

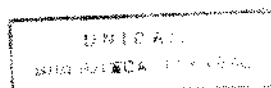
Soraia Katia Pereira Costa

*ALTERAÇÕES CARDIOVASCULARES INDUZIDAS
PELO VENENO DA ARANHA *Phoneutria
nigriventer* EM RATOS ANESTESIADOS*

*Tese apresentada ao Departamento de
Farmacologia da Faculdade de Ciências
Médicas da Universidade Estadual de
Campinas para obtenção do título de Mestre em
Farmacologia.*

Orientador: Prof. Dr. Edson Antunes

*Campinas
1996*



UNIDADE	bc
N.º CHAMADA	
T/UNICAMP	
C823a	
N.º	
1.º	27420
2.º	667196
3.º	
4.º	
5.º	
6.º	
7.º	
8.º	
9.º	
10.º	
11.º	
12.º	
13.º	
14.º	
15.º	
16.º	
17.º	
18.º	
19.º	
20.º	
21.º	
22.º	
23.º	
24.º	
25.º	
26.º	
27.º	
28.º	
29.º	
30.º	
31.º	
32.º	
33.º	
34.º	
35.º	
36.º	
37.º	
38.º	
39.º	
40.º	
41.º	
42.º	
43.º	
44.º	
45.º	
46.º	
47.º	
48.º	
49.º	
50.º	
51.º	
52.º	
53.º	
54.º	
55.º	
56.º	
57.º	
58.º	
59.º	
60.º	
61.º	
62.º	
63.º	
64.º	
65.º	
66.º	
67.º	
68.º	
69.º	
70.º	
71.º	
72.º	
73.º	
74.º	
75.º	
76.º	
77.º	
78.º	
79.º	
80.º	
81.º	
82.º	
83.º	
84.º	
85.º	
86.º	
87.º	
88.º	
89.º	
90.º	
91.º	
92.º	
93.º	
94.º	
95.º	
96.º	
97.º	
98.º	
99.º	
100.º	

CM-00086648-0

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DE FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP

C824a

Costa, Soraia Katia Pereira

Alterações cardiovasculares induzidas pelo veneno da aranha
Phoneutria nigriventer em ratos anestesiados. / Soraia Katia Pereira
Costa. Campinas, SP : [s.n.], 1996.

Orientador : Edson Antunes

Tese (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
Ciências Médicas.

1. Venenos de aranha. 2. Bloqueadores de canais de cálcio. 3.
Hipertensão. I. Edson Antunes. II. Universidade Estadual de
Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Banca examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador:

Prof. Dr. Edson Antunes

Membros:

1. Prof. Dr. Edson Antunes

[Signature]
[Signature]
[Signature]

2. Prof. Dr. Eduardo Tiburcio

3. Prof. Dr. Marcos Dias Fontana

Curso de pós-graduação em Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data:

04/04/96

Este exemplar corresponde à versão final da tese de Mestrado, apresentada a Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP, para obtenção do título de Mestre em Farmacologia da Farmacêutica Soraia Katia Pereira Costa.

Campinas, 04 de abril de 1996

[Signature]
Prof. Dr. Edson Antunes
-Orientador-

À minha mãe, D. Idilva, meu maior estímulo para continuar lutando, pois mesmo alheia ao mundo da ciência, distante de mim e próxima de uma série de dificuldades, mostrou-me com sabedoria que a educação é a maior herança deixada para os filhos.

Ao Flávio, que ao longo desses anos foi peça fundamental para a realização deste trabalho, depositando pacientemente doses diárias de companheirismo, otimismo, bom humor, incentivo e muito carinho, sem cobranças.

Agradecimentos

✓ Ao Dr. Edson Antunes pela incrível sapiência e humildade com as quais conduz seus trabalhos e, principalmente, pela forma amiga de ensinar que muito me estimulou a optar pela pesquisa.

✓ Ao Dr. Gilberto de Nucci pela confiança e oportunidades que me permitiram transgredir fronteiras.

✓ Ao Dr. Stephen Hyslop pela valiosa colaboração técnica e discursiva na parte experimental *in vitro*.

✓ Aos colegas, Dora Grassi Kassisse, Antonio Carlos Bento, Heitor Moreno Jr., Marta Valéria Medeiros, Luciana Piovisan Nathan, Sisi Marcondes, Aldete Zappellini: e Elen C. T. Landucci pela grande receptividade, amizade e disponibilidade em colaborar sempre que necessitei na parte técnica, discursiva e tradução.

✓ Aos colegas que propiciaram uma convivência diária agradável que de alguma forma contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho: Ana Maria T. Grégio, José L. Donato, Luciana Bizeto, Renato Faro, Heloisa H. A. Ferreira, Ronilson A. Moreno, Cleber E. Teixeira, Rodrigo Lopes Martins, Rogério C. de Castro, Andrea Perez, Sócrates Penna e demais colegas.

✓ À Dra. Sue Brain pela viabilização do estágio (King's College) e aos demais colegas Jane Escott, Gavin e Paul Wilsoncroft pela convivência cordial em Londres.

✓ Aos docentes do Departamento de Farmacologia da FCM e, em especial, aos Drs. Marcos Dias Fontana pelos momentos de discussões e constante disposição em colaborar e Fábio Bucarechi, pelo empréstimo do acervo sobre Phoneutria.

✓ Aos imprescindíveis serviços administrativos de Maria das Dores Ponciano, Paulo Sérgio de Oliveira, Gislaine E. Alípio, Solange Basso e, certamente aos serviços técnicos de Airton Fernando de Paula, Adilson J. Thomáz e Miguel da Silva, sem os quais, este trabalho não seria possível.

✓ Aos "Nunes," sempre presentes nas grandes decisões.

✓ À Marta Baracho, por apresentar-me ao círculo da pesquisa.

✓ Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES-Brasil) pela concessão da bolsa de Mestrado (1993-1996) e Wellcome Trust pela bolsa de estágio (abril-julho/95) em Londres.

*“Faça com que o refinamento e a melhoria de sua
própria vida mantenham-no tão ocupado que
você pouco tenha tempo para criticar os outros.”*

(H. Jackson Brown)

SUMÁRIO

Lista de figuras.....	ix
Lista de abreviaturas.....	xi
Resumo.....	xiii

1 INTRODUÇÃO

1.1	Considerações gerais.....	1
1.2	Morfologia dos aracnídeos.....	2
1.3	Classificação e distribuição das <i>Phoneutrias</i>	2
1.4	Sintomatologia do envenenamento (<i>Phoneutria nigriventer</i>).....	5
1.5	Efeitos farmacológicos do veneno (<i>Phoneutria nigriventer</i>).....	6
1.6	Objetivos.....	12

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1	Monitorização da pressão arterial média.....	13
2.1.1	Animais.....	13
2.1.2	Protocolos experimentais <i>in vivo</i>	14
2.1.3	Contagem de hematócrito.....	16
2.1.4	Avaliação de edema pulmonar.....	16
2.1.5	Observação dos sinais de envenenamento.....	16
2.2	Coração isolado de rato pelo método de Langendorff.....	17
2.2.1	Procedimentos cirúrgicos.....	18
2.2.2	Protocolos experimentais <i>in vitro</i>	20
2.3	Veneno.....	20
2.4	Diálise do veneno de <i>Phoneutria nigriventer</i>	20
2.5	Procedência das drogas empregadas neste estudo.....	22
2.6	Análise estatística.....	23

3	RESULTADOS	
3.1	Efeitos do veneno <i>in vivo</i>	24
3.1.1	Efeitos do veneno sobre a P.A.M e F.C.....	24
3.1.2	Envolvimento do sistema nervoso autônomo.....	27
3.1.3	Efeito da indometacina.....	30
3.1.4	Envolvimento de receptores B ₂ de bradicinina.....	30
3.1.5	Envolvimento do PAF.....	30
3.1.6	Envolvimento de taquicininas.....	32
3.1.7	Envolvimento do óxido nítrico.....	32
3.1.8	Envolvimento da angiotensina II.....	34
3.1.9	Envolvimento de endotelina.....	34
3.1.10	Envolvimento de canais de K ⁺	36
3.1.11	Envolvimento de canais de Ca ⁺⁺ do tipo L.....	38
3.1.12	Contagem de hematócrito.....	44
3.1.13	Edema pulmonar.....	44
3.1.14	Efeitos do envenenamento pela <i>Phoneutria</i>	44
3.2	Efeitos do veneno de <i>P. nigriventer</i> no coração isolado.....	49
3.2.1	Envolvimento de receptores muscarínicos.....	53
3.2.2	Envolvimento de receptores β ₁ adrenérgicos.....	59
4	DISCUSSÃO	65
5	CONCLUSÕES	76
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77
7	SUMMARY	94

LISTA DE FIGURAS

Fig.	Pág.	Título
1	19	Esquema de perfusão Langendorff.
2	19	Esquema do coração isolado de rato com o balão.
3	24	Alterações de PAM induzidas pela administração endovenosa do veneno de <i>Phoneutria nigriventer</i> .
4	26	Efeito do veneno de <i>Phoneutria nigriventer</i> sobre a FC.
5	28	Efeitos da atropina, propranolol e FBZ sobre as alterações de PAM induzidas pelo veneno de <i>Phoneutria nigriventer</i> .
6	29	Traçado experimental dos efeitos da atropina, propranolol e FBZ sobre as alterações de PAM induzidas pelo veneno.
7	31	Ações da indometacina, Hoe 140 e WEB 2086 sobre as alterações de PAM induzidas pelo veneno.
8	33	Ausência de efeitos do SR 140333 e L-NAME sobre as alterações de PAM induzidas pelo veneno.
9	35	Efeito do Losartan e FR 139317 sobre as alterações de P.A.M induzidas pelo veneno de <i>Phoneutria nigriventer</i> .
10	37	Efeito da glibenclamida sobre a hipotensão induzida pelo veneno de <i>Phoneutria nigriventer</i> .
11	40	Efeito do verapamil, diltiazem e nifedipina sobre as alterações de PAM induzidas pelo veneno de <i>Phoneutria nigriventer</i> .
12	41	Traçado representativo do efeito supressor do verapamil sobre as alterações de PAM induzidos pelo veneno.
13	42	Traçado experimental mostrando a reversão causada pelo diltiazem e verapamil sobre a hipertensão induzida pelo veneno.
14	43	Ausência de efeitos do verapamil, diltiazem e nifedipina sobre o aumento de PAM induzida pela noradrenalina em ratos.
15	45	Efeitos do veneno de <i>Phoneutria nigriventer</i> sobre os valores de hematócrito.
16	46	Ausência de edema pulmonar após administração do veneno de <i>Phoneutria nigriventer</i> .

Continuação

LISTA DE FIGURAS

Fig.	Pág.	Título
17	50	Curso temporal dos efeitos do veneno de <i>Phoneutria nigriventer</i> (50 µg; ia) no coração isolado de rato.
18	51	Curso temporal dos efeitos do veneno de <i>Phoneutria nigriventer</i> (100 µg; ia) no coração isolado de rato.
19	52	Curso temporal dos efeitos do veneno de <i>Phoneutria nigriventer</i> (100 µg; ia) sobre o fluxo coronariano em coração isolado de rato.
20	54	Traçado representativo do efeito da acetilcolina no coração isolado de rato.
21	55	Curso temporal dos efeitos da acetilcolina sobre o fluxo coronariano no coração isolado de rato.
22	56	Efeitos da atropina sobre as alterações cardíacas induzidas pelo veneno de <i>Phoneutria nigriventer</i> (50 µg; ia).
23	57	Efeito da atropina sobre a queda de fluxo coronariano induzida pelo veneno de <i>Phoneutria nigriventer</i> (100 µg; ia) no coração isolado de rato.
24	58	Traçado representativo do efeito da atropina sobre as alterações induzidas pelo veneno (100 µg; ia) no coração isolado de rato.
25	64	Efeitos da atropina e propranolol sobre os valores basais da PDVE, F.C e F.Cor. em corações isolados de ratos.
26	60	Efeitos da noradrenalina no coração isolado de rato.
27	61	Curso temporal do efeito do veneno x propranolol sobre o aumento da PDVE e F.C no coração isolado de rato.
28	63	Traçado representativo do efeito do propranolol sobre as alterações cardíacas induzidas por 100 µg (ia) do veneno de <i>Phoneutria nigriventer</i> em coração isolado de rato.
29	63	Curso temporal do efeito do veneno (100 µg; ia) x propranolol sobre a queda de fluxo coronariano em coração isolado de rato.

LISTA DE ABREVIACÕES

5-HT	5-hidroxitriptamina
ACh	Acetilcolina
Ang	Angiotensina II
AMP _c	Monofosfato 3', 5'- cíclico de adenosina
Bat/min	Batimentos por minuto
BAV	Bloqueio átrio-ventricular
Ca ²⁺	Cálcio
CCI	Centro de Controle de intoxicações
CGRP	Calcitonin gene related peptide
CGRP ₈₋₃₇	Human calcitonin gene related peptide antagonist (8-37)
CKM	Cromacalina
DAGO	(D-Ala ² ,Me-Phe ⁴ ,Gly ⁵ -ol)-encefalina
EDRF	Fator relaxante derivado do endotélio
ET-1	Endotelina-1
EV	Endovenosa
F.Cor.	Fluxo coronariano
FBZ	Fenoxibenzamina
FC	Frequência cardíaca
Fig.	Figura
IA	Intra-aórtica
INDO	Indometacina
IP	Intra peritoneal
ISO	Isoproterenol
K ⁺	Potássio
MS	Ministério da Saúde
NA	Noradrenalina
NO	Óxido nítrico
PAM	Pressão arterial média
Continua...	

Continuação...

LISTA DE ABREVIACÕES

PAF	Fator de ativação plaquetária
PDVE	Pressão desenvolvida no ventrículo esquerdo
PGE ₁	Prostaglandina E ₁
PGI ₂	Prostaciclina
SBTI	Soybean trypsin inhibitor
SES-SP	Secretaria de Estado da Saúde São Paulo
SNP	Nitroprussiato de sódio
SRA	Sistema renina angiotensina
Tab	Tabela
TXA ₂	Tromboxano A ₂
VO	Via oral

RESUMO

Esta tese descreve os efeitos do veneno da aranha *Phoneutria nigriventer* sobre a pressão arterial média (PAM) e em corações isolados de ratos. Para avaliação dos parâmetros *in vivo*, o método utilizado consistiu basicamente de monitorização da PAM de ratos anestesiados através de transdutor de pressão. Os parâmetros *in vitro* foram avaliados em função da pressão desenvolvida no ventrículo esquerdo (PDVE), frequência cardíaca (medidos através de um balão inserido na cavidade ventricular) e fluxo coronariano (coleta do efluente coronariano) em intervalos de tempo pré-estabelecidos. A administração endovenosa do veneno de *Phoneutria nigriventer* (0,1 mg/kg) produziu hipotensão rápida e reversível. Na dose de 0,3 mg/kg, o veneno evocou alterações bifásicas caracterizadas por hipotensão transitória seguida por hipertensão prolongada e discreto aumento da frequência cardíaca. Tais alterações foram acompanhadas por fasciculações generalizadas, diurese, defecação, sialorréia, cianose e dispnéia. Doses de veneno mais elevadas (0,6 mg/kg) produziram alterações mais intensas, dessincronizadas e determinou a morte de 75 % (n=20) dos animais. O tratamento prévio dos animais com atropina, propranolol ou fenoxibenzamina não aboliu as alterações induzidas pelo veneno *in vivo*, excluindo o possível envolvimento do sistema nervoso autônomo nessa resposta. Posteriormente, investigamos o envolvimento de componentes como cininas, PAF, neurocininas e NO na resposta hipotensora induzida pelo veneno *in vivo*. O tratamento prévio dos animais com Hoe 140 (antagonista de receptores B₂), WEB 2086 (antagonista de PAF), SR 140333 (antagonista de receptores NK₁) ou L-NAME (inibidor da síntese de óxido nítrico) não alterou de modo significativo a hipotensão induzida pelo veneno sugerindo que tais mediadores não estão envolvidos nessa resposta hipotensora. A ausência de efeito da indometacina sobre a resposta bifásica induzida pelo veneno sugere que a hipotensão e hipertensão não são decorrentes da formação de PGI₂ e TXA₂, respectivamente. Finalmente, a queda na PAM induzida pelo veneno foi parcialmente inibida pelo bloqueador dos canais de potássio dependentes de ATP (glibenclamida) indicando que a hipotensão induzida pelo veneno é

mediada, pelo menos em parte, da ativação de canais de potássio. A resposta hipertensora induzida pelo veneno não foi alterada nos animais tratados com antagonista de receptores AT_1 de angiotensina II (Losartan) ou com antagonista de receptores de endotelina do tipo ET_A (FR 139317) indicando que o veneno não estimula o sistema renina angiotensina e nem promove a liberação de ET-1 no organismo. Contudo, esse aumento de PAM induzido pelo veneno de *Phoneutria nigriventer* foi marcadamente reduzido de modo dose-dependente com antagonistas de canais de Ca^{2+} do tipo L (verapamil, diltiazem e nifedipina) sugerindo que essa hipertensão arterial é dependente da ativação de canais de cálcio do tipo L. A administração inta-aórtica do veneno (50 μ g) em corações isolados produziu inotropismo positivo (aumento da PDVE) acompanhado por discreto cronotropismo positivo (aumento da FC). Na dose de 100 μ g, o veneno produziu inotropismo positivo imediato seguido por bloqueio átrio-ventricular transitório, bradicardia, aumento da pressão diastólica e queda do fluxo coronariano. Em corações isolados, a infusão contínua de propranolol foi capaz de proteger os corações das alterações induzidas pelo veneno em ambas as doses. Entretanto, o tratamento dos corações com atropina não modificou significativamente tais alterações, exceto, uma discreta proteção sobre a bradicardia observada com altas doses do veneno. Isto sugere que nesta preparação *in vitro*, o veneno promove liberação de noradrenalina e acetilcolina das terminações nervosas simpáticas e parassimpáticas do músculo cardíaco. Todavia, embora o veneno produza a liberação desses neurotransmissores *in vitro*, concluímos que estes não são os responsáveis pela hipotensão e hipertensão observados *in vivo* em virtude dos resultados negativos obtidos com atropina, fenoxibenzamina e propranolol.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Considerações Gerais

Aproximadamente nove décimos de todos os animais que povoam a terra pertencem ao filo dos Artrópodos e são assim denominados, em virtude do corpo, extremidades bucais e ambulatorias serem compostos de diversas peças que formam artículos móveis (BÜCHERL, 1972; 1980; LUCAS & SILVA JÚNIOR, 1992). O filo artrópodo compreende as classes *Arachnida*, *Crustacea*, *Onychophora* e *Insecta*. A classe dos aracnídeos abrange dez ordens sendo que as mais conhecidas são as dos *araneídeos*, *scorpiones* e *acarinas* (BÜCHERL, 1969; 1980; LUCAS & SILVA JÚNIOR, 1992). A ordem dos *araneídeos* (ou aranhas) é considerada de grande relevância, pelo elevado número de espécimes, pela fácil adaptação desses animais ao meio ambiente e, principalmente, pela letalidade dos venenos de algumas espécies (BÜCHERL, 1972; 1980; LUCAS & SILVA JÚNIOR, 1992).

Estima-se que o número atual de espécimes de aranhas varia em torno de 35.000 a 50.000, distribuídos em aproximadamente 47 famílias e 1000 gêneros, espalhados nas regiões de clima temperado e tropical, onde povoam selvas, florestas e campos. Quanto ao habitat, distinguem-se as aranhas enterradas, domésticas, terrícolas, lapidícolas, cavernícolas, dendrícolas, errantes e marinhas, e vivem em teias geométricas ou irregulares assim como no interior de residências humanas. Por outro lado, existem as aranhas que não constroem teias e são quase sempre errantes, caçadoras e costumam andar sozinhas. À esse grupo pertencem quase todas as caranguejeiras, as *Phoneutrias*, entre outras (BÜCHERL, 1980; LUCAS & SILVA JÚNIOR, 1992).

Todas as aranhas são carnívoras, preferindo caçar sua presa viva, matá-la e comê-la em seguida. Em geral, podem devorar tanta comida de uma só vez, quanto o seu próprio peso. Por outro lado, conseguem viver meses (até 1 ano) sem se alimentarem (BÜCHERL, 1972). Aranhas, em geral, põem ovos em

grandes quantidades, os quais ficam protegidos numa bolsa de fios de seda chamada ooteca. Algumas aranhas vivem apenas poucos meses, enquanto outras atingem até 25 anos (LUCAS & SILVA JÚNIOR, 1992).

1.2 Morfologia dos aracnídeos

As aranhas apresentam o corpo dividido em uma parte anterior, o cefalotórax, e uma parte posterior, o abdome, unidos por um tubo estreito denominado pedicélio. O conjunto é revestido externamente por uma camada quitinosa formando um verdadeiro exoesqueleto (BÜCHERL, 1972; 1980; LUCAS & SILVA JÚNIOR, 1992). No cefalotórax, articulam-se 4 pares de pernas com 7 segmentos e uma depressão transversal (ou longitudinal), chamada fóvea torácica que ora é circular, ora recurva ou em forma de fenda. Da fóvea, partem as estrias torácicas, sendo que geralmente duas estrias bem acentuadas limitam a região cefálica ou cabeça (BÜCHERL, 1972; 1980). A cabeça compreende os olhos, dois pares de quelíceras com um segmento basal e ferrão inoculador de veneno, lábio, boca e dois pedipalpos com seis segmentos. Nos machos, o último segmento apresenta um órgão copulador. O abdome não segmentado apresenta formatos variados de sacos, triângulos e estrelas. Na região posterior do abdome situam-se estigmas pulmonares, até 3 pares de fiandeiras, e nelas estão as glândulas que segregam a seda. A produção da seda destina-se à fabricação da teia, da ooteca e das teias espermáticas, que o macho usa para transferir seu esperma para os bulbos copuladores (BÜCHERL, 1972; LUCAS & SILVA JÚNIOR, 1992).

1.3 Classificação e distribuição

De acordo com a disposição das quelíceras e ferrões inoculadores de veneno, as aranhas são divididas em dois grandes grupos que

apresentam interesse bioquímico e farmacológico em virtude da toxicidade da peçonha que segregam (BÜCHERL, 1972; 1980; LUCAS & SILVA JÚNIOR, 1992):

- subordem *Labidognatha* (aranhas verdadeiras) - na qual se encontram os gêneros *Phoneutria*, *Loxosceles* e *Latrodectus* (apresenta ferrões perpendiculares ao eixo longitudinal do corpo).
- subordem *Orthognatha* (aranhas caranguejeiras) - representada principalmente pelos gêneros *Gramostola*, *Acanthoscuria* e *Lasiadora* (apresenta os ferrões paralelos entre si e ao eixo longitudinal do corpo).

As aranhas consideradas de interesse médico, capazes de causar acidentes graves (*Phoneutria*, *Loxosceles* e *Latrodectus*), totalizam aproximadamente 20 espécies (LUCAS, 1988; LUCAS & SILVA JÚNIOR, 1992). Para identificá-las, podemos observar as dimensões e o colorido do corpo, o número e a disposição dos olhos e a região onde tais animais habitam (tabela 1).

Tab. 1: **Comparação das características morfológicas dos gêneros de aranhas venenosas no Brasil, de interesse médico.**

Gênero	<i>Phoneutria</i>	<i>Loxosceles</i>	<i>Latrodectus</i>
Nome popular	armadeira	marrom	viúva negra
Dimensões do corpo	3 - 15 cm	1 - 3 cm	1,5 - 3,0 cm
Nº de olhos	8 (3 fileiras)	6 (frontal)	8 (2 fileiras)
Habitat	bananeiras, residências, terrenos baldios e zonas rurais	móveis, sótãos, garagens e folhas secas	casas de zonas rurais e plantações (trigo, linho)
Hábitos	noturnos	noturnos	diurnos
Teia	não faz teia	teia irregular revestindo o substrato	teia irregular, suspensa entre a vegetação
Comportamento	agressivo	calmo, ataca somente quando pressionada contra o corpo	idem anterior

Adaptado: LUCAS, S. & SILVA JUNIOR, P.I. - Acidentes por aranhas (araneísmo). In: Schwartsman, S. - Plantas venenosas e animais peçonhentos. 2.ed. São Paulo, Sarvier, 1992. p.193. 1992).

No Brasil, as *Phoneutrias* são popularmente conhecidas como aranhas armadeiras, devido à posição que assumem quando se sentem ameaçadas, pois apóiam-se nas patas traseiras e erguem as dianteiras procurando picar a vítima (BÜCHERL, 1971; LUCAS, 1988; BUCARETCHI, 1992; LUCAS & SILVA JÚNIOR., 1992). Neste país, quatro espécies do gênero *Phoneutria* foram descritas, assim distribuídas (LUCAS & SILVA JÚNIOR., 1992):

- ***Phoneutria fera*** - região Amazônica
- ***Phoneutria nigriventer*** - Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul
- ***Phoneutria reydí*** - região Amazônica
- ***Phoneutria keyserlingi*** - Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul

Em meados dos anos 70, dados relatados pelos Centros de Controle de Intoxicações (CCI) das diversas regiões brasileiras demonstraram que os acidentes por animais peçonhentos representam a segunda causa de atendimento, superada somente pelas intoxicações medicamentosas (CARDOSO, 1992). Desses acidentes, a espécie *Phoneutria nigriventer* é seguramente a responsável pelo maior número de acidentes de araneísmo (LUCAS, 1988; BUCARETCHI, 1992). Em 1989, dados do Ministério da Saúde (MS) apontaram que 71 % dos 1.347 acidentes de araneísmo no Brasil, ocorridos nas regiões Centro-Oeste e Sul foram atribuídos à *Phoneutria nigriventer*. Reforçando essas estatísticas, dados da Secretaria de Estado de Saúde São Paulo (SES-SP, 1993) demonstraram que de 3.226 acidentes registrados por picadas de aranhas neste Estado, no período de 1988 a 1990, 60.7 % foram provocados pela aranha *Phoneutria nigriventer*. Felizmente, ocorreu apenas um caso de óbito (SES-SP, 1993). De acordo com dados do CCI do Hospital das Clínicas da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, 51.6 % dos 647 acidentes notificados no período de fevereiro de 1984 a julho de 1988 foram

causados por essa espécie (BUCARETCHI, 1992; 1994). Acredita-se, inclusive, que o número de casos oficialmente notificados pode ser ainda maior, devido a um elevado número de casos subnotificados (CARDOSO, 1992; SES-SP, 1993). Esse elevado número de vítimas justifica o nome científico *Phoneutria*, o qual significa "feroz matadora" (BÜCHERL, 1980).

1.4 Sintomatologia do envenenamento por *Phoneutria nigriventer*

As primeiras observações sobre o efeito tóxico da peçonha da *Phoneutria nigriventer* deveram-se a VITAL BRAZIL & VELLARD (1925, 1926), os quais descreveram as manifestações clínicas predominantes do envenenamento. Estas incluem principalmente sinais locais, acompanhados de dor local intensa, que é o sintoma mais freqüente e normalmente surge imediatamente após a picada. Associadas às manifestações locais, podem aparecer alterações sistêmicas, tais como sudorese, hipotermia, fasciculação muscular generalizada, vômitos, sialorréia, priapismo e distúrbios hemodinâmicos caracterizados como taquicardia, arritmias cardíacas, hipertensão arterial e edema pulmonar agudo, que raramente evoluem para o óbito (VITAL BRAZIL & VELLARD, 1926; FLEURY, 1964; SCHENBERG & PEREIRA LIMA, 1971; ALBUQUERQUE, et al., 1990; BUCARETCHI, 1990, 1992).

1.5 Efeitos farmacológicos do veneno de *Phoneutria nigriventer*

Inicialmente, BARRIO (1955) demonstrou que o veneno de *Phoneutria nigriventer* contém dois polipeptídeos capazes de promover bloqueio neuromuscular em músculo gastrocnêmico de rato.

Posteriormente, o Professor C. R. Diniz revelou a existência no veneno da *Phoneutria nigriventer* de histamina, 5-hidroxitriptamina (5-HT) e dois polipeptídeos capazes de contrair íleo isolado de cobaio e útero de rata (DINIZ, 1963).

Em 1966, SCHENBERG & PEREIRA-LIMA estimaram o peso molecular do veneno bruto na faixa entre 5,000 a 6,000, além de revelarem que o veneno poderia conter 14 componentes farmacológicos ativos, incluindo a histamina e a 5-hidroxitriptamina.

FONTANA & VITAL BRAZIL (1985) demonstraram que o veneno de *Phoneutria nigriventer* ativa canais de sódio dependentes de voltagem em preparações de nervo-frênico diafragma de rato. Isto resulta em aumento na frequência dos potenciais de placa terminal em miniatura e descargas repetitivas de potenciais de ação acarretando finalmente o bloqueio neuromuscular. Reforçando estes achados, CRUZ-HÖFLING et al. (1985) observaram que a injeção intraneuronal do veneno no nervo ciático de camundongos induz à formação de edema no axoplasma nodal e paranodal, associado ao desenvolvimento de vacúolos no espaço periaxonal. Estas alterações fisiológicas e estruturais são resultantes do aumento do influxo de sódio nos nódulos de Ranvier, visto que nos animais pré-tratados com tetrodotoxina, tais alterações não foram encontradas (LOVE & CRUZ-HÖFLING, 1986). Complementando estes resultados, ENTWISTLE et al. (1982) demonstraram previamente que o veneno contém um polipeptídeo capaz de evocar potenciais de ação repetitivos no nervo crural e contrações dos músculos esqueléticos de preparações neuromusculares de fêmur de gafanhoto.

Há quase uma década, resultados importantes observados por VITAL-BRAZIL et al. (1988) são ainda bastante citados. Nesse trabalho, os autores mostram que, em átrio isolado de cobaia, o veneno ativa canais de sódio dependentes de voltagem promovendo, dessa forma, efeitos inotrópicos e

cronotrópicos negativos e positivos decorrentes da liberação de acetilcolina e noradrenalina das terminações nervosas autonômicas. Tais efeitos foram potencializados pela neostigmina, abolidos pela atropina e reduzidos pelo hemicolinio. O propranolol e o bretílio bloquearam o aumento da frequência e da tensão das contrações nas aurículas atropinizadas, enquanto a tetrodotoxina aboliu os efeitos da peçonha sobre o inotropismo e cronotropismo. Segundo os autores, a liberação de acetilcolina e noradrenalina das terminações nervosas autonômicas pode ser a causa dos distúrbios cardiovasculares (taquicardias e arritmias) observados após o envenenamento em seres humanos.

A partir de 1988, foi revelada a existência de três frações purificadas do veneno da *Phoneutria nigriventer* (PhTx1, PhTx2 e PhTx3), com peso molecular entre 6,000 e 9,000 (CORDEIRO et al., 1988). Das frações isoladas, duas (PhTx1 e PhTx2) causam ativação de canais de sódio dependentes de voltagem, enquanto a fração PhTx3 apresenta ação neurotóxica, porém sem atividade contrátil em íleo isolado de cobaia (CORDEIRO et al., 1988; 1993, DINIZ et al., 1990; REZENDE-JÚNIOR et al., 1991). É importante salientar que a toxina neurotóxica Tx1 foi clonada e os estudos revelaram que a mesma é sintetizada como uma pré-protoxina (DINIZ et al., 1993). Recentemente, foi demonstrado que a PhTx2 inibe o fechamento de canais de sódio dependentes de voltagem, sem causar despolarização significativa da membrana (REZENDE et al., 1991; ARAÚJO et al., 1993). Em células de sinaptosomas corticais de rato, esta mesma toxina promove rápido aumento do influxo de Ca^{++} , com posterior liberação de glutamato (ROMANO-SILVA et al., 1993).

O veneno de *Phoneutria nigriventer* contém ainda polipeptídeos, denominados PNV1 e PNV2, capazes de contrair tecidos vasculares isolados de coelhos (veias cava, mesentérica e jugular e artérias pulmonar e mesentérica) e promover aumento da permeabilidade vascular na microcirculação cutânea de ratos e coelhos, independentes da ativação de canais de sódio. Tais

polipeptídeos são bioquimicamente distintos daqueles relatados anteriormente (ANTUNES et al., 1992, 1993a; MARANGONI, et al., 1993b; BENTO et al., 1993, 1995).

A partir de 1992, ANTUNES et al. demonstraram que o veneno de *Phoneutria nigriventer* apresenta propriedades inflamatórias. Tais autores observaram que a injeção intradérmica do veneno na pele dorsal de ratos e coelhos promove aumento da permeabilidade vascular independente do conteúdo de histamina e 5-HT presentes no veneno (ANTUNES et al., 1992, MARANGONI et al., 1993a). À semelhança de outros agentes inflamatórios (bradicinina, histamina, fator de ativação plaquetária e outros) (PERNOW, 1983), o aumento da permeabilidade vascular induzido pelo veneno é marcadamente potencializado por vasodilatadores tais como CGRP e PGE₁ (Antunes et al., 1992).

Em pele de coelhos, observou-se que o veneno ativa o sistema de calicreína tissular levando à formação local de cininas (calidina), produzindo extravasamento plasmático e, conseqüentemente, formação de edema local (MARANGONI et al., 1993a). Tais achados foram baseados em resultados mostrando que a aprotinina (inibidor inespecífico de proteases), mas não o SBTI (inibidor de calicreínas plasmáticas), inibe o edema local induzido pelo veneno. Além disso, o antagonista específico de receptores B₂ de bradicinina (Hoe 140) praticamente abole a atividade edematogênica do veneno, ao passo que o inibidor de cininase II (captopril) potencializa a formação do edema. Dados recentes sugerem que, ao contrário do coelho, a formação de edema local em ratos induzido por esse veneno é parcialmente dependente da ativação de receptores NK₁ de taquicinas, indicando um mecanismo neurogênico (PALFRAMAN et al., 1996). Embora, investigações continuam sendo realizadas no sentido de identificar se o veneno contém substâncias semelhantes à neurocininas ou se o veneno atua direta ou indiretamente ativando fibras

nervosas sensoriais, promovendo a liberação de mediadores vasoativos responsáveis pelo processo edematogênico (PALFRAMAN et al., 1996). Curiosamente, recentemente foi isolado e parcialmente seqüenciado um dos polipeptídeos responsáveis pelo aumento da permeabilidade vascular em pele de coelho (ANTUNES et al., 1993b; BENTO et al., 1995). Esse polipeptídeo apresenta peso molecular aproximado de 14,475, e a seqüência de seu N-terminal o distingue de outros peptídeos anteriormente descritos.

A ativação do sistema de calicreína tissular e a subsequente geração de cininas (provavelmente calidina) e liberação de óxido nítrico (NO), é também o mecanismo pelo qual o veneno promove relaxamento da musculatura lisa de corpo cavernoso de coelho (LOPES-MARTINS et al., 1994). Esse mecanismo proposto é sustentado pelos resultados onde a aprotinina (mas não o SBTI) e o inibidor específico de calicreína tissular (KIZD-6) reduziram marcadamente o efeito relaxante do veneno. Reforçando esses achados, o inibidor de cininase II (captopril) potencializa o efeito relaxante, ao passo que o Hoe 140 o inibe.

Em estudo recente, BUCARETCHI & COLLARES (1996) observaram que o veneno é capaz de induzir retardo do esvaziamento gástrico de líquidos em ratos, de maneira dependente da dose. O pré-tratamento dos animais com propranolol reduziu parcialmente o efeito da peçonha sobre o esvaziamento gástrico de líquidos, sugerindo que este efeito nos animais envenenados se deve, pelo menos em parte, a um aumento da liberação de catecolaminas, que podem inibir as contrações musculares gástricas por ativação de receptores β adrenérgicos localizados nas células musculares lisas (BURKS, 1987).

As ações farmacológicas decorrentes do veneno da aranha *Phoneutria nigriventer* são complexas e os componentes presentes no veneno continuam sendo investigados e caracterizados. Embora as manifestações clínicas do envenenamento já tenham sido largamente descritas, pouco se sabe sobre os

mecanismos de ação envolvidos nas diversas respostas farmacológicas, principalmente no que se refere aos distúrbios hemodinâmicos, que constituem provavelmente importante papel no desencadeamento de casos graves e fatais (Bücherl, 1980; Lucas, 1988; Bucarechi, 1992). Neste sentido, em vista da escassez de estudos experimentais sobre a fisiopatologia das alterações cardiovasculares decorrentes do envenenamento por *Phoneutria nigriventer*, os objetivos deste trabalho foram:

1.6 Objetivos

- 1 Investigar os efeitos pressóricos produzidos pela injeção endovenosa do veneno da aranha *Phoneutria nigriventer* em ratos anestesiados;
- 2 Caracterizar farmacologicamente os receptores e mediadores envolvidos nas alterações cardiovasculares induzidas pelo veneno;
- 3 Investigar as ações do veneno na dinâmica cardíaca (pressão desenvolvida no ventrículo esquerdo, frequência cardíaca e fluxo coronário) do coração isolado de rato.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Monitorização da pressão arterial média (PAM)

2.1.1 Animais

Neste estudo, foram utilizados ratos machos WISTAR (12 a 15 semanas de idade, 250-300 gramas), provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Campinas. Os animais foram mantidos em caixas plásticas, no sistema coletivo, com seis ratos por caixa, sendo estes alimentados com ração purina® e água "*ad libitum*".

Os animais foram inicialmente anestesiados com pentobarbital sódico (Sagatal, 40 mg/kg) pela via intraperitoneal (ip) e, quando necessário, doses de manutenção foram administradas no decorrer do experimento. Os animais foram então fixados na mesa cirúrgica, em decúbito dorsal. Em seguida, foi realizada pequena incisão longitudinal na pele (aproximadamente 2 cm) na linha mediana expondo-se assim a traquéia do animal, na qual foi introduzido um tubo endotraqueal a fim de facilitar-lhes a respiração. A carótida direita foi então isolada da glândula tireoide, musculatura paratraqueal e nervo vago. Ambas as extremidades da carótida foram clampeadas, isolando-se a porção distal com fio de algodão. Com o auxílio de uma tesoura oftálmica, fez-se pequena incisão na parede anterior da carótida, na qual foi inserido e fixado uma canula heparinizada (scalp 23). Para medida da PAM, o scalp foi acoplado a um transdutor de pressão (7016, UGO BASILE, ITÁLIA) e os sinais da PAM amplificados e registrados em um polígrafo de dois canais (Gemini 7070, Ugo Basile, Itália), previamente acoplado ao transdutor de pressão e calibrado.

A veia femoral esquerda (ou direita) foi canulada para administração endovenosa do veneno e outros agentes em estudo.

Após a cirurgia, aguardou-se um período de estabilização da pressão arterial de aproximadamente quinze minutos, quando então os protocolos foram iniciados. Considerou-se adequada a PAM basal dos animais em torno de 75 a 115 mmHg. Animais-controle que apresentaram valores basais de PAM acima ou abaixo desta média foram descartados.

Na maioria dos protocolos experimentais, a peçonha em estudo e os agentes-teste foram injetados via endovenosa em bolus de 100 µl, seguidos da administração de 100 µl de salina, para lavagem da cânula. Em outros protocolos, foram utilizadas as vias oral (vo), intraperitoneal (ip), ou endovenosa (ev) sob infusão contínua de drogas. Cada protocolo experimental durou em média de 15 a 120 minutos, quando então os animais foram sacrificados, injetando-se ar na corrente circulatória.

Os mesmos registros de PAM permitiram também a obtenção da frequência cardíaca (FC). Os valores de FC foram representados pela frequência de batimentos cardíacos por minuto.

2.1.2 Protocolos experimentais na monitorização da PAM

A tabela 2 resume as principais drogas utilizadas neste estudo, bem como as concentrações e vias de administração empregadas

Tab. 2 Drogas utilizadas nos protocolos experimentais efetuados *in vivo*.

AGENTES	MECANISMO DE AÇÃO	DOSE E VIA DE ADMINISTRAÇÃO	PRÉ- TRATAMENTO (min)	CONTROLE
Atropina	antagonista de receptor muscarínico	10 mg/kg; ip	30	ACh 1 µg/kg
Diltiazem	antagonista dos canais de cálcio do tipo L	40, 80 e 120 µg/kg/min; ev	10	BAY K 8644 1 µg/kg NA 1 µg/kg
Fenoxibenzamina	bloqueador α adrenérgico não-seletivo	100 mg/kg; ip	30	NA 1 µg/kg
FR 139317	antagonista de receptor ET _A de endotelina	30 mg/kg; ev	10	ET-1 3 µg/kg
Glibenclâmida	antagonista de canais de potássio dependentes de ATP	50 mg/kg; ip	30	CKM10 µg/kg; SNP 1 µg/kg
HOE 140	antagonista de receptor B ₂	0.6 mg/kg; ip	30	BK 1 µg/kg
Indometacina	inibidor da ciclooxigenase	4 mg/kg; ip	30	-
L-NAME	inibidor da síntese de NO	10 mg/kg; ev	10	-
Losartan	antagonista de receptor AT ₁	10 mg/kg; ev	10	A II 10 ng/kg
Nifedipina	antagonista dos canais de cálcio do tipo L	0.3, 1.0 e 10 mg/kg; vo	30	BAY K 8644 1 µg/kg NA 1 µg/kg
Propranolol	bloqueador β adrenérgico não-seletivo			
SR 140333	antagonista de receptor NK ₁ de taquicinas	0.5 mg/kg; ev	10	substância P 1 µg/kg
Verapamil	antagonista de canais de cálcio do tipo L	10, 30 e 100 µg/kg/min; ev	10	BAY K 8644 1 µg/kg NA 1 µg/kg
WEB 2086	antagonista de receptor de PAF	20 mg/gk; ev	10	PAF 0,25 µg/kg

2.1.3 Contagem de hematócrito

Foram empregados 10 animais, anestesiados com Sagatal® (40 mg/kg, ip) divididos em dois grupos, com cinco animais cada. O primeiro grupo recebeu solução salina (100 µl) e o segundo grupo recebeu o veneno de *Phoneutria nigriventer* (0,3 mg/kg; ev).

A contagem dos valores de hematócritos foi efetuada pelo método convencional, utilizando-se amostras de sangue venoso (50 µl) coletadas através de uma das veias caudais nos intervalos de 20 e 120 minutos após a injeção da solução salina ou veneno. As amostras sanguíneas foram centrifugadas (5.000 r.p.m., durante 5 minutos) e os resultados comparados entre si.

2.1.4 Avaliação de edema pulmonar

Os mesmos animais empregados na contagem do hematócrito foram sacrificados e os pulmões cuidadosamente retirados. Os pulmões foram então imersos em solução de Krebs e enxugados em papéis absorventes. Em seguida, estes foram pesados (peso úmido) e colocados na estufa durante 24 horas para obtenção do peso seco. A razão entre o peso seco /peso úmido forneceu o índice para determinação do edema pulmonar (IZUMI & BAKHLE, 1989).

2.1.5 Observação dos sinais do envenenamento

As manifestações de envenenamento por *Phoneutria nigriventer*, tais como dispnéia, sialorréia, diurese, defecação, secreção nasal, straub (levantamento de cauda), priapismo, piloereção, fasciculação muscular,

contratura do trem posterior, cianose e morte foram avaliados nos intervalos de 1, 5, 15, 30, 45, 60 e 90 minutos após a injeção de 0,1, 0,3 ou 0,6 mg/kg do veneno:

2.2 Coração isolado de rato pelo método de Langendorff

O princípio deste método consiste em perfundir o coração através de um sistema de pressão de perfusão, conectado a uma cânula inserida na aorta (fig. 1; DÖRING & DEHNERT, 1988).

A perfusão retrógrada resulta no fechamento da valva aórtica (semelhante ao coração *in vivo* durante a diástole) e o líquido de perfusão é deslocado através das artérias coronarianas. Após passar pelo sistema coronariano, o fluido de perfusão sai pelo sinus coronariano e átrio direito. As cavidades cardíacas permanecem vazias durante o experimento. Neste sistema, a pressão de perfusão adequada para ratos varia de 60 a 70 mmHg e a frequência cardíaca não deve ser inferior a 200 bat/minuto. Para evitar o surgimento de trombozes nas artérias coronarianas durante a retirada do coração, os animais são tratados previamente com heparina (500 UI/100 gramas de peso corpóreo, ip) alguns minutos antes da toracotomia (DÖRING & DEHNERT, 1988).

Para perfusão do coração isolado nestes experimentos, foi utilizada a solução de Krebs-Henseleit (K-H) com a seguinte composição em (mM): NaCl 188, NaHCO₃ 25, Glicose 11,1, KCl 4,7, KH₂PO₄ 1,2, MgSO₄.7H₂O 1,17 e CaCl₂.6H₂O 2,5 continuamente aerada com O₂ : CO₂ (95:5 %).

2.2.1 Procedimentos cirúrgicos

Ratos Wistar, machos (250- 300 g) foram anestesiados com Sagatal® (50 mg/kg, ip) e fixados em mesa cirúrgica. Cinco minutos após a injeção intraperitoneal de heparina, os animais foram submetidos a uma toracotomia bilateral, os corações rapidamente removidos com aproximadamente 1 cm de aorta, montados no sistema de perfusão Langendorff através da aorta e fixados com fio de algodão (fig. 1). O líquido de perfusão introduzido na aorta foi mantido sob pressão constante de 65 mmHg. Em seguida, foi realizada pequena incisão no átrio esquerdo, pela qual uma cânula (PE 160, NY., EUA) com o balão de látex foi introduzida, cruzando o orifício mitral até atingir o ventrículo esquerdo (fig. 2). A cânula foi então acoplada ao transdutor de pressão (7016, Ugo Basile, Itália) e os registros de pressão no ventrículo esquerdo (PDVE) e FC foram amplificados em um polígrafo de dois canais (Gemini 7070, Ugo Basile, Itália).

A pressão diastólica inicial foi estabelecida em 0 mmHg e, através do balão de látex inserido dentro da cavidade do ventrículo esquerdo, foi possível avaliar a PDVE e FC do coração isolado de rato (fig. 2). O fluxo coronariano (F. Cor.) foi medido coletando-se o efluente coronariano em intervalos de tempo regulares. Tais parâmetros cardíacos (PDVE, FC e F. Cor.) foram avaliados antes da injeção (tempo 0) e nos intervalos 0,25, 1, 5 e 10 minutos após a injeção do veneno e agonistas (acetilcolina 20 µg e noradrenalina 0,1 µg). Estes agentes foram injetados em bolus diretamente na cânula (5 mm próximo à aorta), enquanto os antagonistas (atropina 1 µM e propranolol 3 µM) foram diluídos na solução de perfusão Krebs-Henseleit.

Fig. 1 Esquema de perfusão de coração sob pressão constante pelo método de Langendorff

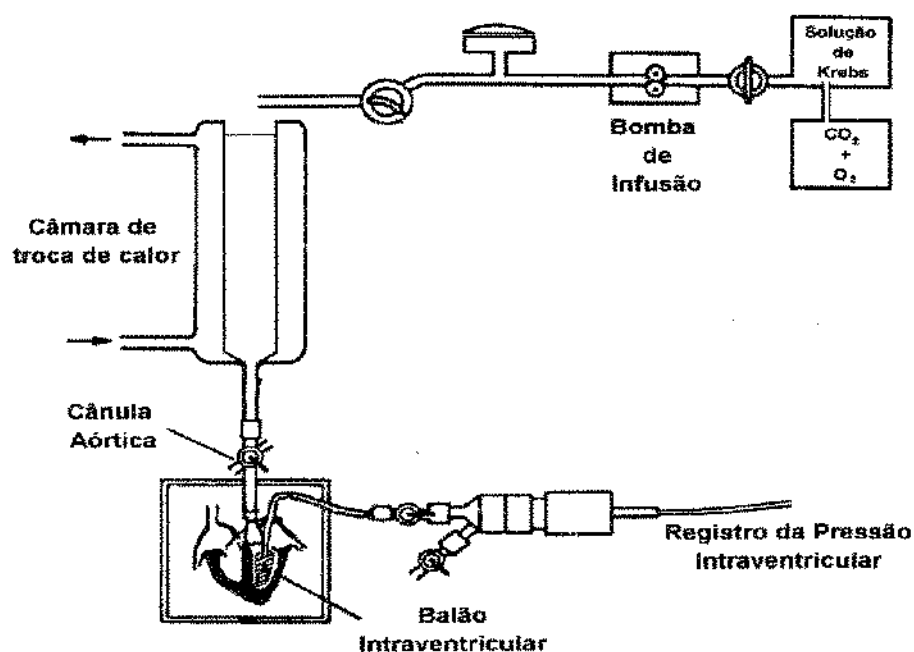
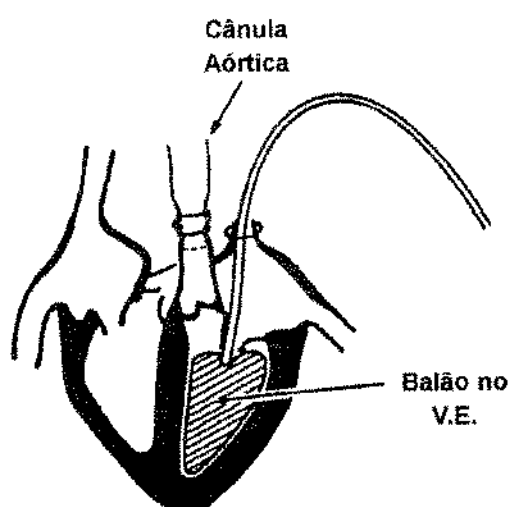


Fig. 2 Esquema do coração isolado de rato com o balão inserido na cavidade ventricular



Adaptado: DÖRING & DEHNERT. The isolated perfused heart. Germany, Biomesstechnik-Verlag, 1988.

2.2.2 Protocolos experimentais *in vitro*

Os protocolos experimentais incluíram grupos de animais-controle e pré-tratados. Nos grupos-controle, os corações foram perfundidos com a solução Krebs-Henseleit e injetados com salina (100 μ l), acetilcolina (20 μ g) ou noradrenalina (0,1 μ g). Nos grupos pré-tratados, os corações foram perfundidos com solução Krebs-Henseleit contendo atropina (1 μ M) ou propranolol (3 μ M). Os corações pré-tratados foram perfundidos continuamente por aproximadamente 15 minutos antes de se administrarem o veneno (50 ou 100 μ g) ou agonistas (acetilcolina ou noradrenalina). O volume injetado dos agonistas ou veneno foi sempre de 100 μ l.

2.3 Veneno

O veneno empregado neste estudo foi obtido da Seção de Artrópodos Peçonhentos do Instituto Butantã, São Paulo. O material foi colhido por estimulação elétrica no cefalotórax dos aracnídeos, de acordo com a técnica descrita por BÜCHERL (1953, 1956). O veneno liofilizado recebido do Instituto Butantã, foi armazenado em frascos hermeticamente fechados, a uma temperatura de 3 °C.

2.4 Diálise do veneno de *Phoneutria nigriventer*

Sabendo que o veneno de *Phoneutria nigriventer* contém pequenas quantidades de histamina (0,06 a 1,0 %) e 5-HT (0,03 a 0,25 %) (FISHER & BOHN, 1957; WELSH & BATTY, 1963; DINIZ, 1963; SCHENBERG & PEREIRA-LIMA, 1971), substâncias estas capazes de interferir nas respostas pressóricas do nosso

estudo, passamos a utilizar o veneno dialisado (ANTUNES et al., 1992) tanto no estudo *in vivo* quanto *in vitro*.

Alíquotas de 10 ml da solução do veneno de *Phoneutria nigriventer* (2 mg/ml) foram dissolvidas em solução salina e colocadas em sacos de diálise (Philip Harris Scientific, EUA) com exclusão molecular de 12,000 a 14,000. A seguir, a diálise foi realizada contra dois litros de solução salina (0.9 %) por um período de 48 horas, a 4-6 °C. Durante esse período, a solução salina foi substituída cinco vezes. A remoção eficiente (> 99.9 %) de histamina e 5-HT foi confirmada nos ensaios biológicos utilizando-se segmentos de artéria mesentérica de coelho, quando comparada com uma amostra do veneno retirado antes da diálise (Antunes et al., 1992).

2.5 Procedência das drogas empregadas neste estudo

Substância	Procedência
Aceticolina	Sigma Chemical Co. (St Louis, EUA)
Angiotensina II	Sigma Chemical Co. (St Louis, EUA)
Atropina	Sigma Chemical Co. (St. Louis, EUA)
Bay k 8644	Bayer (Alemanha)
Bradicinina	Sigma Chemical Co. (St Louis, EUA)
Cromacalina	Sigma Chemical Co. (St Louis, EUA)
Diltiazem	Sigma Chemical Co. (St Louis, EUA)
Endotelina-1	Peptide Institute Inc. (Osaka, Japão)
Fator de ativação plaquetária	Beecham (Bubendorf, Suíça)
Fenoxibenzamina	Smith Kline & French (Inglaterra)
FR 139317	Abbot Laboratories (Illinois, EUA)
Glibenclamida	Sigma Chemical Co. (St Louis, EUA)
Heparina	Roche (São Paulo, Brasil)
Hoe 140	Pharma Synthesis (Hoechst AG)
Indometacina	Sigma Chemical Co. (St Louis, EUA)
Isoproterenol	Sigma Chemical Co. (St Louis, EUA)
Losartan	Merck (EUA)
N ^o -nitro-L-arginine methyl ester	Sigma Chemical Co. (St Louis, EUA)
Nifedipina	Bayer do Brasil (São Paulo)
Nitroprussiato de sódio	Sigma Chemical Co. (St Louis, EUA)
Noradrenalina	Sigma Chemical Co. (St Louis, EUA)
Pentobarbital sódico (Sagatal [®])	May Baker (Dagenhan, Reino Unido)
Propranolol	Sigma Chemical Co. (St Louis, EUA)
Sais p/tampão Krebs	B.D.H Chemical (Inglaterra)
SR 140333	Sanofi (Montpellier, França)
Substância P	Sigma Chemical Co. (St Louis, EUA)
Verapamil	Sigma Chemical Co. (St Louis, EUA)
WEB 2086	Smith Kline & French (Inglaterra)

Soluções-estoque (0,1 %) de nifedipina e Bay k 8644 foram dissolvidas em 40 % de etanol, enquanto as soluções de FR 139317 e glibenclamida foram dissolvidas em NaOH 1 N e 0.2 M, respectivamente, e o pH corrigido para 7.4. A solução de cromacalina (0,1 %) foi dissolvida em 10 % de dimetil sulfóxido (DMSO). Indometacina (0,4 %) foi dissolvida em NaHCO₃ (5 %).

O veneno de *Phoneutria nigriventer* (2 mg/ml) e os reagentes acima foram estocadas em amostras concentradas e mantidas em freezer e então diluídos com solução salina 0,9 %, previamente à administração nos animais.

2.6 Análise estatística

Os resultados estão apresentados como média $\pm$ erro-padrão das médias. Para comparações múltiplas de variáveis independentes foi utilizada a análise de variância "one way" (ANOVA) efetuadas pelos testes de Duncan e o teste "t" de Student não pareado (Software True Epistat, Epistat Services, 1991). Na análise de dados entre o mesmo grupo foi utilizada a análise de variância "one way" (ANOVA) efetuada pelos teste de Bonferroni com múltiplas comparações e o teste "t" de Student pareado (Software US. 04a Graphpad Instat, 1990). Valores de $P < 0,05$ foram considerados significativos, assinalando-se com os seguintes símbolos (*, **, ***, #, ##, ###).

3 RESULTADOS

3.1 Efeitos do veneno *in vivo*

3.1.1 Efeito do veneno de *Phoneutria nigriventer* sobre a PAM e FC

A figura 3 ilustra os efeitos da administração endovenosa de diferentes doses do veneno de *Phoneutria nigriventer* sobre a PAM. Observamos que baixas doses do veneno (0,1 mg/kg) produziram hipotensão (43 ± 7 mmHg; n=7) rápida (2-4 min) e reversível. Doses maiores (0,3 mg/kg) produziram uma resposta bifásica caracterizada por rápida (1-3 min) hipotensão (33 ± 2 mmHg; n=5) seguida por uma prolongada (40-60 min) hipertensão (42 ± 5 mmHg). A hipertensão foi sempre acompanhada por um discreto, porém significativo ($p < 0.05$) aumento da frequência cardíaca (fig. 4). A resposta máxima observada nesta última fase foi atingida entre 5 e 10 minutos. Uma segunda administração de 0,3 mg/kg do veneno no animal resultava em aproximadamente 90 % de morte. Na concentração de 0,6 mg/kg observamos um padrão bifásico semelhante à resposta anterior; porém mais intenso e dessincronizados, onde 75 % dos animais evoluíram para a morte (n=20).

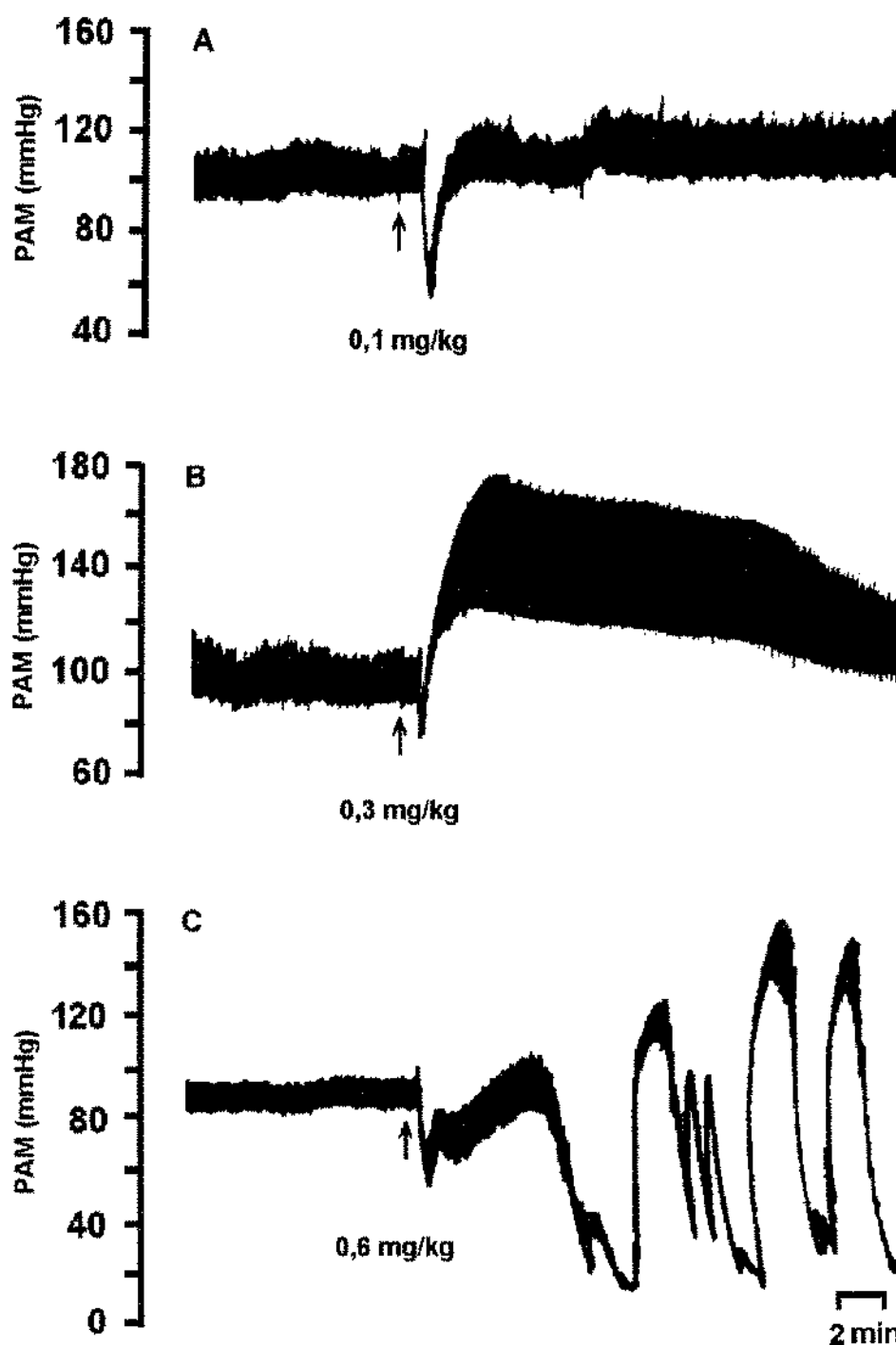


Fig. 3 Alterações da pressão arterial média (PAM) induzidas pela administração endovenosa do veneno de *Phoneutria nigriventer*. A: 0,1 mg/kg. B: 0,3 mg/kg. C: 0,6 mg/kg.

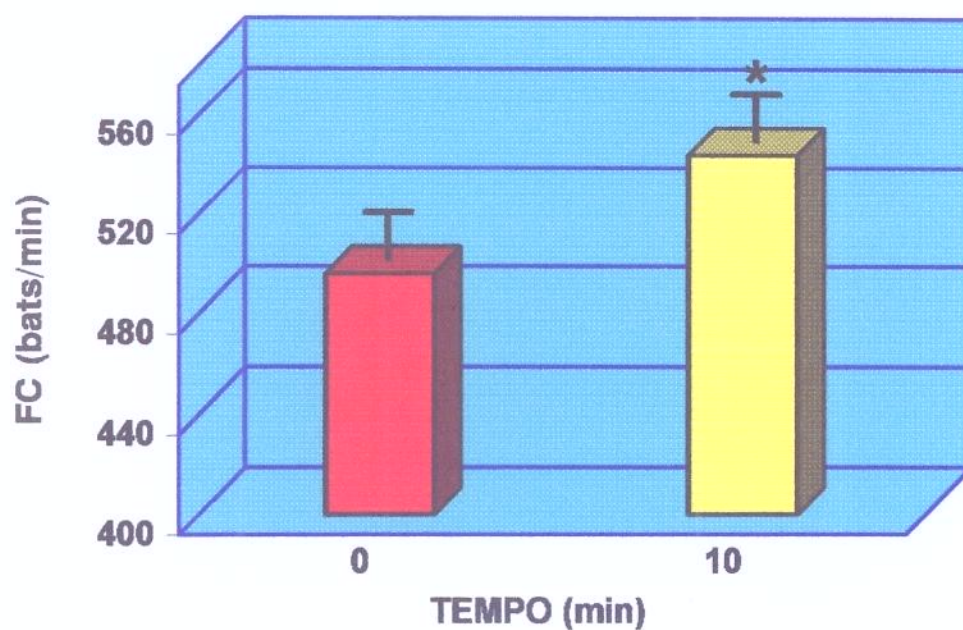


Fig. 4 Efeito do veneno de *Phoneutria nigriventer* sobre a frequência cardíaca (FC; batimentos/minuto). A frequência cardíaca foi avaliada antes (barra vermelha, tempo 0) e 10 minutos (barra amarela) após administração endovenosa do veneno (0,3 mg/kg). Os resultados estão expressos como médias $\pm$ EPM ($n=10$). * $P<0,05$, em relação ao valor basal (tempo 0).

3.1.2 Envolvimento do sistema nervoso autônomo

A acetilcolina (1 $\mu\text{g/kg}$) e o veneno (0,3 mg/kg) causaram hipotensão rápida de curta duração (61 ± 6 e 40 ± 8 mmHg, respectivamente, $n=5$). O pré-tratamento dos animais com o antagonista de receptores muscarínicos, atropina (10 mg/kg, ip; 30 min; $n=5$), inibiu significativamente a hipotensão induzida pela acetilcolina sem, contudo, afetar de maneira significativa a resposta hipotensora induzida pelo veneno (fig. 5a). A hipertensão induzida pelo veneno também não foi modificada pela atropina. Nesta concentração, a atropina não alterou de maneira significativa a PAM basal dos animais (tab. 4).

A injeção endovenosa do isoproterenol (10 ng/kg) e veneno (0,3 mg/kg) induziu rápida hipotensão (39 ± 4 mmHg e 33 ± 5 mmHg, respectivamente; $n=5$). O pré-tratamento dos animais com o bloqueador β -adrenérgico não seletivo, propranolol (100 mg/kg, ip; 30 min; $n=5$), reduziu marcadamente a hipotensão induzida pelo isoproterenol. Entretanto, o propranolol não modificou de modo significativo a hipotensão e hipertensão induzida pelo veneno de *Phoneutria nigriventer* (fig. 5b). A PAM basal dos animais tratados também não foi significativamente alterada pelo tratamento com o propranolol (tab. 4).

A injeção endovenosa de noradrenalina (1 $\mu\text{g/kg}$) produziu rápida hipertensão (53 ± 5 mmHg; $n=5$) enquanto o veneno (0,3 mg/kg) induziu resposta hipotensora breve (30 ± 4 mmHg; $n=5$) e hipotensora (49 ± 9 mmHg; $n=5$) de longa duração (45 min). O pré-tratamento de animais com o bloqueador α -adrenérgico não seletivo, fenoxibenzamina (100 mg/kg, ip; 30 min; $n=5$), foi capaz de reduzir significativamente ($p<0,01$) a hipertensão induzida pela noradrenalina sem, contudo, afetar as alterações de PAM induzida pelo veneno (fig. 5c). Na dose utilizada, a fenoxibenzamina reduziu significativamente ($p<0,05$) a PAM basal dos animais tratados (tab. 4).

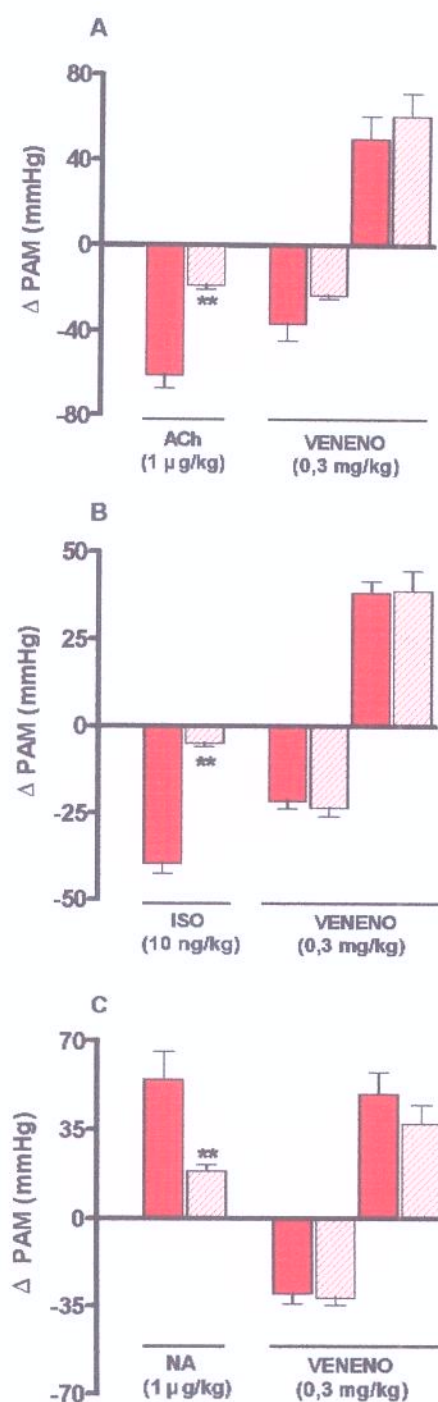


Fig. 5 Efeitos da atropina, propranolol e fenoxibenzamina sobre as alterações de PAM induzidas pelo veneno de *Phoneutria nigriventer*. As barras vermelhas representam os animais-controle que receberam salina (100 μ l; ip) e as barras listradas representam os animais pré-tratados com atropina 10 mg/kg (A), propranolol 100 mg/kg (B) ou fenoxibenzamina 100 mg/kg (C), injetados via ip 30 minutos antes da administração endovenosa do veneno (0,3 mg/kg). Os resultados estão expressos como médias $\pm$ EPM (n=5). **p<0,01, em relação aos grupos-controle.

A figura (6) ilustra a resposta do veneno em animais pré-tratados com uma mistura de atropina, propranolol e fenoxibenzamina, nas mesmas doses usadas anteriormente. Esta mistura de antagonistas foi capaz de reduzir significativamente a PAM basal dos animais (tab. 4). Da mesma forma, a hipotensão induzida pela acetilcolina e isoproterenol, assim como a hipertensão induzida pela noradrenalina, foi marcadamente reduzida ($p < 0,01$) nos animais pré-tratados (fig. 6). Entretanto, tal tratamento não alterou de modo significativo a resposta bifásica induzida pelo veneno.

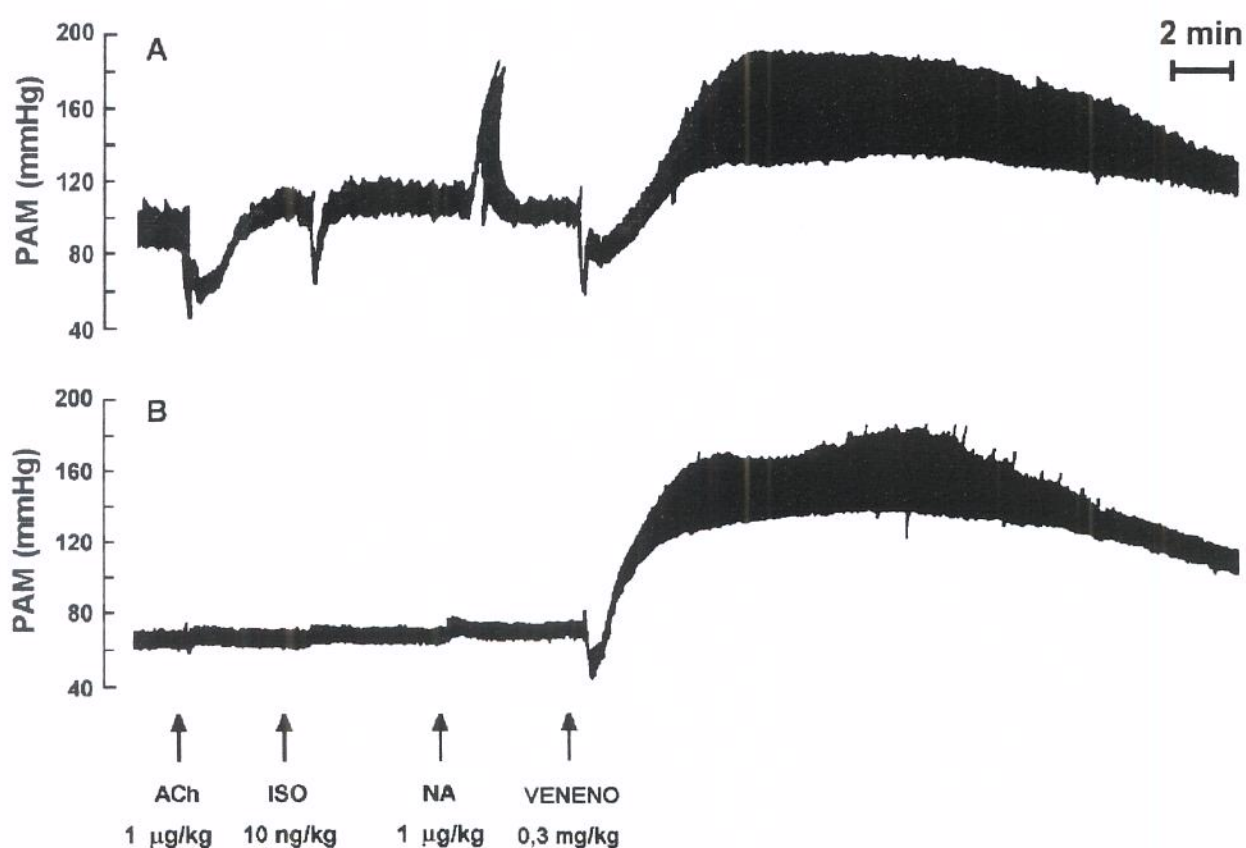


Fig. 6 Traçado experimental da ausência de efeito da atropina, fenoxibenzamina e propranolol sobre as alterações da pressão arterial média (PAM) induzidas pelo veneno de *Phoneutria nigriventer*. Os traçados ilustram as respostas pressóricas induzidas pela acetilcolina (ACh), isoproterenol (ISO), noradrenalina (NA) e veneno de *Phoneutria nigriventer* (0,3 mg/kg) em animal-controle (recebeu salina 100 µl; painel A) e tratado via ip (painel B) com a mistura de atropina (10 mg/kg), fenoxibenzamina (100 mg/kg) e propranolol (100 mg/kg) meia hora antes.

3.1.3 Efeito da indometacina (inibidor da ciclooxigenase)

A resposta bifásica caracterizada por hipotensão e hipertensão induzidas pelo veneno de *Phoneutria nigriventer* (0,3 mg/kg) não foi afetada quando os animais foram pré-tratados com a indometacina (4 mg/kg, ip; 30 min; n=5) (fig. 7a). Nesta concentração, a indometacina não afetou significativamente a PAM basal dos animais pré-tratados (tab. 4).

3.1.4 Envolvimento de receptores B₂ de bradicinina

A administração endovenosa de bradicinina (1 µg/kg) causou hipotensão rápida (22 ± 4 mmHg), que foi marcadamente reduzida ($p < 0,001$) quando os animais foram pré-tratados com o antagonista dos receptores B₂ de bradicinina, Hoe 140 (0,6 mg/kg, ip; 5). Entretanto, nesta mesma dose, o Hoe 140 não foi capaz de modificar as alterações de PAM induzidas pelo veneno (fig. 7b; n=5). A PAM basal não foi significativamente alterada pelo tratamento com o Hoe 140 (tab. 4).

3.1.5 Envolvimento do fator de ativação plaquetária (PAF)

A administração endovenosa do PAF (0,25 µg/kg) produziu rápida hipotensão (38 ± 7 mmHg; n=5), a qual foi abolida no grupo de animais pré-tratados com o antagonista de receptores de PAF, WEB 2086 (20 mg/kg, ev; n=5). Entretanto, as alterações de PAM induzidas pelo veneno não foram significativamente alteradas pelo tratamento com o WEB 2086 (fig. 7c; n=5). Da mesma forma, o valor da PAM basal também não foi significativamente modificado pelo antagonista de PAF (tab. 4).

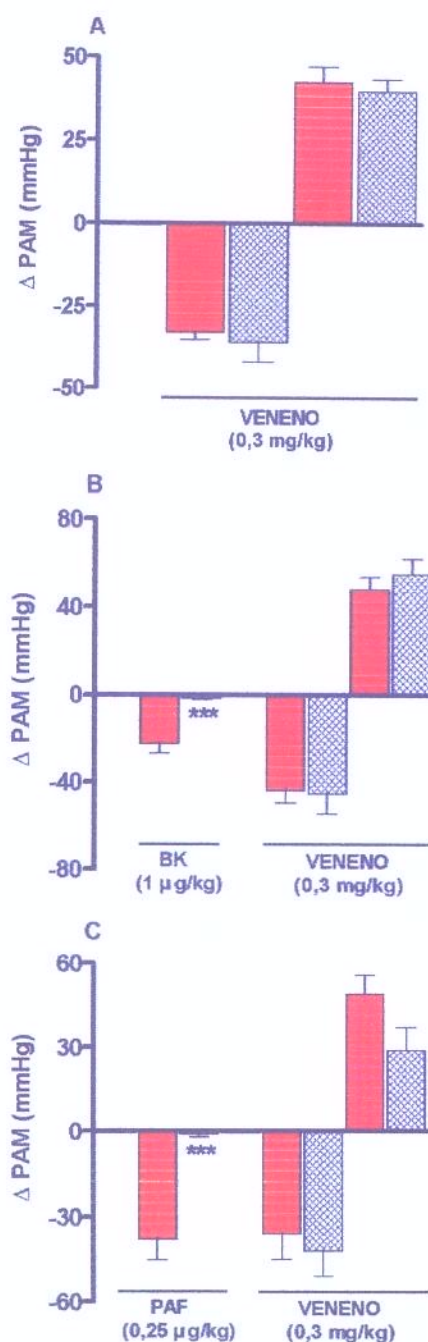


Fig. 7 Ações da indometacina, HOE 140 e WEB 2086 sobre as alterações de PAM induzida pelo veneno de *Phoneutria nigriventer* (0,3 mg/kg). As barras vermelhas representam grupos controle que receberam salina (100 μ l). As barras azuis representam grupos de animais pré-tratados com indometacina (4 mg/kg, ip, 30 min; painel A), Hoe 140 (0,6 mg/kg, ip, 30 min; painel B) e WEB 2086 (20 mg/kg, ev, 10 min, painel C). Os resultados estão expressos como médias $\pm$ EPM (n=5). ***p<0,001 em relação aos grupos-controle.

3.1.6 Envolvimento de taquicininas

No grupo-controle, a injeção endovenosa de substância P (1 μ g/kg) causou hipotensão rápida (29 ± 2 mmHg; 6), enquanto no grupo pré-tratado com o antagonista dos receptores NK₁, SR 140333, (0,5 mg/kg, ev) esta hipotensão não foi observada ($p < 0,001$). Entretanto, nos animais pré-tratados com o SR 140333 não observamos alterações significativas da hipotensão e hipertensão induzidas pelo veneno de *Phoneutria nigriventer* (fig. 8a; n=6). Também não observamos alterações significantes sobre a PAM basal dos animais pré-tratados com o SR 140333 (tab. 4).

3.1.7 Envolvimento do óxido nítrico (NO)

A inibição da síntese de NO pelo N^ω-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME, 10 mg/kg, ev; 10 min) causou um aumento sustentado na PAM ($25 \pm 4,5$ %; n=5), mostrando a eficácia do tratamento empregado (tab. 4); porém a resposta bifásica induzida pelo o veneno não foi alterada nos animais pré-tratados com o L-NAME (fig. 8b).

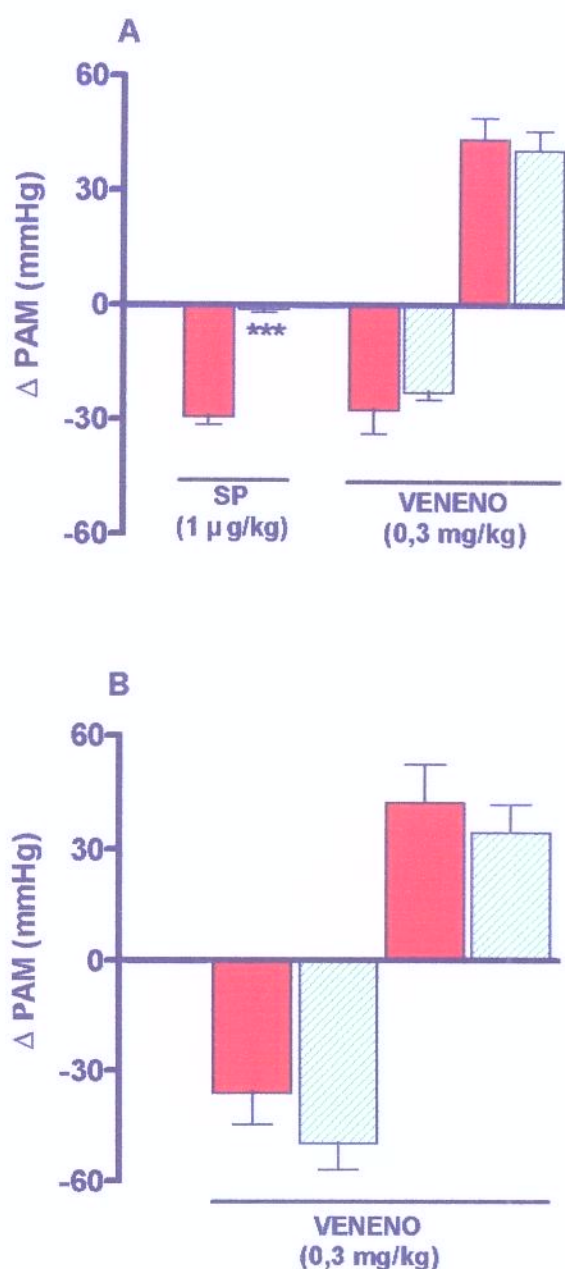


Fig. 8 Ausência de efeito do SR 140333 e N^o-nitro-L-arginina metil éster sobre as alterações da PAM induzidas pelo veneno de *Phoneutria nigriventer* (0,3 mg/kg). A: as barras vermelhas representam grupos-controle que receberam salina (100 µl, ev; 10 min); as barras verdes representam o grupo de animais tratados com SR 140333 (0,5 mg/kg, ev). B: ilustra o efeito endovenoso do veneno (0,3 mg/kg) nos animais controle que receberam salina (100 µl, ev; 10 min) representados pelas barras vermelhas e os animais tratados (L-NAME, 10 mg/kg, ev; 10 min) representados pelas barras verdes. Os resultados estão expressos como médias $\pm$ EPM (n=5-6). ***p<0.001 em relação aos grupos-controle.

3.1.8 Envolvimento da angiotensina II (All)

No grupo-controle, a injeção endovenosa de All (10 ng/kg) induziu aumento rápido na PAM (50 ± 3 mmHg; $n=5$). Nos animais que receberam o antagonista de receptores AT_1 de All, losartan (10 mg/kg;ev; 10 min), esta resposta hipertensora foi significativamente reduzida ($p<0,01$), enquanto aquela induzida pelo veneno não foi significativamente alterada (fig. 9a; $n=5$). Nesta dose, o losartan reduziu significativamente a hipotensão induzida pelo veneno. Entretanto, a PAM basal do grupo pré-tratado não foi diferente daquela do grupo-controle (tab. 4).

3.1.9 Envolvimento de endotelina

A injeção endovenosa em bolus de ET-1 (3 μ g/kg) promoveu breve hipotensão (37 ± 6 mmHg; $n=7$) seguida por prolongada hipertensão (25 ± 2 mmHg). O tratamento prévio de animais com o antagonista de receptores ET_A de endotelina, FR 139317 (30 mg/kg; ev, 10 min), não afetou a hipotensão induzida pela ET-1, mas reduziu significativamente a hipertensão causada por este peptídeo (fig. 9b). Nesta dose, o FR 139317 não apresentou efeito significativo sobre a resposta bifásica induzida pelo veneno (fig. 9b; $n=7$). Este tratamento também não foi capaz de alterar de forma significativa a PAM basal dos animais pré-tratados, em relação aos animais-controle (tab. 4).

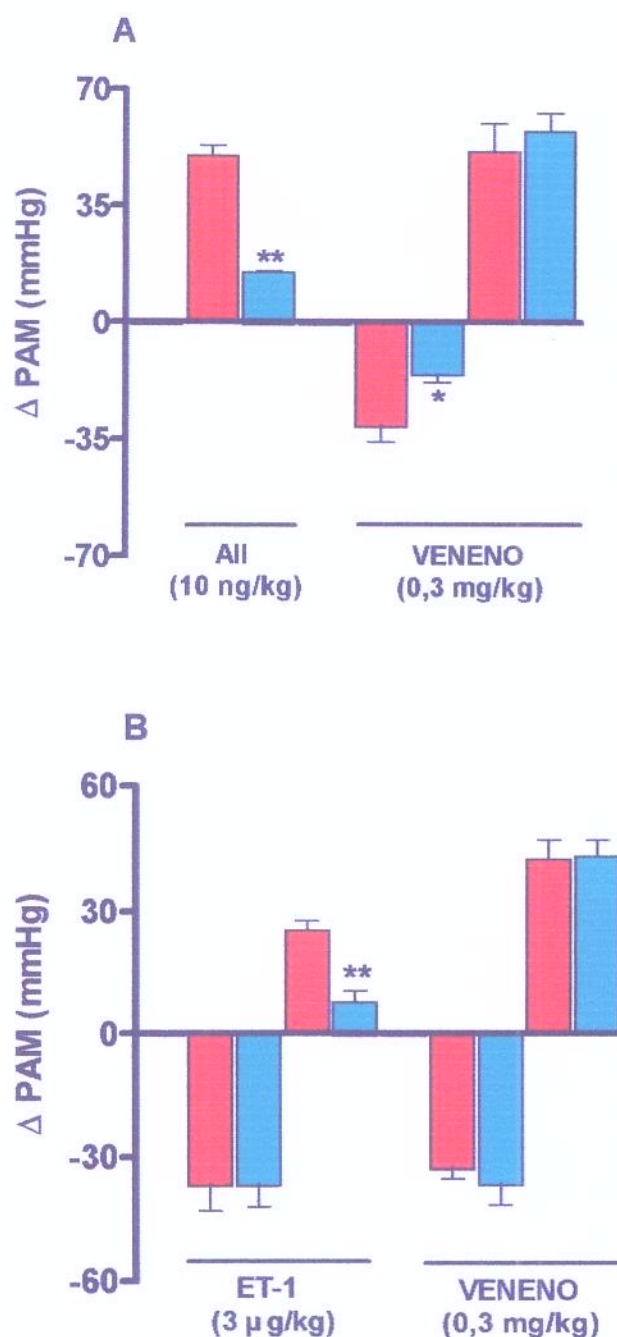


Fig. 9 Efeito do losartan e FR 139317 sobre as alterações da PAM induzidas pelo veneno de *Phoneutria nigriventer* (0,3 mg/kg). As barras vermelhas representam o grupo de animais-controle que foram tratados com salina em ambos os gráficos (100 µl, ev; 10 min); as barras azuis representam o grupo de animais pré-tratados com o losartan (10 mg/kg, ev, 10 min; painel A) ou FR 139317 (30 mg/kg, ev, 10 min; painel B). Os resultados estão expressos como médias $\pm$ EPM (n=7). *p<0.05 e **p<0.01, quando comparados aos grupos-controle.

3.1.10 Envolvimento de canais de potássio

A figura 10 ilustra as alterações na PAM induzidas pelo veneno (0,3 mg/kg) em animais-controle (n=6) e animais que receberam tratamento intraperitoneal com glibenclamida (50 mg/kg; 30 min; n=11). O efeito hipotensor induzido pelo veneno foi significativamente reduzido nos animais pré-tratados com glibenclamida (n=11, $p<0.05$), ao passo que a resposta hipertensora não apresentou alteração significativa (fig. 10). Esta mesma dose de glibenclamida não alterou a PAM basal significativamente (tab. 4; n=6-11), mas reduziu de modo significativo a hipotensão observada com o agonista de canais de potássio, cromacalina (10 μ g/kg; n=6). Como era de se esperar, este tratamento não apresentou qualquer efeito sobre a hipotensão induzida pelo nitroprussiato de sódio (1 μ g/kg; fig.10; n=6).

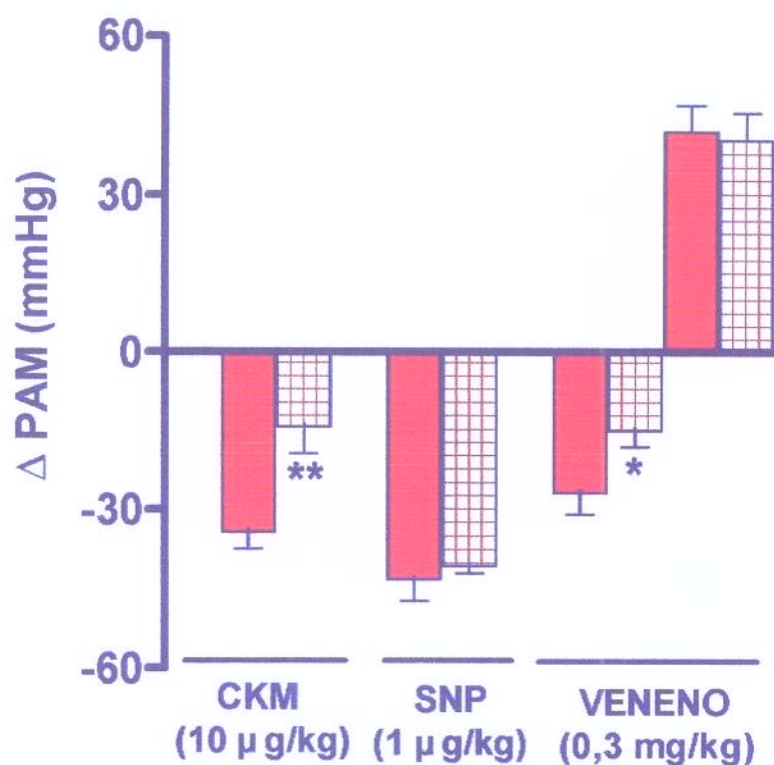


Fig. 10 Efeito da glibenclamida sobre a hipotensão induzida pelo veneno de *Phoneutria nigriventer* (0,3 mg/kg). As barras vermelhas representam o grupo de animais-controle que recebeu salina (100 μ l, ip; 30 min); as barras quadriculares representam o grupo de animais pré-tratados com glibenclamida (50 mg/kg, ip, 30 min). A cromacalina (CKM), veneno e nitroprussiato de sódio (SNP) foram administrados em bolus após o tratamento dos animais. Os resultados estão expressos como médias $\pm$ EPM (n=6-11). *p<0,05 e **p<0,01, em relação aos valores dos grupos-controle.

3.1.11 Envolvimento de canais de cálcio do tipo-L

A injeção endovenosa em bolus do ativador de canais de cálcio, BAY K 8644 (1 $\mu\text{g/kg}$), produziu potente aumento na PAM, o qual foi significativamente reduzido nos animais que receberam infusão contínua de verapamil (10, 30 e 100 $\mu\text{g/kg/min}$; $n=5$; fig. 11a) ou diltiazem (40, 80, 120 $\mu\text{g/kg/min}$; $n=5$; fig 11b). O pré-tratamento oral dos animais com nifedipina (0,3, 1,0 e 10 mg/kg , 30 min; $n=5$) também reduziu significativamente o aumento da PAM induzido pelo BAY K 8644 (fig. 11c).

De acordo com a figura 11 o verapamil ($n=5$), o diltiazem ($n=5$) e a nifedipina ($n=5$) foram capazes de reduzir de modo dependente da dose, a hipertensão induzida pelo veneno de *Phoneutria nigriventer*. Da mesma forma, estes tratamentos foram capazes de reduzir parcialmente ($p<0.05$) a resposta hipotensora induzida pelo veneno, somente nos animais que receberam as doses mais elevadas de verapamil (100 $\mu\text{g/kg/min}$; $n=5$), diltiazem (120 $\mu\text{g/kg/min}$; $n=5$) e nifedipina (1,0 e 10 mg/kg ; $n=5$). A figura 12 ilustra um traçado experimental dos efeitos do verapamil sobre as alterações de PAM induzidas pelo veneno de *Phoneutria nigriventer*.

A resposta hipertensora máxima observada nos primeiros 10 minutos após a administração endovenosa do veneno foi prontamente revertida quando o verapamil (30 $\mu\text{g/kg/min}$) ou diltiazem (120 $\mu\text{g/kg/min}$) foram infundidos oito minutos após instalada a hipertensão induzida pelo veneno (fig. 13a,b,c; $n=5$).

A infusão endovenosa de verapamil (30 $\mu\text{g/kg/min}$) e diltiazem (120 $\mu\text{g/kg/min}$) bem como a administração oral de nifedipina (10 mg/kg) também não afetaram a resposta hipertensora induzida pela administração endovenosa de noradrenalina (1 $\mu\text{g/kg}$; $n=3$) (fig. 14).

O aumento da frequência cardíaca induzido pela administração endovenosa de veneno (0,3 mg/kg) assim como os distúrbios autonômicos (sialorréia, defecação e fasciculação muscular) não foram observados nos animais pré-tratados com verapamil, diltiazem ou nifedipina. Nesses animais, não observamos óbito, mesmo com uma segunda administração do veneno.

A PAM dos animais tratados com estes antagonistas foram alteradas de modo significativo nos grupos de animais que receberam infusão contínua de doses elevadas de verapamil (100 µg/kg/min; n=5) e nifedipina (10 mg/kg; 5) (tab. 4).

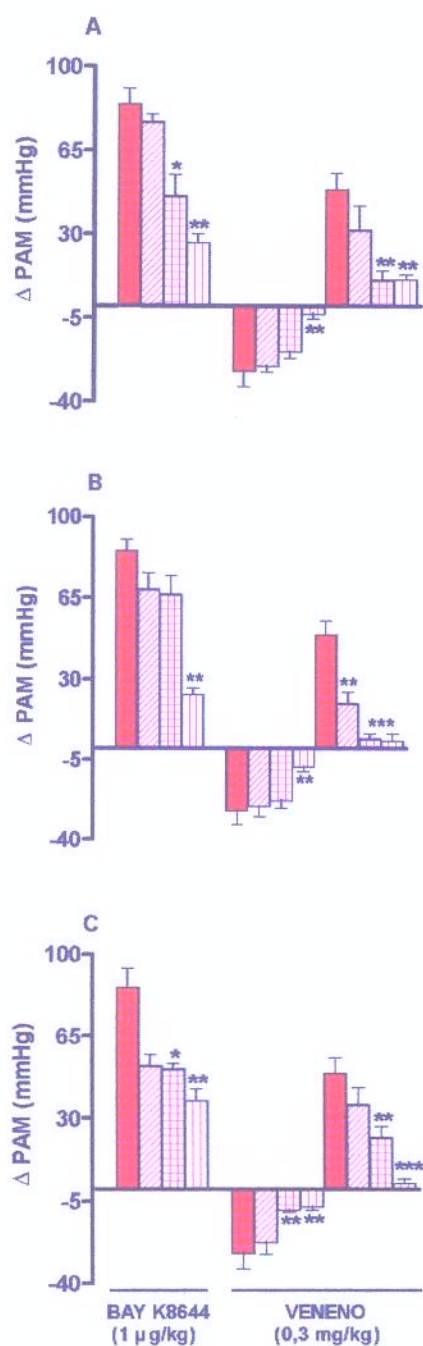


Fig. 11 Efeito do verapamil, diltiazem e nifedipina sobre as alterações de PAM induzidas pelo veneno de *Phoneutria nigriventer* (0,3 mg/kg). Os animais-controle estão representados pelas barras vermelhas; os animais pré-tratados estão representados pelas barras róseas nos três gráficos. O verapamil (painel A) foi infundido nas doses de 10 (barras diagonais), 30 (barras quadriculares) e 100 (barras verticais) µg/kg/min. O diltiazem (painel B) foi infundido nas doses de 40 (diagonais), 80 (quadriculares) e 120 (verticais) µg/kg/min. A nifedipina (painel C) foi previamente (30 min) administrada por via oral nas doses de 0,3 (diagonais), 1,0 (quadriculares) e 10 (verticais) mg/kg. BAY K 8644 e o veneno injetados em bolus ev após 15 min de infusão. Os resultados estão expressos como médias ± EPM. *p<0,05 e **p<0,01, ***p<0,001 (n=5) em relação aos seus respectivos controles.

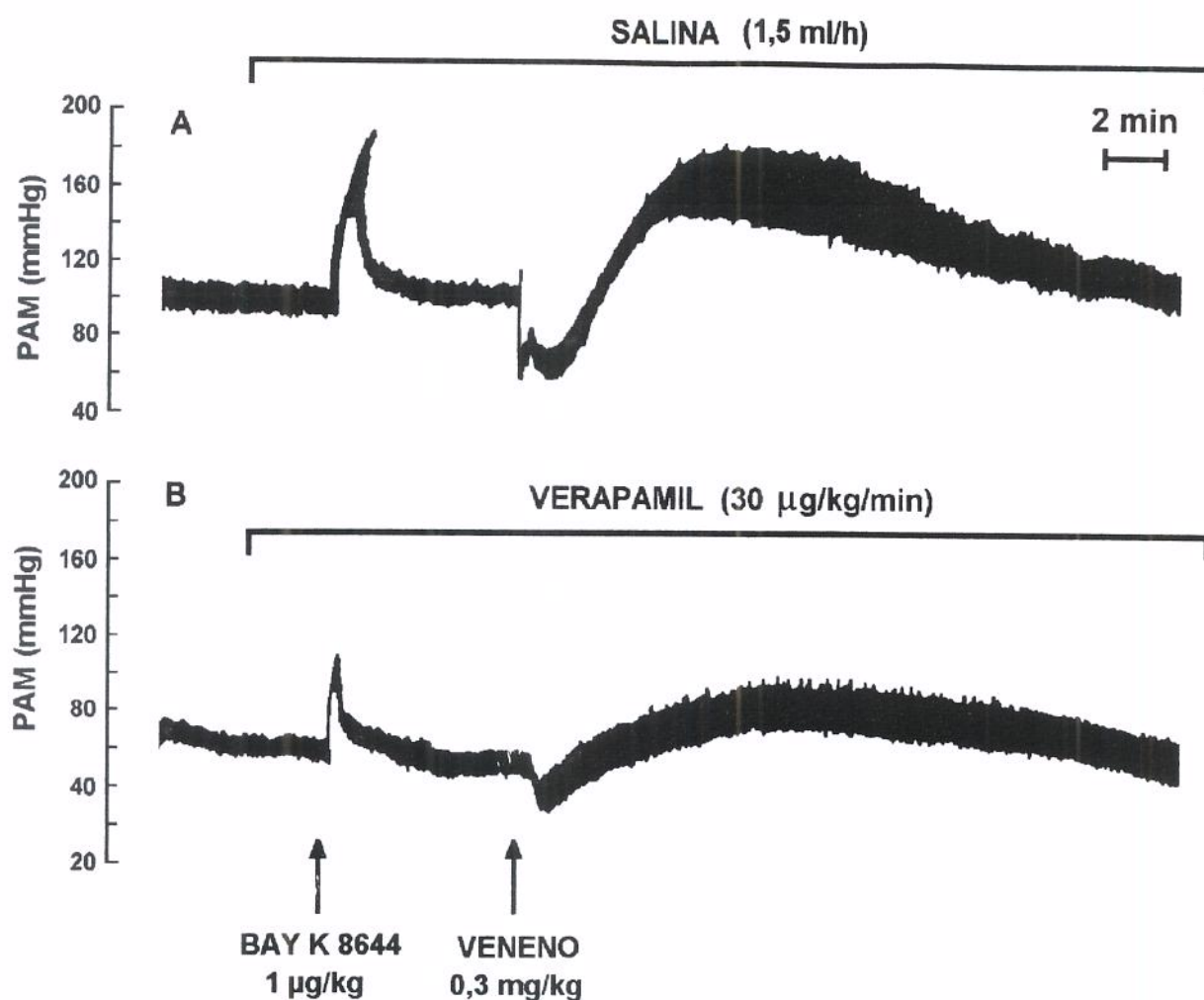


Fig. 12 Traçado representativo do efeito supressor do verapamil sobre as alterações de PAM induzidas pelo veneno de *Phoneutria nigriventer*. A: ilustra o efeito do veneno e do agonista de canais de cálcio BAY K 8644 sobre a PAM de animal-controle (salina, 1.5 ml/h). B: ilustra a inibição de efeitos do veneno e BAY K 8644 no animal que recebeu infusão contínua de verapamil.

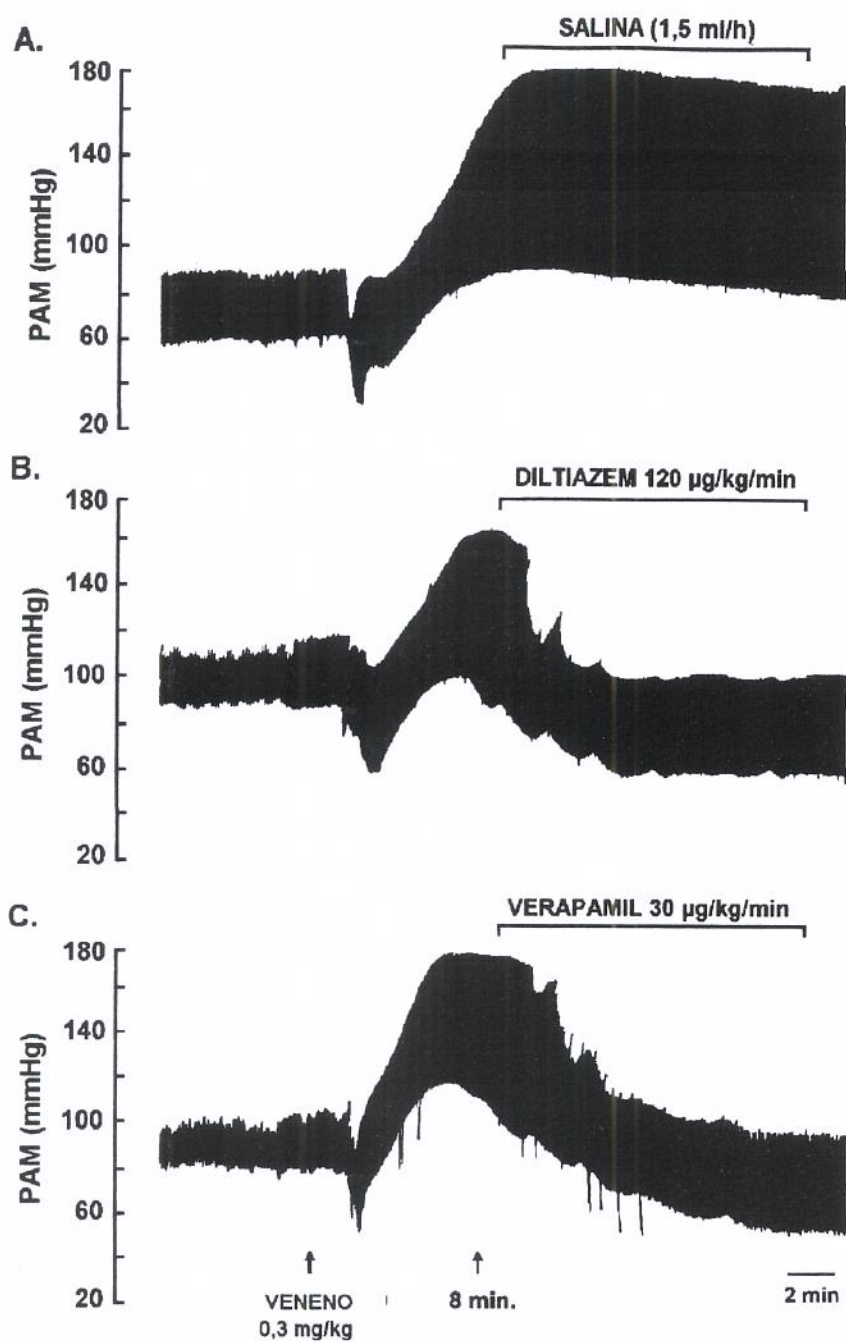


Fig. 13 Traçado experimental mostrando a reversão causada pelo diltiazem e verapamil sobre a hipertensão induzida pelo veneno de *Phoneutria nigriventer*. A: animal-controle infundido com salina (1,5 ml/h); B: animal infundido com diltiazem (120 µg/kg/min) 8 minutos após a instalação da hipertensão. C: animal infundido com verapamil (30 µg/kg/min) 8 minutos após a instalação da hipertensão.

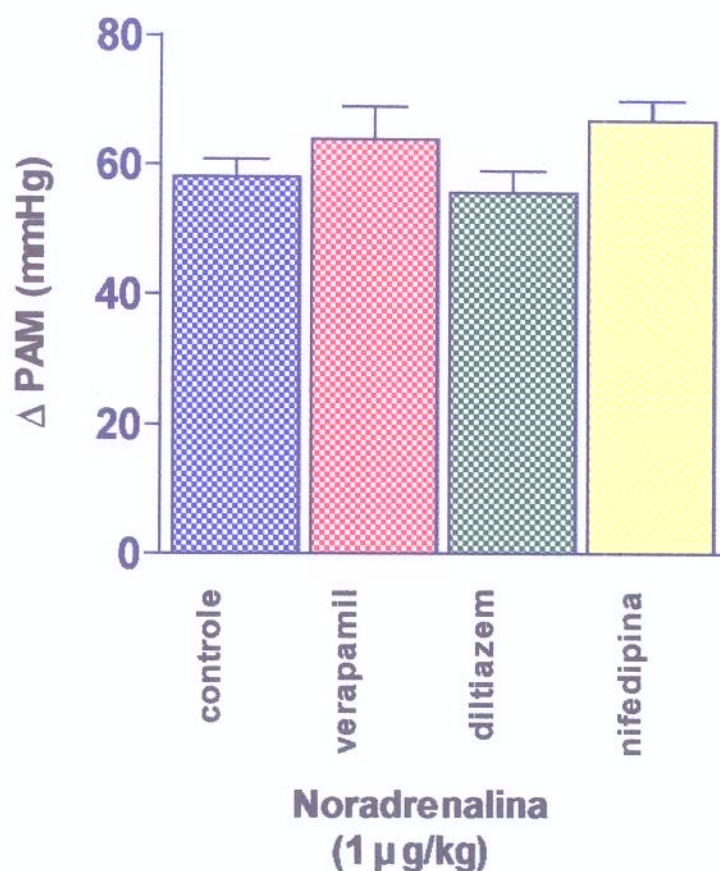


Fig. 14 Ausência de efeitos do verapamil, diltiazem e nifedipina sobre o aumento de PAM induzido pela noradrenalina em ratos anestesiados. A noradrenalina (1 $\mu\text{g/kg;ev}$) foi injetada quinze minutos após iniciado a infusão contínua de salina (1,5 ml/h), verapamil (30 $\mu\text{g/kg/min}$) ou diltiazem (120 $\mu\text{g/kg/min}$) e 30 minutos após administração oral de nifedipina (10 mg/kg). A barra azul representa os animais-controle, vermelha representa os animais pré-tratados com verapamil, verde representa animais pré-tratados com diltiazem e amarela representa os animais pré-tratados via oral com nifedipina. Os resultados estão expressos como médias $\pm$ EPM. (n=3).

3.12 Contagem de hematócrito

Em intervalos de 20 e 120 minutos após a administração do veneno de *Phoneutria nigriventer* (0,3 mg/kg; n=5), não foram observadas alterações significativas nos valores do hematócrito em relação aos animais-controle que receberam 100 salina (fig. 15; n=5).

3.13 Edema pulmonar

A razão entre peso seco/peso úmido dos pulmões (n=5) após a injeção do veneno de *Phoneutria nigriventer* em intervalos de 20 e 120 minutos é mostrada na figura 16. A proporção de peso úmido/seco dos pulmões de animais que receberam 0,3 mg/kg de veneno não foi significativamente diferente dos animais-controle que receberam 100 µl de salina endovenosamente.

3.14 Efeitos do envenenamento por *Phoneutria nigriventer*

A frequência dos sinais de envenenamento por *Phoneutria nigriventer* em ratos anestesiados são mostrados na tabela 5 (n=6-20). Na dose de 0,1 mg/kg, observou-se apenas dispnéia nos primeiros 5 minutos após a injeção do veneno (n=7). A dose de 0,3 mg/kg produziu efeitos, tais como dispnéia, cianose, defecação, diurese, fasciculação muscular generalizada, sialorréia e morte em 1 animal (16 %, n=6). Altas doses do veneno (0,6 mg/kg) promoveu potencialização dos efeitos citados com a dose anterior. Entretanto, observou-se maior índice de óbitos em menor espaço de tempo (75 %; n=20).

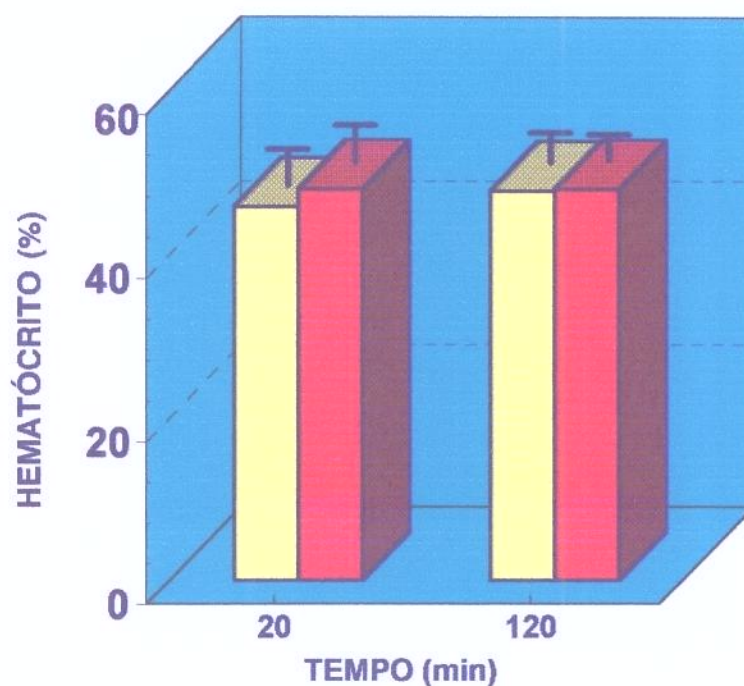


Fig. 15 Efeito do veneno de *Phoneutria nigriventer* sobre os valores de hematócrito. A determinação dos valores de hematócrito foi realizada nos intervalos de 20 e 120 minutos após a injeção do veneno (0,3 mg/kg). As barras amarelas representam os grupos-controle (salina, 100 µl); as barras vermelhas representam os grupos que receberam o veneno. Os resultados estão expressos como médias $\pm$ EPM. (n=5).

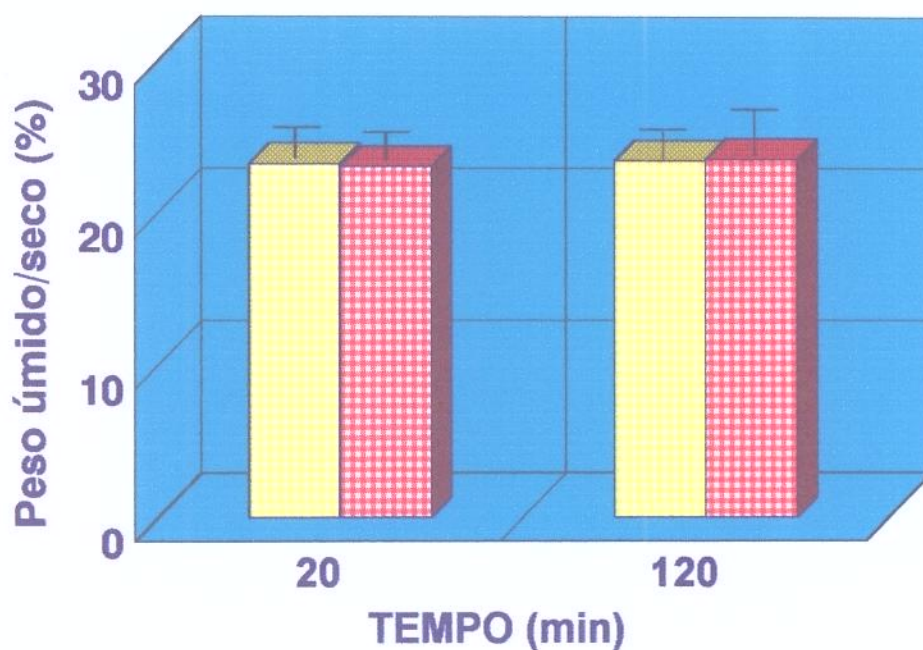


Fig. 16 Ausência de edema pulmonar após administração endovenosa do veneno de *Phoneutria nigriventer*. As barras amarelas representam o grupo-controle que recebeu 100 μ l de salina; barras vermelhas representam o grupo que recebeu 0.3 mg/kg do veneno. Os resultados estão expressos como médias $\pm$ EPM. (n=5).

Tab. 4 Valores basais da PAM de animais-controle e pré-tratados com as drogas utilizadas *in vivo*. Os resultados estão expressos como médias $\pm$ EPM. * $p < 0.05$ em relação ao respectivo controle. O parentese () representa o número de animais utilizados.

GRUPOS	VALORES BASAIS DE PAM (mmHg)		
	CONTROLE	TRATADO	(p)
Atropina (10 mg/kg, ip)	103 $\pm$ 7 (5)	83 $\pm$ 5 (5)	ns
Diltiazem (120 μ g/kg/min)	106 $\pm$ 3 (5)	89 $\pm$ 4 (5)	ns
Fenoxibenzamina (100 mg/kg, ip)	114 $\pm$ 2 (5)	78 $\pm$ 2* (5)	* $p < 0.05$
Glibenclamida (50 mg/kg, ip)	105 $\pm$ 6 (6)	102 $\pm$ 4 (11)	ns
FR 139317 (30 mg/kg, ev)	95 $\pm$ 7 (7)	93 $\pm$ 8 (7)	ns
Hoe 140 (0.6 mg/kg, ev)	114 $\pm$ 3 (5)	102 $\pm$ 8 (5)	ns
Indometacina (4 mg/kg, ip)	112 $\pm$ 7 (5)	102 $\pm$ 7 (5)	ns
L-Name	105 $\pm$ 1(5)	132 $\pm$ 5 (5)	* $p < 0.05$
Losartan (10 mg/kg, ev)	86 $\pm$ 2 (5)	85 $\pm$ 4 (5)	ns
Mistura (Propranolol, atropina, FBZ; ip)	100 $\pm$ 4 (5)	69 $\pm$ 4* (5)	* $p < 0.05$
Nifedipina (10 mg/kg, vo)	88 $\pm$ 7 (5)	65 $\pm$ 4* (5)	* $p < 0.05$
Propranolol (100 mg/kg, ip)	101 $\pm$ 5 (5)	95 $\pm$ 7 (5)	ns
SR 140333 (0.5 mg/kg, ev)	104 $\pm$ 4 (6)	102 $\pm$ 5 (6)	ns
Verapamil (100 μ g/kg/min)	102 $\pm$ 9 (5)	79 $\pm$ 10* (5)	* $p < 0.05$
WEB 2086 (20 mg/kg, ev)	113 $\pm$ 10 (5)	112 $\pm$ 7 (5)	ns

3.2 Efeitos do veneno de *Phoneutria nigriventer* no coração isolado de rato

A injeção intra-aórtica (ia) em bolus do veneno de *Phoneutria nigriventer* (50 e 100 µg) no coração isolado de ratos produziu alterações cardíacas imediatas (aumento da pressão desenvolvida no ventrículo esquerdo, aumento da frequência cardíaca e queda do fluxo coronariano), culminando em bloqueio atrio-ventricular (BAV) na dose de 100 µg.

Conforme ilustra a figura 17, a injeção ia de 50 µg do veneno produziu aumento transitório (0.25 a 5 min) da pressão desenvolvida no ventrículo esquerdo (PDVE; mmHg; inotropismo positivo). Observou-se também discreto aumento (cronotropismo positivo) da frequência cardíaca (FC; bat/min) 10 minutos após a injeção do veneno (fig. 17b). Nesta dose, não foram observadas alterações significativas do fluxo coronariano (fig. 17c).

Doses mais elevadas do veneno (100 µg) causaram marcante e progressiva queda da força de contração, que pode ser descrita em duas fases: a fase inicial da resposta (fase 1) foi caracterizada por um aumento imediato da PDVE, seguido de bradicardia e bloqueio átrio-ventricular severo (0.25 min); a segunda fase (fase 2; 1 a 5 minutos) foi representada por arritmias, seguido de retorno do ritmo e aumento da pressão diastólica (fig. 18). Nesta dose, observou-se ainda redução significativa do fluxo coronariano (fig. 19).

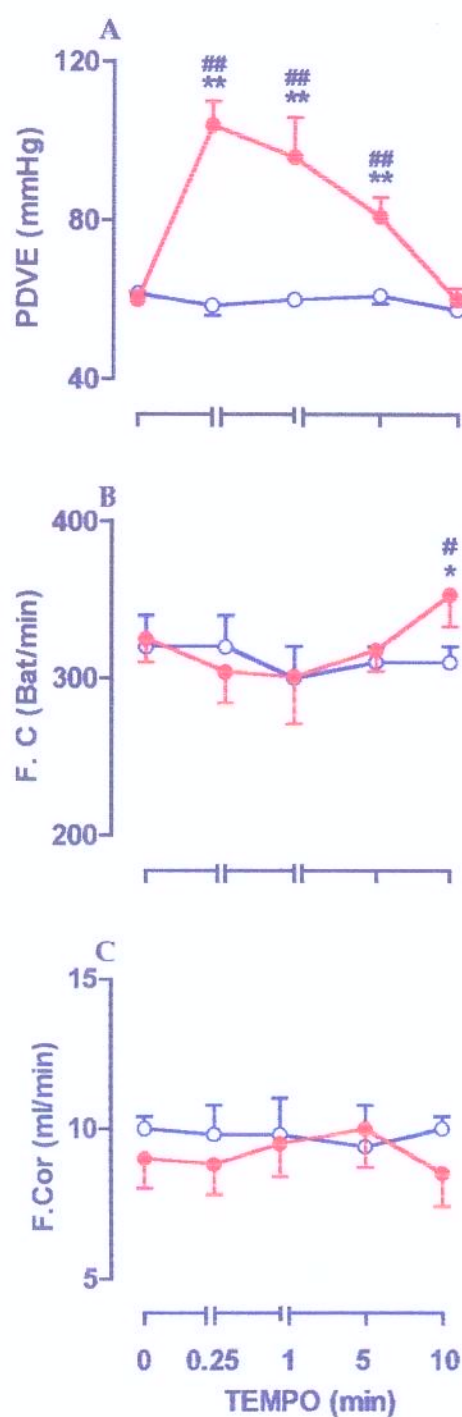


Fig. 17 Curso temporal dos efeitos do veneno de *Phoneutria nigriventer* no coração isolado de rato. Círculos azuis representam o grupo controle que recebeu salina (100 μ l); círculos vermelhos representam o grupo que recebeu o veneno (50 μ g). A: pressão desenvolvida no ventrículo esquerdo (PDVE, mmHg). B: frequência cardíaca (FC, bat/min). C: fluxo coronariano (F. Cor., ml/min). Os resultados estão apresentados como médias $\pm$ EPM. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ em relação ao valor basal (tempo zero) e # $p < 0,05$, ## $p < 0,01$ em relação ao grupo-controle. $n=5$ para ambos os grupos.

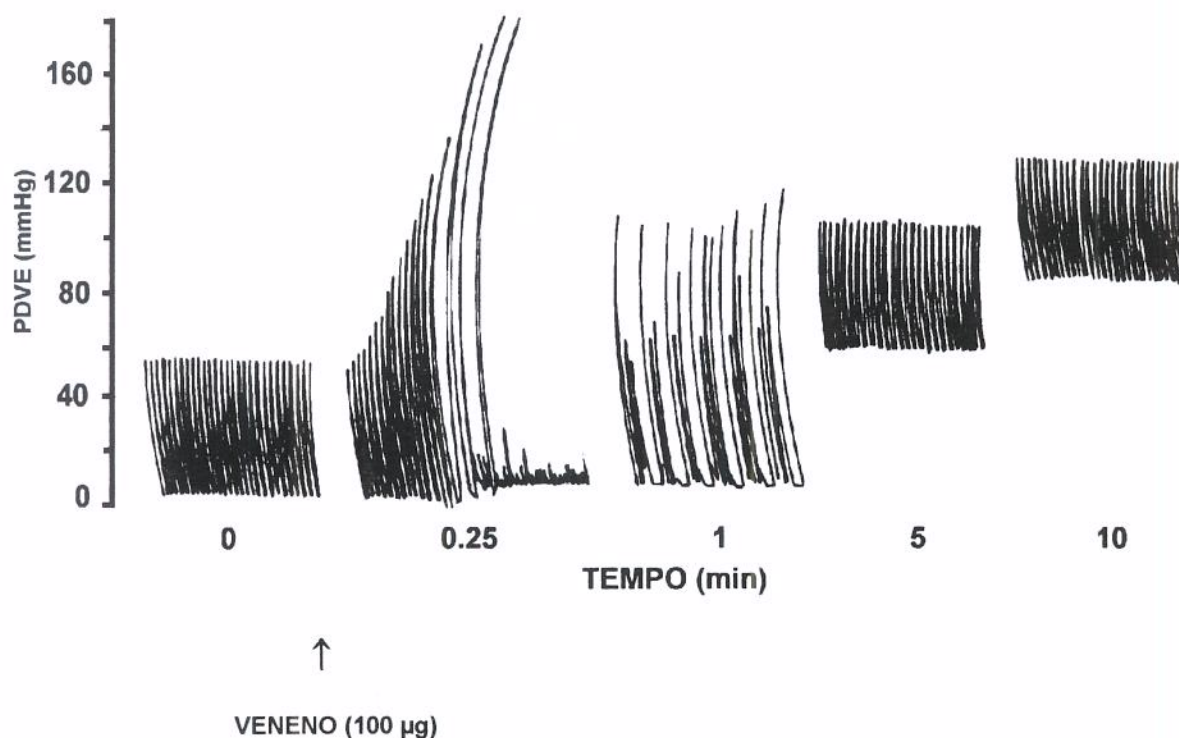


Fig. 18 Curso temporal dos efeitos do veneno de *Phoneutria nigriventer* sobre o coração isolado de rato. Traçado representativo da PDVE (mmHg) mostrando o inotropismo positivo seguido de bradicardia e bloqueio átrio-ventricular, arritmias com subsequente retorno do ritmo e aumento da pressão diastólica causado pelo veneno na dose de 100 µg no intervalo de 0 a 10 minutos.

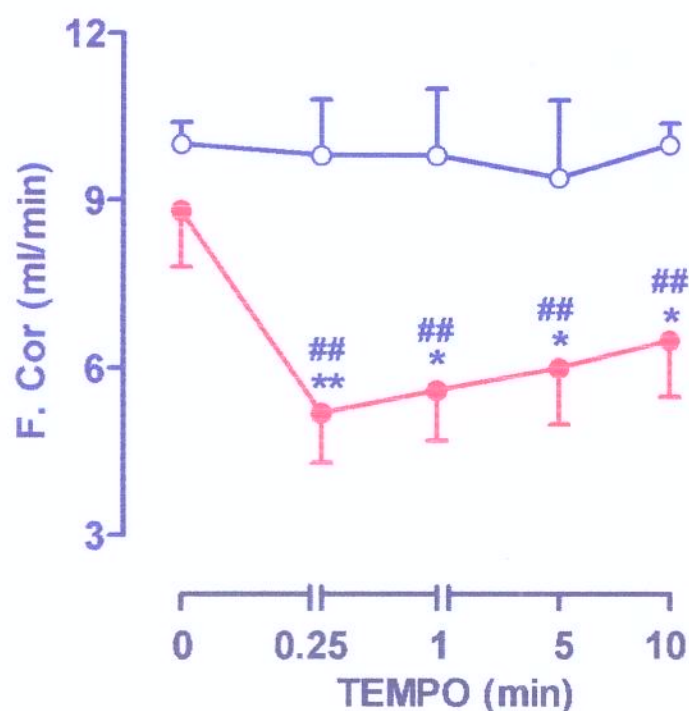


Fig. 19 Curso temporal do efeito do veneno de *Phoneutria nigriventer* sobre o fluxo coronariano em coração isolado de rato. Círculos azuis representam o grupo controle que recebeu salina (100 μ l); círculos vermelhos representam o grupo que recebeu 100 μ g do veneno. n=5 para ambos os grupos. Os resultados estão apresentados como médias $\pm$ EPM. *p<0.05, **p<0.01 em relação ao valor basal (tempo zero) e #p<0.05, ##p<0.01 em relação ao grupo-controle.

3.2.1 Envolvimento de receptores muscarínicos

A injeção de acetilcolina (20 μ g, ia) causou bloqueio átrio-ventricular semelhante ao observado com a dose de 100 μ g do veneno (0.25 min), seguido de retorno da força de contração e bradicardia. Entretanto, após retorno do ritmo cardíaco não observou-se aumento da pressão diastólica (fig. 20a). Observou-se ainda redução significativa do fluxo coronariano nos intervalos de 0.25 a 5 minutos após a injeção da acetilcolina (fig. 21). A adição da atropina (1 μ M) à solução de Krebs-Henseleit preveniu o bloqueio átrio-ventricular (fig. 20b) e reverteu a queda do fluxo coronariano induzidos pela acetilcolina (fig. 21).

Por outro lado, a infusão com atropina promoveu discreta potencialização no aumento da PDVE (fig. 22a) e nos valores de frequência cardíaca (fig. 22b) induzidos por 50 μ g do veneno de *Phoneutria nigriventer*. Nesta dose, atropina não preveniu o bloqueio átrio-ventricular mas protegeu discretamente os distúrbios no ritmo cardíaco (1 min) observado após administração de 100 μ g do veneno (fig. 24). A redução de fluxo coronariano também não foi alterada com esse tratamento (fig. 23).

Na dose utilizada, a atropina não exerceu efeito significativo sobre os valores basais da PDVE, FC, e F.Cor. em relação aos valores basais do grupo-controle (fig. 25)

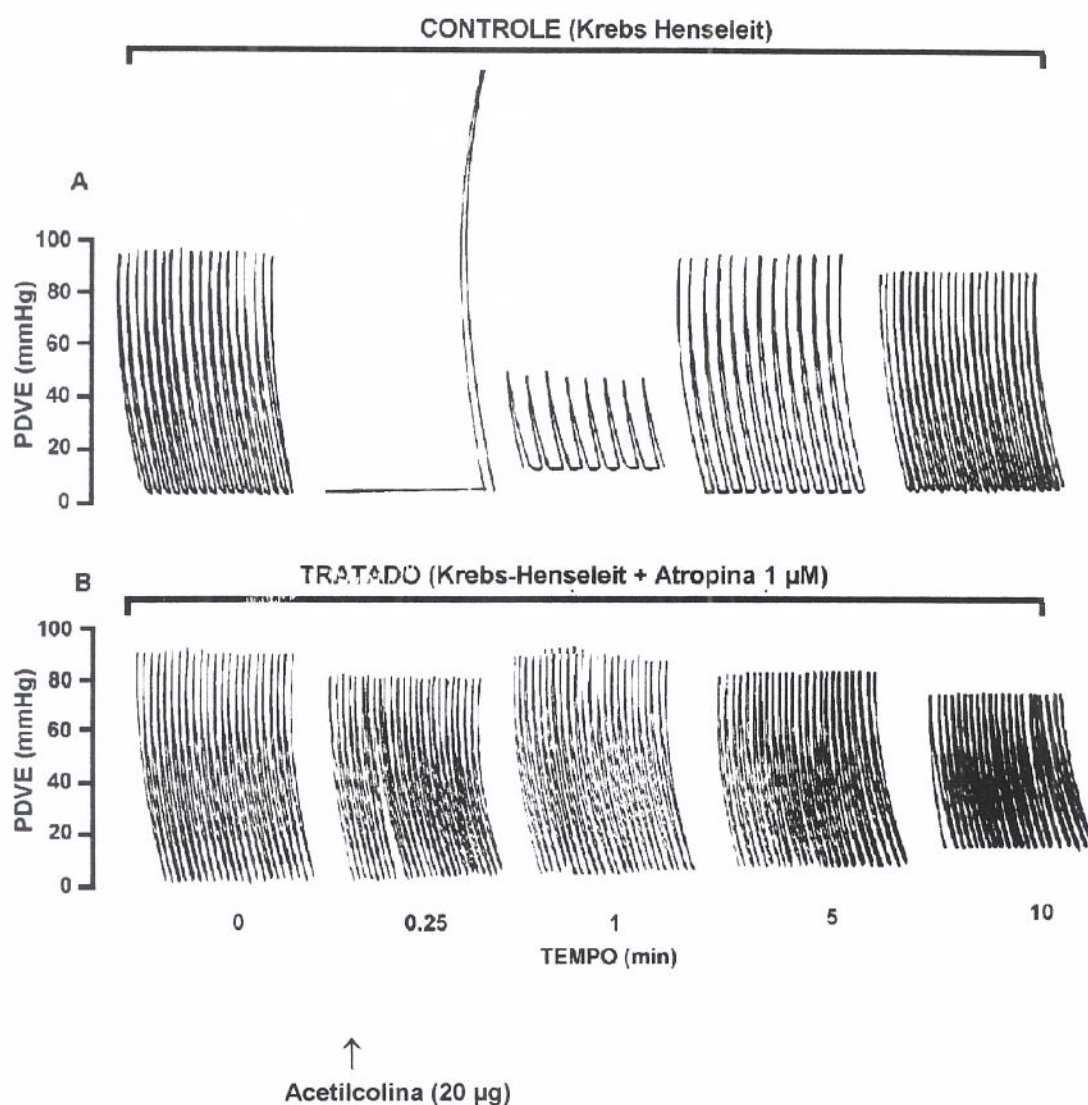


Fig. 20 Traçado representativo do efeito da acetilcolina no coração isolado de rato. (A): Efeitos da acetilcolina (20 μ g) na pressão desenvolvida no ventrículo esquerdo (PDVE, mmHg) do grupo controle (perfundido apenas com Krebs-Henseleit) em um período de 10 minutos. (B): ausência de efeitos da acetilcolina (20 μ g) no grupo tratado com atropina (1 μ M) no mesmo tempo.

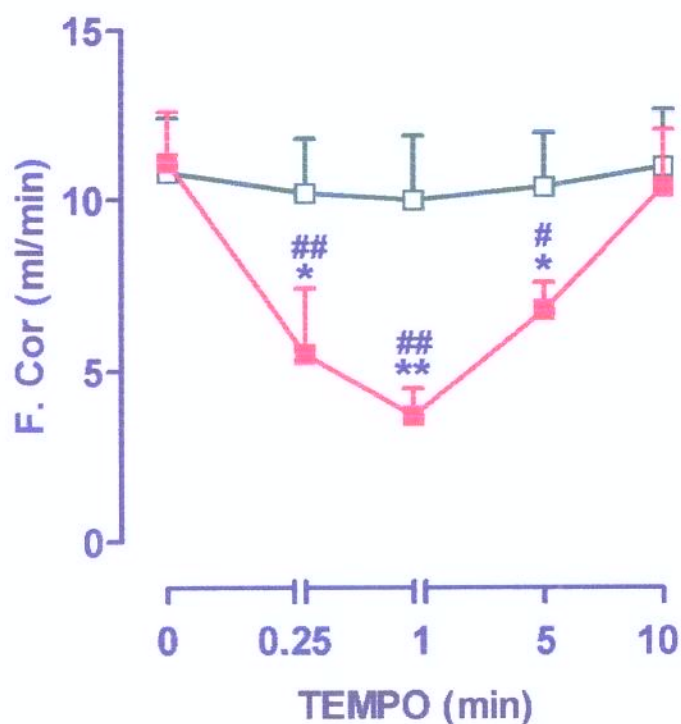


Fig. 21 **Curso temporal do efeito da acetilcolina sobre o fluxo coronariano no coração isolado de rato.** Efeito da acetilcolina (20 μ g, ia) sobre o fluxo coronariano (F.Cor.) expressos em volumes (ml) coletados em intervalos de tempo (minutos). O grupo-controle (perfundido apenas com Krebs-Henseleit) está representado pelos quadrados vermelhos; O grupo-tratado (atropina 1 μ M) está representado pelos quadrados verdes. Resultados apresentados como médias $\pm$ EPM de 5 corações para cada grupo. * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$ em relação ao valor basal e # $p < 0,05$ e ## $p < 0,01$ em relação ao grupo tratado.

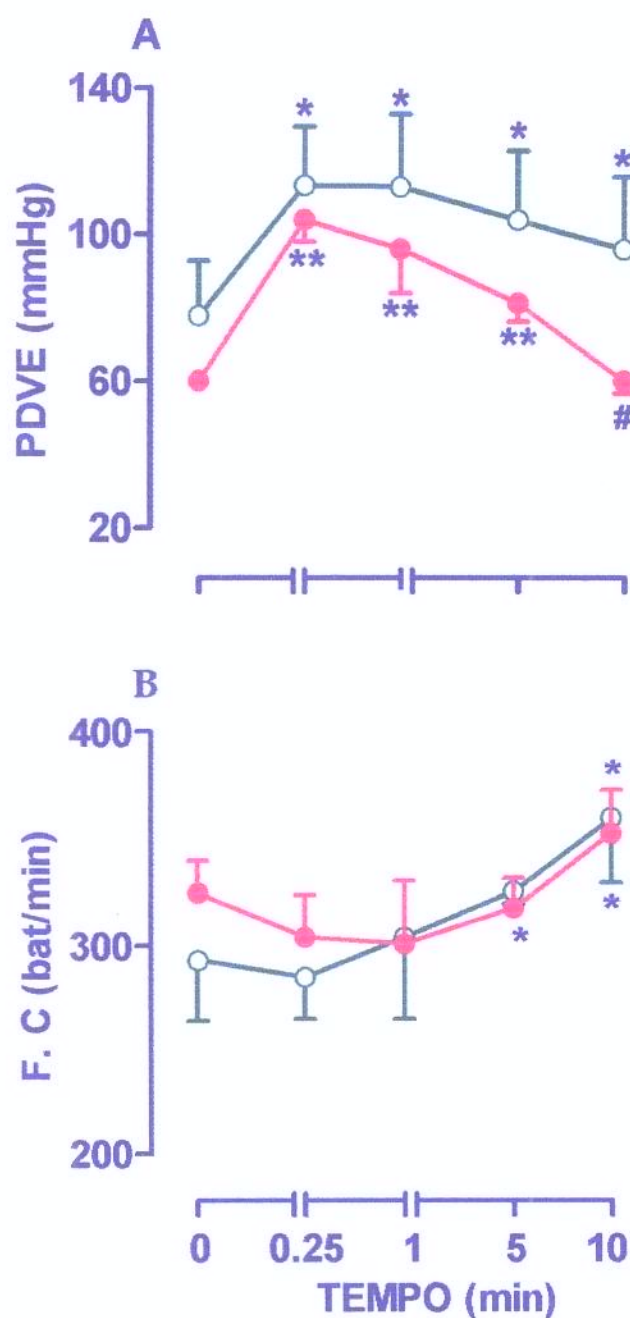


Fig. 22 Efeito da atropina sobre as alterações cardíacas induzidas pelo veneno de *Phoneutria nigriventer* (50 μ g) no coração isolado de rato. Círculos vermelhos representam o grupo controle (perfundido com Krebs-Henseleit); círculos verdes representam o grupo tratado com atropina (1 μ M). Efeitos do veneno sobre a pressão desenvolvida no ventrículo esquerdo (PDVE, painel A) e frequência cardíaca (FC, painel B). Resultados apresentados como médias $\pm$ EPM de 5 corações para cada grupo. * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$ em relação aos valores basais e # $p < 0,05$ em relação ao grupo tratado.

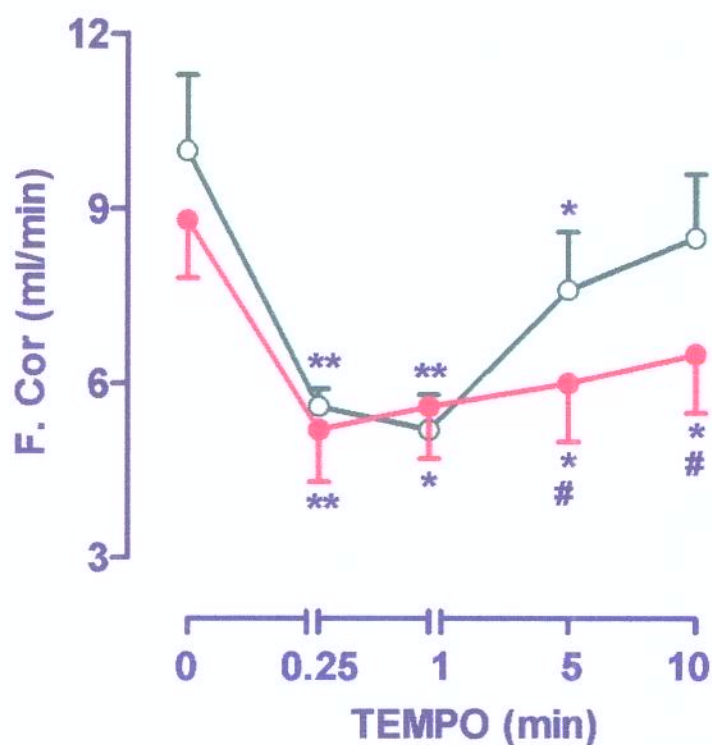


Fig. 23 Efeito da atropina sobre a queda de fluxo coronariano induzida pelo veneno de *Phoneutria nigriventer* (100 μ g) no coração isolado de rato. Círculos vermelhos representam o grupo controle (perfundido com Krebs-Henseleit); círculos verdes representam o grupo tratado com atropina (1 μ M). Resultados apresentados como médias $\pm$ EPM de 5 corações para cada grupo. * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$ em relação ao valor basal; # $p < 0,05$ ## $p < 0,01$ em relação ao grupo-tratado.

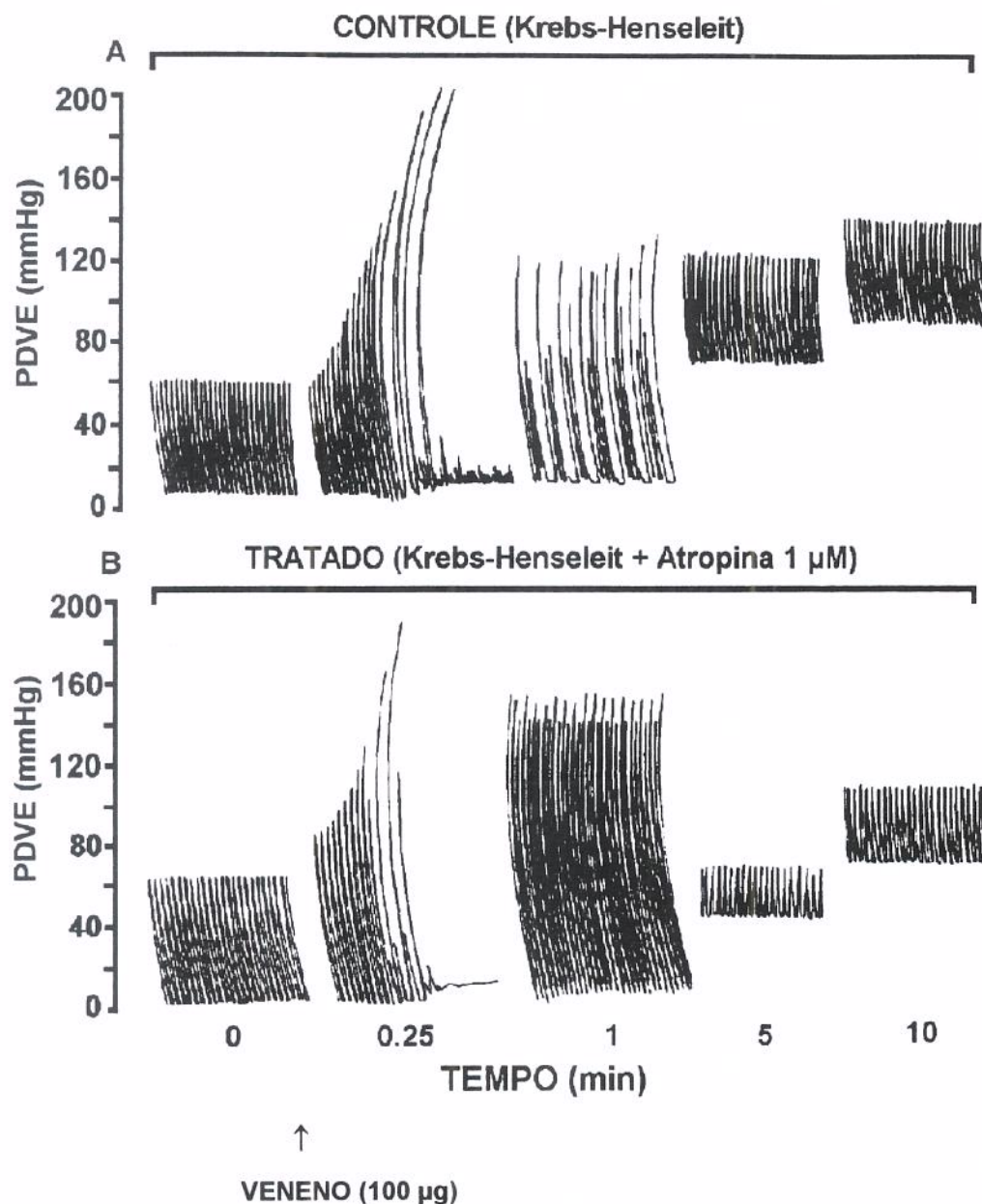


Fig. 24 Traçado representativo do efeito da atropina sobre as alterações induzidas pelo veneno em coração isolado de rato. (A): inotropismo positivo seguido de bradicardia e bloqueio átrio-ventricular, arritmias com posterior retorno do ritmo e aumento da pressão diastólica induzido pelo veneno (100 μ g) em corações controle (perfundidos com krebs). (B): ausência de efeito da atropina (1 μ M) sobre as alterações cardíacas porém, observa-se discreta proteção da atropina sobre os distúrbios de ritmo (1 min) induzidos pelo veneno.

3.2.2 Envolvimento de receptores β_1 adrenérgicos

A injeção de noradrenalina (0,1 μ g, ia) causou aumento significativo da PDVE (inotropismo positivo) (fig. 26a). Associado ao aumento da PDVE observou-se discreto aumento da frequência cardíaca (cronotropismo positivo) nos intervalos de 5 e 10 minutos após a injeção da noradrenalina (fig. 26b). O fluxo coronariano não foi significativamente alterado por essa mesma dose (fig. 26c).

A adição do propranolol (3 μ M) à solução Krebs-Henseleit reverteu o aumento da PDVE induzido pela noradrenalina (fig. 26a). Tal tratamento reduziu de modo significativo o aumento da frequência cardíaca (fig. 26b). Entretanto, os valores de fluxo coronariano não foram alterados significativamente por esse tratamento com propranolol (fig. 26c).

O aumento da PDVE e FC causado por 50 μ g do veneno foi significativamente reduzido nos corações infundidos continuamente com propranolol (fig. 27). As alterações cardíacas induzidas por 100 μ g do veneno foi totalmente abolida nos corações tratados com o propranolol (3 μ M) (fig. 28). Com esse tratamento, a queda do fluxo coronariano induzido por 100 μ g do veneno também foi prevenida (fig. 29).

À semelhança da atropina, o propranolol não apresentou efeito significativo sobre os valores basais da PDVE, FC e F.Cor. em relação ao basal do grupo controle (fig. 25)

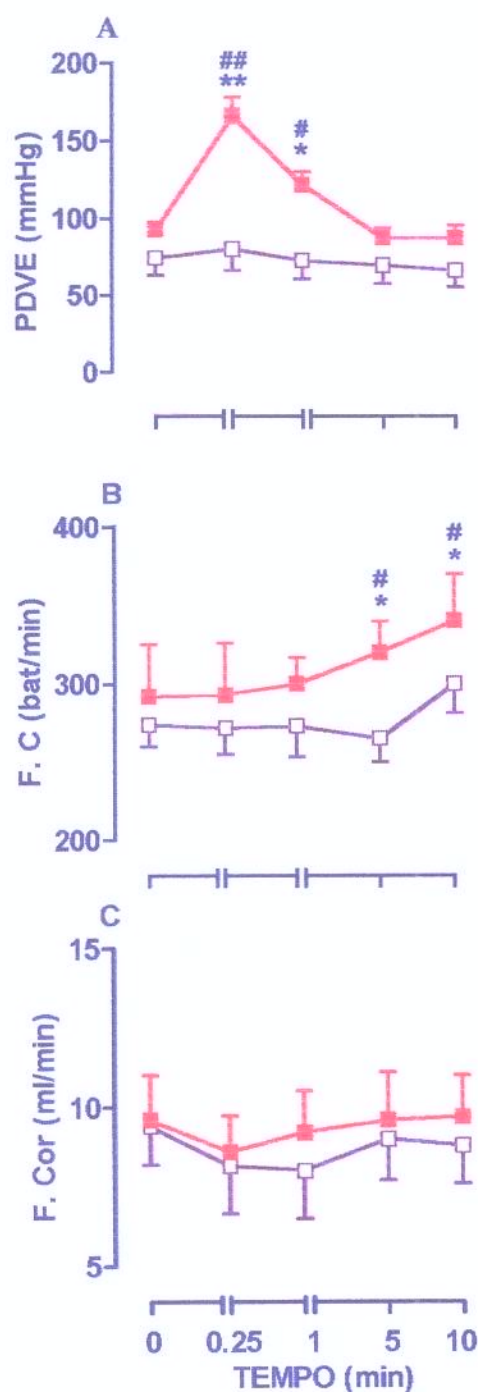


Fig. 26 Efeitos da noradrenalina no coração isolado de rato. Quadrados vermelhos representam o grupo-controle perfundido com Krebs-Henseleit; quadrados roxos representam o grupo-tratado com propranolol (3 μ M). (A): efeitos da NA sobre a pressão desenvolvida no ventrículo esquerdo (PDVE, mmHg). (B): efeitos da NA sobre a frequência cardíaca (FC, bat/min). (C): efeitos da NA sobre o fluxo coronariano. Resultados apresentados como média $\pm$ EPM de 5 corações para cada grupo. * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$ em relação ao basal; # $p < 0,05$ e ## $p < 0,01$ em relação ao grupo-tratado com propranolol.

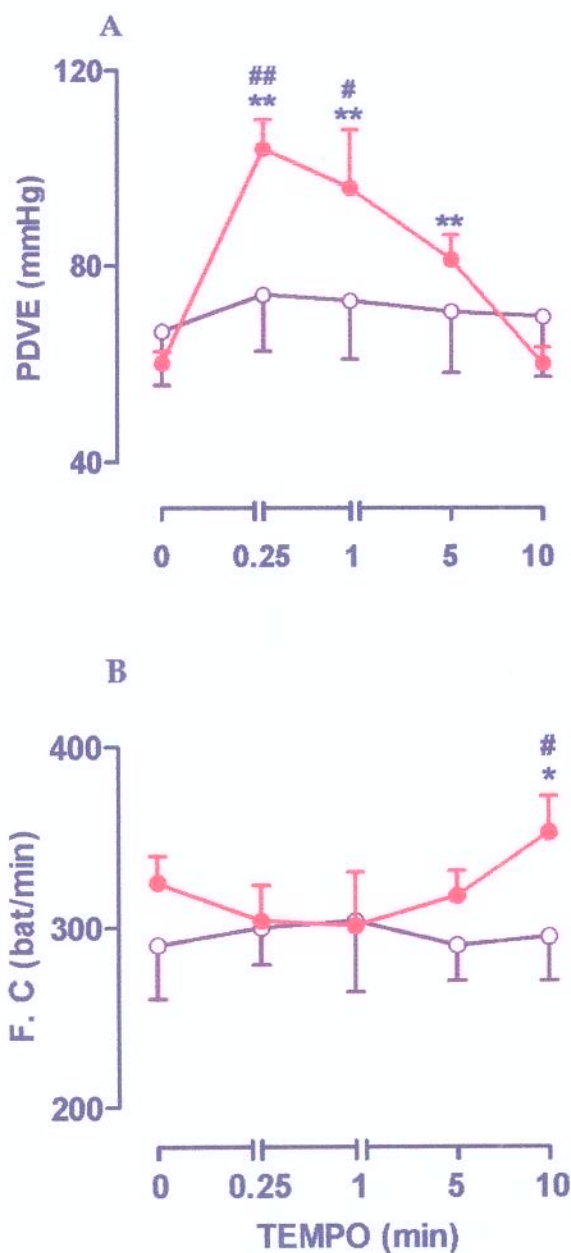


Fig. 27 Curso temporal do efeito do veneno x propranolol sobre o aumento da pressão desenvolvida no ventrículo esquerdo e frequência cardíaca em coração isolado de rato. O grupo-controle (veneno, 50 μ g) está representado pelos círculos vermelhos; o grupo-tratado (propranolol 3 μ M) representado pelos círculos roxos. A: efeitos sobre a PDVE (mmHg). B: efeitos sobre a FC (bat/min). Os resultados estão apresentados como médias $\pm$ EPM de 5 corações para cada grupo. * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$ em relação ao basal; # $p < 0,05$ em relação ao grupo-tratado com propranolol.

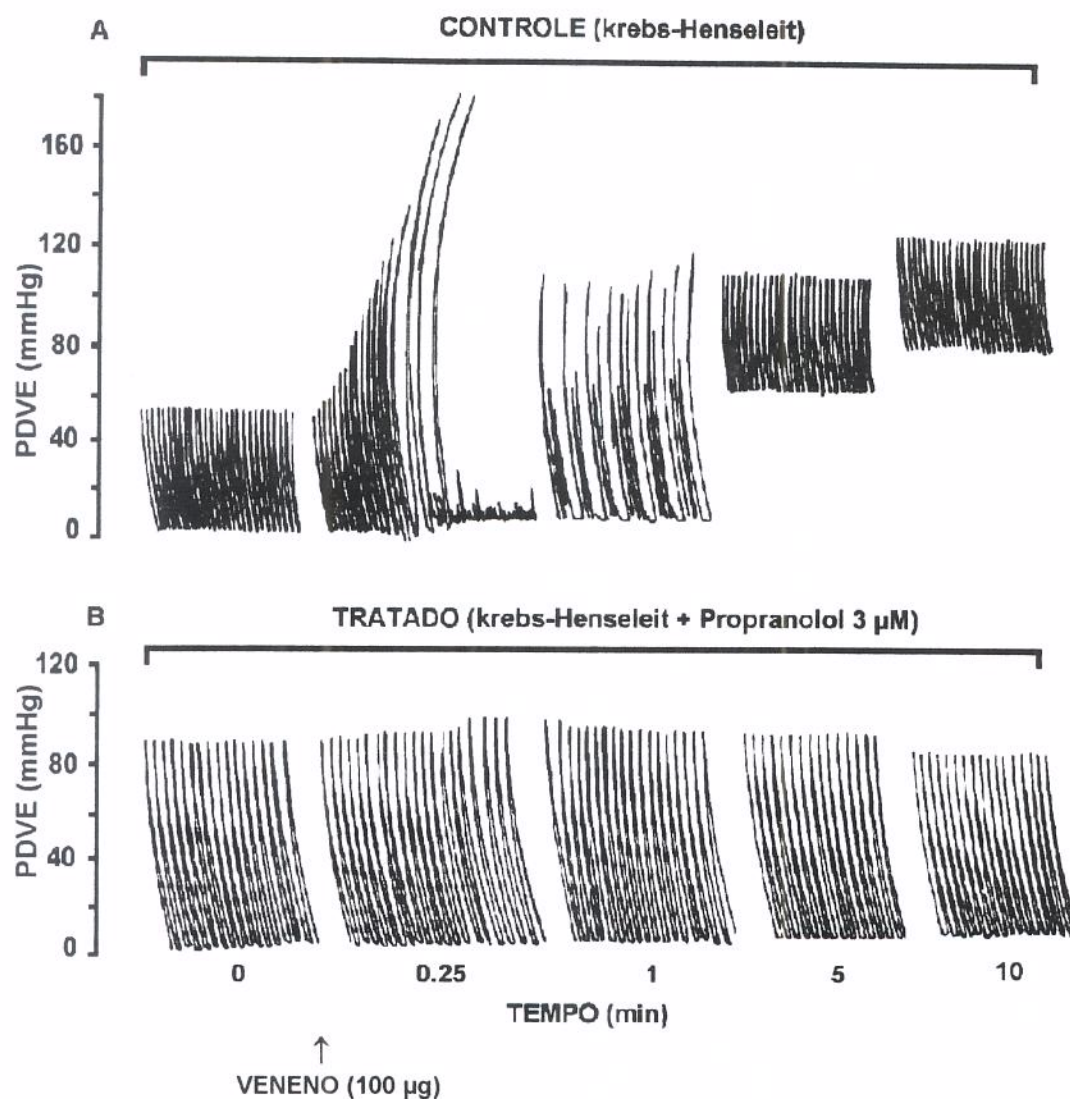


Fig. 28 Traçado representativo do efeito do propranolol sobre as alterações cardíacas induzidas pelo veneno de *Phoneutria nigriventer* em coração isolado de rato. (A): inotropismo positivo seguido de bradicardia e bloqueio átrio-ventricular, arritmias com posterior retorno do ritmo e aumento da pressão diastólica induzido pelo veneno (100 µg) em corações controle (perfundidos com Krebs). (B): ação protetora do propranolol (3 µM) sobre os efeitos cardíacos induzidos pelo veneno na PDVE.

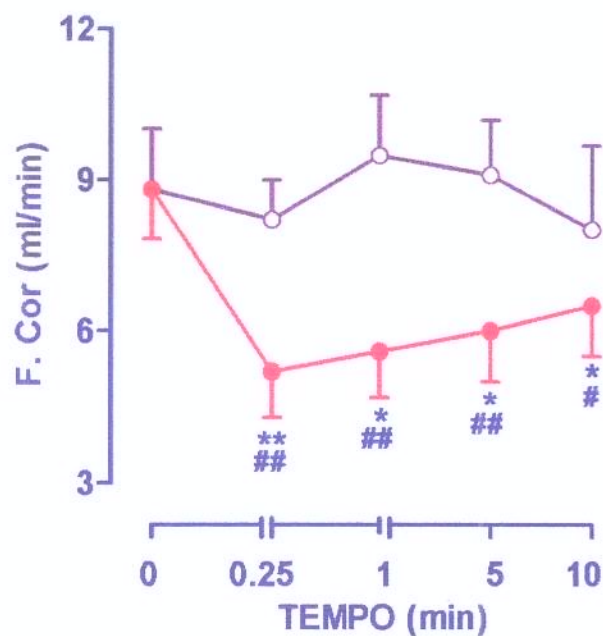


Fig. 29 Curso temporal do efeito do veneno (100 μ) x propranolol sobre a queda de fluxo coronariano em coração isolado de rato. O grupo-controle (veneno, 100 μ g) está representado pelos círculos vermelhos; o grupo-tratado (propranolol 3 μ M) representado pelos círculos roxos. Efeitos sobre o fluxo coronariano (F.Cor., ml/min). Os resultados estão apresentados como médias $\pm$ EPM de 5 corações para cada grupo. * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$ em relação ao basal; # $p < 0,05$ e ## $p < 0,01$ em relação ao grupo-tratado com propranolol.

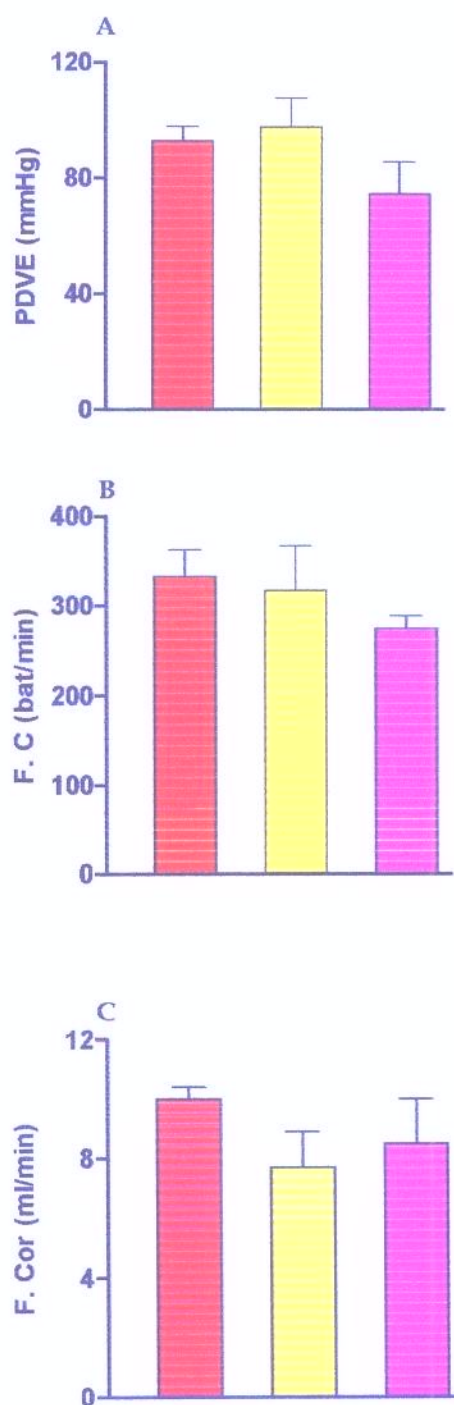


Fig. 25 Efeitos da atropina e propranolol sobre os valores basais de PDVE, FC e F. Cor. de corações isolados de ratos. Barras vermelhas representam o grupo-controle (Krebs-Henseleit); amarelas, (atropina 1 μ M) e róseas, propranolol (3 μ M). (A): valores de pressão desenvolvida no ventrículo esquerdo (PDVE, mmHg). (B): valores de frequência cardíaca (FC, bat/min); (C): valores do fluxo coronariano (F. Cor., ml/min). Os resultados estão expressos como médias $\pm$ EPM.

4 DISCUSSÃO

Nossos resultados mostram que a administração endovenosa de baixas doses (0,1 mg/kg) do veneno de *Phoneutria nigriventer* produziu uma queda rápida e reversível na PAM, enquanto doses mais elevadas (0,3 mg/kg) produziram alterações bifásicas, caracterizadas como hipotensão transitória seguida por hipertensão prolongada, aumento da frequência cardíaca acompanhadas de sialorréia, fasciculação muscular generalizada, diurese, defecação, cianose e dificuldade respiratória (dispnéia). Na dose de 0,6 mg/kg, o veneno de *Phoneutria nigriventer* desencadeou múltiplas alterações bifásicas, sendo estas dessincronizadas e mais intensas do que aquelas observadas com a dose de 0,3 mg/kg. Nesse caso, a maioria dos animais evoluíram para a morte. Curiosamente, estes distúrbios cardiovasculares e respiratórios acompanhados das demais alterações observados após a injeção do veneno de *Phoneutria nigriventer*, são característicos à síndrome de envenenamento humano descrito desde 1926 (VITAL BRAZIL & VELLARD, 1926; VELLARD, 1936; BUCHERL, 1953; BUCHERL, 1972; ALBUQUERQUE et al., 1990; BUCARETCHI, 1992). Interessante que estas alterações são também similares à síndrome de envenenamento humano causada pela espécie australiana, *Atrax robustus* (SUTHERLAND, 1972). Entretanto, os demais sinais relatados previamente por VITAL BRAZIL & VELLARD (1926) e demais autores, não foram observados. É possível que este resultado se deve ao fato da espécie em estudo (ratos) ser mais resistente ao veneno.

À semelhança do envenenamento causado pela espécie australiana *Atrax robustus* (SUTHERLAND, 1972), o edema pulmonar agudo tem sido observado como uma das principais complicações do envenenamento grave por *Phoneutria nigriventer* em seres humanos (LUCAS, 1988; ALBUQUERQUE et al., 1990; BUCARETCHI, 1992). Entretanto, apesar dos animais apresentarem salivação e alguns apresentarem cianose após 60 e 120 minutos da injeção do veneno, não observamos pontos hemorrágicos e nem formação de edema pulmonar. Por outro lado, é bem provável que a cianose seja decorrente de má perfusão periférica, visto que a resposta vasoconstritora evocada por 0,3 mg/kg do *Phoneutria*

nigriventer é de longa duração. Além disso, resultados prévios demonstram que o veneno contém peptídeos capazes de produzirem contrações da musculatura lisa vascular de coelhos (ANTUNES et al., 1993a).

Sabendo que a homeostase cardiovascular é mediada por um complexo sistema, sendo esta obtida pela integração entre mecanismos regulatórios centrais e periféricos, nos preocupamos neste trabalho em investigar os mecanismos básicos pelos quais o veneno de *Phoneutria nigriventer* determina as alterações cardiovasculares, principalmente no que se refere à hipertensão arterial.

Em estudos prévios realizados por VITAL BRAZIL et al. (1988) foi sugerido que os distúrbios cardíacos (arritmias e taquicardia) observados após o envenenamento por *Phoneutria nigriventer* poderiam ser decorrentes da liberação de acetilcolina e noradrenalina das terminações nervosas autonômicas. Em preparações com aurícula isolada de cobaia *in vitro*, estes autores demonstraram que o veneno de *Phoneutria nigriventer* promove cronotropismo e inotropismo positivo e negativo decorrentes da liberação simultânea de acetilcolina e noradrenalina desta preparação. Em vista disso, inicialmente procuramos investigar se a hipotensão transitória e hipertensão prolongada provocada pelo veneno *in vivo* poderiam ser decorrentes, respectivamente, da liberação de acetilcolina e noradrenalina das terminações nervosas autonômicas cardíacas ou vasculares. Nossos resultados revelaram como pouco provável o envolvimento da acetilcolina na queda da PAM, visto que o pré-tratamento com o antagonista de receptores muscarínicos (atropina) não preveniu a resposta hipotensora. A possibilidade do aumento prolongado da PAM ser decorrente da liberação de noradrenalina também foi descartada, pois verificamos que o tratamento prévio dos animais com os antagonistas α (fenoxibenzamina) e β (propranolol) adrenérgicos não alterou a resposta hipertensora induzida pelo veneno. Além disso, o tratamento simultâneo dos animais com atropina, propranolol e fenoxibenzamina não preveniu as alterações cardiovasculares induzidas pelo

veneno. Outrossim, é improvável que as concentrações empregadas de tais antagonistas tenham sido insuficientes, visto que as mesmas reduziram marcadamente as variações de PAM induzidas pela acetilcolina, isoproterenol e noradrenalina. Em conjunto, estes dados sugerem que o aumento prolongado precedido de queda rápida na PAM induzido pelo veneno de *Phoneutria nigriventer* em ratos anestesiados, não parece ser dependente da liberação de noradrenalina e acetilcolina de terminações nervosas autonômicas.

Por outro lado, em corações isolados de rato, observamos que a administração intra-aórtica do veneno induziu alterações cardíacas dependentes da dose, caracterizada por inotropismo positivo (aumento de PDVE) e discreto cronotropismo positivo (aumento da FC) na dose de 50 µg. Na dose de 100 µg, o veneno produziu rápido inotropismo positivo, seguido de bradicardia e bloqueio átrio-ventricular (parada em sístole) severo, o qual foi revertido após o primeiro minuto. Entretanto, essa reversão foi acompanhada por distúrbios no ritmo cardíaco (arritmias) associado ao aumento da pressão diastólica e redução do fluxo coronariano. A redução do fluxo coronariano parece ter sido decorrente da parada do coração em sístole à semelhança do efeito produzido pela acetilcolina. Demonstrou-se, também, que tais alterações foram abolidas nas preparações perfundidas com o propranolol. Estes resultados sugerem que tais alterações são decorrentes predominantemente da liberação de noradrenalina das terminações simpáticas contidas na preparação. O tratamento dos corações com atropina mostra que a mesma potencializou o inotropismo positivo e reduziu discretamente as arritmias induzidas por altas doses do veneno. Isto sugere que nesta preparação *in vitro* o veneno também promove a liberação de acetilcolina das terminações nervosas colinérgicas vagais embora, provavelmente em concentrações menores que as de noradrenalina. De qualquer modo, embora o veneno tenha induzido a liberação de noradrenalina e acetilcolina do coração *in vitro*, acredita-se que tais neurotransmissores não são os responsáveis pela hipotensão e hipertensão observadas *in vivo*, em virtude dos resultados negativos obtidos com a atropina, o propranolol e a fenoxibenzamina. É possível que o

veneno na dose de 0,3 mg/kg ($\cong$ 60-70 μ g/rato), administrado por via endovenosa, não atinja concentrações efetivas no músculo cardíaco para evocar os efeitos mencionados acima. Com doses maiores do veneno (0,6 mg/kg), em que observamos distúrbios cardiovasculares mais intensos, que conduzem os animais à morte, é provável que parte dos efeitos seja de fato decorrente da liberação de noradrenalina e acetilcolina cardíacas.

Posteriormente, investigamos o envolvimento de prostaciclina (PGI_2) e tromboxano (TXA_2), produtos derivados do ácido araquidônico pela via ciclooxigenase, nas alterações bifásicas induzidas pelo veneno. A PGI_2 (MONCADA et al., 1976) é um potente vasodilatador, sintetizado principalmente pela célula endotelial e, acarreta, além de relaxamento da musculatura lisa vascular, inibição da função plaquetária, sendo ambos efeitos decorrentes da ativação da adenilciclase e, conseqüentemente, do aumento de AMP_c na célula efetora (músculo liso e plaqueta) (JOHNSON et al., 1976; CURWEN et al., 1980). O TXA_2 (HAMBERG et al., 1975) é um potente agente vasoconstritor e agregante plaquetário. Uma vez que o tratamento dos animais com o inibidor da ciclooxigenase (indometacina) não bloqueou a hipotensão e a hipertensão induzidas pelo veneno, sugere-se que esse veneno não estimula a formação dos produtos da via da ciclooxigenase. A ausência de efeitos do veneno de *Phoneutria nigriventer* sobre a liberação de PGI_2 e TXA_2 de pulmões isolados de cobaia reforça estes achados (ANTUNES et al., 1993a).

O fator de ativação plaquetária (PAF) é um fosfolípídeo originário de vários tipos celulares, sendo capaz de causar profunda hipotensão (BRAQUET et al., 1987). A incapacidade do antagonista de PAF (WEB 2086; CASALS-STENZEL et al., 1986) em bloquear a resposta hipotensora induzida pelo veneno sugere que o PAF também não está envolvido na queda de PAM induzida pelo veneno.

As cininas (bradicinina e Lys-bradicinina) são potentes substâncias vasodilatadoras, sendo este efeito atribuído principalmente à ativação de receptores B₂ (BHOOLA et al., 1992). Recentemente, foi observado que o veneno de *Phoneutria nigriventer* ativa o sistema de calicreína tissular em pele (ANTUNES et al., 1993b; MARANGONI et al., 1993a; BENTO et al., 1995) e corpo cavernoso de coelhos (LOPES-MARTINS et al., 1994), levando à formação local de cininas. Todavia, nossos achados excluem a possibilidade que o veneno promova a liberação de cininas a partir do plasma, visto que nos animais tratados com um potente antagonista de receptores B₂ (Hoe 140), ativo, tanto *in vivo* quanto *in vitro* (HOCK et al., 1991; WIRTH et al., 1991), não observamos prevenção da hipotensão. Por outro lado, em vários estudos salienta-se que uma diversidade de neurotransmissores estão implicados no controle cardiovascular central, entre eles, as catecolaminas, a histamina, a substância P, a angiotensina II, enzima conversora de angiotensina (cininase II), calicreínas, e outros (BARNES et al., 1979; LINDSEY et al., 1995; PRIVITERA, 1994). Por exemplo, a bradicinina (BK) quando injetada em algumas áreas do sistema nervoso central produz distúrbios de comportamento e sonolência (KARIYA & YAMAUCHI, 1981), ações antidiuréticas (HOFFMANN & SCHMID, 1978) e, especialmente, alterações cardiovasculares caracterizadas como hipotensão, hipertensão ou taquicardia (CORRÊA & GRAEFF, 1974; CORRÊA et al., 1979; MARGOLIUS, 1988; PRIVITERA et al., 1994). Tais resultados levantam a hipótese de que a hipertensão arterial induzida pelo veneno seja decorrente da ativação do sistema de calicreína tissular no sistema nervoso central e, conseqüentemente, da liberação local de cininas. De fato, vem sendo sugerido a presença de um sistema de calicreína tissular endógeno cerebral na modulação central das funções cardiovasculares de mamíferos (THOMAS et al., 1984; LINDSAY et al., 1988, 1995; PRIVITERA, 1994). É interessante ressaltar que após a administração endovenosa do veneno, observa-se imediatamente a hipotensão e após um período de latência de aproximadamente 1 a 5 minutos instala-se o quadro hipertensivo. Entretanto, é ainda controverso a exata localização do sistema de calicreína tissular nos diversos núcleos do sistema nervoso central.

Além disso, nossa hipótese seria, a priori, descartada pelos resultados com a administração endovenosa do Hoe 140, onde mostramos que o mesmo não modifica a hipotensão e hipertensão induzidas pelo veneno. Embora, é possível que tal substância não atravessasse a barreira hematoencefálica, visto que, em alguns estudos, onde se avalia o papel das cininas no sistema nervoso central, o Hoe 140 é administrado diretamente no sistema nervoso central (SEGUIN et al., 1992; PRIVITERA et al., 1994).

Ao contrário dos coelhos, a administração intradérmica do veneno de *Phoneutria nigriventer* em pele de ratos produz edema local decorrente da liberação de neuropeptídeos vasoativos (provavelmente substância P), mediado por estimulação de terminais nervosos periféricos de fibras sensoriais do tipo C (Palframan et al., 1996). Nossos resultados indicam que a hipotensão induzida pelo veneno não é resultante da liberação de neuropeptídeos, uma vez que o novo antagonista (não peptídico) de receptores NK₁ de taquicininas (SR 140333) (EMONDS-ALT et al., 1992; 1993; HOLZER, 1992) não preveniu a queda de pressão arterial induzida pelo veneno. Assim, o envolvimento de taquicininas estaria restrito somente à ação extravascular do veneno em ratos.

O sistema renina angiotensina (SRA) está integralmente envolvido na homeostase cardiovascular (CANGIANO et al., 1979; TIMMERMANS et al., 1993). A ativação deste sistema resulta em aumento de pressão arterial em virtude da liberação de um potente peptídeo vasoconstritor na circulação sanguínea, angiotensina II (AII). Em ratos, a resposta pressórica induzida pela AII é decorrente da ativação de receptores AT₁ (CANGIANO et al., 1979; WONG et al., 1990). A ativação desses receptores nas células musculares lisas resultam em aumento da atividade da fosfolipase C, a qual gera trifosfato de inositol e diacilglicerol (RAPAPORT et al., 1983). Esses metabólitos iniciam uma série de eventos celulares, tais como aumento de cálcio intracelular e ativação da proteína quinase, a qual induz a contração de miofibrilas. Nossos resultados sugerem que a resposta hipertensora induzida pelo veneno não foi decorrente da

estimulação do SRA e subsequente liberação de angiotensina II, uma vez que o losartan (antagonista de receptores AT_{1A} e AT_{1B} de angiotensina II) (CHIU et al., 1990; TIMMERMANS et al., 1993) não modificou esse efeito hipertensor mediado pelo veneno. Um aspecto interessante deste estudo foi que a hipotensão induzida pelo veneno foi parcialmente inibida pelo losartan. É possível que o efeito hipotensor seja de origem central pois, recentemente, NAVERI et al. (1994a, b) demonstraram em ratos anestesiados que a hipotensão hemorrágica e conseqüente queda na resistência vascular cerebral foram significativamente atenuadas pelo tratamento endovenoso dos animais com o losartan. Entretanto, o mecanismo exato para essa inibição não está bem esclarecido e investigações estão sendo feitas neste sentido.

Curiosamente, as alterações bifásicas induzidas pelo veneno de *Phoneutria nigriventer* são muito semelhantes àquelas observadas com a administração endovenosa de endotelina-1 (ET-1) em ratos anestesiados (YANAGISAWA et al., 1988; DE NUCCI et al., 1988). A ET-1 é um potente peptídeo vasoconstritor inicialmente isolado a partir de sobrenadantes de cultura de células endoteliais de aortas porcinas (YANAGISAWA et al., 1988), sendo dotado de 21 resíduos de aminoácidos, contendo duas pontes dissulfeto que ligam em pares os resíduos de cisteína. O efeito vasoconstritor induzido pela endotelina é mediado por receptores do tipo ET_A (ARAI et al., 1990) e dependente de dois mecanismos distintos: ativação de canais de cálcio (YANAGISAWA et al., 1988; GOTO et al., 1989; KASUYA et al., 1989) ou ativação da fosfolipase C (ABDEL-LATIF & ZHANG, 1991; HU et al., 1991), ambos acoplados à proteína G. O efeito relaxante induzido pelas endotelinas é decorrente da liberação de EDRF/NO pelas células endoteliais (FURCHGOTT & ZAWADZKI, 1980; DE NUCCI et al., 1988; WARNER et al., 1989) ou mediado pela ativação da fosfolipase A_2 promovendo a liberação de prostanóides, principalmente PGI_2 e prostaglandina E_2 (DE NUCCI et al., 1988; WARNER et al., 1989; GRANSTAM et al., 1991). Interessante que as seqüências de aminoácidos das sarafotoxinas, peptídeos isolados do veneno da serpente *Atractaspis*

engandensis, são muito semelhantes às endotelinas (TAKASAKI et al., 1988; 1991; BDOLAH et al., 1989). Porém, embora as alterações na PAM induzidas pelo veneno de *Phoneutria nigriventer* sejam semelhantes às da ET-1, nossos resultados descartam a possibilidade que o veneno esteja liberando ET-1 no organismo ou que o veneno contenha toxinas semelhantes às sarafotoxinas, uma vez que o antagonista de receptores ET_A (FR 139317) (SAKURAI et al., 1990; SOGABE et al., 1993) mostrou-se incapaz de prevenir a resposta hipertensora induzida pelo veneno.

O envolvimento do óxido nítrico na resposta vasodilatadora induzida pelo veneno de *Phoneutria nigriventer* também foi descartado, visto que o tratamento prévio dos animais com o inibidor da síntese de óxido nítrico (L-NAME; MOORE et al., 1989) não modificou significativamente a resposta hipotensora induzida pelo veneno. A dose do L-NAME utilizada foi efetiva, uma vez que o mesmo aumentou a PAM basal dos animais, conforme esperado.

Por outro lado, esta hipotensão induzida pelo veneno de *Phoneutria nigriventer* foi parcialmente inibida pela glibenclamida (STURGESS et al., 1985; COOK, 1988; EDWARDS & WESTON, 1990; HARVEY et al., 1994), indicando que a hipotensão é decorrente, pelo menos em parte, da ativação dos canais de K⁺ dependentes de ATP. Esta substância pertence ao grupo das sulfonilurêias, conhecida clinicamente como hipoglicemiante oral (STURGESS et al., 1985; BAILEY et al., 1989; DE WEILLE et al., 1989; BKAILY et al., 1992; GODFRAIND & GOVONI, 1995). Embora o papel exato dos diferentes tipos de canais de potássio no músculo liso vascular não esteja bem definido (GODFRAIND & GOVONI, 1995), recentemente foi descrito um novo grupo de drogas classificadas como agonistas de canais de potássio (HAMILTON & WESTON, 1989; EDWARDS & WESTON, 1990). Dentre essas drogas está a cromacalina, conhecida como agente ativador de canais de potássio em uma variedade de células (HAMILTON & WESTON, 1989; EDWARDS & WESTON, 1990). Alguns trabalhos sugerem que os canais de potássio dependentes de ATP estão

localizados no pâncreas, coração, sistema nervoso central e músculos liso e esquelético (KLÖCKNER & ISENBERG, 1989; HAMILTON & WESTON, 1989; STURGESS et al., 1985; ASHFORD et al., 1988; STANDEN et al., 1989; EDWARDS & WESTON, 1990). Apesar de preliminarmente a glibenclamida e a cromacalina terem sido descritas como específicas para canais de potássio dependentes de ATP, atualmente alguns trabalhos sugerem que tanto a glibenclamida quanto a cromacalina são capazes de atuarem em canais de potássio ativados por cálcio em músculo liso vascular (GELBAND et al., 1989; 1990; HAMILTON & WESTON, 1989; EDWARDS & WESTON, 1990). É interessante notar que, nas doses mais elevadas de bloqueadores dos canais de cálcio empregados neste estudo, observamos que os mesmos atenuaram a hipotensão induzida pelo o veneno. Não conhecemos o mecanismo pelo qual tais bloqueadores exercem este efeito. Porém, é possível que doses elevadas desses antagonistas atuem em canais de potássio ativados por cálcio.

Finalmente, nossos resultados demonstraram claramente que a hipertensão prolongada induzida pelo veneno de *Phoneutria nigriventer* em ratos anestesiados foi inibida por bloqueadores de canais de cálcio (inibidores do fluxo iônico de cálcio), através de canais lentos do tipo L, tais como verapamil (benzenoacetoneitrila), nifedipina (diidropiridina) e diltiazem (benzotiazepina) de maneira dependente da dose. Essas drogas bloqueiam os canais de cálcio e, dessa forma, inibem o influxo de cálcio para o músculo liso despolarizado (HOSEY & LAZDUNSKI, 1988; SPEEDDING AND PAOLETTI, 1992; FASOLATO et al., 1994; GODFRAIND & GOVANI, 1995). Atualmente, são descritos diversos tipos de canais, tais como L, N, P, T, R e Q (SPEEDDING AND PAOLETTI, 1992; GODFRAIND & GOVANI, 1995). Uma diversidade de canais foram descritos em várias células e tecidos, sendo os canais do tipo L encontrados no músculo liso vascular, coração e sistema nervoso central (MISSIAEN et al., 1992; TAKAHASHI & MOMIYAMA, 1993; SPEEDDING AND PAOLETTI, 1992; HERBETTE et al., 1994; GODFRAIND AND GOVANI, 1995). Estes canais medeiam as correntes de cálcio de longa duração, sendo ainda classificados como canais altamente

sensíveis à diidropiridinas (SPEEDING AND PAOLETTI, 1992; GODFRAIND AND GOVANI, 1995). As observações de que o veneno induz hipertensão prolongada e que a nifedipina, verapamil e diltiazem reduziram marcadamente a resposta hipertensora, sugerem que o veneno de *Phoneutria nigriventer* atua como ativador de canais lentos do tipo L. É importante notar que um dos componentes isolados do veneno (PhTx2) provoca rápido aumento do influxo de Ca^{2+} , com posterior liberação de glutamato em células de sinaptosomas corticais de rato (CORDEIRO et al., 1993; ROMANO-SILVA et al., 1993). Essa liberação de glutamato não foi inibida por nifedipina, sugerindo a existência de outros mecanismos para entrada de cálcio nos sinaptosomas corticais de ratos (ROMANO-SILVA et al., 1993). Entretanto, estudos prévios demonstram que a liberação de glutamato de sinaptosomas corticais de rato, induzida por potássio, é inibida por bloqueadores dos canais de cálcio do tipo T (omega-Aga VIA) (TAKAHASHI & MOMIYAMA, 1993).

Em geral, no tratamento do envenenamento pela aranha *Phoneutria nigriventer*, trata-se imediatamente o sintoma de dor local, o qual é de intensidade variável, às vezes insuportável, podendo irradiar-se até a raiz do membro atingido (VITAL-BRAZIL & VELLARD, 1926; BUCARETCHI, 1992). Para o alívio da dor recomenda-se administrar um analgésico sistêmico ou proceder à infiltração anestésica local, com lidocaína à 2%, sem vasoconstritor (LUCAS, 1988; BUCARETCHI, 1992). Em caso de recorrência da dor e, desde que não ocorram sintomas de depressão do sistema nervoso central, pode-se indicar o uso de analgésicos sistêmicos mais potentes como, por exemplo, dolantina. Em casos de envenenamento com manifestações sistêmicas graves recomenda-se a soroterapia. Porém, nestes casos a quantidade de ampolas de soro antiaracnídeo a ser administrada é fixada empiricamente (BUCARETCHI, 1992).

Uma vez que os antagonistas de canais de cálcio são extensivamente utilizados na clínica, para tratamento das desordens cardiovasculares em crianças e adultos (WAGNER et al., 1982; PORTER et al., 1983; CHO AND

PRUITT, 1986; TAKAHASHI & MOMIYAMA, 1993; BERRIDGE, 1994), nossos resultados indicam que, seria importante investigar a eficácia do uso de bloqueadores dos canais de cálcio disponíveis comercialmente, em pacientes com hipertensão arterial desencadeada após o envenenamento por *Phoneutria nigriventer*. De fato, a nifedipina já foi empregada com sucesso em crianças picadas por escorpiões revertendo o quadro de hipertensão sistêmica observado após este tipo de envenenamento (SHAUL SOFER & MOSCHE GUERON, 1990).

5 CONCLUSÕES

- 1** A injeção endovenosa do veneno de *Phoneutria nigriventer* (0,3 mg/kg) em ratos anestesiados promove resposta bifásica da PAM caracterizada como hipotensão transitória seguida por hipertensão prolongada. Estes efeitos cardiovasculares são acompanhados por discreto aumento da frequência cardíaca e alterações sistêmicas, tais como sialorréia, fasciculações musculares generalizadas, diurese, defecação, cianose e dispnéia.
- 2** A resposta hipotensora é decorrente, pelo menos em parte, da ativação dos canais de K^+ dependentes de ATP, enquanto a resposta hipertensora parece ser decorrente da ativação direta dos canais de Ca^{2+} do tipo L.
- 3** Em corações isolados, o veneno de *Phoneutria nigriventer* (50 μ g) promove inotropismo positivo seguido por cronotropismo positivo. Em doses elevadas do veneno (100 μ g), observa-se rápido inotropismo positivo e cronotropismo negativo seguido por bloqueio átrio-ventricular (0.25 min). Após o primeiro minuto, aparecem arritmias com subsequente aumento da pressão diastólica. Nessa dose, o veneno produz ainda uma redução significativa do fluxo coronariano.
- 4** Os resultados *in vitro* indicam que as alterações cardíacas induzidas pelo o veneno são devidas, principalmente, à liberação de noradrenalina das terminações nervosas simpáticas do coração e, em menor grau de escala, da liberação de acetilcolina de terminais parassimpáticos vagais, visto que estas alterações foram prontamente prevenidas pelo tratamento com o propranolol, e discretamente atenuadas pela atropina.
- 5** Em resumo, a hipertensão induzida pelo veneno de *Phoneutria nigriventer* pode ser de origem periférica ou central, mas não de origem cardiogênica.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-LATIF, A.A. & ZHANG, Y. Species differences in effects of endothelin-1 on myo-inositol triphosphate accumulation, cyclic AMP formation and contraction of isolated iris sphincter of rabbit and other mammalian species. **Invest. Ophthal. Vis. Sci.**, **32**: 2432-2438, 1991.
- ALBUQUERQUE, R.P; FRANÇA, F.O.S; ROCHA, A.S. & CARDOSO, J.L.C. - Manifestações autonômicas de longa duração em paciente picado por *Phoneutria* sp. In: Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 84, Natal, 1990. **Anais**.
- ANTUNES, E.; MARANGONI, R.A.; BRAIN, S.D.; AND DE NUCCI, G. *Phoneutria nigriventer* (armed spider) venom induces increased vascular permeability in rat and rabbit skin in vivo. **Toxicon**, **30**: 1011-1016, 1992.
- ANTUNES, E.; MARANGONI, R.A.; BORGES, N.C.C.; HYSLOP, S.; FONTANA, M.D; AND DE NUCCI, G. Effect of *Phoneutria nigriventer* venom on rabbit vascular smooth muscle, **Braz. J. Med. Biol. Res.**, **26**: 81-91, 1993a.
- ANTUNES, E.; MARANGONI, R.A.; GIGLIO, J.R.; BRAIN, S.D.; AND DE NUCCI, G. Activation of tissue kallikrein-kininogen-kinin system in rabbit skin by a fraction isolated from *Phoneutria nigriventer* (armed spider) venom. **Toxicon**, **31**: 1385-1391, 1993b.
- ARAI, S.; HORI, S.; ARAMORI, I.; OHKUBO, H.; AND NAKANISHI, S. Cloning and expression of a cDNA encoding an endothelin receptor. **Nature**, **348**: 730-732, 1990.
- ARAÚJO, D.A.M.; CORDEIRO, M.N.; DINIZ, C.R.; AND BEIRÃO, P.S.L. Effects of a toxic fraction, Phtx2, from the spider *Phoneutria nigriventer* on the sodium current. **Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.**, **347**: 205-208, 1993.

- ASHFORD, M.L.J.; STURGESS, N.C.; TROUT, N.J.; GARDNER, N.J.; AND HALES, C.N. Adenosine-5'-triphosphate-sensitive ion channels in neonatal rat cultured central neurons. **Pflügers Arch.**, **412**: 297-304, 1988.
- BAILEY, C.J.; FLATT, P.R.; AND MARKS, V. Drugs inducing hypoglycemia. **Pharmac. Ther.**, **42**: 361-384, 1989.
- BARBER, A. μ and κ opiod receptor agonist produce peripheral inhibition of neurogenic plasma extravasation in rat skin. **Eur. J. Pharmacol.**, **236**: 113-120, 1993.
- BARRIO, A. Spastic action of the venom of the spider *Phoneutria fera*. **Acta Physiol. Latinoamer.**, **5**: 132-143, 1955.
- BDOLAH A., Z.; WOLLBERG, G. FLEMINGER; AND KOCHYVA, E.. SRTX-d, a new native peptide of the endothelin/sarafotoxin family. **FEBS Lett.**, **256**: 1-80, 1989.
- BENTO A.C., NOVELLO, J.C., MARANGONI, S., ANTUNES, E., GIGLIO, J.R., OLIVEIRA, B. AND DE NUCCI G. Identification of a new vascular smooth muscle contracting polypeptide in the *Phoneutria nigriventer* spider venom. **Biochem. Pharmacol.**, **46**: 1092-1095, 1993
- BENTO A.C., REGO, E.; PEDROSO-MARIANI, S.R.; MANCUSO, L.C.; GIGLIO, J.R.; NOVELLO, J.C.; MARANGONI, S.; CARACELLI, I.; OLIVEIRA, B.; ANTUNES, E.; AND. DE NUCCI, G. Isolation of a polypeptide from *Phoneutria nigriventer* venom responsible for the increased vascular permeability in rabbit skin. **Toxicon**, **33**: 171-178, 1995.
- BERRIDGE, M. J. The biology and medicine of calcium signalling. **Molec. Cell. Endocrinology**, **98**: 119-124, 1994.

- BHoola, K.D., Figueroa, C.D. AND Worthy, K. Bioregulation of kinins: kallikreins, kininogens, and kininases. **Pharmacol. Rev.**, **44**: 1-80, 1992
- BKaily, G.; Economos, D.; Potvin, L.; Ardiouze, J.L.; Marriott, C.; Corcos, J.; Bonneau, D. AND Fong, C.N. Blockade of insulin sensitive steady-state R-type Ca^{2+} channel by PN200-110 in heart and vascular smooth muscle. **Mol. Cell. Biochem.** **117**, 93-99, 1992
- Braquet, P.; Shen, T.Y.; Touqui, L.; AND Vargaftig, B.B. Perspectives in platelet-activating factor research. **Pharmacol. Rev.**, **39**: 97-138, 1987.
- Bucarechi, F. - Acidentes por *Phoneutria* (Foneutrismo). In: Schvartsman, S. - Plantas venenosas e animais peçonhentos. 2.ed. São Paulo, Sarvier, 1992. 196-201p
- Bucarechi, F. **Estudo do esvaziamento gástrico de líquidos em ratos envenenados com a peçonha da aranha *Phoneutria nigriventer***. São Paulo, 1994. (Tese de doutorado - Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas).
- Bucarechi, F. & Collares, E.F. Effect of *Phoneutroa nigriventer* spider venom on gastric emptying in rats. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, **29**: 205-211, 1996.
- Bücherl, W., Lucas S. AND Eickstedt V.D.V. Spiders of the family Ctenidae, subfamily *Phoneutriinae* VI. bibliographia *Phoneutriarum*. **Mem. Inst. Butantan**, **34**: 47-66; 1969. Bücherl, W. **Memórias do Instituto Butantan** 25, 1-133, 1953.
- Bücherl, W. In "Venoms" . **Am. Assoc. Advanc. Sci.**, Washington, D.C, **44**, 95-97, 1956.

- BÜCHERL, W. - In: **Acúleos que matam** (No mundo dos animais peçonhentos). São Paulo, Melhoramentos, 1971.
- BÜCHERL W. In: **Invertebrados (As aranhas)**. 2ª ed. Rio de Janeiro, Kosmos, 1972.
- BÜCHERL W. **Acúleos que matam** (No mundo das aranhas). 4ª ed. Rio de Janeiro, Kosmos, 1980.
- BURKS, T.F. Actions of drugs gastrointestinal motility. In: Johnson, L.R. - Physiology of the gastrointestinal Tract. New York, Raven Press, 1987.
- CANGIANO, J.L., RODRIGUEZ-SARGENT, C., AND MARTINEZ-MALDONADO, M. Effects of antihypertensive treatment on systolic blood pressure and renin in experimental hypertension in rats. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, **208**: 310-313, 1979.
- CARDOSO, J.L.C. - Introdução ao estudo dos acidentes por animais peçonhentos. In: Schvartsman, S. - Plantas venenosas e animais peçonhentos. 2.ed. São Paulo, Sarvier, 1992. 139-142p
- CASALS-STENZEL, J.G., G. MUACEVIC AND K.H. WEBER. WEB 2086, a new and specific antagonist of platelet-activating factor (PAF) *in vitro* and *in vivo*. **Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol.**, **334**: R44-R48, 1986.
- CATTERALL, W.A. & STRIESSNIG, J. Receptor sites for Ca^{2+} channel antagonists. **Tips**, **13**: 256-262, 1992.
- CHAO, J., WOODLEY, C., CHAO, L., MARGOLIUS, H.S. Identification of tissue kallikrein in brain and in the cell-free translation product encoded by brain mRNA. **J. Biol. Chem.**, **258**: 15173-15178, 1983.

- CHIU, A.T., MCCALL, D.E., PRICE, W.A., WONG, P.C., CARINI, D.J., DUNCIA, J.V., WEXLER, R.R., YOO, S.E., JOHNSON, A.L. AND. TIMMERMANS, P.B.B.W.M. The non-peptide angiotensin II receptor antagonists: Cellular and biochemical pharmacology of losartan, an orally active antihypertensive agent. **J. Pharm. Exp. Ther.**, **252**: 711-718, 1990.
- CHO, C. AND A.W. PRUITT. Therapeutic uses of calcium-channels blocking drugs in the young. **Am. J. Dis. Child.**, **140**: 360-366, 1986.
- COOK, N.S. The pharmacology of potassium channels and their therapeutic potential. **Trends Pharmacol. Sci.**, **9**: 21-28, 1988.
- CORDEIRO, M.N., FIGUEIREDO, S.G., VALENTIM, A.C., DINIZ, C.R., VON EICKSTEDT, V.R.D., GILROY, J. & RICHARDSON. Purification and amino acid sequences of six TX3 type neurotoxins from the venom of the brazilian armed spider *Phoneutria nigriventer* (Keys). **Toxicon**, **31**: 35-42, 1993.
- CORDEIRO, M.N; REZENDE JR, L. & DINIZ, C.R. Isolamento de substâncias farmacologicamente ativas da peçonha de *Phoneutria nigriventer*. **An. XIII Simp. Anual ACIESP (II)**, 1988. 120-123p.
- CORRÊA, F. M. A., INNIS, R. B., UHL, G. R., AND SNYDER, S. H. Bradykinin like immuno-reactive neuronal systems localized histochemically in rat brain. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, **76**: 1489-1493; 1979.
- CORRÊA, F.M.A. & GRAEFF, F.G. Central mechanisms of the hypertensive action of intraventricular bradykinin in the unanaesthetized rat. **Neuropharmacol.**, **13**: 65-75., 1973.
- CRUZ-HÖFLING, LOVE S., BROOK G. AND DUCHEN L. W. Effects of *Phoneutria nigriventer* spider venom on mouse peripheral nerve. **Quartely J. Exp. Physiol.**, **70**: 623-640, 1985.

- CURWEN, K. CIMBORNE, M.A, HANDI, R.I. *In vitro* studies of thromboresistance: The role of prostacyclin (PGI₂) in platelet adhesion to cultured normal and virally transformed human vascular endothelial cells. **Lab. Invest.**, **42**: 366-374, 1980.
- DE NUCCI, G., R.J. GRYGLEWSKI, T.D. WARNER AND J.R. VANE. Receptor-mediated release of endothelium-derived relaxing factor and prostacyclin from bovine aortic endothelial cells is coupled. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, **85**: 2334-2338, 1988.
- DE WILLE, J.R., FOSSET, M., MOURRE, C., SCHMID-ANTOMARCHI, H., BERNARDI, H. AND LAZDUNSKI, M. Pharmacology and regulation of ATP-sensitive potassium channels. **Pflügers Arch.**, **414** (suppl. 1): S80-S87, 1989.
- DINIZ, C.R. Separação de proteínas e caracterização de substâncias ativas em venenos de aranhas do Brasil. In: Anais Acad. Brasileira de Ciências., **35**, 1963. 283-291p.
- DINIZ, C.R., CORDEIRO, M.N., REZENDE, L.,JR., KELLY, P., FISCHER, S., REIMANN, F. OLIVEIRA, E.B., AND RICHARDSON, M. The purification and amino acid sequence of the lethal neurotoxin Tx1 from the venom of the brazilian "armed" spider *Phoneutria nigriventer*. **FEBS Lett.** **263**, 251-253, 1990.
- DINIZ, M.R.V., PAINES, M.J.I., DINIZ, C.R., DAVID, R., THEAKSTON, G. AND CRAMPTON, J.M. Sequence of the cDNA coding for the lethal neurotoxin TX1 from the brazilian armed spider *Phoneutria nigriventer* predicts the synthesis and processing of a preprotoxin. **The American Society for Biochemistry and mol. Biol. Inc.** **26**: 15343-15345, 1993.

- DÖRING, H.J. AND DEHNERT, H. - The isolated perfused heart. In: Biomesstechnik-Verlag. Germany, March, 1988.
- EDWARDS, G. AND WESTON, A.H. Potassium channel openers and vascular smooth muscle relaxation. **Pharmacol. Ther.**, **48**: 237-258, 1990.
- EMONDS-ALT, X., J.D. DOUTREMEPUICH, M. HEALME, G. NELIAT, V. SANTUCCI, R. STEINBERG, P. VILAIN, D. BICHON, J.P. DUCOUX, V. PROIETTO, D. VAN BROECK, P. SOUBRIÉ, G. LE FUR AND J.C. BRELIÈRE. *In vitro* and *in vivo* biological activities of SR 140333, a novel potent non-peptide tachykinin NK₁ receptor antagonist. **Eur. J. Pharmacol.**, **250**: 403-413, 1993.
- EMONDS-ALT, X., P. VILAIN, P. GOULAOUIC, V. PROIETTO, D. VAN BROECK, C. Advenier, E. Naline, G. Neliat, G. Le Fur and J.C. Brelière. A potent and selective non-peptide antagonist of the neurokinin A (NK₂) receptor. **Life Sci.**, **50**: PL101-106, 1992.
- ENTWISTLE I. D., JOHNSTONE R. A. W., MEDZIHRADESKY D. AND MAY T. E. Isolation of a pure toxic polypeptide from the venom of the spider *Phoneutria nigriventer* and its neurophysiological activity on an insect femur preparation. **Toxicon**, **20**: 1059-1067, 1982.
- ESCOTT K.J. & BRAIN S.D. Effect of a calcitonin gene-related peptide antagonist (CGRP₈₋₃₇) on skin vasodilatation and oedema induced by stimulation of the saphenous nerve. **Br. J. Pharmacol.**, **110**: 772-776, 1993.
- FASOLATO C., INNOCENTI B. AND POSSAN T. Receptor-activated Ca²⁺ influx: how many mechanisms for how many channels? **Tips**, **15**: 77-82, 1994.

- FISHER, F.G. & BOHN, H. Die Gifftsekrete der brasilianischen *Tarantel Lycosa erythrognata* und der Wanderspinnne *Phoneutria fera*. **Z. Physiol. Chem.**, **306**: 265-268, 1957.
- FLEURY, C.T. Anestesia local em picadas por animais peçonhentos. **Rev. Bras. Anest.**, **14**: 88-89, 1964.
- FONTANA M. D. AND O. VITAL-BRAZIL. Mode of action of *Phoneutria nigriventer* spider venom at the isolated phrenic nerve-diaphragm of the rat. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, **18**: 557-565, 1985.
- FURCHGOTT R. F. AND J.V. ZAWADZKI. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature**, **288**: 373-377, 1980.
- GELBAND, C.H., LODGE, N.J. AND VAN BREEMEN, C.A. Ca^{2+} -activated K^+ channel from rabbit aorta: modulation by cromakalim. **Eur. J. Pharmac.**, **167**, 201-210: 1989.
- GELBAND, C.H., MCCULLOUGH, J.R. AND VAN BREEMEN, C. Modulation of vascular Ca^{2+} -activated K^+ channel by cromakalim, pinacidil and glyburide. **Biophys. J.**, **57**: 509a-511a, 1990.
- GODFRAIND T. AND GOVONI S. Recent advances in the pharmacology of Ca^{2+} and K^+ channels. **Tips**, **16**: 1-4, 1995.
- GOPALAKRISHNAKONE, P. & TAN, C.K. Progress in venom and toxin research. **Proc. of Asia-Pacific Congress of animal, plant and microbial toxins held in Singapore**. Depart. Anat. Fac. Med. Nat. Univ. of Singapore, 1987. 532-542p.

- GOTO, K., KASUYA, Y., MATSUKI, N., TAKUWA, Y., KURIHARA, H., ISHIKAWA, T., KIMURA, S., YANAGISAWA, M., MASAKI, T. Endothelin activates the dihydropyridine-sensitive, voltage-dependent calcium channel in vascular smooth muscle. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, **86**: 3915-3918, 1989.
- GRANSTAM, E., WANG, L., BILL, A. Effects of endothelins (ET-1, ET-2 and ET-3) in the rabbit eye, role of prostaglandins. **Eur. J. Pharmacol.**, **194**: 217-223, 1991.
- HAMBERG M., J. SVENSSON AND B. SAMUELSSON. Thromboxanes: a new family of biologically active compounds derived from prostaglandin endoperoxides. **Proc. Natn. Acad. Sci. U.S.A.**, **172**: 2994-2996, 1975.
- HAMILTON, T.C. AND WESTON, A.H. Cromakalim, nicorandil and pinacidil: novel drugs which open potassium channels in smooth muscle. **Gen. Pharmac.**, **20**: 1-9, 1989.
- HARVEY A. L., ROWAN E. G., VATANPOUR H., FATEHI M., CASTANEDA O. AND KARLSSON, E. Potassium Channel Toxins and Transmitter release. **Annals New York Academy of Sciences**, **710**: 1-9, 1994.
- HERBETTE, L.G., MASON, P.E., SWEENEY, K.R., TRUMBORE, M.W. AND MASON, R.P. Favorable amphiphilicity of nimodipine facilitates its interactions with brain membranes. **Neuropharmacology**, **33**: 241-247, 1994.
- HOCK, F.J., WIRTH, K., ALBUS, U., LINZ, W., GERHARDS, H.J., WIEMER, G., HENKE, S., BREIPOHL, G., KÖNIG, W., KNOLLE, J. & SCHÖLKENS, B.A. Hoe 140 a new potent and long acting bradykinin-antagonist: *in vitro* studies. **Br. J. Pharmacol.**, **102**: 769-773, 1991.

- HOFFMAN, W. E., AND SCHIMID, P. G. Separation of the pressor and anti-diuretic effects of intraventricular bradykinin. **Neuropharmacology**, **17**: 999-1002, 1978.
- HOLZER, P. Peptidergic sensory neurons in the control of vascular functions: Mechanisms and significance in the cutaneous and splanchnic vascular beds. **Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.**, **121**: 49-146, 1992.
- HOSEY, M. M. AND M. LAZDUNSKI. Calcium channels: molecular pharmacology, structure and regulation. **J. Memb. Biol.**, **104**: 8-15, 1988.
- HU, S., KIM, H.S., JENG, A.Y. Dual action of endothelin-1 on the Ca^{2+} -activated K^+ channel in smooth muscle cells of porcine coronary artery. **Eur. J. Pharmacol.**, **194**: 31-36, 1991.
- HUGHES, S.R. & BRAIN, S.D. A calcitonin gene-related peptide (CGRP) antagonist (CGRP_{8-37}) inhibits microvascular responses induced by CGRP and capsaicin in skin. **Br. J. Pharmacol.**, **104**: 738-742, 1991.
- IZUMI, T. & BAKHLE, Y.S. Output of prostanoids from rat lung following endotoxin and its modification by methylprednisolone. **Circulatory Shock**, **28**: 9-21, 1989.
- JOHNSON, R.A., MORTON, D.R., KINNER, J.H., GORMAN, R.R., MCGUIRE, J.C., SUN, F.F., WHITTAKER, N. BUNTING, S., SALMON, J. MONCADA, S. VANE, J.R. The chemical structure of prostaglandin X (prostacyclin). **Prostaglandins**, **12**: 915-928, 1976.
- KAJEKAR, R., GUPTA, R., NICHOLAS, B., SHEPPERSON AND BRAIN, S.D. Effect of a 5-HT₁ receptor agonist, CP-122,288, on oedema formation induced by stimulation of the rat saphenous nerve. **Br. J. Pharmacol.**, **115**: 1-2, 1995.

- KARIYA, K. AND YAMAUCHI, A. Relationship between hypertensive response and brain linin level in the rat injected intraventricularly with glandular kallikrein. **Jpn. J. Pharmacol.**, **43**: 129-132; 1987.
- KASUYA, Y.; ISHIKAWA, T.; YANAGISAWA, M.; KIMURA, S.; GOTO, K. mechanism of contraction to endothelin in isolated porcine coronary artery. **Am.J. Physiol.** **257**: H1828-35, 1989.
- KLOCKNER, U. & ISENBERG, G. The dihydropyridine nifedipine modulates calcium and potassium currents in vascular smooth muscle cells. **Br. J. Pharmacol.**, **97**: 957-967, 1989.
- LINDSEY, C., FUJITA, K. AND MARTINS, T.O. The central pressor effect of bradykinin in normotensive and hypertensive rats. **Hypertension Suppl.**, **11**: I-126-I-12129, 1988.
- LINDSEY, C. J. Central bradykinin receptor in the SHR and blood pressure. **Progress in Hypertension**, **3**: 109-125; 1995.
- LOPES-MARTINS, R. A. B., ANTUNES, E.; OLIVA, M.L.V.; SAMPAIO, C.A.M.; BURTON, J. AND DE NUCCI, G. Pharmacological characterization of rabbit corpus cavernosum relaxation mediated by the tissue kallikrein-kinin system. **Br. J. Pharmacol.**, **113**: 81-86, 1994.
- LOVE S. AND CRUZ-HÖFLING M. A. Acute swelling of nodes of Ranvier caused by venoms which inactivation of sodium channels. **Acta Neuropathol.**, **70**: 1-9, 1986.
- LUCAS S. Spiders in Brazil. **Toxicon**, **26**: 759, 1988.
- LUCAS, S. & SILVA JUNIOR, P.I. - Acidentes por aranhas (araneísmo) In: Schvartsman, S. - Plantas venenosas e animais peçonhentos. 2.ed. São Paulo, Sarvier, 1992. 189-196p

- MAGGI C.A. The Pharmacological modulation of neurotransmitter release. Capsaicin in the study of pain. 1^a ed. Italy, **Academic Press Limited**, 1993. 161-185p.
- MARGOLIUS, H.S. Tissue kallikreins and kinins: regulation and roles in hypertensive and diabetic diseases. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, **29**: 343-364; 1988.
- MARANGONI, R. A., ANTUNES, E.; BRAIN S.D. AND DE NUCCI, G. Activation by *Phoneutria nigriventer* (armed spider) venom of tissue kallikrein-kininogen-kinin system in rabbit skin in vivo. **Br. J. Pharmacol.**, **109**: 539-543, 1993a.
- MARANGONI, S., BORGES, N.C.C.; MARANGONI, R.A.; ANTUNES, E.; VIEIRA, A.C.; NOVELLO, J.C.; DOMONT, G.B.; GIGLIO, J.R.; OLIVEIRA, B. AND DE NUCCI, G. Biochemical characterization of a vascular smooth muscle contracting polypeptide purified from *Phoneutria nigriventer* (armed spider) venom. **Toxicon**, **31**: 377-384, 1993b.
- MISSIAEN L., DE SMEDT H., DROOGMANS G., HIMPENS B. AND CASTEELS R. Calcium ion homeostasis in smooth muscle. **Pharmacol. Ther.**, **56**: 191-231, 1992.
- MONCADA S., R. GRYGLEWSKI, S. BUNTING AND J.R. VANE. An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. **Nature**, **263**: 663-, 1976.
- MOORE P. K., AL-SWAYEH, A.O., CHONG, N.W.S., EVANS, R.A. AND GIBSON A. L-N^ω-Nitro arginine (L-NOARG), a novel L-arginine-reversible inhibitor of endothelium-dependent vasodilation in vitro. **Br. J. Pharmacol.**, **99**: 408-412, 1989.

- NAVERI, L., STROMBERG, C. AND SAAVEDRA. Angiotensin II AT-2 receptor stimulation increases cerebrovascular resistance during hemorrhagic hypotension in rats. **Regulatory Peptides**, **52**: 21-29, 1994a.
- NAVERI, L., STROMBERG, C. AND SAAVEDRA, J.M. Angiotensin II AT-2 receptor stimulation extends the upper limit of cerebral blood flow autoregulation: Agonist effects of CGP 42112 and PD 123319. **J. Cereb. Blood Flow Metab.**, **14**: 38-44, 1994b.
- PALFRAMAN, R., WILSONCROFT P., COSTA, S.K.P., ANTUNES E., DE NUCCI G. AND BRAIN. S. D. The effect of a tachykinin NK₁ receptor antagonist SR140333 on oedema formation induced in rat skin by venom from the spider *Phoneutria nigriventer*. **Br. J. Pharmacol.**, 1995 (*in press*).
- PERNOW, B. Substance P - a putative mediator of antidromic vasodilatation. **Gen. Pharmacol.**, **14**: 13-20, 1983.
- PORTER C. J., A. GARSON AND P.C. GILLETTE. Verapamil: an effective calcium blocking agent for pediatric patients. **Pediatrics**, **71**: 748-751, 1983.
- PRIVITERA, P.J., THIBODEAUX, H. AND YATES, P. Rostral ventrolateral medulla as a site for the central hypertensive action of kinins. **Hypertension**, **23**: 52-58, 1994.
- RAPAPORT, R.M., DRAZNIN, M.B., AND MURAD, F. Endothelium-dependent relaxation in rat aorta may be mediated through cyclic GMP-dependent protein phosphorylation. **Nature**, **306**: 174-176, 1983.
- REZENDE-JÚNIOR, L., CORDEIRO, M.N.; OLIVEIRA, E.B.; AND DINIZ. C.R. Isolation of neurotoxic peptides from the venom of the "armed spider" *Phoneutria nigriventer*. **Toxicon**, **29**: 1225-1233, 1991.

- ROMANO-SILVA M.A., RIBEIRO-SANTOS R., M.RIBEIRO A., GOMEZ M.V., DINIZ C.R., CORDEIRO M N. Rat cortical synaptosomes have more than one mechanism for Ca^{2+} entry linked to rapid glutamate release: studies using the *Phoneutria nigriventer* toxin PhtX2 and potassium depolarization. **Biochem. J.**, **296**: 313-319, 1993.
- SAKURAI T., M. YANAGISAWA, Y. TAKUWA, H. MIYAZAI, S. KIMURA, K. GOTO AND T. MASAKI. Cloning of a cDNA encoding a non-isopeptide-selective subtype of the endothelin receptor. **Nature**, **348**: 732-739, 1990.
- SCHENBERG, S. & PEREIRA-LIMA, F.A. *Phoneutria nigriventer* venom. Pharmacology and biochemistry of its components. In: Bucherl and E.E. Buckley. - *Venomous Animals and their Venoms*. Vol. 3. New York, Academic Press, 1971. p279-297.
- SCHENBERG, S. & PEREIRA-LIMA, F.A. Venoms of Ctenidae. In: Bettini, S. - **arthropod venoms**. New York, Academic Press, 1976. 217-245p.
- SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE DE SÃO PAULO. - Centro de Vigilância Epidemiológica "Professor Alexandre Vranjac". Manual de Vigilância Epidemiológica (**Acidentes por animais peçonhentos**). São Paulo, 1993.
- SEGUIN, L., WIDDOSOW, P.S. AND GIESEN-CROUSE, E. Existence of three subtypes of bradykinin B-2 receptors in guinea pig. **J. Neurochem.**, **59/6**: 2125-2133, 1992.

- SHAUL SOFER, F.C.C.P. & MOSCHE, GUERON. Vasodilators and hypertensive encephalopathy following scorpion envenomation in children. **Chest**, **97**: 118-120, 1990.
- SOGABE, K., H. NIREI, M. SHOUBO, A. NOMOTO, S. AO, Y. NOTSU AND T. ONO. Pharmacological profile of FR 139317, a novel, potent endothelin ET_A receptor antagonist. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, **264**: 1040-1046, 1993.
- SPEEDING, M. AND PAOLETTI, R. Classification of calcium channels and the sites of action of drugs modifying channel function. **Pharmacol. Rev.**, **44**: 363-376, 1992.
- STANDEN, N.B., QUAYLE, J.M., DAVIES, N.W., BRAYDEN, J.E., HUANG, Y. AND NELSON, M.T. Hyperpolarizing vasodilators activate ATP-sensitive K⁺ channels in arterial smooth muscle. **Science**, **254**: 177-180, 1989.
- STURGESS, N.C., ASHFORD, M.J.L., COOK, D.L. AND HALES, C.N. The sulfonylurea receptor may be an ATP-sensitive potassium channel. **Lancet**, **2**: 474-475, 1985.
- SUTHERLAND, S.K. The Sydney funnel-web spider (*Atrax robustus*) a review of some clinical records of human envenomation. **Med. J. Aust.**, **2**: 643-646, 1972.
- TAKAHASHI, T. AND MOMIYAMA, A. Different types of calcium channels mediate central synaptic transmission. **Nature**, **366**: 156-158, 1993.
- TAKASAKI, C., TAMIYA, N., BDOLAH, A., WOLLBERG, Z., KOCHVA, E. Sarafotoxins S6: several isotoxins from *Atractaspis engaddensis* (burrowing asp) venom that affect the heart. **Toxicon**, **26**: 543-548, 1988.

- TAKASAKI, C. AIMOTO, S., KITAZUMI, K., TAKAKA, K., SHIBA, T., NISHIKA, K., FURUKAWA, Y., TAKAYANAGI, R., OHNAKA, K., NAWATA, H. Structure-activity relationship of sarafotoxins: chemical synthesis of chimera peptides of sarafotoxins S6b and S6c. **Eur. J. Pharmacol.**, **198**: 165-169, 1991.
- THOMAS, G.R., THIBODEAUX, H., HARRY, B.S., MARGOLIUS, S. AND PRIVITERA, P.J. Cerebrospinal fluid kinins and cardiovascular function effects of cerebroventricular melittin. **Hypertension**, **6 (Suppl. 1)**: I-46-I-50, 1984.
- TIMMERMANS, P.B.M.W.M., WONG, P.C., CHIU, A.T., HERBLIN, W.F., BENFIELD, P., CARINI, D.J., LEE, R.J., WEXLER, R.R., SAYE, J.A.M. AND MITH R.D. Angiotensin II receptors and angiotensin II receptor antagonists. **Pharmacol. Rev.**, **45**: 205-251, 1993.
- VELLARD, J. Les araignées vraies. Les cténes. In: Vellard, J. - Le Venin Des Araignées. Monographies de L'Institut Pasteur, Masson Et Cie. Editeurs, Paris, 1936. 169-184p.
- VITAL BRAZIL & VELLARD, J. Contribuição ao estudo do veneno das aranhas I. **Mem. Inst. Butantan**, 5-77, 1925.
- VITAL BRAZI & VELLARD, J. Contribuição ao estudo do veneno das aranhas II. **Mem. Inst. Butantan**, 243-299, 1926.
- VITAL BRAZIL, O.; LEITE, G.B. AND FONTANA, M.D. Modo de ação da peçonha da aranha armadeira, *Phoneutria nigriventer* (Keyserling, 1891), nas aurículas isoladas de cobaia. **Ciênc. Cult.**, **40**: 181-185, 1988.
- WARNER T. D., G. DE NUCCI AND J.R. VANE. Rat endothelin is a potent vasodilator in the rat isolated perfused mesentery. **Eur. J. Pharmacol.**, **159**: 325-326, 1989.

- WAGNER J. G., A.P. ROCHINI AND J. VASILIADES. Prediction of steady-state verapamil plasma concentrations in children and adults. **Clin. Pharmacol. Ther.**, **32**: 172-177, 1982.
- WELSH, J.H. & BATTY, C.S. 5-hidroxytryptamine content of some arthropod venoms and venom containing parts. **Toxicon**, **1**: 165-173, 1963.
- WIRTH, K., HOCK, U.F.J., ALBUS, U., LINZ, W., ALPERMANN, H.G., Anagnostopoulos, H. Henke, St., Breipohl, G., König, W., Knolle, J. & Schölkens. Hoe 140 a new potent and long acting bradykinin-antagonist *in vivo* studies. **Br. J. Pharmacol.**, **102**: 774-777, 1991.
- WONG, P.C., REILLY, T.M., AND TIMMERMANS, P.B.M.W.M. Angiotensin II mononuclear antibody: blood pressure effects in normotensive and spontaneously hypertensive rats. **Eur. J. Pharmacol.**, **186**: 353-356, 1990.
- YANAGISAWA, M., KURIHARA, K., KIMURA, S., TOMOBE, Y., KOBAYASHI, M., MITSUI, Y., YAZAKI, Y., GOTO, K., MASAKI, T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. **Nature**, **332**: 411-415, 1988.

7 SUMMARY

The changes induced in the mean arterial blood pressure (MABP) of anaesthetised rats following the administration of armed spider (*Phoneutria nigriventer*) venom have been investigated. The intravenous injection of *Phoneutria nigriventer* venom (PNV; 0.1 mg/kg) evoked a brief and reversible decrease in the MABP whereas a higher dose of venom (0.3 mg/kg) caused a biphasic response characterized by a short lasting hypotension followed by a sustained and prolonged hypertension (40-50 min). These changes were accompanied by tachycardia, salivation, fasciculations, defecation and respiratory disturbances. Pretreatment of the animals with atropine (10 mg/kg), propranolol (100 mg/kg), phenoxybenzamine (100 mg/kg) and indomethacin (4 mg/kg) did not significantly affect the MABP changes induced by PNV. Similarly, the bradykinin B₂ receptor antagonist Hoe 140 (0.6 mg/kg), the PAF antagonist WEB 2086 (20 mg/kg), the NK₁ receptor antagonist SR 140333 (0.5 mg/kg) and the nitric oxide synthase inhibitor N^ω-nitro-L-arginine methyl ester (10 mg/kg) had no significant effect on the PNV-induced MABP changes. The increase in the MABP induced by PNV was also not significantly affected by either angiotensin II receptor antagonist losartan (10 mg/kg) or the endothelin ET_A receptor antagonist FR 139317 (30 mg/kg). The ATP-dependent potassium channel antagonist glibenclamide (50 mg/kg) reduced by 40% the hypotension induced by PNV without affecting the hypertensive response. Pretreatment of the animals with L-type Ca²⁺ channel antagonists such as verapamil (10-100 µg/kg/min), diltiazem (40-120 µg/kg/min) and nifedipine (0.3-10 mg/kg) markedly attenuated the PNV-induced hypertension. Verapamil (30 µg/kg/min) and diltiazem (120 µg/kg/min) also promptly reversed the established hypertension induced by PNV when infused 8 min after venom injection. Our results indicate that the brief decrease of blood pressure induced by PNV is partially due to ATP-dependent or calcium activated channels activation. The prolonged hypertension seems to result from direct calcium entry in vascular and/or cardiac muscles.

Phoneutria nigriventer venom (PNV; 50 and 100 µg) was also investigated in isolated rat hearts by the Langendorff method. Doses of 50 µg evoked a

significant positive inotropism (increase of left ventricle developed pressure; LVDP) associated with discrete positive chronotropism. Higher doses of PNV (100 μ g) caused an immediate increase of LVDP followed by bradycardia and temporary atrium-ventricle blockad (AVB). This was accompanied by significant reduction of coronary blood flow. These changes were prevented by the β -blocker propranolol indicating that such effects are caused by activation of sympathetic nerve endings and hence noradrenaline release. Since atropine potentiated the increase of LVDP and attenuated the bradycardia induced by PNV, it is likely that PNV also induces the release of acetylcholine from parasympathetic nerve endings. However, the release of both noradrenaline and acetylcholine from the rat hearts does not probably account for the cardiovascular changes observed *in vivo*. The *in vivo* effect is likely to be of peripheral or CNS, rather than cardiac, origin.