

FLAVIO RIBEIRO DOS SANTOS



1150015903



FOP

T/UNICAMP Sa59e

**ESTUDOS COM A ESTROFANTINA K
E
GÂNGLIOS AUTONÔMICOS**

Tese apresentada à Faculdade de
Odontologia de Piracicaba da Uni-
versidade Estadual de Campinas,
para obtenção do grau de Doutor
em Ciência (Farmacologia).

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

BIBLIOTECA

T264

PIRACICABA

1976

H O M E N A G E M E S P E C I A L

Ao Exmo. Senhor Ministro da Educação e Cultura

N E Y B R A G A

*sob a graça de uma singêla e profunda amizade,
esta emoção conclusiva de uma tese de
doutoramento*

*- ciente de vossos esforços em prôl do magistê-
rio superior qualificado para o ensino e apes-
quisa: Este exemplo do professor aos 53 anos
de idade... Ontem catedrático concursado e ho-
je Titular reconhecido... Desde 12 de março
de 1973 em regime de tempo integral no 1º Curso
Nacional de Pós-graduação em Farmacologia Apli-
cada à Clínica Odontológica, ao Nível de Mestra-
do... Defesa de tese e obtenção do Título - MES-
TRE EM CIÊNCIA (Farmacologia) em 15 de março de
1976... E agora, defesa de tese e obtenção do
Título de DOUTOR EM CIÊNCIAS (Farmacologia) em
18 de outubro de 1976... E a continuidade da
pesquisa na elaboração da Tese para o Concurso
da Livre Docência...*

G R A T I D ã O

À memória espiritual de meus pais,
na graça da imagem santa de minha mãe...

Às carinhosas atitudes, compreensão e amor
de minha dedicada esposa, filhas e filho:
DOLORES, JUSSARA, IÇARA e UIRASSÔ.

Aos meus irmãos, pela ventura em
assim reportar-me mais uma vez,
à confiança de que fôra depositári
rio...

A O M É R I T O

Ao Prof. Dr. ANTONIO CARLOS NEDER, a essencialidade dos sentimentos respeitosos e afetivos que justificam o reconhecimento pleno, pela orientação cientificamente dinâmica, ponderada e segura, voltada às originalidades da pesquisa em farmacologia experimental e clínica...

À Profa. Dra. WILMA PEREIRA BASTOS RAMOS, pelos discernimentos científicos a par da prestimosa atenção dispensada ao desenvolvimento da pesquisa firmados nestas experiências, cuja síntese conclusiva fica-lhe a dever a laboriosa análise preliminar, sob a graça de sua extraordinária presença intelectual nesta tese...

Ao Prof. Dr. ARMANDO OCTÁVIO RAMOS, o reconhecimento sincero e inolvidável de um homem; a gratidão altruística de um discípulo e as homenagens afetivas de um amigo...

S A U D A Ç Ã O

Aos Magníficos Reitores ZEFERINO VAZ e ODENÍ VIL LACA MONGRUEL, pelo apoio dado a estas preten sões de aprimoramento na pós-graduação...

Ao Prof.Dr.JOSÉ MERZEL, digno Diretor da F.O.P., pelo incentivo à docência e à pesquisa.

Aos saudosos Mestres do Curso de Graduação, pelos exemplos que nortearam-me ao êxito do exer cício clínico e crescente interesse pelo magistê rio superior... Aos Mestres deste Curso de Pós -graduação, pelo enriquecimento da metodologia do ensino superior a despertar-me para a criati vidade na pesquisa...

À Comissão Central de Pós-Graduação da UNICAMP, pelo trabalho contínuo e profícuo.

Aos colegas professores da Universida de Federal do Paraná, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Universidade Católica do Paraná, Universidade Estadual de Londrina, Universidade Estadual de Campinas (FOP) e Faculdade de Ciên cias Médicas e Biológicas de Botucatu (Farmacolo gia).

A G R A D E C I M E N T O

Às atenções do Professor GONTRAN PINHEIRO MACHAD DO NETO, na revisão do vernáculo...

Ao Dr. FRANCO CANEVA, Diretor Superinten -
dente do Laboratório "Simes" (Produtos Farmacêu
ticos Simes do Brasil S.A.) pelas gentilezas e
efetiva colaboração no fornecimento de drogas..

Ao Dr. HOMERO DA SILVA, Gerente de Re
lações Públicas do Laboratório ASTRA QUÍMICA DO
BRASIL Ltda...

À presença técnica auxiliar de
ANTONIO CARLOS BRUNELLIS, CLEO Z.S. LOPES DE SOU
ZA, JOÃO APARECIDO CALDARDO, RIVALDO DE ASSIS LA
PERUTA e ZÉLIA BERTANI MOLINA...

Aos funcionários do BIOTÉ
RIO da Faculdade de Ciências Médicas e Biológi
cas de Botucatu e seu ADMINISTRADOR, pela pres
teza no fornecimento de animais...

Aos funcionários da
Seção Gráfica da Faculdade de Ciências Médicas e
Biológicas de Botucatu e seu Chefe imediato, pe
la solicitude com que houveram na impressão desta
tese...

À solidariedade
e maestria datilográfica de IVONETE APARECIda
DORINI DE AGUIAR E SILVA...

Faculdade de Faculdade de Ciências Médicas
Odontologia de Piracicaba e Biológicas de
da Universidade Est. de Campinas Botucatu

Í N D E X

I	- INTRODUÇÃO	1
II	- PROPOSIÇÃO	8
III	- MATERIAL E MÉTODOS	10
	1 - ANIMAIS UTILIZADOS	10
	2 - PREPARAÇÕES BIOLÓGICAS	10
	3 - DROGAS, SOLUÇÕES E DO- SES UTILIZADAS	13
IV	- SISTEMATIZAÇÃO DA PESQUISA	18
	A - MODELOS EXPERIMENTAIS UTILIZADOS	18
	B - DROGAS EMPREGADAS PARA CAUSAR ESTIMULAÇÃO NOS RECEPTORES NICOTÍNICOS E MUSCARÍNICOS <u>G</u> ANGLIO NARES	19
	C - GRUPOS EXPERIMENTAIS	22
	D - AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA	27
V	- RESULTADOS	29
	GRUPO 1	29
	GRUPO 2	39
	GRUPO 3	45
	GRUPO 4	48
	GRUPO 5	49

VI	- DISCUSSÃO	57
VII	- CONCLUSÕES	65
VIII	- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66

I - I N T R O D U Ç Ã O

A importância terapêutica dos glicosídeos cardioativos é bem conhecida já de longa data. Desde o trabalho clássico de *WITHERING*, em 1785, em que esse autor relata o valor clínico da digital, esse grupo de drogas tem sido exaustivamente estudado, cabendo menção os trabalhos pioneiros de *WENCKENBACH*, em 1910, de *PRATT*, em 1918, de *CRISTIAN*, em 1919, de *LUTEN*, em 1924, entre tanto outros. A importância desses fármacos no tratamento da insuficiência cardíaca está definitivamente estabelecida, sendo muito elevado o número de trabalhos que tratam de seus efeitos cardiotônicos. Sendo drogas de largo emprego clínico, o estudo dos mais diversos aspectos de sua farmacologia tem despertado interesse sempre atual. Assim, tem sido demonstrado que os glicosídeos cardioativos podem agir em diversos territórios do organismo, como sejam o sistema nervoso central (*GREENE & PEELER*, 1915; *KRAYER*, 1944; *CHAY et alii*, 1967) ou em zonas reflexógenas (*HEYMANS et alii*, 1932; *MASON et alii*, 1969; *QUEST & GILLS*, 1971) cuja sensibilização intensifica o efeito frenador do vago. *GAFFNEY et alii* (1958), propôs que a ouabaína sensibiliza os nódulos sinusal e atrioventricu

lar à acetilcolina e à estimulação vagal, sugerindo a possibilidade da sensibilização do centro do vago, de zonas reflexôgenas e mesmo dos gânglios autonômicos, todos participando no efeito bradicardizante do glicosídeo. Com relação ao sistema nervoso simpático, tem sido demonstrado um efeito antiadrenérgico, ao qual *MENDEZ et alii* (1961 a - b), atribuem participação no efeito cronotrópico negativo e no aumento de período refratário no tecido de condução pelos cardiotônicos. A ação antiadrenérgica foi também referida por *NARDEAU & JAMES* em 1963 e por *ROBERTS*, em 1970.

Os gânglios autonômicos têm sido apontados como possíveis locais de ação dos digitálicos. Assim, já em 1938, *McGUIGAN & HIGGINS*, relataram que o efeito hipertensor da nicotina é grandemente estimulado após a administração em cães, de tintura de digitalis, e que após doses ganglioplégicas de nicotina, a droga causa queda de pressão arterial.

Em 1952, *KONZETT & ROTHLIN* demonstraram em experiências com perfusão do gânglio cervical superior de gato, que a injeção de glicosídeos cardioativos junto ao gânglio, resulta em potenciação da resposta da membrana nictitante

às injeções de acetilcolina, colina e cloreto de potássio, e em menor grau, à estimulação da fibra nervosa preganglionar. O cilareno A mostrou-se como o glicosídeo mais potente, seguido da estrofantina K, enquanto que o lanatosídeo C e a digitoxina foram menos ativos. A potenciação ocorreu também após a degeneração das fibras pré-ganglionares. Foi observado ainda que o efeito potenciador pode ser seguido de bloqueio, especialmente quando os glicosídeos são administrados em doses elevadas. Esses autores aceitam a possibilidade de que os glicosídeos cardioativos, em doses terapêuticas, poderiam ter ação nas células ganglionares cardíacas.

Por outro lado, *PERRY & REINERT (1954)*, em registro da contração de membrana nictitante de gato, relataram que pequenas doses de glicosídeos cardioativos (estrofantina K, ouabaína, digitoxina, cilareno A) potenciaram os efeitos da estimulação pré-ganglionar, bem como da acetilcolina e tetrametilamônio perfundidos através do gânglio cervical superior, enquanto que em doses elevadas os glicosídeos diminuíram o efeito dos ganglioestimulantes. Quando o líquido de perfusão era isento de potássio, não mais se observaram a potenciação; ocorrendo, contrariamente, uma depressão das respostas à acetil-

colina e à estimulação pré-ganglionar. Em coração isolado de gato a ouabaína e a estrofantina K exacerbaram a diminuição da amplitude de contração causada pela acetilcolina e pelo tetrametilamônio, o mesmo não mais acontecendo após hexametônio ou doses ganglioplégicas de nicotina. Resultados semelhantes foram obtidos em experiências com coração isolado de cobaia, rato e coelho.

BEANI, em 1956, descreveu que o cilareno A, a estrofantina K, a cilaridina, a estrofantidina, a digitoxigenina e a gitoxigenina sensibilizaram o gânglio cervical superior de gato à ação da acetilcolina.

No mesmo ano, KONZETT & CARPI (1956), observaram que o cilareno A, a estrofantina K e a digitoxina injetados na artéria lingual em gatos, causavam contração da membrana nictitante, efeito que não era modificado pelo hexametônio, d-tubocurarina e tetraetilamônio, porém, era inibido pela procaína e pelo cálcio. Com relação ao cilareno A, a aplicação direta na aorta de doses 10-20 por cento da letal, em gatos atropinizados, aumentou transitoriamente o efeito pressor da acetilcolina. Nas experiências em que não causou contração da membrana nict

titante, aumentou a resposta decorrente da estimulação elétrica da fibra pré-ganglionar do simpático cervical e, contrariamente, quando por si só causava contração da membrana diminuía o efeito decorrente da estimulação pré-ganglionar.

Trabalho de *BIRKS*, em 1963 mostrou que a ouabaína e a digitoxina adicionadas ao líquido de perfusão aumentaram a liberação de acetilcolina pelo gânglio cervical superior de gato.

Recentemente, *OLIVEIRA (1973)* estudou em cães, a influência da digitoxina na atividade de agentes estimulantes e bloqueadores dos receptores nicotínicos e muscarínicos dos gânglios autonômicos e da medular das glândulas supra-renais. Foi demonstrado neste trabalho que o digitálico, na dose de 80 µg/kg, potencia significativamente os efeitos pressores da nicotina, da acetilcolina em cão atropinizado e do McN-A-343; também resultou potenciada a resposta pressora à estimulação elétrica do nervo esplâncnico, como resultado da maior liberação de catecolaminas pelas adrenais. Foi demonstrado ainda, que a digitoxina é capaz de restaurar as respostas pressoras de drogas estimulantes dos receptores nicotínicos ganglionares (nicotina e

acetilcolina em cão atropinizado) após bloqueio pelo hexametônio, ou do McN-A-343, estimulante dos receptores muscarínicos ganglionares, após bloqueio pela atropina. Concluiu que a digitoxina sensibiliza sinapses ganglionares do sistema nervoso simpático e as sinapses neuroefetadoras das glândulas supra-renais à ação daqueles fármacos ou à estimulação nervosa, e que a ativação da transmissão ao nível dessas sinapses, foi suficiente para antagonizar a ganglioplegia causada por agentes inibidores dos receptores ganglionares, quer nicotínicos quer muscarínicos.

Por outro lado, foi demonstrado que o desacetil-lanatosídeo C, glicosídeo, que como a digitoxina, pertence ao grupo do Digitalis, participa das propriedades da digitoxina ao nível das estruturas ganglionares. O trabalho de *BASTOS et alii*, em 1974, demonstra que aquele fármaco, como a digitoxina, sensibiliza os ganglios autonômicos simpáticos e a medular das glândulas supra-renais às drogas estimulantes dos receptores nicotínicos e muscarínicos ganglionares. Assim como a digitoxina, o desacetil lanatosídeo C reverteu o bloqueio dos receptores nicotínicos ganglionares causado pelo hexametônio ou dos receptores muscarínicos causa

do pela atropina.

Com relação aos gânglios parassimpáticos, foi demonstrado por *BASTOS (1975)* que a digitoxina e o desacetil-lanatosídeo C têm a propriedade de causar reversão do bloqueio dos receptores nicotínicos induzido pelo hexametônio, em experiências com íleo de cobaio. Contudo, esses glicosídeos não causaram potenciação de ganglioestimulantes, nessas estruturas (comunicação pessoal).

Os trabalhos de *OLIVEIRA (1973)* e de *BASTOS et alii (1974)*, inspiraram-se nos resultados de *BASTOS (1970)*, com a veratrina, cujos alcalóides têm estrutura química semelhante à dos digitálicos. Foi demonstrado que a veratrina causa em cães, potenciação dos efeitos ganglioestimulantes de diversos fármacos, bem como tem propriedade de reverter o bloqueio ganglio^{nar}. Esse achado se revestiu de grande importância, por que não se conhecia anteriormente a possibilidade de reversão efetiva do bloqueio ganglio^{nar}.

II - P R O P O S I Ç Ã O

Considerando-se os efeitos ganglionares de glicosídeos cardioativos do grupo *Digitalis* (digitoxina e desacetil-lanatosídeo C), demonstrados anteriormente por OLIVEIRA (1973) e por BASTOS *et alii* (1974), colocou-se o interesse de estudar se glicosídeos cardioativos pertencentes a outros grupos, também participavam daquele tipo de atividade. Escolheu-se a estrofantina K, do grupo do *Strophantus*. Experiências preliminares de OLIVEIRA *et alii* (1974) sugeriram que esse fármaco não possui as propriedades da digitoxina e do desacetil-lanatosídeo C, o que veio a exigir dest'arte um maior desenvolvimento experimental para justificar a hipótese despertada, bem como traduzir outras possíveis propriedades da estrofantina K. Deste modo, o estudo foi planejado em animal inteiro (cães), procurando-se caracterizar a influência da estrofantina K, a nível ganglionar, sobre os efeitos pressores de drogas estimulantes de receptores nicotínicos e muscarínicos, bem como sobre a salivação causada por estimulantes ganglionares. Estudou-se ainda a influência da estrofantina K sobre respostas pressoras à catecolaminas (adrenalina e noradrenalina), com a fi-

nalidade de se pesquisar um possível efeito do glicosídeo ao nível de receptores adrenérgicos. Estudou-se também o possível efeito da estrofantina K sobre os gânglios parassimpáticos, observando-se a atuação da droga sobre o bloqueio ganglionar causado nessas estruturas pelo hexametônio.

III - MATERIAL E MÉTODOS

1 - ANIMAIS UTILIZADOS

Nas experiências foram utilizados 57 cães de ambos os sexos, com idade e raças variadas e pesando de 5 a 13 kg. Empregaram-se ainda 9 cobaios (*Cavia porcellus*, Pallus, 1766), de ambos os sexos, pesando de 400 a 600 gramas. Os animais foram fornecidos pelo Biotério Central da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu.

2 - PREPARAÇÕES BIOLÓGICAS

2.1 - Preparação experimental dos cães

2.1.1 - *Anestesia*

No desenvolvimento das experiências os cães foram previamente anestesiados com pentobarbital sódico, na dose de 30 mg/kg, por via venosa. Quando apresentavam sinais de reversão da anestesia, doses variáveis de solução anestésica foram administradas.

2.1.2 - *Traqueostomia*

Após incisão longitudinal e mediana na face ventral do pescoço dos cães, foram divulsionados os músculos cervicais anteriores e isolada a traquéia. Após este procedimento cirúrgico, foi introduzida uma cânula traqueal.

2.1.3 - *Cateterização de veia para injeção de drogas*

A veia radial foi isolada e cateterizada com tubo de polietileno, para injeção de drogas. O cateter foi lavado com solução fisiológica, após cada injeção venosa.

2.1.4 - *Preparação para registro da pressão arterial*

Após a traqueostomia foi isolada uma das artérias carótidas primitivas, na qual introduziu-se uma cânula tipo François-Frank. A referida cânula foi ligada a um manômetro de mercúrio (tipo Ludwig) que inscreveu em quimôgrafo com papel esfumado.

2.1.5 - *Registro do fluxo salivar da glândula sub-mandibular*

Após incisão dos tecidos subjacentes da região mentoniana do cão, e divulsionado o plano que limita os músculos hióideo e masseter, foi cateterizado o ducto direito da glândula sub-mandibular com um tubo de polietileno, para registro do fluxo salivar da referida glândula. Tais registros foram simultâneos com o da pressão arterial.

2.1.6 - *Sacrifício do animal*

Terminadas as experiências, os animais foram sacrificados com injeção de éter etílico por via venosa.

2.2 - *Preparação e registro das contrações de íleo isolado de cobaio*

Os cobaios foram sacrificados por deslocamento cervical e imediatamente sangrados por secção dos vasos do pescoço. Após ampla incisão da parede abdominal, foi retirado um segmento de íleo a partir da entrada no ceco, sendo colocado em solução aerada de Tyrode. Deste, foi isolado um segmento de cerca de 3 centímetros, o

qual foi lavado internamente para a retirada dos restos fecais. A seguir o segmento foi ligado a uma alavanca de inscrição frontal isotônica, para registro quimográfico das contrações. A preparação foi mergulhada em banho de Tyrode aerado e mantida em temperatura de 36°C, usando-se cuba de 15 ml. Antes de se iniciarem os experimentos, as peças foram mantidas em repouso por 15 - 20 minutos. Após as contrações, a preparação foi lavada por três vezes com solução de Tyrode, aguardando-se 3 minutos para a adição de nova droga ao banho.

3 - DROGAS, SOLUÇÕES E DOSES UTILIZADAS

3.1 - Drogas utilizadas

3.1.1 - *Acetilcolina* (Cl^-) - Lab. Roche. Solução contendo 10 mg/ml. A dose para obtenção de efeitos ganglionares foi de 0,4 a 1,5 mg/kg.

3.1.2 - *Adrenalina* - *epinefrina* (Cl^-) - Lab. Parke Davis. Solução contendo 100 µg/ml. A dose utilizada foi de 30 µg/animal.

- 3.1.3 - *Atropina* (SO_4^{--}) - Lab. Drogasil. Solução contendo 10 mg/ml. A dose utilizada foi de 1,0 mg/kg. Para inibição dos receptores muscarínicos ganglionares foi usada solução contendo 100 µg/ml e a dose utilizada foi de 5 - 10 µg/kg.
- 3.1.4 - *Bicarbonato de sódio* - Lab. Merck. Utilizado no preparo da solução de Tyrode.
- 3.1.5 - *Citrato de sódio* - Lab. Merck. Empregado em solução a 8% (oito por cento), como anticoagulante.
- 3.1.6 - *Cloreto de cálcio* - Lab. J.T. Baker. Solução a 10% (dez por cento), utilizada no preparo da solução de Tyrode.
- 3.1.7 - *Cloreto de magnésio* - Lab. J.T. Baker. Utilizado no preparo da solução de Tyrode.
- 3.1.8 - *Cloreto de potássio* - Lab. J.T. Baker. Utilizado no preparo da solução de Tyrode.

- 3.1.9 - *Cloreto de sódio* - Lab. Carlo Erba. Utilizado como solução fisiológica a 0,9% (nove por cento) para lavagem dos cateteres venosos. Utilizado também no preparo da solução de Tyrode.
- 3.1.10 - *Dextrose* - Lab. Reagem. Utilizada no preparo da solução de Tyrode.
- 3.1.11 - *Estrofantina K* - (Strofopan 1/4) - Lab. Simes. Solução contendo 125 µg/ml. A dose utilizada foi de 30 a 80 µg/kg.
- 3.1.12 - *Êter sulfúrico* - Usina Colombina. Foi utilizado para sacrifício dos animais.
- 3.1.13 - *Fosfato monossódico* - Lab. Merck. Utilizado no preparo da solução de Tyrode.
- 3.1.14 - *Heparina Evans* - Lab. Glaxo do Brasil. Solução contendo 5.000 U. I./ml. Foi utilizada como anticoagulante no interior da cânula de François-Frank.

- 3.1.15 - *Hexametônio* (Br^-) - Lab. Squibb. Solução contendo 1,0 mg/ml. A dose utilizada em preparações de íleo de cobaio foi de 150 μg .
- 3.1.16 - *McN-A-343* (cloreto de 4-(m-clofenilcarbamoiloxi)-2-butinil-trimetilamônio) - Lab. McNeil. Solução contendo 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$. A dose utilizada foi de 20 a 60 $\mu\text{g}/\text{kg}$.
- 3.1.17 - *Neostigmina* (Prostigmina) - Lab. Roche. Ampolas com 0,5 mg/ml. Utilizada em doses de 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$.
- 3.1.18 - *Nicotina* (SO_4^{--}) - Lab. J.T. Baker. Para experiências em cães, empregou-se solução contendo 1 mg/ml e a dose utilizada foi de 10 a 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Em experiências com íleo de cobaio, foi utilizada solução de 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$, empregando-se no banho dose de 1 μg .
- 3.1.19 - *Noradrenalina* - norepinefrina (bitartarato) - Lab. Byk-Gulden. Solução contendo 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$. A dose utilizada foi de 10 a 30 $\mu\text{g}/\text{animal}$.

3.1.20 - *Pentobarbital sódico* (Nembutal) -
Lab. Abbott. Solução contendo 30
mg/ml. A dose anestésica foi de
30 mg/kg.

Todas as concentrações estão expres
sas em peso dos sais utilizados.

3.2 - Solução nutriente utilizada

A solução de Tyrode utilizada teve a
seguinte composição, em miliequivalentes por li
tro:

Na^+	149,2
K^+	2,7
Ca^{++}	3,6
Mg^{++}	2,1
Cl^-	145,3
H_2PO_4^-	0,4
HCO_3^-	11,9
Glicose	5,0

IV - S I S T E M A T I Z A Ç Ã O D A P E S Q U I S A

A - MODELOS EXPERIMENTAIS UTILIZADOS

O tipo "antes" e "depois" foi escolhido como base para o desenvolvimento das experiências propostas, nos quais cada animal serviu como seu próprio controle. Com essa orientação, procedeu-se à estimulação ganglionar por agentes farmacológicos e observaram-se os efeitos pressores consequentes. Imediatamente, após o retorno da pressão arterial aos níveis iniciais, administrou-se estrofantina K, aguardando-se dez, vinte e trinta minutos, ao fim dos quais repetiu-se a estimulação ganglionar e comparou-se as respostas assim obtidas, com aquelas originalmente registradas, antes da administração do glicosídeo. Em alguns grupos foi adotado somente o tempo de vinte minutos.

Nas experiências com salivação, observou-se o efeito sialagogo causado por drogas estimulantes dos receptores muscarínicos ganglionares, antes e após vinte minutos da administração da estrofantina K.

Apenas um estimulante ganglionar foi utilizado em cada experiência, com medida de precaução contra possíveis ações recíprocas. Entretanto, em experiências paralelas, observou-se que injeções sucessivas de igual dose de determinado estimulante, causavam respostas pressoras comparáveis.

Nas experiências com íleo isolado de cobaio, testou-se primeiramente o efeito bloqueador do hexametônio e a seguir observou-se o efeito da estrofantina K, em diferentes doses, sobre tal bloqueio. As drogas foram adicionadas ao banho nas seguintes ordens: nicotina-hexametônio-nicotina/ /hexametônio-estrofantina K-nicotina. Entre cada seqüência, a preparação foi lavada três vezes e deixada em repouso por três minutos. A capacidade de resposta da preparação foi testada ao início e ao fim da experiência pela acetilcolina.

B - DROGAS EMPREGADAS PARA CAUSAR ESTIMULAÇÃO NOS RECEPTORES NICOTÍNICOS E MUSCARÍNICOS GANGLIONARES

Os objetivos propostos de se estudar, em animal inteiro, aspectos referentes às ações

da estrofantina K sobre os gânglios autonômicos, indicaram uma observação desse fármaco sobre respostas de diversas drogas estimulantes dos gânglios autonômicos e medular das glândulas supra-renais.

Foram utilizadas como estimulantes dos receptores nicotínicos ganglionares, a nicotina e acetilcolina (altas doses em animal atropinizado); como estimulantes dos receptores muscarínicos ganglionares foram empregados o McN-A-343 e a neostigmina.

A elevação da pressão arterial pela nicotina é causada, principalmente, pela estimulação dos gânglios autonômicos e da medular das supra-renais, a saber que para isso também concorrem outros fatores determinantes do efeito hipertensor (Vide GOODMAN & GILMAN, 1970).

O efeito de elevação da pressão arterial pela acetilcolina, administrada em altas doses a animais atropinizados decorre da estimulação dos receptores "nicotínicos" dos gânglios simpáticos e da medular das glândulas supra-renais, sabendo-se que essa droga atua também nos receptores muscarínicos (sensíveis ao bloqueio pela atropina), além dos receptores nicotínicos

(sensíveis ao bloqueio pelo hexametônio).

A estimulação dos gânglios autonômicos se faz farmacologicamente ainda, pelo McN-A-343, como fora demonstrado por *ROSZKOWSKI*, em 1961. A elevação da pressão arterial causada pela referida droga se deveria, principalmente, à estimulação dos gânglios simpáticos, sem contudo sensibilizar a medular das supra-renais ou quimiorreceptores, conforme é reportado em *DRILL'S Pharmacology in Medicine* (1971). Foi sugerida a possibilidade da ocorrência de ação estimulante também a nível dos gânglios parasimpático (*RAMOS et alii*, 1965). Mais tarde demonstrou-se que o íon cálcio, o pipazetato (Selvigon) e a isoaminila (Perocan) abolem o estímulo ganglionar causado pelo McN-A-343 (*RAMOS et alii*, 1969; *BASTOS & RAMOS*, 1969 e 1970).

A neostigmina protege a acetilcolina, retardando sua hidrólise pelas colinesterases, permitindo maior concentração do transmissor neuro-humoral nas sinapses colinérgicas. A droga, simultaneamente com seu efeito parassimpatomimético, tem ação estimulante ganglionar tendo sido demonstrado seu efeito estimulante dos receptores muscarínicos dessas estruturas, o que se traduz em elevação da pressão arterial, a qual é

muito evidente em animais pré-tratados com hexametônio.

C - GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os animais utilizados foram divididos em grupos e sub-grupos experimentais como se segue:

GRUPO 1 - Experiências com estrofantina K e drogas estimulantes dos receptores nicotínicos ganglionares em registro de pressão arterial

Foi observada a influência da estrofantina K nos efeitos pressores de estimulantes do tipo nicotínico, antes e em diversos tempos após a administração do glicosídeo cardioativo.

1.1 - *Sub-grupo em que foi utilizada a acetilcolina em doses elevadas em animal atropinizado*

Os efeitos pressores da acetilcolina foram observados no início das experiências e aos 10, 20 e 30 minutos após diferentes doses de estrofantina K.

1.1.1 - Experiências com 30 $\mu\text{g/kg}$ de est
fantina K.

1.1.2 - Experiências com 60 $\mu\text{g/kg}$ de est
fantina K.

1.1.3 - Experiências com 80 $\mu\text{g/kg}$ de est
fantina K.

1.1.4 - Experiências com 120 $\mu\text{g/kg}$ de es
trofantina K.

Neste último lote, a acetilcolina foi administrada somente aos 20 - 25 minutos da in
jeção do glicosídeo em estudo.

1.2 - *Sub-grupo em que foi utilizada nico*
tina

Os efeitos da nicotina sobre a pres
ão arterial foram verificados antes e após 10,
20 e 30 minutos da administração de est
rofantina K.

1.2.1 - Experiências com 30 $\mu\text{g/kg}$ de est
fantina K.

1.2.2 - Experiências com 60 $\mu\text{g/kg}$ de estrofantina K.

1.2.3 - Experiências com 80 $\mu\text{g/kg}$ de estrofantina K.

GRUPO 2 - Experiências com estrofantina K e drogas estimulantes dos receptores muscarínicos ganglionares, em registro de pressão arterial

Foi estudada a influência da estrofantina K sobre drogas que causam elevação da presão arterial em decorrência da estimulação dos receptores muscarínicos ganglionares e/ou da medular das glândulas supra-renais.

2.1 - *Sub-grupo em que foi utilizado o*
McN-A-343

Os efeitos pressores do McN-A-343 foram observados antes e aos 10, 20 e 30 minutos da administração de estrofantina K.

2.1.1 - Experiências com 30 $\mu\text{g/kg}$ de estrofantina K.

2.1.2 - Experiências com 60 $\mu\text{g/kg}$ de est
rofantina K.

2.1.3 - Experiências com 80 $\mu\text{g/kg}$ de est
rofantina K.

Neste último lote, o McN-A-343 foi ad
ministrado somente aos 20 minutos após o glico
sídeo.

2.2 - *Sub-grupo em que foi utilizada a*
neostigmina

Os animais receberam previamente hexa
metônio. A neostigmina foi administrada antes
e após 20 minutos fa injeção de 80 $\mu\text{g/kg}$ de es
trofantina K.

GRUPO 3 - Experiências com est
rofantina K e ca
tecolaminas em registro de pressão ar
terial

A epinefrina e norepinefrina foram in
jetadas antes e após est
rofantina K.

3.1 - *Sub-grupo em que foi utilizada a epi-
nefrina*

A epinefrina foi administrada antes e após 10 e 20 minutos da injeção de estrofantina K (80 µg/kg).

3.2 - *Sub-grupo em que foi utilizada a no-
repinefrina*

A norepinefrina foi injetada antes e após 15 e 25 minutos da administração de estrofantina K (80 µg/kg).

GRUPO 4 - *Experiências com estrofantina K em pre-
paração de íleo isolado de cobaia*

Neste grupo foi usado como estimulan-
te ganglionar a nicotina e como bloqueador dos
receptores nicotínicos e hexametônio.

GRUPO 5 - *Experiências com registro do fluxo sa-
livar*

5.1 - *Estrofantina K e drogas estimulantes
da salivação*

5.1.1 - *Sub-grupo em que foi utilizado o
McN-A-343*

O estimulante muscarínico foi injeta
do antes e após 20 minutos da administração do
glicosídeo (80 µg/kg).

5.1.2 - *Sub-grupo em que foi utilizada a
neostigmina*

O anticolinesterásico foi administra
do antes e após 20 minutos da injeção de estro-
fantina K (80 µg/kg). Em um lote de cães, en
tre a injeção do cardiotônico e da prostigmina,
foi administrada atropina em doses diminutas (5
- 10 µg/kg).

5.2 - *Salivação decorrente da administra-
ção da estrofantina*

Foi observada a salivação causada pe
la própria estrofantina K (80 µg/kg).

D - AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA

As variações da pressão arterial de
correntes da administração de drogas estimulan

tes ganglionares, foram expressas em milímetros de mercúrio (mm Hg). Considerou-se as diferenças entre os valores tensionais máximos, decorrentes da administração de ganglioestimulantes e aqueles imediatamente anteriores à injeção dos mesmos. Nas experiências com salivação, foi considerado o número de gotas de saliva, obtidas através da canulação do ducto de Wharton.

As avaliações estatísticas dos resultados foram feitas utilizando-se o teste de WALSH, monocaudal e não paramétrico, reportado por *SIEGEL (1956)*. A rejeição da hipótese de nulidade atendeu à escolha dos níveis de probabilidade mais próximos de cinco por cento e que variaram de acordo com o número de experiências de cada grupo experimental.

V - R E S U L T A D O S

GRUPO 1 - Experiências com estrofantina K e drogas estimulantes dos receptores "nicotínicos" ganglionares, em registro de pressão arterial

1.1 - *Sub-grupo em que foi utilizada a acetilcolina em cães atropinizados*

Após a administração de atropina (1 mg/kg) injetou-se doses de 1,0 a 1,5 mg/kg de acetilcolina, ocorrendo a elevação da pressão arterial característica.

A estrofantina K, em todas as doses utilizadas (30, 60, 80 e 120 µg/kg) causou aumento transitório da pressão arterial, algumas vezes precedido de hipotensão.

Como pode ser observado pela TABELA 1 a dose de 30 µg/kg de estrofantina K causou potenciação estatisticamente significativa das respostas pressoras à acetilcolina, quando esta foi injetada aos 10 e 20 minutos após o glicosídeo. Entretanto, tal não mais ocorreu aos 30 minutos.

As doses de 60, 80 e 120 $\mu\text{g/kg}$ de es
trofantina K não modificaram o efeito pressor
da acetilcolina, nas observações realizadas aos
10, 20 e 30 minutos da administração do digitá
lico, conforme análise estatística. Pode ser
observado contudo, que aos 20 minutos após a do
se de 120 $\mu\text{g/kg}$, houve uma considerável diminui
ção das respostas à acetilcolina, em quatro den
tre cinco experiências.

Os resultados desse sub-grupo se en-
contram nas TABELA I, II, III e IV.

T A B E L A I

1.1.1 - Influência da estrofantina K, na dose de 30 µg/kg, sobre a elevação da pressão arterial (mm Hg), causada pela acetilcolina em cães atropinizados, antes e aos 10, 20 e 30 minutos após a injeção do cardiotônico.

Cão	Elevação da pressão arterial pela acetilcolina			
	Antes da estrofantina K	Após estrofantina K		
		10 min	20 min	30 min
1	18	28	34	22
2	22	50	58	58
3	92	106	124	86
4	56	56	54	52
5	22	52	26	18
6	32	48	36	22
M É D I A	40	56	56	43

Doses utilizadas: Estrofantina K - 30 µg/kg
 Acetilcolina - 1,0 - 1,5 mg/kg
 Atropina - 1,0 mg/kg

T A B E L A II

1.1.2 - Influência da estrofantina K, na dose de 60 µg/kg, sobre a elevação da pressão arterial (mm Hg), causada pela acetilcolina em cães atropinizados, administrada antes e após 10, 20 e 30 minutos da injeção do cardiotônico.

Cão	Elevação da pressão arterial pela acetilcolina			
	Antes da estrofantina K	Após estrofantina K		
		10 min	20 min	30 min
1	32	20	30	36
2	52	48	62	52
3	66	126	152	148
4	70	104	132	156
5	32	36	38	44
6	38	18	26	18
M É D I A	48	58	73	75

Doses utilizadas: Estrofantina K - 60 µg/kg
 Acetilcolina - 1,0 mg/kg
 Atropina - 1,0 mg/kg

T A B E L A III

1.1.3 - Influência da estrofantina K, na dose de 80 µg/kg, sobre a elevação da pressão arterial (mm Hg), causada pela acetilcolina em cão atropinizado, antes e após 10, 20 e 30 minutos da administração do cardiotônico.

Cão	Elevação da pressão arterial pela acetilcolina			
	Antes da estrofantina K	Após estrofantina K		
		10 min	20 min	30 min
1	26	-	2	2
2	16	-	26	50
3	60	46	78	42
4	56	12	20	10
5	60	36	22	30
6	20	62	-	-
7	90	94	92	92
8	10	30	-	8
M É D I A	43	47	40	34

Doses utilizadas: Estrofantina K - 80 µg/kg
 Acetilcolina - 0,4 - 1,0 mg/kg
 Atropina - 1,0 mg/kg

T A B E L A IV

1.1.4 - Influência da estrofantina K, na dose de 120 µg/kg, sobre a elevação da pressão arterial (mm Hg), causada pela acetilcolina em cão atropinizado, administrada antes e após 20 - 25 minutos do cardiotônico.

Cão	Elevação da pressão arterial pela acetilcolina	
	Antes da estrofantina K	Após 20-25 min da estrofantina K
1	38	10
2	12	30
3	26	20
4	16	8
5	58	24
M É D I A	30	18,4

Doses utilizadas: Estrofantina K - 120 µg/kg
 Acetilcolina - 0,5 a 0,8 mg/kg
 Atropina - 1,0 mg/kg

1.2 - *Sub-grupo em que foi utilizada a ni
cotina como estimulante dos receptore
s nicotínicos*

A nicotina, injetada nas doses que variaram de 30 a 50 µg/kg causou elevação da pressão arterial, como lhe é característico.

Também a estrofantina K causou elevação transitória da pressão arterial, algumas vezes precedida de queda tensional.

Conforme pode ser observado pelos resultados apresentados nas TABELAS V, VI, VII e VIII, não ocorreu potenciação dos efeitos pressores da nicotina após as doses de 30, 60 e 80 µg/kg do glicosídeo, nas observações realizadas aos 10, 20 e 30 minutos da administração deste fármaco. Contrariamente, aos 10 minutos ocorreu diminuição estatisticamente significativa dos efeitos pressores da nicotina, após as doses de 30 e 80 µg/kg de estrofantina K. Os demais resultados não apresentaram variação estatisticamente significativa.

T A B E L A V

1.2.1 - Influência da estrofantina K, na dose de 30 µg/kg, sobre a elevação da pressão arterial (mm Hg), causada pela nicotina administrada antes e após 10, 20 e 30 minutos da injeção do glicosídeo.

Cão	Elevação da pressão arterial pela nicotina			
	Antes da estrofantina K	Após estrofantina K 10 min	20 min	30 min
1	64	60	62	60
2	42	36	50	54
3	40	26	24	30
4	28	24	20	18
M É D I A	44	37	39	41

Doses utilizadas: Estrofantina K - 30 µg/kg
Nicotina - 30 - 50 µg/kg

T A B E L A VI

1.2.2 - Influência da estrofantina K, na dose de 60 µg/kg, sobre a elevação da pressão arterial (mm Hg), causada pela nicotina administrada antes e após 10, 20 e 30 minutos da injeção do glicosídeo.

Cão	Elevação da pressão arterial pela nicotina			
	Antes da estrofantina K	Após estrofantina K 10 min	20 min	30 min
1	50	32	32	36
2	38	30	30	28
3	54	68	82	56
4	26	20	28	24
5	30	30	30	42
M É D I A	40	36	41	37

Doses utilizadas: Estrofantina K - 60 µg/kg
Nicotina - 30 - 40 µg/kg

T A B E L A VII

1.2.3 - Influência da estrofantina K, na dose de 80 µg/kg, sobre a elevação da pressão arterial (mm Hg), causada pela nicotina administrada antes e após do cardiotônico.

Cão	Elevação da pressão arterial pela nicotina			
	Antes da estrofantina K	Após estrofantina K 10 min	20 min	30 min
1	42	-	49	-
2	24	14	16	40
3	36	42	58	50
4	26	32	26	24
5	22	14	24	26
6	52	26	26	40
7	36	14	14	10
8	18	8	2	-
9	46	20	24	20
M É D I A	33	21	26	30

Doses utilizadas: Estrofantina K - 80 µg/kg
Nicotina - 10 - 50 µg/kg

2 - RESULTADOS DO GRUPO 2

Experiências com estrofantina K e drogas estimulantes dos receptores muscarínicos ganglionares, em registro de pressão arterial

2.1 - *Sub-grupo em que foi utilizado o McN-A-343*

O McN-A-343 foi utilizado nas doses de 10 a 60 μ g/kg, causando elevação da pressão arterial, de intensidade variável.

A estrofantina K, utilizada nas doses de 30, 60 e 80 μ g/kg causou variação transitôria da pressão arterial, ocorrendo aumento da mesma, algumas vezes precedido da queda tensional.

Os resultados desses sub-grupos, apresentados nas TABELAS VIII, IX e X, mostram que após qualquer das doses de estrofantina K empregadas ocorreu diminuição significante das respostas pressores ao estimulante muscarínico, nas observações feitas aos 10, 20 e 30 minutos. Com a dose de 80 μ g/kg, somente a resposta aos 20 minutos foi estudada.

T A B E L A VIII

2.1.1 - Influência da estrofantina K, na dose de 30 µg/kg, sobre a elevação da pressão arterial (mm Hg), causada pelo McN-A-343, antes e aos 10, 20 e 30 minutos após o digitálico.

Cão	Elevação da pressão arterial pelo McN-A-343			
	Antes da estrofantina K	Após estrofantina K		
		10 min	20 min	30 min
1	22	12	12	8
2	8	4	4	6
3	40	14	14	14
4	22	10	6	-
5	22	-	-	6
M É D I A	23	10	9	8

Doses utilizadas: Estrofantina K - 30 µg/kg
McN-A-343 - 20 a 60 µg/kg

T A B E L A IX

2.1.2 - Influência da estrofantina K, na dose de 60 µg/kg, sobre a elevação da pressão arterial (mm Hg), causada pelo McN-A-343, antes e aos 10, 20 e 30 minutos após o cardiotônico.

Cão	Elevação da pressão arterial pelo McN-A-343			
	Antes da estrofantina K	Após estrofantina K		
		10 min	20 min	30 min
1	22	12	14	12
2	38	12	16	22
3	23	5	-	8
4	40	6	16	12
5	49	6	10	9
6	36	-	14	20
M É D I A	35	8	14	13

Doses utilizadas: Estrofantina K - 60 µg/kg
McN-A-343 - 30 a 60 µg/kg

T A B E L A X

2.1.3 - Influência da estrofantina K, na dose de 80 µg/kg, sobre a elevação da pressão arterial (mm Hg), causada pelo McN-A-343, antes e aos 20 minutos após a injeção do digitálico.

Cão	Elevação da pressão arterial pelo McN-A-343	
	Antes da estrofantina K	Após 20 min de estrofantina K
1	66	30
2	8	0
3	4	2
4	4	0
5	9	9
6	6	5
M É D I A	16	7

Doses utilizadas: Estrofantina K - 80 µg/kg
McN-A-343 - 10 µg/kg

OBS: Cães utilizados também em experiências do sub-grupo 4.1 (TABELA XIV)

2.2 - *Sub-grupo em que foi utilizada a neostigmina como estimulante dos receptores muscarínicos ganglionares, em cães previamente tratados com hexametônio*

A neostigmina, após hexametônio, causou evidente elevação da pressão arterial, desaparecendo na maioria dos animais os efeitos tensionais decorrentes de sua ação parassimpaticomimética.

A estrofantina K, na dose de 80 µg/kg causou as variações de pressão arterial já referidas.

Aos 20 minutos da dose de 80 µg/kg do cardiotônico observou-se uma diminuição considerável e estatisticamente significativa, da resposta pressora à neostigmina.

Os resultados deste grupo encontram-se na TABELA XI.

T A B E L A XI

2.2.1 - Influência da estrofantina K sobre a elevação da pressão arterial (mm Hg), causada pela neostigmina, administrada 20 minutos após o cardiotônico, em cães tratados previamente com hexametônio.

Cão	Elevação da pressão arterial pela neostigmina	
	Antes da estrofantina K	Após estrofantina K
1	30	17
2	52	46
3	18	12
4	68	27
5	50	24
6	26	32
7	40	23
8	14	0
9	54	5
M É D I A	39	21

Doses utilizadas: Estrofantina K - 80 µg/kg
 Neostigmina - 50 µg/kg
 Hexametônio - 5 µg/kg

OBS: Cães utilizados também para experiências do sub-grupo 4.2 (TABELA XV).

3 - RESULTADOS DO GRUPO 3

Experiências com estrofantina K e catecolaminas em registro de pressão ar
terial

O glicosídeo foi injetado na dose de 80 µg/kg e os efeitos pressores da epinefrina e norepinefrina verificados antes e após o cardiotônicos. A epinefrina foi administrada aos 10, 20 e 30 minutos da injeção de estrofantina K e a norepinefrina, nos mesmos cães, aos 15, 25 e 35 minutos.

Com relação à epinefrina, observou-se que seus efeitos pressores não foram modificados significativamente pela estrofantina K, enquanto que foi observado aumento dos efeitos da norepinefrina administrada aos 15 minutos, tal não mais ocorrendo aos 25 e 35 minutos.

Os resultados deste grupo encontram-se nas TABELAS XII e XIII.

T A B E L A XII

3.1 - Influência da estrofantina K, na dose de 80 µg/kg, sobre a elevação da pressão arterial (mm Hg), causada pela epinefrina, administrada antes e aos 10, 20 e 30 minutos após o glicosídeo cardioativo.

Cão	Elevação da pressão arterial pela epinefrina			
	Antes da estrofantina K	Após estrofantina K		
		10 min	20 min	30 min
1	50	54	40	58
2	72	68	78	84
3	92	124	95	92
4	42	82	78	84
5	30	34	46	88
6	34	36	38	37
M É D I A	53	67	63	73

Doses utilizadas: Estrofantina K - 80 µg/kg
Adrenalina - 30 µg/animal

OBS: Os cães foram utilizados também nas experiências do sub-grupo 4.2 (TABELA XIII).

T A B E L A XIII

3.2 - Influência da estrofantina K, na dose de 80 µg/kg, sobre a elevação da pressão arterial (mm Hg), causada pela norepinefrina, antes e aos 15, 25 e 35 minutos após o cardiotônico.

Cão	Elevação da pressão arterial pela norepinefrina			
	Antes estrofantina K	Após estrofantina K 15 min	25 min	35 min
1	76	80	75	76
2	106	112	101	103
3	102	102	94	108
4	70	86	70	88
5	46	72	72	44
6	42	60	57	52
M É D I A	73	86	78	78

Doses utilizadas: Estrofantina K - 80 µg/kg
Norepinefrina - 10 - 30 µg/animal

OBS: Os cães foram utilizados também nas experiências do sub-grupo 4.1 (TABELA XII).

4 - RESULTADOS DO GRUPO 4

Experiências com estrofantina K e nicotina em preparações de íleo isolado de cobaio

Nestas experiências foi observado que a estrofantina K, nas diversas doses utilizadas, (0,33; 0,66; 1,32 e 2,64 $\mu\text{g/ml}$) não influenciou no bloqueio dos receptores nicotínicos causados pelo hexametônio.

5 - RESULTADOS DO GRUPO 5

Experiências com fluxo salivar

5.1 - *Estrofantina K e drogas estimulantes da salivação*

5.1.1 - *Sub-grupo em que foi utilizado o McN-A-343*

A injeção inicial de McN-A-343, na dose de 10 $\mu\text{g/kg}$ causou salivação, efeito característico desta droga. Após 20 minutos da administração de estrofantina K na dose de 80 $\mu\text{g/kg}$, o ganglioestimulante foi novamente injetado e nessa oportunidade, observou-se que em sete, dentre doze experiências, ocorreu aumento da salivação. Contudo, a análise estatística dos resultados mostrou que as diferenças entre o efeito sialagogo do McN-A-343 antes e após a estrofantina K não foram significantes.

Os resultados deste sub-grupo encontram-se na TABELA XIV.

T A B E L A XIV

5.1.1 - Influência da estrofantina K na salivação causada pelo McN-A-343 administrado antes e após 20 minutos da injeção do cardiotônico. Os resultados estão expressos em número de gotas de saliva obtidas através de cateterização do ducto de Wharton.

Cão	Salivação causada pelo McN-A-343	
	Antes da estrofantina K	Após estrofantina K
1	15	38
2	2	11
3	10	11
4	16	56
5	10	51
6	7	13
7	31	16
8	6	4
9	7	3
10	7	5
11	2	6
12	26	11
M É D I A	12	18

Doses utilizadas: McN-A-343 - 10 µg/kg

Estrofantina K - 80 µg/kg

OBS: Os cães 1 a 6 foram utilizados também em experiências do sub-grupo 2.1.3 (TABELA X)

- 50 -

5.1.2 - *Sub-grupo em que foi utilizada a neostigmina como estimulante do fluxo salivar*

Nos mesmos cães que constam na TABELA XI, foi estudada a influência da estrofantina K sobre a salivação causada pela neostigmina. Essa droga, administrada a cães previamente tratados com hexametônio (5 mg/kg) causou salivação que foi em média, de 18 gotas. Aos 20 minutos da injeção de estrofantina K (80 µg/kg) o anticolinesterásico foi novamente injetado, observando-se então um notável incremento do fluxo salivar, que foi em média, de 119 gotas de saliva. Os resultados deste sub-grupo constam na TABELA XV.

Em um lote de 6 cães, administrou-se, entre a dose de estrofantina K e a de neostigmina, 5-10 µg/kg de atropina, com a finalidade de se obter bloqueio dos receptores muscarínicos ganglionares. Nessas condições, não mais se repetiu o resultado acima relatado, sendo que a atropina, nas pequenas doses empregadas, inibiu o aumento da salivação pela neostigmina após a estrofantina K. Nestes mesmos cães foram injetadas três doses de acetilcolina (30 µg/kg), a saber: no início da experiência, após a prostigmina e após a atropina, a fim de ser avaliada a

possível ocorrência de efeito parassimpatolítico da dose de atropina empregada. Observou-se, contudo, que após este fármaco, a queda de pressão arterial causada pelo parassimpatomimético foi apenas ligeiramente diminuída. ...

Os resultados constam na TABELA XV-A.

T A B E L A XV

5.1.2 - Influência da estrofantina K, na dose de 80 µg/kg, sobre a salivação causada pela neostigmina administrada antes e após 20 minutos da injeção do cardiotônico, em cães previamente tratados pelo hexametônio. Os resultados estão expressos em número de gotas de saliva, obtidas através da cateterização do ducto de Wharton.

Cão	Salivação causada pela neostigmina		
	Antes da estrofantina K	Após estrofantina K	Diferença percentual
1	16	147	+ 818,7
2	0	68	+ 100,0
3	22	200	+ 809,0
4	2	38	+ 1800,0
5	53	305	+ 475,4
6	38	134	+ 252,6
7	19	91	+ 378,9
8	2	73	+ 630,0
9	18	130	+ 622,2
M É D I A	19	132	+ 654

Doses utilizadas: Estrofantina K - 80 µg/kg
 Neostigmina - 50 µg/kg
 Hexametônio - 5 mg/kg

OBS.: Os cães dessa tabela foram também utilizados para experiências do grupo 2.2 (TABELA XI).

T A B E L A XV-A

5.1.3 - Salivação causada pela neostigmina, antes e após a administração de estrofantina K e atropina em pequenas doses, em cães previamente tratados pelo hexametônio. Os resultados estão expressos em número de gotas de saliva obtidas através da cateterização do ducto da glândula salivar submandibular.

Cão	Salivação causada pela neostigmina	
	Antes da estrofantina K e atropina	Após estrofantina K e atropina
1	3	1
2	0	10
3	0	1
4	24	9
5	3	108
6	0	7
M É D I A	5	22

Doses utilizadas: Estrofantina K - 80 µg/kg
 Neostigmina - 50 µg/kg
 Atropina - 5-10 µg/kg
 Hexametônio - 5 mg/kg

OBS.: A segunda dose de neostigmina foi adminis-
 trada aos 20 minutos após o cardiotônico
 e, dentro deste intervalo, foi injetada a
 atropina.

5.2 - Salivação decorrente da administração de estrofantina K

Nos cães em que foi cateterizado o ducto de Wharton para registro de salivação pelo McN-A-343 ou pela neostigmina (sub-grupo 5.1), foi observado que a própria estrofantina K na dose de 80 µg/kg causou salivação em 15 dentre 27 animais. Os resultados podem ser observados na tabela XVI, onde constam apenas os cães em que a salivação ocorreu. A estrofantina K foi injetada após cessados os efeitos salivatórios das doses iniciais de McN-A-343 e da neostigmina.

T A B E L A XVI

5.2 - Salivação causada pela estrofantina K, na dose de 80 µg/kg. Os resultados estão expressos em número de gôtas de saliva, obtidas através da cateterização do ducto de Wharton.

Cão	Salivação causada pela estrofantina K
1	4
2	17
3	81
4	4
5	9
6	30
7	153
8	6
9	70
10	4
11	3
12	25
13	17
14	10
15	24
M É D I A	30

OBS.: Os cães de números 1 a 5 correspondem, respectivamente, aos animais 3, 4, 5, 6 e 10 que constam da tabela XIV. Os de números 6 a 12, correspondem aos cães 1, 3, 4, 5, 6, 8 e 9 da tabela XV e os de números 13 a 15, correspondem aos animais 2, 4 e 5 da tabela XV-A.

VI - D I S C U S S Ã O

Os resultados de OLIVEIRA (1973) e de BASTOS *et alii* (1974) demonstrando, em cães, que cardiotônicos como a digitoxina e o desacetil-lanatosídeo C potenciam consideravelmente as respostas pressoras às drogas ganglioestimulantes do tipo nicotínico e mucarínico levaram à suposição de que a estrofantina K, embora pertencendo a grupo diferente de glicosídeos cardíacos, participaria também daquelas propriedades. Ainda, corroboraram em tal suposição, os resultados de outros autores como KONZETT & ROTHLIN (1952) quando mostraram que a estrofantina K foi mais ativa que a digitoxina e o lanatosídeo C em potenciar a contração da membrana nictitante de gato causada pela acetilcolina. PERRY & REINERT (1954) também em experiências com membrana nictitante de gato, descreveram que o glicosídeo ora em estudo, da mesma forma que a digitoxina, potenciou o efeito decorrente da estimulação elétrica da fibra pré-ganglionar ou da perfusão de acetilcolina ou de tetrametilamônio através do gânglio cervical superior. Por outro lado, KONZETT & CARPI (1956) demonstraram que a estrofantina K e a digitoxina, quando injetadas na artéria lingual, em gatos, causavam

contração da membrana nictitante.

A fim de estabelecer uma comparação entre os efeitos da estrofantina K e aqueles obtidos por OLIVEIRA (1973) com a digitoxina, e por BASTOS *et alii* (1974) com o desacetil-lanatosídeo C, utilizou-se o modelo experimental adotado por esses autores. Os resultados mostraram que a estrofantina K, utilizada na mesma dose que a digitoxina e o desacetil-lanatosídeo C (80 µg/kg), não causou potenciação dos efeitos pressores da acetilcolina em animal atropinizado nas observações feitas aos 10, 20 ou 30 minutos da administração do glicosídeo. Somente a dose de 30 µg/kg causou aumento transitório do efeito hipertensor da acetilcolina, enquanto que a dose de 120 µg/kg provocou, contrariamente, diminuição da resposta pressora a esse fármaco.

Nas experiências com a nicotina, observou-se que a estrofantina K, nas diversas doses utilizadas, e nos diferentes tempos de observação - 10, 20 e 30 minutos, não potenciou o efeito pressor do fármaco, tendendo mesmo a diminuí-lo.

A dose utilizada poderia estar influenciando nos resultados obtidos. Realmente,

KONZETT & ROTHLIN (1952) observaram que com doses elevadas de estrofantina K, lanatosídeo C e digitoxina o efeito potenciador dessas drogas sobre a contração da membrana nictitante pela acetilcolina era seguido de paralisia. Por outro lado PERRY & REINERT (1954) descreveram que enquanto pequenas doses de estrofantina K, oua baína, digitoxina ou cilareno A, potenciaram os efeitos de ganglioestimulantes sobre a membrana nictitante; doses elevadas levaram à diminuição das respostas.

Resultados interessantes e de difícil explicação foram obtidos nos grupos em que foram utilizados estimulantes ganglionares do tipo "muscarínico", como McN-A-343 e a neostigmina (em animal previamente tratado com hexametônio). A estrofantina K, nas doses de 30, 60 e 80 µg/kg causou, invariavelmente, considerável diminuição das respostas pressoras àqueles fármacos, indicando um possível bloqueio dos receptores muscarínicos ganglionares pelo glicosídeo. Nas experiências de OLIVEIRA (1973) e de BASTOS *et alii* (1974), contrariamente, o efeito pressor do McN-A-343 foi significativamente potenciado pela digitoxina e pelo desacetil-lanatosídeo C.

O exposto mostra que a estrofantina K, dentro das condições experimentais utilizadas, difere da digitoxina e do desacetil-lanatosídeo C quanto à capacidade de causar sensibilização ganglionar.

A não potenciação ou mesmo a diminuição dos efeitos pressores de ganglioestimulantes pela estrofantina K poderia estar relacionada, não com ações ganglionares do glicosídeo, mas com ação mais periférica, ao nível dos adrenoreceptores ou da musculatura vascular. O efeito antiadrenérgico de digitálicos, relatado por diversos autores (MÉNDEZ *et alii*, 1961 a - b; NARDEAU & JAMES, 1963; ROBERTS, 1970) poderia mascarar um aumento da atividade dos gânglios autonômicos ou da medular das glândulas supra-renais. Contudo, as experiências com catecolaminas mostraram que a dose de 80 µg/kg não modificou de maneira significativa as respostas à epinefrina, e é sabido que os efeitos pressores da nicotina e da acetilcolina se devem em grande parte à liberação de catecolaminas pelas glândulas supra-renais, em cujos depósitos predomina a epinefrina. Os efeitos pressores da epinefrina foram discretamente potenciados pela estrofantina K aos 15 minutos da injeção do glicosídeo, tal não mais ocorrendo aos 25 e 35 mi

nutos. Por vezes o McN-A-343, causa elevação da pressão arterial em decorrência, principalmente, da estimulação dos gânglios simpáticos, sem estimulação da medular das glândulas supra-renais, e deve-se lembrar que nas terminações nervosas predominam os depósitos de norepinefrina. Tais fatos afastam a possibilidade da participação dos receptores adrenérgicos e da musculatura vascular na gênese dos fenômenos observados.

Com relação aos gânglios parassimpáticos, os resultados obtidos com a estrofantina K demonstram também que esse fármaco atua de maneira diferente da digitoxina e desacetil-lanatosídeo C. Enquanto estes glicosídeos reverteram o bloqueio ganglionar causado pelo hexametônio em experiências em íleo de cobaio, a estrofantina K, nas mesmas condições experimentais, não mostrou tal propriedade.

O fato da estrofantina K não haver demonstrado atividade sensibilizadora ganglionar evidente, reveste-se de um possível interesse prático, porque, como lembra OLIVEIRA (1973), o fato da digitoxina, em doses próximas da terapêutica, causar sensibilização ganglionar, deveria ser considerado quando do uso clínico dessa droga, e os presentes resultados indicam que tal

restrição não se aplicaria à estrofantina K.

Resultados interessantes foram obtidos nas experiências com salivação. Esse tipo de experimento se originou da observação de que a estrofantina K diminuiu sensivelmente os efeitos pressores do McN-A-343. Sendo essa droga um potente agente sialagogo, foi aventada a hipótese de que a estrofantina K causaria também bloqueio de salivação. Apoiaram ainda tal suposição os trabalhos de SCHNEYER & SCHNEYER (1965) e de MARTINEZ (1971) com a ouabaína (estrofantina G), também do grupo do Strophantus. Os primeiros autores relataram que esse glicosídeo, injetado em ratos na dose de 500 µg/kg, reduziu o fluxo salivar bem como causou a elevação do potássio na secreção das glândulas parótidas e submaxilares e diminuição do sódio na saliva das parótidas. MARTINEZ (1971), trabalhando com cães, descreveu que a ouabaína injetada através do ducto da glândula submandibular, estimulada pela administração de pilocarpina, diminuiu o fluxo de saliva, enquanto aumentou o teor desta em sódio e potássio. Quando injetada no caudal arterial da glândula não ocorreu modificação do fluxo, que o autor explica como sendo decorrência da ouabaína, quando injetada por via arterial, não alcançar em concentração suficiente,

os mecanismos acinares da glândula responsável pelo volume de saliva fluída. Contudo, ocorreu aumento da concentração de sódio e também de potássio, indicando o autor que o glicosídeo teria atingido os mecanismos de transporte responsáveis pela reabsorção de sódio e secreção de potássio.

Nas presentes experiências observou-se que após a estrofantina K, o efeito sialagogo do McN-A-343 aumentou em 50 por cento dos animais estudados, enquanto que em todos os animais houve uma diminuição do efeito pressor. Com relação à neostigmina foi observado que, à par de uma diminuição do efeito hipertensor da droga, ocorreu após estrofantina K, notável aumento da salivação. Observação ainda interessante foi que a própria estrofantina K causou salivação - considerável. Tais resultados são opostos àqueles encontrados por SCHNEYER & SCHNEYER (1965) e MARTINEZ (1971) quando observaram que a estrofantina G tende a inibir a salivação. Nas experiências com neostigmina estudou-se, em seis animais, a possibilidade de que a potenciação da secreção salivar após estrofantina K pudesse ser influenciada pela administração de doses diminutas de atropina, suficientes para bloquear os receptores muscarínicos ganglionares, mas não

os receptores muscarínicos das sinapses neuroefetadoras. Realmente, após a atropina não mais se observou a potenciação. Em dois cães, a salivação pela própria estrofantina K foi bloqueada pela atropina em dose parassimpatolítica (1 mg/kg). Tais resultados sugerem que a atividade da estrofantina K sobre a secreção salivar se dê ao nível de receptores ganglionares e não se trate de uma ação glandular direta. Tal hipótese necessita contudo, para confirmação, de novas experiências; sendo também indicada a determinação da composição iônica da saliva obtida naquelas condições experimentais, para efeito de comparação com os resultados de SCHNEYER & SCHNEYER (1965) e de MARTINEZ (1971) e como um dos muitos aspectos que deverão ser estudados - para elucidação dessa interessante propriedade de estrofantina K.

VII - C O N C L U S Õ E S

- 1 - Ao contrário do que tem sido observado com outros glicosídeos cardioativos, a estrofantina K não causa sensibilização dos receptores nicotínicos dos gânglios autonômicos.
- 2 - A estrofantina K bloqueia a resposta hipertensora ao MCN-A-343 e ã neostigmina.
- 3 - Na dose de 80 µg/kg a estrofantina K estimula a secreção salivar em cães.

VIII - REFERÊNCIAS BIBLIO-
GRÁFICAS

BASTOS, W.P. - Veratrina - Influência na atividade de drogas estimulantes e bloqueadoras ganglionares. Tese, para concurso de Livre-Docência na Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, 1970.

BASTOS, W.P. - Glicosídeos cardioativos em gânglios parassimpáticos - experiências em íleo de cobaio. Anais da V Jornada Científica da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, 86, 1975.

BASTOS, W.P.; OLIVEIRA, A.C. & RAMOS, A.O. - Latosídeo C - Sensibilização dos gânglios autonômicos e reversão do bloqueio ganglionar. Cienc. e Cult., 26: 1047-1051, 1974.

BASTOS, W.P. & RAMOS, A.O. - Bloqueio pelo pipazetato do estímulo ganglionar pelo McN-A-343 Cienc. e Cult., 21: 530, 1969.

BASTOS, W.P. & RAMOS, A.O. - Isoaminile a inhibitor of muscarinic and nicotine ganglionic receptors. Pharmacology, 4: 39-44, 1970.

- BEANI, L. - Effetto delle genine digitaliche e dei loro derivati idrogenati sulla sensibilità del ganglio cervicale superiore all'acetilcolina. Med. super., 28: 207-233, 1956.
In: Excerpta med., 10: 208, 1957.
- BIRKS, R.I. - The role of sodium ions in the metabolism of acetylcholine. Canad. J. Biochem., 41: 2573-2597, 1963.
- CHAI, C.Y.; WANG, H.H.; HOFFMAN, B.F. & WANG, S. C. - Mechanisms of bradycardia induced by digitalis substances. Am. J. Physiol., 212: 26-34, 1967.
- CHRISTIAN, H.A. - Digitalis therapy: satisfactory effects in cardiac cases with regular pulse rate. Am. J. Med. Sci., 157: 593-602, 1919.
- DRILL'S PHARMACOLOGY IN MEDICINE, 4^a ed., New York., - McGraw-Hill Book, 1971, 1920 p.
- GAFFNEY, T.E.; KAHN, Jr. J.B.; VAN MAANEN, E.F. V. & ACHESON, G.H. - A mechanism of the vagal effect of cardiac glycosides. J. Pharmacol. exp. Ther., 122: 423-429, 1958.

- GOODMAN, L.S. & GILMAN, A. - As bases farmacoló
gicas da terapêutica. 4^a ed., Rio de Janeiro
Guanabara Koogan, 1970.
- GREENE, C.W. & PEELER, J.O. - The central action
of digitalis as tested by the cardio-inhibito
ry center. J. Pharmacol. exp. Ther., 7: 591
-597, 1915.
- HEYMANS, C.; BOUCKAERT, J.J. & REGNIERS, P. -
Sur le mecanisme réflexe de la bradycardie
provoquée par les digitaliques. Arch. int.
Pharmacodyn., 44: 31-39, 1932.
- KONZETT, H. & CARPI, A. - Weitere untersuchun
gen sur ganglionarem wirkung von herzwirksa
men glycosiden. Helv. Physiol. Acta., 14:
235-250, 1956.
- KONZETT, H. & ROTHLIN, E. - Effect of cardioac
tive glycosides on a sympathetic ganglion. Ar
ch. int. Pharmacodyn., 89: 343-352, 1952.
- KRAYER, O. - A difference in cardiodecelerator
action between digitoxin and digitoxigenin.
Proc. Soc. exp. Biol., 57: 167-169, 1944.

- LUTEN, B. - Clinical studies of digitalis. Effects produced by massive dosage to patients with normal mechanism. Arch. intern. Med., 33: 251-278, 1924.
- MARTINEZ, J.R. - Action of ouabain on sub maxillary secretion in the dog. J. Pharm. exp. Ther., 178: 616-624, 1971.
- MASON, D.T.; SPANN, J.F. & ZELIS, R. - New developments in the Understanding of the Actions of Digitalis Glycosides, Prog. Cardiovasc. Dis. 11: 443-478, 1969.
- McGUIGAN, H.A. & HIGGINS, J.A. - Action of digitalis on cardiac ganglia and sympathetics. J. Pharmacol. exp. Ther., 63: 25-26, 1938.
- MÉNDEZ, C.; ACEVES, J. & MÉNDEZ, R. - Inhibition of adrenergic cardiac acceleration by cardiac glycosides. J. Pharmacol. exp. Ther., 131: 191-198, 1961 a.
- MÉNDEZ, C.; ACEVES, J. & MÉNDEZ, R. - The anti-adrenergic action of digitalis on the refractory period of the A-V transmission system. J. Pharmacol. exp. Ther., 131: 199-204, - 1961 b.

NARDEAU, R.A. & JAMES, T.N. - Antagonists effects on sinus node of acetylcholinesterase and adrenergic stimulation. Circulation Res., 13: 388-391, 1963.

OLIVEIRA, A.C. - Digitoxina - Influência na atividade de agentes estimulantes e bloqueadores dos gânglios autonômicos e medular das glândulas supra-renais. Tese, para concurso de Doutorado na Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu, 1973.

OLIVEIRA, A.C.; RAMOS, W.P.B. & RAMOS, A.O. - Estudo comparativo da influência de digitálicos nos efeitos pressores de estimulantes ganglionares. Resumos da XXVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, 1: 504, 1974.

PERRY, W.L.M. & REINERT, H. - Die ganglionare komponente der herzoglykosidwirkung. Arch. Exp. Path. Pharmacol., 222(1/2): 201-203, 1954.

PERRY, W.L.M. & REINERT, H. - The action of cardiac glycosides on autonomic ganglia. Brit. J. Pharmacol., 9: 324-328, 1954.

PRATT, J.H. - Digitalis therapy. J. Am. Med. Ass., 71: 618-622, 1918.

QUEST, J.A. & GILLIS, R.A. - Carotid sinus reflex changes produced by digitalis. J. Pharmacol. exp. Ther., 177: 650-661, 1971.

RAMOS, A.O.; RAMOS, L.; ZANINI, A.C. & CORBETT, C.E. - Some pharmacological actions of the 4-(m-chlorophenyl-carbamoyloxy)-2-butynyltrimethylammonium chloride - (McN-A-343). II. Action on salivary flow. Acta physiol. lat. amer., 15: 49-52, 1965.

RAMOS, A.O.; VASSILIEFF, I. & BASTOS, W.P. - Calcium as inhibitor of McN-A-343. Abstract of the Fourth International Congress of Pharmacology - Basel, 365-366, 1969.

ROBERTS, J. - The action of ouabain on the chronotropic effects of sympathetic nerve stimulation and isoproterenol. Europ. J. Pharmacol., 12: 1-9, 1970.

ROSZKOWSKI, A.P. - An unusual type of sympathetic ganglionic stimulant. J. Pharmacol. exp. Ther., 132: 156-170, 1961.

SCHNEYER, L.H. & SCHNEYER, C.A. - Salivary secretion in the rat after ouabain. Amer. J. Physiol., 209: 111-118, 1965.

SIEGEL, S. - Nonparametric statistics for the behavioral sciences. 1.^a ed., Tokyo, McGraw-Hill Book, 1956, 312 p.

WENKENBACH, K.F. - Discussion on the effects of digitalis on the human heart. Br. med. J., 2: 1600-1605, 1910.