

ESTUDO EXPERIMENTAL DAS AÇÕES DA INOSINA (*) EXPERIMENTAL STUDY OF INOSINE'S ACTIONS.

CLOTILDE DE LOURDES BRANCO GERMINIANI (**)
HÉLIO GERMINIANI (***)

RECEBIDO EM 02/03/79

APROVADO EM 26/03/79

INTRODUÇÃO

A ação da inosina (hipoxantina — 9 — d — ribofuranosídeo) no metabolismo cardíaco parece depender, fundamentalmente, de que, originando a ribose — 5 — fosfato, permite, pelo metabolismo desta, a formação de ATP, cujo papel energético no metabolismo celular é largamente conhecido (3). Este nucleosídeo purínico atravessa facilmente a membrana celular sendo, no interior da célula, incorporado ao ciclo das pentoses, determinando a formação de ATP que se constitui em fonte de energia passível de utilização imediata pelo miocárdio (7). Do ponto de vista farmacológico, sua ação foi, detalhadamente estudada por Faucon *et alii* (5).

São numerosos os trabalhos clínicos que indicam a utilização da inosina para vários tipos de insuficiências cardíacas, sendo considerado útil seu emprego no infarto recente do miocárdio, no cor pulmonale crônico e no manejo de corações senis (1, 4, 6, 7). A melhora da pressão arterial é, também, citada como consequência do emprego clínico da inosina (4). Verificou-se, ainda que seu efeito é benéfico nas arritmias devidas à intoxicação digitalica (1, 3, 4) e que seu emprego associado com os digitálicos melhora a tolerância a esta droga (3, 4, 7), permitindo, algumas vezes, redução da dose de digital; outra possibilidade é o emprego da inosina no intervalo da medicação com digital, verificando-se que a tolerância à inosina é melhor do que a tolerância à digital (4). Uma aplicação interessante diz respeito

(*) Trabalho realizado no Departamento de Ciências Fisiológicas do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná — Curitiba - Pr.

(**) Professora Titular de Fisiologia do Departamento de Ciências Fisiológicas do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

(***) Professor Livre-Docente de Cardiologia do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná.

ao emprego da inosina na reanimação de cirurgia cardíaca (3); nestas condições, a inosina reduz a dose de digital empregada e age facilitando o reinício da atividade cardíaca após a parada cardíaca com circulação extra-corpórea.

Fora da área cardiovascular, há uma demonstração de que a inosina reduz a afinidade da hemoglobina pelo monóxido de carbono em hemácias humanas intactas (2).

Faucon *et alii* (5) estudaram a inosina do ponto de vista experimental, tendo observado que ela estimula a contratilidade cardíaca de átrios isolados de cobaias e músculos papilares de gato desde que estes tecidos tenham sofrido depressão prévia por ação do cloreto de potássio. Em cães anestesiados com cloralose, a inosina, em doses de 50 a 100 mg/kg determinou queda da pressão arterial, admitindo os autores, que esta queda seja devida à vasodilatação periférica e que, simultaneamente, haveria melhora do débito cardíaco. Observaram, ainda, que o consumo de oxigênio pelo miocárdio aumenta, por ação da inosina, mas que o aumento do débito coronário é, proporcionalmente, maior. Como conclusão final afirmam que a inosina alia, a uma nítida atividade analéptica cardíaca, uma influência favorável sobre a irrigação do miocárdio.

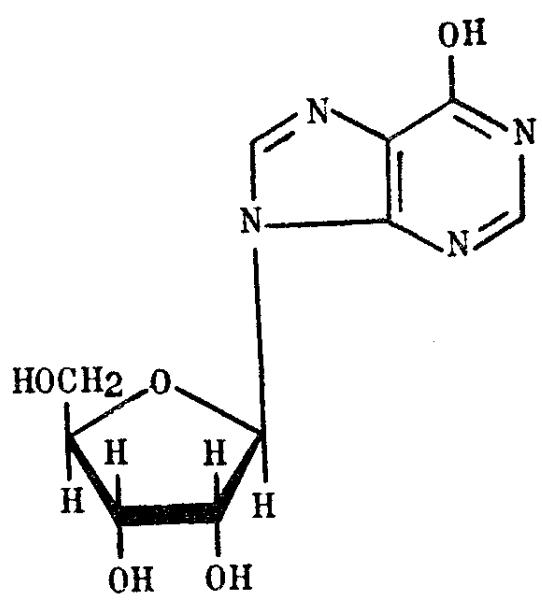
O objetivo do presente estudo foi analisar as ações da inosina em átrios, coração e duodeno isolados de coelho e sobre a pressão carotídea e o eletrocardiograma de cães.

MATERIAL E MÉTODOS

No presente trabalho foram empregadas várias técnicas experimentais cuja descrição é a que segue:

1 -- Coração isolado de coelho.

Para a preparação de coração isolado de coelho foram utilizados dezesseis coelhos adultos, cujos pesos variaram entre 2,0 e 4,0 quilos, sendo seis machos e dez fêmeas. Os animais foram sacrificados por concussão craniana seguida de sangria por secção dos vasos do pescoço. O tórax do animal sacrificado era aberto e o coração, rapidamente, removido e transferido para uma cápsula de porcelana contendo solução de Ringer-Locke, oxigenado e a 37°C. Nesta cápsula os corações eram lavados e dissecados, sendo imediatamente, instalado o circuito de perfusão seguindo-se, para a montagem, o método descrito por Langendorff. A perfusão foi feita com solução de Ringer-Locke, oxigenada e aquecida a 37°C. O ápice dos ventrículos foi ligado a uma alavanca de Starling e a inscrição feita em



Fórmula estrutural da Inosina

quimógrafo com papel enfumaçado. O tempo também foi registrado no gráfico.

2 — Átrios isolados de coelho.

Para a preparação de átrios isolados de coelhos, foram utilizados cinco animais adultos com pesos variando entre 2,0 e 4,0 quilos, sendo três fêmeas e dois machos. Os animais foram sacrificados por concussão craniana seguida de sangria por secção dos vasos do pescoço. O tórax do animal era aberto e o coração, rapidamente, removido e transferido para uma cápsula de porcelana contendo solução de Ringer-Locke, oxigenada e aquecida a 29°C. Dissecados os átrios, eles foram transferidos para um banho contendo solução de Ringer-Locke, a 29°C e no qual borbulhava oxigênio. Os átrios foram ligados a uma alavanca inscritora simples, com contrapêso, sendo a inscrição feita em quimógrafo com papel enfumaçado. O tempo também foi registrado no gráfico.

3 — Duodeno isolado de coelho.

Para a preparação de duodeno isolado de coelho, foram utilizados cinco coelhos adultos com pesos variando entre 2,8 e 4,0 quilos, sendo três machos e duas fêmeas. O sistema utilizado para o sacrifício dos animais foi o mesmo descrito para a preparação de coração e átrios isolados. Para a coleta do fragmento de duodeno, se fazia uma incisão mediana na face ventral do abdômen e a alça duodenal era lavada com solução de Tyrode aquecida a 37°C e aerada com ar atmosférico. A inscrição era feita em quimógrafo com papel enfumaçado sendo, também, feito o registro gráfico do tempo.

4 — Controle da pressão arterial e do eletrocardiograma em cães.

Para o controle da pressão arterial e do eletrocardiograma foram utilizados vinte e dois cães de rua, com pesos variando entre 5,0 e 12,0 quilos, sendo 17 machos e cinco fêmeas. Todos os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico na dose de 30 mg/kg por via intravenosa. Em todos os cães foi canulada a traquéia e instaurada a respiração artificial através de máquina pneumática, sendo, portanto, a aeração feita com ar ambiente. Em todos os animais foi canulada uma veia femoral que se conectou a uma bureta contendo solução isotônica de cloreto de sódio e, por esta via, era feita a administração de drogas. Para o registro direto da pressão arterial foi canulada a carótida esquerda, que era conectada ao manômetro de Ludwig, fazendo-se a inscrição direta da pressão arterial em papel enfumaçado. Paralelamente ao registro da pressão arterial foi obti-

do o registro gráfico do tempo.

Ao mesmo tempo o animal era conectado a um polígrafo de seis canais (6 NEK-3), com monitorização permanente da derivação D2 através de um osciloscópio monocanal acoplado ao polígrafo. Foram obtidos registros de pressão e eletrocardiográfico antes e após a administração da droga sendo mantida a observação por um período de 120 minutos após administração da droga.

Quando a inosina era utilizada nas preparações de órgãos isolados, fazia-se a solução aquosa do sal, no momento do uso. Para a aplicação intravenosa em cães foi utilizado o solvente destinado à aplicação intravenosa, que acompanha os frascos ampola contendo o sal puro.

RESULTADOS

Os resultados observados, nos vários tipos de preparações testadas foram os que seguem:

1 — Coração isolado de coelho.

As Figuras 1, 2 e 3 mostram em coração isolado de coelho o resultado da adição de 25,50 e 100 mg de inosina. Em todos os casos, se observa, primeiro, uma redução da inotropia e, logo em seguida, nítido aumento da contratilidade, sendo ambas as respostas proporcionais à dose de inosina administrada.

2 — Átrios isolados de coelho.

A inosina aplicada a átrios isolados de coelho, determinou redução acentuada da contratilidade (Figuras 4, 5, 6 e 7). O cloreto de potássio, ao contrário do constante da bibliografia (5) não determinou nem reversão (Fig. 4) nem impedimento (Fig. 5) deste efeito.

A administração de cloreto de cálcio reverte (Figuras 6 e 7) ou reduz (Figura 8) a ação da inosina sobre a contratilidade.

3 — Duodeno isolado de coelho.

A aplicação de inosina a preparações de duodeno isolado de coelho determina redução de contratilidade proporcional à dose de inosina empregada (Figuras 9, 10 e 11).

4 — Pressão arterial e eletrocardiograma no cão.

As figuras 12 e 13 mostram a resposta do registro direto de pressão carotídea quando se administrou inosina. Tanto a adminis-

tração de uma dose isolada de 12,5 mg/kg de inosina (Fig. 12), como a administração de doses repetidas de inosina (Figura 13), determinaram elevação nítida da pressão arterial.

A aplicação de inosina não se traduziu, entretanto, por qualquer alteração do eletrocardiograma, como se pode verificar pela Figura 14.

DISCUSSÃO

A inosina aplicada a coração isolado de coelho determinou, em todos os casos, uma redução inicial da contratilidade, seguida por aumento nítido da força contrátil (Figuras 1, 2 e 3). Já autores citados por Faucon *et alii* (5) haviam notado que a adenosina era capaz de acelerar e estimular a atividade cardíaca sendo entretanto, esta ação, precedida de um curto período de redução da freqüência e da contratilidade cardíacas. Os corações isolados de coelho confirmaram, em presença de inosina, esta observação tendo sido, ainda, evidente a proporcionalidade, tanto da ação inicial depressora como da ação estimulante da contratilidade cardíaca, em relação à dose de inosina aplicada. Esta observação experimental coincide com os relatos clínicos (1, 3, 4, 6, 7) referentes ao emprego da inosina em pacientes com reduções de contratilidade cardíaca de diferentes etiologias.

Quando aplicada em preparações de átrios isolados de coelho, a inosina determinou redução nítida de sua contratilidade (Figuras 4, 5, 6 e 7). Faucon *et alii* (5) obtiveram melhora da contratilidade, trabalhando com átrios isolados de cobaia e com músculo papilar de gato, sendo a contratilidade das preparações, previamente, deprimida com cloreto de potássio. Entretanto, usando doses elevadas de cloreto de potássio não obtivemos reversão da parada cardíaca por ação da inosina (Figura 4) e nem a inosina aplicada, previamente, foi capaz de impedir, em átrios isolados de coelho, a ação depressora de cloreto de potássio (Figura 5). Por outro lado, o cloreto de cálcio, em diferentes doses, revelou-se capaz de reverter ou de reduzir a ação depressora da inosina sobre a contratilidade (Figuras 6, 7 e 8). Não se pode estabelecer um paralelo entre estes dados e os de Faucon *et alii* (5) porque as condições experimentais foram diferentes.

Em duodeno isolado de coelho, houve redução da atividade contrátil, também proporcional à dose de inosina aplicada (Figuras 9, 10 e 11). A bibliografia não se refere a estudos com este tipo de

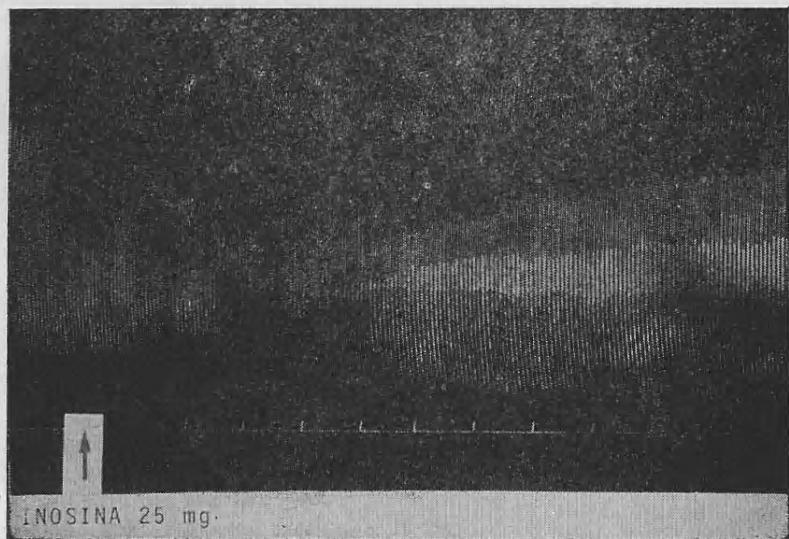


Fig. 1 — Efeito da inosina sobre coração isolado de coelho. Método de Langendorff.
Temperatura: 37°C. Líquido perfusor: Ringer-Locke oxigenado. Tempo: 10
segundos. A seta indica o momento da aplicação de 25 mg de inosina
(coelho fêmea, pesando 2,5 kg).



Fig. 2 — Efeito da inosina sobre coração isolado de coelho. Método de Langendorff.
Temperatura: 37°C. Líquido perfusor: Ringer-Locke oxigenado. Tempo: 10
segundos. A seta indica o momento da aplicação de 50 mg de inosina
(coelho fêmea, pesando 2,5 kg).

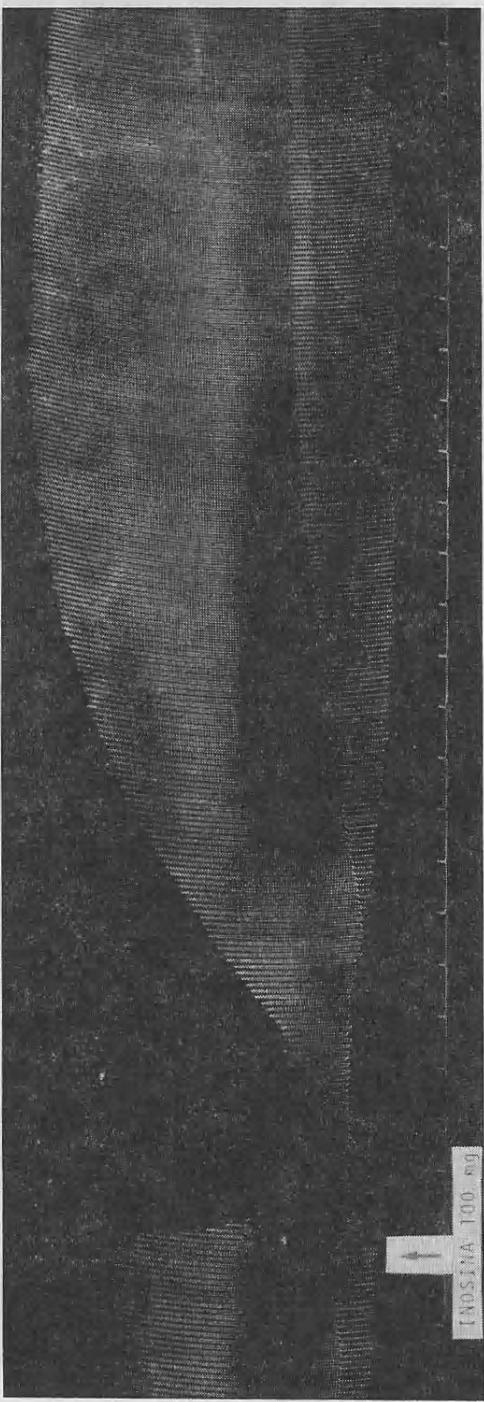


Fig. 3 — Efeito da insulina sobre coração isolado de coelho. Método de Landendorff.
Temperatura: 37°C. Líquido perfusor: Ringer-Locke oxigenado. Tempo: 10 segundos. A seta indica o momento da aplicação de 100 mg da insulina (coelho fêmea, pesando 2,5 kg)

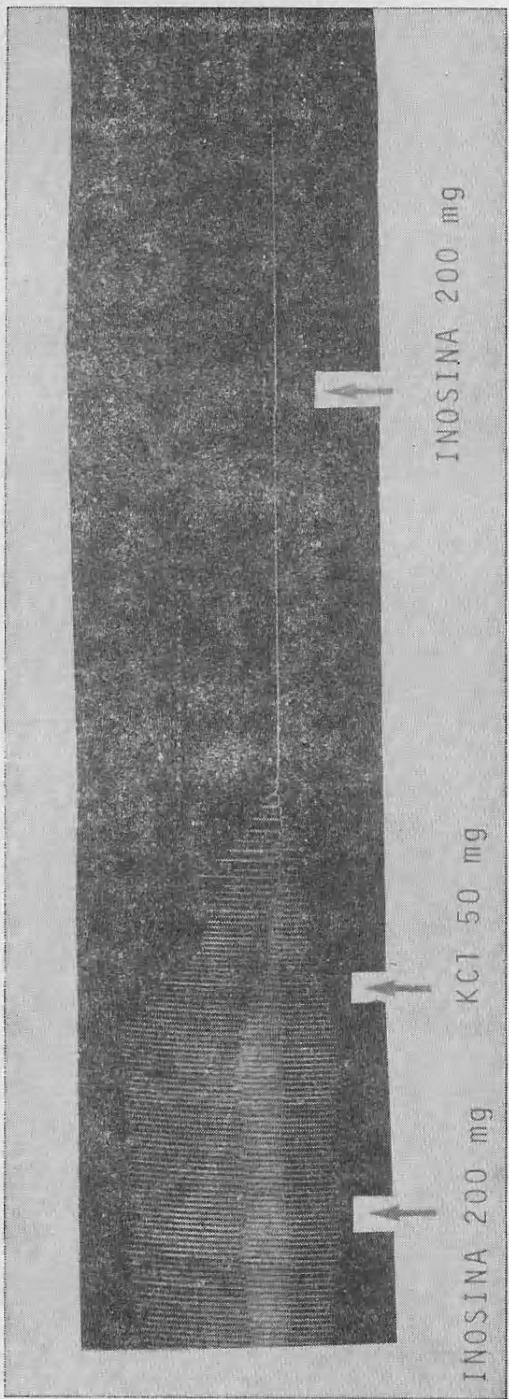


Fig. 4 — Efeito da inosina e do cloreto de potássio sobre átrios isolados de coelho.
Método de Burn. Temperatura: 29°C. Banho contendo 40 ml de Ringer-Locke oxigenado. As setas indicam os momentos de adição de 200 mg de inosina, de 50 mg de cloreto de potássio e, novamente, de 200 mg de inosina (coelho macho, pesando 4,0 kg)

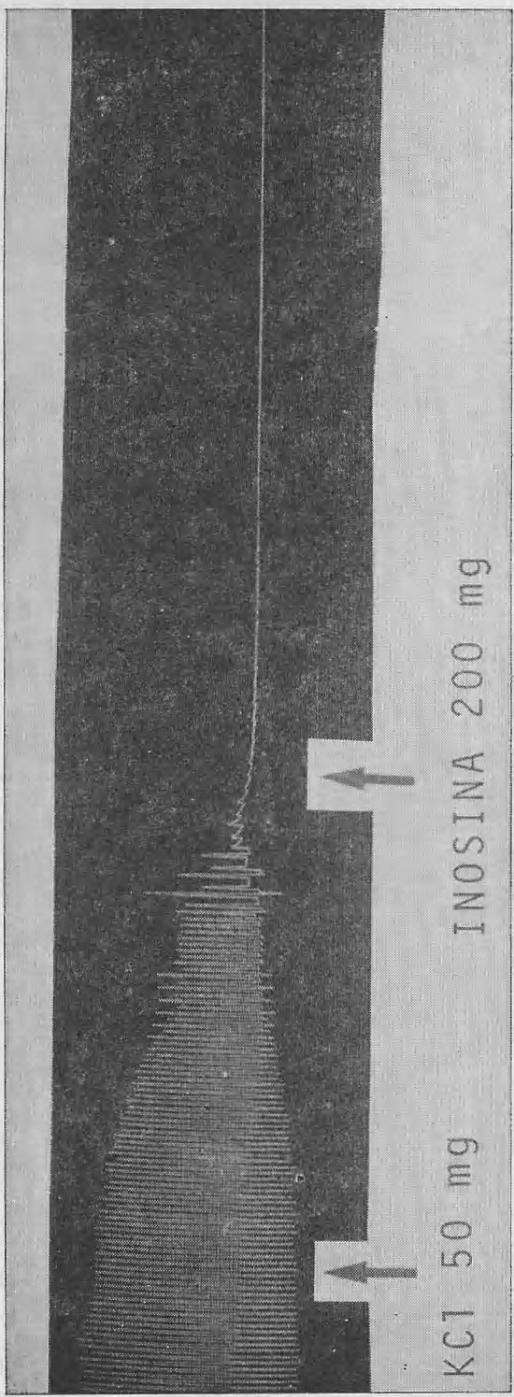


Fig. 5 — Efeito da inosina sobre átrios isolados de coelho, previamente submetidos à ação do cloreto de potássio. Método de Burn. Temperatura: 29°C. Banho contendo 40 ml de Ringer-Locke oxigenado. As setas indicam os momentos de adição de 50 mg de cloreto de potássio e de 200 mg de inosina (coelho macho, pesando 4,0 kg).

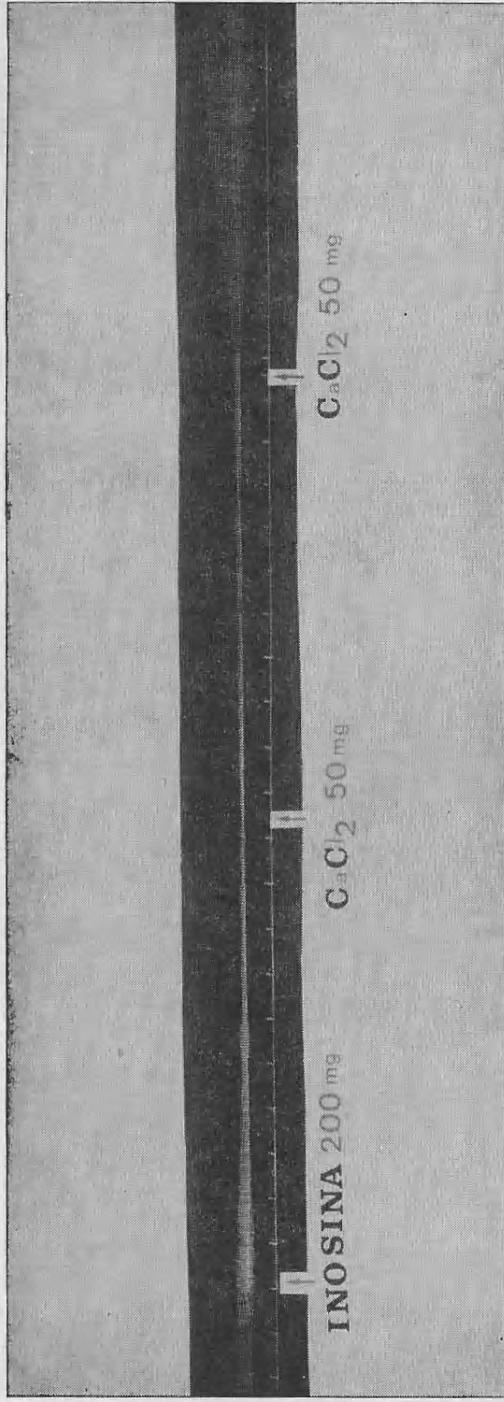


Fig. 6 — Efeito da inosina e do cloreto de cálcio sobre átrios isolados de coelho.
Método de Burn. Temperatura: 29°C. Banho contendo 40 ml de Ringer-Locke oxigenado. Tempo: 10 segundos. As setas indicam os momentos de adição de 200 mg de inosina, 50 mg de cloreto de cálcio e, novamente, 50 mg de cloreto de cálcio (coelho fêmea, pesando 3,0 kg).

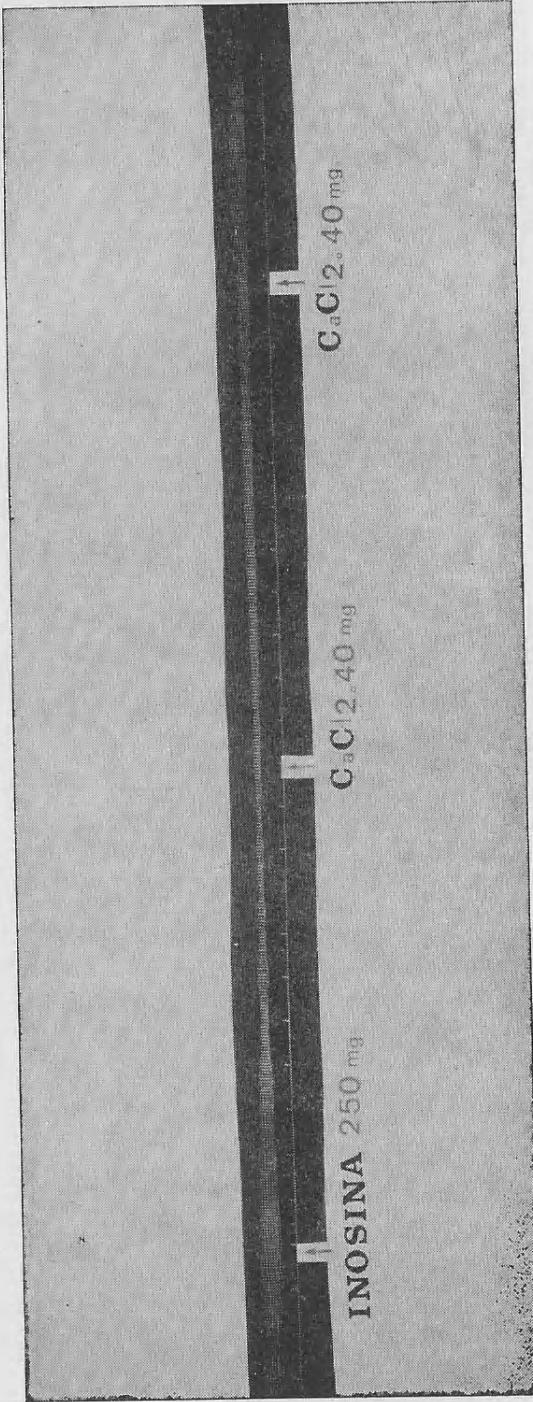


Fig. 7 — Efeito da inosina e do cloreto de cálcio sobre átrios isolados de coelho.
Método de Burn. Temperatura: 29°C. Banho contendo 40 ml de Ringer-Locke oxigenado. Temp: 10 segundos. As setas indicam os momentos de adição de 250 mg de inosina, 40 mg de cloreto de cálcio e, novamente, 40 mg de cloreto de cálcio (coelho fêmea, pesando 3,0 k).

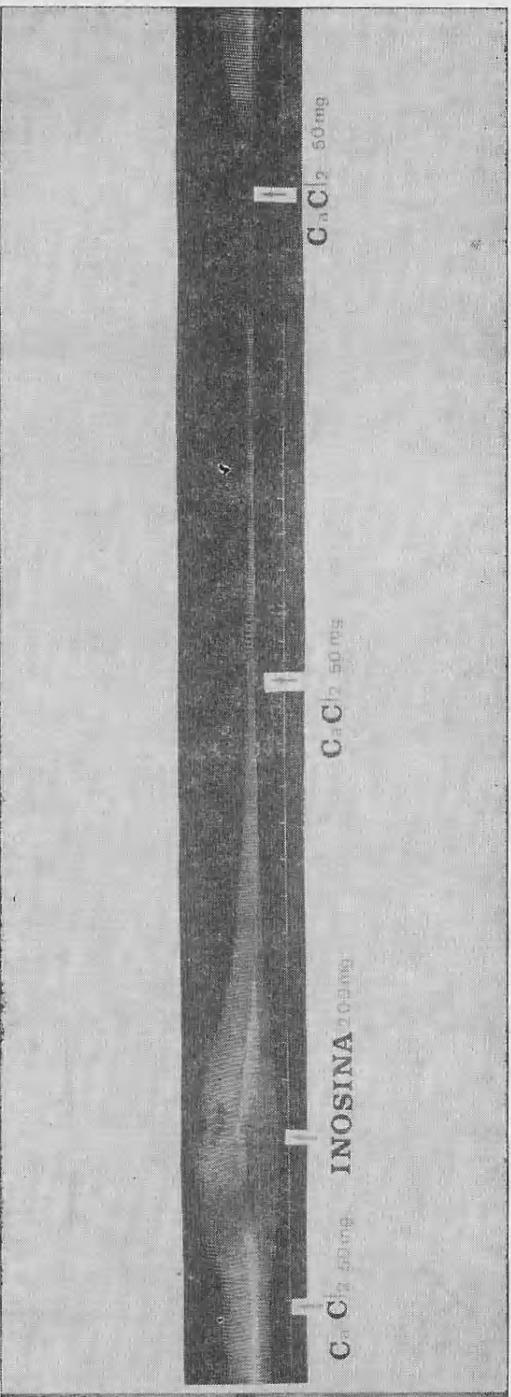


Fig. 8 — Efeito da inosina sobre átrios isolados de coelho, previamente submettidas à ação do cloreto de cálcio. Método de Burn. Temperatura: 29°C. Banho contendo 40 ml de Ringer-Locke oxigenado. Tempo: 10 segundos. As setas indicam a adição de 50 mg de cloreto de cálcio, 200 mg de inosina e mais duas doses de 50 mg de cloreto de cálcio (coelho fêmea, pesando 2,5 kg).

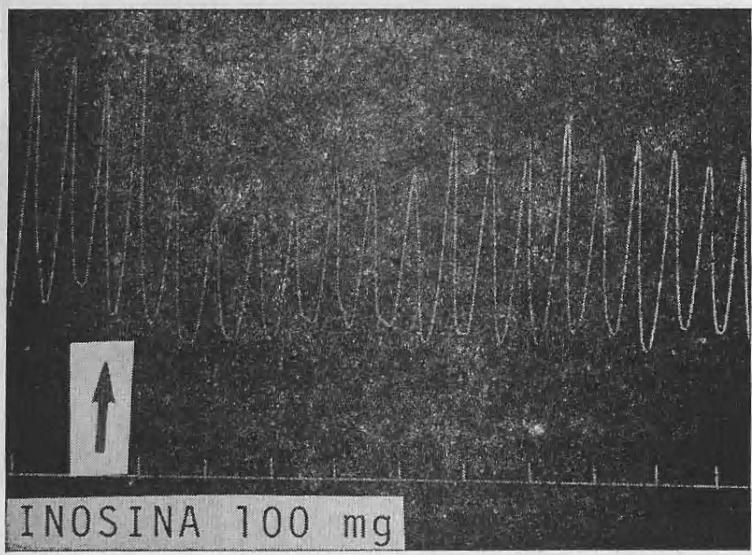


Fig. 9 — Efeito da inosina sobre duodeno isolado de coelho. Temperatura: 37°C.
Banho contendo 100 ml de Tyrode oxigenado. Tempo: 10 segundos. A
seta indica o momento da adição de 100 mg de inosina (coelho macho,
pesando 2,8 kg).

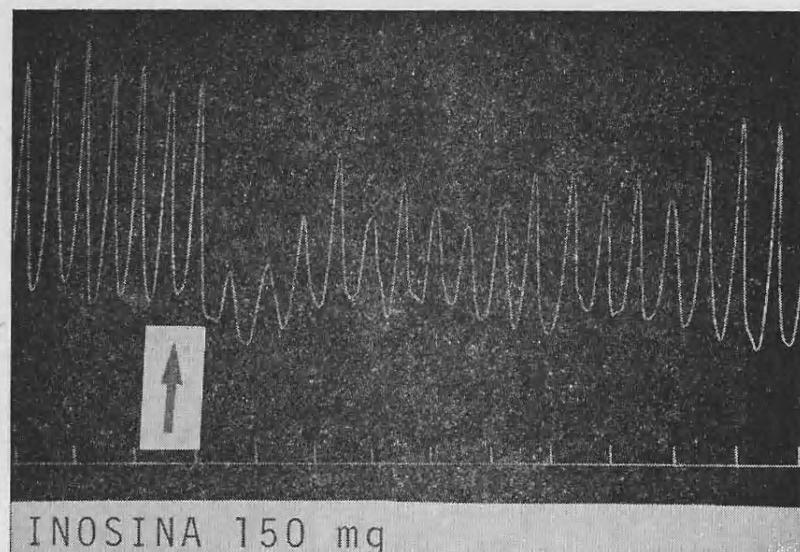


Fig. 10 — Efeito da inosina sobre duodeno isolado de coelho. Temperatura: 37°C.
Banho contendo 100 ml de Tyrode oxigenado. Tempo: 10 segundos. A
seta indica o momento da adição de 150 mg de inosina (coelho macho
pesando 2,8 kg).

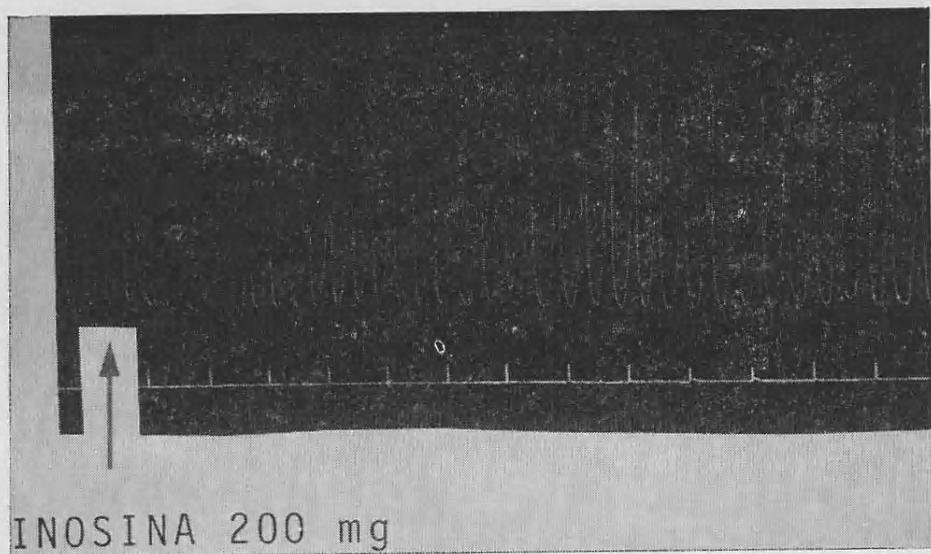


Fig. 11 — Efeito da inosina sobre duodeno isolado de coelho. Temperatura: 37°C.
Banco contendo 100 ml de Tyrode oxigenado. Tempo: 10 segundos. A
seta indica o momento da adição de 200 mg de inosina (coelho macho,
pesando 2,8 kg).

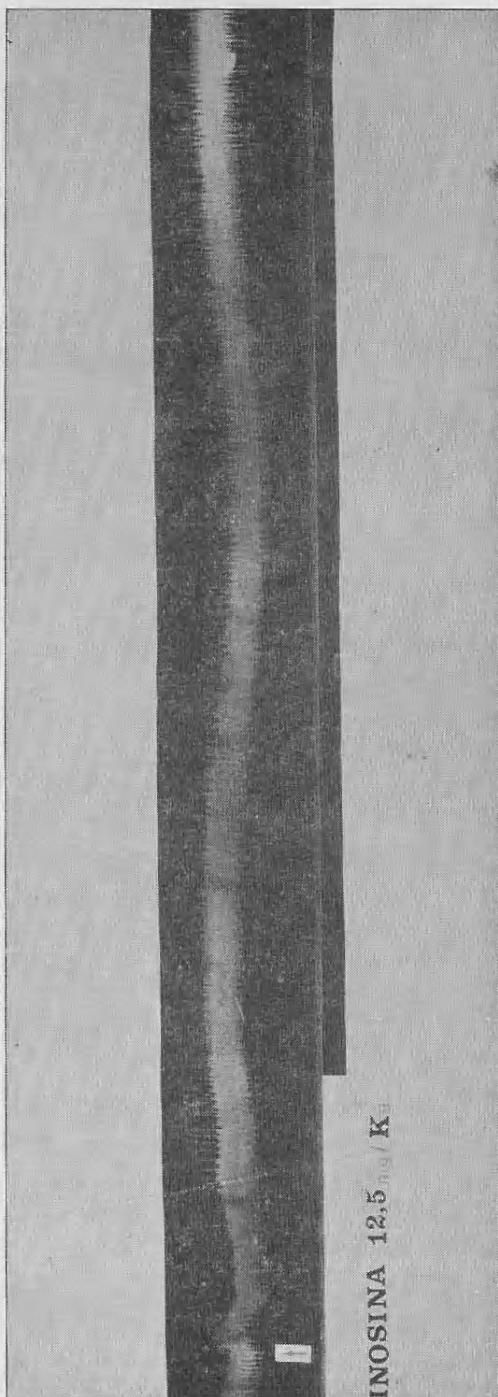


Fig. 12 — Ação da inosina sobre a pressão carotídea de cão. Registro direto da pressão carotídea. Manômetro de Ludwig. Tempo :10 segundos. A seta indica o momento da aplicação de 12,5 mg/kg de inosina (cão macho, pesando 8,0 kg).

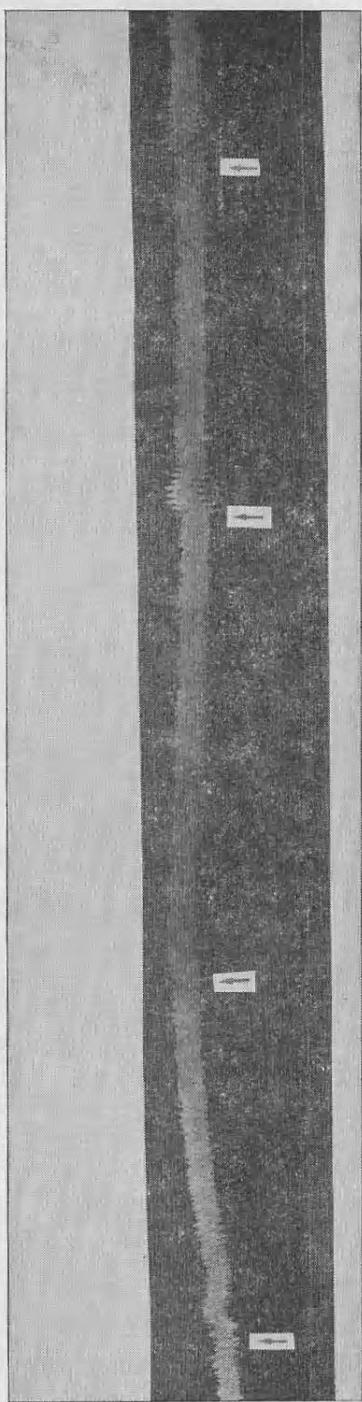


Fig. 13 — **Ação da inosina sobre a pressão carotídea de cão.** Registro direto de pressão carotídea. Manômetro de Ludwig. Tempo: 10 segundos. As setas indicam aplicações de 12,5 mg/kg de inosina (cão fêmea, pesando 11,0 kg).

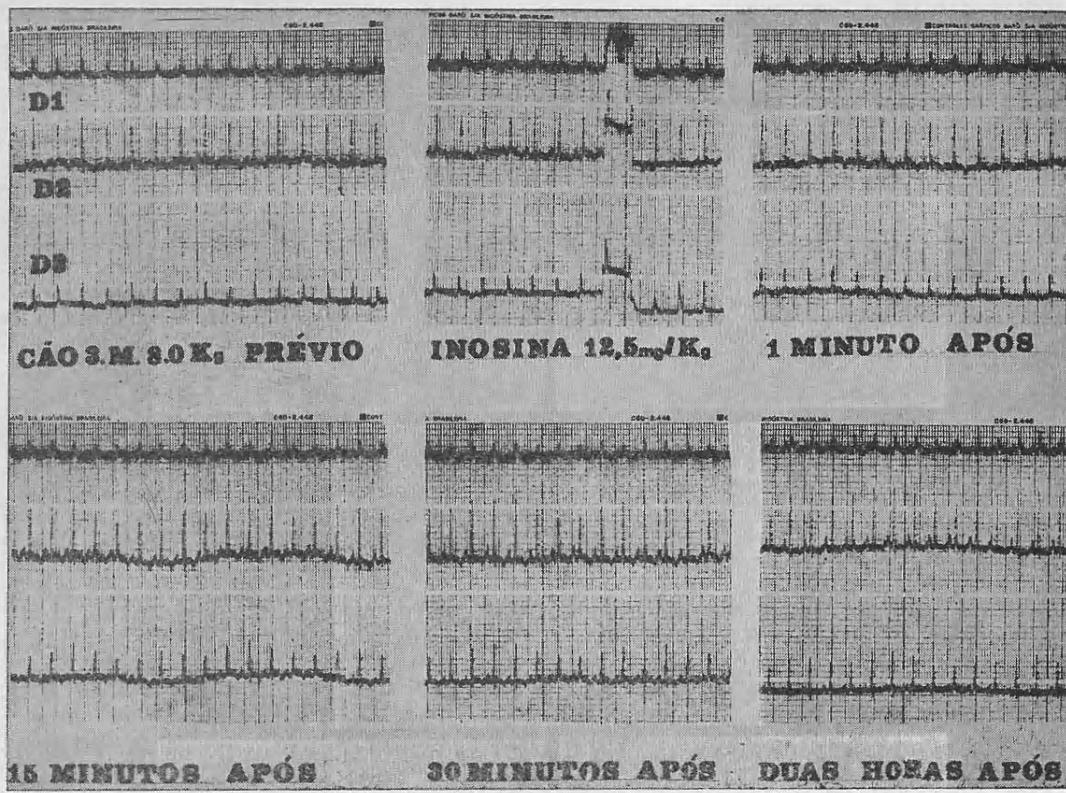


Fig. 14 — Ação da inosina sobre o eletrocardiograma. Derivações eletrocardiográficas:

D1, D2 e D3. Traçado prévio, momento de aplicação de 12,5 mg/kg de inosina e registros com 1, 15, 30 e 120 minutos após a aplicação da inosina (cão macho, pesando 8,0 kg).

preparações. O resultado encontrado indica que, sobre músculo liso, a inosina deprime a contratilidade. Tal fato pode ser relacionado com a ação vasodilatadora mencionada na literatura e que seria responsável, em parte, pela melhora do débito cardíaco (5) e da perfusão coronária (1, 5, 6).

Quando a inosina foi aplicada a cães anestesiados não se observou qualquer alteração do eletrocardiograma (Figura 14) e a pressão arterial se elevou (Figuras 12 e 13). A elevação da pressão arterial contraria as observações de Faucon *et alii* (5) que se referem a queda da pressão arterial em cães, entretanto, as doses por eles empregadas foram de 50 e 100 mg/kg, enquanto que os animais utilizados no presente estudo receberam doses de inosina da ordem de 12,5 mg/kg. Por outro lado, esta verificação experimental concorda com as observações clínicas que se referem à inosina como capaz de determinar melhora da pressão arterial (4).

Em síntese, pode-se dizer que a inosina, pelos dados experimentais constantes do presente estudo, pode ser considerada estimulante da contratilidade de coração isolado de coelho e capaz de elevar a pressão arterial de cães. Os nossos dados experimentais não permitem entretanto, que se esclareça o mecanismo desta ação estimulante da atividade cardíaca. O estímulo da contratilidade pode ser, simplesmente, consequência do papel metabólico da inosina funcionando como fornecedor de ATP (3,7) ou poderia ser resultado de uma ação farmacológica mais específica. Também é difícil dizer, com o material experimental disponível, se o efeito sobre a pressão arterial é pura consequência da ação estimulante cardíaca ou se a droga apresenta ação sobre a parede vascular. O mais importante, é que estes dados experimentais coincidem com numerosas observações clínicas e fornecem subsídios para explicar os bons resultados obtidos, clinicamente.

CONCLUSÕES

- 1 — A inosina tem ação estimulante da contratilidade miocárdica, quando aplicada a coração isolado de coelho.
- 2 — A inosina deprime a contratilidade de átrios isolados de coelho.
- 3 — O cloreto de cálcio reverte a ação depressora da inosina sobre átrios isolados de coelho.
- 4 — A inosina reduz a motilidade de duodeno isolado de coelho.
- 5 — A inosina, nas doses empregadas, determina elevação da

pressão arterial de cães.

6 — A inosina, na dose de 12,5 mg/kg, não modifica o eletrocardiograma de cães.

RESUMO

Foi estudada a ação da inosina em preparações isoladas de átrios, coração e duodeno de coelhos, assim como sobre a pressão carotídea e o eletrocardiograma de cães anestesiados com pentobarbital sódico. Em átrios isolados de coelho, a inosina determinou redução da atividade contrátil, não sendo capaz de reverter ou de impedir a ação do cloreto de potássio; a depressão da contratilidade atrial foi revertida com cloreto de cálcio. Em coração isolado de coelho, a inosina apresentou nítida ação estimulante da contratilidade miocárdica. Sobre duodeno isolado de coelho, a inosina determinou redução da contratilidade. A pressão carotídea de cães se elevou por ação da inosina sem que ocorressem alterações eletrocardiográficas.

Os dados obtidos são discutidos e comparados com os constantes da literatura sendo feita uma correlação entre as observações experimentais e as aplicações clínicas da inosina.

PALAVRAS CHAVE: inosina, contratilidade miocárdica; átrios isolados; coração isolado; duodeno isolado; pressão carotídea; eletrocardiograma.

SUMMARY

The action of inosine was studied on isolated preparations of rabbit atria, rabbit heart, rabbit duodenum and arterial blood pressure and ECG of dogs anesthetized by sodium pentobarbital. The isolated atria reduced their contractility under inosine action; inosine did not reverse or prevent the action of potassium chloride on atria. The reduction of atrial contractility was, however, reversed by calcium chloride.

Inosine determined an evident stimulation of myocardial contractility when administered to isolated rabbit heart. Rabbit duodenum reduced its motility under inosine action. Administered to anesthetized dogs, inosine induced an elevation of arterial blood pressure and determined no alteration of electrocardiogram.

The results are discussed and compared to those included in the literature; a correlation is established between experimental re-

sults and clinical applications of inosine.

KEY WORDS: inosine; myocardial contractility; isolated atria; isolated heart; isolated duodenum; arterial blood pressure; electrocardiogram.

RÉSUMÉ

L'action de l'inosine a été étudiée sur des préparations isolées d'oreillettes, de cœur et duodenum de lapin ainsi que sur la pression carotidienne et sur l'enregistrement électrocardiographique sur des chiens sous anesthésie par le pentobarbital sodique. Sur les creillettes isolées de lapin, l'inosine a déterminé une réduction de la contractilité et elle n'a pas été capable de faire la réversion ou d'empêcher l'action du chlorure de potassium; la dépression de la contractilité s'est montrée réversible sous l'action du chlorure de calcium.

Sur le cœur de lapin en perfusion, l'inosine a présenté une importante action stimulante de la contractilité myocardique.

Sur le duodenum isolé de lapin, l'inosine a déterminé une réduction de la contractilité. La pression carotidienne des chiens a augmentée sous l'action de l'inosine et l'enregistrement électrocardiographique n'a présenté aucune altération, à la suite de l'application de l'inosine.

Les résultats sont discutés et comparés aux résultats rapportés dans la littérature. D'autre part, les auteurs établissent une corrélation entre les observations expérimentales et les indications cliniques de l'inosine.

MOTS CLÉS: inosine; contractilité myocardique, oreillettes isolées; cœur isolé; duodenum isolé; pression carotidienne; électrocardiogramme.

AGRADECIMENTOS

Os autores expressam seus agradecimentos ao Laboratório Sinfarma que forneceu a inosina (Trophicardil®) para realização do presente trabalho.

BIBLIOGRAFIA

1. BALEDENT, M.; DUTRIEUX, J. P.; MARGUERYE, J. Intérêt de l'inosine dans de traitement des affections cardiovaskulaires. *Picardie Médicale*, Amiens 4: 1-4 1968.
2. BETHLENFALVAY, N. C. The effect of inosine on the redistribution of CO between human erythrocytes. *Blut*, Munich, 23:163-166, 1971.
3. DU GRES, B. & CHASSIGNOLLE, J. Expérimentation clinique du "Trophicardyl" en chirurgie cardiaque. *Ann Anesthesiol Française*, Paris, 11 (2): 1-14, 1970.
4. FAIVRE, G.; GILGENKRANTZ, J. M.; TENETTE, C.; PETITIER, H.; WEILLER, M. Essai clinique du trophicardyl en cardiologie. *Ann. Médicales de Nancy*, Nancy, 6:1382-1393, 1967.
5. FAUCON, G.; LAVARENNE, J.; COLLARD, M.; EVREUX, J. Cl. Effets d'un nucléoside, l'hypoxantine-d-riboside, sur l'activité et l'irrigation myocardique Thérapie, Paris, 21:1239-1252, 1966.
6. LINQUETTE, M.; FOSSATI, P.; LUEZ, G.; FOURLINNE, J. C.; DECOULX, M. Forme "cardiaque" de la maladie de Steinert. *Lille Médical*, Lille, 11: 1253-1256, 1966.
7. PIÉPLU, J.; FOUCAULT, J. P.; OLIVIER, J. Essai clinique d'une drogue tonicardique non digitalique. *Ouest Médical*, Paris, 20: 1350-1354, 1968.