

RODRIGO CECANHO

Este exemplar foi devidamente corrigido,  
de acordo com a Resolução CCPG-036/83

CPC, 02/04/2002

Assinatura do Orientador

**PARTICIPAÇÃO DOS RECEPTORES  $V_1$  E DA ÁREA POSTREMA NOS  
EFEITOS DA FELIPRESSINA SOBRE O SISTEMA CARDIOVASCULAR**

Tese apresentada à Faculdade de  
Odontologia de Piracicaba, da  
Universidade Estadual de Campinas, para  
a obtenção do grau de Doutor em  
Odontologia, Área de Farmacologia,  
Anestesiologia e Terapêutica da  
FOP/UNICAMP.

PIRACICABA  
2002

UNICAMP

RODRIGO CECANHO

**PARTICIPAÇÃO DOS RECEPTORES  $V_1$  E DA ÁREA POSTREMA NOS  
EFEITOS DA FELIPRESSINA SOBRE O SISTEMA CARDIOVASCULAR**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, para a obtenção do grau de Doutor em Odontologia, Área de Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica da FOP/UNICAMP.

Este exemplar foi devidamente corrigido,  
de acordo com a Resolução COPS-036/83  
CPS, 09/04/2002  
Assinatura do Orientador

Orientador: José Ranali

Co-orientador: Laurival Antonio De Lucca Jr

Banca examinadora:

Eduardo Dias de Andrade

Maria Cristina Volpato

Antonio Renzi

Antonio de Melo Cabral

PIRACICABA  
2002

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL  
SEÇÃO CIRCULANTE

UNIDADE BO  
Nº CHAMADA T/UNICAMP  
C322p  
V \_\_\_\_\_ EX \_\_\_\_\_  
TOMBO BC/ 49337  
PROC 16-83710  
C \_\_\_\_\_ DX \_\_\_\_\_  
PREÇO R\$ 11,00  
DATA 04/06/02  
Nº CPD \_\_\_\_\_

CM00167974-9

BIB ID 242089

#### Ficha Catalográfica

C322p      Cecanho, Rodrigo.  
Participação dos receptores V<sub>1</sub> e da área postrema nos efeitos da felipressina sobre o sistema cardiovascular. / Rodrigo Cecanho. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2002.  
vi, 70f. : il.

Orientadores : Prof. Dr. José Ranali, Prof. Dr. Laurival Antonio De Lucca Jr.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Anestesia local. 2. Pressão arterial. 3. Vasopressina. I. Ranali, José. II. De Lucca Jr., Laurival Antonio. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. IV. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marilene Girello CRB/8-6159, da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP.



FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA  
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de DOUTORADO, em sessão pública realizada em 05 de Fevereiro de 2002, considerou o candidato RODRIGO CECANHO aprovado.

1. Prof. Dr. JOSE RANALI

2. Prof. Dr. ANTONIO RENZI

3. Prof. Dr. ANTONIO DE MELO CABRAL

4. Profa. Dra. MARIA CRISTINA VOLPATO

5. Prof. Dr. EDUARDO DIAS DE ANDRADE

0224530

*Dedico este trabalho aos meus pais Nivaldo e Rosa que tanto por mim fizeram e ainda fazem.*

## AGRADECIMENTOS

À Deus, agradeço, por ter acompanhado meus passos e iluminado a minha mente.

À FOP e à UNICAMP pelo abrigo .

Ao reitor Hermano de Medeiros Ferreira Tavares.

Ao diretor Antonio Wilson Sallum.

À banca examinadora.

Ao meu co-orientador e ex-orientador Laurival, pelo ensino da pesquisa.

À coordenadora e ao vice coordenador deste curso: Altair e Pedro.

À pessoa José Ranali pela ideologia e ao orientador José Ranali pela dedicação.

À meus pais, que até hoje me mostram o caminho a ser seguido e que sempre me conduziram por ele, quando ainda não podia fazê-lo por minhas próprias pernas.

Aquelas pessoas que tão cedo cruzaram meu caminho: à Ariane e à Érica pela ajuda em meus trabalhos, ao Cassiano pela irreverência, à Carol pelo amor.

Ao prof. Eduardo pela arte de suas aulas. Aos profs. Maria Cristina , Renzi, Wanderlei e Thales pela ajuda.

Ao prof. Francisco por toda ajuda, dedicação, pela amizade e simplicidade, Sua pessoa nunca será esquecida.

Aos colegas Aline, Simone, Marcelo Junqueira, Waldir, Fernanda e Bete.

Ao amigo Rogério, pelas aulas de basquete e pela tequila, à Ynara pelas aventuras em Piracicaba, à Karla.

Às amigas Juliana e à Flávia, pelos momentos felizes e divertidos, pelas surpresas, pelas risadas, pela cumplicidade, pelas batidas. De vocês levo muitas coisas boas, espero também ter deixado um pouco. Que nunca finde esta amizade.

Ao amigo Fábio Perazo.

À Eliza, ao Zé, à Eliane, ao Wanderley, à Érica, à Marilene e à Eloisa da biblioteca e a todos aqueles que de forma direta ou indireta colaboraram para este trabalho.

Obrigado.

## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	1
RESUMO	4
ABSTRACT	5
1 INTRODUÇÃO	6
2 REVISÃO DA LITERATURA	8
3 PROPOSIÇÃO	16
4 MATERIAL E MÉTODOS	17
5 RESULTADOS	31
6 DISCUSSÃO	50
7 CONCLUSÃO	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
BIBLIOGRAFIA CONSULTADA	69

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

4V - quarto ventrículo

ACTH - hormônio adrenocorticotrófico

ADR - adrenalina

AL - anestésico(s) local(is)

AP - área postrema

APS - remoção fictícia da área postrema

APX - remoção da área postrema

AVP - vasopressina

bpm - batimentos por minuto

CEEA - Comissão de Ética em Experimentação Animal

CEMIB - Centro de Bioterismo

Dp - desvio padrão

*et al.* – et alli (e outros)

FC - frequência cardíaca

FEL - felipressina

FIG. - figura(s)

g - grama(s)

GRAF. - Gráfico(s)

h - hora(s)

IB - Instituto de Biociências

ICV - intracerebroventricular



IM - intramuscular

IP - intraperitoneal

IV - intravascular

kg - quilograma(s)

mg - miligrama(s)

mL - mililitros

mm - milímetro(s)

mmHg - milímetros de mercúrio

n - número

NaCl - Cloreto de sódio

ng - nanogramas

NTS - núcleo do trato solitário

PA - pressão arterial

PAM – pressão arterial média

PB – potência do barorreflexo

PE - polietileno

PM - peso molecular

SNC - sistema nervoso central

Sol. - solução

UI - unidade(s) internacional(is)

UNICAMP - Universidade Estadual de Campinas

$\beta$  - Beta

$\beta$ -MER -  $\beta$ Mercapto- $\beta$ ,  $\beta$ -ácido ciclopentametenopropiônico, 2-O-Metil-

Tyr arginina

$\Delta$  - delta

$\mu$ g - microgramas

$\mu$ l - microlitro

+ - mais

- - menos

$\pm$  - mais ou menos

: - divisão

= - igual

$^{\circ}$ C - Graus Célsius

$^{\circ}$  - marca registrada

/ - por

& - e

% - por cento

< - menor

## RESUMO

A vasopressina eleva a pressão arterial através da ativação de receptores  $V_1$  vasculares e potencializa o barorreflexo através de receptores  $V_1$  da área postrema (AP). Sugere-se que a felipressina, análogo da vasopressina, promova estes efeitos, utilizando os mesmos mecanismos. O objetivo deste trabalho foi demonstrar a importância dos receptores  $V_1$  periféricos, centrais e da AP nos efeitos cardiovasculares promovidos pela felipressina. Para tal mediu-se a pressão arterial média (PAM), a frequência cardíaca (FC) e potência do barorreflexo (PB) em bpm/mmHg em ratos após injeção intravascular (IV) de vasopressina, felipressina ou adrenalina, que receberam os seguintes tratamentos: 1) injeção IV de solução fisiológica ou de antagonista  $V_1$ , ( $V_{1x}$ ); 2) injeção intracerebroventricular (ICV) de  $V_{1x}$ ; e 3) remoção fictícia (APS) ou real (APX) da AP. O peso diário e o hematócrito foram quantificados. ANOVA e teste Student Newman Keulls, com  $P < 0,05$  foram utilizados. A felipressina e a vasopressina promoveram aumento na PAM, bradicardia e potencialização do barorreflexo. A adrenalina induziu maior aumento de PAM, mesma bradicardia e PB menor que as outras 2 drogas. O  $V_{1x}$  IV inibiu os efeitos da felipressina e da vasopressina. O  $V_{1x}$  ICV e a APX potenciaram a hipertensão induzida pela felipressina e vasopressina e levaram a PB dos animais tratados com felipressina e vasopressina para valores semelhantes a PB dos animais tratados com adrenalina. Concluiu-se que em semelhança à vasopressina, a felipressina aumenta a PAM através de receptores  $V_1$  vasculares e potencializa o barorreflexo através de receptores  $V_1$  e da AP.

## ABSTRACT

### ROLE OF V1 RECEPTORS AND AREA POSTREMA IN CARDIOVASCULAR EFFECTS OF FELYPRESSIN

Vasopressin induces an increase in arterial pressure due to an activation of the vascular V1 receptors. Also, it enhances the baroreflex gain when binding to area postrema (AP) V1 receptors. It is suggested that felypressin, an analog of vasopressin, induces the same effects by means of the same mechanisms. The aim was to verify the role of both the peripheral and central V1 receptors and the AP in the cardiovascular effects induced by felypressin. Mean arterial pressure (MAP), heart rate (HR) and baroreflex gain (BG) in bpm/mmHg were measured in rats receiving an intravascular (IV) injection of vasopressin, felypressin and epinephrine in 3 groups: 1) IV injection of 0.9% saline or V1 antagonist (V1x); 2) intracerebroventricular (ICV) injection V1x; and 3) AP surgical removal (APX) or sham surgery. Hematocrit and daily weight were quantified. ANOVA and Student Newman Keulls test at a  $p < 0,05$  significance value were used. Felypressin and vasopressin induced hypertensive and bradycardiac effects and high baroreflex gain, different from epinephrine, which induced higher hypertension, similar bradycardiac, and less gain of baroreflex. IV injections of V1x inhibited felypressin and vasopressin effects. ICV injection of V1x and APX induced higher hypertension and decreased BG in felypressin and vasopressin treated rats, leading BG to similar values of epinephrine animals. Felypressin, like vasopressin, depends on V1 receptors to induce its cardiovascular effects. Also, like vasopressin, felypressin depends on central V1 and area postrema to enhance the baroreflex gain.

## 1 INTRODUÇÃO

A anestesia local necessita, em algumas situações, da associação do sal anestésico com um vasoconstritor, este último utilizado para diminuir a velocidade de absorção do primeiro. Em 1905, as aminas simpatomiméticas começaram a ser utilizadas como vasoconstritores para este fim. A felipressina, um vasoconstritor não simpatomimético, sintetizada na década de 1960, vem sendo utilizada, desde então, em associação com o cloridrato de prilocaína.

A felipressina possui características químicas e clínicas bastante diferentes das aminas simpatomiméticas. É análoga da vasopressina, produz vasoconstrição predominantemente venosa, menor elevação da pressão arterial e vem sendo utilizada quando há contra-indicação às aminas simpatomiméticas. Contudo, ainda não se tem dados suficientes sobre o mecanismo que a felipressina utiliza para induzir esta vasoconstrição e, também, sobre seus efeitos sistêmicos.

A vasopressina, ao contrário da felipressina, vem sendo muito estudada, já tendo sido demonstrado o seu importante efeito vasoconstritor por ação em receptores  $V_1$  vasculares e a potencialização do barorreflexo, por ação nos receptores  $V_1$  localizados na área postrema (AP). Este último efeito ocorre mesmo após a injeção periférica da vasopressina, uma vez que a área postrema não é protegida pela barreira hematoencefálica sendo, por isso, atingida por substâncias circulantes no sangue. Esta potencialização do barorreflexo é

importante, pois impede elevados aumentos na pressão arterial (PA) decorrentes do seu próprio efeito vasoconstritor periférico.

Sua semelhança molecular com a vasopressina, sugere que a felipressina produza vasoconstrição venosa por ativação de receptores  $V_1$  vasculares e que também possa se ligar a estes mesmos receptores na AP potencializando o barorreflexo, da mesma forma que a vasopressina o faz. É conveniente, então, verificar a importância dos receptores  $V_1$  periféricos, centrais e também da área postrema, sobre os efeitos cardiovasculares da felipressina, comparando-os com os da vasopressina. Assim, mais conhecimento a respeito dos efeitos sistêmicos da felipressina, bem como o mecanismo pelo qual estes efeitos são promovidos, pode contribuir para que o seu emprego clínico seja mais seguro.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

Todos os anestésicos locais (AL) atualmente conhecidos, com exceção da cocaína, promovem vasodilatação. Esta vasodilatação leva a um aumento na perfusão sangüínea para o local da injeção, o que aumenta a absorção do AL, ocorrendo menor tempo de anestesia e maior concentração plasmática. Esta última pode levar à reação tóxica por superdosagem. A maior perfusão sangüínea no local da injeção pode, também, promover um maior sangramento em procedimentos cirúrgicos (NEIDLE & YAGIELA, 1991; MALAMED, 1997).

De forma a se reduzir esse efeito vasodilatador, associou-se às soluções anestésicas, agentes vasoconstritores. A adrenalina foi a primeira a ser utilizada com tal propósito quando BRAUN, em 1905 (citado por NEIDLE & YAGIELA, 1991), a combinou com a procaína para a realização de uma anestesia odontológica. A partir de então outras aminas simpatomiméticas foram associadas às soluções de AL com a mesma finalidade, entre elas a noradrenalina, a levonordefrina, e a fenilefrina (MALAMED, 1997).

Devido a essa propriedade vasoconstritora, esses agentes fizeram com que as soluções anestésicas locais promovessem maior tempo de ação (KEESLING & HINDS, 1963; GANGAROSA & HALIK, 1967), diminuíssem a toxicidade devido ao retardo da absorção (BRAID & SCOT, 1965) e diminuíssem o sangramento (MEYER & ALLEN, 1968; SVEEN, 1979). Por outro lado, essas substâncias podem causar efeitos indesejáveis quando usadas em altas doses, na

ocorrência de injeção intravascular accidental ou quando administradas em pacientes que requerem cuidados especiais, tais como: cardiopatas, gestantes, crianças, idosos e diabéticos (KEESLING & HINDS, 1963; GANGAROSA & HALIK, 1967; CARDWELL & CAWSON, 1969; SIEGEL & VISTNES, 1972; CASSIDY *et al.*, 1986; RANALI *et al.*, 1996; MALAMED, 1997).

Em 1961, outro grupo de agentes vasoconstritores começou a ser associado aos AL. São substâncias integrantes deste grupo a felipressina e a ornipressina, ambas compostos sintéticos. Atualmente, apenas a felipressina está disponível comercialmente. Esta droga vasoconstritora é um nonapeptídeo análogo da vasopressina, diferindo desta pela substituição nas posições 2 e 8 da cadeia pelos aminoácidos fenilalanina e lisina (FIG. 1). É encontrada em combinação com o cloridrato de prilocaína (BERDE *et al.*, 1961, GUHL, 1961).

Apesar do fato de altas doses de felipressina poder causar aumento da PA, diminuição do volume de ejeção, da frequência e do trabalho cardíacos, diminuição do fluxo sanguíneo coronário, carotídeo e femoral e, diminuição do fluxo renal e da excreção de água e eletrólitos (RIBOT *et al.*, 1963; LONGO *et al.*, 1964; MAXWELL, 1965), as doses de felipressina usadas em anestesia local não produzem aumento significativo da PA, da frequência e ritmo cardíacos, ou outras alterações importantes (AELLIG, 1970; LILIENTHAL, 1976). Vários autores sugerem vantagens da felipressina sobre as aminas simpatomiméticas por apresentar menor toxicidade que estas, ausência de ação sobre receptores adrenérgicos e vasoconstrição predominante no leito venoso, não provocando



hipóxia tecidual (HIROTA *et al.*, 1986; NORDENRAM & DANIELSSON, 1990), como geralmente observado com o uso das aminas simpatomiméticas (ALTURA *et al.*, 1965; LIGHT *et al.*, 1965; WATERSON, 1974; LILIENTHAL, 1976; OLGART & GAZELIUS, 1977; NIESEL & KAISER, 1991).

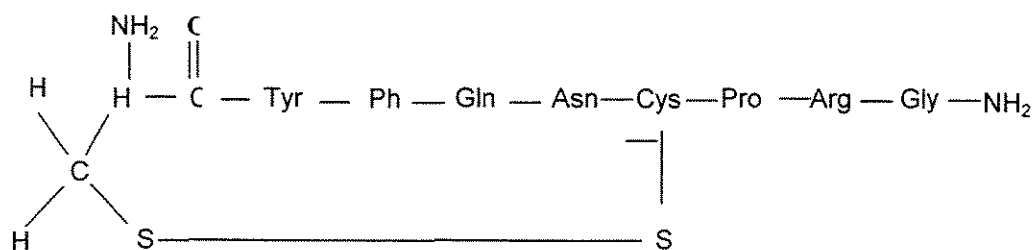
Conhecida comercialmente como Octapressin<sup>®</sup>, a felipressina é utilizada por 82% dos cirurgiões dentistas de Piracicaba-SP (Ramacciato, *et al.* 2001), e este dado deve ser semelhante para o restante do país. É ainda utilizada em outros países da Europa, demais países da América Latina e Canadá, e em outras especialidades médicas: cirurgia plástica (MILLAY *et al.*, 1991), ginecologia (HOWELLS *et al.*, 2000) e oftalmologia (COELHO *et al.*, 1993, BRAHMA *et al.*, 1994, BEDI & CARABINE, 1999). Existem, disponíveis atualmente 5 marcas comerciais de anestésicos locais contendo felipressina no Brasil. Contudo, apesar desta alta comercialização, não se sabe com detalhes qual o mecanismo de ação pelo qual a felipressina induz alterações cardiovasculares e quais os efeitos sistêmicos promovidos por ela.

As atividades farmacológicas da felipressina foram estudadas mais intensamente nas décadas de 60 e 70, porém vários aspectos ainda merecem ser pesquisados. Levando-se em consideração que a felipressina tem propriedades semelhantes aos da vasopressina no que diz respeito a seus efeitos vasculares (BERDE *et al.*, 1961, GUHL, 1961), a revisão de alguns dos efeitos da vasopressina sobre a regulação da PA se justifica, para que se possa estabelecer

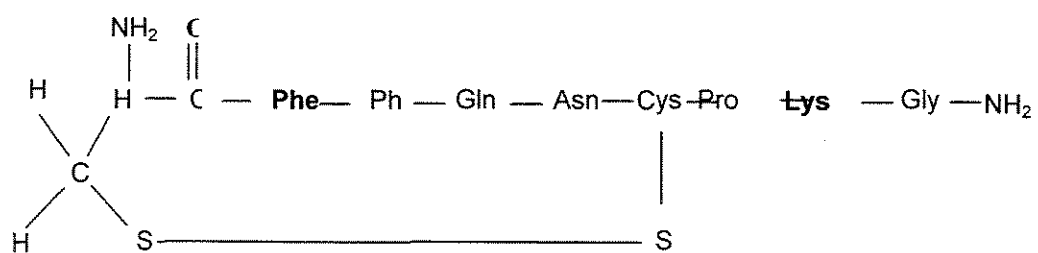
os parâmetros dos possíveis efeitos da felipressina sobre o sistema cardiovascular.

A vasopressina é um nonapeptídeo cuja estrutura molecular é mostrada na FIG. 1A (Du-VIGNEAUD, 1954). Este hormônio neuro-hipofisário produzido nos neurônios do núcleo supra-óptico e paraventricular, é liberado na circulação pela hipófise posterior, tendo marcada importância para a vasoconstrição, liberação de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e antidiurese. Estes efeitos são mediados pelo seu respectivo acoplamento aos receptores V1a, V1b e V2 (JARD *et al.*, 1986; JACKSON, 1996). Considerada um dos mais potentes vasoconstritores (BERDE *et al.*, 1961; GUHL, 1961 JACKSON, 1996), a vasopressina produz vasoconstrição na pele, musculatura esquelética, gordura, pâncreas, glândula tireóide, trato gastrointestinal, cérebro e coronárias (LIARD *et al.*, 1982). Contudo, apesar de seu efeito vasoconstritor, as concentrações necessárias para que ocorra aumento na pressão arterial são bastante superiores às necessárias para que produza seu efeito antidiurético máximo (COWLEY *et al.*, 1974).

Além de controlar as funções cardiovasculares através de sua ligação a receptores no próprio sistema cardiovascular, a vasopressina também pode fazê-lo através de sua ligação a receptores no sistema nervoso central (SNC). Essa regulação pode desempenhar papel importante na manutenção da PA, pois através dela a vasopressina aumenta o ganho do barorreflexo, impedindo, assim,



A



B

FIGURA 1 - A. Estrutura molecular da Vasopressina.

B. Estrutura molecular da Felipressina (2-fenilalanina, 8 lisina - vasopressina).

uma grande elevação da PA (HASSER *et al.*, 1997). Este controle é farmacologicamente importante, uma vez que ocorre através de sua ação AP, um órgão desprovido de barreira hematoencefálica, e a que a maioria das substâncias circulantes tem acesso (HASSER *et al.*, 1997; STEBBINS *et al.*, 1998).

O barorreflexo é um mecanismo rápido de controle da PA, que diminui o tônus simpático para o coração e vasos à medida que ocorre aumento da PA, levando à bradicardia e à vasodilatação (GYTON, 1997). Esta regulação ocorre pela distensão dos barorreceptores do átrio e ventrículo esquerdos cardíacos, das veias pulmonares, do seio carotídeo e da aorta, que passam a enviar com maior frequência, impulsos para o núcleo do trato solitário (NTS) através dos nervos vago e glossofaríngeo. Através de neurônios excitatórios, estes sinais são transmitidos para um grupo de células noradrenérgicas localizadas no bulbo ventrolateral caudal de onde partem neurônios inibitórios para o bulbo ventrolateral rostral, local de eferência dos neurônios simpáticos para os vasos e coração (GYTON, 1997; HASSER *et al.*, 1997). Desta forma, toda vez que ocorre um aumento na PA, o barorreflexo inibe a atividade simpática, modulando este aumento.

A AP é um órgão circunventricular localizado no tronco cerebral, na superfície dorsomedial do bulbo e caudalmente ao 4<sup>o</sup> ventrículo (WISLOCKI & PUTNAM, 1920). Quando estimulado por corrente elétrica com baixa frequência,

causa diminuição da frequência cardíaca (FC) e da PA (FERGUSON & MARCUS, 1988). Estes efeitos ocorrem provavelmente devido a sua relação com o NTS, para o qual projeta um grupo de células que converge com as aferências do barorreflexo (COTTLE, 1964; MOREST, 1967; WALLACH & LOEWY, 1980).

Após a estimulação de células da AP, são produzidos potenciais de ação no NTS (HAY & BISHOP, 1991a) provavelmente por ativação de receptores alfa-2 deste núcleo (UNDESSER *et al.*, 1986; HASSER & BISHOP, 1993; HASSER *et al.*, 1997). Esta estimulação promove uma facilitação nos sinais provenientes das aferências do barorreflexo (HAY e BISHOP, 1991b; HASSER *et al.*, 1997). Segundo HASSER *et al.*, 1997, o mecanismo de facilitação acima pode explicar o aumento no ganho do barorreflexo quando há estimulação da AP (UNDESSER *et al.*, 1985; HASSER & BISHOP, 1990).

A microinjeção de vasopressina na AP também causa aumento da atividade das células do NTS (CAI *et al.*, 1994) por estimulação de receptores V1 desta área (ELLIOTT *et al.*, 1984; PHILLIPS *et al.*, 1988; BARAZANJI & CORNISH, 1989; LUK *et al.*, 1993; HASSER *et al.*, 1997) e potencializa o efeito do barorreflexo em inibir a atividade das eferências simpáticas (HASSER & BISHOP, 1990; e ZHANG *et al.*, 1992).

Contudo, este efeito potencializador não ocorre após lesão da AP, microinjeção de antagonista V<sub>1</sub> na mesma (APPLEGATE *et al.*, 1987; DI CARLO, *et al.*, 1989; HASSER & BISHOP, 1990; HASSER, *et al.*, 1997) ou após

desnervação do seio carotídeo e vagotomia (SHARABI *et al.*, 1985; UNDESSER *et al.*, 1985; STEBBINS *et al.*, 1998), mostrando a dependência da AP, dos receptores  $V_1$  e da integridade dos elementos periféricos do baroreflexo para que ocorra a potencialização.

Estes fatos mostram que apesar de ser um agente vasoconstritor quando em contato direto com o vaso, a vasopressina através de sua ação central apresenta efeito modulador sobre o aumento da PA, por aumento do ganho do barorreflexo através de sua ação em receptores  $V_1$  da AP.

Embora seja um análogo da vasopressina e, segundo alguns autores, mantenha dela os efeitos vasculares e pouco (BERDE *et al.*, 1961) ou nenhum (GUHL, 1961) efeito renal e ocitócito, não está suficientemente esclarecido que a felipressina, de maneira e intensidade semelhantes à vasopressina, apresente efeitos sobre o sistema cardiovascular dependentes de receptores  $V_1$  e que aumente o ganho do barorreflexo, de forma dependente dos receptores  $V_1$  centrais e da AP.

Assim sendo, este trabalho se propõe a mostrar que a felipressina possa apresentar um efeito modulador da PA, o qual seria de interesse farmacológico e clínico, uma vez que demonstraria uma atividade ainda não totalmente clara desta droga e que poderia tornar mais seguro o seu emprego clínico.

### 3 PROPOSIÇÃO

Este trabalho tem por objetivo verificar se a felipressina:

1 – depende dos receptores V1 para induzir alterações na pressão arterial média e na frequência cardíaca.

2 - potencializa o barorreflexo através dos receptores V1 centrais e da área postrema.

3 - induz estas alterações de maneira semelhante à vasopressina.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Animais

Todos os procedimentos experimentais deste projeto foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEAA - IB - UNICAMP), protocolo número 054-1.

Foram utilizados 101 ratos machos Wistar *spf* \*\*\*\*, adultos, com peso entre 250 e 320 gramas, procedentes do Centro de Bioterismo (CEMIB) da UNICAMP, que permaneceram à temperatura de  $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , com ciclo claro-escuro definido por luzes acesas das 07:00 às 19:00 h e tiveram acesso livre à água e ração balanceada.

### 4.2 Drogas utilizadas

As drogas utilizadas, bem como, seu peso molecular, nome do fabricante e concentração das soluções preparadas estão citados a seguir.

Vasopressina, peso molecular (PM) 1084,2 - *Sigma*, 250 ng/mL.

Felipressina, PM 1040,19 - *Polypeptide*, 240ng/mL.

Adrenalina, PM 183,2 - *Sigma*, 2  $\mu\text{g/mL}$ .



1- $\beta$ -Mercapto- $\beta$ ,  $\beta$ -ácido ciclopentametenopropiônico, 2-O-Metil-Tyr arginina vasopressina ( $\beta$ -Mer), PM 1151,4, antagonista  $V_1$ , - *Sigma*. 15  $\mu$ g/mL para injeções intravascular (IV) e 100 ng/ $\mu$ l para injeções ICV.

Quetamina - Francotar<sup>®</sup>, 100 mg/mL, injetada na dose de 1 mL/kg de peso corpóreo.

Hidrato de cloral, - *Pfizer*, 0,8 g/mL, injetado na dose de 1 mL/kg.

Sempre foi mantido um intervalo de pelo menos 15 minutos entre a injeção de 2 drogas.

Todas as drogas foram diluídas em solução fisiológica (NaCl 0,9%) e preparadas de forma que o volume injetado fosse sempre 1 mL/kg de peso para injeções IV e 1  $\mu$ l/rato para injeções ICV.

As doses de vasopressina e adrenalina foram selecionadas segundo os resultados obtidos por TARPEY *et al*, 1998 e BENKUSKY *et. al*, 1999, que observaram com estas doses, aumento de pressão arterial média (PAM) e queda na FC. A dose de  $\beta$ -Mer foi selecionada segundo os resultados de HASSER & BISHOP (1990). Para a felipressina foi utilizado dose equimolar à vasopressina.

### **4.3 Plano de trabalho**

#### **4.3.1 Participação dos receptores $V_1$**

Foram realizados 6 grupos de animais, que tiveram a PAM e FC medidas, durante as injeções IV de:

Grupo 1.1- Solução fisiológica + felipressina

Grupo 1.2-  $\beta$ -Mer + felipressina

Grupo 1.3- Solução fisiológica + vasopressina

Grupo 1.4-  $\beta$ -Mer + vasopressina

Grupo 1.5- Solução fisiológica + adrenalina

Grupo 1.6-  $\beta$ -Mer + adrenalina

#### **4.3.2 Participação de receptores $V_1$ centrais**

Animais com cânulas de aço dirigidas ao 4º ventrículo cerebral (4V) tiveram sua PAM e FC medidas ao serem submetidos às seguintes injeções:

Grupo 2.1-  $\beta$ -Mer ICV + felipressina IV

Grupo 2.2-  $\beta$ -Mer ICV + vasopressina IV

#### Grupo 2.3- $\beta$ -Mer ICV + adrenalina IV

Para o estudo da participação dos receptores  $V_1$  centrais, os animais foram submetidos ao implante de cânula no 4V cerebral, como descrito no item 5.

#### **4.3. 3 Participação da área postrema**

Foi medida a PAM e a FC em animais após remoção da AP (APX) ou remoção fictícia da AP (APS), durante as seguintes injeções:

Grupo 3.1 - APS + felipressina IV

Grupo 3.2 - APX + felipressina IV

Grupo 3.3 - APS + vasopressina IV

Grupo 3.4 - APX + vasopressina IV

Grupo 3.5- APS + adrenalina IV

Grupo 3.6- APX + adrenalina IV

Para o estudo da participação da AP os animais foram submetidos a APS ou APX, como descrito no item 6.

#### 4.4 Experimentos

A participação dos receptores  $V_1$  e da AP na mediação dos efeitos da felipressina sobre o sistema cardiovascular foi avaliada através do registro da PA e da FC, em ratos antes ou após a injeção IV de  $\beta$ -Mer, após a injeção ICV de  $\beta$ -Mer e após a remoção ou remoção fictícia da AP.

#### 4.5 Implante de cânula no 4V

Os animais foram anestesiados via intraperitoneal (IP) com Quetamina na dosagem de 10 mg/100 g e medicados com uma dose profilática de 50.000UI de penicilina. Utilizou-se estereotático para ratos Kopf (FIG. 2) para implantar uma cânula de aço inoxidável de 12mm de comprimento e 0,7 mm de diâmetro externo (FIG. 6), direcionada para o 4V, segundo as seguintes coordenadas, baseadas no atlas de KÖNIG E KLIPPEL (1963): ântero-posterior = -2,2 mm à partir do lâmbida (FIG. 4); vertical = -5,5 mm à partir da superfície do crânio; lateral = +0,0 mm à partir da sutura sagital; barra incisora = 2,5 mm abaixo da linha interaural.

A cânula foi fixada à superfície do crânio com resina acrílica (FIG. 7 e 8) presa a 2 parafusos atarraxados no osso (FIG. 5 e 6). Um mandril de aço foi introduzido no interior da cânula após a polimerização da resina e mantido naquele local até o momento da injeção ICV, de forma a impedir a entrada de

contaminantes. Os animais foram mantidos sob observação e somente testados no mínimo 5 dias após a cirurgia.

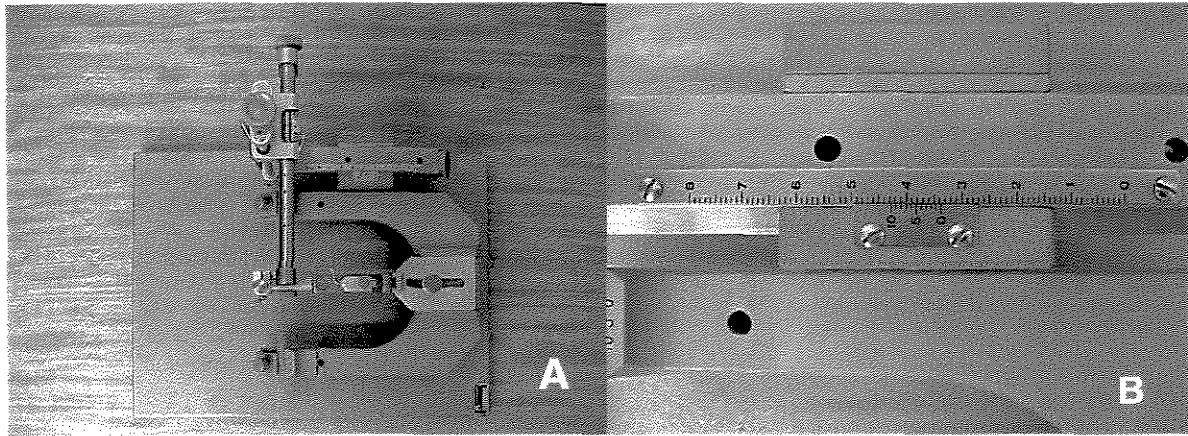


FIGURA 2 – A. Estereotático para ratos.  
B. Detalhe da escala ântero-posterior do estereotático (precisão de décimos de milímetro).

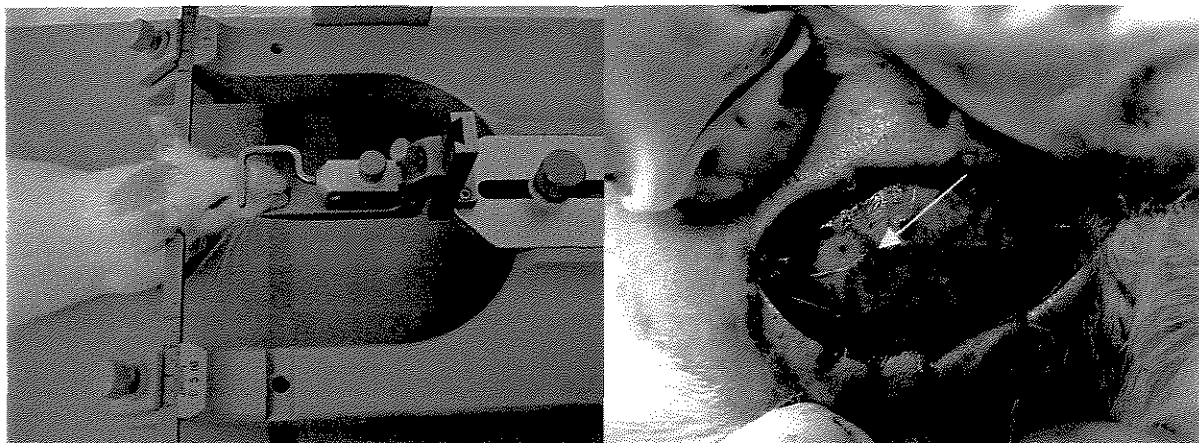


FIGURA 3 – Posicionamento do rato no estereotático.

FIGURA 4 - Incisão para implante de cânula e suturas do crânio do rato. A seta indica o ponto lâmbda, usado como referência para implante de cânula no quarto ventrículo.

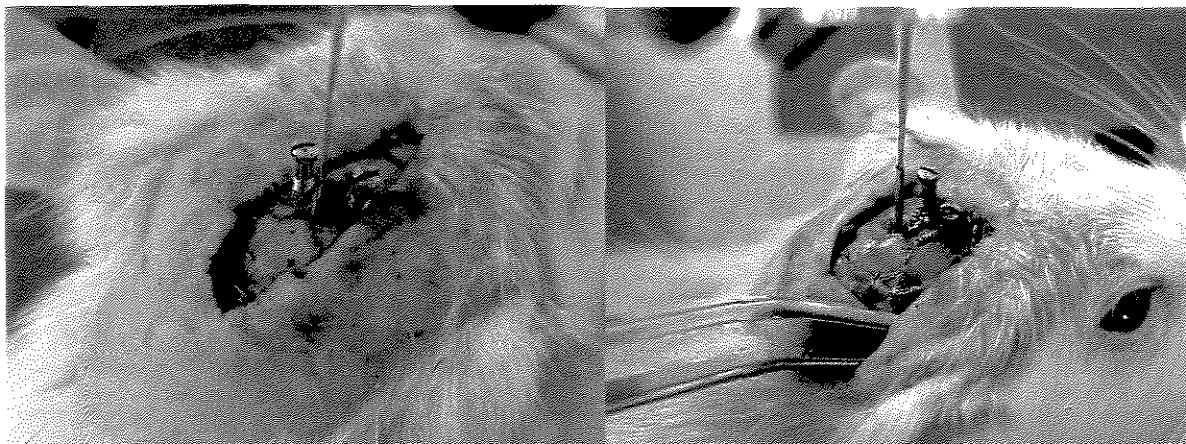


FIGURA 5 – Atarrachamento dos parafusos e posicionamento da cânula no ponto lâmbda.

FIGURA 6 – Após perfuração no local determinado após o uso das escalas ântero-posterior e lateral, abaixa-se, a cânula até a posição determinada pela escala vertical.

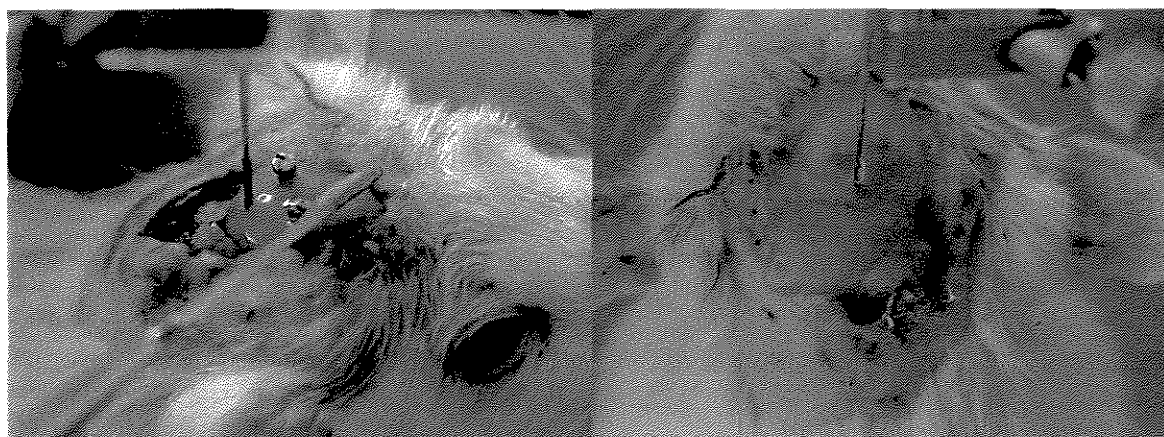


FIGURA 7 – Após o posicionamento da cânula, inserção de resina acrílica na fase fluída.

FIGURA 8 – Capacete do rato confeccionado após polimerização da resina acrílica.

#### **4.6 Remoção da área postrema (APX)**

A anestesia intraperitoneal (IP) foi realizada com quetamina 10mg/kg, Uma dose profilática de penicilina (50.000 UI) foi injetada intramuscularmente (IM). Os animais foram posicionados em um estereotáxico para ratos Kopf® (FIG. 2, e 9). Após a realização da tricotomia foi feita uma incisão dorsal na região cervical (FIG. 10), para o afastamento dos grupos musculares e exposição dos ossos do crânio (FIG. 10). O osso occipital foi removido parcialmente próximo à região do cerebelo (FIG. 12). Com o auxílio de um microscópio cirúrgico DF Vasconcelos®, a duramater foi removida e o cerebelo visualizado (FIG. 13) e elevado para a exposição da AP (FIG. 14) que foi succionada com uma agulha hipodérmica 30/08 conectada à um sugador através de uma mangueira de borracha (FIG. 15). Após esses procedimentos a pele foi suturada (FIG. 16).

Os grupos que serviram de controle aos que tiveram a AP removida foram submetidos a cirurgia "SHAM", ou fictícia de remoção da AP. Nestes animais, a mesma técnica cirúrgica foi conduzida até o momento em que se visualizou, com o auxílio da lupa cirúrgica, a área postrema, a qual foi mantida intacta.

Uma vez que a remoção da área postrema pode causar uma alteração no balanço de sódio, de água e de alimento e, portanto, causar variações na volemia (LOEWY & SPYER, 1990; JOHNSON & GROSS, 1993;. COLLISTER & OSBORN, 1998), o

que por sua vez pode modificar as variações na PAM, na FC e na potência do barorreflexo, foi necessário verificar esta variável nos animais no momento do experimento. Para tal, foram realizados 3 procedimentos de forma a garantir que a volemia dos animais que foram submetidos à remoção da área postrema se mantivesse semelhante à volemia dos animais que foram submetidos à remoção fictícia da área postrema: 1) o peso corpóreo foi monitorado, para que o experimento fosse conduzido apenas no momento em que a média do peso corpóreo dos animais do grupo controle estivesse semelhante à média do peso corpóreo do grupo que teve a AP removida; 2) a partir do momento em que se conseguiu o que se esperava no item 1, o hematócrito dos animais dos dois grupos foi quantificado e feita uma comparação entre eles (um aumento no hematócrito poderia significar diminuição na volemia); 3) foi comparado o barorreflexo dos animais dos grupos APS com os animais dos grupos APX, após a injeção IV de adrenalina, uma vez que o barorreflexo é diminuído em situações de hipovolemia.

Os animais foram mantidos sob observação diária e somente testados cerca de 15 dias após a cirurgia de APX ou APS, período este necessário para que o peso dos animais submetidos a APX voltasse a ser semelhante ao peso dos animais submetidos a APS.



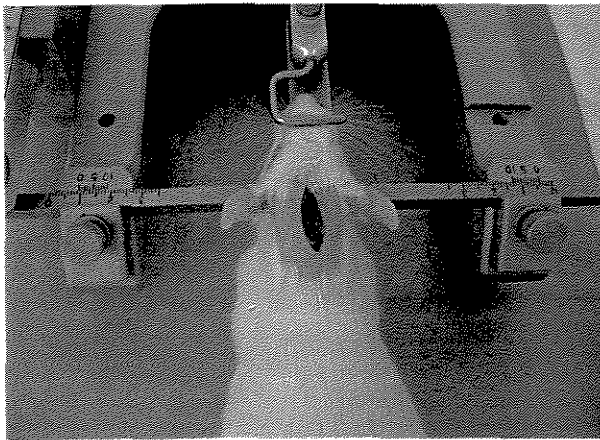


FIGURA 9 – Posicionamento do animal e incisão para a remoção da área postrema.

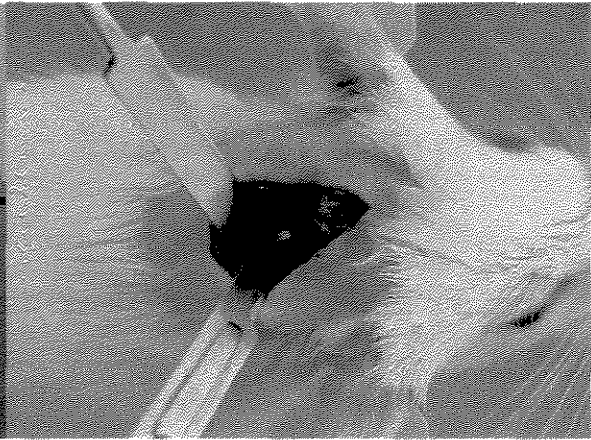


FIGURA 10 – Remoção dos grupos musculares cervicais para acesso à duramater e ao osso occipital.



FIGURA 11 – Após incisão da duramater, logo abaixo do occipital. Pode-se visulizar o cerebelo (seta).



FIGURA 12 – Remoção de parte do occipital com um osteótomo.

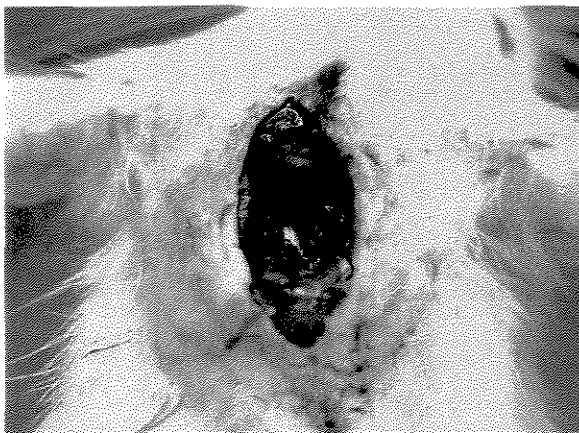


FIGURA 13 – Após a remoção parcial do osso occipital, pode-se visualizar o cerebello.



FIGURA 14 – Afastamento do cerebello para o acesso à área postrema, no assoalho do 4º ventrículo.



FIGURA 15 – Sucção da área postrema.

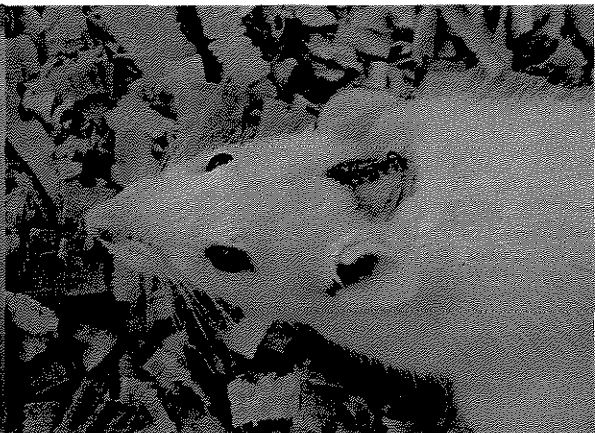


FIGURA 16 – Aspecto do rato 24h após a remoção da área postrema.

#### **4.7 Implante de cateteres para administração de drogas e medida da PAM e FC**

Após anestesia com 10 mg/100g de quetamina via IP os animais receberam o implante de 2 cateteres de polietileno (PE 10) heparinizados, um na artéria femoral, para a medida das variáveis cardiovasculares e outro na veia femoral, para a injeção de drogas. Ambos ficaram conectados externamente a uma outro cateter de polietileno de maior calibre (PE 50).

Nos animais dos grupos 2 e 3 este implante foi realizado respectivamente 5 e 15 dias após a primeira cirurgia (implante de cateter no 4V ou remoção da AP).

#### **4.8 Microinjeções no 4V**

As injeções no 4V foram feitas com uma microseringa Hamilton® de 10 microlitros conectada a uma agulha injetora de aço inoxidável com 14 mm de comprimento (2 mm maior que a cânula guia previamente implantada), por meio de um tubo de polietileno PE - 10. O volume injetado no 4V foi de 1 µl.

#### **4.9 Aferição da PAM e FC**

Decorridas pelo menos 18 h do final do implante dos cateteres de polietileno, o cateter PE-50, proveniente da artéria femoral foi conectado a um transdutor isométrico de pressão (P-1000B®, Narco Bio Systems Inc., Houston Texas, USA) ligado a um fisiógrafo (PHYSIOGRAPH SIX-B®, Narco Bio Systems Inc., Houston Texas, USA) para o registro dos valores da PA e FC dos animais submetidos aos diversos tratamentos do plano de trabalho.

Ao final dos registros injetou-se IP hidrato de cloral (0,8 g/kg) para remoção do encéfalo dos animais submetidos à APX e à injeção ICV.

#### **4.10 Histologia**

Após os experimentos, os animais que sofreram remoção da AP ou injeção ICV foram anestesiados via IP com hidrato de cloral (0,8 g/kg) e perfundidos com formol 10% através do ventrículo esquerdo cardíaco. Os encéfalos foram retirados, fixados em formol 10%, sendo realizados cortes de 80 µm de espessura (com a utilização de um micrótomo de congelamento), os quais foram corados com hematoxilina e eosina e examinados com o auxílio de um microscópio. Apenas animais com remoção completa da AP ou injeção no 4V foram considerados para análise.

#### **4.11 Análise estatística**

Os dados mostraram-se paramétricos e foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão da média. A avaliação estatística foi feita pela análise de variância e teste de Student Newman Keulls para a comparação entre as médias. O índice de significância foi fixado em  $p < 0,05$ .

## 5 RESULTADOS

A PAM e a FC basais dos animais não variaram entre os grupos, sendo em média  $117 \pm 4$  mmHg e  $391 \pm 7$  batimentos por minuto (bpm), respectivamente (n=101).

### 5.1 Participação dos receptores $V_1$ (TAB. 1)

No Grupo 1.1 (Solução fisiológica IV + Felipressina IV - n=7), a felipressina aumentou a PAM dos animais para  $149 \pm 9$  mmHg e diminuiu a FC para  $296 \pm 53$  bpm (GRAF. 1 e 2). Já o  $\beta$ -Mer (Grupo 1.2-  $\beta$ -Mer IV+ Felipeessina IV, n=9), inibiu completamente o efeito pressor e bradicárdico da felipressina, sendo que os valores da PAM e da FC foram, respectivamente,  $127 \pm 16$  mmHg e  $407 \pm 54$  bpm (GRAF. 3 e 4).

De modo semelhante, a vasopressina no Grupo 1.3 (Solução fisiológica IV + Vasopressina IV, n=7) aumentou a PAM para  $157 \pm 9$  mmHg e diminuiu a FC para  $297 \pm 73$  bpm (GRAF. 1 e 2) e no Grupo 1.4 ( $\beta$ -Mer IV + Vasopressina IV, n=7), a vasopressina teve seus efeitos bloqueados pelo  $\beta$ -Mer, com os respectivos valores da PAM e da FC:  $116 \pm 14$  mmHg e  $372 \pm 10$  bpm (GRAF. 3 e 4).

Por outro lado, nos Grupos 1.5 (Solução fisiológica IV + Adrenalina IV, n=6) e 1.6 ( $\beta$ -Mer IV + Adrenalina IV, n=6), a adrenalina aumentou a PAM para

valores maiores que a felipressina e vasopressina:  $224 \pm 21$  mmHg ( $P < 0,05$  vs grupos 1.1 e 1.3) e diminuiu a FC para  $280 \pm 22$  bpm (GRAF. 1 e 2). Estes efeitos não foram inibidos pelo  $\beta$ -Mer (PAM =  $203 \pm 34$  mmHg e FC =  $297 \pm 24$  bpm), (GRAF. 3 e 4).

## **5. 2 Participação de receptores $V_1$ centrais (TAB. 2)**

No Grupo 2.1 ( $\beta$ -Mer ICV + felipressina IV,  $n=8$ ), a injeção ICV de  $\beta$ -Mer aumentou a hipertensão induzida pela injeção IV de felipressina (PAM:  $173 \pm 12$  mmHg,  $p < 0,05$  vs grupo 1.1 e FC:  $334 \pm 28$  bpm), da mesma forma que no Grupo 2.2 ( $\beta$ -Mer ICV + vasopressina IV,  $n=8$ ) aumentou a hipertensão induzida pela injeção IV de vasopressina (PAM:  $182 \pm 18$  mmHg e FC =  $298 \pm 57$  bpm,  $p < 0,05$  vs grupo 1.3). Observam-se estes resultados nos GRAF 5 e 6.

No Grupo 2.3- ( $\beta$ -Mer ICV + adrenalina IV,  $n=7$ ), a injeção ICV de  $\beta$ -Mer não modificou a hipertensão e a bradicardia induzidas pela injeção IV de adrenalina (PAM:  $248 \pm 19$  mmHg e FC =  $281 \pm 26$  bpm, GRAF 5 e 6).

## **5.3 Participação da área postrema (TAB. 3)**

No Grupo 3.1 (APS+ felipressina IV,  $n=6$ ) a cirurgia fictícia de remoção da AP não modificou o efeito da felipressina sobre a PAM:  $151 \pm 4$  mm de Hg e

sobre a FC:  $300 \pm 88$  bpm, enquanto que o Grupo 3.2 APX + felipressina IV, n=6, GRAF 7 e 8) mostrou que a remoção da AP aumentou a hipertensão induzida pela felipressina  $177 \pm 10$  mm de Hg ( $P < 0,05$  vs grupo 1.1 e 3.1) e manteve a bradicardia:  $308 \pm 20$  bpm (GRAF 9 e 10).

Os Grupos 3.3 (APS + vasopressina IV, n=6) e Grupo 3.4 (APX + vasopressina IV, n=6) mostram que a vasopressina comportou-se de modo semelhante à felipressina, ou seja, a cirurgia fictícia de remoção da AP não modificou a PAM ( $173 \pm 14$  mm de Hg) ou a FC ( $243 \pm 36$  bpm) dos animais tratados com vasopressina (GRAF 7 e 8). A remoção da AP aumentou o efeito da vasopressina sobre a PAM quando comparado ao grupo 1.3 (sol. Fisiol. IV + vasopressina IV), mas não ao grupo 3.3 ( $188 \pm 13$  mmHg,  $p < 0,05$  vs grupo 1.3 e  $p > 0,05$  vs grupo 3.3) e diminuiu a bradicardia: FC =  $310 \pm 21$  bpm, quando comparado ao grupo 3.3 ( $p < 0,05$ ), mas não quando comparado ao grupo 1.3 ( $p > 0,05$ ); ver GRÁF. 9 e 10.

Com relação à adrenalina, os Grupos 3.5 (APS + adrenalina IV, n=6) e 3.6 (APX + adrenalina IV, n=6) mostram que tanto a cirurgia fictícia de remoção da AP quanto a remoção da AP não modificaram a PAM ( $227 \pm 15$  mmHg e  $242 \pm 13$  mmHg, respectivamente) e a FC ( $289 \pm 17$  bpm e  $277 \pm 5$  bpm, respectivamente) ; ver GRÁF. 7, 8, 9 e 10.



#### **5.4 Relação entre a variação da FC e a variação da PAM (TAB. 4)**

A relação entre a variação da FC e a variação da PAM ( $-\Delta FC : \Delta PAM$ ) foi de  $3,1 \pm 0,9$  para o grupo tratado com solução fisiológica IV + felipressina IV (grupo 1.1); de  $2,6 \pm 1,0$  para o grupo tratado com solução fisiológica IV + vasopressina IV (grupo 1.3,  $p > 0,05$  vs grupo 1.1) e de  $1,1 \pm 0,2$  no grupo tratado com solução fisiológica IV + adrenalina IV (grupo 1.5,  $p < 0,05$  vs grupos 1.1 e 1.3).

Após a injeção ICV de  $\beta$ -Mer estes valores foram  $1 \pm 0,3$ ;  $1,2 \pm 0,4$ ; e  $0,9 \pm 0,1$ ; respectivamente para injeções IV de felipressina, vasopressina ou adrenalina ( $p > 0,05$  entre os grupos).

Nos grupos APX, estes valores passaram a ser:  $1,2 \pm 0,3$  no grupo tratado com felipressina IV;  $1 \pm 0,1$  no grupo tratado com vasopressina IV e  $1 \pm 0,1$  no grupo tratado com adrenalina IV ( $p < 0,05$  entre os grupos), enquanto que para os grupos APS os valores foram de  $2,6 \pm 0,4$ ;  $3,1 \pm 0,5$ ; e  $0,9 \pm 0,1$ ; respectivamente para as injeções IV de felipressina (grupo 3.1,  $p > 0,05$  vs grupo 1.1), vasopressina (grupo 3.3  $p > 0,05$  vs grupo 1.3) ou adrenalina (grupo 3.5,  $p > 0,05$  vs grupo 1.5 e  $p < 0,05$  vs grupos 3.1 e 3.3).

#### **5.5 Controle da volemia**

Os animais dos grupos 3.1 ao 3.6 foram submetidos ao experimento após uma média de 14 dias da cirurgia de remoção ou remoção fictícia da AP,

quando o peso corpóreo dos animais dos grupos APX apresentou-se semelhante ao peso dos animais dos grupos APS. No dia do experimento, a média do hematócrito dos animais dos grupos APX foi semelhante à média do hematócrito dos animais dos grupos APS ( $55 \pm 4$  e  $53 \pm 4$ , respectivamente). A resposta barorreflexa entre os grupos APS e APX, após a injeção de adrenalina, mostrou-se também semelhante.

## 5.6 Histologia

Apenas foram considerados animais cuja histologia do encéfalo confirmou total remoção da AP ou injeção no 4V. Observar nas FIGURAS. 17 e 18 um exemplo de histologia de um encéfalo de um animal que foi submetido à APS e à APX.

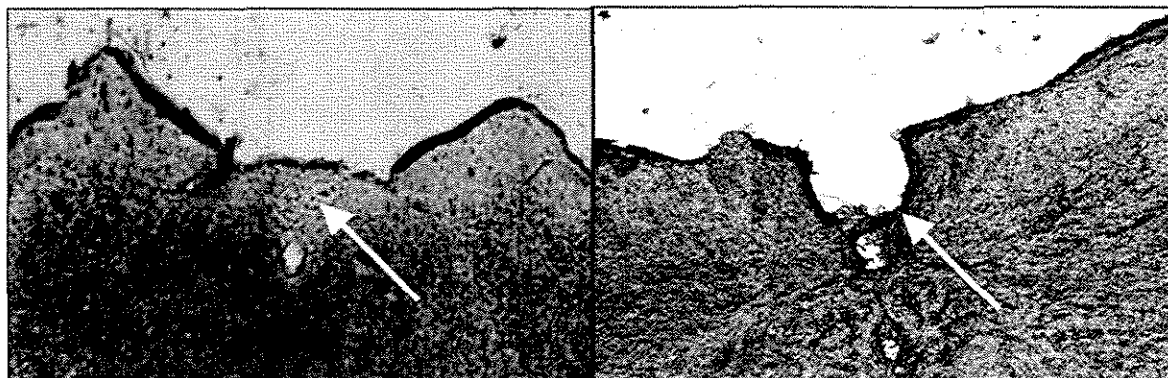


FIGURA 17 – Secção do encéfalo de rato submetido à remoção fictícia da área postrema (coloração: HE). A seta indica a AP.

FIGURA 18 – Secção do encéfalo de rato submetido à remoção da área postrema (coloração: HE). A seta indica o local antes ocupado pela AP.

TABELA 1

Pressão arterial média e frequência cardíaca de ratos após a injeção IV de  $\beta$ -Mer, seguida da injeção IV de felipressina, vasopressina ou adrenalina.

		Pressão Arterial Média $\pm$ Dp	Frequência Cardíaca Média $\pm$ Dp
GRUPO 1.1 n=7	Basal	116 $\pm$ 06 a*	384 $\pm$ 46 a
	Sol. Fisiológica	118 $\pm$ 08 a	386 $\pm$ 47 a
	Felipressina	149 $\pm$ 09 b	295 $\pm$ 53 b
GRUPO 1.2 n=9	Basal	126 $\pm$ 18 a	406 $\pm$ 57 a
	$\beta$ -Mer IV	127 $\pm$ 16 a	406 $\pm$ 49 a
	Felipressina IV	127 $\pm$ 17 a	407 $\pm$ 54 a
GRUPO 1.3 n=7	Basal	119 $\pm$ 07 a	400 $\pm$ 39 a
	Sol. Fisiológica	116 $\pm$ 06 a	399 $\pm$ 42 a
	Vasopressina	156 $\pm$ 09 b	297 $\pm$ 73 b
GRUPO 1.4 n=7	Basal	116 $\pm$ 15 a	393 $\pm$ 31 a
	$\beta$ -Mer IV	116 $\pm$ 12 a	384 $\pm$ 29 a
	Vasopressina IV	116 $\pm$ 14 a	372 $\pm$ 10 a
GRUPO 1.5 n=6	Basal	118 $\pm$ 09 a	388 $\pm$ 21 a
	Sol. Fisiológica	120 $\pm$ 17 a	388 $\pm$ 19 a
	Adrenalina IV	224 $\pm$ 20 c	280 $\pm$ 22 b
GRUPO 1.6 n=6	Basal	111 $\pm$ 11 a	397 $\pm$ 20 a
	$\beta$ -Mer IV	108 $\pm$ 10 a	395 $\pm$ 18 a
	Adrenalina IV	203 $\pm$ 34 c	297 $\pm$ 24 b

Teste STUDENT NEWMAN KEULLS,  $p < 0,05$ . \*Letras diferentes indicam diferença estatística entre médias do mesmo grupo. Dp = desvio padrão, n = número de animais por grupo, Sol. = Solução, IV = intravascular,  $\beta$ -Mer = 1- $\beta$ Mercapto- $\beta$ ,  $\beta$ -ácido ciclopentametenopropiônico, 2-O-Metil-Tyr arginina vasopressina.

TABELA 2

Pressão arterial média e frequência cardíaca de ratos após a injeção ICV de  $\beta$ -Mer, seguida da injeção IV de felipressina, vasopressina ou adrenalina.

		Pressão Arterial Média + Dp	Frequência Cardíaca Média + Dp
GRUPO 2.1 n=8	Basal	113 $\pm$ 12 a*	389 $\pm$ 19 a
	$\beta$ -Mer ICV	116 $\pm$ 09 a	389 $\pm$ 20 a
	Felipressina IV	173 $\pm$ 11 b	334 $\pm$ 28 b
GRUPO 2.2 n=8	Basal	115 $\pm$ 14 a	383 $\pm$ 39 a
	$\beta$ -Mer ICV	115 $\pm$ 12 a	381 $\pm$ 38 a
	Vasopressina IV	182 $\pm$ 18 b	298 $\pm$ 57 b
GRUPO 2.3 n=7	Basal	121 $\pm$ 07 a	390 $\pm$ 17 a
	$\beta$ -Mer ICV	121 $\pm$ 07 a	392 $\pm$ 19 a
	Adrenalina IV	248 $\pm$ 19 c	281 $\pm$ 26 b

Teste STUDENT NEWMAN KEULLS,  $p < 0,05$ . \*Letras diferentes indicam diferença estatística entre médias do mesmo grupo. Dp = desvio padrão, n = número de animais por grupo, IV = intravascular, ICV = intarcerebroventricular,  $\beta$ -Mer = 1- $\beta$ -Mercapto- $\beta$ ,  $\beta$ -ácido ciclopentametileno propiônico, 2-O-Metil-Tyr arginina vasopressina.

TABELA 3

Pressão arterial média e frequência cardíaca de ratos após remoção da área postrema ou remoção fictícia da área postrema, seguida da injeção IV de felipressina, vasopressina ou adrenalina.

		Pressão Arterial Média $\pm$ Dp	Frequência Cardíaca Média $\pm$ Dp
GRUPO 3.1 n=6	Basal – APS	117 $\pm$ 07 a*	387 $\pm$ 16 a
	Sol. Fisiológica	117 $\pm$ 07 a	388 $\pm$ 18 a
	Felipressina IV	151 $\pm$ 04 b	300 $\pm$ 21 b
GRUPO 3.2 n=6	Basal – APX	114 $\pm$ 08 a	385 $\pm$ 08 a
	Sol. Fisiológica	115 $\pm$ 05 a	382 $\pm$ 11 a
	Felipressina IV	177 $\pm$ 10 c	308 $\pm$ 20 b
GRUPO 3.3 n=6	Basal – APS	123 $\pm$ 04 a	393 $\pm$ 10 a
	Sol. Fisiológica	123 $\pm$ 04 a	393 $\pm$ 10 a
	Vasopressina IV	173 $\pm$ 14 b	243 $\pm$ 36 b
GRUPO 3.4 n=6	Basal – APX	115 $\pm$ 05 a	383 $\pm$ 10 a
	Sol. Fisiológica	113 $\pm$ 05 a	382 $\pm$ 10 a
	Vasopressina IV	188 $\pm$ 13 b	310 $\pm$ 21 b
GRUPO 3.5 n=6	Basal – APS	115 $\pm$ 04 a	393 $\pm$ 15 a
	Sol. Fisiológica	115 $\pm$ 04 a	393 $\pm$ 15 a
	Adrenalina IV	227 $\pm$ 15 d	289 $\pm$ 17 b
GRUPO 3.6 n=6	Basal – APX	120 $\pm$ 07 a	393 $\pm$ 12 a
	Sol. Fisiológica	120 $\pm$ 07 a	393 $\pm$ 12 a
	Adrenalina IV	242 $\pm$ 13 d	277 $\pm$ 05 b

Teste STUDENT NEWMAN KEULLS,  $p < 0,05$ . \*Letras diferentes indicam diferença estatística entre médias do mesmo grupo. Dp = desvio padrão, n = número de animais por grupo, Sol. = Solução, IV = intravascular, APS = cirurgia de remoção fictícia da área postrema, APX = cirurgia de remoção da área postrema.

TABELA 4

Relação entre frequência cardíaca e pressão arterial média, ( $-\Delta FC : \Delta PAM$ ), designando a potência do barorreflexo, dos mesmos grupos experimentais citados nas tabelas 1, 2 e 3.

G.	Sal + fel	Iv $\beta$ - mer + Fel	Sal + AVP	Iv $\beta$ - mer + AVP	Sal + epi	Iv $\beta$ - mer + epi	ICV $\beta$ - mer + fel	ICV $\beta$ - mer + AVP	ICV $\beta$ - mer + epi	APS + fel	APX + fel	APS + AVP	APX + AVP	APS + epi	APX + epi
G.	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5	1.6	2.1	2.2	2.3	3.1	3.2	3.3	3.4	3.5	3.6
M.	3,1 a	-	2,6 a	-	1,1 b	1,1 b	1,0 b	1,2 b	0,9 b	2,6 a	1,2 b	3,1 a	1,0 b	0,9 b	1,0 b
Dp	0,9	-	1,0	-	0,2	0,3	0,3	0,4	0,1	0,4	0,3	0,5	0,1	0,1	0,1
N	7	9	7	7	6	6	8	8	7	6	6	6	6	6	6

Teste STUDENT NEWMAN KEULLS,  $p < 0,05$ . \*Letras diferentes indicam diferença estatística entre médias do mesmo grupo. G. = grupo, M. = média, Dp = desvio padrão, n = número de animais por grupo.

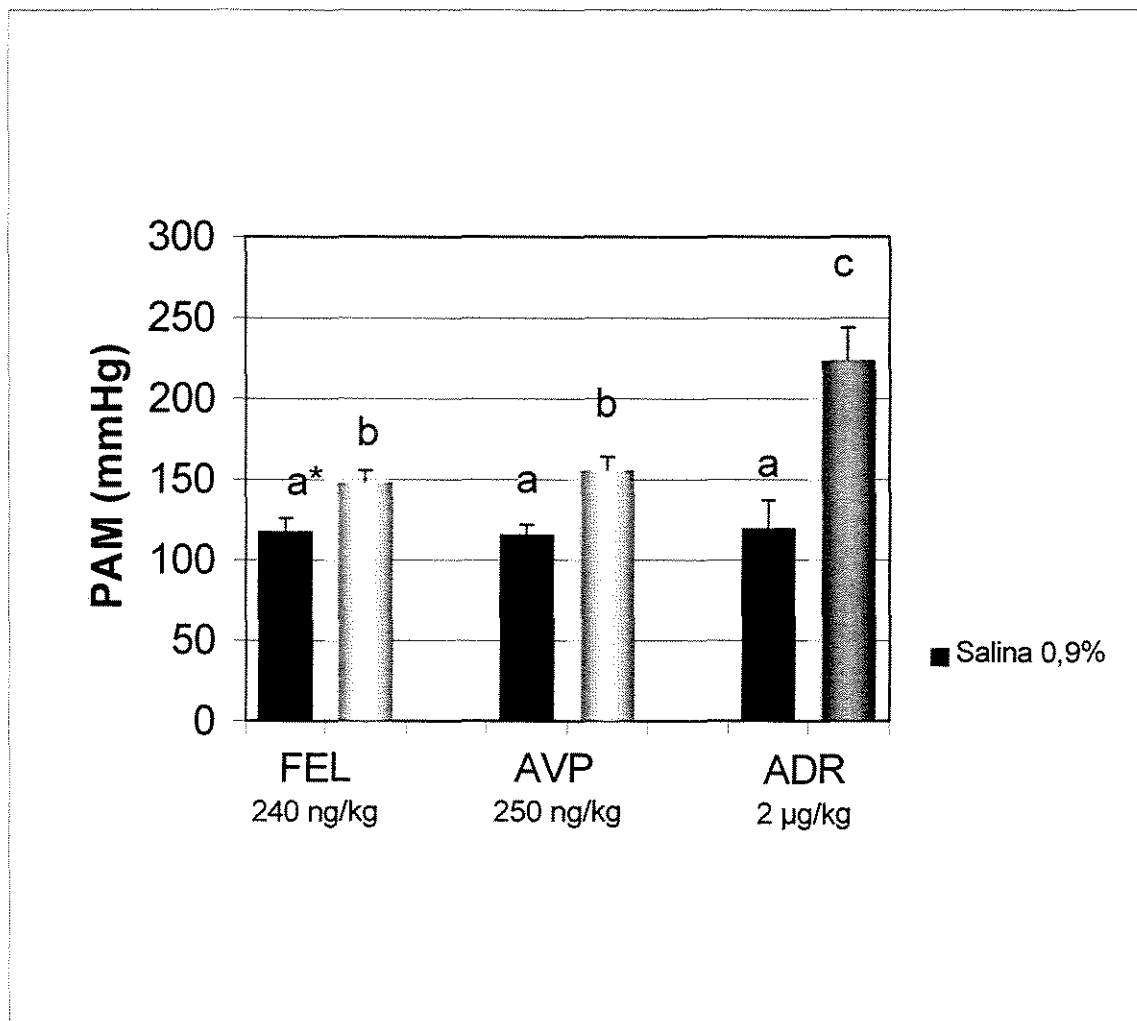


GRÁFICO 1 – Média e desvio padrão da média da pressão arterial média (PAM), após a injeção intravascular de felipressina (FEL), vasopressina (AVP) ou adrenalina (ADR). \* Letras diferentes significam  $p < 0,05$ .

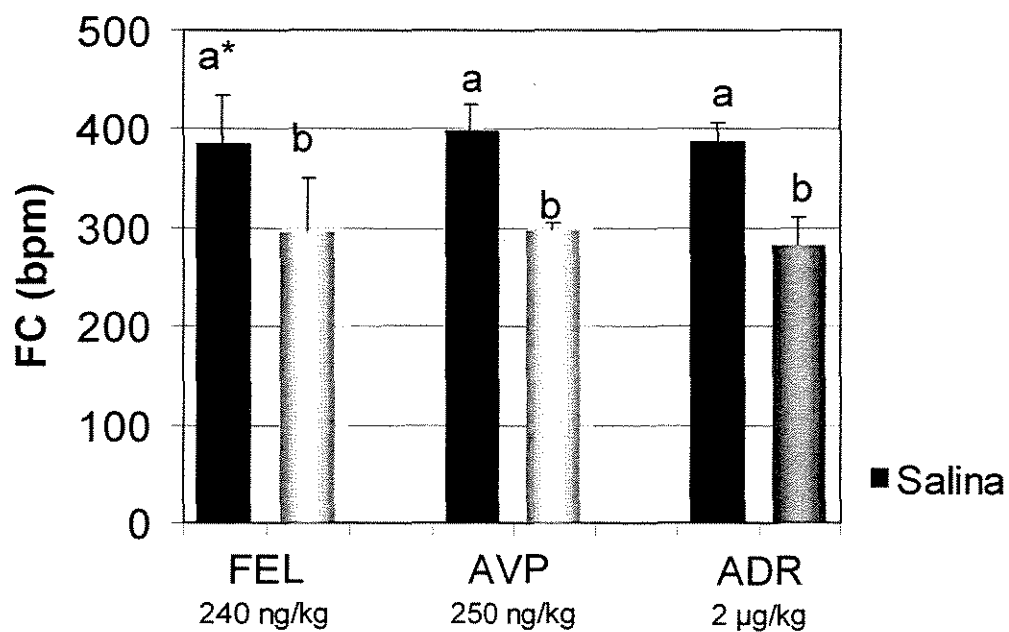


GRÁFICO 2 - Média e desvio padrão da frequência cardíaca (FC), após a injeção intravascular de felipressina (FEL), vasopressina (AVP) ou adrenalina (ADR). \*Letras diferentes significam  $p < 0,05$ .



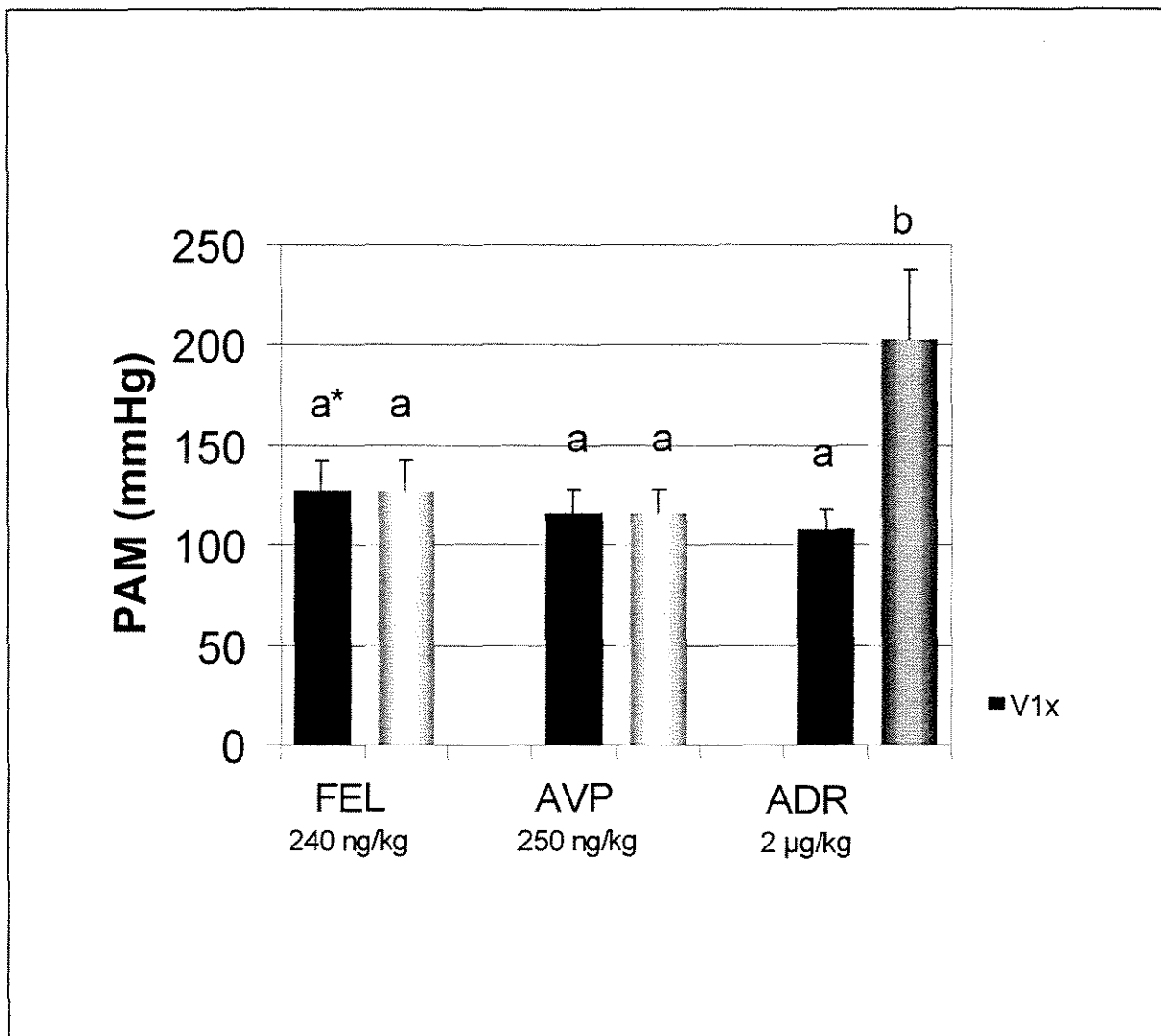


GRÁFICO 3 - Média e desvio padrão da média da pressão arterial média D(PAM), após a injeção intravascular (IV) de felipressina (FEL), vasopressina (AVP) ou adrenalina(ADR), precedidas de antagonista  $V_1$  IV ( $V_1$  x).

\*Letras diferentes significam  $p < 0,05$ .

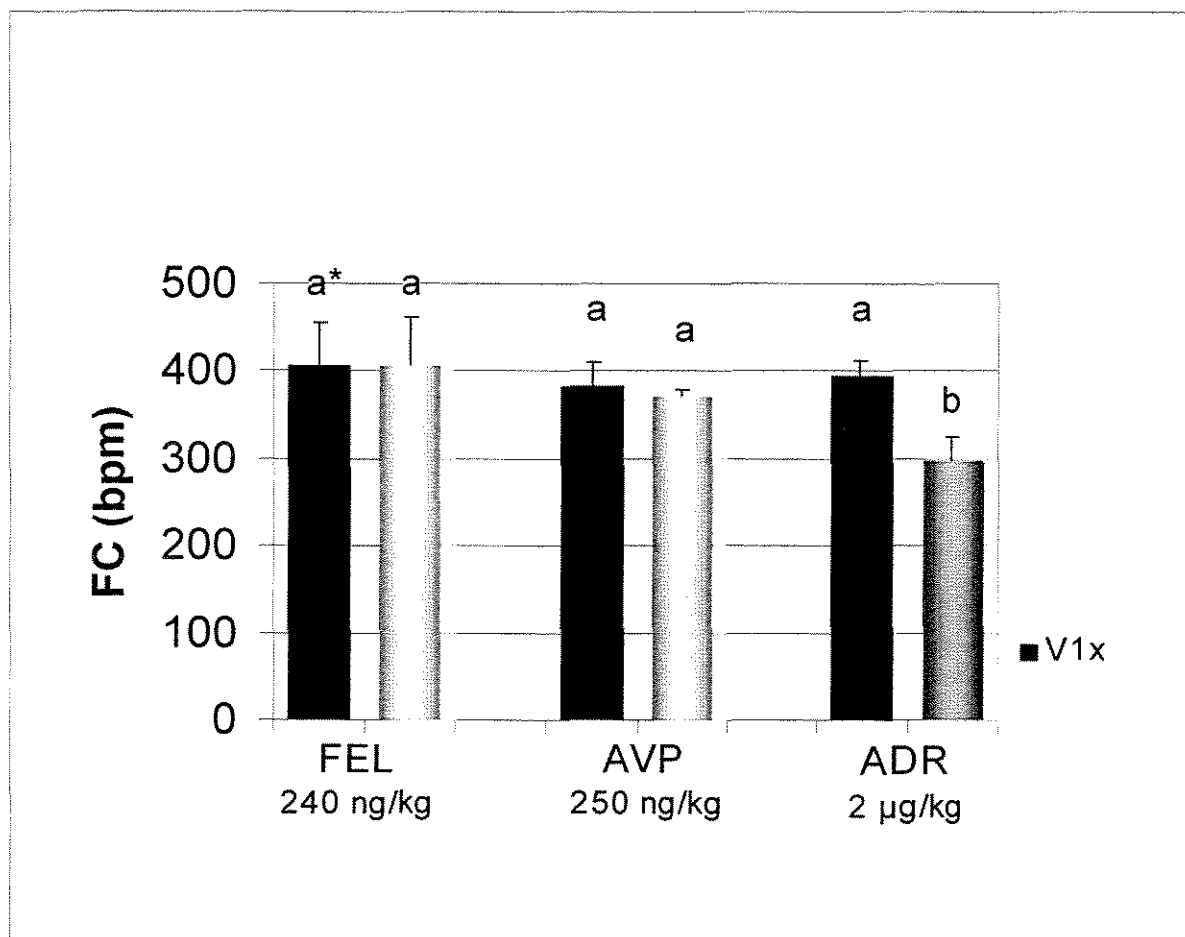


GRÁFICO 4 - Média e desvio padrão da média da frequência cardíaca (FC), após a injeção intravascular (IV) de felipressina (FEL), vasopressina (AVP) ou adrenalina (ADR), precedidas de antagonista  $V_1$  IV ( $V_1$  x). \*Letras diferentes significam  $p < 0,05$ .

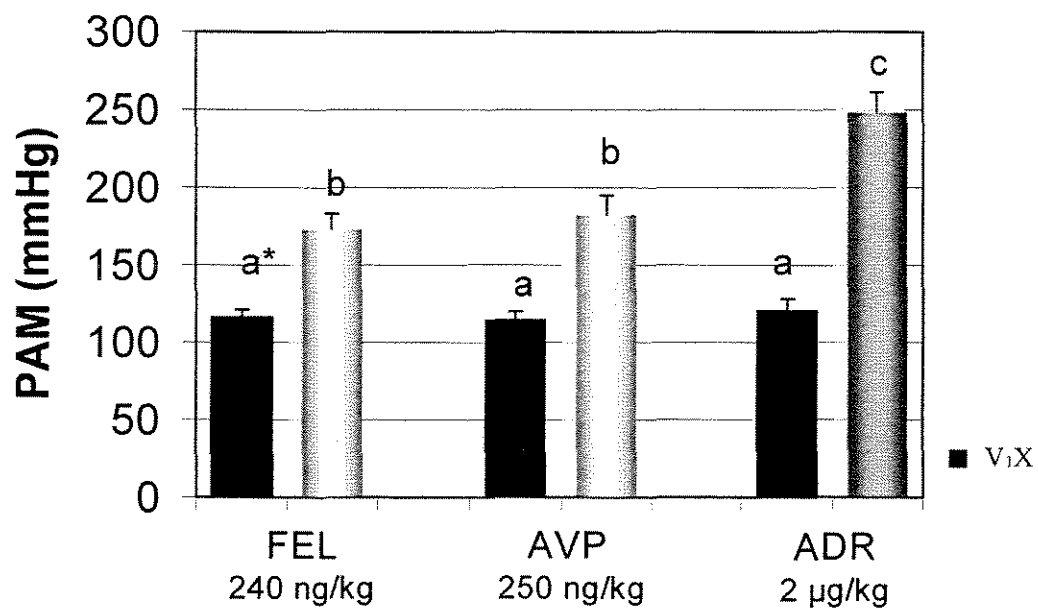


GRÁFICO 5 - Média e desvio padrão da média da pressão arterial média (PAM), após a injeção intravascular de felipressina (FEL), vasopressina (AVP) ou adrenalina (ADR), precedidas da injeção intracerebroventricular de antagonista V<sub>1</sub> (V<sub>1</sub>X).  
\*Letras diferentes significam p<0,05.

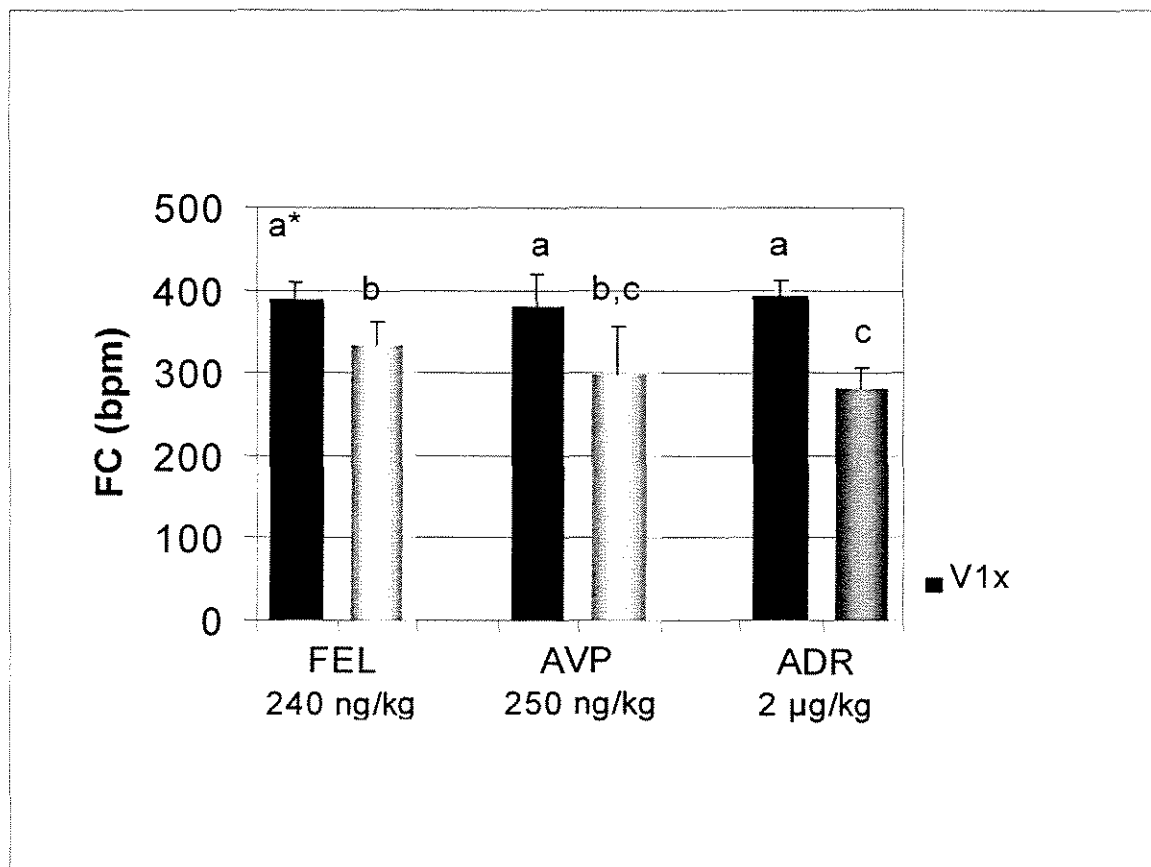


GRÁFICO 6 - Média e desvio padrão da média da frequência cardíaca (FC), após a injeção intravascular de felipressina (FEL), vasopressina (AVP) ou adrenalina (ADR), precedidas de antagonista V1(V1 x) intracerebroventricular. \*Letras diferentes significam  $p < 0,05$ .

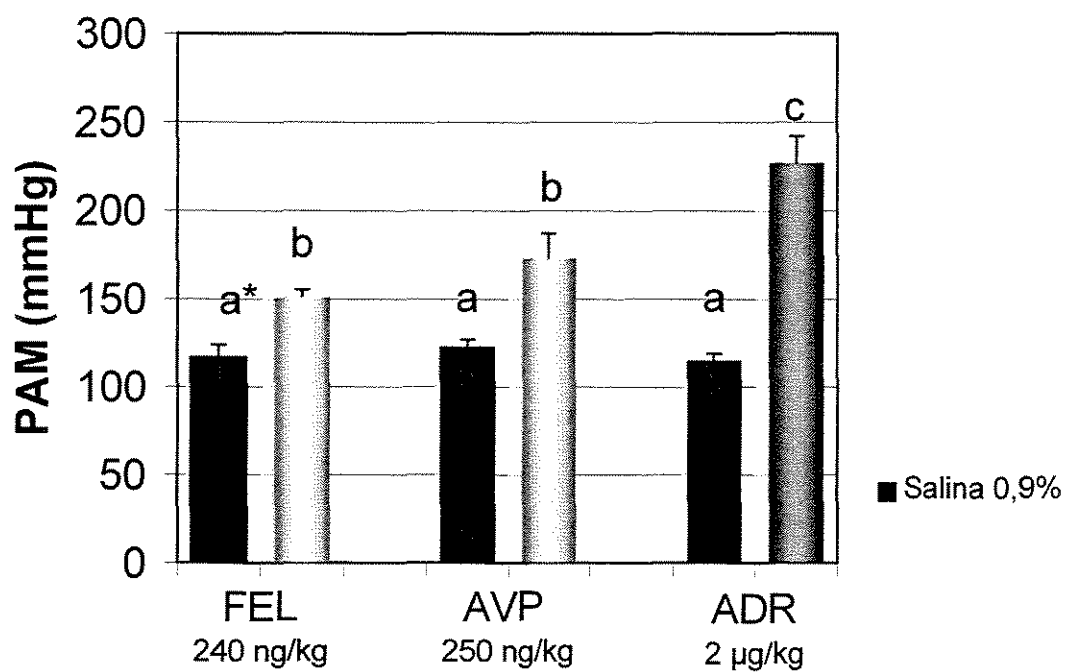


GRÁFICO 7 - Média e desvio padrão da média da pressão arterial média (PAM) após a injeção intravascular de felipressina (FEL), vasopressina (AVP) ou adrenalina (ADR), precedidas da remoção fictícia da área postrema. \*Letras diferentes significam  $p < 0,05$ .

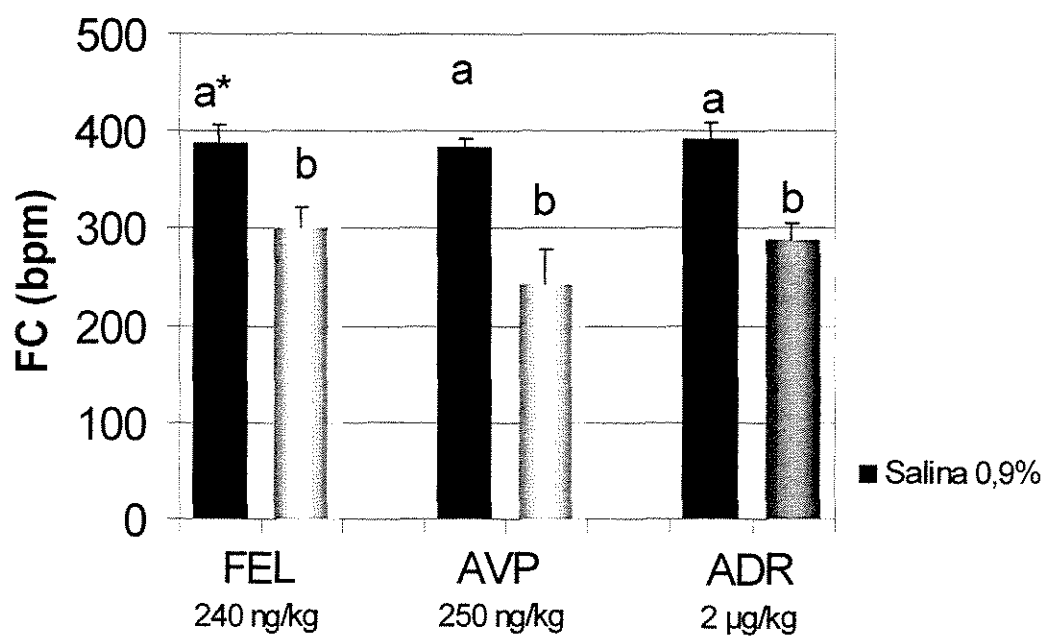


GRÁFICO 8 - Média e desvio padrão da média da frequência cardíaca (FC), após a injeção intravascular de felipressina (FEL), vasopressina (AVP) ou adrenalina (ADR), precedidas da remoção fictícia da área postrema. \*Letras diferentes significam  $p < 0,05$ .

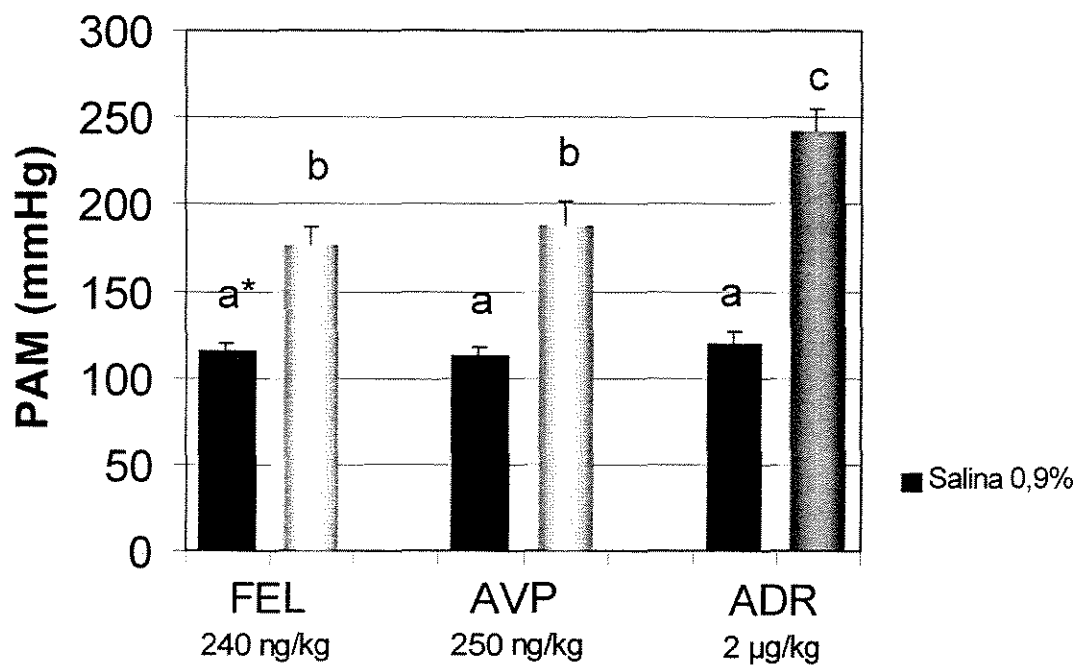


GRÁFICO 9 - Média e desvio padrão da média da pressão arterial média (PAM) após a injeção intravascular de felipressina (FEL), vasopressina (AVP) ou adrenalina (ADR), precedidas da remoção da área postrema. \*Letras diferentes significam  $p < 0,05$ .

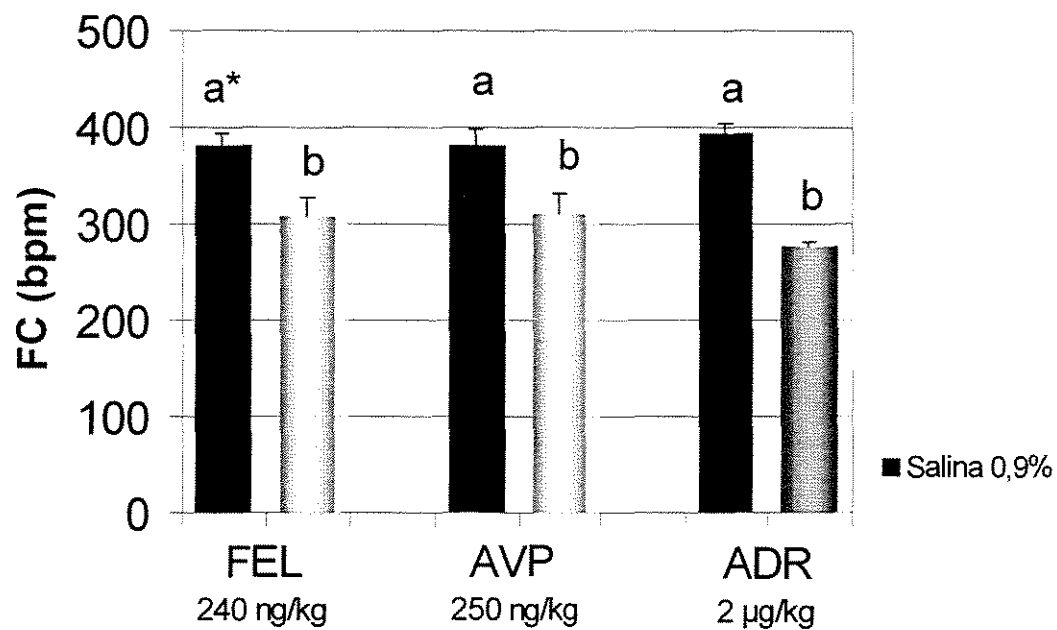


GRÁFICO 10 - Média e desvio padrão da média da frequência cardíaca (FC) após a injeção intravascular de felipressina (FEL), vasopressina (AVP) ou adrenalina (ADR), precedidas da remoção da área postrema. \*Letras diferentes significam  $p < 0,05$ .



## 6 DISCUSSÃO

A utilização da felipressina em anestesia local tem acontecido não somente em odontologia (GOLDMAN & EVERS, 1969, MALAMED, 1997, MEECHAN, 1991), mas também em ginecologia (HOWELLS et. al., 2000), oftalmologia (COELHO et. al., 1993, BRAHMA et. al, 1994, BEDI & CARABINE, 1999) e cirurgia plástica (MILLAY et. al., 1991). Em odontologia seu emprêgo é significativo, pois 82% dos dentistas de Piracicaba-SP a usam, sendo que este dado deve refletir um panorama nacional. É utilizada na Europa, restante da América Latina e Canadá. Porém, sobre o mecanismo de ação da felipressina, pouco se sabe: produz vasoconstrição predominante no leito venoso. Devido a sua analogia e grande semelhança molecular à vasopressina, supunha-se que esta vasoconstrição fosse mediada por receptores  $V_1$ . Embora BUCKINGHAM, em 1987, tenha utilizado a felipressina como um agonista  $V_1$ , não há, até o momento, dados na literatura que comprovem sua ligação a estes receptores. Por outro lado, como não possui efeito antidiurético, provavelmente não atua nos receptores  $V_2$  (BERDE *et al.*, 1961, GUHL, 1961).

Neste trabalho, a injeção IV de felipressina em ratos produziu resultados semelhantes aos produzidos pela injeção IV de vasopressina, ou seja, induziu aumento da PAM e diminuição da FC, ambas inibidas pela prévia injeção de  $\beta$ -Mer. Induziu a um efeito potencializador do barorreflexo dependente de

receptores  $V_1$  centrais e da AP e estes efeitos foram específicos, uma vez que a injeção IV de adrenalina, que não depende de receptores  $V_1$  para induzir seus efeitos, também produziu um aumento da PAM e queda da FC, porém não inibidos pelo  $\beta$ -Mer, além de não potencializar o barorreflexo através de receptores  $V_1$  centrais ou da AP. Diante disso, pode-se afirmar que a felipressina depende dos receptores  $V_1$  para induzir seus efeitos cardiovasculares sobre a PAM e FC.

FARAH et al., em 1999, discutiram diversas formas de se quantificar a potência do barorreflexo e mostraram que quanto maior é a diminuição da FC por unidade de aumento da PAM em mmHg ( $\Delta FC: \Delta PAM$ ), maior é o ganho do barorreflexo. HASSER & BISHOP, 1990, utilizando esta relação:  $\Delta FC: \Delta PAM$ , mostraram uma correlação linear entre a variação da PAM e a variação da resposta barorreflexa em animais tratados com vasopressina e com fenilefrina. Porém, a relação  $-\Delta FC: \Delta PAM$  observada por eles nos animais tratados com vasopressina foi, em média, 3,00, enquanto que nos animais tratados com fenilefrina foi, em média, 1,21. Ou seja, a potência do barorreflexo, após a injeção de vasopressina, foi maior que após a injeção de fenilefrina.

Ao utilizar-se da relação  $-\Delta FC: \Delta PAM$ , para se comparar a potência do barorreflexo nos animais tratados com as drogas pressoras utilizadas neste trabalho, observou-se um barorreflexo mais potente nos animais tratados com vasopressina e com felipressina, quando comparado ao barorreflexo dos animais tratados com adrenalina, dados estes, coincidentes com os dados de HASSER &

BISHOP, 1990. Desta forma, fica demonstrado que a injeção IV de felipressina produz um barorreflexo potencializado, assim como a de vasopressina, quando comparados com a injeção IV de adrenalina. Este aumento na potência do barorreflexo induzido pela vasopressina já havia sido demonstrado em primatas por BARAZANJI & CORNISH em 1989.

Após a injeção ICV de  $\beta$ -Mer, foi verificado que o aumento na PAM, induzido pelas drogas dependentes de receptores  $V_1$ , torna-se maior e a relação  $-\Delta FC: \Delta PAM$  diminui, tornando-se semelhante à observada nos animais tratados com adrenalina IV. Esta diminuição na relação  $-\Delta FC: \Delta PAM$  reflete uma queda na potência do barorreflexo após a injeção ICV de  $\beta$ -Mer, o que mostra que a potencialização do barorreflexo observada após a injeção IV de felipressina ou de vasopressina é dependente de receptores  $V_1$  centrais. A possibilidade de esse efeito ser periférico pode ser descartada uma vez que ao se injetar  $\beta$ -Mer IV, neste trabalho, obteve-se inibição do aumento da PAM induzida pela felipressina e vasopressina.

O comportamento dos parâmetros PAM e FC nos animais tratados com APX foi semelhante ao comportamento dos animais tratados com injeção ICV de  $\beta$ -Mer, ou seja, houve um maior aumento da PAM induzida pela injeção de felipressina e vasopressina e a relação  $-\Delta FC: \Delta PAM$  tornou-se semelhante à relação observada nos animais tratados com adrenalina. Desta forma, a AP pode ser considerada uma região que contém receptores  $V_1$ , ou que está intermediando

o circuito responsável pela potencialização do barorreflexo induzido pela felipressina é dependente dos receptores  $V_1$  centrais. Já havia sido demonstrado que a potencialização do barorreflexo induzida pela vasopressina é dependente da AP ou dos receptores  $V_1$  localizados nesta mesma área (HASSER & BISHOP, 1990; HASSER *et al.* 1997; STEBBINS *et al.*, 1998), porém ainda não havia sido demonstrado que a felipressina depende desta estrutura para induzir potencialização do barorreflexo.

Estes resultados são contraditórios com os de MONTASTRUC *et. al.* (1985), que não observaram modificações nos parâmetros cardiovasculares após injeção intracisternal de felipressina em cães anestesiados, mas observaram queda na PA após a mesma injeção de vasopressina. Concluíram que a pequena diferença na cadeia de amino-ácidos observada entre a felipressina e a vasopressina as tornam diferentes entre si, a ponto da felipressina, ao contrário da vasopressina, não participar da regulação central da PA. Contudo, vários aspectos devem ser considerados ao se comparar o trabalho citado com este: 1) a via de administração utilizada naquele caso, ou seja, a intracisternal, introduz a droga mais distante da AP que a injeção no 4V; 2) MONTASTRUC *et. al.*(1985) utilizaram-se de cães anestesiados, sendo que a anestesia influencia as respostas do sistema cardiovascular. Assim, a vasopressina injetada na cisterna de cães anestesiados poderia estar induzindo hipotensão por outro mecanismo, provavelmente, que ativasse apenas receptores  $V_2$  e não receptores  $V_1$  centrais, como fez a felipressina neste trabalho.

Ao se verificar que a injeção IV de felipressina induz aumento de PAM e um efeito barorreflexo exacerbado e não havendo tempo para que ocorra retenção ou mobilização de líquido para os vasos, pode-se dizer que esta hipertensão tem como causa principal, a vasoconstrição. Essa vasoconstrição, porém não é completamente traduzida em aumento de PAM, por ser minimizada pela bradicardia reflexa induzida pela ação da felipressina no SNC, ou seja, mesmo induzindo à vasoconstrição, a felipressina não eleva a PAM na mesma proporção.

Este fato pode ser mais bem entendido através da observação dos resultados dos grupos nos quais diminuiu-se a potência do barorreflexo através da injeção de  $\beta$ -Mer ICV ou da APX, (diminuição da relação:  $-\Delta FC: \Delta PAM$ ), nos animais tratados com felipressina. Nestes animais a bradicardia reflexa tem influência menor sobre a PAM que aumenta mais quando comparada ao controle (injeção IV de solução fisiológica + injeção IV de felipressina ou de vasopressina). Outro ponto que deve ser ponderado é que a vasoconstrição induzida pela felipressina se dá principalmente no leito venoso e que, também por este motivo, não é completamente traduzida em hipertensão arterial. Assim, pode-se dizer que apesar de a felipressina produzir vasoconstrição ela não induz uma grande elevação na PAM.

A injeção de 2  $\mu g/kg$  de adrenalina, realizada neste trabalho, equivale a injeção de cerca de 0,7  $\mu g$  em um animal de 300 g. A quantidade de adrenalina em um tubete anestésico, com volume de 1,8 mL, na concentração de 1:100.000 é

18 µg. Portanto está se injetando o equivalente a quantidade de adrenalina de 1/25 do tubete anestésico em cada animal. No caso da felipressina, ao injetar-se 240 ng/kg ou 80 ng por animal, está se injetando cerca de 1/9 da quantidade de felipressina contida em um tubete com um volume de 1,8 mL com felipressina na concentração de 0,03 UI/ml (ou 756 ng). Isto significa que tendo como parâmetro a dose disponível comercialmente em tubetes anestésicos de felipressina e de adrenalina, pode-se dizer que foi injetado nos animais deste trabalho uma concentração 2,5 vezes maior de felipressina do que de adrenalina. Contudo ao comparar-se o efeito hipertensor destas duas drogas, verifica-se que houve, em média, uma variação de 103 mmHg nos animais tratados com adrenalina e 31 mmHg nos animais tratados com felipressina. Ou seja, a dose de felipressina usada induz aumento da PAM cerca de 3 vezes menor do que o aumento produzido pela adrenalina com uma dose 2,5 vezes maior.

Ao se injetar em um rato com aproximadamente 300 g, 80 ng de felipressina e levando-se em consideração que o peso deste animal é cerca de 33 vezes menor do que o peso de um homem adulto com 70 kg e, caso fosse possível extrapolar a dose para o adulto, levando-se em consideração a diferença de peso entre o homem e o rato, teríamos que o que foi injetado em 1 animal seria equivalente ao volume de solução contida em cerca de 3 tubetes, injetados IV no adulto. O aumento na PAM, porém, observada nestes ratos foi em média de  $31 \pm 9$  mmHg.

Outros autores mostram ainda que a felipressina possui um pequeno risco de superdosagem, devido a poucos efeitos hemodinâmicos adversos. MEECHAN et al. em 2001 mostraram que, em crianças, a anestesia com felipressina produziu menores alterações hemodinâmicas do que a anestesia com adrenalina. HOWELLS *et. al.* (2000) verificaram menores efeitos adversos com a utilização da felipressina quando comparada à adrenalina, em anestesia ginecológica. O efeito potencializador do barorreflexo, demonstrado neste trabalho, pode ser um dos fatores responsáveis que contribuem para estes comportamentos de baixo risco.

Utilizando-se as informações dos parágrafos anteriores, pode-se dizer que, no que diz respeito à indução de hipertensão, a felipressina é mais segura quando comparada à adrenalina.

Além dos fatores hemodinâmicos relacionados à felipressina, a sua comparação à adrenalina mostra outras vantagens que esta droga pode apresentar, como o baixo efeito tóxico devido a sua alta DL50 (VOLPATO *et al.*, 1999); a indução de menor hiperglicemia em pacientes adultos saudáveis (MEECHAN, 1991); e menor queda na concentração de potássio no sangue de pacientes que ingerem diuréticos (MEECHAN & RAWLINS, 1992).

Finalmente, pode-se admitir que os resultados deste trabalho contribuem positivamente para a compreensão dos efeitos sistêmicos da felipressina, demonstrando a dependência dos receptores  $V_1$  para mediação de

suas alterações sobre o sistema cardiovascular e a dependência dos receptores  $V_1$  centrais e da área postrema para potencialização do barorreflexo por ela promovida.



## 7 CONCLUSÃO

Dentro das condições experimentais deste trabalho, pode-se concluir que a felipressina:

3 - depende dos receptores V1 para induzir o aumento na PAM e a bradicardia;

2 - potencializa o barorreflexo através dos receptores V1 centrais e da área postrema e que esta potencialização é importante para que seu efeito hipertensor seja menor;

3 - induz estes efeitos de forma semelhante à vasopressina.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS<sup>#</sup>

1. AELLIG, W.H. Cardiac effects of adrenaline and felypressin as vasoconstrictors of local anesthesia for oral surgery under diazepam sedation. **Br J Anaesth**, London, v.42, p.174-176, 1970.
2. ALTURA, B.M.; HERSHEY, S.G.; ZWEIFACH, B.W. Effect of a synthetic analogue of vasopressin on vascular smooth muscle. **Proc Soc Exp Biol Med**, New York, v.119, p.258-261, 1965.
3. APPLGATE, R.J.; HASSER, E.M.; BISHOP, V.S. Vagal cold block in area postrema-lesioned dogs. The interaction of vasopressin and the sympathetic nervous system. **Am J Physiol**, Bethesda, v.252, p.H153-H141, 1987.
4. BARAZANJI, M.W.; CORNISH, K.G. Vasopressin potentiates ventricular and arterial reflexes in the conscious nonhuman primate. **Am J Physiol**, Bethesda, v.256, p.H1546-H1552, 1989.
5. BEDI, A.; CARABINE, U. Peribulbar anaesthesia: a double-blind comparison of three local anaesthetic solutions. **Anaesthesia**, Oxford, v.54, n.1, p.67-71, Jan. 1999.
6. BENKUSKY, N.A.; LEWIS, S.J.; KOOY, N.W. Peroxynitrite-mediated attenuation of  $\alpha$  and  $\beta$  adrenoceptor agonist-induced vascular responses in vivo. **Eur J Pharmacol**, Amsterdam, v.364, p.151-158, 1999.

---

<sup>#</sup> Baseada na NBR-6023 de ago. 2000, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). Abreviatura dos títulos dos periódicos em conformidade com o MEDLINE.

7. BERDE, V.B.; WEIDMANN, H.; CERLETTI, A. Über phenylalanin<sup>2</sup>-lysin-vasopressin. **Helv Physiol Pharmacol Acta**, Basel, v.19, p.285-309, 1961.
8. BRAHMA, A.K. *et al.* Single medial injection peribulbar anaesthesia using prilocaine. **Anaesthesia**, Oxford, v.49, n.11, p.1003-1005, Nov. 1994.
9. BRAID, D.P.; SCOTT, D.B. The systemic absorption of local analgesic drugs. **Br J Anaesth**, London, v.37, p.394-404, 1965.
10. BRAUN, H. Über einige neue örliche änasthetica (Stivain Alypin, Novacain). **Deut Med Wochenschr**, Berlin, v.31, p.1667-1671, 1905. *Apud* NEIDLE, E.A.; YAGIELA, J.A. *Op. cit.* Ref. 53.
11. BUCKINGHAM, J.C. Vasopressin receptors influencing the secretion of ACTH by the rat adenohypophysis. **J Endocrinol**, Bristol, v.113, p.389-396, 1987.
12. CAI, Y.; HAY, M.; BISHOP, V.S. Stimulation of area postrema by vasopressin and angiotensin II modulates neuronal activity in the nucleus tractus solitarius. **Brain Res**, Amsterdam, v.647, p.242-248, 1994.
13. CARDWELL, J.E.; CAWSON, R.A. A trial of lignocaine with 1:250,000 adrenaline. **Br J Oral Surg**, Edinburgh, v.7, n.1, p.7-11, July 1969.
14. CASSIDY, J.P.; PHERO, J.C.; GRAU, W.H. Epinephrine: systemic effects and varying concentrations in local anesthesia. **Anesth Prog**, Lawrence, v.36, p.289-297, 1986.

15. COELHO, E.T. *et al.* Prilocaine: an old anesthetic agent and a new ophthalmic procedure. **Ophthalmic Surg**, Thorofare, v.24, n.9, p.612-616, Sept. 1993.
16. COLLISTER, J.P.; OSBORN, J.W. The area postrema does not modulate the long term salt sensitivity of arterial pressure. **Am J Physiol**, Bethesda, v.275, p.R1209-R1217, 1998.
17. COTTLE, M.K. Degeneration studies of primary afferents of IXth and Xth cranial nerves in the cat. **J Comp Neurol**, New York, v.122, p.329-345, 1964.
18. COWLEY JR., A.W.; MONOS, E.; GUYTON, A.C. Interactions of vasopressin and the baroreceptor reflex system in the regulation of arterial blood pressure in the dog. **Circ Res**, Baltimore, v.34, p.505-514, 1974.
19. DI-CARLO, S.E. *et al.* The role of vasopressin in the pressor response to bilateral carotid occlusion. **J Auton Nerv Syst**, Amsterdam, v.27, p.1-10, 1989.
20. DU-VIGNEAUD, V.; GISH, V.; KATSOYANNIS, P. A synthetic preparation possessing biological properties associated with arginine vasopressin. **J Am Chem Soc**, Easton, v.76, p.4751-4752, 1954.
21. ELLIOTT, J.M.; WEST, M.J.; CHALMERS, J. Effects of vasopressin on heart rate in conscious rabbits. **J Cardiovasc Pharmacol**, Philadelphia, v.7, p.6-11, 1984.
22. FARAH, V.M.A. *et al.* Comparison of three methods for the determination of baroreflex sensitivity in conscious rats. **Braz J Med Biol Res**, Ribeirão Preto, v.32, p.361-369, 1999.

23. FERGUSON, A.V.; MARCUS, P. Area postrema stimulation induced cardiovascular changes in the rat. **Am J Physiol**, Bethesda, v.255, p.R850-R860, 1988.
24. GANGAROSA, L.P.; HALIK, F.J. A clinical evaluation of local anaesthetic solutions containing graded epinephrine concentrations. **Arch Oral Biol**, Oxford, v.12, p.611-621, 1967.
25. GOLDMAN, V.; EVERS, H. Prilocaine-felypressin: a new combination for dental analgesia. **Dent Pract Dent Rec**, Bristol, v.19, n.7, p.225-231, Mar. 1969.
26. GUHL, V. Die antidiuretische und pressorische wirksamkeit von arginin<sup>8</sup>vasopressin, lysin<sup>8</sup>-vasopressin und phenylalanin<sup>2</sup>-lysin<sup>8</sup>-vasopressin beim menshen. **Schweiz Med Wochenschr**, Basel, v.91, p.789, 1961.
27. GYTON, A.C. Regulação nervosa da circulação e controle rápido da pressão arterial. *In*: GYTON, A.C. **Tratado de fisiologia médica**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. cap.18, p.191-202.
28. HASSER, E.M.; BISHOP, V.S. Reflex effect of vasopressin after blockade of V<sub>1</sub> receptors in the area postrema. **Circ Res**, Baltimore, v.67, p.265-271, 1990.
29. HASSER, E.M.; BISHOP, V.S. Role of alpha-adrenergic mechanisms on responses to area postrema stimulation and circulating vasopressin. **Am J Physiol**, Bethesda, v.265, p.H530-H536, 1993.
30. HASSER, E.M.; BISHOP, V.S.; HAY, M. Interactions between vasopressin and baroreflex control of the sympathetic nervous system. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, Carlton, v.24, p.102-108, 1997.

31. HAY, M.; BISHOP, V.S. Effects of area postrema stimulation on neurons of the nucleus of the solitary tract. **Am J Physiol**, Bethesda, v.260, p.H1359-H1364, 1991a.
32. HAY, M.; BISHOP, V.S. Interactions of area postrema and solitary tract in the nucleus tractus solitarius. **Am J Physiol**, Bethesda, v.260, p.H1466-H1473, 1991b.
33. HIROTA, Y. *et al.* An echocardiographic study of patients with cardiovascular disease during dental treatment using local anesthesia. **J Oral Maxillofac Surg**, Philadelphia, v.44, p.116-121, 1986.
34. HOWELLS, R.E. *et al.* A comparison of the side effects of prilocaine with felypressin and lignocaine with adrenaline in large loop excision of the transformation zone of the cervix: results of a randomised trial. **BJOG**, New York, v.107, n.1, p.28-32, 2000.
35. JACKSON, E.K. Vasopressina e outros agentes que afetam a conservação renal de água. *In*: GOODMAN, G.A. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 9.ed. México : McGraw Hill, 1996. p.523-535.
36. JARD, S. *et al.* Vasopressin antagonists allow demonstration of a novel type of vasopressin receptor in the rat adenohypophysis. **Mol Pharmacol**, Bethesda, v.30, p.171-177, 1986.
37. JOHNSON, A.K.; GROSS, P.M. Circunventricular organs and brain homeostatic pathways. **FASEB J**, Bethesda, v.7, p.678-686, 1993.
38. KEESLING, G.R.; HINDS E.C. Optimal concentration of epinephrine in lidocaine solutions. **J Am Dent Assoc**, Chicago, v.66, p337-340, 1963.

39. KÖNIG, J.F.R.; KLIPPEL, R.A. **The rat brain. A stereotaxic atlas.** New York: Krieger R.E., 1963.
40. LIARD, J.F. *et al.* Cardiac output distribution during vasopressin infusion or dehydration in conscious dogs. **Am J Physiol**, Bethesda, v.243, p.H663-H669, 1982.
41. LIGHT, G.A.; RATTENBORG, C.; HOLADAY, D.A. A new vasoconstrictor-preliminary studies of phelypressin. **Anesth Analg**, Philadelphia, v.44, p.280-287, 1965.
42. LILIENTHAL, B. Cardiovascular responses to intraosseous injections of prilocaine containing vasoconstrictors. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, Saint Louis, v.42, n.5, p.552-558, Nov. 1976.
43. LOEWY, A.D.; SPYER, K. **Central regulation of autonomic functions.** New York: Oxford University Press, 1990.
44. LONGO, L.D. *et al.* Hemodynamic and renal effects of octapressin. **Proc Soc Exp Biol Med**, Cambridge, v.115, p.766-770, 1964.
45. LUK, J. *et al.* Role of  $V_1$  receptors in the action of vasopressin on the baroreflex control of heart rate. **Am J Physiol**, Bethesda, v.265, p.R524-R529, 1993.
46. MALAMED, S.F. **Manual de anestesia local.** 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. 225p.
47. MAXWELL, G.M. The cardiovascular effects of octapressin. **Arch Int. Pharmacodyn Ther**, v.158, p.17-23, 1965.

48. MEECHAN, J.G. The effects of dental local anaesthetics on blood glucose concentration in healthy volunteers and in patients having third molar surgery. **Br Dent J**, London, v.170, n.10, p.373-376, May 1991.
49. MEECHAN, J.G.; COLE, B.; WELBURY, R.R. The influence of two different dental local anaesthetic solutions on the haemodynamic responses of children undergoing restorative dentistry: a randomised, single-blind, split-mouth study. **Br Dent J**, London, v.190, n.9, p.502-504, 2001.
50. MEECHAN, J.G.; RAWLINS, M.D. The effects of two different local anaesthetic solutions administered for oral surgery on plasma potassium levels in patients taking kaliuretic diuretics. **Eur J Clin Pharmacol**, Berlin, v.42, n.2, p.155-158, 1992.
51. MEYER, R.; ALLEN, G.D. Blood volume studies in oral surgery: I. Operative and postoperative blood losses in relation to vasoconstrictors. **J Oral Surg**, Chicago, v.26, p.721-726, Nov. 1968.
52. MILLAY, D.J.; LARRABEE JR., W.F.; CARPENTER, R.L. Vasoconstrictors in facial plastic surgery. **Arch Otolaryngol Head Neck Surg**, Chicago, v.117, n.2, p.160-163, Feb. 1991.
53. MONTASTRUC, P.; DANG TRAN, L.; MONTASTRUC, J.L. Reduction of vagal pressor reflexes by neurohypophyseal peptides and related compounds. **Eur J Pharmacol**, Amsterdam, v.117, n.3, p.355-361, Nov. 1985.
54. MOREST, D.K. Experimental study of the projections of the nucleus of the tractus solitarius and the area postrema. **J Comp Neurol**, New York, v.130, p.227-300, 1967.



55. NEIDLE, E.A.; YAGIELA, J.A. **Farmacologia e terapêutica para dentistas**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991.
56. NIESEL, H.C.; KAISER, H. Can choice of medications and adjuvants reduce risks of local anesthetic complications? **ZWR**, Heidelberg, v.100, p.174-177, 1991.
57. NORDENRAM, A.; DANIELSSON, K. Local anaesthesia in elderly patients. An experimental study of oral infiltration anaesthesia. **Swed Dent J**, Jönköping, v.14, p.19-24, 1990.
58. OLGART, L.; GAZELIUS, B. Effects of adrenaline and felypressin (octapressin) on blood flow and sensory nerve activity in the tooth. **Acta Odontol Scand**, Oslo, v.35, p.69-75, 1977.
59. PHILLIPS, P.A. *et al.* Vasopressin receptors in rat brain and kidney: studies using a radio-iodinated V<sub>1</sub> receptor antagonist. **J Hypertens**, Philadelphia, v.6, p.S550-S553, 1988.
60. RAMACCIATO, J.C. *et al.* Perfil da utilização de anestésicos locais por cirurgiões-dentistas. **Pesqui Odontol Bras**, São Paulo, v. 15, Supl., p.81, 2001. (Resumo A084).
61. RANALI, J.; ANDRADE, E.D.; VOLPATO, M.C. Profilaxia, tratamento e controle do paciente com doença sistêmica ou que requer cuidados especiais. *In*: TODESCAN, F.F.; BOTTINO, M.A. (Coord.) **Atualização na clínica odontológica : a prática da clínica geral**. São Paulo: Artes Médicas, 1996. cap.28, p.765-792.
62. RIBOT, S. *et al.* Cardiovascular effects of phenylalanil-2-lysyl-8 vasopressin (PLV-2). **Am J Med Sci**, Philadelphia, v.246, p.479-484, 1963.

63. SHARABI, F.M. *et al.* Contrasting effects of vasopressin on baroreflex inhibition of lumbar sympathetic nerve activity. **Am J Physiol**, Bethesda, v.249, p.H922-H928, 1985.
64. SIEGEL, R.J.; VISTNES, L.M. Epinephrine requirements for effective hemostasis in local anesthetics. **Surg Forum**, Chicago, v.23. p.514-516, 1972.
65. STEBBINS, C.L. *et al.* Vasopressin acts in the area postrema to attenuate the exercise pressor reflex in anesthetized cats. **Am J Physiol**, Bethesda, v.274, n.43, p.H2116-H2122, 1998.
66. SVEEN, K. Effect of the addition of a vasoconstrictor to local anesthetic solution on operative and postoperative bleeding, analgesia and wound healing. **Int J Oral Surg**, Copenhagen, v.8, p.301-306, 1979.
67. TARPEY, S.B. *et al.* Differential effects of endotoxaemia on pressor and vasoconstrictor actions of angiotensin II and arginine vasopressin in conscious rats. **Br J Pharmacol**, London, v.123, p.1367-1374, 1998.
68. UNDESSER, K.P. *et al.* Interactions of vasopressin with the area postrema in arterial baroreflex function in conscious rabbits. **Circ Res**, Baltimore, v.56, p.410-417, 1985.
69. UNDESSER, K.P. *et al.* Role of central catecholamines on the potentiation of the baroreflex produced with vasopressin: a study using 6-hydroxydopamine. **Circ Res**, Baltimore, v.58, p.882-889, 1986.
70. VOLPATO, M.C. *et al.* Acute toxicity (LD50 and CD50) of lidocaine and prilocaine in combination with adrenaline and felypressin. **Indian J Dent Res**, Calcutta, v.10, n.4, p.138-144, Oct./Dec. 1999.

71. WALLACH, A.; LOEWY, A.D. Projections of the aortic nerve to the nucleus tractus solitarius in the rabbit. **Brain Res**, Amsterdam, v.188, p.247-251, 1980.
72. WATERSON, J.G. Interactions of adrenaline and POR-8 in vascular smooth muscle. **J Dent Res**, Washington, v.53, n.3, p.705, 1974. Abstract.
73. WISLOCKI, G.B.; PUTNAM, T.J. Note on the anatomy of the area postrema. **Anat Rec**, New York, v.19, p.281-287, 1920.
74. ZHANG, X.; ABDEL-RAHMAN, A.R.A., WOOLLES, W.R. Vasopressin receptors in the area postrema differentially modulate baroreceptors responses in rats. **Eur J Pharmacol**, Amsterdam, v.222, p.81-91, 1992.

## **BIBLIOGRAFIA CONSULTADA\***

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação – referências - elaboração. Rio de Janeiro, 2000. 22f.

CECCOTTI, H.M.; SOUSA, D.D. **Manual para normalização de dissertação e tese**. Piracicaba : FOP-Unicamp, 1999. 56f. Apostila.

GYTON, A.C. **Tratado de fisiologia médica**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.

---

\* Baseada na NBR-6023 de ago. 2000, da Associação Brasileira de Normas Técnicas.