.; DANILO Jr., P.; WEISS, R. M. Actions of adenosine on normal and abnormal impulse initiation in canine ventricle. Am. J. Physiol., 244(Heart Circ. Physiol., 13):H 715-21, 1983.
- 132 ROUGIER, O.; GARNIER, D.; GARGOUIL, Y. M.; CORABOEUF, E. Existence and role as a slow inward current during the frog atrial action potential. Pflügers Arch. Ges. Physiol., 308:41-110, 1969.
- 133 SASYNIUK, B. I. Concept of reentry versus automaticity. Am. J. Cardiol., 1A-6A, 1984.
- 134 SAUDERS, J. H.; FERRIER, G. R.; MOE, G. K. Conduction block associated with transient depolarization induced by acetylcholinesterase inhibitor in isolated Purkinje fibers. Circ. Res., 32:610-7, 1973.

- 135 SCHRADER, J.; RUBIO, R.; BERNE, R. M. Inhibition of slow action potential of guinea pig atrial muscle by adenosine: A possible effect on Ca^{+} influx. J. Mol. Cell. Cardiol., 7:427-33, 1975.
- 136 SCHRADER, J. & BAUMANN, G. Adenosine as inhibitor of myocardial effects of catecholamines. Pflügers Arch., 372: 29-35, 1977.
- 137 SCHRADER, J. et al. Adenosine release from the isolated guinea-pig heart during hypoxia and beta adrenergic stimulation. Basic. Res. Cardiol., 76(A):365-B, 1981.
- 138 SEKIYA, A. & VAUGHAN-WILLIAMS, E. M. The effects of prone-thalol dichloroisoprenaline and disopyramide on the toxicity to the heart of ouabain and anaesthetics. Br. J. Pharmacol., 21:462-72, 1963.
- 139 SELKURT, E. E. Fisiologia. 5. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1986.
- 140 SHIGENOBU, K. & SPERELAKIS, N. Calcium current channels induced by catecholamines in chick embryonic hearts whose fast sodium channels are blocked by tetrodotoxin or elevated potassium. Circ. Res., 31:932-52, 1972.
- 141 SHING-SHEU, S. & FOZZARD, H. A. Apud LANGER, G. A. Sodium calcium exchange in the heart. Annu. Rev. Physiol., 44: 435-9, 1982.

- 142 SPACH, M.; MILLER, W. T.; GESELOWITZ, D. B.; BERR, R. C.; KOOTSEY, J. M.; JOHNSON, E. A. The discontinuous nature of propagation in the normal canine cardiac muscle: Evidence for recurrent discontinuities of intracellular resistance that effect the membrane currents. Circ. Res., 48:39, 1981.
- 143 SPARKS Jr., H. V. & BARDENHEUR, H. Regulation of adenosine formation by the heart. Circ. Res., 58(2):193-201, 1986.
- 144 STANFIELD, P. R. Voltage-dependent calcium channels of excitable membranes. Br. Med. Bull., 42:359-67, 1986.
- 145 STRAUSS, H. C.; BIGGER Jr., J. T.; HOFFMAN, B. F. Electrophysiological and beta-receptor blocking effects of MJ 1999 on dog and rabbit cardiac tissues. Circ. Res., 26:661, 1970.
- 146 SZENTMIKLOSE, A. J.; NEMETH, M.; SZEGI, J.; PAPP, G.; SZEKERES, L. Effect of adenosine on sinoatrial and ventricular automaticity of the guinea pig. Naunyn - Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 311:147-9, 1980.
- 147 SZENTMIKLOSE, A. J.; NEMETH, M.; CSEPPENTO, A.; SZEGI, J.; PAPP, J. G.; SZEKERES, L. Potentiation of the myocardial actions of adenosine in the presence of coformycin, a specific inhibitor of adenosine deaminase. Arch. Int. Pharmacodyn Ther., 256:236-52, 1982.

- 148 TSIEN, R. W. Effect of epinephrine on the pacemaker potassium current of cardiac Purkinje fibers. J. Gen. Physiol., 64:293, 1974.
- 149 TSIEN, R. W.; KASS, R. S.; WEINGART, R. Cellular and sub-cellular mechanisms of cardiac pacemaker oscillations. J. Exp. Biol., 81:205-15, 1979.
- 150 URTHALER, F.; WOODS, T.; JAMES, T. N.; WALKER, A. A. Effects of adenosine on mechanical performance and electrical activity in the canine heart. J. Pharmacol. Exp. Ther., 210:254-60, 1981.
- 151 VASSALE, M.; KARIS, J.; HOFFMAN, B. F. Toxic effects of ouabain on Purkinje fibers and ventricular muscle fibers. Am. J. Physiol., 203:433-9, 1962.
- 152 VASSALE, M. Electrogenic suppression of automaticity in sheep and dog Purkinje fibers. Circ. Res., 27:361, 1970.
- 153 _____. The relationship among cardiac pacemakers: overdrive suppression. Circ. Res., 41:269, 1977.
- 154 VAUGHAN-JONES, R. D. Excitation and contraction in heart: the role of calcium. Br. Med. Bull., 42:413-20, 1986.
- 155 WATANEBE, A. M. & BESH Jr., H. R. Interaction between cyclic adenosine monophosphate and cyclic guanosine monophosphate in guinea pig ventricular myocardium. Circ. Res., 37:309-17, 1975.

- 156 WEIDMANN, S. The effects of cardiac membrane potential on the rapid availability of the sodium-carrying system. J. Physiol., London, 127:213-24, 1955.
- 157 WEIR, W. G. Calcium transient during excitation-contraction coupling in mammalian heart: aequorin signals of canine Purkinje fibers. Science, 207:1085-7, 1980.
- 158 WESLEY Jr., R. C. & BELARDINELLI, L. Role of adenosine on ventricular overdrive suppression in isolated guinea pig heart and Purkinje fibers. Circ. Res., 57:517-31, 1985.
- 159 WEST, G. A. & BELARDINELLI, L. Correlation of sinus slowing and hyperpolarization caused by adenosine in sinus node. Pflügers Arch., 403:75-81, 1985.
- 160 WIEL, W. G. & HESS P. Excitation-contraction coupling in cardiac Purkinje fibers. Effects of cardiotonic steroids on the intracellular Ca^{+2} transient, membrane potential and contraction. J. Gen. Physiol., 83:395-415, 1984.
- 161 WINEGRAD, S. Calcium release from cardiac sarcoplasmic reticulum. Annu. Rev. Physiol., 44:451-62, 1982.
- 162 WIT, A. L.; CRANFIELD, P. F.; HOFFMAN, B. F. Slow conduction and reentry in the ventricular conducting system. II. Single and sustained circus movement in networks of canine and bovine Purkinje fibers. Circ. Res., 30:11-22, 1972.

- 163 WIT, A. L.; GADSBY, D. C.; CRANEFIELD, P. F. Eletrogenic sodium extrusion can stop triggered activity in the canine coronary sinus. Circ. Res., 49:1029, 1981.
- 164 WIT, A. L.; HOFFMAN, B. F.; CRANEFIELD, P. F. Slow conduction and reentry in the ventricular conducting system. I. Return extrasystole in canine Purkinje fibers. Circ. Res., 30:1-10, 1972.
- 165 WIT, A. L.; CRANEFIELD, P. F.; HOFFMAN, B. F. Triggered activity in cardiac muscle fibers of the simian mitral valve. Circ. Res., 38:85-98, 1976.
- 166 WIT, A. L. & CRANEFIELD, P. F. Triggered and automatic activity in the canine coronary sinus. Circ. Res., 41: 435-45, 1977.
- 167 _____. Reentrant excitation as a cause of cardiac arrhythmias. Am. J. Physiol., 235(1):H 1-17, 1978.
- 168 WIT, A. L. & ROSEN, M. R. Pathophysiologic mechanisms of cardiac arrhythmias. Am. Heart J., 106:798, 1983.
- 169 ZIPES, D. P. Electrophysiological mechanisms involved in ventricular fibrillation. Circulation, 52 (6 suppl.III): III-120-30, 1975.

7. SUMÁRIO

A adenosina, um nucleosídeo de natureza endógena, altera certas propriedades eletrofisiológicas do coração. Liberada em grandes quantidades pelo miocárdio isquêmico, parece estar envolvida nos processos arritmogênicos desse órgão. Nesse trabalho investigaram-se os efeitos dessa substância em arritmias promovidas pela ouabaina em experimentos "in vivo" e "in vitro" e estudaram-se os prováveis mecanismos envolvidos.

Em experimentos "in vivo" em cobaias, a infusão endovenosa da adenosina (0,02 ml/minuto de uma solução salina contendo $1 \times 10^{-2} M$), elevou a dose da ouabaina (administração intermitente de 4 $\mu g/a$ cada 2 minutos) necessária ao desencadeamento da primeira extra-sístole de 69,8 para 95,3 $\mu g/kg$ de peso ($P < 0,01$).

Em corações isolados de cobaias perfundidos com adenosina ($1 \times 10^{-5} M$) e ouabaina ($3,3 \times 10^{-6} M$), houve redução, em relação àqueles expostos apenas à ouabaina, da severidade das arritmias promovidas ouabaina. Essa redução foi medida através da quantificação dos parâmetros: incidência de extra-sístoles, surtos de taquicardia, parada cardíaca precedida ou não de fibrilação ventricular. Esta redução foi mais significativa nos corações com exerece de átrios.

Nos corações perfundidos apenas com adenosina ($1 \times 10^{-5} M$), diferentemente daqueles perfundidos com ouabaina, houve aumento

significativo do período de pausa pós-estimulatória em preparações estimuladas com frequência de 4,5 a 5,0 Hz.

A adenosina ($1 \times 10^{-5} M$) não alterou a resposta contrátil de tiras de aurículas de cobaio e ventrículo de sapo promovida pela redução da concentração extracelular de íons sódio em presença de cafeína ($5 \times 10^{-3} M$).

Em células de Purkinje do coração de cobaio a adenosina reverteu parte da despolarização promovida por ouabaina.

Os dados desse trabalho mostram que a adenosina pode desempenhar papel protetor contra as disritmias cardíacas promovidas pela ouabaina. Dos mecanismos investigados capazes de contribuir para essa proteção, dois parecem ter participação efetiva : a redução da frequência cardíaca e a hiperpolarização em preparações parcialmente despolarizadas.

S U M M A R Y

Adenosine, an endogenous nucleoside is known to alter some of the electrophysiological properties of the heart. Liberated in large quantities through ischemic myocardium, it seems to be alter arrhythmogenic processes of this organ. In the present work, we have investigated the effects as well as the mechanisms of action of this substance in ouabain-induced arrhythmias. The experiments were carried out in guinea pig and toad hearts using "in vivo" and "in vitro" models.

In "in vivo" experiments, intravenous infusion of adenosine (0.02 ml/min. of saline containing $1 \times 10^{-2}M$) elevated the dose of ouabain (intermittent administration of 4 μg every 2 min.) necessary to produce first extrasystole from 69.8 to 95.3 $\mu g/kg$ body weight ($p < 0.01$).

In isolated guinea pig hearts perfused with adenosine ($1 \times 10^{-5}M$) and ouabain ($3.3 \times 10^{-6}M$) combination, there was a reduction in the arrhythmias in relation to those exposed to ouabain alone, as evidenced by decreased incidence of extra-systoles, tachycardia and cardiac blockade irrespective of ventricular fibrillation. This reduction was more prominent in hearts in which atria were excised.

In isolated heart preparations stimulated at a frequency of 4.5 a 5.0 Hz, perfusion with adenosine ($1 \times 10^{-5}M$) alone promoted a significant increase in the period of

overdrive suppression as compared to those perfused with ouabain. Adenosine did not alter the contractile responses of guinea pig aortic strips and toad ventricular promoted by a reduction in extracellular sodium in the presence of caffeine ($5 \times 10^{-3}M$).

In Purkinje cells of guinea pig heart, adenosine partly reversed ouabain-induced depolarization.

The results of this study demonstrate that adenosine may have a protective function against ouabain-induced cardiac arrhythmias.

Two mechanisms seem to have effective participation in the cardiac protection offered by adenosine: 1) a reduction in cardiac frequency and 2) a hyperpolarizing effect on Purkinje fibers.