

POLIPEPTÍDEOS FARMACOLÓGICAMENTE ATIVOS E DIÂMETRO DE ARTÉRIAS PIAIS

ESTUDO EXPERIMENTAL COM VASOPRESSINA, OCITOCINA,
BRADICININA E NEUROKININA

SYLVIO SARAIVA *

Crescente importância tem sido atribuída ao papel desempenhado por substâncias de caráter polipeptídico em condições normais e patológicas. A provável participação de uma substância polipeptídica na patogenia da enxaqueca, afecção em que há comprovado componente vascular⁶⁷, foi sugerida por Chapman e col.¹¹. Por outro lado, Carpi e Corrado¹⁰ aventaram a hipótese da possível intervenção de uma substância desse grupo, a bradicinina, nos mecanismos de regulação vascular cerebral. Estes fatos, aliados ao número restrito de trabalhos referentes ao assunto, conduziram-nos ao estudo de possíveis relações entre polipeptídeos farmacologicamente ativos e circulação cerebral. Nesse sentido investigamos a ação de quatro polipeptídeos (vasopressina ou pitressina, ocitocina, bradicinina e neurokinina), objetivando particularmente, em virtude do método utilizado, os efeitos nas artérias piais do cão.

Polipeptídeos farmacologicamente ativos e circulação cerebral — Atualizadas revisões sobre a farmacologia dos polipeptídeos biologicamente ativos são devidas a Gaddum²⁷, Gomes²⁸ e Schachter⁵². Essas substâncias, inicialmente consideradas como simples produtos do metabolismo protéico, foram mais recentemente valorizadas, em virtude de sua comprovada influência em diversos mecanismos biológicos.

Tese de doutoramento elaborada no Departamento de Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (Prof. Charles Edward Corbett).

* Médico assistente da Clínica Neurológica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (Prof. Adherbal Tolosa).

Nota do autor — Expressimos nossos agradecimentos aos colegas da Clínica Neurológica e do Departamento de Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo pelo estímulo e colaboração. Ao Dr. Rubens Murillo Marques, assistente do Departamento de Estatística Aplicada da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo, manifestamos nossa gratidão pela orientação na análise estatística.

Deve-se a Oliver e Schäfer³⁹ a observação de que a administração intravenosa de extratos de hipófise em animais anestesiados determinava aumento de pressão arterial. Howell³² demonstrou que êsse efeito hipertensor era condicionado pelo lobo posterior dessa glândula, fato confirmado por Schäfer e Vincent⁵³. Ulteriormente, Dale^{16, 17} reportou-se à atividade ocitócica do extrato da pituitária.

O reconhecimento dessas duas propriedades de extratos do lobo posterior da hipófise foi o marco inicial para a pesquisa dos possíveis agentes por elas responsáveis. Nessa ordem de idéias, situaram-se os estudos de Abel e col.^{2, 3}, concluindo que o princípio estimulante do útero não depende da histamina, encontrada em grande concentração no lobo posterior da pituitária. Abel e col.^{4, 5} e Abel¹ admitiram que as ações renal, vasomotora e ocitócica da hipófise posterior eram a expressão de diversas propriedades farmacológicas de um único hormônio. As conclusões diferentes chegaram Dudley^{22, 23} e Kamm e col.³³, cujas idéias se confirmaram com os trabalhos de Stehle⁵⁷ e Stehle e Fraser⁵⁸, que descreveram um método para a separação das substâncias pressora e ocitócica do lobo posterior da hipófise. Por sua vez, Rosenfeld⁵⁰ comprovou que os princípios fisiologicamente ativos contidos na pituitrina, isto é, a *ocitocina* e a *vasopressina*, têm peso molecular muito menor que o do hormônio primitivamente admitido por Abel e col.^{4, 5}.

Van Dyke e col.⁶⁴ isolaram do lobo posterior da hipófise de boi uma proteína de peso molecular elevado (em torno de 30.000), com propriedades ocitócica e inibidora da diurese. Mais tarde, Du Vigneaud e col.²¹ e Tuppy⁶⁰ determinaram a estrutura molecular do hormônio ocitócico, comprovando tratar-se de um octapeptídeo, o qual foi sintetizado posteriormente por Du Vigneaud e col.^{19, 20}. Por sua vez, tanto a atividade vasopressora quanto a antidiurética foram atribuídas à vasopressina, a qual foi isolada por Turner e col.⁶¹ e Du Vigneaud e col.¹⁸, revelando características de um polipeptídeo contendo também oito aminácidos.

As conclusões referentes à ação dos extratos do lobo posterior da hipófise sobre o leito vascular cerebral têm sido discordantes. Para alguns autores^{9, 35, 38, 44, 56, 66}, o extrato do lobo posterior da hipófise diminuiria o calibre dos vasos intracranianos. No entanto, já em 1919, Raphael e Stanton⁴³ haviam assinalado efeito vasodilatador. Gruber e Roberts²⁹ observaram reações variáveis: ora constrição, seguida de dilatação dos vasos piais, ora vasoconstrição isolada. Forbes e col.²⁶ também verificaram comportamento inconstante dos vasos piais em resposta à pitressina ou ao extrato hipofisário, administrados intravenosamente, prevalecendo percentualmente casos de vasodilatação sobre os de vasoconstrição. Os resultados obtidos pela aplicação tópica não evidenciaram diferença significativa em relação aos dados obtidos por via venosa. Schmidt⁵⁴ concluiu que a pituitrina não determina qualquer alteração do fluxo sanguíneo do hipotálamo do gato, embora aumente o do córtex parietal desta mesma espécie, conforme demonstrou por meio do método termoeletrônico⁵⁵. Cow¹⁵, Florey²⁴ e Howe

e Mac Kinley³¹, contudo, não obtiveram qualquer efeito de extratos hipofisários sobre os vasos encefálicos.

Conquanto existam trabalhos concernentes à atividade da vasopressina na circulação cerebral, nenhuma referência encontramos em relação à ocitocina.

Rocha e Silva e col.^{45, 46} demonstraram que da incubação de sangue com veneno de *Bothrops jararaca* resulta a formação de um princípio estimulante da musculatura visceral — dialisável e destrutível pela quimotripsina — o qual denominaram *bradicinina*. Posteriormente, essa preparação foi altamente purificada e a bradicinina foi sintetizada^{6, 7}.

Uma das características da bradicinina é sua ação hipotensora arterial nos mamíferos^{45, 46}, passível de potencialização pela reserpina, por agentes simpatolíticos, pela clorpromazina, mas não pelo hexametônio^{47, 48}. Por outro lado, a injeção carotídea de doses pequenas (4 unidades) de bradicinina⁴⁸, após a destruição do seio carotídeo, produz queda de pressão arterial. Sua injeção nos ventrículos cerebrais, em gatos, determina queda lenta e duradoura da pressão arterial, acompanhada de sedação e relaxamento da membrana nictitante^{14, 48}.

A ação da bradicinina sobre o fluxo sanguíneo cerebral foi recentemente estudada por Carpi e Corrado¹⁰, que registraram efeito vasodilatador em cães, acompanhado de queda da pressão arterial e de aumento simultâneo da pressão venosa intracraniana; esses efeitos foram transitórios, durando no máximo 60 segundos, persistindo após a administração de pirlamina ou de atropina.

À *neurocinina* foi atribuída participação no mecanismo da enxaqueca¹¹ e na vasodilatação neurogênica antidrômica¹². Os trabalhos da escola de Wolff⁶⁷ demonstraram a participação dos vasos intra e extracranianos na fase dolorosa da crise de enxaqueca. Conquanto a dor seja atribuída à distensão dos vasos extracranianos, a dilatação destes, provocada pelo calor através da imersão do corpo em água quente, não determina o aparecimento da sintomatologia que caracteriza a crise de enxaqueca. Este fato levou alguns autores^{40, 68} a admitir a instalação de um processo inflamatório asséptico e o acúmulo de uma ou mais substâncias nas paredes das artérias e nos tecidos areolares perivasculares, determinando abaixamento do limiar à dor, aumento da permeabilidade capilar e maior sensibilidade à compressão local. Chapman e col.¹¹ isolaram do tecido subcutâneo da região dolorosa da cabeça de pacientes portadores de enxaqueca, durante a crise, uma substância caracterizada como um polipeptídeo com ação vasomotora. Essa substância tem a capacidade de relaxar o duodeno isolado do rato, contrair o útero da rata, e determinar, no mesmo animal, queda de pressão arterial. Mediante ensaios biológicos quantitativos e qualitativos, pôde ser diferenciada do potássio, do ácido adenossinotrifosfórico, da serotonina, da acetilcolina e da histamina, bem como de polipeptídeos, quais sejam a substância P, a bradicinina, a calidina e a plasmicininina, conquanto algumas de suas propriedades assemelhem-se às dos referidos peptídeos. A essa substância, Chapman e col.¹¹ deram o nome de *neurocinina*.

Em estudos posteriores, Chapman e col.¹² verificaram que um polipeptídeo, com as características da neurocinina, era encontrado em quantidades maiores no perfusado subcutâneo durante a vasodilatação determinada por estímulo neurogênico; no entanto, na vasodilatação não neurogênica, determinada pela interrupção da circulação do braço com um manguito de um manômetro, não foi encontrada a neurocinina.

Em trabalho recente, Ramos ⁴² isolou do líquido cefalorraqueano humano um princípio ativo de caráter polipeptídico cujas propriedades permitem identificação com a neurocinina. Por outro lado, a formação de um polipeptídeo com as mesmas características da neurocinina foi também conseguida por Chapman e col.¹³, através da incubação do líquido cefalorraqueano humano com globulina plasmática.

MATERIAL E MÉTODOS

Em cães preparados para o registro da pressão arterial sistêmica, mediante manômetro de mercúrio ligado à artéria carótida primitiva, estudou-se o comportamento das artériasiais após injeção isolada de alguns polipeptídeos (vasopressina, ocitocina, bradicinina e neurocinina) na veia femoral. Em todas as experiências foi feita anestesia com pentobarbital sódico, na dosagem de 30 mg/kg de peso, administrado pela via venosa.

Para o estudo do comportamento das artériasiais utilizou-se o método da janela proposto por Forbes²⁵. O animal era imobilizado em decúbito ventral, com a cabeça em torção lateral, fixada com uma morça de Czernak e o ato cirúrgico executado com técnica operatória idêntica à de Melaragno³⁷. Incisão sagital, na região parietal, era praticada cêrca de 2 cm para fora da linha mediana; após a hemostasia, a pele e planos subjacentes eram rebatidos lateralmente. Seguiu-se trepanação do osso, com abertura de uma janela de aproximadamente 2 cm de diâmetro. O sangramento, quando havia, era contido por "gelfoam". A dura-máter era perfurada no centro do campo operatório e repuxada com auxílio de agulha; seguia-se incisão em cruz, com tesoura, até o rebordo ósseo, após o que era rebatida para visibilização dos vasosiais e da superfície cortical. O campo operatório era lavado com soro fisiológico tantas vezes quantas necessárias, sem a ocorrência de qualquer alteração no calibre dos vasosiais, fato que se comprovou pela observação direta e pela comparação de fotografias sucessivas precedendo a injeção das substâncias em estudo, assim se confirmando observações de Melaragno³⁷.

O campo operatório foi fotografado antes e após a injeção das substâncias estudadas; o momento da injeção das drogas e o do registro fotográfico eram assinalados no papel do quimógrafo. A máquina era adaptada a uma das oculares de um microscópio; a outra ocular era usada para foclizar o campo operatório.

Bouckaert e Jourdan⁸ assinalaram que pela técnica de Forbes²⁵ é possível a distinção entre artérias e veias, principalmente pela diferença de coloração, a qual pode ser observada nas fotografias em branco e preto: as veias apresentam-se mais escuras e de contornos pouco nítidos, ao passo que as artérias são mais claras e com limites bastante marcados. As artérias foram medidas através de um triângulo isósceles de 1 cm de base com 40 cm de altura, desenhado em lâmina transparente. Esse triângulo tem a propriedade de — dividindo-se sua altura em segmentos cujo valor seja igual à centésima parte desta, isto é, de 4 mm cada um — permitir a obtenção de diferenças de 0,1 mm entre as bases consecutivas dos triângulos formados, traçando-se em cada divisão dessa altura linhas paralelas à base do primeiro triângulo. Em cada experiência, foram medidas as artérias que se apresentavam com maior nitidez nas cópias fotográficas. O mesmo ponto de cada vaso foi medido nas sucessivas fotografias de um determinado campo operatório.

Cada medida foi efetuada seis vêzes, tendo sido calculada a sua média aritmética. Para facilidade da análise estatística, os valores representados por essas médias aritméticas foram multiplicados por 100.

Utilizaram-se 24 animais distribuídos em diversos grupos: 1 — grupo de 4 cães que foram anestesiados, fenestrados e observados pelo tempo de 100 minutos, sem a administração de qualquer droga; 2 — grupo de 5 cães que receberam vasopressina (Pitressina, Parke Davies) por via venosa, sendo utilizadas doses de 10 a 20 unidades; 3 — grupo de 5 cães que receberam 15 a 20 unidades de ocitocina (Syn-tocinon, Roche) por via intravenosa; 4 — grupo de 5 cães que receberam, por via venosa, doses variáveis de 10 a 50 mg de bradicinina, obtida de sangue de boi contendo 3 unidades/mg; 5 — grupo de 5 cães em que a neurocinina (preparação bruta e obtida de líquido cefalorraqueano humano incubado com globulina) foi injetada pela mesma via nas doses de 200 a 400 mg.

Em tôdas as experiências, mediram-se 4 a 8 artérias em cada campo, em tempos sucessivos, desde 15 segundos até 100 minutos após a injeção da droga. Entretanto, para facilitar o cálculo estatístico, utilizamos, de cada animal, somente 4 vasos escolhidos ao acaso e, a seguir, classificados em ordem decrescente dos seus diâmetros. Em cada grupo de animais, quatro foram selecionados para tratamento estatístico e um foi utilizado para a escolha de doses adequadas.

A análise dos dados com o objetivo de comparar o efeito das várias drogas sobre o diâmetro dos vasos piais segundo os vários tempos foi feita mediante análise de variância a dois critérios de classificação, modelo parcialmente hierárquico. As comparações entre os valores médios dos diâmetros dos vasos piais nos vários tempos, quando realizada, foi feita pelo método de Tukey⁵⁹. O nível de significância adotado foi sempre o de 5%.

RESULTADOS

1º Grupo: Cães que receberam somente anestesia — Os 4 cães deste lote, apenas anestesiados e submetidos à fenestração, foram observados durante 100 minutos, não se registrando variações apreciáveis da pressão arterial. Semelhantemente, os diâmetros das artérias piais não variaram de modo significativo durante o decorrer dessa experiência. Este resultado, conquanto já esperado, era necessário a fim de se verificar se a simples anestesia poderia influenciar os resultados.

A tabela 1 mostra os valores dos diâmetros nessa experiência e a tabela 2 apresenta a análise de variância dos dados em aprêço.

Arterias Tempo (minutos)	Cão 1				Cão 2				Cão 3				Cão 4			
	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d
10	150	80	70	55	130	110	45	40	115	100	65	60	105	80	70	50
30	150	80	70	55	130	110	45	40	110	100	65	60	105	80	70	50
60	155	80	70	55	135	105	45	40	110	100	65	60	105	85	70	50
100	155	80	70	55	130	100	45	40	110	105	65	60	105	80	70	50

Tabela 1 — Valores dos diâmetros das artérias da pia-máter em cães somente anestesiados. As letras a, b, c e d referem-se a 4 artérias, escolhidas ao acaso, em cada animal. Os diâmetros dos vasos estão expressos em unidades do ábaco multiplicadas por 100.

Fonte de variação	Soma dos quadrados	g.l.	Quadrado médio	F
Entre tempos	2,06	3	0,69	0,20
Entre cães	1.492,19	3	497,40	0,09
Entre vasos dentro do cão	61.158,25	12	5.096,52	1.468,73*
Interação tempo x cão	31,19	9	3,47	1,01
Interação vaso x tempo dentro do cão	122,75	36	3,41	
T O T A L	62.806,44	63	996,93	

Tabela 2 — Análise de variância dos dados da tabela 1: * significativa ao nível de 5%.

2º Grupo: Animais que receberam vasopressina — A vasopressina, injetada intravenosamente na dose de 10 a 20 unidades, exerceu irregular influência sobre a pressão arterial média (tabela 3), verificando-se, durante 200 segundos de observação, variações tanto para mais quanto para menos. Todavia, o comportamento das artérias da pia-máter (tabela 4) não acusou modificações significativas (tabela

Cão \ Tempo (segundos)	1	2	3	4
	15 unidades	10 unidades	15 unidades	20 unidades
0	130	120	60	120
50 - 75	140	100	30	140
100 - 140	170	100	160	180
170 - 200	70	140	130	170

Tabela 3 — Influência da injeção venosa de vasopressina (10 a 20 unidades) na pressão arterial média (em mm Hg) de cães.

Arterias \ Tempo (segundos)	Cão 1				Cão 2				Cão 3				Cão 4			
	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d
0	115	114	105	85	155	144	114	103	123	116	114	96	153	125	104	100
50 - 75	116	116	107	86	155	143	113	102	124	117	115	96	153	126	104	102
100 - 140	116	116	107	85	157	142	114	102	125	116	115	95	154	125	104	102
170 - 200	115	115	106	85	154	145	112	104	125	116	113	95	154	125	104	102

Tabela 4 — Efeito da injeção de vasopressina sobre o diâmetro das artérias piais do cão. Os diâmetros dos vasos estão expressos em unidades do ábaco multiplicadas por 100.

5). De fato, a par de vasos piais que permaneceram com calibre inalterado mesmo na vigência de oscilações da pressão arterial média (artéria c do cão 4, por exemplo), de modo geral, houve pequenas variações, para mais ou para menos, sem correlação obrigatória, porém com o sentido da alteração da pressão arterial média.

Fonte de variação	Soma dos quadrados	g.l.	Quadrado médio	F
Entre tempos	3,56	3	1,19	0,002
Entre cães	4.857,64	3	1.619,21	2,28
Entre vasos dentro do cão	8.517,8	12	709,82	947,55*
Interação tempo x cão	6,74	9	0,749	0,001
Interação vaso x tempo dentro do cão	20.428,20	36	567,45	
T O T A L	33.813,94	63	536,73	

Tabela 5 — Análise de variância dos dados da tabela 4: * significativa ao nível de 5%.

A fig. 1, correspondente ao cão 4 e obtida 50 segundos após a injeção da vasopressina, ilustra a não significativa influência desta substância no calibre de artérias piais.

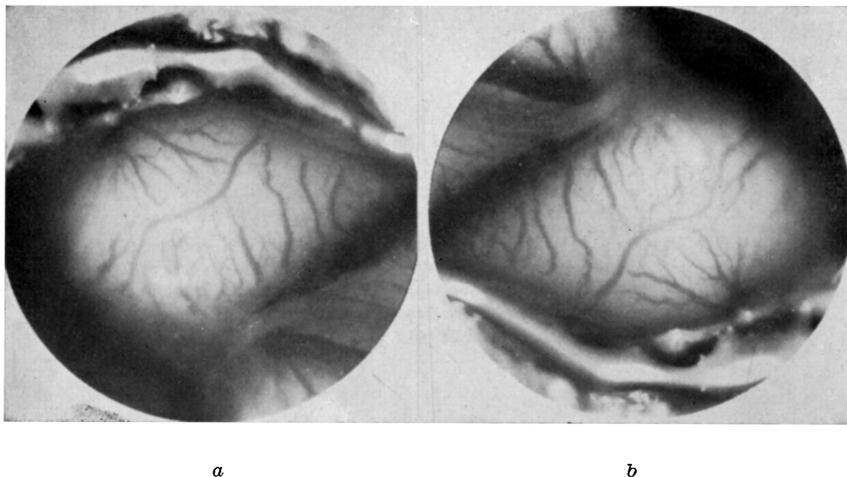


Fig. 1 — Cão fêmea, 16 kg, anestesiado com pentobarbital sódico (30 mg/kg, por via venosa). Fotografias, ampliadas 2,3 vezes, das artérias da pia-máter, antes (a) e 50 segundos após (b) a injeção venosa de 10 unidades de vasopressina, correspondendo à variação da pressão arterial média de 120 para 140 mm Hg.

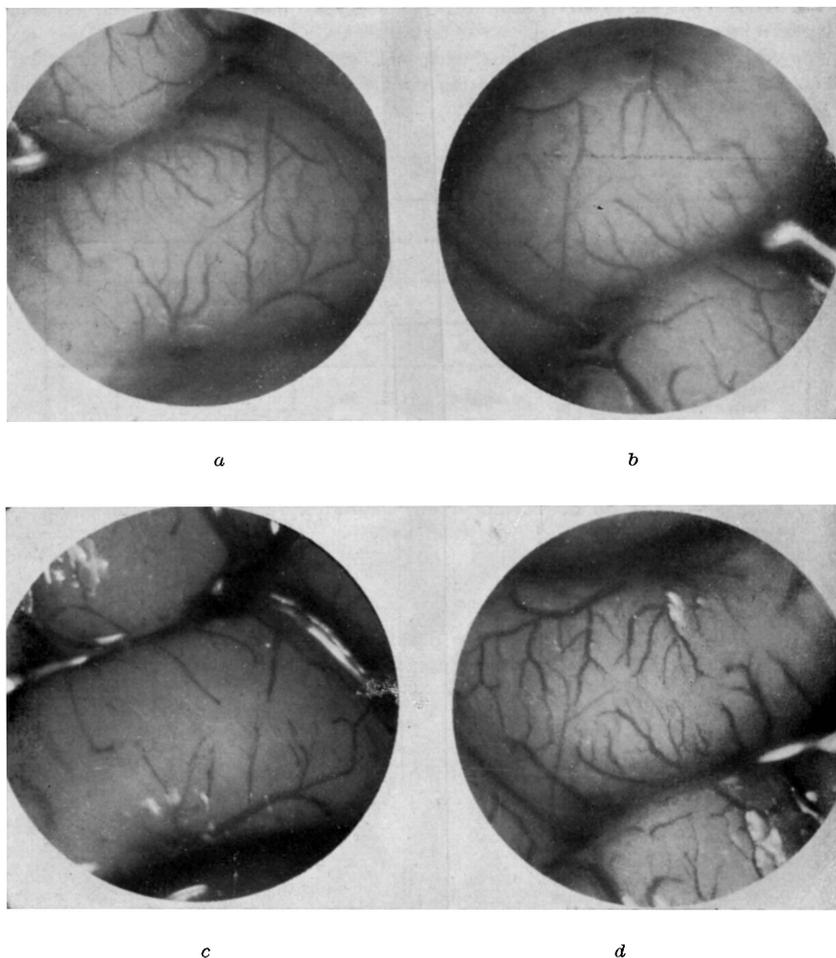


Fig. 2 — Cão macho, 11 kg, anestesiado com pentobarbital sódico (30 mg/kg, por via venosa). Fotografias, ampliadas 2,3 vezes, das artérias da pia-máter, antes (a) e 1, 2 e 3 minutos após (b), (c) e (d) a injeção venosa de 15 unidades de ocitocina, correspondendo a variações limites da pressão arterial média de 110 a 116 mm Hg.

3º Grupo: *Animais que receberam ocitocina* — Injetada por via venosa em doses de 15 ou de 20 unidades, a ocitocina não provocou alterações apreciáveis da pressão arterial média sistêmica. Não obstante, ocorreu intenso efeito constritor nas artérias da pia-máter, a ponto de resultar praticamente inviável a medida do calibre desses vasos. Mesmo à simples inspeção era evidente a isquemia da área exposta.

A fig. 2 mostra a perda de visibilidade de grande número de vasos no campo microscópico. Tal efeito constritor da ocitocina, entretanto, teve curta duração, a imagem das artérias começando a reaparecer cerca de 3 minutos após.

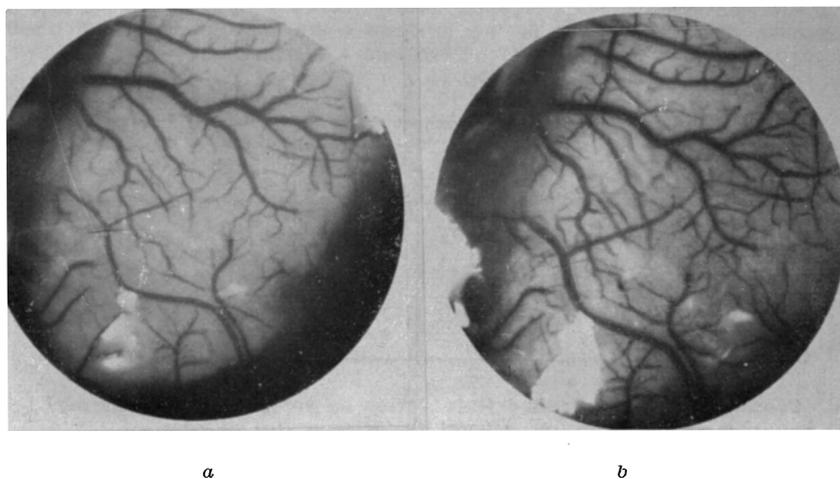


Fig. 3 — Cão macho, 10 kg, anestesiado com pentobarbital sódico (30 mg/kg, por via venosa). Fotografias, ampliadas 2,3 vezes, das artérias da pia-máter, antes (a) e 30 segundos após (b) a injeção venosa de 50 mg de bradycinina natural, correspondendo à variação da pressão arterial média de 140 a 100 mm Hg.

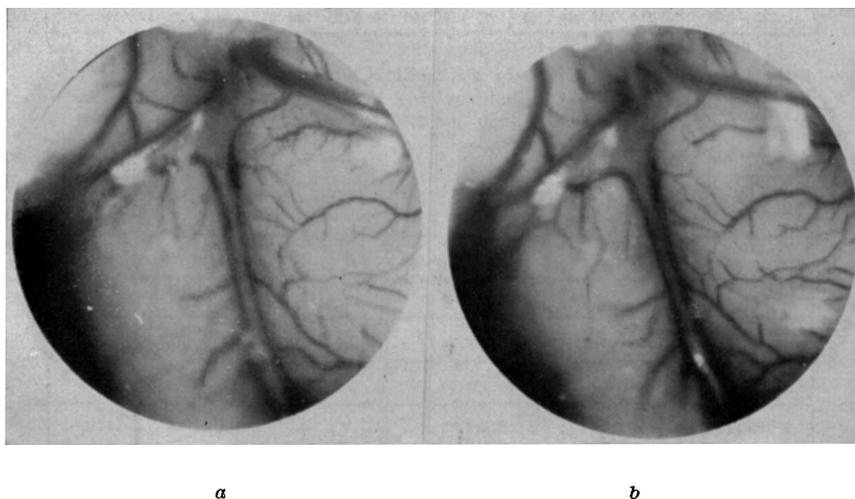


Fig. 4 — Cão macho, 12 kg, anestesiado com pentobarbital sódico (30 mg/kg, por via venosa). Fotografias, ampliadas 2,3 vezes, das artérias da pia-máter, antes (a) e 10 minutos após (b) a injeção venosa de 200 mg de neurocinina, permanecendo inalterada a pressão arterial média.

4º Grupo: Animais que receberam bradicinina — A bradicinina, injetada por via venosa, em doses de 10 a 50 mg, produziu o seu característico efeito hipotensor, com intensidade e duração em relação com a posologia (tabela 6).

Tempo (segundos)	Cão	1	2	3	4
		10 mg	10 mg	50 mg	20 mg
0		140	130	140	120
50 - 100		80	100	60	60
101 - 175		140	130	60	80
176 - 250		140	130	100	90

Tabela 6 — Influência da injeção venosa de bradicinina (10 a 50 mg) sobre a pressão arterial média (mm Hg) de cães.

Tempo (segundos)	Cão 1				Cão 2				Cão 3				Cão 4			
	Arterias															
	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d
0	118	115	108	91	136	131	127	103	118	115	108	93	185	145	138	117
50 - 100	126	124	116	98	145	142	137	110	127	126	118	98	200	158	150	121
101 - 175	118	117	108	94	135	136	127	103	127	125	122	98	244	177	169	142
176 - 250	118	115	108	93	135	131	128	102	124	118	117	92	239	177	168	142

Tabela 7 — Efeito da injeção de bradicinina sobre o diâmetro das artérias piais do cão. Os diâmetros dos vasos estão expressos em unidades do ábaco multiplicadas por 100.

Fonte de variação	Soma dos quadrados	g.l.	Quadrado médio	F
Entre tempos	1.904,40	3	634,80	7,36*
Entre cães	30.283,16	3	10.094,39	5,01*
Entre vasos dentro do cão	24.158,69	12	2.013,22	5,28*
Interação tempo x cão	3.433,29	9	381,48	4,42*
Interação vaso x tempo dentro do cão	3.104,56	36	86,24	
T O T A L	62.884,10	63	998,16	

Tabela 8 — Análise de variância dos dados da tabela 7: * significativa para 5%.

A bradicinina produziu intensa vasodilatação traduzida, no campo microscópico, pelo aumento do diâmetro das artérias piais (tabela 7) e pelo aparecimento de vasos antes não visibilizados (fig. 3). Cumpre ser realçado o fato de que a vasodilatação induzida pela bradicinina foi significativa (tabela 8), mas somente se manifestou na vigência do efeito hipotensor desta substância, em proporção com a magnitude da dose.

Pelo fato de haver diferença significativa entre os valores médios dos diâmetros das artérias piais nos vários tempos para os cães submetidos à ação da bradicinina, o cálculo estatístico baseou-se no método de Tukey³⁹, fazendo-se comparações individuais entre os diâmetros médios das artérias piais nos sucessivos tempos (tabela 9).

Tempo (segundos)	0	50 - 100	101 - 175	176 - 250
Valores médios dos diâmetros dos vasos piais	121,75	131,00	133,88	136,06

Tabela 9 — Comparação entre os valores médios dos diâmetros das artérias piais constantes da tabela 7. As médias significativamente diferentes estão ligadas por traço horizontal.

5º Grupo: Animais que receberam neurocinina — Hipotensão sistêmica pela neurocinina somente foi obtida eventualmente com a injeção venosa de dose acima de 300 mg; doses menores praticamente não alteraram a pressão arterial média (tabela 10).

Tempo (minutos)	Cão			
	1 200 mg	2 300 mg	3 350 mg	4 400 mg
0	160	120	86	100
1 - 3	160	124	80	100
4 - 6	160	120	60	100
7 -15	160	130	60	100

Tabela 10 — Variação da pressão arterial média (mm Hg) nos cães injetados com neurocinina (200 a 400 mg).

O diâmetro das artérias da pia-máter aumentou em todas essas experiências (tabela 11) de modo significativo (tabela 12), independentemente da ocorrência de hipotensão sistêmica. O efeito vasodilatador pial (fig. 4), induzido pela neurocinina, foi de instalação rápida e de duração prolongada, somente esvaecendo 30 a 60 minutos após a injeção da substância.

Desde que foi encontrada diferença significativa entre os valores médios das artérias piais nos vários tempos, para os cães submetidos à ação da neurocinina, fizemos também comparações individuais (tabela 13) entre os diâmetros médios dos vasos piais nos sucessivos tempos, utilizando o método de Tukey⁵³.

Arterias Tempo (minutos)	Cão 1				Cão 2				Cão 3				Cão 4			
	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d
0	126	112	106	100	105	90	80	60	112	110	108	105	182	135	130	85
1 - 3	157	115	142	104	120	105	90	70	115	117	115	111	245	190	140	100
4 - 6	138	118	114	108	125	115	100	78	122	120	119	122	220	160	160	100
7 - 15	140	123	118	110	140	130	120	90	126	125	119	130	220	165	170	110

Tabela 11 — Efeito da injeção de neurocinina sobre o diâmetro das artérias piais do cão. Os diâmetros dos vasos estão expressos em unidades do ábaco multiplicadas por 100.

Fonte de variação	Soma dos quadrados	g.l.	Quadrado médio	F
Entre tempos	5.118,98	3	1.706,33	26,54*
Entre cães	26.852,67	3	8.950,89	3,06
Entre vasos dentro do cão	35.029,94	12	2.919,16	13,62*
Interação tempo x cão	1.928,80	9	214,31	3,33*
Interação vaso x tempo dentro do cão	2.314,97	36	64,30	
T O T A L	71.245,36	63	1.130,88	

Tabela 12 — Análise de variância dos dados da tabela 11: * significativa para 5%.

Tempo (minutos)	0	1-3	4-6	7-15
Valores médios dos diâmetros dos vasos piais	109,13	126,00	126,19	133,5

Tabela 13 — Comparação entre os valores médios dos diâmetros das artérias piais constantes da tabela 11. As médias significativamente diferentes estão ligadas por traço horizontal.

COMENTARIOS

As controvérsias sobre o efeito da vasopressina na rede vascular da pia-máter constituem estímulo para a investigação com esta substância. Em nossas experiências, muito embora este polipeptídeo tivesse provocado variações irregulares da pressão arterial sistêmica, não foi observada modificação significativa do diâmetro das artérias piais. Por isto, parece-nos lícito admitir que a vasopressina não atua eletivamente nestes vasos.

Consideradas as relações de origem e mesmo de estrutura química com a vasopressina, também trabalhamos com a ocitocina: as doses por nós usadas não provocaram variação acentuada da pressão arterial sistêmica; no entanto foi extraordinariamente intenso, e mesmo surpreendente, o seu efeito constritor nas artérias piais, a ponto de haver uma tal isquemia da área exposta no campo microscópico que tornou inviável a mensuração dos diâmetros. Este achado contrasta, de certo modo, com a verificação de Kitchin e col.³⁴, que referem um aumento do fluxo sanguíneo por influência de altas doses de ocitocina, porém em territórios periféricos e na vigência de hipotensão sistêmica. Por outro lado, tendo-se em mente a verificação de Ungar⁶² de que a ocitocina é encontrada no líquido cefalorraqueano, parecem de interesse as nossas observações, no sentido de se estudarem mais profundamente as possíveis correlações entre este hormônio e o mecanismo regulador da vasomotricidade cerebral em condições normais e patológicas.

A par das experiências com a vasopressina e a ocitocina, classicamente consideradas como hormônios, interessamo-nos por outros polipeptídeos também formados no organismo, às vezes em condições especiais, e que exercem marcada ação farmacológica. Dentre êles, a nossa escolha incidiu na bradicinina e na neurocinina.

Carpi e Corrado¹⁰, ao verificarem fugaz aumento do fluxo sanguíneo cerebral após a administração de bradicinina, além de outros efeitos hemodinâmicos, sugeriram que esta substância poderia desempenhar algum papel no mecanismo regulador da vasomotricidade cerebral. No entanto, somente observamos aumento do diâmetro de artérias piais enquanto perdurou o efeito hipotensor da bradicinina, razão pela qual faltam elementos para se admitir que este polipeptídeo atue eletivamente nas artérias da pia-máter. Aliás, Melaragno³⁷ assinalou fato semelhante em relação a outras drogas hipotensoras.

Estudando um polipeptídeo farmacologicamente ativo encontrado no líquido cefalorraqueano, Ramos⁴² o identificou à neurocinina descrita por Chapman e col.¹¹, a qual, embora apresente certas propriedades semelhantes às da bradicinina, desta se diferencia sob vários aspectos. Julgamos, então, oportuno realizar experiências também com a neurocinina. O efeito desta

substância no diâmetro das artérias piais foi bastante nítido, consistindo numa vasodilatação prolongada, independentemente de eventual variação da pressão arterial sistêmica. Nestas condições, confirma-se a distinção entre esses dois polipeptídeos, conforme admite Ramos⁴².

De tudo o que foi exposto, torna-se evidente a importância dos estudos atinentes a substâncias oriundas do próprio organismo e capazes de influenciar funções as mais diversas, pois a tais substâncias provavelmente se deve atribuir uma participação no intrincado mecanismo que regula a hemodinâmica cerebral. Neste sentido, reveste-se de especial interesse a demonstração de que certos polipeptídeos endógenos influem de modo apreciável sobre o diâmetro das artérias piais. Assim, realça-se a necessidade de se considerar a possível atuação de autofármacos no sistema arterial da pia-máter, o qual desempenha importante papel na circulação colateral ao nível do córtex cerebral^{30, 36, 41, 51, 63, 65}.

Considerados esses fatos em conjunto e a suplência vascular que ocorre em fenômenos trombembólicos, é lícito admitir-se que os ajustamentos da hemodinâmica cerebral possam depender, pelo menos em parte, da atuação de substâncias farmacologicamente ativas e que se libertam no próprio organismo em circunstâncias especiais.

RESUMO E CONCLUSÕES

A ação de quatro polipeptídeos farmacologicamente ativos (vasopressina, ocitocina, bradicinina e neurocinina) sobre as artérias piais foi estudada em cães anestesiados com pentobarbital sódico e preparados para o registro da pressão arterial. Utilizou-se a técnica de Forbes²⁵, modificada por Melaragno³⁷ que permite a visibilização, a fotografia e a mensuração dos referidos vasos.

Foram feitas 24 experiências, divididas em 5 grupos de animais: um grupo foi utilizado como controle e os outros quatro para o estudo de cada uma das drogas acima referidas, administradas por via venosa.

Os resultados obtidos conduziram às seguintes conclusões: 1) a vasopressina não determina variação significativa no diâmetro das artérias da pia-máter, embora tenha provocado irregulares variações da pressão arterial; 2) a ocitocina causa intensa vasoconstrição pial, de curta duração, sem contudo modificar essencialmente a pressão arterial sistêmica; 3) a bradicinina aumenta o diâmetro das artérias da pia-máter, em paralelismo com um efeito hipotensor sistêmico; 4) a neurocinina promove dilatação das artérias da pia-máter, independentemente de eventual variação da pressão arterial sistêmica.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

Pharmacologically active polypeptides and diameter of pial arteries. Experimental study with vasopressin, oxytocin, bradykinin and neurokinin.

The action of four pharmacologically active polypeptides (vasopressin, oxytocin, bradykinin and neurokinin) on the pial arteries was studied in dogs anesthetized with pentobarbital sodium, and prepared for recording the arterial pressure and measurement of the diameter of the pial vessels.

Twenty four experiments were carried out by using five groups of animals: one of these groups was used as control and the remaining four were used for studying each drug, administered intravenously.

These experiments led to the following conclusions: 1) vasopressin does not determine significant modification on the diameter of the arteries of the pia mater, although has provoked irregular changes on the arterial pressure; 2) oxytocin determines a marked but evanescent pial vasoconstriction, without modifying the arterial pressure; 3) bradykinin increases the diameter of the pial arteries, this enlargement being related to the duration of its hypotensive effect; 4) neurokinin dilates the arteries of the pia mater, independently of some occasional change of the systemic blood pressure.

REFERÊNCIAS

1. ABEL, J. J. — On the unitary versus the multiple hormone theory of posterior pituitary principles. *J. Pharmacol. & Exper. Therap.*, 40:139-169, 1930.
2. ABEL, J. J. & KUBOTA, S. — On the presence of histamine (β -iminazolyethylamina) in the hypophysis cerebri and other tissues of the body and its occurrence among the hydrolytic decomposition products of proteins. *J. Pharmacol. & Exper. Therap.*, 13: 243-300, 1919.
3. ABEL, J. J. & NAGAYAMA, T. — On the presence of histamine in extracts of the posterior lobe of the pituitary gland and on preliminary experiments with the pressor constituent. *J. Pharmacol. & Exper. Therap.*, 15:347-399, 1920.
4. ABEL, J. J. & ROUILLER, C. A. — Evaluation of the hormone of the infundibulum of the pituitary gland in terms of histamine, with experiments on the action of repeated injections of the hormone on the blood pressure. *J. Pharmacol. & Exper. Therap.*, 20:65-84, 1922-1923.
5. ABEL, J. J.; ROUILLER, A. & GEILING, M. K. Further investigations on the oxytocic-pressor-diuretic principle of the infundibular portion of the pituitary gland. *J. Pharmacol. & Therap.*, 22:289-316, 1923.
6. BOISSONAS, R. A.; GUTTMANN, St. & JAQUENOUD, P. A. — Synthèse de la 1-arginyl-1-propyl-1-propyl-glycyl-1-phénylalanyl-1-séryl-1-propyl-1-phénylalanyl-1-arginine, un nonapeptide présentant les propriétés de la bradykinine. *Helv. Chim. Acta* 43:1349-1358, 1960.
7. BOISSONAS, R. A.; GUTTMANN, St.; JAQUENOUD, P. A.; KONZET, H. & STURMER, E. — Synthesis and biological activity of peptides related to bradykinin. *Experientia* 16:326, 1960.
8. BOUCKAERT, J. J. & JOURDAN, F. — La circulation cérébrale. *J. Physiol. (Paris)* 41:69A-114A, 1949.
9. BOUCKAERT, J. J. & JOURDAN, F. — Réactions pharmacologiques des vaisseaux cérébraux. *Compt. rend. Soc. biol.*, 120:790-792, 1935.
10. CARPI, A. & CORRADO, A. P. — Cerebral vascular action of bradykinin in the dog. *Experientia* 17:326-327, 1961.
11. CHAPMAN, L. F.; RAMOS, A. O.; GOODELL, H.; SILVERMAN, G. & WOLFF, H.

- G. — A humoral agent implicated in vascular headache of migraine type. *A.M.A. Arch. Neurol.*, 3:223-229, 1960. 12. CHAPMAN, L. F.; RAMOS, A. O.; GOODELL & WOLFF, H. G. — Neuro-humoral features of afferents fibers in man. *A.M.A. Arch. Neurol.*, 4:617-650, 1961. 13. CHAPMAN, L. F.; RAMOS, A. O. & WOLFF, H. G. — Properties of a polypeptide formed by incubating cerebrospinal fluid with plasma globulin. *Fed. Proc.*, 20:379, 1961. 14. CORRADO, A. P.; RAMOS, A. O. & ROCHA E SILVA, M. — Possíveis ações centrais da bradicinina. *Ciência e Cultura* 11:166, 1959. 15. COW, D. — Some reactions of surviving arteries. *J. Physiol.*, 42:125-143, 1911. *In* Bouckaert, J. J. & Jourdan, F.^o. 16. DALE, H. H. — On some physiological actions of ergot. *J. Physiol.*, 34:163-206, 1906. *In* Dale, H. H.^o. 17. DALE, H. H. — The action of extracts of the pituitary body. *Biochem. J.*, 4:427-447, 1909. 18. Du VIGNEAUD, V.; LAWLER, H. C. & POPENCE, E. A. — Enzymatic cleavage of glycinamide from vasopressin and a proposed structure for this pressor-antidiuretic hormone of the posterior pituitary. *J. Am. Chem. Soc.*, 75:4880-4881, 1953. 19. Du VIGNEAUD, V.; RESSLER, Ch.; SWAN, J. M.; ROBERTS, C. W.; KATSO-YANNIS, P. G. & GORDON, S. — The synthesis of an octapeptide amide with the hormonal activity of oxytocin. *J. Am. Chem. Soc.*, 75:4879-4880, 1953. 20. Du VIGNEAUD, V.; RESSLER, Ch.; SWAN, J. M.; ROBERTS, C. W. & KATSO-YANNIS, P. G. — The synthesis of oxytocin. *J. Am. Chem. Soc.*, 76:3115-3121, 1954. 21. Du VIGNEAUD, V.; RESSLER, Ch. & TRIPPETT, S. — The sequence of amino acids in oxytocin, with a proposal for the structure of oxytocin. *J. Biol. Chem.*, 205:949-957, 1953. 22. DUDLEY, H. W. — Some observations on the active principles of the pituitary gland. *J. Pharmacol. & Exper. Therap.*, 14:295-312, 1920. 23. DUDLEY, H. W. — On the active principles of the pituitary gland. *J. Pharmacol. & Exper. Therap.*, 21:103-122, 1923. 24. FLOREY, H. W. — Microscopical observations on the circulation of the blood in the cerebral cortex. *Brain* 48:43-64, 1925. 25. FORBES, H. S. — The cerebral circulation. I. Observation and measurement of pial vessels. *Arch. Neurol. & Psychiat.*, 19:751-761, 1928. 26. FORBES, H. S.; FINLEY, K. H. & NASON, G. L. — Cerebral circulation: action of epinephrine on pial vessels; action of pituitary on pial vessels; vasomotor response in the pia and in the skin. *Arch. Neurol. & Psychiat.*, 30:957-979, 1933. 27. GADDUM, J. H. — Polypeptides which Stimulate Plain Muscle. E. & S. Livingstone, Edinburgh, 1953. 28. GOMES, F. P. — Péptidos biologicamente ativos: contribuição para o seu estudo. Tese de doutoramento. Universidade de Lisboa, 1958. 29. GRUBER, C. M. & ROBERTS, S. J. — The effect of adrenalin and other vasomotor drugs upon the cerebral blood vessels. *J. Pharmacol. & Exper. Therap.*, 27:335-348, 1926. 30. GUIOT, G. & Le BESNERAIS, Y. — Oblitération de l'artère cérébrale moyenne sans séquelles neurologiques. Remarques sur les facteurs influençant l'efficacité des anastomoses périphériques. *Neurochirurgie* 1:286-291, 31. HOWE, H. S. & MCKINLEY, E. — Cerebral circulation. *Arch. Neurol. & Psychiat.*, 18:81-86, 1927. 32. HOWELL, W. H. — The physiological effects of extracts of the hypophysis cerebri and infundibular body. *J. Exper. Med.*, 3:245, 1898. *In* Graybiel, A. & Glendy, E. — Circulatory effects following the intravenous administration of pitressin in normal persons and in patients with hypertension and angina pectoris. *Am. Heart J.*, 21:481-489, 1941. 33. KAMM, O.; ALDRICH, T. B.; GROTE, I. W.; ROWE, L. W. & BUGBEE, E. P. — The active principles of the posterior lobe of the pituitary gland: demonstration of the presence of two active principles; separation of the two principles and their concentration in the form of potent solid preparations. *J. Am. Chem. Soc.*, 50:573-601, 1928. 34. KITCHIN, A. H.; LLOYD, S. M. & PICKFORD, M. — Some actions of oxytocin on the cardiovascular system in man. *Clin. Sc.*, 18:399-407, 1959. 35. LEY, J.; FONTAINE-VERWY, B. C. de la & DEMOOR, J. — A propos de certains réactions des vaisseaux cérébraux du lapin dans leurs rapports avec les conditions humorales et avec leur innervation sympathique. *Compt. rend. Soc. biol.*, 101:478-480, 1929. 36. MACCHI,

- G. & RABAIOTTI, A. — Correlazione clinico-arteriografiche nelle sindrome obstruttive dell'arteria cerebrale media con particolare riferimento al circolo collaterale meningeo. *Sist. nerv.*, 7:165-187, 1955. 37. MELARAGNO Filho, R. — Farmacologia da circulação cerebral. Tese para concurso à Livre-Docência de Clínica Neurológica. Fac. Med. Univ. São Paulo, 1954. 38. MIWA, M.; OSAKI, M. & SHIROSHITA, R. — Pharmakologie der Hirngefäße; die Wirkung des Pituitrins; die Wirkung des Strophanthins, Antipyrins und der Salizylsäure. *Arch. f. exp. Path. u. Pharmacol.*, 128:211-224, 1928. *In* Bouckaert, J. J. & Jourdan, F.^o. 39. OLIVER, G. & SCHÄFER, E. A. — On the physiological action of extracts of pituitary body and certain other glandular organs. *J. Physiol.*, 18:277-279, 1895. *In* Sawyer, W. H. — Neurohypophysial hormones. *Pharmacol. Rev.*, 13:225-277, 1961. 40. OSTFELD, A. M.; CHAPMAN, L. F.; GOODELL, H. & WOLFF, H. G. — Studies in headache; summary of evidence concerning a noxious agent active locally during migraine headache. *Psychosom. Med.*, 19:199-208, 1957. 41. RALSTON, B.; RASMUSSEN, T. & KENNEDY, T. — Occlusion of the middle cerebral artery under normotension and anemically induced hypotension. *J. Neurosurg.*, 12:26-33, 1955. 42. RAMOS, A. O. — Presença ou formação de substância farmacologicamente ativa no líquido cefalorraquidiano humano. Tese de Livre-Docência. Fac. Med. Univ. São Paulo, 1961. 43. RAPHAEL, T. & STANTON, J. M. — The action of certain drugs on brain circulation in man. *Arch. Neurol. & Psychiat.*, 2: 389-392, 1919. 44. ROBERTS, F. — Action of vaso-constrictor substances on arteries of brain. *J. Physiol.*, 57:405-414, 1923. 45. ROCHA E SILVA, M. & BERALDO, W. T. — Um novo princípio autofarmacológico (Bradicinina) liberado do plasma sob ação de venenos de cobra e da tripsina. *Ciência e Cultura* 1:32-35, 1949. 46. ROCHA E SILVA, M.; BERALDO, W. T. & ROSENFELD, G. — Bradykinin, a hypotensive and smooth muscle stimulating factor released from plasma globulin by snake venom and trypsin. *Am. J. Physiol.*, 156:261-273, 1949. 47. ROCHA E SILVA, M.; CORRADO, A. P. & RAMOS, A. P. — Potentiation of the vasodilator effects of bradykinin by sympatholytic agents and by reserpine. XXI Congresso Internacional de Ciências Fisiológicas. Resumen de las comunicaciones. pp. 232-233, 1959. 48. ROCHA E SILVA, M.; CORRADO, A. P. & RAMOS, A. O. — Potentiation of duration of the vasodilator effect of bradykinin by sympatholytic drugs and by reserpine. *J. Pharmacol. & Exper. Therap.*, 128:217-226, 1960. 49. ROSEGAY, H. & WELCH, K. — Peripheral collateral circulation between cerebral arteries: a demonstration by angiography of the meningeal arterial anastomoses. *J. Neurosurg.*, 11:363-377, 1951. 50. ROSENFELD, M. — The native hormones of the posterior pituitary gland: the pressor and oxytocic principles. *Bull. John Hopkins Hosp.*, 66:398-403, 1940. 51. ROSOMOFF, H. L. — Hypothermia and cerebral vascular lesions. I. Experimental interruption of the middle cerebral artery during hypothermia. *J. Neurosurg.*, 13:244-255, 1956. 52. SCHACHERTER, M. — Polypeptides which Affect Smooth Muscle and Blood Vessels. Pergamon Press, New York, 1960. 53. SCHÄFER, E. A. & VINCENT, S. — The physiological effects of extracts of the pituitary body. *J. Physiol.*, 25:87-97, 1899. *In* Gaddum, J. H.^o. 54. SCHMIDT, C. F. — The intrinsic regulation of the circulation in the hypothalamus of the cat. *Am. J. Physiol.*, 110:137-152, 1934-1935. 55. SCHMIDT, C. F. — The intrinsic regulation of the circulation in the parietal cortex of the cat. *Am. J. Physiol.*, 114:572-585, 1935-1936. 56. SCHRETZENMAYR, A. — Tonusreaktionen der Hirngefäße. *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.*, 174:151-159, 1934. 57. STEHLE, R. L. — A new method for separating pressor and oxytocic substances from the posterior lobe of the pituitary gland. *J. Biol. Chem.*, 102:573-590, 1953. 58. STEHLE, R. L. & FRASER, A. M. — The purification of the pressor and oxytocic hormones of the pituitary gland and some observations on the chemistry of the products. *J. Pharmacol. & Exper. Therap.*, 55:136-151, 1935. 59. TUKEY, J. W. — The problem of the multiple comparisons. Princeton University,

Princeton, 1953. In Steel, R. G. D. & Torrie, J. H. — Principles and Procedures in Statistics. McGraw-Hill, New York, 1960. 60. TUPPY, H. — The amino-acid sequence of oxytocin. Biochem. Biophys. Acta 11:449-450, 1953. 61. TURNER, R. A.; PIERCE, J. G. & Du VIGNEAUD, V. — The purification and the amino acid content of vasopressin preparations. J. Biol. Chem., 191:21-28, 1951. 62. UNGAR, G. — La détermination de l'action oxytocique du liquide céphalorachidien comme moyen d'étude de la sécrétion rétropituitaire. Ann. Physiol. et Physicochim. Biol., 15:938-941, 1939. 63. Van der ECKEN, H. M. & ADAMS, R. — The anatomy and functional significance of the meningeal arterial anastomoses of the human brain. J. Neuropath. & Exper. Neurol., 12:132-157, 1953. 64. Van DYKE, H.; CHOW, B. F.; GREER, R. O. & ROTHEN, A. — The isolation of a protein from the pars neuralis of the ox pituitary with constant oxytocic pressor and diuresis-inhibiting activities. J. Pharmacol. & Exper. Therap., 74:190-209, 1942. 65. WELCH, K.; STEPHENS, J.; HUBER, W. & INGERSOLL, C. — The collateral circulation following middle cerebral branch occlusion. J. Neurosurg., 12:361-368, 1955. 66. WOLFF, H. G. — The cerebral circulation: the action of the extract of the posterior lobe of the pituitary gland. Arch. Neurol. & Psychiat., 22:691-694, 1929. 67. WOLFF, H. G. — Cefaleas y otros dolores de la cabeza. Editorial Beta, Buenos Aires, 1953. 68. WOLFF, H. G.; TUNIS, M. M. & GOODELL, H. — Studies on headache: evidence of tissue damages and changes in pain sensitivity in subjects with vascular headache of the migraine type. A.M.A. Int. Med., 92:478-484, 1953.

Clinica Neurológica — Hospital das Clínicas da Fac. Med. da Univ. de São Paulo — Caixa Postal 3461 — São Paulo, SP — Brasil.