



ERRATA:

- Página 82, 14ª linha: O quarto item foi **excluído do texto**, já que o bloqueio dos receptores α_1 -adrenérgicos com o prazosin inibiu de maneira significativa a injeção intravenosa do veneno.

Vanessa Estato de Freitas

**INVESTIGAÇÃO DOS EFEITOS
CARDIOVASCULARES CENTRAIS DO
VENENO DA ARANHA *Phoneutria nigriventer*
EM COELHOS ANESTESIADOS**

**UNICAMP
-1999-**

Vanessa Estato de Freitas

**INVESTIGAÇÃO DOS EFEITOS
CARDIOVASCULARES CENTRAIS DO VENENO
DA ARANHA *Phoneutria nigriventer* EM
COELHOS ANESTESIADOS**

Dissertação de Mestrado, apresentada ao
Curso de Pós-Graduação em
Farmacologia da Faculdade de Ciências
Médicas da Universidade Estadual de
Campinas, para obtenção do título de
Mestre em Ciências na área de
Farmacologia.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Vera
Tibiriçá

UNICAMP
-1999-

UNIDADE	BC
N.º CHAMADA:	
V.	Ex
TOMBO BC/	3 F 739
PROG.	229/99
C	☐
D	☒
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	02/06/99
N.º CPD	

CM-00123808-4

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

F884i

Freitas, Vanessa Estado de

Investigação dos efeitos cardiovasculares centrais do veneno da aranha *Phoneutria Nigriventer* em coelhos anestesiados/ Vanessa Estado de Freitas. Campinas, SP : [s.n.], 1999.

Orientador: Eduardo Vera Tibiriça

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

I. Venenos de aranha. 2. Sistema Nervoso Central. 3. Hipertensão. I. Eduardo Vera Tibiriça. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.



UNICAMP

Banca Examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador:

Prof. Dr. Eduardo Tiberiça

Membros:

1. Profa. Dra. Maria Alice da Cruz Hölling

2. Prof. Dr. Benedito Machado

Curso de Pós-Graduação em Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas.

Data: 30/03/99

À toda a equipe do Laboratório de Inflamação da FIOCRUZ, pela simpatia e sugestões na apresentação prévia desta tese e em especial à Ana Lúcia Pires por sua ajuda em escanear e elaborar figuras.

À toda equipe do Laboratório de Toxinologia da FIOCRUZ, pelas ótimas sugestões na apresentação prévia desta tese e em especial à Belsie Guerrero por sua gentileza em conseguir materiais que me foram muito úteis.

Às secretárias do Departamento de Fisiologia e Farmacodinâmica da FIOCRUZ, Andrea Santos e Célia e do departamento de Ensino, Cleide e Eliete pela ajuda nos detalhes administrativos.

Ao pessoal da secretaria do Departamento de Farmacologia da UNICAMP, Wanderlei Claro e Gislaine Alipio pela disposição simpatia em solucionar problemas administrativos.

Ao pessoal do Biotério da FIOCRUZ, Edson e Nelson, pelo cuidado no trato com os animais.

Às minhas amigas Cristiana Garcia, Paula Seabra, Renata Dupré, Katherine Albuquerque, Tula Mello e Paola Giganti pela amizade incondicional e pelo carinhoso incentivo.

À Maria Aparecida Garcia, ao Mario e Estephania Estado, que mesmo de longe sempre contribuíram com muito carinho para a minha formação.

À Capes pelo auxílio financeiro.

*Dedico este trabalho às pessoas que mais amo,
À minha mãe, às minhas irmãs e ao André
por encherem de alegria a minha vida.*

*Ao meu pai, que mesmo distante
sempre se interessou em
dar sugestões relevantes.*

SUMÁRIO

RESUMO

LISTA DE ABREVIATURAS

I	INTRODUÇÃO	1
I.1	A aranha <i>Phoneutria nigriventer</i>	1
I.2	Sintomatologia do envenenamento pela <i>Phoneutria nigriventer</i>	2
I.3	A bioquímica e a farmacologia do veneno da <i>Phoneutria nigriventer</i>	3
I.4	Efeitos cardiovasculares do veneno da <i>Phoneutria nigriventer</i>	6
I.5	O controle central do tônus vascular e da pressão arterial	7
II	OBJETIVOS	12
III	MATERIAL E MÉTODOS	13
III.1	Animais e medidas hemodinâmicas	13
III.2	Injeções intracerebrais	14
III.3	Desmedulação	16
III.4	Protocolos experimentais	16
III.4.1	Estudo dos efeitos cardiovasculares sistêmicos do veneno da <i>Phoneutria nigriventer</i>	16
III.4.1.1	Estudo dos efeitos do bloqueio dos receptores α_1 -adrenérgicos na resposta hipertensora induzida pelo veneno da <i>Phoneutria nigriventer</i>	17

III.4.2	Estudo dos efeitos cardiovasculares centrais do veneno da <i>Phoneutria nigriventer</i>	17
III.4.2.1	Estudo dos efeitos do antagonismo dos receptores da acetilcolina, bradicinina, angiotensina e L-glutamato na resposta hipertensora induzida centralmente pelo veneno da <i>Phoneutria nigriventer</i>	17
III.4.2.2	Estudo dos efeitos do antagonismo dos receptores α_1 -adrenérgicos periféricos na resposta hipertensora induzida centralmente pelo veneno da <i>Phoneutria nigriventer</i>	17
III.4.3	Estudo dos efeitos sistêmicos do veneno da <i>Phoneutria nigriventer</i> em coelhos desmedulados	18
III.4.3.1	Estudo dos efeitos do antagonismo dos receptores α_1 e β -adrenérgicos na resposta sistêmica induzida pelo veneno da <i>Phoneutria nigriventer</i> em coelhos desmedulados	18
III.5	Veneno	18
III.5.1	Diálise do veneno	19
III.6	Drogas	19
III.7	Análise estatística	20
IV	RESULTADOS	21
IV.1	Efeitos cardiovasculares sistêmicos do veneno da <i>Phoneutria nigriventer</i>	21
IV.1.1	Efeitos do bloqueio dos receptores α_1 -adrenérgicos periféricos sobre a resposta hipertensora induzida sistemicamente pelo veneno da <i>Phoneutria nigriventer</i>	27

IV.2	Efeitos cardiovasculares centrais do veneno da <i>Phoneutria nigriventer</i>	32
IV.2.1	Efeitos do bloqueio dos receptores centrais da acetilcolina, bradicinina, angiotensina II, e L-glutamato sobre a resposta hipertensora induzida centralmente pelo veneno da <i>Phoneutria nigriventer</i>	33
IV.2.2	Efeitos do bloqueio dos receptores α_1 -adrenérgicos periféricos sobre a resposta hipertensora induzida centralmente pelo veneno da <i>Phoneutria nigriventer</i>	59
IV.3	Efeitos hemodinâmicos do veneno da <i>Phoneutria nigriventer</i> em animais desmedulados	64
IV.3.1	Efeitos do antagonismo dos receptores α_1 e β -adrenérgicos sob a resposta hemodinâmica induzida pelo veneno da <i>Phoneutria nigriventer</i> em animais desmedulados	66
V	DISCUSSÃO	73
VI	CONCLUSÕES	83
VII	SUMMARY	84
VIII	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86

RESUMO

A aranha *Phoneutria nigriventer*, popularmente conhecida como aranha armadeira, é responsável pelo maior número de acidentes com araneídeos na América do Sul, particularmente no Brasil. As manifestações clínicas observadas após o envenenamento incluem sudorese, hipotermia, fasciculação muscular generalizada, vômitos, arritmias cardíacas, taquicardia e hipertensão arterial. Estudos recentes descreveram os efeitos cardiovasculares do veneno da *P. nigriventer* após a administração intravenosa em ratos anestesiados, quando o veneno causa uma resposta bifásica da pressão arterial, caracterizada por hipotensão transitória seguida por hipertensão prolongada. Demonstrou-se ainda que os efeitos cardiovasculares produzidos pelo veneno não envolvem a participação de mediadores endógenos sistêmicos como a bradicinina, a acetilcolina, a angiotensina II, o óxido nítrico, o PAF e as catecolaminas entre outros.

No presente estudo investigamos os efeitos cardiovasculares do veneno da *P. nigriventer* em coelhos anestesiados, assim como os mecanismos de ação da resposta hipertensora induzida pelo veneno. Os experimentos foram realizados em coelhos albinos New Zealand anestesiados com barbitúricos, imobilizados e artificialmente ventilados. Para a avaliação dos efeitos hemodinâmicos do veneno da *P. nigriventer*, foram monitorizados a pressão arterial, frequência cardíaca, débito cardíaco, pressões do ventrículo esquerdo e dP/dt_{max} . A injeção intracerebroventricular do veneno da *P. nigriventer* (100 μ g/kg) induziu importantes aumentos de pressão arterial, queda no débito cardíaco e aumento da resistência vascular sistêmica e inotropismo positivo. Ao contrário, a injeção da mesma dose do veneno pela via sistêmica induziu

hipotensão arterial e queda da resistência vascular sistêmica. O pré-tratamento i.c.v. com diversos antagonistas de neuromoduladores ou neurotransmissores envolvidos no controle central da pressão arterial tais como a bradicinina, acetilcolina, angiotensina II e o glutamato não foi eficaz em inibir os feitos hipertensores induzidos pelo veneno. O tratamento com ifenprodil, um modulador do sítio das poliaminas do receptor NMDA, bloqueou parcialmente a resposta cardiovascular à injeção i.c.v. do veneno.

Utilizamos também a técnica de desmedulação dos animais, com o propósito de eliminar a participação do sistema nervoso central na resposta induzida sistemicamente pelo veneno. Os resultados observados neste trabalho demonstraram que a administração intravenosa do veneno induz uma resposta hipertensora devida, provavelmente, à ativação do sistema nervoso simpático, com conseqüente ativação dos receptores α -adrenérgicos, já que a administração intravenosa de prazosin bloqueou a resposta induzida centralmente pelo veneno. Finalmente, em animais íntegros, o tratamento com o prazosin por via intravenosa bloqueou os efeitos cardiovasculares induzidos após a administração sistêmica ou central do veneno da *P. nigriventer*.

Nossos resultados sugerem que os efeitos cardiovasculares produzidos pelo veneno da *P. nigriventer* possuem componentes de ação central e periférica. O mecanismo de ação central teria como via efetora final a ativação do sistema nervoso simpático e conseqüente ativação dos receptores alfa-adrenérgicos ao passo que o mecanismo de ação periférica, provavelmente envolve a ativação direta e/ou indireta dos receptores α -adrenérgicos vasculares.

LISTA DE ABREVIATURAS

CVLM	Porção caudal da região ventrolateral bulbar
DC	Débito cardíaco
DP/dt _{max}	Velocidade máxima de aumento de pressão no ventrículo esquerdo
E.P.M.	Erro padrão da média
FC	Frequência cardíaca
i.c.v.	Intracerebroventricular
i.v.	Intravenosa
NMDA	N-metil-D-aspartato
NTS	Núcleo do trato solitário
PA	Pressão arterial
PAD	Pressão arterial diastólica
PAM	Pressão arterial média
PAS	Pressão arterial sistólica
PNV	Veneno da <i>Phoneutria nigriventer</i>
PV	Pressão do ventrículo esquerdo
RVLM	Porção rostral da região ventrolateral bulbar
SCP	Substância cinzenta periaquedutal
SNC	Sistema nervoso central

Introdução

I INTRODUÇÃO

1.1 A aranha *Phoneutria nigriventer*

As aranhas do gênero *Phoneutria* são também popularmente conhecidas como aranhas armadeiras, devido à posição característica de armar-se que adotam quando ameaçadas, apoiando-se nas patas traseiras e erguendo as dianteiras (Bücherl e col., 1971; Lucas 1988; Bucarety, 1992; Lucas e Silva Júnior, 1992). A *Phoneutria nigriventer*, é nativa da América do Sul, ocorrendo do sul do Rio de Janeiro até o Uruguai, podendo eventualmente ser introduzida em outras regiões por carregamentos de bananas (atribuiu-se outro nome popular, "aranha de bananeira") (Simó e col., 1984).

São aracnídeos agressivos, que picam com facilidade. Possuem hábitos noturnos, permanecendo refugiados durante o dia, podendo procurar também refúgio em utensílios de uso doméstico, aumentando a probabilidade de ocorrência de acidentes. São freqüentemente encontradas em zonas rurais, próximas às residências e por não construírem teias, vivem em bananeiras, fendas em madeiras e em materiais de construção. São animais que se alimentam ativamente, dominando suas presas com suas quelíceras e inoculando seu eficiente veneno através dos ferrões inoculadores (Lucas e col., 1988)

Dentre as espécies do gênero *Phoneutria*, a *P. nigriventer* é seguramente a de maior importância clínica (Lucas e Meier, 1995) pois é responsável pelo maior número de acidentes com araneídeos nas regiões sul e sudeste do

Brasil (Lucas 1988; Bucarechi, 1992). De acordo com dados do Centro de Controle de Intoxicação (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. Sua peçonha vem sendo objeto de uma série de estudos bioquímicos e farmacológicos, devido à sua toxicidade e seus efeitos biológicos causados às vítimas de acidentes.

1.2 Sintomatologia do envenenamento pela *Phoneutria nigriventer*

As manifestações clínicas predominantes do envenenamento foram descritas primeiramente por Vital Brazil e Vellard (1925, 1926). Na maioria dos casos, os sintomas se apresentam logo após a picada e consistem de dor local intensa, que pode eventualmente irradiar-se por todo o membro atingido. Essas manifestações locais podem ser acompanhadas de alterações sistêmicas tais como náuseas, vômitos, priapismo, taquicardia ou bradicardia, hiper ou hipotensão arterial e ocasionalmente arritmias cardíacas.

Apesar da alta incidência de envenenamentos por esta espécie de aranha, em 90 % dos casos o envenenamento é de pouca relevância clínica, em 9 % dos casos, o envenenamento é moderado e em 1 % dos casos são considerados envenenamentos graves (White e col., 1995). O envenenamento leve está normalmente associado a dor local, sudorese, eritema e taquicardia. Já os casos de envenenamento moderados e severos, estão associados às alterações descritas acima, porém, acompanhadas de diarreia, vômitos, fasciculação muscular generalizada, sialorréia, priapismo e alterações

hemodinâmicas caracterizadas como hipertensão arterial, bradicardia, arritmias cardíacas, edema pulmonar agudo e choque cardiovascular (Schenberg & Pereira Lima, 1962; Bucarety, 1992).

As primeiras medidas a serem tomadas após a picada da aranha são assepsia e compressas de gelo no local atingido, anestesia local com injeção subcutânea de lidocaína à 2 % (uma injeção é suficiente em 66 % dos casos). Para os casos moderados e severos de envenenamento, a administração intravenosa ou subcutânea de soro antiaracnídeo polivalente (Instituto Butantan, S.P.) se faz necessária, embora seja mais freqüentemente empregado em crianças e idosos (White e col., 1995).

1.3 A Bioquímica e a farmacologia do veneno da *Phoneutria nigriventer*

Desde as primeiras investigações feitas por Fischer e Bohn (1957), as toxinas de aproximadamente 90 espécies de aranhas foram examinadas, mas apenas algumas delas foram caracterizadas quimicamente. Os componentes fundamentais encontrados no veneno de aranhas são polipeptídeos e proteínas que podem ser neurotóxicas (Vital Brazil e Vellard, 1925), citotóxicas ou enzimaticamente ativas. Componentes de baixo peso molecular como histamina e serotonina assim como sais inorgânicos também podem estar presentes e aumentar a eficácia do veneno (Schulz, 1997).

Estudos farmacológicos do veneno da *P. nigriventer* vem sendo realizados há mais de 40 anos com o propósito de elucidar os mecanismos de ação envolvidos nos seus efeitos. As primeiras descobertas demonstraram que o veneno da *P. nigriventer* contém polipeptídeos capazes de promover

bloqueio neuromuscular em músculo gastrocnêmico de rato (Barrio, 1955). Fontana e Vital Brazil (1985) demonstraram que o veneno da *P. nigriventer* ativa canais de sódio dependentes de voltagem em membranas de células musculares e nervosas aumentando a frequência dos potenciais da placa motora, acarretando o bloqueio neuromuscular. Posteriormente, estudos em átrio isolado de cobaia demonstraram que a ativação de canais de sódio dependentes de voltagem induzida pelo veneno da *P. nigriventer*, promove efeitos inotrópicos e cronotrópicos, negativos e positivos, decorrentes da liberação de acetilcolina e noradrenalina das terminações autonômicas. Foi atribuído a essa atividade a gênese das alterações cardiovasculares ocorridas no envenenamento em humanos (Vital Brazil e col., 1988).

Diversos estudos já foram realizados utilizando algumas frações purificadas do veneno. Três frações do veneno que apresentam neurotoxicidade foram isoladas: PhTx1, PhTx2 e PhTx3. A fração PhTx1 causa ativação de canais de sódio dependentes de voltagem, a PhTx2 inibe o fechamento desses canais sem causar despolarização significativa da membrana (Rezende e col., 1991, Araújo e col., 1993) e ainda , provoca o aumento do influxo de Na^+ e Ca^{++} em sinaptosomas de rato levando à liberação de glutamato (Romano-Silva e col., 1993). Já a fração PhTx3, inibe a liberação do glutamato nesses sinaptosomas, através do bloqueio de canais de Ca^{++} (Prado e col., 1996). Estudos com a fração PhTx4 (1-6), demonstraram que injeções intracerebroventriculares do veneno em camundongos não resultaram em sintomas de intoxicação, no entanto esta mesma fração causou sintomas de intoxicação em insetos quando injetada via intratorácica, sugerindo uma ação inseticida (Figueiredo e col., 1995).

Antunes e col., (1992) demonstraram a existência de propriedades inflamatórias do veneno da *P. nigriventer* através de injeções intradérmicas do veneno na pele de ratos e coelhos, promovem aumento da permeabilidade vascular levando à formação de edema local. Tais estudos sugerem que esses efeitos inflamatórios devem-se provavelmente à presença de componentes edematogênicos (provavelmente peptídeos), os quais não são inibidos por antagonistas de histamina e serotonina. Estudos posteriores revelaram que esse aumento da permeabilidade vascular em pele de coelhos é devido à ativação do sistema calicreína tissular, levando a formação local de cininas (Marangoni, 1993a). Dados mais recentes sugerem que, em ratos, ao contrário dos estudos com coelhos, a formação de edema local é parcialmente dependente da ativação de receptores NK₁ de taquicinas, indicando um mecanismo neurogênico (Palframan e col., 1996).

O veneno da *P. nigriventer* contém ainda componentes não dialisáveis capazes de contrair tecidos vasculares isolados como veia cava e artéria pulmonar de coelho (Antunes e col., 1993). Finalmente, o veneno da *P. nigriventer* promove a liberação de óxido nítrico com conseqüente relaxamento da musculatura lisa do corpo cavernoso de coelho, através da ativação do sistema calicreína tissular (Lopes-Martins e col., 1994).

1.4 Efeitos cardiovasculares do veneno da *P. nigriventer*

Embora sejam numerosos os relatos de efeitos cardiovasculares induzidos pelo envenenamento com a *P. nigriventer*, pouco se sabe sobre os mecanismos de ação envolvidos nesta resposta. Costa e col. (1996) investigaram os efeitos do veneno em coração isolado de rato e os efeitos hemodinâmicos do veneno em ratos anestesiados.

Demonstrou-se que a administração intravenosa de baixas doses do veneno (100 µg/kg) promove uma resposta hipotensora rápida e reversível. No entanto, uma dose maior do veneno induziu uma resposta hemodinâmica bifásica, caracterizada por hipotensão arterial transitória, seguida de hipertensão arterial prolongada e discreto aumento da frequência cardíaca. Tais alterações foram acompanhadas por fasciculações generalizadas, diurese, defecação e sialorréia. Doses mais elevadas do veneno (600 µg/kg) produziram alterações mais intensas levando à morte 75 % dos animais.

Nos estudos *in vitro* em corações isolados, a administração intra-aórtica em bolus do veneno da *P. nigriventer* (50 e 100 µg) induziu alterações cardíacas dependentes da dose, caracterizadas por inotropismo e cronotropismo positivo e queda do fluxo coronariano, culminando em bloqueio átrio-ventricular. Doses mais elevadas do veneno (100 µg) causaram inotropismo positivo seguido de bradicardia e bloqueio átrio-ventricular intenso. Tal bloqueio foi revertido rapidamente, seguido de arritmias e de aumento da pressão diastólica. A perfusão com atropina potencializou o inotropismo e o cronotropismo positivo induzidos pelo veneno e reduziu discretamente as arritmias, sugerindo que as alterações induzidas pelo veneno são decorrentes

da liberação de acetilcolina das terminações parassimpáticas vagais. A perfusão com propranolol aboliu as alterações induzidas pelo veneno e a queda do fluxo coronariano foi prevenida. Tais achados sugerem que os efeitos cardíacos induzidos são decorrentes da liberação de noradrenalina das terminações simpáticas do coração. Apesar dos resultados *in vitro*, demonstrou-se ainda neste trabalho que *in vivo*, a hipertensão arterial induzida pelo veneno da *P. nigriventer* não se deve à liberação de catecolaminas ou de produtos do metabolismo do ácido araquidônico, já que o antagonismo dos receptores α - e β - adrenérgicos, assim como inibidores da ciclooxygenase, não tiveram efeito sobre essa resposta. Mediadores endógenos como bradicinina, óxido nítrico, PAF, endotelina e angiotensina II, foram também excluídos como possíveis envolvidos nesses efeitos. Os autores concluíram que o breve decréscimo da pressão arterial induzida pelo veneno é parcialmente devido à ativação de canais de K^+ -ATP- dependentes, enquanto que a hipertensão prolongada promove *in vivo* a abertura de canais de Ca^{++} tipo-L voltagem dependentes.

Com base nesses resultados, emitiu-se a hipótese segundo a qual a possibilidade dessas alterações hemodinâmicas induzidas pelo veneno da *P. nigriventer* estarem sendo mediadas, pelo menos em parte, pela ativação de estruturas neuronais no sistema nervoso central.

1.5 O controle central do tônus vascular e da pressão arterial

O envolvimento do sistema nervoso central no controle do sistema cardiovascular, e especialmente na modulação do tônus vascular, é conhecido há mais de um século (ver Dampney, 1981). Sabe-se que estruturas neurais

responsáveis pela geração do tônus vascular estão localizadas no bulbo, já que transecções no tronco cerebral ao nível do mesencéfalo ou da ponte, não modificam os níveis basais de pressão arterial nem a atividade dos nervos simpáticos, ao passo que uma secção realizada ao nível da primeira vértebra cervical induz uma queda drástica da pressão arterial. (Huang e col., 1987, 1988; ver Bard, 1960).

Em 1946, Alexander demonstrou, através de estudos funcionais e eletrofisiológicos, a existência de uma região bulbar, na época denominada “centro vasomotor bulbar”, dotada de atividade vasomotora intrínseca. Estudos mais aprofundados demonstraram que esta região, hoje denominada RVLM (porção rostral da região ventrolateral bulbar - *rostral ventrolateral medulla*), é considerada a principal região bulbar responsável pela atividade vasomotora tônica (Feldelberg e Guertzenstein, 1972; Bousquet e Guertzenstein, 1973). Os neurônios vasomotores da RVLM estão presentes em áreas que quando estimuladas eletricamente ou farmacologicamente, aumentam dramaticamente as descargas nervosas simpáticas e conseqüentemente a pressão arterial. E ainda, quando inibidas, resultam em imediata abolição da atividade vasomotora simpática basal, levando a pressão arterial para níveis espinhais (ver Sun, 1995).

A RVLM têm grande importância como um centro integrativo. Os neurônios vasomotores desta região, recebem aferências de numerosas estruturas cerebrais e as projetam para a medula espinhal, formando conexões mono-sinápticas com neurônios simpáticos pré-ganglionares que por sua vez fazem sinapses com neurônios pós-sinápticos que trafegam pelas fibras

vasoconstritoras simpáticas, atingindo quase todos os vasos sanguíneos do organismo.

Os núcleos que se projetam diretamente para o RVLM, incluem o NTS (núcleo do trato solitário) (Somogyi e col., 1989), CVLM (porção caudal da região ventrolateral bulbar), núcleo medular da rafe (Dampney e col., 1987), hipotálamo lateral e os núcleos amigdalóides centrais (Takayama e Miura, 1991). Esses núcleos por sua vez possuem também conexões nervosas com órgãos e regiões circunventriculares, isentos de barreira hematoencefálica, que estão envolvidos no controle cardiovascular, tais como o órgão subfornical, a área postrema, o núcleo paraventricular hipotalâmico e a substância cinzenta periaquedutal (SCP) (Ferguson, 1992; Gross, 1992).

O órgão subfornical recebe aferências do NTS (Zardetto-Smith e Gray, 1987), do hipotálamo lateral (Tanaka e col., 1986) e núcleos da rafe mesencefálicos (Lind, 1986). Os núcleos do órgão subfornical são sensores diretos da osmolaridade (Gutman e col., 1988; Sibbald e col., 1988) e são também ativados por aumentos nos níveis de angiotensina II circulante (Okuya e col., 1987; Tanaka e col., 1987), estimulando a produção de vasopressina pela hipófise posterior e induzindo aumento da pressão arterial (Knepel e col., 1982; Mangiapane e col., 1982; Ferguson e Renaud, 1984; Sibbald e col., 1988). A estimulação elétrica deste órgão, induz aumentos de pressão arterial de curta e longa duração (Ferguson e Renaud, 1984; Gutman e col., 1985).

A área postrema localiza-se na superfície dorsal do bulbo. É também desprovida de barreira hematoencefálica, logo é susceptível à ação de vários peptídeos circulantes que induzem efeitos cardiovasculares, tais como a vasopressina (Undersser e col., 1985; Hasser e Bishop, 1991), a endotelina

(Ferguson e Smith, 1991) e a angiotensina II (Papas e col., 1990). Os neurônios presentes nesta área se projetam para o NTS (Shapiro e Miselis, 1985), complexo parabraquial e RVLM (Dampney e col., 1987), desempenhando um importante papel no controle do sistema nervoso autônomo. A estimulação elétrica deste área provoca o aumento da pressão arterial (Barnes e col., 1979; Gatti e col., 1988), devido a ativação de projeções simpáticas para a medula supra-renal (Hartle e Soliman, 1990).

O hipotálamo tem grande importância na manutenção da homeostase e na integração de mecanismos homeostáticos (Moore, 1987). Dentre as diversas funções que o hipotálamo desempenha, três delas são de grande relevância: a primeira é a regulação da hipófise anterior, secretando hormônios que regulam a produção e secreção de hormônios hipofisários. A segunda função hipotalâmica é a regulação do balanço hídrico, realizada através da produção de vasopressina por neurônios supraópticos e paraventriculares. A terceira função é a regulação autonômica, controlando mecanismos simpáticos e parassimpáticos através de vias descendentes da medula espinhal (Moore, 1987).

A SCP está envolvida em diversos tipos de regulação funcional, tais como percepção da dor, antinocicepção e reação de defesa (Bandler e Depaullis, 1991). As respostas cardiovasculares relacionadas à reação de defesa, podem ser induzidas pela microinjeção de aminoácidos excitatórios na SCP (Tan e Dampney, 1983).

O presente trabalho tem como principal objetivo estudar os efeitos cardiovasculares centrais induzidos por injeções diretas do veneno da *P. nigriventer* no sistema nervoso central. Para isso utilizou-se a via de

administração intracerebroventricular (i.c.v.), já que por difusão no líquido cefalorraquidiano, atingirá todas as regiões supra citadas, envolvidas de alguma forma na regulação da pressão arterial. É importante ressaltar que a administração sistêmica de altas doses do veneno, pode também atingir regiões envolvidas no controle cardiovascular, desprovidas ou não de barreira hematoencefálica, já que existem relatos demonstrando que o veneno da *P. nigriventer* pode promover a ruptura desta barreira em ratos (Le Sueur, 1998).

Objetivos

II OBJETIVOS

1. Investigar os efeitos cardiovasculares do veneno da aranha *Phoneutria nigriventer* em coelhos anestesiados.
2. Determinar os mecanismos de ação envolvidos na resposta cardiovascular induzida pelo veneno.

Material e Métodos

III MATERIAL E MÉTODOS

III.1 Animais e medidas hemodinâmicas:

Os experimentos foram realizados com coelhos albinos New Zealand de ambos os sexos pesando de 2 a 3 kg, provenientes do Biotério Central da Fundação Oswaldo Cruz. Os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico (40 mg/kg, i.v.) pela veia marginal da orelha, sendo administrada dose suplementar de anestesia (5 mg/kg, i.v.) quando necessário. Os coelhos foram traqueostomizados, entubados com uma cânula de polietileno, e imobilizados com brometo de pancurônio (1 mg/kg, i.v.), com doses suplementares de 0.2 mg/kg por cada hora de experimento e ventilados artificialmente com ventilador mecânico (Rodent ventilator 7025, Ugo Basile) com um volume de 10 ml/kg e frequência de 25 ciclos/min. A veia femoral direita foi cateterizada para a administração das drogas.

A pressão arterial foi monitorada através de cateter colocado na aorta abdominal via artéria femoral direita, e conectado a um transdutor de quartzo Hewlett Packard (1290 A), o qual foi conectado a um processador e registrador de pressão arterial Hewlett Packard (sistema 7754 com amplificador 8805 B).

As pressões arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD) foram obtidas diretamente dos registros e a pressão arterial média (PAM) foi calculada pela soma da PAD com um terço da pressão diferencial. A frequência cardíaca foi determinada pela contagem de ondas de pressão, visualizadas com um aumento da velocidade do papel do registrador.

O débito cardíaco (DC) foi continuamente monitorado, utilizando-se uma sonda eletromagnética, conectada a um fluxômetro Skalar modelo MDL 1401. A sonda foi colocada em torno da aorta ascendente através de uma toracotomia esquerda, entre as segunda e terceira costelas. Foi feita uma incisão no pericárdio e o coração exposto, para possibilitar a visualização e dissecação da aorta, para a colocação da sonda eletromagnética. A resistência vascular sistêmica (RVS) foi calculada como quociente da pressão arterial média pelo débito cardíaco, multiplicado por um fator de conversão (80) e expresso em $\text{dyn}/\text{seg}/\text{cm}^5$.

As pressões do ventrículo esquerdo (PV) e a velocidade máxima de aumento de pressão no ventrículo esquerdo (dP/dt_{max}) foram medidas por um micromanômetro de precisão situado na extremidade de um catéter (MTC mod. 3FC), conectado a um diferenciador Ugo Basile mod. 7081). O micromanômetro foi colocado no ventrículo esquerdo via artéria carótida direita.

Após a finalização dos procedimentos cirúrgicos, permitiu-se um período de 15 minutos para a estabilização dos parâmetros cardiovasculares. Antes de qualquer manipulação farmacológica foram obtidos as medidas de pressão arterial média, frequência cardíaca e débito cardíaco. Estes valores foram considerados valores hemodinâmicos basais.

III.2 Injeções intracerebrais

Após a fixação da cabeça do animal em um aparelho de estereotaxia (Unimécanique, Epinay/Seine, França), foi feita uma craniotomia e a *dura-mater* seccionada. Uma agulha hipodérmica (21 G), conectada a uma seringa

Hamilton de 500 µl (Hamilton Bonaduz AG, Suíça), foi inserida nas seguintes coordenadas estereotáticas a partir do bregma: antero-posterior: - 4,5 mm; lateral: 8,0 mm; profundidade: 6,0 mm da superfície do crânio (Sawyer et al., 1954), de modo a permitir as injeções no ventrículo lateral esquerdo. Uma outra agulha hipodérmica (27,5 G) foi colocada na cisterna magna através da membrana atlanto-occipital, de modo a permitir a livre circulação do líquido cefalorraquidiano, evitando a hipertensão intracraniana. As soluções de NaCl 0,9 % (salina), do veneno da *P. nigriventer* ou de substâncias utilizadas foram injetadas em um volume constante de 100 µl. Ao final de cada experimento, o mesmo volume de azul de Evans, foi administrado sob as mesmas condições. O cérebro foi retirado *post-mortem* e dissecado, para a confirmação da difusão apropriada das drogas no espaço ventricular.

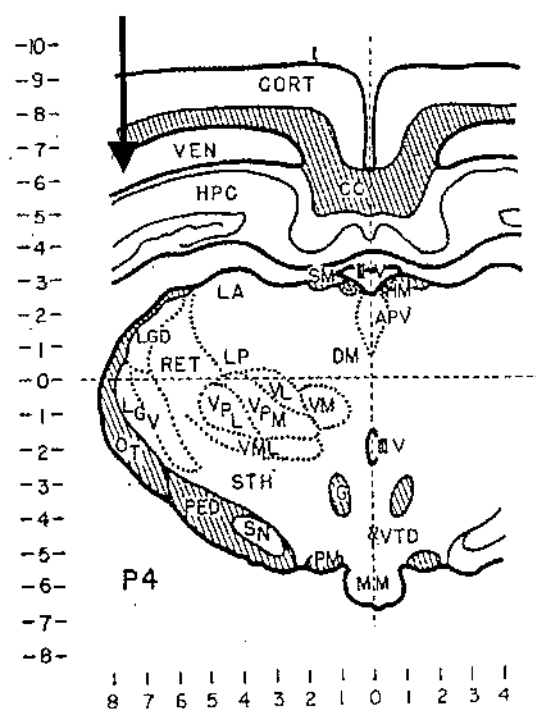


Figura 1: Representação de um corte transversal do cérebro de um coelho. A seta representa o local da injeção i.c.v. CORT, córtex cerebral; HPC, hipocampo; VEN, ventrículo esquerdo; CC, corpo caloso; de acordo com o atlas de Sawyer (1954).

III.3 Desmedulação

Um grupo de animais foi submetido a um processo de desmedulação desenvolvido de acordo com a técnica descrita por Szabo e col., (1987; ver também Majewski e col., 1983 a). Com o uso de uma broca foi feito um orifício no osso parietal na linha média do crânio, através do qual uma haste de metal foi introduzida aproximadamente 25 cm no canal medular. Esta manipulação destrói a medula espinhal (substância cinzenta e branca) desconectando assim, o sistema nervoso central do sistema nervoso periférico.

III.4 Protocolos experimentais

Os animais foram separados em grupos de maneira aleatória. Todas as respostas hemodinâmicas registradas neste trabalho, foram medidas no momento do efeito máximo induzido pela administração do veneno da *P. nigriventer*.

III.4.1 Estudo dos efeitos cardiovasculares sistêmicos do veneno da *P. nigriventer*

Injeções do veneno da *P. nigriventer* nas doses de 100 µg/kg e 1 mg/kg foram administradas por via intravenosa e os parâmetros cardiovasculares foram observados durante 30 minutos.

III.4.1.1 Estudo dos efeitos do bloqueio dos receptores α_1 -adrenérgicos na resposta hipertensora induzida pelo veneno da *P. nigriventer*

Injeções de prazosin na dose de 100 µg/kg foram administradas por via intravenosa 5 minutos antes da injeção também intravenosa do veneno da *P. nigriventer* na dose de 1 mg/kg.

III.4.2 Estudo dos efeitos cardiovasculares centrais do veneno da *P. nigriventer*

Injeções do veneno da *P. nigriventer* nas doses de 30 e 100 µg/kg foram administradas por via intracerebroventricular (i.c.v.) e os parâmetros cardiovasculares foram observados durante 30 minutos.

III.4.2.1 Estudo dos efeitos do antagonismo dos receptores da acetilcolina, bradicinina, angiotensina e L-glutamato na resposta hipertensora induzida centralmente pelo veneno da *P. nigriventer*

Grupos distintos de animais foram pré-tratados com injeções intracerebroventriculares de atropina (10 µg), Hoe 140 (0,5 µg/kg), losartan (50 µg/kg), ifenprodil (100 µg/kg) e ácido kinurênico (500 µg/kg) (Monassier e col., 1994), 5 minutos antes da injeção intracerebroventricular do veneno da *P. nigriventer* (30 µg/kg) e os parâmetros hemodinâmicos foram analisados durante 30 minutos.

III.4.2.2 Estudo dos efeitos do antagonismo dos receptores α_1 -adrenérgicos periféricos na resposta hipertensora induzida centralmente pelo veneno da *P. nigriventer*

Um grupo de animais recebeu o pré-tratamento de prazosin (100 µg/kg) por via intravenosa, 5 minutos antes da administração intracerebroventricular

do veneno da *P. nigriventer* (30 µg/kg) e os parâmetros hemodinâmicos foram analisados durante 30 minutos.

III.4.3 Estudo dos efeitos sistêmicos do veneno da *P. nigriventer* em coelhos desmedulados

Em um grupo de animais foi feita a desmedulação como descrito anteriormente. Após a estabilização dos parâmetros hemodinâmicos durante um período de 30 minutos, foi feita a administração por via intravenosa de solução salina 5 minutos antes da administração, também intravenosa, do veneno da *P. nigriventer* na dose de 1 mg/kg (grupo controle).

III.4.3.1 Estudo dos efeitos do antagonismo dos receptores α_1 e β -adrenérgicos na resposta sistêmica induzida pelo veneno de *P. nigriventer* em coelhos desmedulados.

Em outros dois grupos de animais desmedulados, foram realizados os tratamentos com injeções intravenosas dos antagonistas dos receptores α e β adrenérgicos prazosin (100 µg/kg) e atenolol (0,5 mg/kg), respectivamente, 5 minutos antes da injeção intravenosa do veneno da *P. nigriventer* na dose de 1 mg/kg.

III.5 Veneno

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

III.5.1 Diálise do veneno

Já foi descrito anteriormente que o veneno da *P. nigriventer* contém pequenas quantidades de histamina (0,06 a 1,0 %) e serotonina (0,03 a 0,25 %) (Fisher e Bonh, 1957; Diniz, 1963), substâncias estas capazes de induzir efeitos centrais e periféricos, interferindo nas respostas pressóricas observadas com o veneno. Por esse motivo, utilizamos então, o veneno dialisado (Antunes e col.,1992).

Alíquotas de 10 ml da solução do veneno da *P. 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 quatro vezes. A remoção eficiente (> 99,9 %) de histamina e serotonina 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).

III.6 Drogas

As seguintes drogas foram utilizadas: acetilcolina, angiotensina II, atenolol, atropina, bradicinina, prazosin, ácido kinurênico (Sigma Chemical Co, St Louis, MO, E.U.A.), brometo de pancurônio (Pancuron, Cristália, Brasil), Hoe 140 ($[D\text{Arg}^3, \text{Thi}^5, D\text{Tic}^7, \text{Oic}^8]$ -bradicinina (Pharma Synthesis, Hoechst),

ifenprodil (Vadilex®, Synthelabo, França), losartan (Merk, E.U.A.), pentobarbital sódico, (Sanofi Santé Animale, Toulouse, França).

III.7 Análise estatística

Os resultados foram expressos como a média $\pm$ o erro padrão da média (E.P.M.), para cada grupo de animais. Os efeitos hemodinâmicos induzidos pelo veneno da *Phoneutria nigriventer* e pelos diferentes tratamentos foram analisados pelo teste *t* pareado de Student ou por análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas. Diferenças com valores de *P* menores que 0,05 foram consideradas significativas. Todos os cálculos foram feitos em computador, utilizando-se o programa estatístico Instat-2.0.

Resultados

IV RESULTADOS

IV.1 Efeitos cardiovasculares sistêmicos do veneno da *P. nigriventer*

As injeções intravenosas de baixas doses do *P. nigriventer* (100 µg/kg) em coelhos anestesiados, induziram uma resposta hipotensora transitória (1-3 min), caracterizada por quedas significativas na PAM (29 ± 4 %), PAS (23 ± 3 %), PAD (34 ± 6 %) e RVS (38 ± 5 %) acompanhadas de leve, porém significativo, efeito inotrópico negativo, com quedas da PV (16 ± 2 %) e dP/dt_{max} (8 ± 3 %) (tabela 1 e figuras 2 e 3). Não houve nenhuma alteração significativa da frequência cardíaca, nem do débito cardíaco. Por outro lado, a administração intravenosa de 1 mg/kg do veneno da *P. nigriventer*, induziu uma resposta hipertensora prolongada (mais de 30 min.), caracterizada por aumentos significativos na PAM (69 ± 9 %), PAS ($61 \pm 0,2$ %) e na PAD (78 ± 5 %); na RVS observou-se aumentos significativos ($108 \pm 0,8$ %), acompanhados de efeito inotrópico positivo, com aumentos de PV (47 ± 2 %) e aumento do dP/dt_{max} (51 ± 8 %). Não houve nenhuma alteração significativa na frequência cardíaca nem no débito cardíaco (tabela 2 e figura 4).

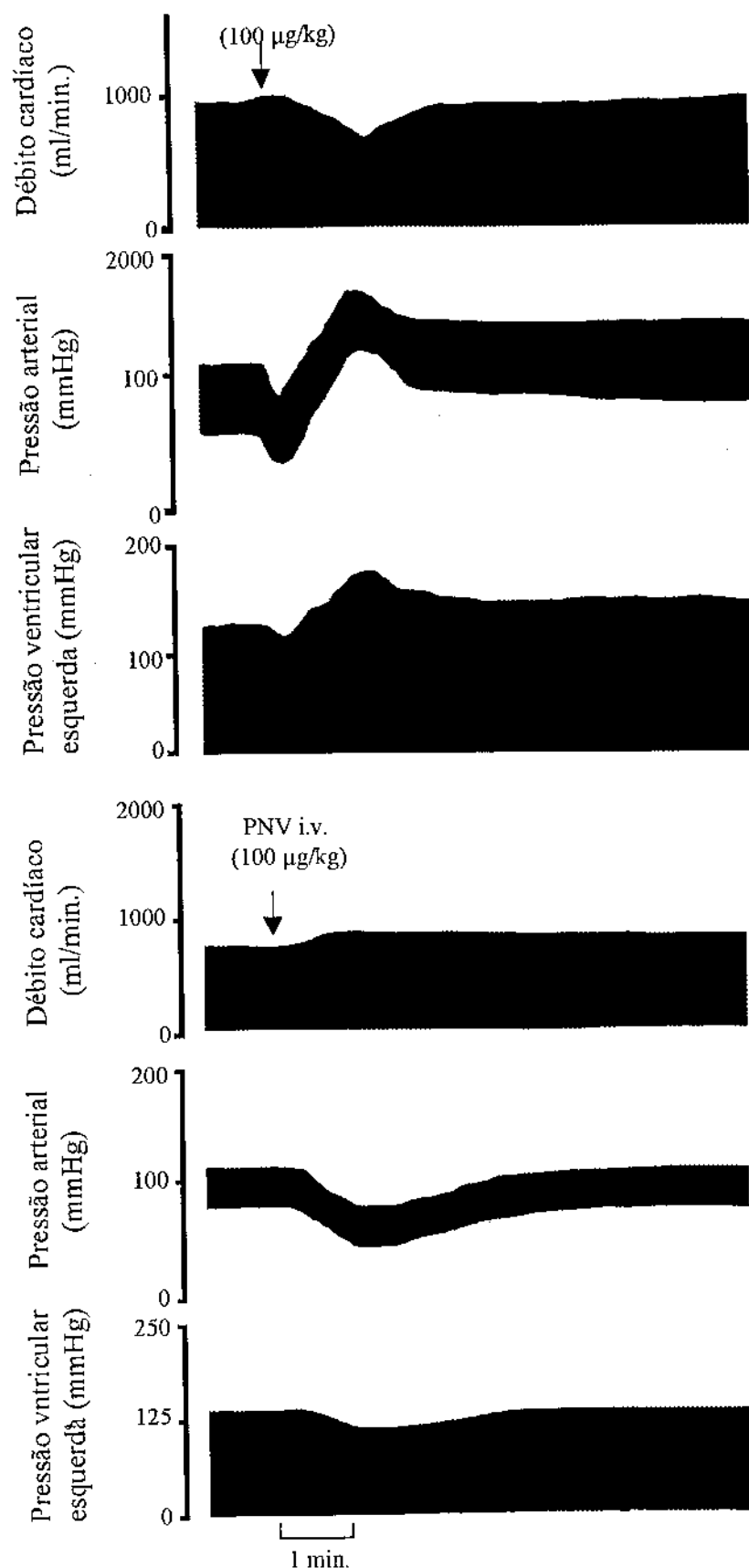


Figura 2: Traçado representativo dos efeitos cardiovasculares do veneno da *P. nigriventer* (100 µg/kg) por via intracerebroventricular (i.c.v.) e intravenosa (i.v.) sobre os parâmetros hemodinâmicos, pressão arterial, débito cardíaco e pressão do ventrículo esquerdo de coelhos anestesiados.

Tabela 1: Efeitos das injeções intravenosa e intracerebroventricular do PNV (100 µg/kg) sobre os parâmetros cardiovasculares de coelhos anestesiados.

	PNV i.v.				PNV i.c.v.			
	antes	depois	% Δ		antes	depois	% Δ	
PAM (mmHg)	84 ± 6	60 ± 6 *	-29 ± 4		86 ± 4	139 ± 7 *	61 ± 10	
PAS (mmHg)	109 ± 6	83 ± 6 *	-24 ± 3		116 ± 6	169 ± 8 *	48 ± 7	
PAD (mmHg)	65 ± 5	40 ± 5 *	-34 ± 6		72 ± 4	124 ± 7 *	79 ± 12	
FC (bpm)	294 ± 24	275 ± 17	-5 ± 3		290 ± 16	307 ± 37	10 ± 5	
DC (ml/min)	789 ± 100	825 ± 81	6 ± 3		731 ± 47	522 ± 54 *	-28 ± 8	
RVS (dyn/seg/cm ⁵)	9 ± 1	6 ± 1 *	-38 ± 5		11 ± 1	24 ± 3 *	161 ± 37	
PV (mmHg)	142 ± 8	118 ± 5 *	-16 ± 2		128 ± 12	194 ± 13 *	60 ± 11	
dP/dt _{max} (mmHg/seg)	2693 ± 126	1449 ± 95 *	-9 ± 3		2218 ± 309	2997 ± 375	37 ± 7	

PAM, pressão arterial média; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; FC, frequência cardíaca; DC, débito cardíaco; RVS, resistência vascular sistêmica; PV, pressão intraventricular; dp/dt_{max}, velocidade máxima de aumento da pressão intraventricular. Os dados representam a média ± E.P.M. de 6 (i.v.) e de 13 (i.c.v.) experimentos * P < 0,05, significância estatística dos efeitos da injeção do PNV quando comparados com os valores basais (teste t de Student pareado).

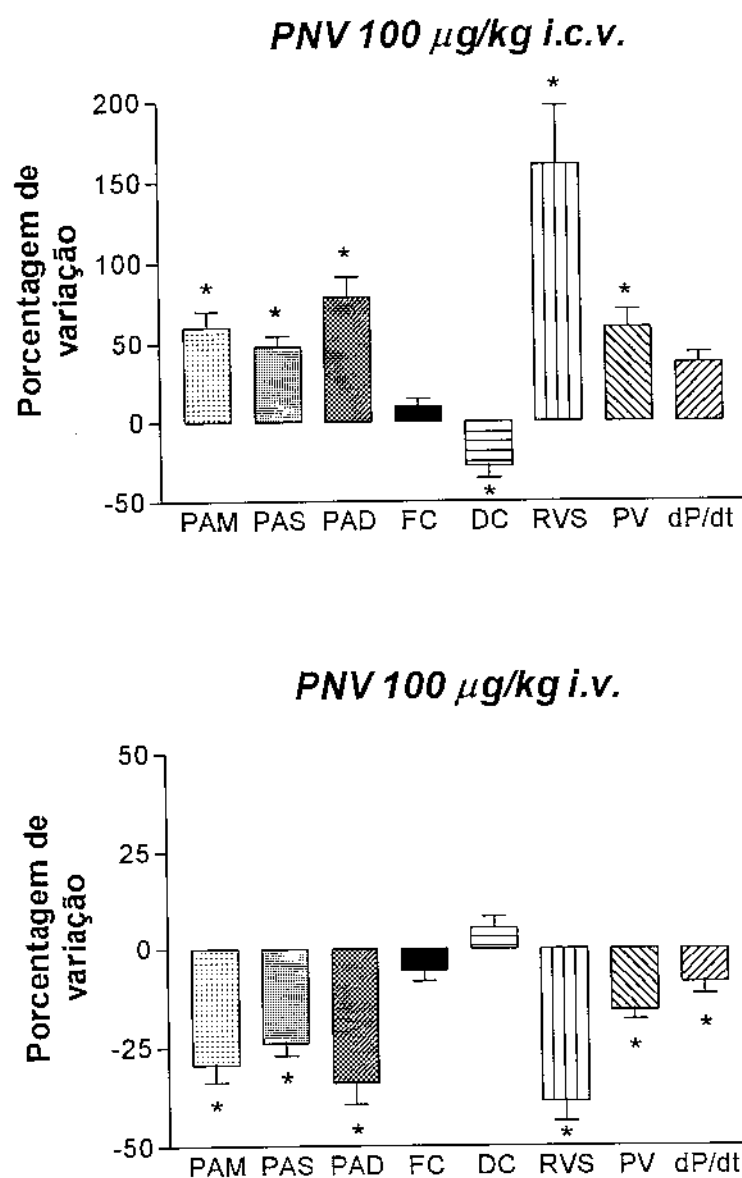


Figura 3: Efeitos da administração intracerebroventricular e intravenosa do veneno da *P. nigriventer* (100 $\mu\text{g/kg}$) sobre os parâmetros hemodinâmicos basais de coelhos anestesiados. PNV, veneno da *P. nigriventer*; PAM, pressão arterial média; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; FC, frequência cardíaca; DC, débito cardíaco; RVS, resistência vascular sistêmica; PV, pressão do ventrículo esquerdo; dP/dt, velocidade máxima de aumento da pressão do ventrículo esquerdo. * $P < 0,05$ (teste t de Student pareado).

Tabela 2: Efeitos das injeções intracerebroventricular (30 µg/kg) ou intravenosa (1,0 mg/kg) do PNV sobre os parâmetros cardiovasculares de coelhos anestesiados.

	PNV 30 µg/kg i.c.v.			PNV 1 mg/kg i.v.		
	antes	depois	% Δ	antes	depois	% Δ
PAM (mmHg)	78 ± 5	134 ± 8 *	61 ± 5	75 ± 4	127 ± 7 *	70 ± 90
PAS (mmHg)	110 ± 5	160 ± 5 *	46 ± 4	102 ± 6	164 ± 10 *	61 ± 10
PAD (mmHg)	63 ± 7	117 ± 4 *	92 ± 17	62 ± 4	109 ± 6 *	77 ± 15
FC (bpm)	260 ± 14	304 ± 35	17 ± 11	292 ± 18	264 ± 24	-7.8 ± 12
DC (ml/min)	882 ± 98	625 ± 77	-27 ± 9	675 ± 73	590 ± 55	-12 ± 8
RVS (dyn/seg/cm ⁵)	7 ± 1	17 ± 2 *	135 ± 21	9 ± 1	17 ± 2 *	108 ± 31
PV (mmHg)	152 ± 13	191 ± 10 *	27 ± 7	118 ± 10	169 ± 5 *	47 ± 12
dP/dt _{max} (mmHg/seg)	2225 ± 338	2569 ± 226	30 ± 21	2200 ± 156	3300 ± 236 *	51 ± 8

PAM, pressão arterial média; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; FC, frequência cardíaca; DC, débito cardíaco; RVS, resistência vascular sistêmica; PV, pressão intraventricular; dp/dt_{max}, velocidade máxima de aumento da pressão intraventricular. Os dados representam a média ± E.P.M. de 6 experimentos * P < 0,05, significância estatística dos efeitos da injeção do PNV quando comparados com os valores basais (Teste t de Student pareado).

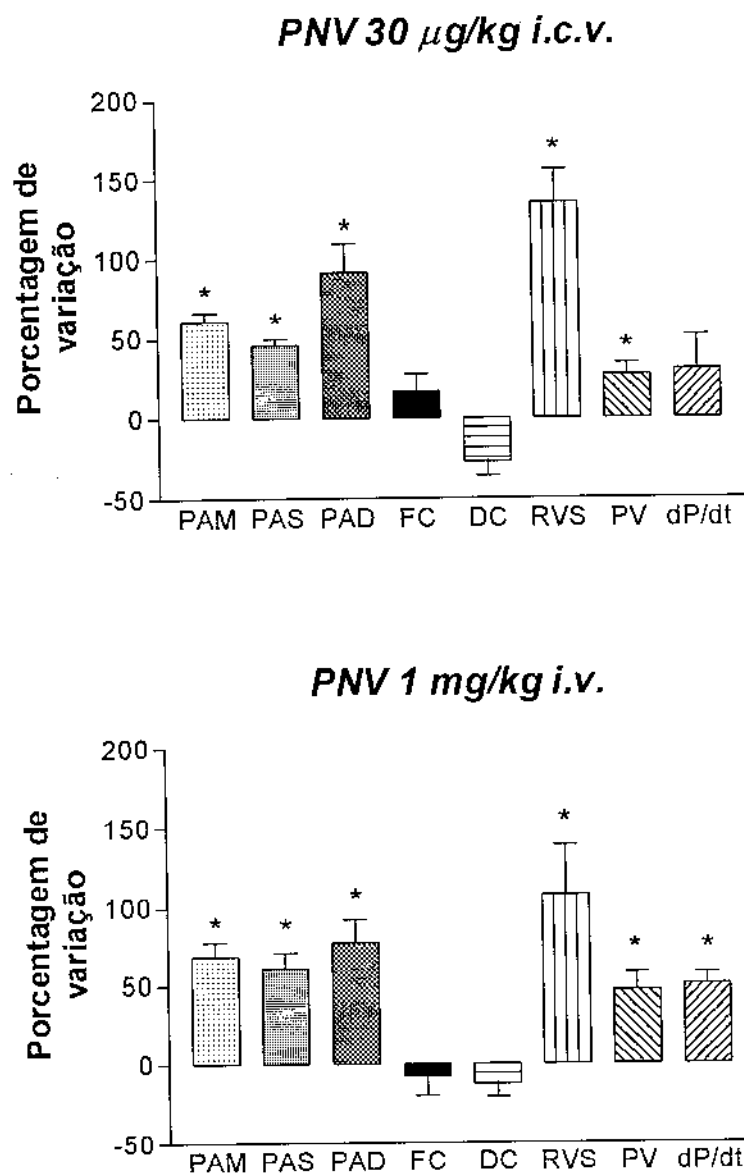


Figura 4: Efeitos da administração intracerebroventricular (30 $\mu\text{g/kg}$) e intravenosa (1 mg/kg) do veneno da *P. nigriventer* sobre os parâmetros hemodinâmicos basais de coelhos anestesiados. PNV, veneno da *P. nigriventer*; PAM, pressão arterial média; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; FC, frequência cardíaca; DC, débito cardíaco; RVS, resistência vascular sistêmica; PV, pressão do ventrículo esquerdo; dP/dt, velocidade máxima de aumento da pressão do ventrículo esquerdo. * $P < 0,05$ (teste *t* de Student pareado).

IV.1.1 Efeitos do bloqueio dos receptores α_1 - adrenérgicos periféricos sobre a resposta hipertensora induzida sistemicamente pelo veneno da *P. nigriventer*

O pré-tratamento dos animais com prazosin (100 $\mu\text{g/kg}$, i.v.), reduziu significativamente os efeitos hipertensores induzidos pelo veneno da *P. nigriventer* (1 mg/kg, i.v.) quando comparados com o grupo controle. Na PAM, o prazosin bloqueou 47 % da resposta, na PAS 43 % e na PAD 50 %. Quanto à RVS, o bloqueio foi de 94 % e na PV e $\text{dP/dt}_{\text{max}}$, observou-se um bloqueio não tão acentuado porém significativo de 20 e 15 %, respectivamente (tabela 3 e figuras 5 a 7).

Tabela 3: Efeitos do pretratamento com prazosin (100 µg/kg i.v.) em resposta à injeção intravenosa do PNV (1 mg/kg) sobre os parâmetros cardiovasculares de coelhos anestesiados.

	Prazosin			
	antes	depois	% Δ	PNV i.v. % Δ
PAM (mmHg)	78 ± 4	47 ± 7	-39 ± 9	58 ± 17 23 ± 25
PAS (mmHg)	103 ± 4	68 ± 9	-34 ± 9	81 ± 20 18 ± 19
PAD (mmHg)	65 ± 3	37 ± 7	-42 ± 10	47 ± 16 28 ± 30
FC (bpm)	256 ± 8	268 ± 11	-1 ± 4	228 ± 11 -13 ± 6
DC (ml/min.)	670 ± 41	685 ± 51	3 ± 7	800 ± 60 18 ± 12
RVS (dyn/seg/cm ⁵)	9 ± 1	5 ± 1	-35 ± 12	6 ± 2 14 ± 41
PV (mmHg)	133 ± 16	108 ± 20	-23 ± 11	127 ± 22 27 ± 7
dP/dt _{max} (mmHg/seg)	2300 ± 143	1775 ± 204	-22 ± 10	2400 ± 346 36 ± 13

PAM, pressão arterial média; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; FC, frequência cardíaca; PV, pressão intraventricular; dp/dt_{max}, velocidade máxima de aumento da pressão intraventricular. Os dados representam a média ± E.P.M. de 5 experimentos † P < 0,05, significância estatística dos efeitos do prazosin quando comparados com os valores basais; * P<0,05, significância estatística dos efeitos da injeção do PNV quando comparados com os valores depois do pretratamento com prazosin (ANOVA).

TRATAMENTO COM PRAZOSIN (100 µg/kg, i.v.)

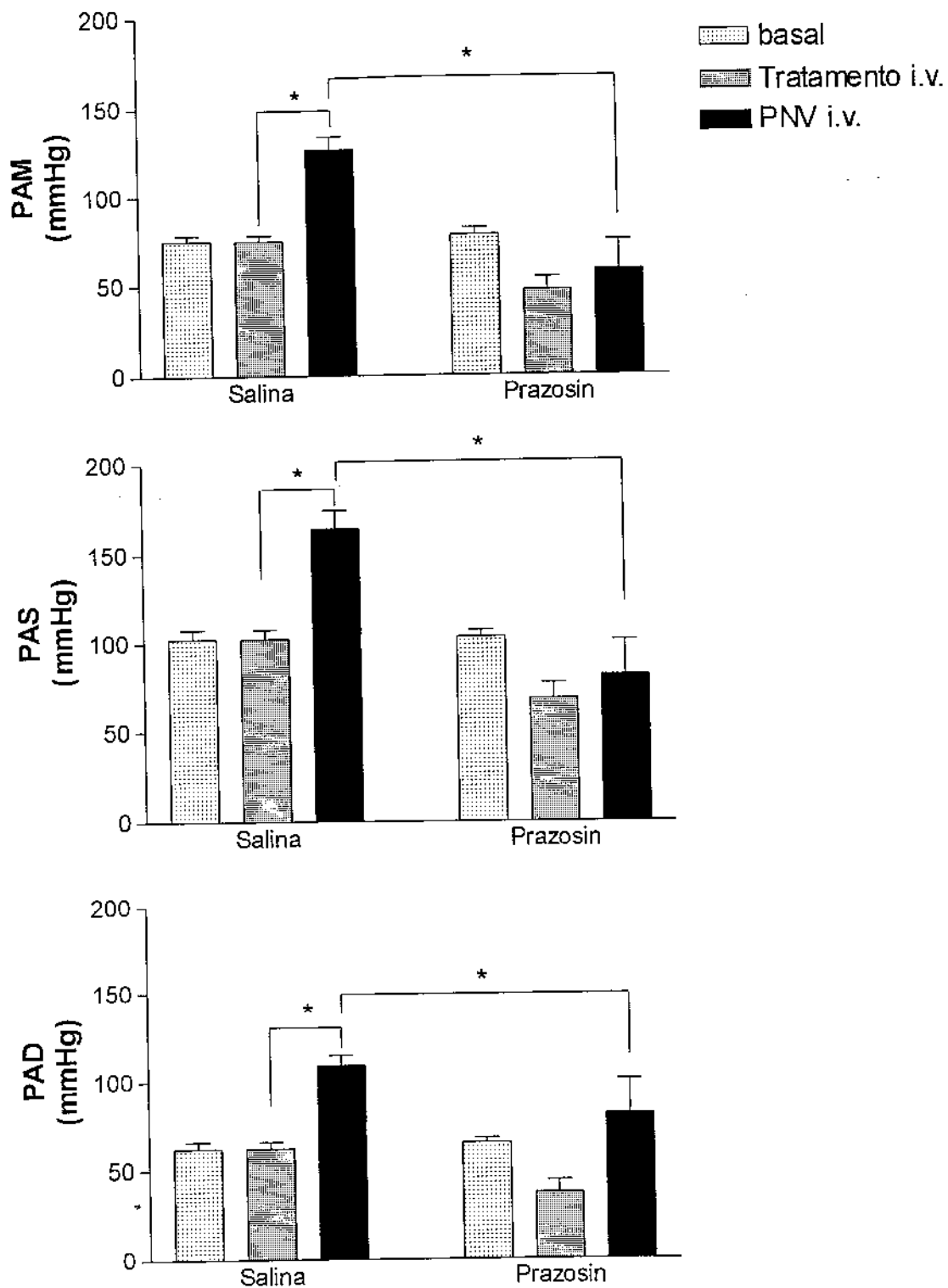


Figura 5: Efeitos do pré-tratamento dos animais com prazosin (100 µg/kg, i.v.) ou solução salina sobre os parâmetros cardiovasculares basais e sobre a resposta hemodinâmica induzida pela injeção i.v. do veneno da *P. nigriventer* (1 mg/kg). PAM, pressão arterial média; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica. * $P < 0,05$ (ANOVA).

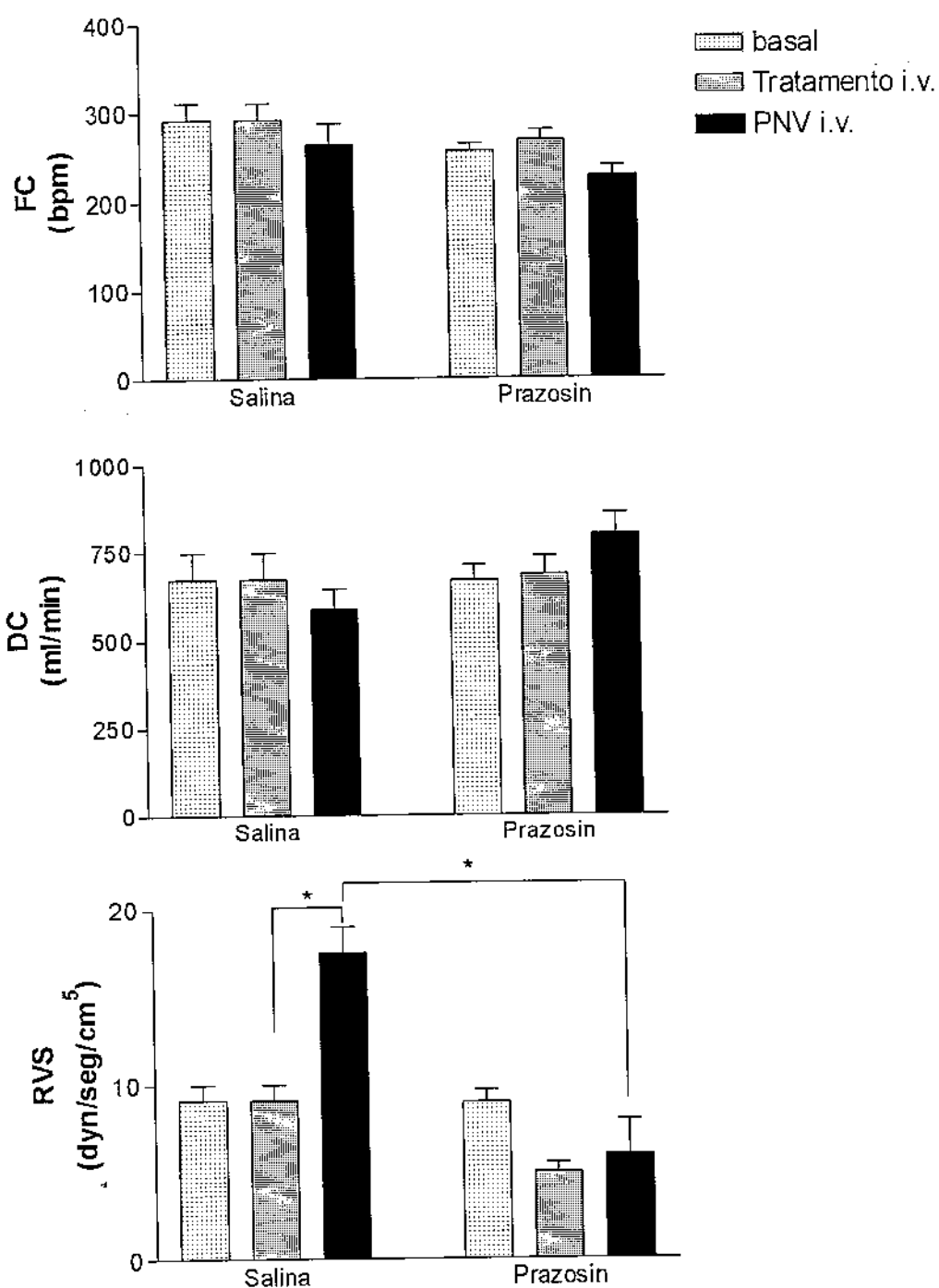


Figura 6: Efeitos do pré-tratamento dos animais com prazosin (100 µg/kg, i.v.) ou solução salina sobre os parâmetros cardiovasculares basais e sobre a resposta hemodinâmica induzida pela injeção i.v. do veneno da *P. nigriventer* (1 mg/kg). FC, frequência cardíaca; DC, débito cardíaco; RVS, resistência vascular sistêmica. Os dados representam a média ± erro padrão da média de 5 experimentos. * $P < 0,05$ (ANOVA).

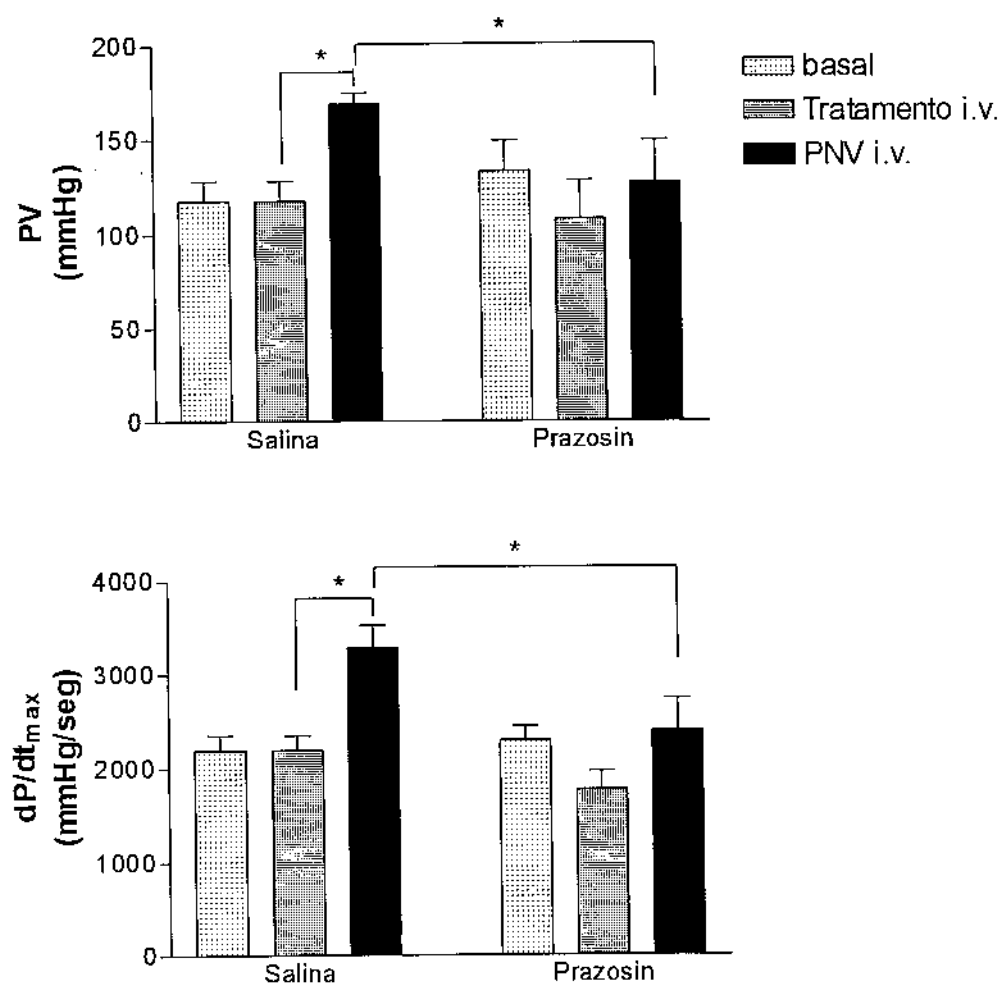


Figura 7: Efeitos do pré-tratamento dos animais com prazosin (100 µg/kg, i.v.) ou solução salina sobre os parâmetros cardiovasculares basais e sobre a resposta hemodinâmica induzida pela injeção i.v. do veneno da *P. nigriventer* (1 mg/kg). PV, pressão do ventrículo esquerdo; dP/dt_{max}, velocidade máxima de aumento da pressão do ventrículo esquerdo. Os dados representam a média ± erro padrão da média de 5 experimentos. * $P < 0,05$ (ANOVA).

IV.2 Efeitos cardiovasculares centrais do veneno da *P. nigriventer*

As injeção i.c.v. do *P. nigriventer* (30 ou 100 µg/kg) induziram uma resposta hemodinâmica bifásica, caracterizada por hipotensão transitória (1 – 3 min.) seguida de hipertensão prolongada. Observou-se aumentos significativos na RVS (135 ± 21 % e 161 ± 37 %, respectivamente), na PAM (61 ± 5 % e 61 ± 10 %, respectivamente), PAS (46 ± 4 % e 48 ± 7 %, respectivamente) e PAD (92 ± 17 % e 79 ± 12 %, respectivamente); quedas também significativas foram observadas no DC (27 ± 9 % e 28 ± 8 %, respectivamente) e aumentos na PV (27 ± 7 % e 60 ± 11 % respectivamente) (figuras 2, 3 e 4 e tabela 1 e 2).

As respostas induzidas pelo veneno da *P. nigriventer* nas doses de 30 e 100 µg/kg foram muito semelhantes, logo, a dose de 30 µg/kg foi utilizada para o grupo controle por ser a dose mínima eficaz em induzir um efeito cardiovascular excitatório significativo.

IV.2.1 Efeitos do bloqueio dos receptores centrais da acetilcolina, bradicinina, angiotensina II e L-glutamato sobre a resposta hipertensora induzida centralmente pelo veneno da *P. nigriventer*

A administração intracerebroventricular de atropina (10 µg), Hoe 140 (0,5 µg/kg), losartan (50 µg/kg), ácido kinurênico (500 µg/kg), não foi eficaz em inibir os efeitos hipertensores induzidos pela administração i.c.v. do veneno da *P. nigriventer*, somente o ifenprodil (100 µg/kg) bloqueou parcialmente porém de maneira significativa os efeitos cardiovasculares do veneno, sobre os parâmetros: PAM, PAS, PAD e RVS (tabelas 4 a 11 e figuras 8 a 24).

Tabela 4: Efeitos do pretratamento i.c.v. com diferentes antagonistas sobre a pressão arterial média (PAM) em resposta à injeção i.c.v. do PNV (30 µg/kg i.c.v) em coelhos anestesiados.

Antagonistas	PAM (mmHg)		
	Basal	Após tratamento	Após PNV
Hoe 140 (0,5 µg/kg)	75 ± 6	90 ± 7	140 ± 6 *
Atropina (10 µg)	75 ± 4	73 ± 10	140 ± 6 *
Losartan (50 µg/kg)	85 ± 12	126 ± 25	194 ± 34 *
Ifenprodil (100 µg/kg)	82 ± 7	68 ± 6	108 ± 11 *
Ác. Kinurênico (0,5 mg/kg)	77 ± 6	43 ± 7 †	108 ± 5 *
% Δ			
			58 ± 10
			98 ± 43
			57 ± 16
			57 ± 7
			152 ± 53

PAM, pressão arterial média. Os dados representam a média ± E.P.M. de 6 experimentos. * $P < 0,05$, significância estatística dos efeitos da injeção i.c.v. do PNV quando comparados com os valores após os antagonistas; † $P < 0,05$, significância estatística dos efeitos dos antagonistas quando comparados com os valores basais (ANOVA).

Tabela 5: Efeitos do pretratamento i.c.v. com diferentes antagonistas sobre a pressão arterial sistólica (PAS) em resposta à injeção i.c.v. do PNV (30 µg/kg i.c.v) em coelhos anestesiados.

Antagonistas	PAS (mmHg)		
	Basal	Após tratamento	Após PNV
Hoe 140 (0,5 µg/kg)	116 ± 10	122 ± 10	170 ± 10 *
Atropina (10 µg)	106 ± 11	106 ± 13	162 ± 5 *
Losartan (50 µg/kg)	125 ± 10	136 ± 5	196 ± 14 *
Ifenprodil (100 µg/kg)	111 ± 9	96 ± 9	137 ± 8 *
Ac. Kinurênico (0,5 mg/kg)	123 ± 7	73 ± 11 †	145 ± 22 *
			107 ± 36

PAM, pressão arterial sistólica. Os dados representam a média ± E.P.M. de 6 experimentos. * $P < 0,05$, significância estatística dos efeitos da injeção i.c.v. do PNV quando comparados com os valores após os antagonistas; † $P < 0,05$, significância estatística dos efeitos dos antagonistas quando comparados com os valores basais (ANOVA).

Tabela 6: Efeitos do pretratamento i.c.v. com diferentes antagonistas sobre a pressão arterial diastólica (PAD) em resposta à injeção i.c.v. do PNV (30 µg/kg i.c.v) em coelhos anestesiados.

Antagonistas	PAD (mmHg)			% Δ
	Basal	Após tratamento	Após PNV	
Hoe 140 (0,5 µg/kg)	62 ± 5	72 ± 6	126 ± 5 *	81 ± 15
Atropina (10 µg)	62 ± 5	57 ± 11	122 ± 3 *	142 ± 69
Losartan (50 µg/kg)	71 ± 11	84 ± 6	144 ± 7 *	74 ± 18
Ifenprodil (100 µg/kg)	67 ± 6	55 ± 4	95 ± 12 *	70 ± 12
Ac. Kinurênico (0,5 mg/kg)	68 ± 7	33 ± 9 †	90 ± 18 *	212 ± 79

PAD, pressão arterial diastólica. Os dados representam a média ± E.P.M. de 6 experimentos. * $P < 0,05$, significância estatística dos efeitos da injeção i.c.v. do PNV quando comparados com os valores após os antagonistas; † $P < 0,05$, significância estatística dos efeitos dos antagonistas quando comparados com os valores basais (ANOVA).

Tabela 7: Efeitos do pretratamento i.c.v. com diferentes antagonistas sobre a frequência cardíaca (FC) em resposta à injeção i.c.v. do PNV (30 µg/kg i.c.v.) em coelhos anestesiados.

Antagonistas	FC (bpm)			% Δ
	Basal	Após tratamento	Após PNV	
Hoe 140 (0,5 µg/kg)	267 ± 17	273 ± 17	273 ± 17	0,2 ± 2
Atropina (10 µg)	235 ± 24	235 ± 24	210 ± 12	19 ± 4
Losartan (50 µg/kg)	220 ± 21	220 ± 18	255 ± 15	18 ± 11
Ifenprodil (100 µg/kg)	272 ± 19	248 ± 20	268 ± 10	10 ± 6
Ac. Kinurênico (0,5 mg/kg)	252 ± 11	240 ± 7	248 ± 18	3 ± 5

Tabela 8: Efeitos do pretratamento i.c.v. com diferentes antagonistas sobre o débito cardíaco (DC) em resposta à injeção i.c.v. do PNV (30 µg/kg i.c.v) em coelhos anestesiados.

Antagonistas	DC (ml/min.)		
	Basal	Após tratamento	Após PNV
Hoe 140 (0,5 µg/kg)	725 ± 67	731 ± 53	462 ± 61
Atropina (10 µg)	800 ± 78	794 ± 92	437 ± 95 *
Losartan (50 µg/kg)	869 ± 73	844 ± 57	582 ± 58
Ifenprodil (100 µg/kg)	845 ± 45	845 ± 43	756 ± 97
Ac. Kimurênico (0,5 mg/kg)	756 ± 84	691 ± 1	687 ± 127
			-35 ± 10
			-45 ± 8
			-37 ± 8
			-12 ± 7
			-1 ± 0,5

DC, débito cardíaco. Os dados representam a média ± E.P.M. de 6 experimentos. * $P < 0,05$, significância estatística dos efeitos da injeção i.c.v. do PNV quando comparados com os valores após os antagonistas; † $P < 0,05$, significância estatística dos efeitos dos antagonistas quando comparados com os valores basais (ANOVA).

Tabela 9: Efeitos do pretratamento i.c.v. com diferentes antagonistas sobre a resistência vascular sistêmica (RVS) em resposta à injeção i.c.v. do PNV (30 µg/kg i.c.v.) em coelhos anestesiados.

Antagonistas	RVS (dyn/seg/cm ⁵)			% Δ
	Basal	Após tratamento	Após PNV	
Hoe 140 (0,5 µg/kg)	8 ± 1	9 ± 7	24 ± 2 *	181 ± 64
Atropina (10 µg)	8 ± 1	5 ± 0,6	28 ± 7 *	273 ± 67
Losartan (50 µg/kg)	8 ± 2	12 ± 2	30 ± 5 *	171 ± 76
Ifenprodil (100 µg/kg)	8 ± 1	7 ± 1	13 ± 2	84 ± 21
Ac. Kinurênico (0,5 mg/kg)	9 ± 1	4 ± 1	15 ± 6 *	206 ± 84

RVS, resistência vascular sistêmica. Os dados representam a média ± E.P.M. de 6 experimentos. * $P < 0,05$, significância estatística dos efeitos da injeção i.c.v. do PNV quando comparados com os valores após os antagonistas; † $P < 0,05$, significância estatística dos efeitos dos antagonistas quando comparados com os valores basais (ANOVA).

Tabela 10: Efeitos do pretratamento i.c.v. com diferentes antagonistas sobre a pressão intraventricular (PV) em resposta à injeção i.c.v. do PNV (30 µg/kg i.c.v) em coelhos anestesiados.

Antagonistas	PV (mmHg)		
	Basal	Após tratamento	Após PNV
Hoe 140 (0,5 µg/kg)	145 ± 15	149 ± 11	191 ± 10
Losartan (50 µg/kg)	156 ± 8	156 ± 4	202 ± 8 *
Ifenprodil (100 µg/kg)	128 ± 12	114 ± 10	148 ± 6
Ác. Kinurênico (0,5 mg/kg)	147 ± 9	129 ± 21	176 ± 33
% Δ			
			30 ± 7
			30 ± 6
			33 ± 8
			36 ± 5

PV, pressão do ventrículo esquerdo. Os dados representam a média ± E.P.M. de 6 experimentos. * $P < 0,05$, significância estatística dos efeitos da injeção i.c.v. do PNV quando comparados com os valores após os antagonistas; † $P < 0,05$, significância estatística dos efeitos dos antagonistas quando comparados com os valores basais (ANOVA).

Tabela 11: Efeitos do pretratamento i.c.v. com diferentes antagonistas sobre a velocidade máxima de aumento da pressão ventricular (dP/dt_{max}) em resposta à injeção i.c.v. do PNV (30 $\mu\text{g/kg}$ i.c.v.) em coelhos anestesiados.

Antagonistas	dP/dt_{max} (mmHg/seg)			% Δ
	Basal	Após tratamento	Após PNV	
Hoe 140 (0,5 $\mu\text{g/kg}$)	2312 $\pm$ 402	2458 $\pm$ 242	3104 $\pm$ 175	30 $\pm$ 11
Losartan (50 $\mu\text{g/kg}$)	2625 $\pm$ 398	2906 $\pm$ 147	3531 $\pm$ 147	22 $\pm$ 4
Ifenprodil (100 $\mu\text{g/kg}$)	2475 $\pm$ 280	2125 $\pm$ 253	3350 $\pm$ 139 *	64 $\pm$ 16
Ác. Kinurênico (0,5 mg/kg)	2156 $\pm$ 125	1687 $\pm$ 459	3219 $\pm$ 936	88 $\pm$ 0,5

dP/dt_{max} , velocidade máxima de aumento da PV. Os dados representam a média $\pm$ E.P.M. de 6 experimentos. * $P < 0,05$, significância estatística dos efeitos da injeção i.c.v. do PNV quando comparados com os valores após os antagonistas; † $P < 0,05$, significância estatística dos efeitos dos antagonistas quando comparados com os valores basais (ANOVA).

TRATAMENTO COM Hoe 140 (0,5 µg/kg, i.c.v.)

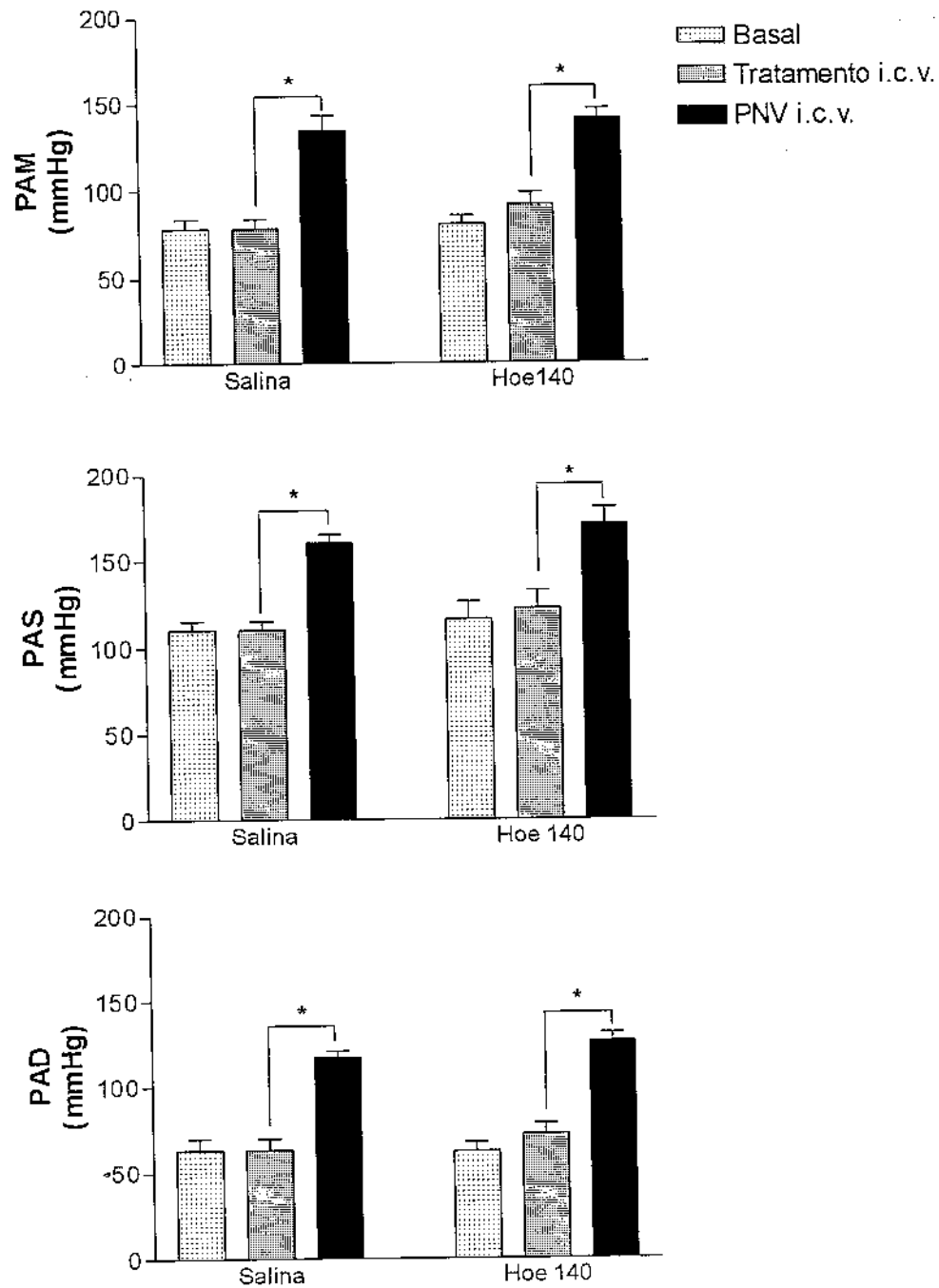


Figura 8: Efeitos do pré-tratamento dos animais com Hoe 140 (0,5 µg/kg, i.c.v.) ou solução salina sobre os parâmetros cardiovasculares basais e sobre a resposta hemodinâmica induzida pela injeção i.c.v. do veneno da *P. nigriventer* (30µg/kg). PAM, pressão arterial média; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica. * $P < 0,05$ (ANOVA).

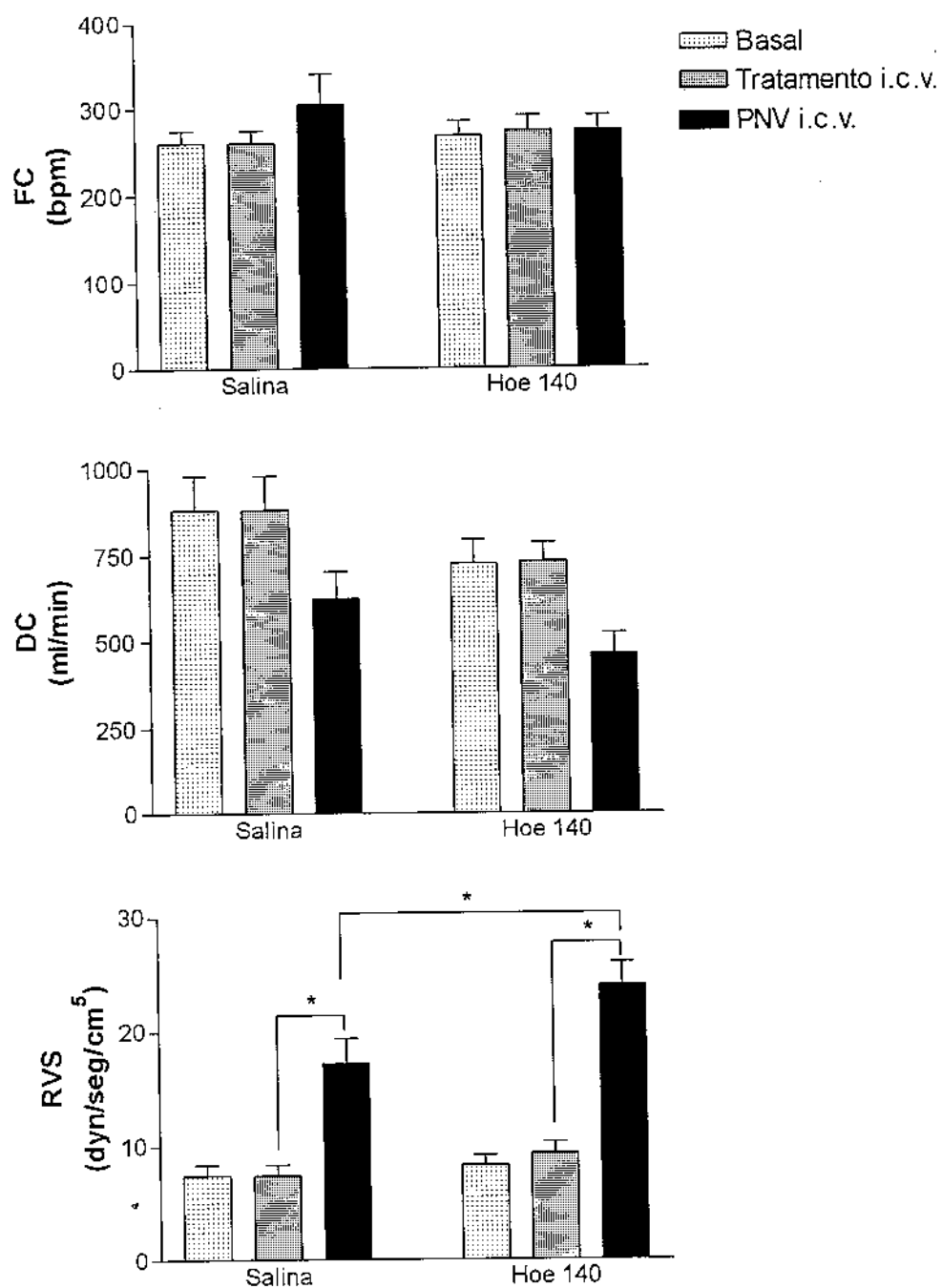


Figura 9: Efeitos do pré-tratamento dos animais com Hoe 140 (0,5µg/kg, i.c.v.) ou solução salina sobre os parâmetros cardiovasculares basais e sobre a resposta hemodinâmica induzida pela injeção i.c.v. do veneno da *P. nigriventer* (30µg/kg). FC, frequência cardíaca; DC, débito cardíaco; RVS, resistência vascular sistêmica. * $P < 0,05$ (ANOVA).

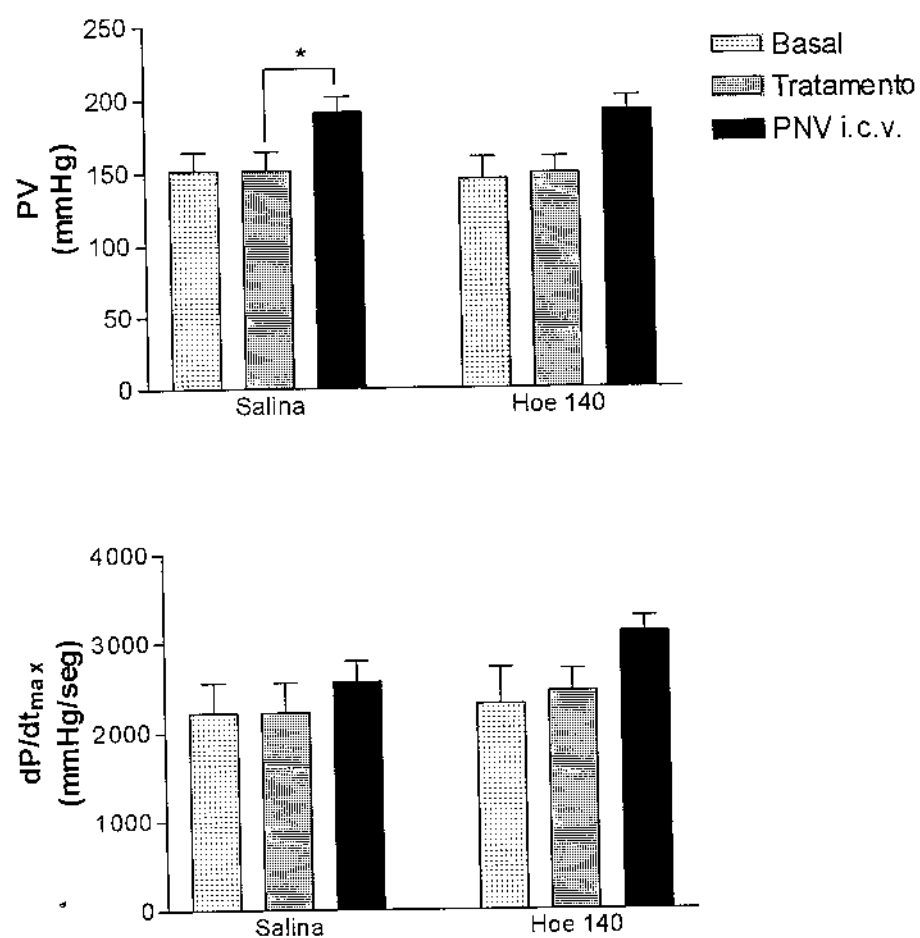


Figura 10: Efeitos do pré-tratamento dos animais com Hoe 140 (0,5µg/kg, i.c.v.) ou solução salina sobre os parâmetros cardiovasculares basais e sobre a resposta hemodinâmica induzida pela injeção i.c.v. do veneno da *P. nigriventer* (30µg/kg). PV, pressão do ventrículo esquerdo; dP/dt_{max}, velocidade máxima de aumento da PV. * $P < 0,05$. (ANOVA).

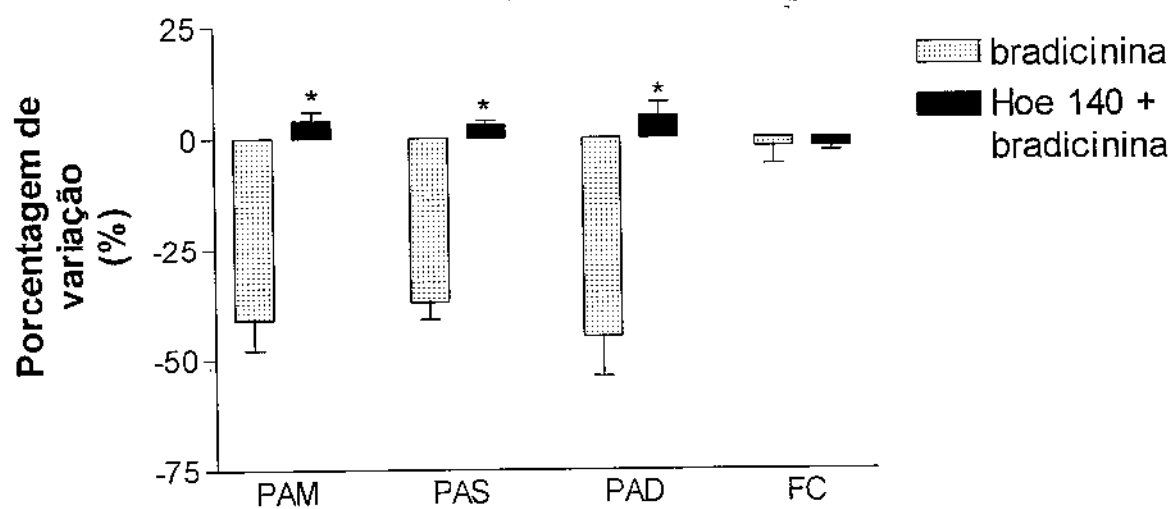


Figura 11: Efeitos do pré-tratamento com Hoe 140 (0,5 µg/kg, i.c.v.), sobre a resposta cardiovascular induzida pela injeção i.c.v. de bradycininina (5 µg/kg, i.c.v.) em coelhos anestesiados. PAM, pressão arterial média; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; FC, frequência cardíaca. * P < 0,05 (ANOVA).

TRATAMENTO COM ATROPINA (10 µg, i.c.v.)

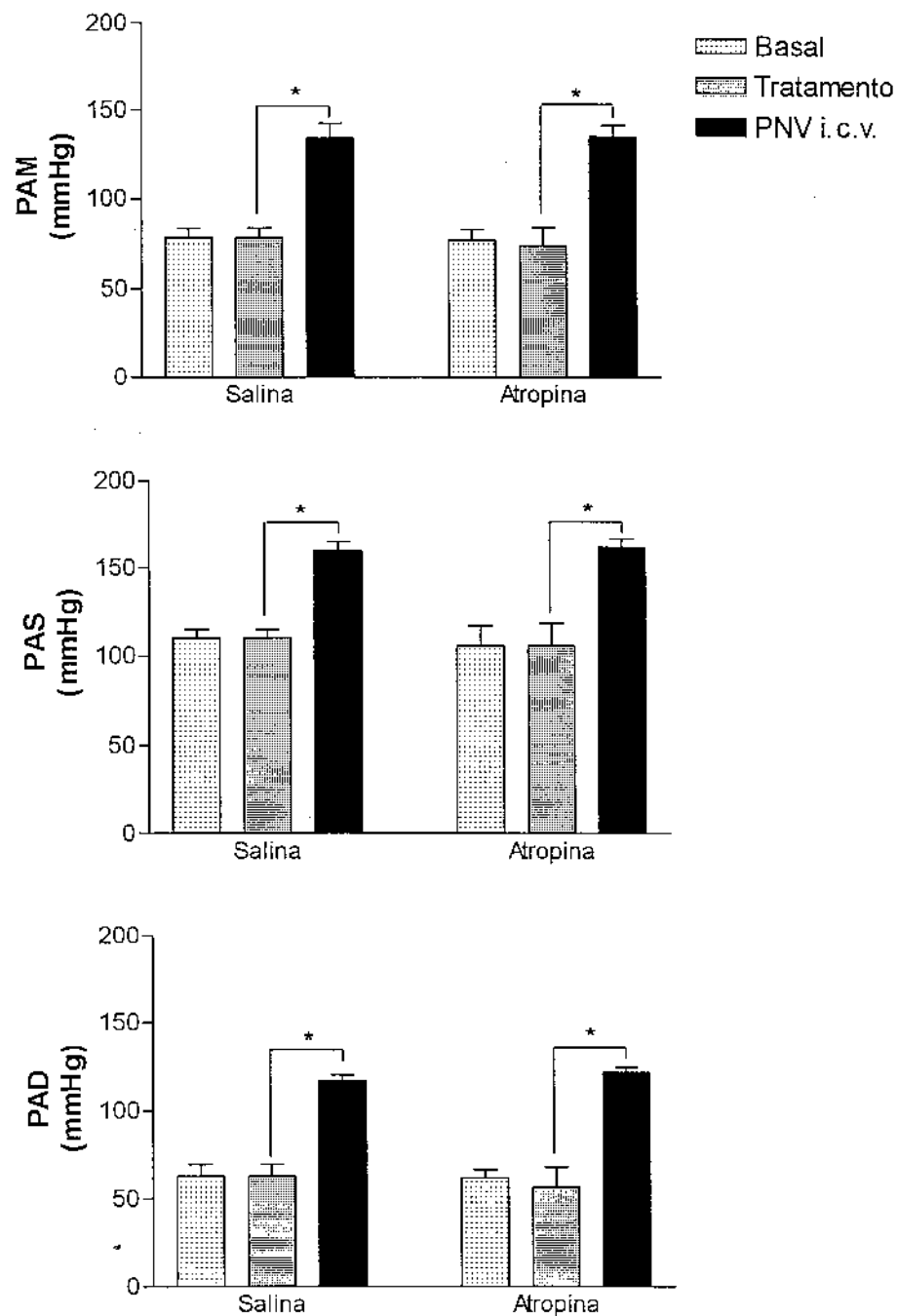


Figura 12: Efeitos do pré-tratamento dos animais com atropina (10µg i.c.v.) ou solução salina sobre os parâmetros cardiovasculares basais e sobre a resposta hemodinâmica induzida pela injeção i.c.v. do veneno da *P. nigriventer* (30µg/kg). PAM, pressão arterial média; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica. * $P < 0,05$ (ANOVA).

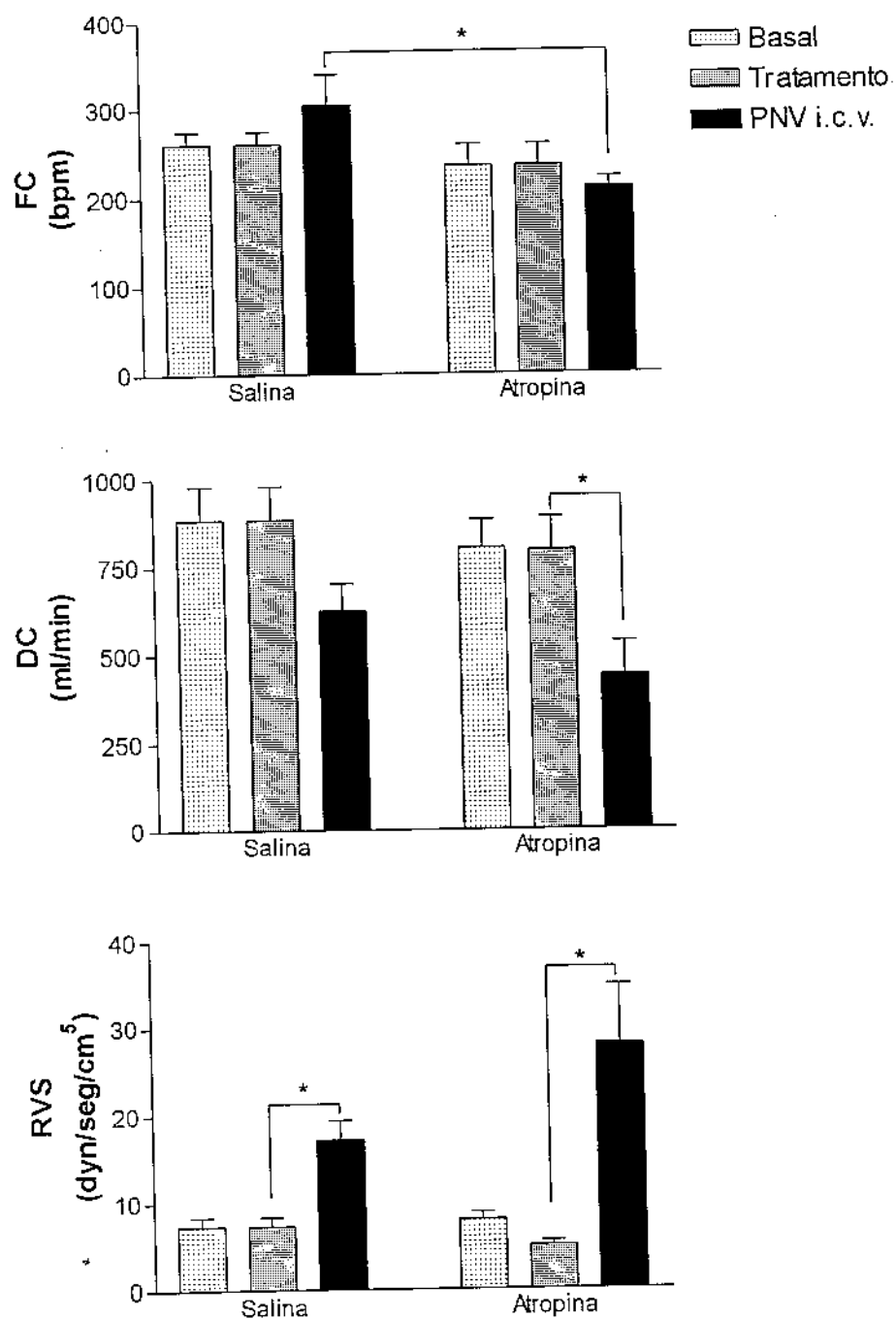


Figura 13: Efeitos do pré-tratamento dos animais com atropina (10 µg, i.c.v.) ou solução salina sobre os parâmetros cardiovasculares basais e sobre a resposta hemodinâmica induzida pela injeção i.c.v. do veneno da *P. nigriventer* (30µg/kg). FC, frequência cardíaca; DC, débito cardíaco; RVS, resistência vascular sistêmica. * $P < 0,05$ (ANOVA).

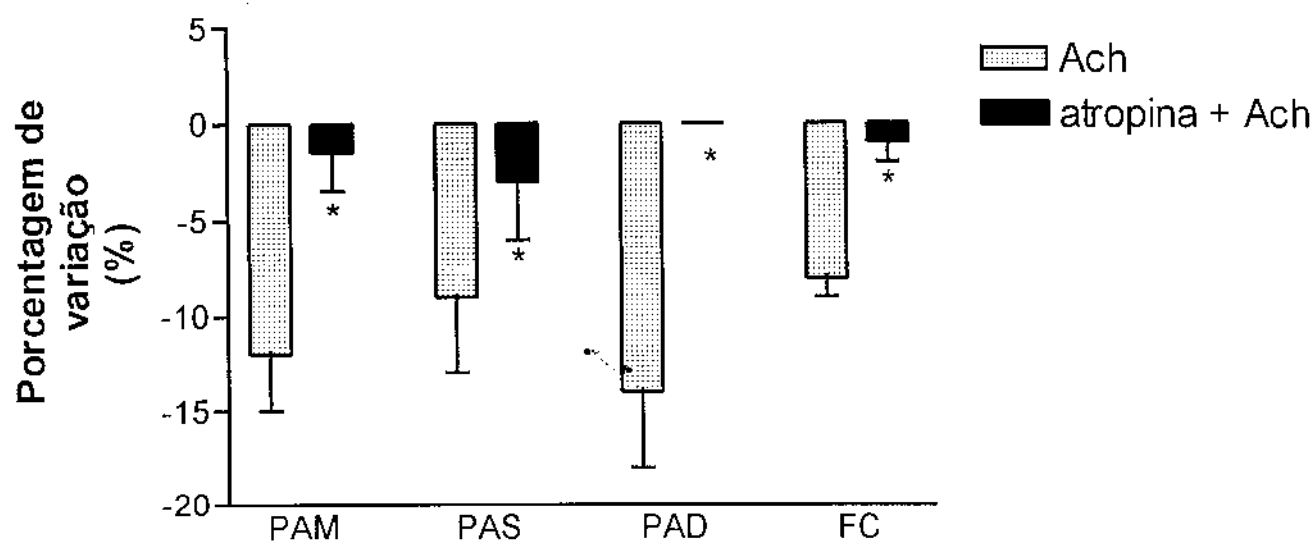


Figura 14: Efeitos do pré-tratamento com atropina (10 μg i.c.v.), sobre a resposta cardiovascular induzida pela injeção i.c.v. de acetilcolina (100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, i.c.v.) em coelhos anestesiados. PAM, pressão arterial média; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; FC, frequência cardíaca. * $P < 0,05$ (ANOVA).

TRATAMENTO COM LOSARTAN (50 $\mu\text{g/kg}$, i.c.v.)

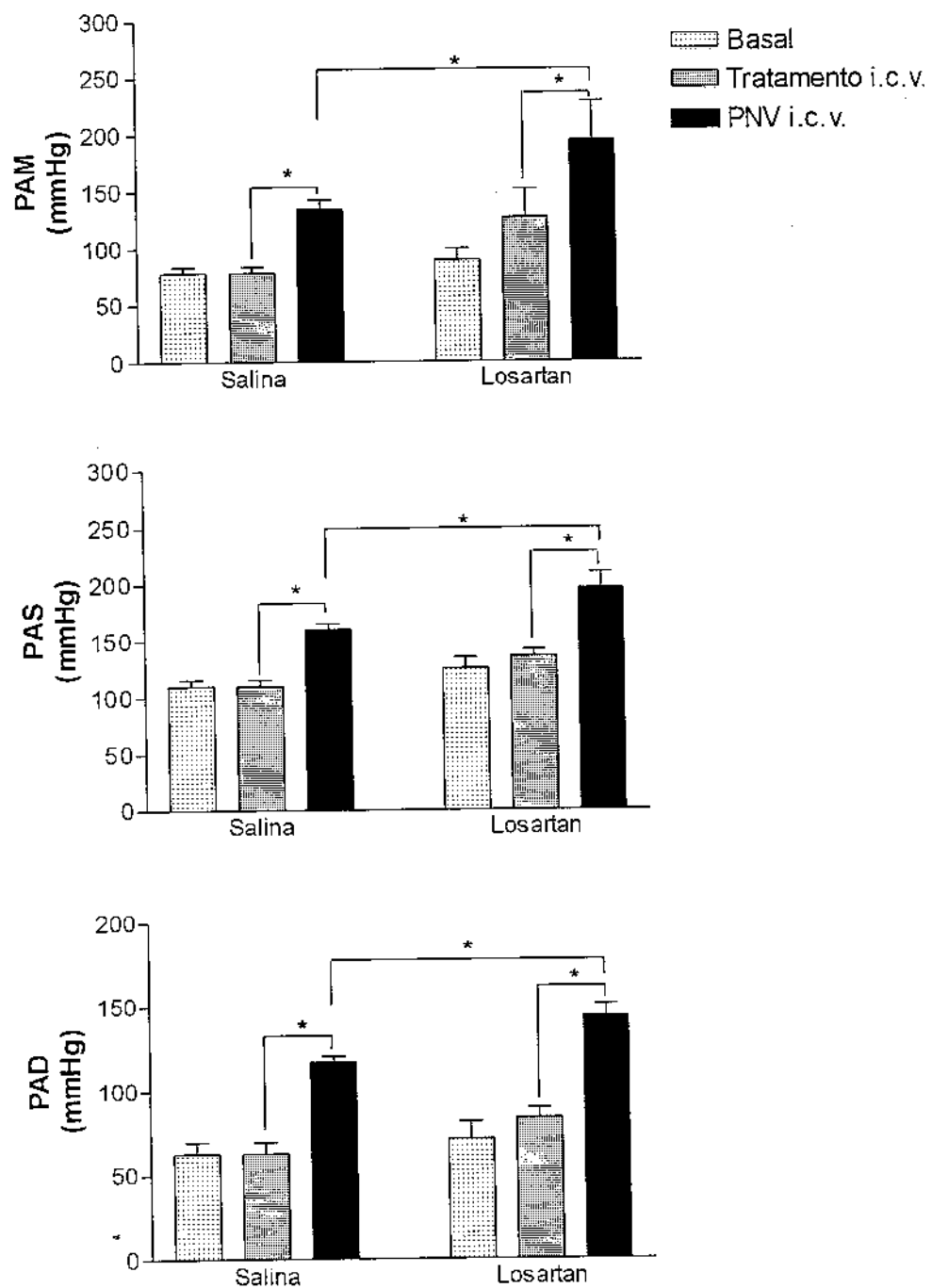


Figura 15: Efeitos do pré-tratamento dos animais com losartan (50 $\mu\text{g/kg}$, i.c.v.) ou solução salina sobre os parâmetros cardiovasculares basais e sobre a resposta hemodinâmica induzida pela injeção i.c.v. do veneno da *P. nigriventer* (30 $\mu\text{g/kg}$). PAM, pressão arterial média; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica. * $P < 0,05$. (ANOVA).

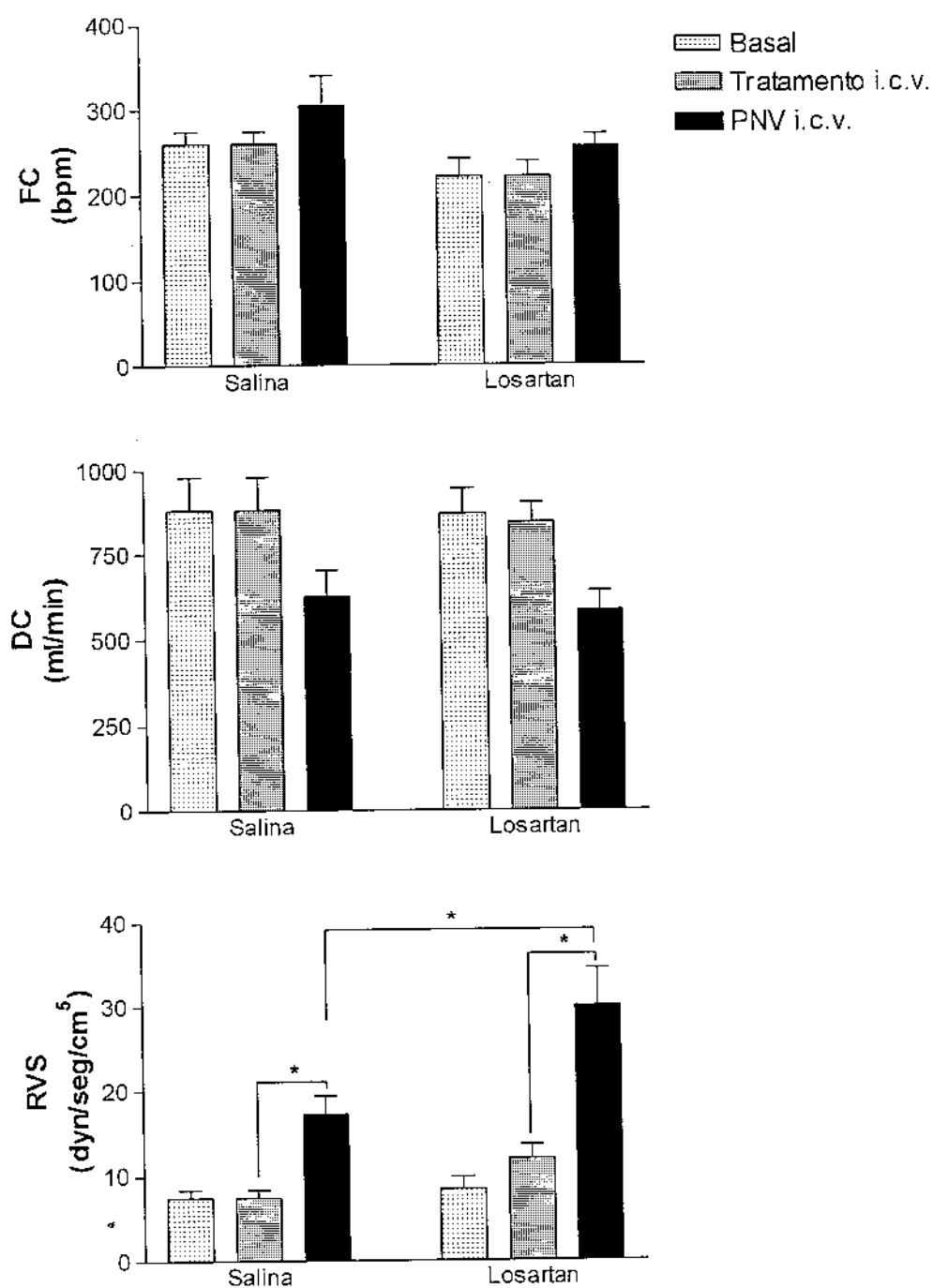


Figura 16: Efeitos do pré-tratamento dos animais com losartan (50 µg/kg, i.c.v.) ou solução salina sobre os parâmetros cardiovasculares basais e sobre a resposta hemodinâmica induzida pela injeção i.c.v. do veneno da *P. nigriventer* (30µg/kg). FC, frequência cardíaca; DC, débito cardíaco; RVS, resistência vascular sistêmica. * $P < 0,05$. (ANOVA).

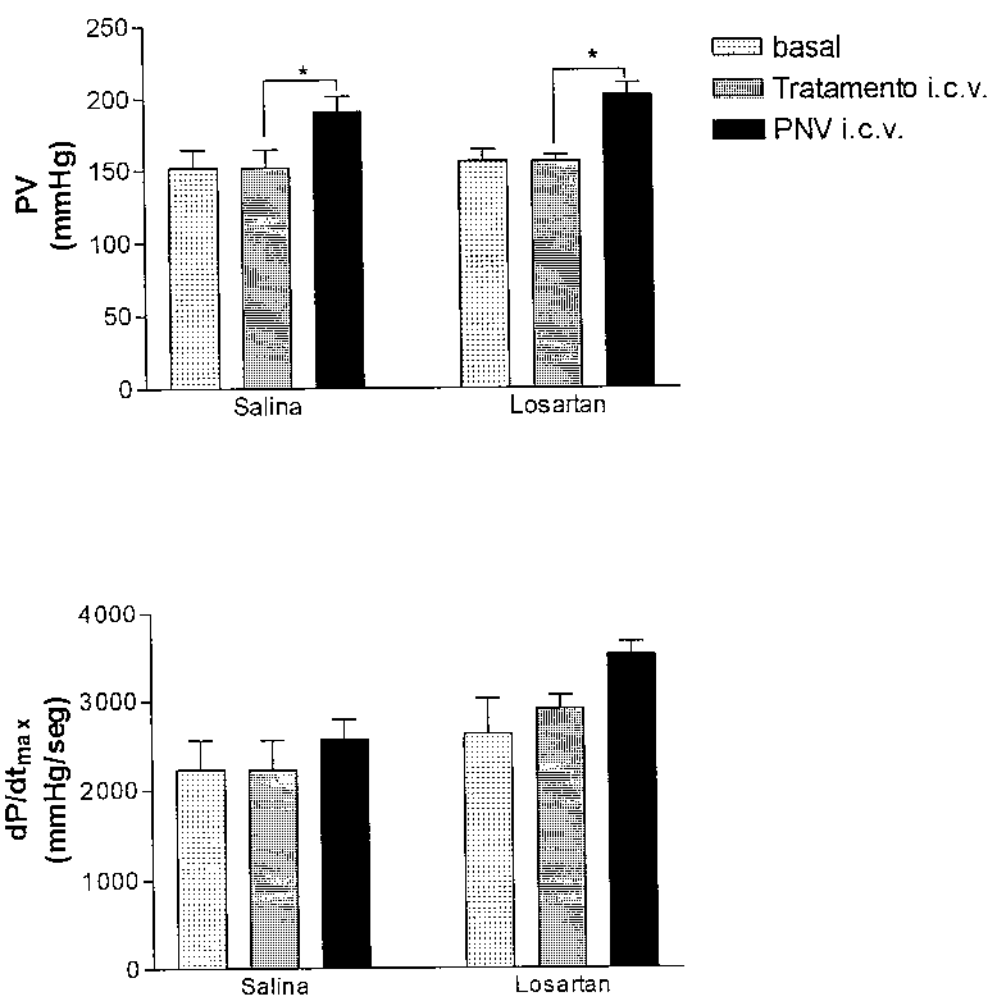


Figura 17: Efeitos do pré-tratamento dos animais com losartan (50 µg/kg, i.c.v.) ou solução salina sobre os parâmetros cardiovasculares basais e sobre a resposta hemodinâmica induzida pela injeção i.c.v. do veneno da *P. nigriventer* (30µg/kg). PV, pressão do ventrículo esquerdo; dP/dt_{max}, velocidade máxima de aumento da PV. * $P < 0,05$ (ANOVA).

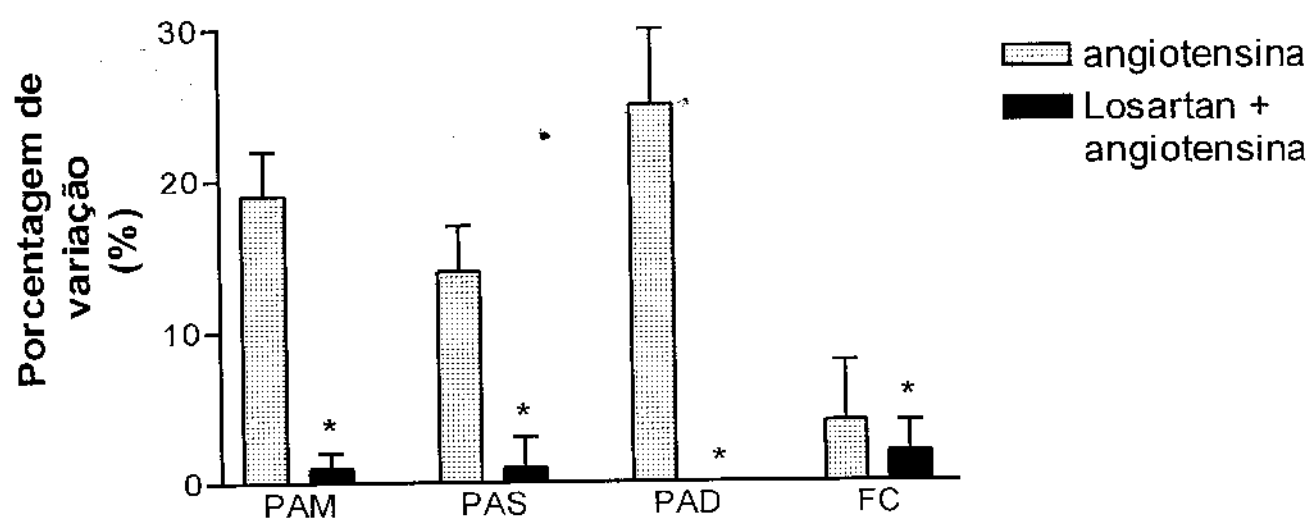


Figura 18: Efeitos do pré-tratamento com losartan (50 µg/kg, i.c.v.), sobre a resposta cardiovascular induzida pela injeção i.c.v. de angiotensina II (10 µg i.c.v.) em coelhos anestesiados. PAM, pressão arterial média; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; FC, frequência cardíaca. * $P < 0,05$ (ANOVA).

TRATAMENTO COM IFENPRODIL (100 µg/kg, i.c.v.)

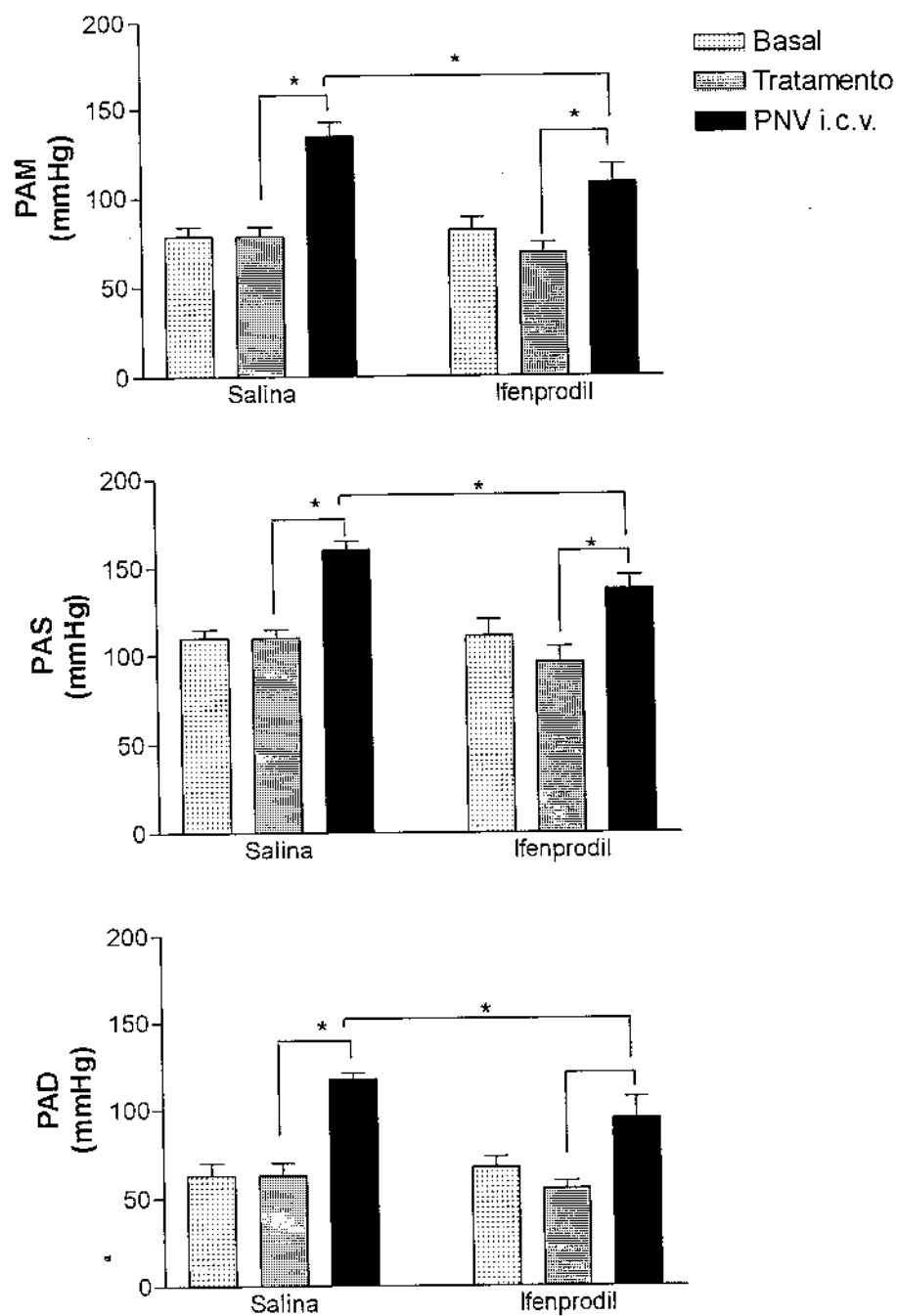


Figura 19: Efeitos do pré-tratamento dos animais com ifenprodil (100 µg/kg, i.c.v.) ou solução salina sobre os parâmetros cardiovasculares basais e sobre a resposta hemodinâmica induzida pela injeção i.c.v. do veneno da *P. nigriventer* (30µg/kg). PAM, pressão arterial média; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica. * $P < 0,05$ (ANOVA).

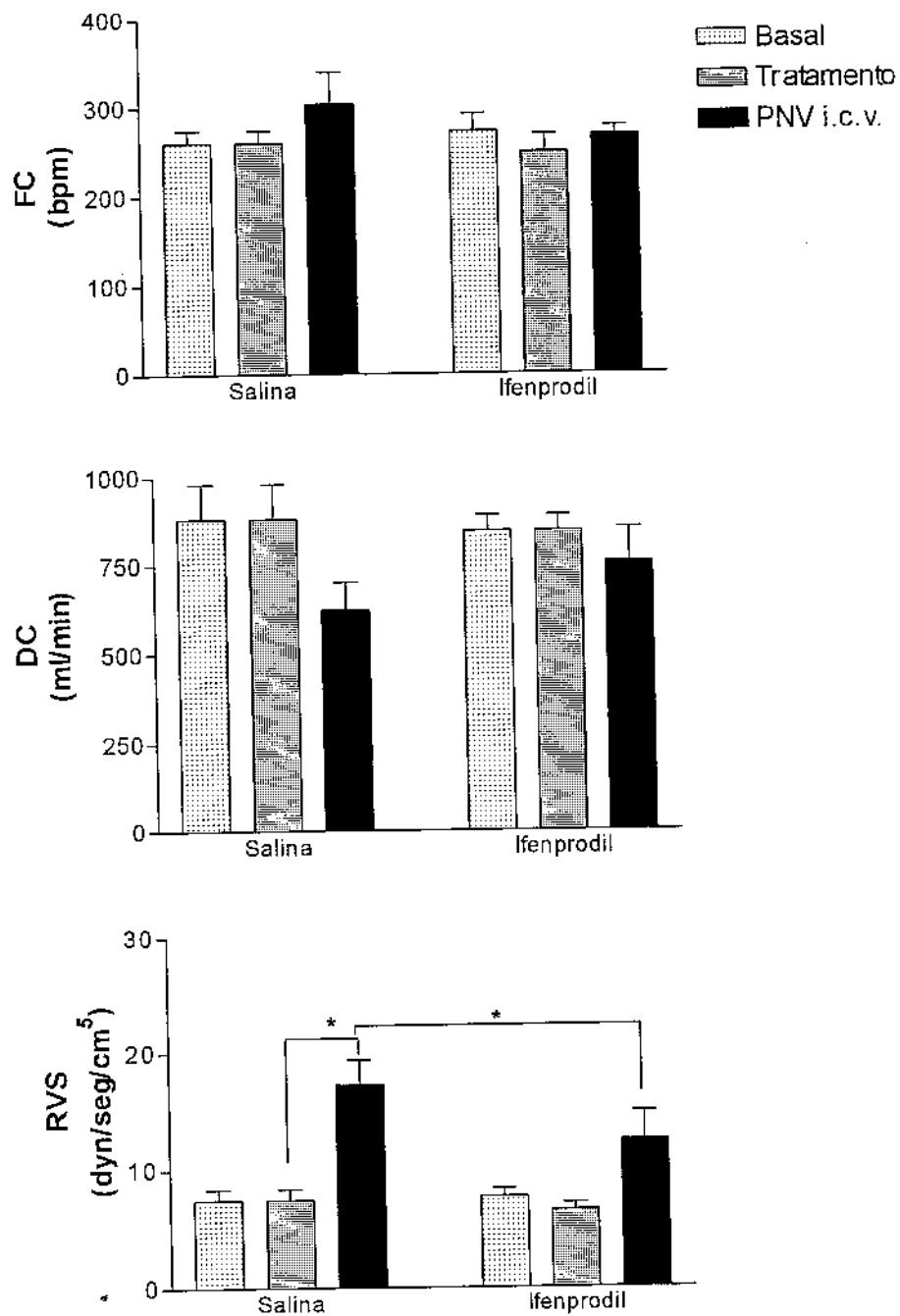


Figura 20: Efeitos do pré-tratamento dos animais com ifenprodil (100 $\mu\text{g/kg}$, i.c.v.) ou solução salina sobre os parâmetros cardiovasculares basais e sobre a resposta hemodinâmica induzida pela injeção i.c.v. do veneno da *P. nigriventer* (30 $\mu\text{g/kg}$). FC, frequência cardíaca; DC, débito cardíaco; RVS, resistência vascular sistêmica. * $P < 0,05$ (ANOVA).

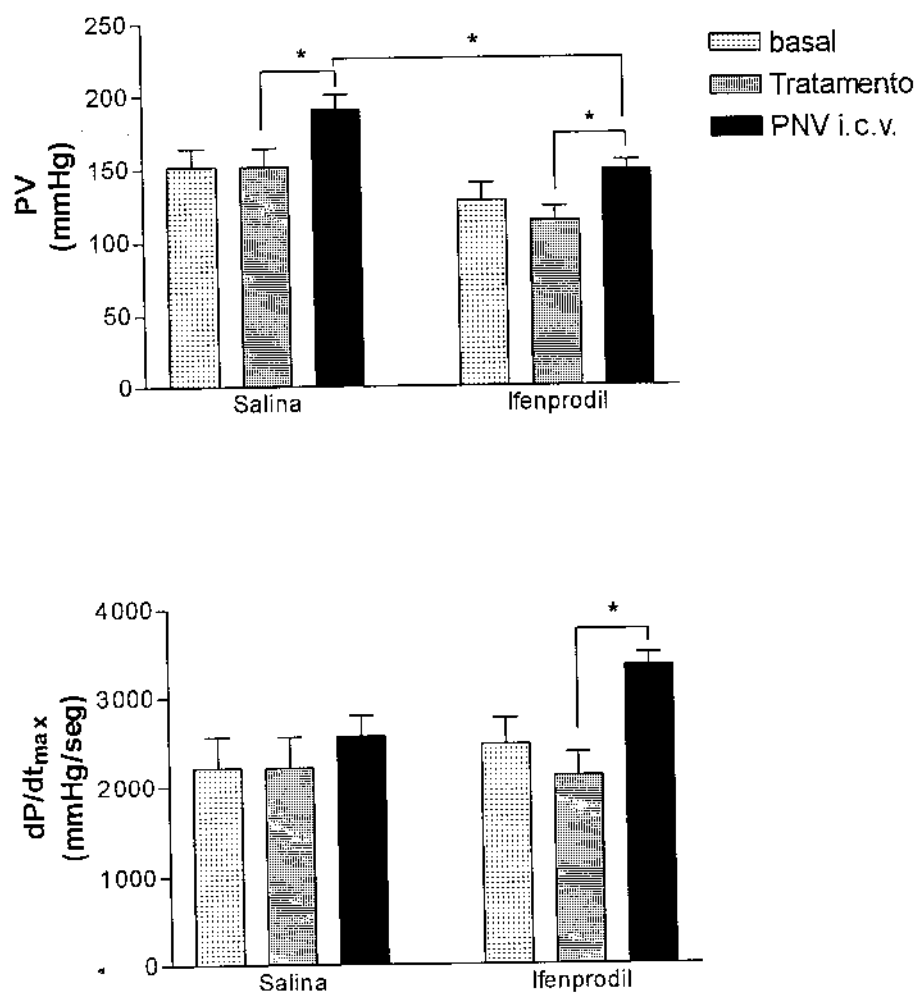


Figura 21: Efeitos do pré-tratamento dos animais com ifenprodil (100 µg/kg, i.c.v.) ou solução salina sobre os parâmetros cardiovasculares basais e sobre a resposta hemodinâmica induzida pela injeção i.c.v. do veneno da *P. nigriventer* (30µg/kg). PV, pressão do ventrículo esquerdo; dP/dt_{max} velocidade máxima de aumento da PV. * $P < 0,05$.

TRATAMENTO COM ÁC. KINURÊNICO (500 µg/kg, i.c.v.)

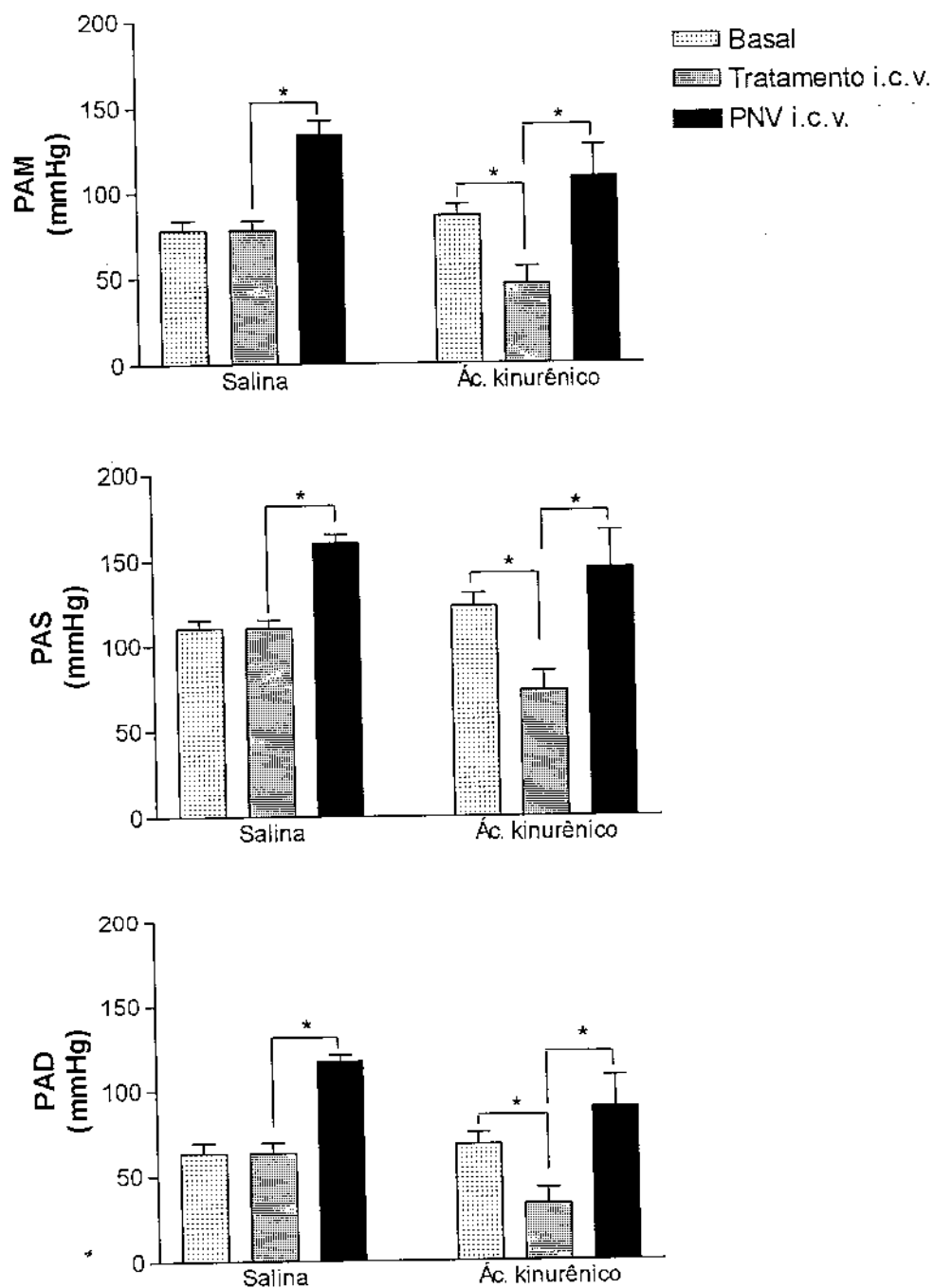


Figura 22: Efeitos do pré-tratamento dos animais com ác. kinurênico (500 µg/kg, i.c.v.) ou solução salina sobre os parâmetros cardiovasculares basais e sobre a resposta hemodinâmica induzida pela injeção i.c.v. do veneno da *P. nigriventer* (30 µg/kg). PAM, pressão arterial média; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica. * $P < 0,05$. (ANOVA).

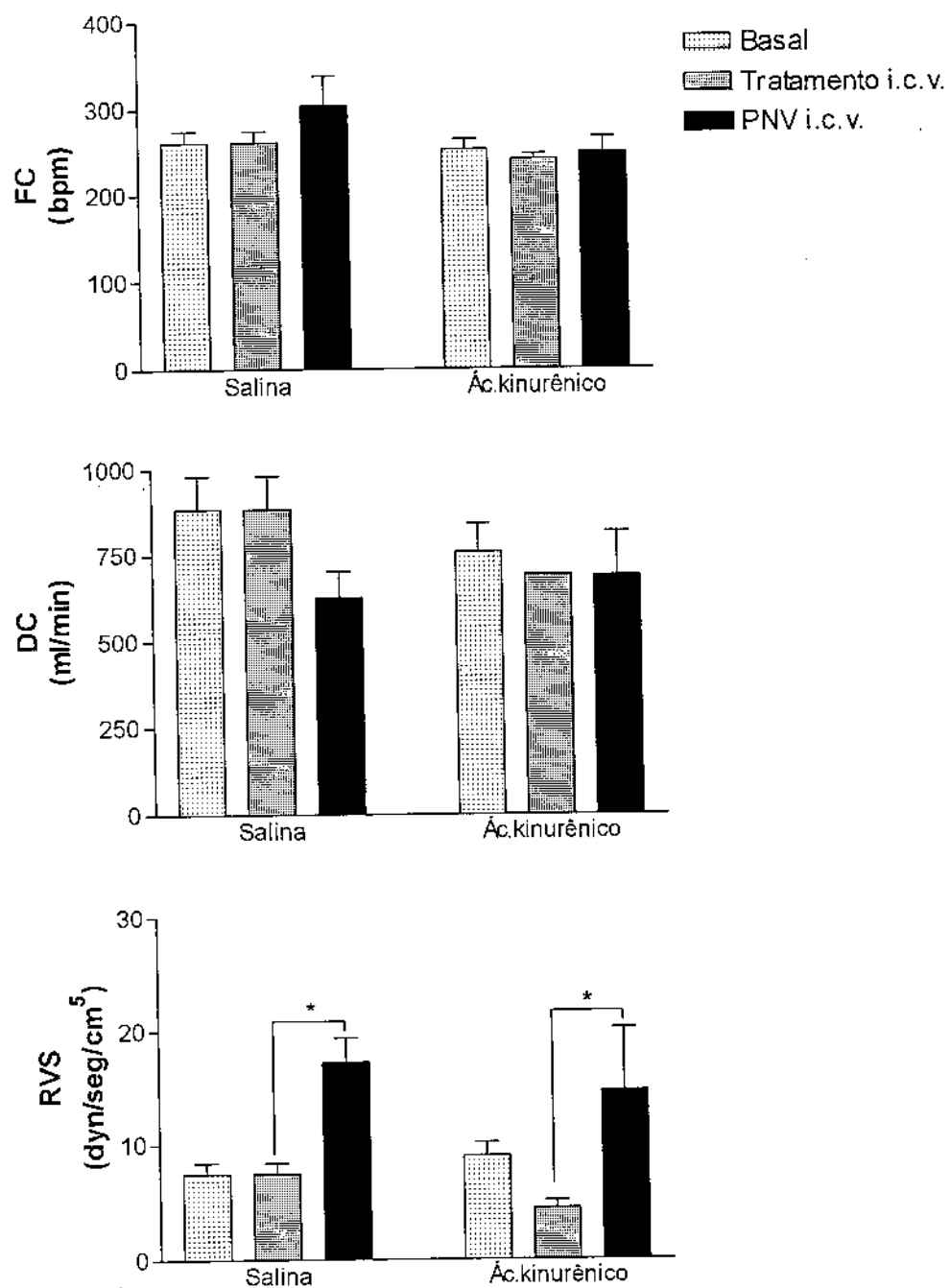


Figura 23: Efeitos do pré-tratamento dos animais com ác. Kinurênico (100 µg/kg, i.c.v.) ou solução salina sobre os parâmetros cardiovasculares basais e sobre a resposta hemodinâmica induzida pela injeção i.c.v. do veneno da *P. nigriventer* (30µg/kg). FC, frequência cardíaca; DC, débito cardíaco; RVS, resistência vascular sistêmica. * $P < 0,05$ (ANOVA).

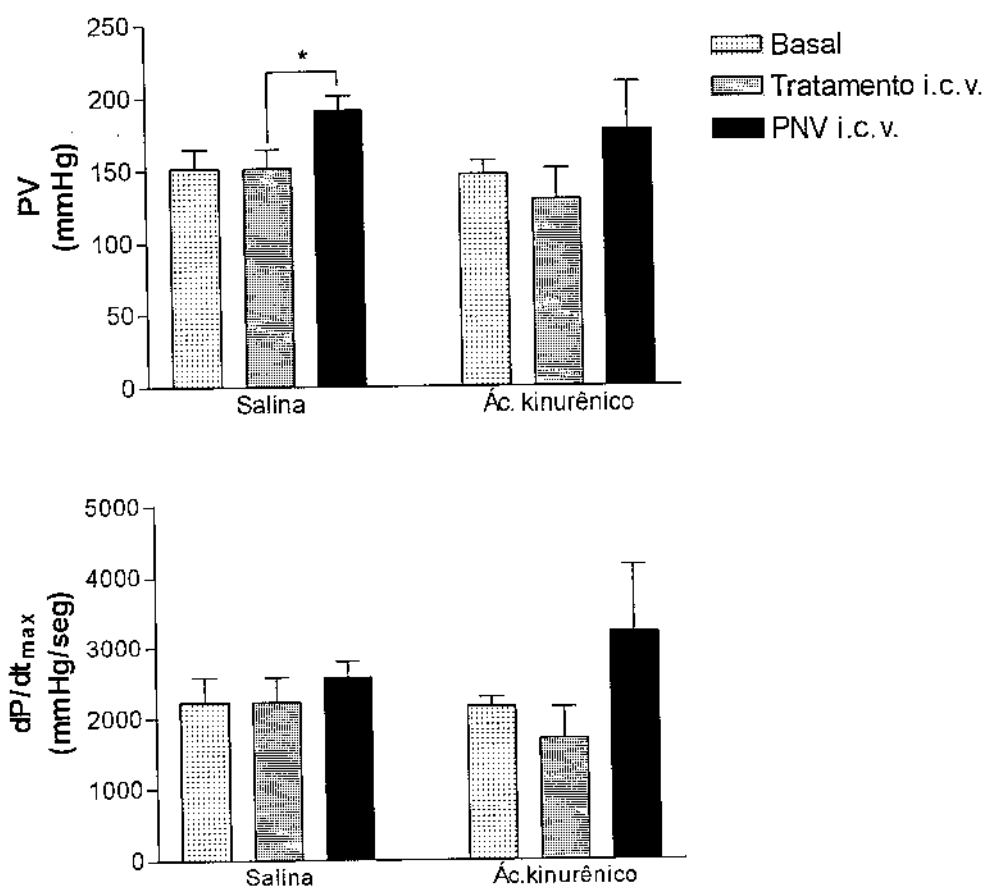


Figura 24: Efeitos do pré-tratamento dos animais com ác. kinurênico (100 µg/kg, i.c.v.) ou solução salina sobre os parâmetros cardiovasculares basais e sobre a resposta hemodinâmica induzida pela injeção i.c.v. do veneno da *P. nigriventer* (30 µg/kg). PV, pressão do ventrículo esquerdo; dP/dt_{max}, velocidade máxima de aumento da PV. * $P < 0,05$ (ANOVA).

IV.2.2 Efeitos do antagonismo dos receptores α_1 -adrenérgicos periféricos sobre a resposta hipertensora induzida centralmente pelo veneno da *P. nigriventer*

O pré-tratamento dos animais por via intravenosa com o antagonista α_1 - adrenérgico prazosin (100 $\mu\text{g/kg}$), inibiu parcialmente, mas de maneira significativa, a resposta hipertensora induzida pela injeção i.c.v. do veneno da *P. nigriventer*, quando comparada ao grupo de animais não tratados (tabela 12 e figuras 25 a 27).

Tabela 12: Efeitos do pretratamento com prazosin (100 µg/kg i.v.) em resposta à injeção i.c.v. do PNV (30 µg/kg) sobre os parâmetros cardiovasculares de coelhos anestesiados.

	Prazosin			
	antes	depois	% Δ	PNV i.v. % Δ
PAM (mmHg)	65 ± 8	43 ± 6	-32 ± 7	84 ± 19 * 88 ± 30
PAS (mmHg)	100 ± 9	68 ± 8	-31 ± 7	121 ± 24 * 74 ± 23
PAD (mmHg)	47 ± 8	31 ± 5	-32 ± 7	67 ± 16 * 109 ± 37
FC (bpm)	240 ± 15	240 ± 15	0 ± 3	233 ± 21 -1 ± 10
DC (ml/min.)	1112 ± 2	1094 ± 80	0 ± 4	1075 ± 138 -2 ± 8
RVS (dyn/seg/cm ⁵)	5 ± 1	3 ± 0,5	-23 ± 9	8 ± 2 98 ± 43
PV (mmHg)	129 ± 7	112 ± 7	-12 ± 8	142 ± 18 28 ± 16
dP/dt _{max} (mmHg/seg)	2312 ± 171	2125 ± 412	-10 ± 16	2708 ± 598 26 ± 17

PAM, pressão arterial média; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; FC, frequência cardíaca; PV, pressão intraventricular; dp/dt_{max}, velocidade máxima de aumento da pressão intraventricular. Os dados representam a média ± E.P.M. de 6 experimentos † P < 0,05, significância estatística dos efeitos do prazosin quando comparados com os valores basais; * P<0,05, significância estatística dos efeitos da injeção do PNV quando comparados com os valores depois do pretratamento com prazosin (ANOVA).

TRATAMENTO COM PRAZOSIN (100 µg/kg, i.v.)

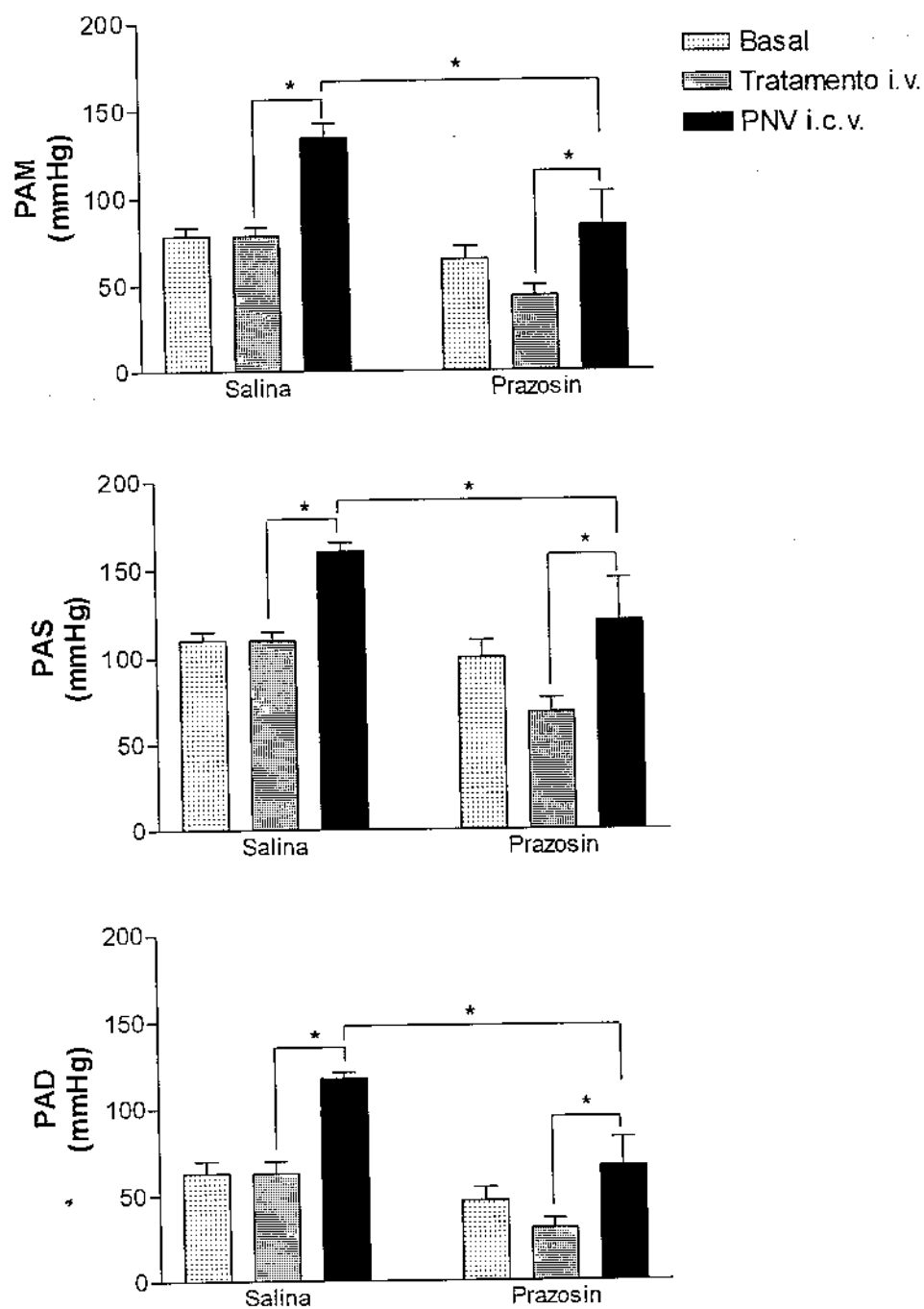


Figura 25: Efeitos do pré-tratamento dos animais com prazosin (100 µg/kg, i.v.) ou solução salina sobre os parâmetros cardiovasculares basais e sobre a resposta hemodinâmica induzida pela injeção i.c.v. do veneno da *P. nigriventer* (30µg/kg) . PAM, pressão arterial média; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica. * $P < 0,05$. (ANOVA).

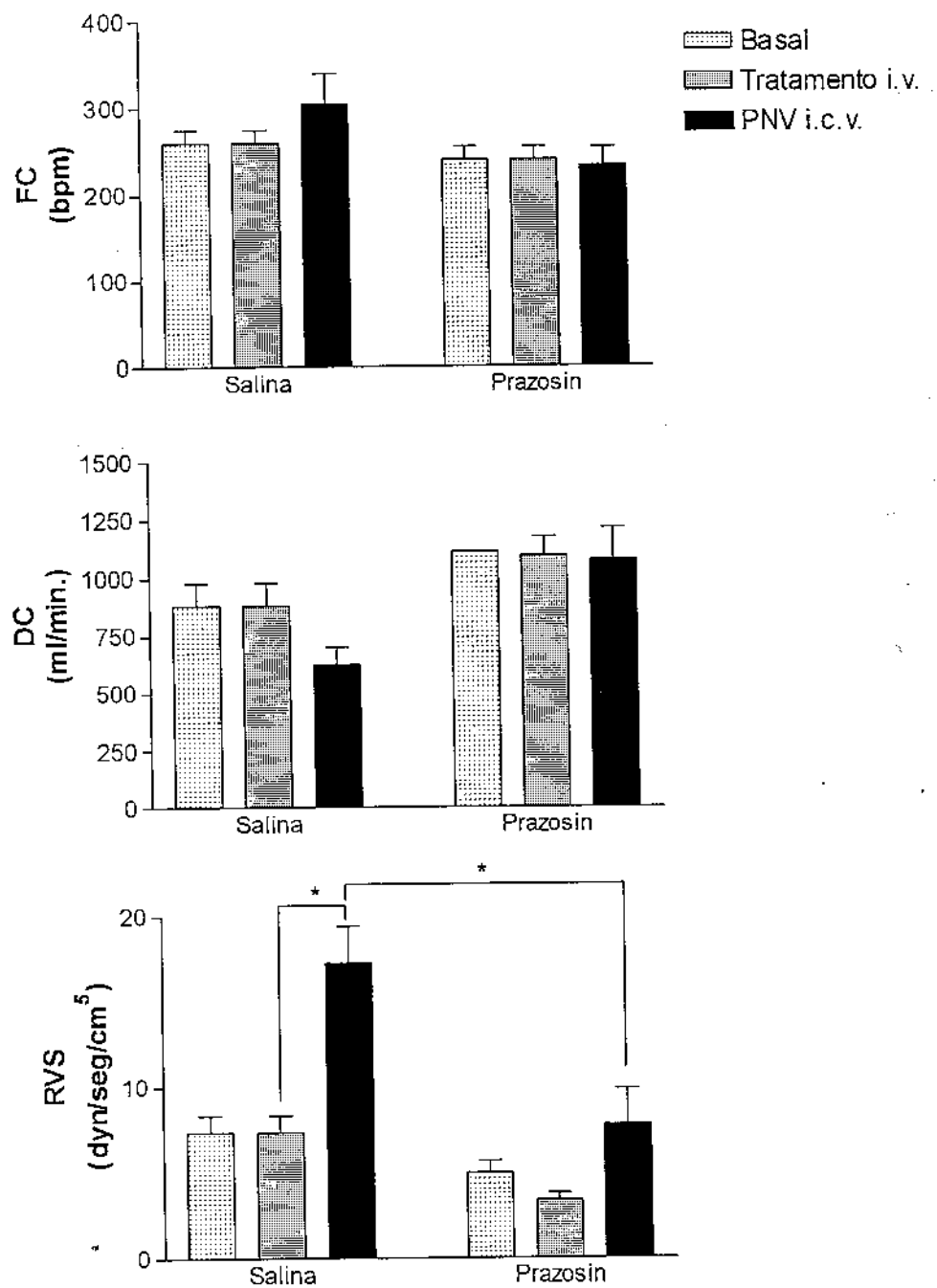


Figura 26: Efeitos do pré-tratamento dos animais com prazosin (100 µg/kg, i.v.) ou solução salina sobre os parâmetros cardiovasculares basais e sobre a resposta hemodinâmica induzida pela injeção i.c.v. do veneno da *P. nigriventer* (30µg/kg). FC, frequência cardíaca; DC, débito cardíaco; RVS, resistência vascular sistêmica. * $P < 0,05$ (ANOVA).

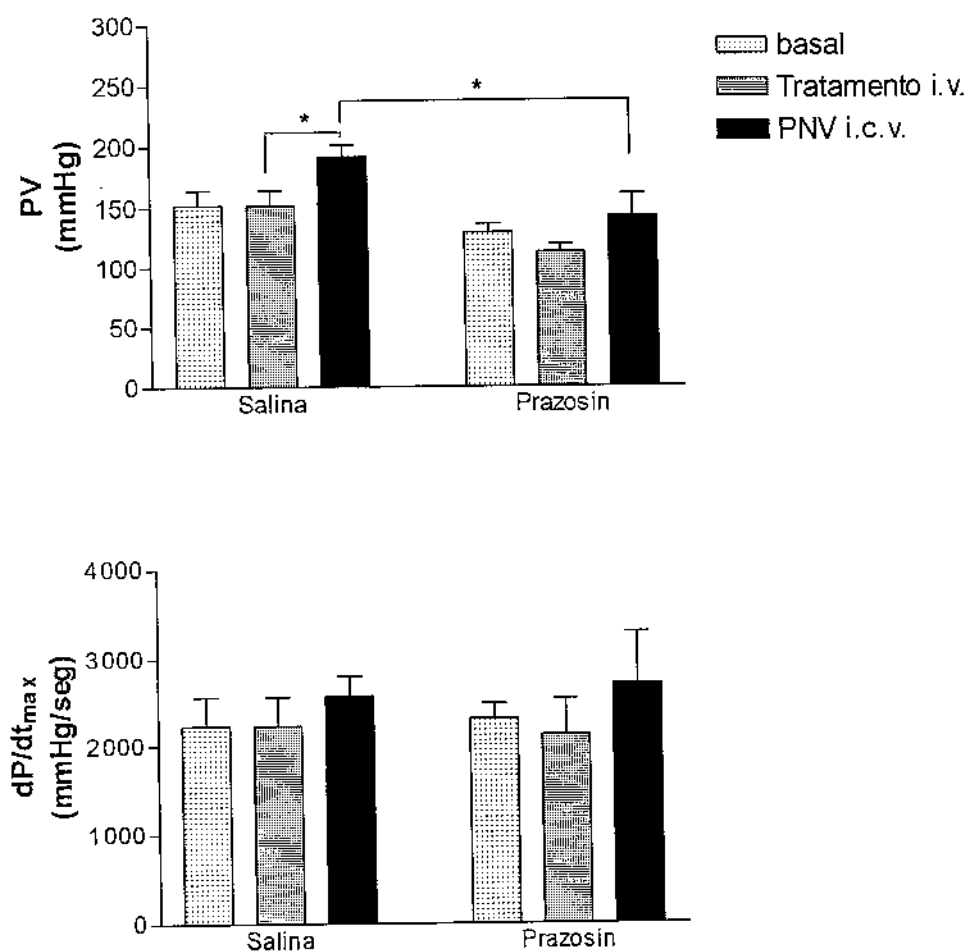


Figura 27: Efeitos do pré-tratamento dos animais com prazosin (100 µg/kg, i.v.) ou solução salina sobre os parâmetros cardiovasculares basais e sobre a resposta hemodinâmica induzida pela injeção i.c.v. do veneno da *P. nigriventer* (30µg/kg). PV, pressão do ventrículo esquerdo; dP/dt_{max}, velocidade máxima de aumento da PV. * $P < 0,05$ (ANOVA).

IV.3 Efeitos hemodinâmicos do veneno da *P. nigriventer* em animais desmedulados

Injeções do veneno da *P. nigriventer* (1 mg/kg), por via intravenosa, em animais desmedulados, induziram uma resposta hipertensora prolongada (mais de 30 min), caracterizada por aumentos significativos da PAM (399 ± 161 %), PAS (321 ± 116 %) e PAD (491 ± 220 %); acompanhados de aumentos da PV (188 ± 60 %) e do dP/dt_{max} (178 ± 65 %) (tabela 13).

Tabela 13: Efeitos da injeção intravenosa do PNV (1 mg/kg) sobre os parâmetros cardiovasculares de coelhos anestesiados e desmedulados.

	desmedulação			
	antes	depois	% Δ	PNV i.v. % Δ
PAM (mmHg)	86 ± 10	26 ± 4 †	-69 ± 6	116 ± 16 * 399 ± 162
PAS (mmHg)	120 ± 14	39 ± 5 †	-77 ± 10	151 ± 19 * 321 ± 116
PAD (mmHg)	69 ± 8	20 ± 3 †	-70 ± 7	99 ± 14 * 491 ± 220
FC (bpm)	290 ± 12	220 ± 11	-23 ± 7	245 ± 10 12 ± 3
PV (mmHg)	120 ± 19	56 ± 7 †	-54 ± 4	161 ± 34 * 188 ± 60
dP/dt _{max} (mmHg/seg)	2625 ± 330	1708 ± 370	-34 ± 25	4375 ± 938 * 178 ± 65

PAM, pressão arterial média; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; FC, frequência cardíaca; PV, pressão intraventricular; dp/dt_{max}, velocidade máxima de aumento da pressão intraventricular. Os dados representam a média ± E.P.M. de 4 experimentos † P < 0,05, significância estatística dos efeitos da desmedulação quando comparados com os valores basais; * P<0,05, significância estatística dos efeitos da injeção do PNV quando comparados com os valores depois da desmedulação (ANOVA).

IV.3.1 Efeitos do antagonismo dos receptores α_1 - e β - adrenérgicos sob a resposta hemodinâmica induzida pelo veneno da *P. nigriventer* em animais desmedulados

Os efeitos cardiovasculares induzidos pela injeção intravenosa do veneno da *P. nigriventer* (1 mg/kg) em animais desmedulados foi inibida de maneira significativa pelo pré-tratamento com prazosin por via intravenosa (100 μ g/kg) quando comparados com o grupo controle (tabela 14 e figuras 28 e 29). Tal inibição não ocorreu quando os animais foram pré-tratados com o atenolol (0,5 μ g/kg, i.v.) (tabela 15 e figuras 30 e 31).

Tabela 14: Efeitos do pretratamento com prazosin (100 µg/kg i.v.) em resposta à injeção intravenosa do PNV (1 mg/kg) sobre os parâmetros cardiovasculares de coelhos anestesiados e desmedulados.

Desmedulação e prazosin				
	antes	depois	% Δ	PNV i.v.
PAM (mmHg)	100 ± 13	32 ± 3 †	-97 ± 5	54 ± 11
PAS (mmHg)	141 ± 19	45 ± 6 †	-67 ± 5	74 ± 12
PAD (mmHg)	80 ± 11	26 ± 1 †	-65 ± 5	44 ± 11
FC (bpm)	305 ± 118	245 ± 27	-22 ± 10	270 ± 21
PV (mmHg)	132 ± 32	70 ± 14 †	-48 ± 7	133 ± 30 *
dP/dt _{max} (mmHg/seg)	2708 ± 616	958 ± 182 †	-65 ± 5	1833 ± 300
				115 ± 65

PAM, pressão arterial média; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; FC, frequência cardíaca; PV, pressão intraventricular; dp/dt_{max}, velocidade máxima de aumento da pressão intraventricular. Os dados representam a média ± E.P.M. de 4 experimentos † P < 0,05, significância estatística dos efeitos da desmedulação quando comparados com os valores basais; * P<0,05, significância estatística dos efeitos da injeção do PNV quando comparados com os valores depois da desmedulação e o pretratamento com prazosin (ANOVA).

DESMEDULAÇÃO E PRÉ-TRATAMENTO COM PRAZOSIN (100 µg/kg, i.v.)

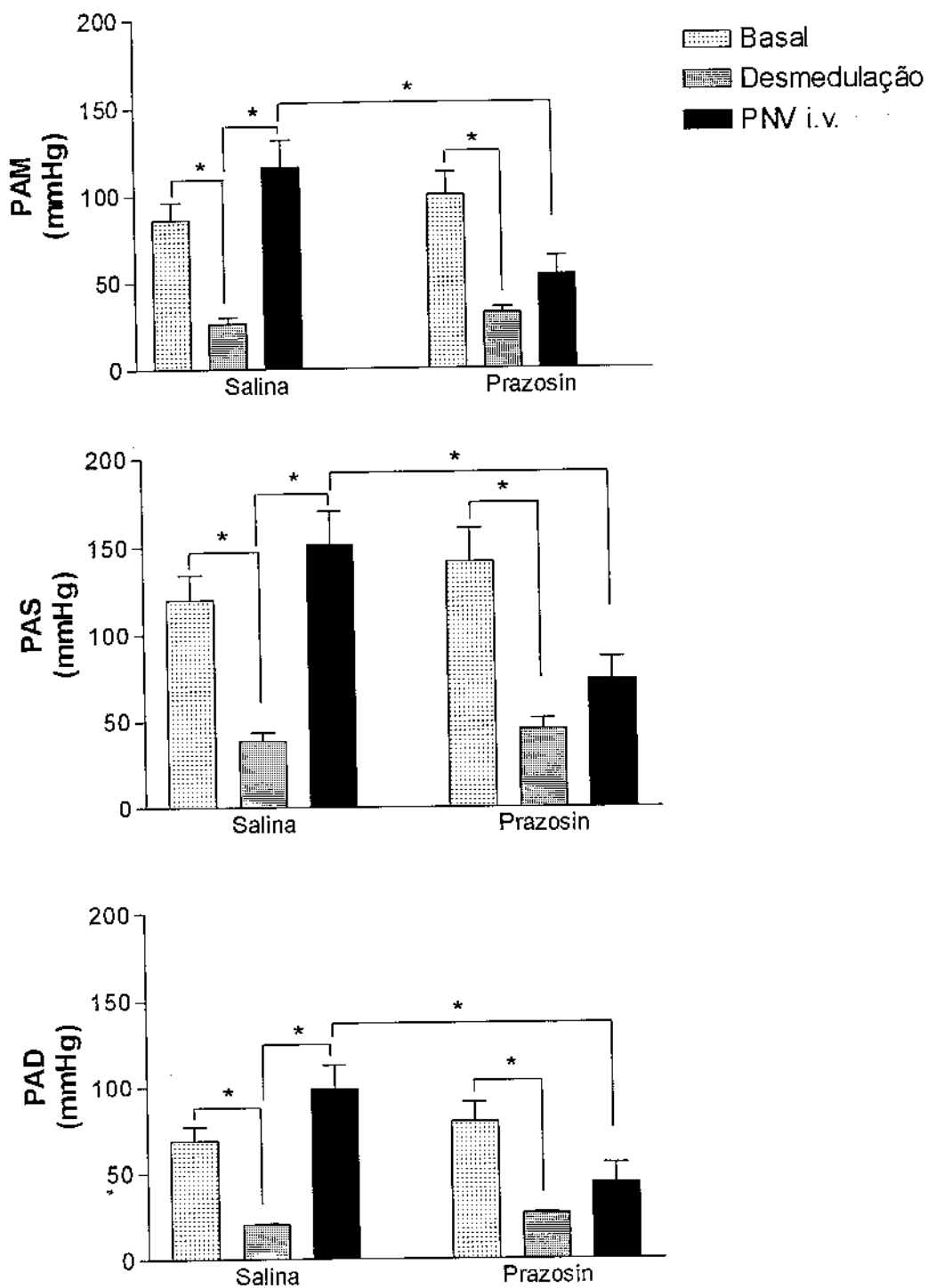


Figura 28: Efeitos da desmedulação sobre os parâmetros cardiovasculares basais e do pré-tratamento dos animais com prazosin (100 µg/kg, i.v.) ou solução salina e sobre a resposta hemodinâmica induzida pela injeção i.v. do veneno da *P. nigriventer* (1 mg/kg). PAM, pressão arterial média; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica. * $P < 0,05$. (ANOVA).

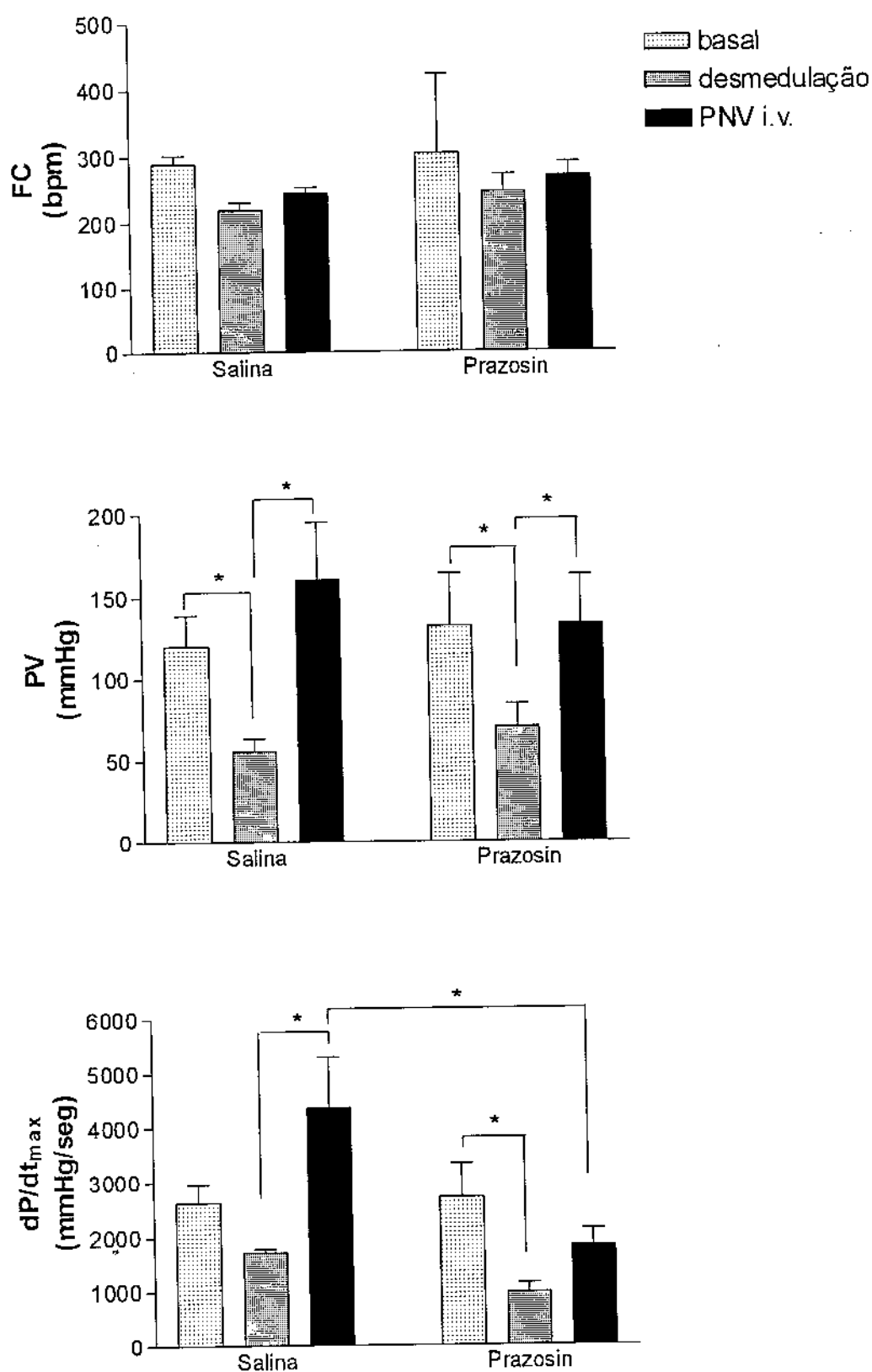


Figura 29: Efeitos da desmedulação sobre os parâmetros cardiovasculares basais e do pré-tratamento dos animais com prazosin (100 µg/kg, i.v.) ou solução salina e sobre a resposta hemodinâmica induzida pela injeção i.v. do veneno da *P. nigriventer* (1 mg/kg). FC, frequência cardíaca, PV, pressão do ventrículo esquerdo; dP/dt_{max}. * $P < 0,05$. (ANOVA).

Tabela 15: Efeitos do pretratamento com atenolol (0,5 µg/kg i.v.) em resposta à injeção intravenosa do PNV (1 mg/kg) sobre os parâmetros cardiovasculares de coelhos anestesiados e desmedulados .

Desmedulação e atenolol				
	antes	depois	% Δ	PNV i.v. % Δ
PAM (mmHg)	92 ± 6	24 ± 3 †	-74 ± 3	129 ± 6 *
PAS (mmHg)	127 ± 8	49 ± 1 †	-61 ± 3	164 ± 8 *
PAD (mmHg)	74 ± 5	21 ± 1 †	-71 ± 2	112 ± 7 *
FC (bpm)	270 ± 24	200 ± 10 †	-25 ± 3	180 ± 25
PV (mmHg)	112 ± 10	61 ± 7 †	-45 ± 7	173 ± 4 *
dP/dt _{max} (mmHg/seg)	2250 ± 170	1062 ± 73	-52 ± 3	3125 ± 159 *
PAM, pressão arterial média; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; FC, frequência cardíaca; PV, pressão intraventricular; dp/dl _{max} , velocidade máxima de aumento da pressão intraventricular. Os dados representam a média ± E.P.M. de 4 experimentos † P < 0,05, significância estatística dos efeitos da desmedulação quando comparados com os valores basais; * P<0,05, significância estatística dos efeitos da injeção do PNV quando comparados com os valores depois da desmedulação e o pretatamento com prazosin (ANOVA).				

DESMEDULAÇÃO E PRÉ-TRATAMENTO COM ATENOLOL (0,5 µg/kg, i.v.)

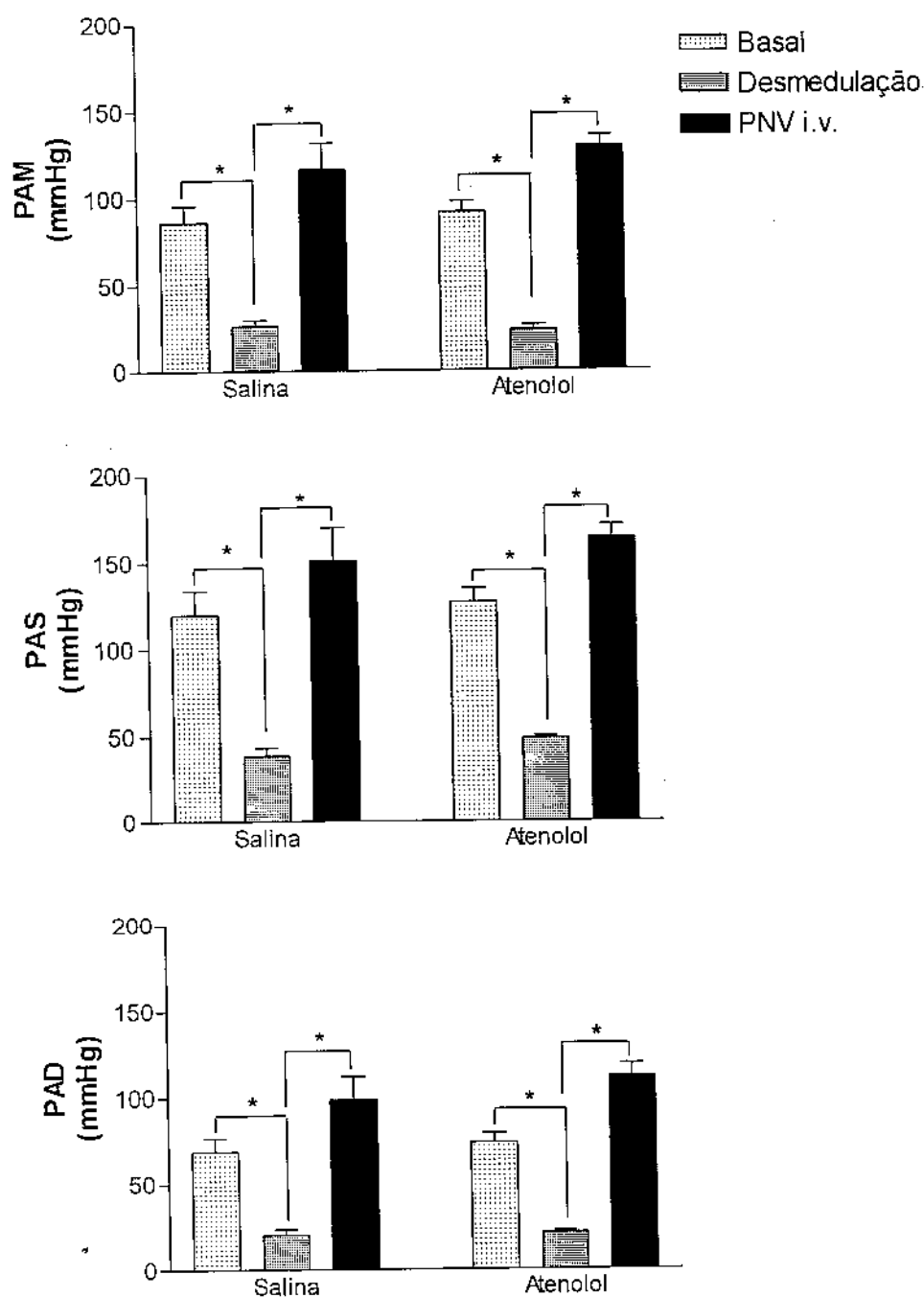


Figura 30: Efeitos da desmedulação sobre os parâmetros cardiovasculares basais e do pré-tratamento dos animais com atenolol (0,5 µg/kg, i.v.) ou solução salina e sobre a resposta hemodinâmica induzida pela injeção i.v. do veneno da *P. nigriventer* (1 mg/kg). PAM, pressão arterial média; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica. * $P < 0,05$. (ANOVA).

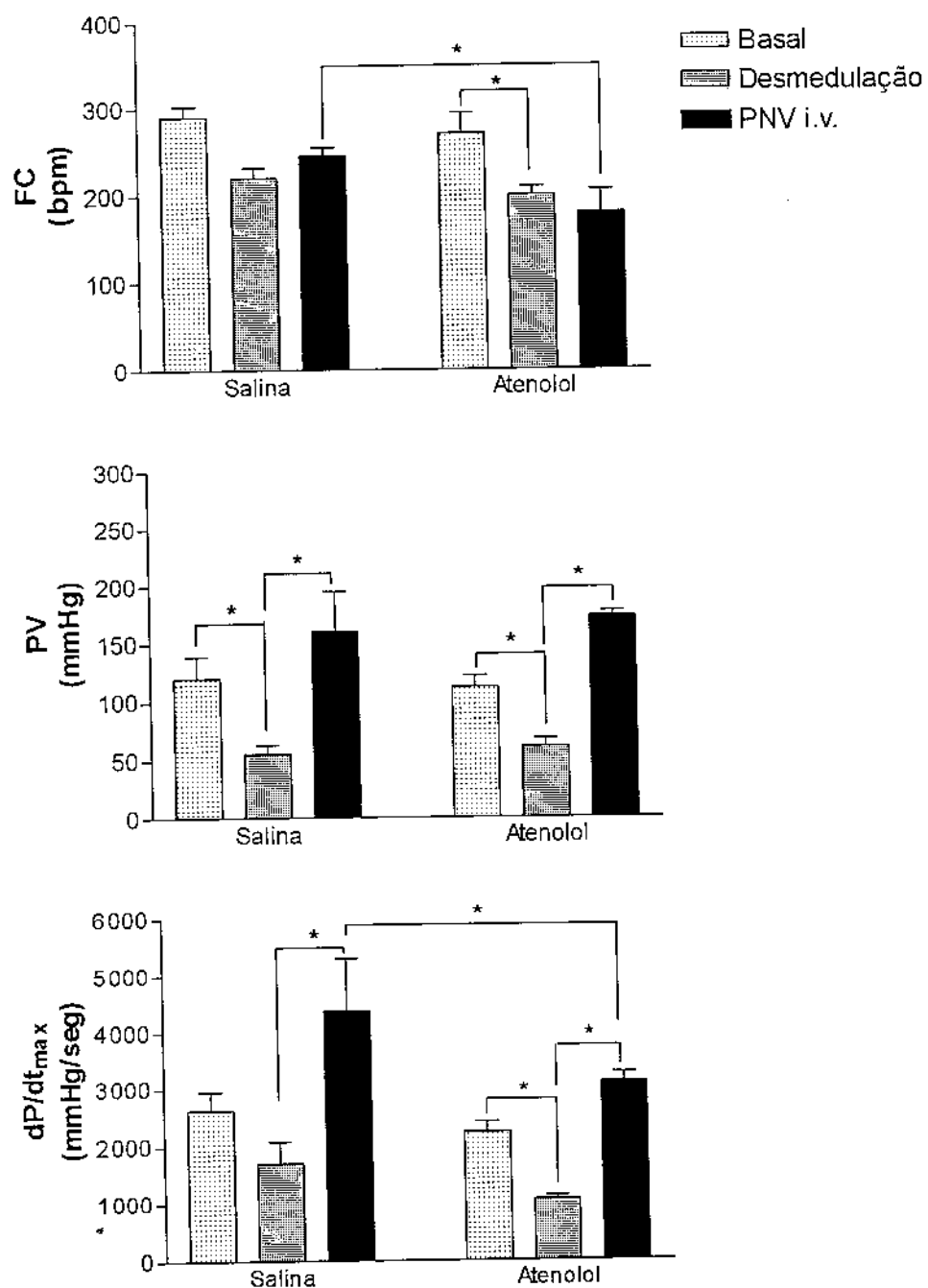


Figura 31: Efeitos da desmedulação sobre os parâmetros cardiovasculares basais e do pré-tratamento dos animais com atenolol (0,5 µg/kg, i.v.) ou solução salina e sobre a resposta hemodinâmica induzida pela injeção i.v. do veneno da *P. nigriventer* (1 mg/kg). FC, frequência cardíaca; PV, pressão do ventrículo esquerdo; dP/dt_{max}, velocidade máxima de aumento da PV. * P < 0,05. (ANOVA).

Discussão

V DISCUSSÃO

O presente trabalho baseou-se em estudos anteriores, os quais investigaram os efeitos cardiovasculares do veneno da aranha *P. nigriventer* em ratos anestesiados sob ventilação espontânea (Costa e col., 1996). Demonstrou-se no referido trabalho, que a administração sistêmica de baixas doses (100 µg/kg) do veneno da *P. nigriventer* induz queda transitória da pressão arterial, enquanto que doses mais elevadas (300 µg/kg) induzem uma resposta bifásica, caracterizada por hipotensão transitória seguida de hipertensão prolongada. O efeito hipertensor observado é independente da liberação de mediadores endógenos vasoativos tais como catecolaminas, endotelinas e angiotensina II. O efeito hipotensor induzido pelo veneno da *P. nigriventer*, parece também não envolver a participação de mediadores vasodilatadores como o óxido nítrico, o PAF, a acetilcolina e bradicinina. Logo, a partir desses dados, decidimos investigar se as alterações cardiovasculares induzidas pelo veneno da *P. nigriventer*, principalmente a resposta hipertensora, poderiam estar sendo mediadas, pelo menos em parte, pela ativação de estruturas bulbares do sistema nervoso central envolvidas no controle da pressão arterial.

Os achados do presente estudo, demonstraram primeiramente que os efeitos cardiovasculares induzidos por injeções intracerebroventriculares de baixas doses (30 e 100 µg/kg) do veneno da aranha *P. nigriventer* em coelhos anestesiados e ventilados artificialmente, se caracterizou por uma resposta hipertensora prolongada, acompanhada de aumentos importantes na

resistência vascular sistêmica, caracterizando a ocorrência de vasoconstrição sistêmica. Alterações cardíacas significativas também foram observadas através de aumentos da pressão do ventrículo esquerdo e aumentos do dP/dt_{max} . No entanto, não foram observadas alterações significativas na frequência cardíaca, provavelmente devido à ativação dos barorreceptores em resposta aos aumentos de pressão arterial. Esses efeitos foram acompanhados por alterações sistêmicas tais como salivação, fasciculação muscular generalizada e diurese. Ao contrário do que foi observado com a administração central, a administração sistêmica da mesma dose do veneno (100 µg/kg) induziu uma breve resposta hipotensora, caracterizada por queda da pressão arterial e da resistência vascular sistêmica, sugerindo vasodilatação sistêmica. Porém, a administração por via sistêmica de uma dose de 1 mg/kg do veneno foi capaz de induzir um padrão de resposta cardiovascular similar àquele observado com a administração central (i.c.v.) do veneno da *P. nigriventer*. Esses resultados poderiam sugerir que a administração sistêmica de doses hipertensoras do veneno seriam eficazes em atingir estruturas neuronais envolvidas no controle cardiovascular e desenvolver tais respostas hemodinâmicas.

O próximo passo desse trabalho, foi a investigação dos mecanismos de ação central envolvidos na resposta cardiovascular, induzida por injeções intracerebroventriculares (30 µg/kg) do veneno da *P. nigriventer*. Para isso utilizamos o pré-tratamento com antagonistas de mediadores endógenos que sabidamente desempenham um papel relevante na regulação central da pressão arterial, tais como a bradicinina, a angiotensina II, o glutamato e a acetilcolina.

A bradicinina e a angiotensina são peptídeos vasoativos que desempenham um papel importante não só na regulação da pressão arterial mas também na fisiopatologia da hipertensão arterial. Ambos peptídeos atuam através de mecanismos centrais e periféricos, interferindo na modulação da pressão arterial (Lewis e col., 1983).

A angiotensina induz aumentos de pressão arterial e aumento da atividade simpática, quando administrada tanto no sistema nervoso central quanto na circulação sistêmica (ver Epstein, 1978; Lewis e col., 1983). A estimulação de receptores de angiotensina II no sistema nervoso central leva a respostas comportamentais, cardiovasculares e endócrinas. As respostas mais consistentes são aumento da pressão arterial, indução do comportamento de ingestão de água e liberação de vasopressina (Severs e Daniel-Severs, 1973; Fitzsimons, 1980; Mangiapane e Simpson, 1980). Quanto ao mecanismo de ação envolvido nestas respostas, Barnes e Ferrario (1980) demonstraram que o aumento da pressão arterial induzido pela injeção i.c.v. de angiotensina II é causado pela ativação do sistema nervoso simpático. A participação da vasopressina na resposta pressora à angiotensina II, é controvertida pois a liberação de vasopressina só pode ser demonstrada com doses elevadas de angiotensina II em ratos. Além disso, tal resposta não foi constatada em cães (ver Reid, 1984). A administração simultânea de antagonistas de receptores da vasopressina do tipo V_1 e de um bloqueador α_1 -adrenérgico, em ratos, suprime a resposta pressora induzida pela administração i.c.v. de angiotensina II (ver Wright e Harding, 1992).

Considerando que a injeção i.c.v. de angiotensina II induz aumentos de pressão arterial semelhantes aqueles observados com a administração i.c.v. do

veneno da *P. nigriventer*, investigamos a participação da angiotensina II na resposta cardiovascular induzida pelo veneno da *P. nigriventer*. Os resultados do presente trabalho, demonstraram que o pré-tratamento com o losartan, um antagonista dos receptores da angiotensina, não alterou a hipertensão arterial induzida centralmente pelo veneno da *P. nigriventer*, excluindo assim a possibilidade do veneno estar promovendo a liberação de angiotensina II no sistema nervoso central.

A bradicinina, por sua vez, possui diferentes efeitos quando administrada sistêmica ou centralmente. A administração intravenosa ou intra-arterial de bradicinina causa vasodilatação, queda da pressão arterial e aumento da permeabilidade vascular (Bhoola, 1992; Lindsey, 1995). Ao contrário, quando é administrada centralmente e em doses baixas, a bradicinina induz hipertensão arterial e taquicardia acompanhadas de alterações comportamentais (excitação ou sedação) (Graeff e col., 1969), hipertermia (Almeida e Silva e Pelá, 1978), analgesia e liberação de vasopressina (Rocha e Silva e Malnic, 1964). A administração de doses mais elevadas de bradicinina nos ventrículos laterais produz uma resposta bifásica da pressão arterial, caracterizada por queda inicial da pressão arterial seguida de hipertensão. O componente hipotensor desta resposta pode ser atribuído à uma ação sistêmica deste peptídeo após o mesmo ter atingido a circulação sanguínea (Lang e Person, 1968; Lindsey e col., 1989), enquanto que os efeitos pressóricos são mediados pela ativação dos receptores B₂, uma vez que são bloqueados por antagonistas desta classe de receptores, como o HOE 140 (D-Arg-[Hyp³, Thi^{5,8},D-Phe⁷]-BK) (Lembeck e col., 1991), mas não por antagonistas B₁ (Leu⁸, des-Arg⁹)-BK (Lindsey e col., 1989). Além disso, o

sistema calicreína-cinina parece desempenhar um papel importante na modulação do sistema cardiovascular e em eventos fisiopatológicos. E ainda, existem relatos de que a injeção intracerebroventricular de calicreína tissular, uma glicoproteína que promove a formação da bradicinina, amplamente distribuída no sistema nervoso central, entre outros órgãos, também induz aumento dos níveis de cininas cerebrais e hipertensão arterial. Esses dados sugerem a existência de um sistema funcional de calicreína tissular no sistema nervoso central, capaz de modular a pressão arterial (Kariya e Yamauchi, 1987).

Recentemente, demonstrou-se que a ativação do sistema de calicreína tissular e a subsequente geração de cininas e liberação de óxido nítrico, é também o mecanismo pelo qual o veneno da *P. nigriventer* promove relaxamento da musculatura lisa de corpo cavernoso de coelho (Lopes-Martins e col., 1994). E ainda, em estudos realizados com pele de coelhos, Marangoni e col., (1993) demonstraram que o veneno ativa o sistema de calicreína tissular levando à formação local de cininas (calidina), produzindo aumento da permeabilidade vascular e em consequência extravasamento plasmático com formação de edema local. A partir desse dados, investigamos se o efeito hipertensor induzido centralmente pelo veneno da *P. nigriventer*, poderia estar sendo mediado pela ativação dos receptores B₂ da bradicinina. Embora o pré-tratamento com o antagonista seletivo desses receptores, o Hoe 140, não tenha inibido a resposta pressora induzida pela administração intracerebroventricular do veneno, inesperadamente, em nosso modelo experimental com coelhos anestesiados com barbitúricos, a injeção i.c.v. de bradicinina induziu hipotensão ao invés da esperada hipertensão arterial. Tais

resultados inesperados podem ser devidos à influência do anestésico sobre o efeito central da bradicinina, já que existem relatos demonstrando que em ratos anestesiados o efeito pressórico da bradicinina pode ser reduzido, abolido ou invertido a um efeito depressor (Lindsey, 1995). Os anestésicos gerais podem, de fato, reduzir e/ou aumentar a atividade neuronal e em consequência alterar os efeitos cardiovasculares centrais de diferentes agentes farmacológicos. Entre outros exemplos, já foi demonstrado anteriormente que a anestesia é capaz de alterar o efeito hipertensor das catecolaminas injetadas no ventrículo lateral (Correa e Margro, 1982) ou do glutamato no núcleo do trato solitário (Machado e Bonagamba, 1992), transformando-o em um efeito hipotensor. Outro exemplo clássico é a clonidina, um anti-hipertensor de ação central capaz de induzir hipotensão arterial significativa quando injetada em baixas doses, por via central, em animais anestesiados com barbitúricos (Bousquet e col., 1984, 1985) tem seu efeito abolido em ratos anestesiados com quetamina, cloralose ou alfatesin (Bousquet e col., 1977). Além disso, também já foi demonstrado que a clonidina pode desencadear um efeito hipertensor importante após administração intracisternal em ratos normotensos não anestesiados (Head e De Jong, 1986).

Dentre os mediadores que participam na regulação central da pressão arterial, o glutamato, considerado como o neurotransmissor excitatório de maior importância no sistema nervoso central de mamíferos, está envolvido em diversos mecanismos fisiológicos tais como plasticidade neuronal e aprendizado e consolidação da memória (Collingridge e Lester, 1989). Neste contexto, Tibiriçá e col. (1995) demonstraram que injeções intracerebroventriculares de glutamato induzem aumentos importantes da

pressão arterial, da contratilidade cardíaca e aumentos da demanda de oxigênio pelo miocárdio. Tais efeitos se mostraram muito semelhantes àqueles observados com a injeção intracerebroventricular do veneno da *P. nigriventer*. Com base em estudos demonstrando que algumas frações do veneno da *P. nigriventer* induzem a liberação de glutamato de sinaptossomas de córtex de rato (Romano-Silva e col., 1993), decidimos investigar o envolvimento do sistema de neurotransmissão glutamatérgica na resposta hipertensora induzida pelo veneno da *P. nigriventer*. Contudo, o pré-tratamento dos animais com o antagonista de amplo espectro dos receptores do glutamato, o ácido kinurênico (Collingridge e Lester, 1989), não alterou de maneira significativa a resposta cardiovascular produzida pelo veneno, ainda que esta dose tenha sido efetiva no bloqueio do agonista glutamato. Por outro lado, o tratamento com o ifenprodil, que é um modulador do sítio de ligação intracelular das poliaminas, situado no complexo macromolecular do receptor NMDA do glutamato (Carter e col., 1990; Schoemaker e col., 1990), foi capaz de atenuar o efeito hipertensor do veneno. Este bloqueio parcial poderia eventualmente ser devido a passagem do antagonista para a circulação sistêmica, já que o ifenprodil também apresenta a propriedade de bloquear os receptores α_1 -adrenérgicos vasculares (Chenard e col., 1991). É importante ressaltar que este efeito inibitório parcial apresentou padrão análogo àquele observado após o tratamento com prazosin por via intravenosa.

Por outro lado, a estimulação colinérgica do sistema nervoso central induzida tanto pela ação de agonistas quanto pela inibição da acetilcolinesterase, produzem aumentos de pressão arterial em diversas espécies (rato, gato, cão e no homem). Embora existam controvérsias na

literatura quanto aos efeitos cardiovasculares centrais da acetilcolina, já que tanto efeitos pressores quanto depressores já foram observados, um grande número de evidências indica que a acetilcolina induz aumentos da pressão arterial através da ativação de receptores muscarínicos centrais (Brezenoff e Giuliano, 1982). No entanto, nas condições experimentais utilizadas no presente trabalho, a injeção i.c.v. de acetilcolina induz somente efeitos cardiovasculares inibitórios como hipotensão arterial marcada. Finalmente, Vital Brazil e col. (1988), constataram que o veneno da *P. nigriventer* ativa canais de sódio dependentes de voltagem, promovendo a liberação de acetilcolina e catecolaminas das terminações nervosas autonômicas em aurículas isoladas de cobaia.

Os resultados do presente trabalho mostraram que o pré-tratamento dos animais com atropina por via central não alterou a resposta cardiovascular induzida pelo veneno da *P. nigriventer*, excluindo assim a participação do sistema colinérgico nesta resposta.

Com o intuito de determinar de maneira definitiva se os efeitos cardiovasculares sistêmicos do veneno da *P. nigriventer* tinham origem no sistema nervoso central, utilizamos um modelo experimental de desmedulação dos animais (Szabo e col., 1987; Majewski e col., 1983). Através deste método, eliminamos a participação do sistema nervoso central na resposta produzida pelo veneno administrado sistemicamente.

Surpreendentemente, os resultados observados nesse grupo experimental demonstraram que a administração intravenosa de uma dose de 1 mg/kg do veneno da *P. nigriventer* induziu uma resposta hipertensora prolongada, acompanhada de aumentos da pressão ventricular esquerda e do

dP/dt_{max} . Esta resposta foi inibida de maneira significativa pelo pré-tratamento com o antagonista α_1 -adrenérgico prazosin, demonstrando que o efeito sistêmico do veneno, pelo menos em animais desprovidos da influência do sistema nervoso central, se deve ao aumento da atividade do sistema nervoso simpático periférico com conseqüente ativação de receptores α_1 -adrenérgicos.

Apesar dos resultados citados acima, não poderíamos descartar ainda a possibilidade do veneno da *P. nigriventer*, quando administrado por via i.c.v., desencadear a ativação de um mecanismo central, que teria, eventualmente, como efeito final a ativação do sistema nervoso simpático e conseqüente aumento da resistência vascular periférica e da pressão arterial. Para investigar esta hipótese, observamos o efeito do antagonismo dos receptores α_1 -adrenérgicos através da administração de prazosin por via intravenosa, sobre a resposta hipertensora induzida por injeções i.c.v. do veneno da *P. nigriventer*. Nossos resultados demonstraram que o bloqueio seletivo dos receptores α_1 -adrenérgicos inibiu de maneira significativa a resposta hipertensora induzida pela injeção central do veneno, sugerindo a ativação de estruturas envolvidas no controle central do sistema cardiovascular que, por sua vez, levam a um aumento da atividade eferente simpática para a periferia.

Posteriormente, resolvemos investigar se os efeitos cardiovasculares induzidos por via sistêmica pelo veneno da *P. nigriventer*, em animais íntegros com relação ao sistema nervoso autônomo, envolveria também a ativação dos receptores α -adrenérgicos, embora existam evidências de que a hipertensão induzida pelo veneno da *P. nigriventer* em ratos anestesiados não é mediada pela ativação de tais receptores (Costa e col., 1996). Nossos resultados demonstraram claramente que os receptores α -adrenérgicos desempenham um

importante papel na resposta hipertensora induzida pelo veneno, já que o pré-tratamento com prazosin atenuou de maneira significativa, os aumentos das pressões arteriais média, sistólica e diastólica, assim como os aumentos da resistência vascular sistêmica e o efeito inotrópico positivo.

No entanto, uma série de evidências nos permite sugerir que parte dos efeitos cardiovasculares observados após a administração sistêmica do veneno da *P. nigriventer* poderia ter sua origem no sistema nervoso central: 1) o veneno possui a capacidade de promover a ruptura da barreira hematoencefálica por um período bastante prolongado (Le Sueur, 1998); 2) a existência de estruturas neuronais envolvidas na regulação do sistema cardiovascular isentas de barreira hematoencefálica, poderia facilitar o desencadeamento do efeito hipertensor ao nível central; 3) o quadro clínico observado após a inoculação do veneno em humanos, pelo menos nos casos mais graves, inclui diversos sinais e sintomas neurológicos; 4) no presente trabalho, o bloqueio dos receptores α_1 -adrenérgicos com o prazosin não foi capaz de inibir totalmente a resposta induzida pela injeção intravenosa do veneno.

Em resumo, podemos concluir que o veneno da aranha *P. nigriventer* possui 2 componentes de ação cardiovascular: um central e outro periférico. Os efeitos hemodinâmicos centrais se devem a um mecanismo ainda não identificado, que não envolve a ativação dos receptores B_2 da bradicinina, dos receptores muscarínicos, dos receptores da angiotensina II, nem dos receptores do glutamato. Além disso, os efeitos cardiovasculares centrais tem como via efetora final a ativação do sistema nervoso simpático e conseqüente ativação dos receptores α -adrenérgicos. Já os efeitos cardiovasculares

periféricos do veneno, podem ser imputados à ativação direta dos receptores α -adrenérgicos ou indireta, através da liberação de catecolaminas da medula da adrenal.

Conclusões

VI CONCLUSÕES

- O veneno da aranha *P. nigriventer* possui 2 componentes de ação cardiovascular: um central e outro periférico.
- Os efeitos hemodinâmicos centrais se devem a um mecanismo ainda não identificado, que não envolve a participação de mediadores como a bradicinina, a acetilcolina, angiotensina II, nem o glutamato.
- Os efeitos cardiovasculares centrais tem como via efetora final a ativação do sistema nervoso simpático e conseqüente ativação dos receptores α -adrenérgicos.
- Os efeitos cardiovasculares periféricos do veneno, devem-se à uma provável ativação direta ou indireta (liberação de catecolaminas pela adrenal) dos receptores α -adrenérgicos.

Summary

VII SUMMARY

The putative central effects of *Phoneutria nigriventer* venom have been investigated. New Zealand rabbits were anaesthetized, immobilized and artificially ventilated. The arterial pressure (AP), cardiac output (CO), the pressures of the left ventricle, dP/dt_{max} were continuously monitored and systemic vascular resistance (SVR) was calculated from CO values. The intracerebroventricular injection of increases doses of PNV ($30 \mu\text{g.kg}^{-1}$ and $100 \mu\text{g.kg}^{-1}$) ($n=5-13$), produced an increase in MAP (61 ± 5 and 61 ± 10 %), in SVR (135 ± 21 and 161 ± 37 %) and the dP/dt_{max} (30 ± 21 and 37 ± 7 %), respectively and a decrease in CO. These changes were accompanied by tachycardia, salivation, fasciculations and arrhythmias. At the contrary, the same dose of the *Phoneutria nigriventer* venom injected intravenously produced only a hypotensive effect with a decrease of the SVR. Moreover, a much higher dose of the PNV (1 mg.kg^{-1}) injected intravenously produced a similar hypertensive effect with a increase in MAP (70 ± 9 %), in SVR (108 ± 31 %) and dP/dt_{max} (51 ± 8 %). The central administration of atropine ($10 \mu\text{g}$), Hoe 140 ($0.5 \mu\text{g/kg}$), Losartan ($50 \mu\text{g/kg}$) and kynurenic acid ($250 \mu\text{g/kg}$) did not inhibited the hypertensive response induced by the i.c.v. injection of PNV ($30 \mu\text{g/kg}$). Only ifenprodil ($100 \mu\text{g/kg}$) was able to partly reduce the *P. nigriventer* venom effects. This result is probably due to the fact that ifenprodil is also an α blocker. The pretreatment of the animals with intravenous injections of prazosin ($100 \mu\text{g/kg}$) promptly reduced the hypertensive response induced by PNV injected centrally and systemically.

In pithed rabbits, the pretreatment with prazosin ($100 \mu\text{g/kg}$) but not atenolol ($0.5 \mu\text{g/kg}$) abolished the hypertensive response induced by *P.*

nigriventer venom. Our results indicate that the PNV central and peripheral effects. The central mechanism of action may activate the sympathetic nervous system with consequent activation of α -adrenoceptors and the peripheral effects probably due to a direct or indirect (catecholamines release) activation of the α -adrenoceptors.

Referências Bibliográficas

VIII REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXANDER, R.S.: Tonic and reflex function of medullary sympathetic cardiovascular centers. **J. Neurophysiol.** 9: 205-217. 1946.
- ALMEIDA, E SILVA, T.C. & PELÁ, I.R. Changes in rectal temperature of rabbit by intracerebroventricular injection of bradykinin and related amines. **Agents Actions.** 8: 102-107. 1978.
- ANTUNES, E.; MARANGONI, R. A.; BRAIN, S. D.; & DE NUCCI, G. *Phoneutria nigriventer* (armed spider) venom induces a 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; & DE NUCCI, G. Effects of *Phoneutria nigriventer* venom on rabbit vascular smooth muscle. **Brazilian J. Med. Biol. Res.** 26: 81-91. 1993.
- ARAÚJO, D.A.M.; CORDEIRO, M.N.; DINIZ, C.R. & 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.
- BANDLER, R. & DEPAULIS, A. Midbrain periaqueductal gray control of defensive behavior in the cat and the rat. In: *The Midbrain Periaqueductal Gray Matter: Functional, Anatomical and Neurochemical Organization*, pp. 175-198. Eds A. Depaulis and R. Bandler. Plenum: New York. 1991.
- BARD, P.: Anatomical organization of the central nervous system in relation to control of the heart and blood vessels. **Physiol. Rev.** 40 (suppl. 4): 3-26, 1960.
- BARNES, K.L. & FERRARIO, C.M. Angiotensin and CSN regulation of blood pressure. **Clin. Exper. Hypert.** 2 (3&4): 465-477. 1980.
- BARNES, K.L.; FERRARIO, C.M.; COMONY, J.P. Comparison of hemodynamics changes produced by electrical stimulation of the area

- postrema and nucleus tractus solitari in the dog. **Circ. Res.** 45: 136-146. 1979.
- BARRIO, A. Spastic action of the venom of the spider *Phoneutria fera*. **Acta Physiol. Latinoamer.** 5: 132-143. 1955.
- BHOOLA, K.D.; FIGEROA, C.D. & WORTHY, K. Bioregulation of kinins: kallikreins, kininogens and kininases. **Pharmacol. Res.** 44: 1-80. 1992.
- BOUSQUET, P. & GUERTZENSTEIN, P.G. Localization of the central cardiovascular action of clonidine. **Br. J. Pharmacol.** 49: 573 – 579. 1973.
- BOUSQUET, P.; FELDMAN, J. & SCHWARTZ, J. Central cardiovascular effects of alpha adrenergic drugs: differences between catecholamines and imidazolines. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** 230: 232-236, 1984.
- BOUSQUET, P.; FELDMAN, J. & SCHWARTZ, J. The medullary cardiovascular effects of imidazolines and some GABA analogues: a review. **J. Auton. Nerv. Syst.** 14: 263-270, 1985.
- BOUSQUET, P.; GAERTNER, M.; FELDMAN, J. & BLOCH, R. Variations in the effect of clonidine on arterial pressure in rats in the presence of various anesthetics. **C. R. Seances Soc. Biol. Fil.** 171:1129-1133, 1977.
- BREZENOFF, H.E. & GIULIANO, R. Cardiovascular control by cholinergic mechanisms in the central nervous system. **Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.** 22: 341-381. 1982.
- BUCARETCHI, F. Accidentes por *Phoneutria nigriventer* (Foneutrismo). In: **Plantas venenosas e animais peçonhentos**. 2.ed. São Paulo: Sarvier, 196-201p. 1992.
- BÜCHERL, W. In "Venoms". Am. Assoc. Advanc. Sci. Washington, D.C. 44: 95-97. 1956.
- BÜCHERL, W.- In; **Acúleos que matam** (No mundo das aranhas0. 4ª ed. Rio de Janeiro, Kosmos. 1980.
- CARTER, C.J.; LLOYD, K.G.; ZIVKOVIC, B. & SCATTON, B. Ifenprodil and SL 82.0715 as cerebral antiischemic agents. III. Evidence for antagonistic effects at the polyamine modulatory site within the N-methyl-D-aspartate receptor complex. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** 253: 475-482, 1990.
- CHENARD, B.L.; SHALABY, I.A.; KOE, B.K.; RONA, R.T.; BUTLER, T.W.; PROCHNIAK, M.A.; Schmidt, A.W. & Fox, C.B. Separation of alpha-1

- adrenergic and N-methyl-D-aspartate antagonist activity in a series of ifenprodil compounds. **J Med Chem** 34: 3085-3090, 1991.
- COLLINGRIDGE, G.L. & LESTER, R.A. Excitatory amino acid receptors in the vertebrate central nervous system. **Pharmacol. Rev.** 40: 143-210. 1989.
- CORREA, F.M.A. & MARGRO, I.A.S. CNS mediation of cardiovascular responses to intracerebroventricular administration of catecholamines. **Trends in Pharmacol. Sci.** 3: 330-332. 1982.
- COSTA, S. K. P.; MORENO, H. JR.; BRAIN, S. D.; DE NUCCI, G.; ANTUNES, E. The effect of *Phoneutria nigriventer* (armed spider) venom on arterial blood pressure of anaesthetised rats. **Eur. J. Pharmacol.** 298: 113-120. 1996.
- DAMPNEY, R. A. L.; CZACHURSKI, J. DEMBOWSKY, K.; GOODCHILD, A. K. & SELLER, H. Afferent connections and spinal projections of the vasopressor region in the rostral ventrolateral medulla of the cat. **J. Auton. Nerv. Syst.** 20: 73-86. 1987.
- DAMPNEY, R.A.L. Functional Organization of central cardiovascular pathways. **Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.** 8: 241-259. 1981.
- DINIZ, C.R. Separação de proteínas e caracterização de substâncias ativas em venenos de aranhas do Brasil. In: Anais Acad. Brasileira de Ciências. 35: 283-291p. 1963.
- DITTMAR, C. Ein neuer Beweis für die Reizbarkeit der centripetalen Fasern des Rückenmarks. **Sachs Akad. Wiss. Sitz.** 22: 18-45, 1870.
- EPSTEIN, A.N. The neuroendocrinology of thirst and salt appetite. In *Frontiers in Neuroendocrinology*, vol. 5, by Ganong WF & Martini 1 (eds.), Raven Press, NY, pp. 101-134. 1978.
- FELDBERG, W. & GUERTZENSTEIN, P.G. A vasodepressor effect of pentobarbitone sodium. **J. Physiol.** 224: 83-103. 1972.
- FERGUNSON, A. V. Neurophysiological analysis of mechanisms for subfornical organ and area postrema involvement in autonomic control. **Prog. Brain Res.** 91: 413-421. 1992.
- FERGUNSON, A.V.; RENAUD, L.P. Hypothalamic paraventricular nucleus lesions decreases pressor responses to subfornical organ stimulation. **Brain Res.** 305: 361-364. 1984.

- FERGUNSON, A.V.; SMITH, P. Circulating endothelin influences area postrema neurons. **Reg. Pept.** 32: 11-21. 1991.
- FIGUEIREDO, S.G.; GARCIA, M.E.L.-P.; VALENTIM, A.D.C.; CORDEIRO, M.N.; DINIZ, C.R. & RICHARDSON, M. Purification and amino acid sequence of the insecticidal of the "armed" spider *Phoneutria nigriventer* (Keys). **Toxicon.** 33: 83-93. 1995.
- FISCHER, F.G.; BOHN, H. Justus Liebig's. **Ann. Chem.** 603: 232-249. 1957.
- FISHER, F.G. & BOHN, H. Die Gifftsekrete der brasilianischen *Tarantel Lycosa erythrognata* und der Wanderspinnne *Phoneutria fera*. **Z.Physiol. Chem.** 306: 265-268. 1957.
- FITZSIMONS, J.T. Angiotensin stimulation of the central nervous system. **Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.** 87: 117-167. 1980.
- FONTANA, M. D. & VITAL BRAZIL, O. 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.
- GATTI, P.J.; DIAS SOUZA, J.; GILLIS, R.A. Increase in coronary vascular resistance produced by stimulating neurons in the region of the area postrema in the cat. **Brain Res.** 448: 313-319. 1988.
- GRAEFF, F.G.; PELA, I.R. & ROCHA, E. SILVA, M. Behavioral and somatic effects of bradykinin injected into cerebral ventricles of unaesthetized rabbits. **Br. J. Pharmacol.** 37: 723-732. 1969.
- GROSS, P. M. Circunventricular organ capillaries. **Prog. Brain. Res.** 91: 219-233. 1992.
- GUTMAN, M.B.; CIRIELLO, J.; MOGENSEN, G.J. Effects of plasma angiotensin II and hypernatremia on subfornical organ neurons. **Am. J. Physiol.** 254: R746-R754. 1988.
- GUTMAN, M.B.; CIRIELLO, J.; MOGENSEN, G.J. The effect of paraventricular lesions on cardiovascular responses elicited by stimulation of the subfornical organ in the rat. **Can. J. Physiol. Pharmacol.** 63: 816-824. 1985.
- HARTLE, D.K.; SOLIMAN, A.S. Adreno sympathetically-mediated hemodynamic effects of area postrema stimulation. **Soc. Neurosci. Abstr.** 16. 1990.
- HASSER, E.M.; BISHOP, V.S. Reflex effect of vasopressin after blockade of V1 receptors in the area postrema. **Circ. Res.** 67: 265-271. 1991.

- HEAD, G.A. & DE JONG, W. Differential blood pressure responses to intracisternal clonidine, alpha-methyldopa, and 6-hydroxydopamine in conscious normotensive and spontaneously hypertensive rats. **J. Cardiovasc. Pharmacol.** 8: 735-742, 1986.
- HUANG, W.X.; LAHIRI, S.; MOKASHI, A. & SHERPA, A. K. Relationship between sympathetic and phrenic nerve responses to peripheral chemoreflex in the cat. **J. Auton. Nerv. Syst.** 25: 95-106. 1988.
- HUANG, Z. S.; GEBBER, G.L.; BARMAN, S.M. & VARNER, K. J. Forebrain contribution to sympathetic nerve discharge in anesthetized cats. **Am. J. Physiol.** 252: R645-R652. 1987.
- KARIYA, K. & YAMAUCHI, A. Relationship between hypertensive response and brain kinin level in rat injected intraventricularly with glandular kallikrein. **Jpn. J. Pharmacol.** 43: 129-132. 1987.
- KARIYA, K.; YAMAGUCHI, A. Effects of intraventricular injection of bradykinin on the EEG and the blood pressure in conscious rats. **Neuropharmacology.** 20: 1221-1224. 1981.
- KNEPEL, W.; NUTTO, D.; MEYER, D.K. Effects of transection of subfornical efferent projections on vasopressin release induced by angiotensin or isoprenaline in the rat. **Brain Res.** 248: 180-184. 1982.
- LANG, W.J. & PERSON, L. Studies on the pressor responses produced by bradykinin and kallidin. **Br. J. Pharmacol. Chemother.** 32: 330-338. 1968.
- LE SUEUR. Estudo imunohistoquímico, farmacológico e ultraestrutural da ação do veneno da aranha *Phoneutria nigriventer* sobre a barreira hematoencefálica de ratos. Campinas, 1998. (Tese de mestrado - Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas).
- LEMBECK, F.; GRIESBACHER, T.; ECKHARDT, M.; HENKE, ST. BREIPOHL, G. & KNOLLE, J. New, long-acting, potent bradykinin antagonists. **Br. J. Pharmacol.** 102: 297-304. 1991.
- LEWIS, R.E., HOFFMAN, W.E. & PHILIPS, M.I. Angiotensin II and bradykinin: interactions between two centrally acting peptides. **Am. J. Physiol.** 244: R285-R291. 1983.

- LIND, R.W. Bi-directional, chemically specified neural connections between the subfornical organ and the midbrain raphe system. **Brain Res.** 384: 250-261. 1986.
- LINDSEY, C.J. Central bradykinin receptors in the SHR and blood pressure. **Progr. Hypert.** 3: 109-125. 1995.
- LINDSEY, C.J.; NAKAIE, C.R. & MARTINS, D.T. Central nervous system kinin receptors and the hypertensive response mediated by bradykinin. **Br. J. Pharmacol.** 97: 763-768. 1989.
- LOPES-MARTINS, R.A.B.; ANTUNES, E.; OLIVA, M.L.; SAMPAIO, C.A.M.; BURTON, J. & DE NUCCI, G. Pharmacological characterization of rabbit corpus cavernosum relaxation mediated by the tissue kallikrein-kinin system. **Br. J. Pharmacol.** 113: 81-86. 1994.
- 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.
- LUCAS, S. Spiders in Brazil. **Toxicon** 26: 759-772. 1988.
- LUCAS, S.M. & MEIER, J. Biology and distribution of spiders of medical importance. In: Meier, J. & White, J. eds, *Clinical Toxicology of Animal Venoms*, Boca Raton, F.L., CRC Press, pp. 239-258. 1995.
- MACHADO, B.H. & BONAGAMBA, L.G.H. Microinjection of S-nitrosocysteine into the nucleus tractus solitarii of conscious rats decreases arterial pressure but L-glutamate does not. **Eur. J. Pharmacol.** 221: 179-182. 1992.
- MAJEWSKI, H.; HEDLER, L. & STARKE, K. Evidence for a physiological role of presynaptic α -adrenoceptors: Modulation of noradrenaline release in the pithed rabbit. **Naunyn-Shmiedeberg's Arch. Pharmacol.** 324: 256-263. 1983.
- MANGIAPANE, M.L. & SIMPSON, J.B. Subfornical organ: forebrain site of pressor and dipsogenic action of angiotensin II. **Am. J. Physiol.** 239: R282-389. 1980.
- MANGIAPANE, M.L.; THRASHER, T.N.; KEIL, L.C.; SIMPSON, J.P.; GANONG, W.F. Subfornical organ lesions impair the vasopressin (AVP) response to hyperosmolality or angiotensin II (AII). **Fed. Proc.** 41: 1105. 1982.

- MARANGONI, R.A.; ANTUNES, E.; BRAIN, S.D. & 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. 1993.
- MOORE, R.Y. Hypothalamus. **Encyclopedia of Neuroscience**, vol. 1, by Adelman G. Birkhäuser (ed.), Boston. 1987.
- OKUYA, S.; INENAGA, K.; KANEKO, T.; YAMASHITA, H. Angiotensin II sensitive neurons in the supraoptic nucleus, subfornical organs and anteroventral third ventricle of rats *in vitro*. **Brain Res.** 402: 58-67. 1987.
- PALFRAMAN, R.; WILSONCROFT, P.; COSTA, S.K.P.; ANTUNES, E.; DE NUCCI & 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.** 118 (2): 295-298, 1996.
- PAPAS, S.P.; SMITH, P. & FERGUNSON, A.V. Electrophysiological evidence that systemic angiotensin influences rat area postrema neurons. **Am. J. Physiol.** 258: R70-R76. 1990.
- PRADO, M.A.M.; GUATIMOSIM, C.; GOMEZ, M.V.; DINIZ, C.R.; CORDEIRO, M.N. & ROMANO-SILVA, M. A novel tool for the investigation of glutamate release from rat cerebrocortical synaptosomes: the toxin tx3-3 from the venom of the spider *Phoneutria nigriventer*. **Biochem. J.** 314: 145-150. 1996.
- REID, I.A. Actions of angiotensin II on the brain: mechanisms and physiologic role. **Am. J. Physiol.** 246: F533-F543. 1984.
- REZENDE-JÚNIOR, L.; CORDEIRO, M.N.; OLIVEIRA, E.B. & DINIZ, C.R. Isolation of neurotoxic peptides from the venom of the "armed spider" *Phoneutria nigriventer*. **Toxicon.** 29: 1225-1233. 1991.
- ROCHA E SILVA, M. & MALNIC, G. Release of antidiuretic hormone by bradykinin. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** 146: 24-32. 1964.
- ROMANO-SILVA, M. A.; RIBEIRO-SANTOS, R.; RIBEIRO, A. M.; GOMEZ, M. V.; DINIZ, C. R.; CORDEIRO, M. N. & BRAMMERS, M. J. Rat cortical synaptosomes have more than one mechanism for Ca²⁺ entry linked to rapid glutamate release: studies using the *Phoneutria nigriventer* toxin PhTX2 and potassium depolarization. **Biochem. J.** 296: 313-319. 1993.

- SAWYER, C. H.; EVERETT, J. W. & GREEN, J. The rabbit diencephalon in stereotaxic coordinates. **J. Comp. Neurol.** 101: 801-824. 1954.
- SCHENBERG, S. & PEREIRA LIMA, F.A. Estudo farmacológico do veneno da aranha *Phoneutria nigriventer*. **Ciência e Cultura** 14: 237. 1962.
- SCHOEMAKER, H.; ALLEN, J. & LANGER, S.Z. Binding of [3H]ifenprodil, a novel NMDA antagonist, to a polyamine-sensitive site in the rat cerebral cortex. **Eur. J. Pharmacol.** 176: 249-250, 1990.
- SCHULZ, S. The Chemistry of Spider toxins and Spider Silk. **Angew. Chem. Int. Ed. Engl.** 36: 314-326. 1997.
- SEVERS, W.B. & DANIEL-SEVERS, A.E. Effects of angiotensin III in rat blood. **Circ. Res.** 38 (2): 122-126. 1973.
- SHAPIRO, R. E. & MISELIS, R.S. The central neural connections of the area postrema of the rat. **J. Comp. Neurol.** 234: 344-364. 1985.
- SIBBALD, J.R.; HUBBARD, J.I.; SIRETT, N.E. Responses of osmosensitive neurons of the rat subfornical organ *in vitro*. **Brain Res.** 461: 205-214. 1988.
- SIMÓ, M. Nota breve sobre la introducción al Uruguay de la araña del banano *Phoneutria nigriventer* (Keyserling, 1891) y *Phoneutria keyserlingi* (Pickard-Cambridge, 1987) (Aracneae, Ctenidae). **Aracnologia**, (Uruguay), Suppl. 4: 1-4. 1984.
- SOMOGYI, P., MINSON, J.B.; MORILAK, D.; LLEWELLYN-SMITH, I.; MCILHINEY, J. R. A. & CHALMERS, J. Evidence for an excitatory amino acid pathway in the brainstem and for its involvement in cardiovascular control. **Brain Res.** 496: 401-407. 1989.
- SUN, M.-K. Central neural organization and control of sympathetic nervous system in mammals. **Prog. Neurobiol.** 47: 157 – 233. 1995.
- SZABO, B; HEDLER, L. LICHTWALD, K. & STAKE, K. ACTH increases noradrenaline release in pithed rabbits with electrically stimulated sympathetic outflow. **Eur. J. Pharmacol.** 136: 391-399. 1987.
- TAKAYAMA, K. & MIURA, M. Glutamate-immunoreactive neurons of the central amygdaloid nucleus projecting to the subretrofacial nucleus of SHR and WKT rats-a double-labeling study. **Neurosci. Lett.** 134: 62-66. 1991.

- TAN, E. & DAMPNEY, R.A.L. Cardiovascular effects of stimulation of neurones within the "defence area" of the hypothalamus and midbrain of the rabbit. **Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.** 10: 299-303. 1983.
- TANAKA, J.; KABA, H.; SAITO, H.; SETO, K. Angiotensin II- sensitive neurons in the rat lateral hypothalamic area with efferent projections to the subfornical organ. **Exp. Neurol.** 94: 791-795. 1986.
- TANAKA, J.; SAITO, H.; KABA, H.; SETO, K. Subfornical organ neurons act to enhance the activity of paraventricular vasopressine neurons in response to intravenous angiotensin II. **Neurosci. Res.** 4: 424-427. 1987.
- TIBIRIÇÁ, E.; CATELLI, M.; LESSA, M.A.; ROEGEL, J.C.; MONASSIER, L. & BOUSQUET, P. Inhibition of the centrally induced increases in myocardial oxygen demand in rabbits by chronic treatment with baclofen, aselective GABA_B agonist. **Br. J. Pharmacol.** 115: 1331-1335. 1995.
- UNDESSER, K.P.; HASSER, E.M.; HAYWOOD, J.R.; JOHNSON, A.K.; BISHOP, V.S. Interactions of vasopressin with the area postrema in arterial reflex function in conscious rabbits. **Circ. Res.** 56: 410-417. 1985.
- VITAL BRAZIL & VELLARD, J. Contribuição ao estudo de venenos das aranhas. **Mem. Inst. Butantan** 2: 1-70. 1926.
- VITAL BRAZIL & VELLARD, J. Contribuição ao estudo do veneno das aranhas I. **Mem. Inst. Butantan.** 5-77. 1925.
- VITAL BRAZIL, O.; LEITE, G.B. & FONTANA, M.D. Modo de ação da peçonha da aranha armadeira, *Phoneutria nigriventer* (Keyserling, 1891), nas aurículas isoladas de cobaia. **Ciência Cult.** 40: 181-185. 1988.
- WHITE, J.; CARDOSO, J.L. & FAN, H.W. Clinical toxicology of spider bites. In: Meier, J. & White, J. eds, **Clinical Toxicology of Animal Venoms**. Boca Raton, F. L., CRC Press, pp. 259-329. 1995.
- WRIGHT, J.W. & HARDING, J.W. Regulatory role of brain angiotensins in the control of physiological and behavioral responses. **Brain. Res. Rev.** 17:227-262. 1992.
- ZARDETTO-SMITH, A.M.; GRAY, T.S. A direct neural projection from the nucleus of the solitary tract to the subfornical organ in the rat. **Neurosci. Lett.** 80: 163-166. 1987.