

DEPARTAMENTO DE TERAPÊUTICA CLÍNICA
Diretor: Prof. Dr. Fernando Varela de Carvalho

SÔBRE O MECANISMO DE AÇÃO DO COBALTO NO CORAÇÃO ISOLADO

(ON THE MECHANISM OF ACTION OF COBALT ION ON THE
ISOLATED HEART.)

FERNANDO VARELA DE CARVALHO
Prof. Catedrático

SÉRGIO DE MORAES
Prof. Assistente

INTRODUÇÃO

Embora a falência cardíaca seja admitida como causa primária da morte na intoxicação aguda com sais de cobalto (8, 1), poucos dados podem ser coligidos na literatura sobre o efeito e o mecanismo de ação do metal no coração isolado. KAUFMANN e FLECKENSTEIN (7) assinalaram que a adição de cobalto ou níquel a preparações de músculo papilar isolado de cobaias determina abolição da contratilidade sem redução da excitabilidade, isto é, sem alteração da forma e do valor do potencial de ação do músculo. No mesmo trabalho os autores aventaram a possibilidade do cobalto substituir o cálcio ao nível da membrana celular, formando um complexo capaz de manter as propriedades biolétricas do músculo cardíaco mas incapaz de suportar o desenvolvimento de atividade mecânica.

MORAES e RAMOS (4) verificaram que os sais de cobalto produzem falência circulatória aguda em cães, acompanhada por bloqueio A-V e intraventricular. MEDINA (11) verificou consistentes perturbações eletrocardiográficas em cobaias, características de anóxia miocárdica.

Neste trabalho estudamos o efeito e o mecanismo de ação do cobalto sobre o coração isolado visando elucidar alguns aspectos da toxicologia do metal.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 20 cobaias machos e fêmeas, pesando 400-500 g. Os animais foram sacrificados por golpe na nuca e secção dos vasos cervicais. O coração, retirado, foi lavado imediatamente em Ringer-Locke resfriado a 5°C e a seguir suspenso pela aorta

ligada à cânula de vidro. Através da aorta fluía a solução de Ringer-Locke, à pressão de 10-20 mm Hg, oxigenada e mantida a 37°C. As drogas foram adicionadas ao líquido de incubação por uma abertura lateral na cânula, próxima ao coração. A extremidade do ventrículo esquerdo foi ligada por um fio de seda à alavanca inscritora tipo Starling.

Soluções e drogas utilizadas: Ringer-Locke (mM) pH 7.4, NaCl 154.0, KCl 5.6, CaCl₂ 2.2, NaHCO₃ 3.6 e glicose 5.5. O sal de cobalto utilizado foi o CoCl₂.6H₂O (1 M, pH 6.0) dissolvido em solução fisiológica. Foram ainda utilizados: CaCl₂ (1 M) em solução fisiológica, cloridrato de 1-epinefrina e bitartarato de 1-norepinefrina. As soluções de catecolaminas continham 0.01 M de ácido ascórbico como anti-oxidante e foram conservadas em banho de gelo quando em uso. Todos os sais utilizados foram de padrão analítico. As doses de catecolaminas no texto, referem-se ao sal e são expressas em gramas.

RESULTADOS

A adição de 0.5 ml de uma solução 1 M de cloreto de cobalto ao líquido de incubação determinou abolição da capacidade contrátil com parada cardíaca em diástole. Os efeitos do metal sobre as propriedades inotrópica e cronotrópica foram antagonizados pela adição ao líquido nutritivo de 0.5 ml de uma solução 1 M de cloreto de cálcio (figura 1). O antagonismo iônico mostrou-se sempre recíproco e equimolar (figura 2). A presença de cobalto no meio de incubação provocou supressão da resposta cardíaca a 1-epinefrina e 1-norepinefrina. A adição de cálcio, em concentrações insuficientes para antagonizar o efeito do cobalto, determinou recuperação dos efeitos das catecolaminas (figuras 3 e 4).

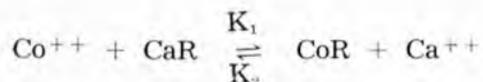
DISCUSSÃO

Os trabalhos básicos de RINGER (12) e DALY e CLARK (3) estabeleceram a importância dos cations fisiológicos (Na, K e Ca) na manutenção do estado contrátil do coração isolado. Particular atenção despertou o cálcio pois a força da contração do coração isolado mostrou-se dependente das concentrações extracelulares do mesmo (13, 14). Alguns autores, recentemente, admitiram ser o cálcio o elo fisiológico fundamental entre os fenômenos elétricos de membrana e a atividade mecânica do coração isolado. O cálcio seria indispensável para a manutenção da integridade fisiológica do "excitation-contraction coupling" no coração isolado (15, 2, 6, 16, 9, 10).

GARB (5) observou que os efeitos do cálcio sobre a contratilidade do coração isolado são altamente específicos e que somente

o estrôncio (8) poderia substituir o cálcio adequadamente. NIEDERGERKE (14) sugeriu a presença de receptores específicos para o cálcio ao nível da superfície externa da membrana celular. A ligação cálcio-sítio receptor hipotético seria representada por uma reação química reversível.

Baseados no modelo de antagonismo iônico, no coração isolado, proposto por NIEDERGERKE e LÜTTGAU (13), NIEDERGERKE (14) e KAUFMANN e FLECKENSTEIN (7) poderíamos admitir que o cálcio e o cobalto competiriam em sítios aniônicos bivalentes superficiais. WILBRANDT e KOELLER (17) sugeriram, distribuir-se o cálcio, de acordo com o equilíbrio de Donnan, entre o líquido que banha a célula e a camada superficial da membrana. Supondo que a face externa da membrana celular possuísse alta concentração de cargas negativas (poucos anions móveis), a quantidade de cálcio utilizável poderia ser função da concentração extracelular do mesmo. A presença de ions cobalto no meio extracelular, tornaria menor o número de receptores aniônicos bivalentes superficiais, disponíveis para a incorporação do cálcio, diminuindo portanto sua participação, nos processos mantenedores da contração do coração isolado. Esquemáticamente teríamos:



onde CaR é o complexo ativador da contração enquanto CoR é inativo, K_1 e K_2 são constantes de velocidade. Admitindo o número total de receptores aniônicos bivalentes superficiais como unitário e supondo que estes receptores possam ser ocupados pelo cálcio ou pelo cobalto, a aplicação da lei da ação das massas nos daria:

$$\frac{[\text{Ca}^{++}]}{[\text{Co}^{++}]} = \frac{K_1 [\text{CaR}]}{K_2 [1 - \text{CaR}]}$$

Portanto a concentração do complexo ativador CaR depende do quociente $[\text{Ca}^{++}]$ e não especialmente das concentrações iônicas $[\text{Co}^{++}]$ absolutas.

Nossos resultados experimentais suportam a hipótese de que, no coração isolado, o cobalto produziria seus efeitos antepondo-se ao aproveitamento fisiológico do cálcio, indispensável para preservação da atividade contrátil do coração isolado.

SUMMARY

The effects of cobalt ion on the isolated heart of the guinea-pig were studied. The addition of cobalt to the incubation medium ceases the contractions of the isolated heart. The effect of cobalt

ion could be prevented by the addition to the incubation medium of calcium ion in equimolar concentrations. Cobalt ion prevented the effects of 1-epinephrine and 1-norepinephrine and these effects of the cation, were antagonized by the presence of calcium ion in amounts not sufficient to antagonize completely the effects of cobalt ion. The mechanism of action of cobalt ions on the isolated heart was discussed. It was proposed that cobalt ion prevents the utilization of calcium ion in the physiological process supporting the mechanical activity of the isolated heart.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARTELHEIMER, E. W. — Analyse der akuten kobaltvergiftung in tierversuch. *Arch. exp. Path. Pharmk.*, 243:237-253, 1962.
2. BRADY, J. — Excitation and excitation-contraction coupling in cardiac muscle. *Ann. Rev. Physiol.*, 26:231-256, 1964.
3. DALY, I. de B. & CLARK, A. J. — The action of ions upon the frog's heart. *J. Physiol.*, London, 54:367-383, 1921.
4. MORAES, S. & RAMOS, A. O. — Mecanismos centrais na gênese dos efeitos periféricos obtidos com a injeção de cobalto. *Rev. Fac. Farm. Bioq. S. Paulo*, 4:225-237, 1966.
5. GARB, S. — The effects of potassium, ammonium, calcium, strontium and magnesium on the electrogram and myogram of mammalian heart muscle. *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 101:317-326, 1951.
6. HUXLEY, A. F. — Muscle. *Ann. Rev. Physiol.*, 26:131-152, 1964.
7. KAUFMANN, R. & FLECKENSTEIN, A. — Ca^{++} -kompetitive elektromecanische Entkoppelung durch Ni^{++} und Co^{++} — Ionen am Warmblütermyokard. *Pflüger Arch. Ges. Physiol.*, 282:290-297, 1965.
8. LAMARCHE, M. & KOCAREV, R. — Action du chlorure de cobalt sur la pression artérielle du cobaye. *C. R. Soc. Biol.*, Paris, 151:363-365, 1957.
9. LEE, Y. C. P.; RICHMAN, H. G.; VISCHER, N. B. — Extracellular calcium ion and reversible cardiac arrest. *Amer. J. Physiol.*, 210:493-498, 1966.
10. ————— — $[Ca^{++}]$ and $[K^+]$ interrelations influencing mechanical and electrical events in cardiac activity. *Ibid.*, 210:499-504, 1966.
11. MEDINA, H. S. G. — Comunicação pessoal, 1969.
12. RINGER, S. — A further contribution regarding the influence of the different constituents of the blood on the contraction of the heart. *J. Physiol.*, London, 4:29-47, 1833. "Apud" Niedergerke, R. — *J. Physiol.*, London, 167:515-550, 1963.
13. NIEDERGERKE, R. & LÜTTGAU, H. C. — Calcium and the contraction of the heart. Antagonism between calcium and sodium ions. *Nature*, London, 179:1066-1067, 1957.

14. NIEDERGERKE, R. — Movements of Ca in frog heart ventricles at rest and during contractures. *J. Physiol.*, London, 167:515-550, 1963.
15. SANDOW, A. — Excitation-contraction coupling in muscular response. *Yale J. Biol. Med.*, 25:176-201, 1952.
16. WALKER, J. M. G. & WEATHERALL, M. — Calcium in relation to the action of ouabain and adrenalin. *Br. J. Pharmacol. Chemother*, 23: 66-79, 1964.
17. WILBRANDT, W. & KOELLER, H. — Die Calcium Wirkung am Frosch-hersen als Funktion des Ionengleichgewitz Swischen Zellmembran und Umgebung. *Helv. Physiol. Pharmacol. Acta.*, 6:208-221, 1948.

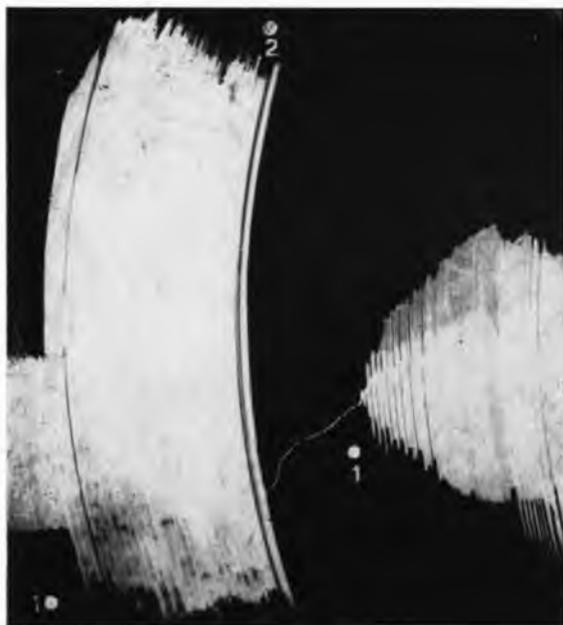


Fig. 1 — Antagonismo entre cálcio e cobalto. Coração isolado de cobaia em Ringer-Lock, temperatura 37°C. Da esquerda para a direita: 1) adição de 0.5 ml de uma solução de cloreto de cálcio (1 M), em 2) adição de 0.5 ml de uma solução de cloreto de cobalto (1 M). Números iguais indicam a adição da mesma droga em concentrações iguais.



Fig. 2 — Antagonismo entre cálcio e cobalto. Coração isolado de cobaia em Ringer-Locke, temperatura 37°C. Da esquerda para a direita: 1) adição de 0.3 ml de cloreto de cálcio (1 M), em 2) adição de 0.3 ml de uma solução de cloreto de cobalto (1 M). Parada cardíaca em diástole. Números iguais indicam a adição da mesma droga em concentrações iguais.

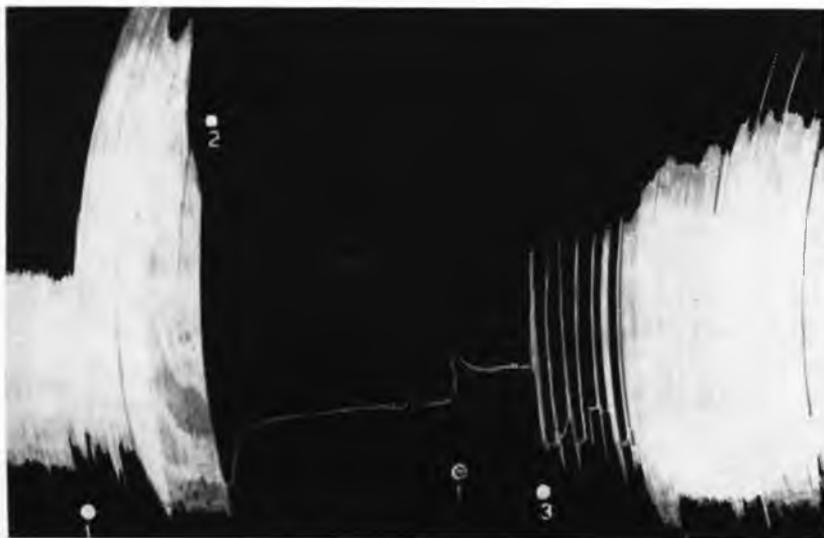


Fig. 3 — Antagonismo entre epinefrina e cobalto. Coração isolado de cobraia em Ringer-Locke, temperatura 37°C. Da esquerda para a direita: 1) adição de 5×10^{-6} de epinefrina (0.2 ml), em 2) adição de 0.5 ml de cloreto de cobalto (1 M). Em 3) adição de 0.2 ml de cloreto de cálcio (1 M). Notar a recuperação parcial do efeito da epinefrina. Números iguais indicam adição da mesma droga em concentrações iguais.



Fig. 4 — Antagonismo entre norepinefrina e cobalto. Coração isolado de cobraia em Ringer-Locke, temperatura 37°C. Da esquerda para a direita: 1) adição de 3×10^{-6} de norepinefrina (0.2 ml), em 2) adição de 0.5 ml de cloreto de cobalto (1 M). Em 3) adição simultânea de 3×10^{-6} de norepinefrina (0.2 ml) e 0.1 ml de cloreto de cálcio (1 M). Recuperação completa do efeito da norepinefrina.