# SOBRE A ACÇÃO PHYSIOLOGICA DO VENENO DO SAPO

III—VENENO DO SAPO (BUFO MARINUS) E MUSCULO LISO

PELO

DR. JAYME R. PEREIRA

(Assistente do Instituto)

Abel e Macht (¹) relataram ha tempos que a secreção venenosa do sapo (Bufo Marinus) contem adrenalina numa proporção excessivamente alta (5 °/°) e esta asserção dos autores Americanos tem sido assignalada em diversas publicações scientificas (²), (³), (⁴), e confirmada mesmo em trabalho original (⁵). Segundo se infére das citações feitas ás conclusões de Abel e Macht, estes experimentadores foram levados a admittir a existencia de adrenalina no veneno do sapo pelo facto de que o aço dos instrumentos com que a glandula parotoide do animal era cortada, tingia-se de uma coloração azul esverdeada, tal qual succede quando a mesma operação é praticada com as glandulas supra-renaes. (\*).

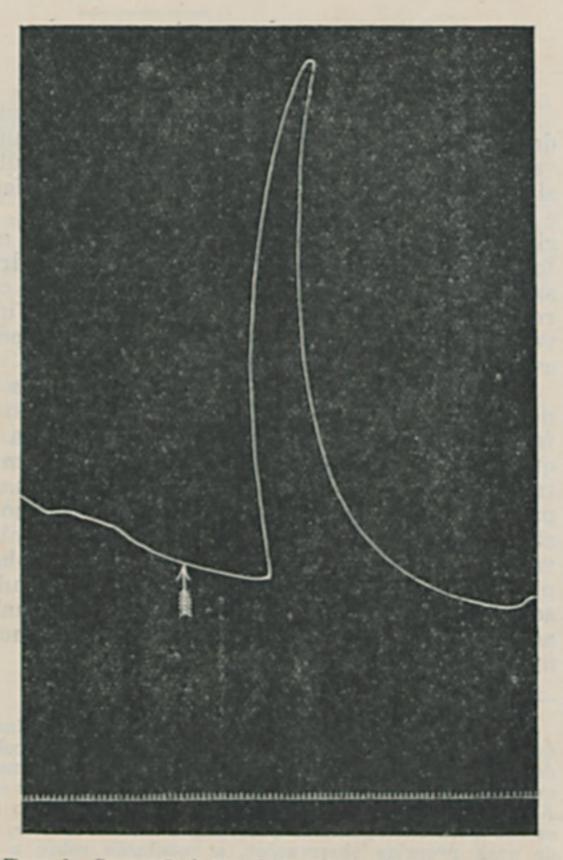
Por outro lado as reacções de natureza chimica a que o veneno tem sido submettido, mostram, segundo os autores, uma perfeita similiaridade entre esta substancia e a adrenalina, emquanto que as provas de natureza physiologica teem dado resultados contraproducentes, indicando, por vezes, semelhança e, por vezes, disparidade absolutas. Assim, a acção do veneno do sapo sobre a pressão sanguinea é identica á da adrenalina. Ambos provocam uma elevação notavel, sobretudo após a vagotomia bi-lateral. A dilatação pupilar que a adrenalina produz no olho enucleado da rã, póde tambem ser observada com o veneno do sapo. Tal qual succede ainda com a adrenalina, a injecção sub-cutanea do veneno, acarreta, no coelho, uma glycosuria accentuada.

<sup>(\*)</sup> Sómente depois de ter sido este artigo enviado para a composição, foi que tivemos ensejo de ler o trabalho original de Abel e Macht sobre o veneno do sapo (Bufo Agua), em uma separata que o primeiro desses autores teve a gentileza de nos enviar. Lendo-o, constatamos que as conclusões a que chegaram Abel e Macht dizem respeito não sómente ao estudo chimico, como tambem ao estudo pharmacodynamico practicados com\*o veneno. Segundo se póde deduzir de suas proprias observações, a conclusão sobre a existencia de adrenalina na secreção venenosa do sapo, foi tirada em virtude dos resultados obtidos com as provas de natureza chimica e das acções vaso-constrictora e dilatadora da pupilla exercidas pelo veneno.

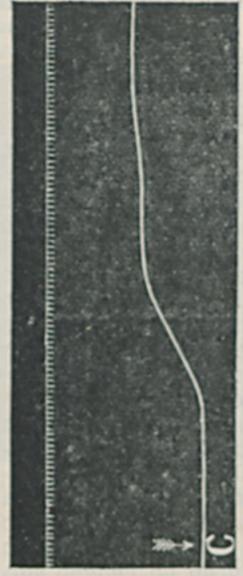
O veneno do sapo, segundo Novaro (5), que é o autor das observações acima citadas, provoca entretanto uma contracção intensa da preparação isolada do intestino do coelho e da cobaia. Esta acção do veneno é completamente opposta á da adrenalina, cuja acção inhibitoria sobre aquella preparação é tão notavel que por si só é bastante para evidenciar a adrenalina em soluções infinitamente diluidas, taes como 1:400.000.000, segundo Cannon e 1:800.000.000, segundo Stewart (6).

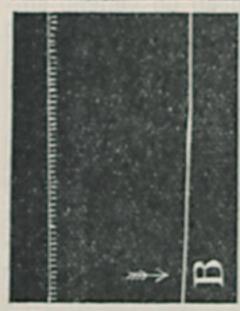
Por outro lado, Wieland (7), estudando a acção do veneno do sapo sobre o musculo cardiaco da rã, chegou á conclusão de que este veneno não encerra adrenalina. Estas observações levaram-nos a practicar uma serie de experiencias com o veneno do sapo utilisando diversas preparações de musculo liso retiradas do intestino e do utero do coelho, da bexiga e do estomago da cobaia, do utero do rato e do estomago, intestino e cloaca do sapo.

Methodo experimental: - Sempre que usamos animaes homeothermicos, estes eram mortos por pancada forte na parte posterior da cabeça e a porção do material destinado ás experiencias era então promptamente removida e collocada em um recipiente de vidro com solução salina isotonica aquecida a 37º C. Ahi era a preparação manipulada para ulterior fixação em um bastonete de vidro dobrado em forma de L, a cujo ramo horizontal uma das extremidades da preparação era amarrada, por fio de seda, sendo a outra extremidade ligada, tambem por fio de seda, directamente ao myographo. A preparação assim fixada era então introduzida em um pequeno vaso de vidro contendo solução salina isotonica ou solução de Locke-Ringer, e este vaso mergulhado, aquecida a 37º C. Ar era feito borbulhar



por sua vez, em agua Figura 1 - Preparação de musculatura circular de estomago do sapo. immersa em 50 c.c. de solução de Ringer. No ponto indicado pela flexa 10 milligrs, de veneno (I c.c.de 18) foram addicionados ao banho. Tempo egual a 1 segundo,







atravez da solução na qual a preparação estava immersa afim de manter o meio oxygenado.

Depois de registrarmos por alguns momentos os movimentos normaes (se estes eram presentes) e o gráo de tonicidade da preparação muscular, faziamos então agir sobre esta as soluções de veneno de sapo ou de adrenalina, conforme a experiencia em vista. Em alguns casos usamos a musculatura circular do estomago e a longitudinal da cloaca do sapo.

Nestes casos o S. N. C. do animal era previamente destruido, practicando-se então a abertura da cavidade abdominal para a retirada do material necessario ás experiencias.

Nestas, o material era mergulhado em solução salina isotonica (0, 7%) ou solução de Ringer á temperatura do laboratorio.

Resultados: - A acção do veneno do sapo sobre o musculo liso tem, na grande maioria dos casos, effeitos excitatorios. Contracções foram observadas com todas as preparações por nós usadas, provenientes de qualquer porção do tracto digestivo, como tambem do utero e da bexiga tanto dos animaes homeothermicos como dos de sangue frio. Na fig. 1 registramos uma contracção intensa da musculatura circular do estomago do sapo. O estomago e a bexiga da cobaia responderam sempre á acção do veneno de maneira analoga. Contracções foram egualmente obtidas com a musculatura do intestino e do utero do coelho, com o utero do rato e com a cloaca do sapo. Com esta ultima preparação tivemos occasião de observar dois factos que merecem, a nosso ver, registo especial. Um destes está exemplificado na fig. 2 na qual se vê: em A, uma contracção provocada pelo veneno; em B, a acção inefficaz da adrenalina e em C, nova contracção produzida pelo veneno. Neste caso, pois, o veneno provocou contracção mesmo após a acção, embora inefficaz, da adrenalina. Uma outra preparação da cloaca do sapo que normalmente apresentava contracções rhythmicas, respondeu á acção do veneno por uma maior contracção seguida de relaxamento pronunciado do tonus

er. Nos pontos indicados pelas flexas s adrenalina (P. D. a 1:10.000; em C, solução de Ring chlorhydrato de immersa B. I c.c. cloaca de sapo, i c.c. de 1%); em l segundo,

A.c.

64

Figura

foram addi-50 milligra.

Fig. 3. Semelhante resultado foi tambem observado com uma preparação de duodeno de coelho. Esta que antes da applicação apresentava uma actividade rhythmica accentuada, respondeu ao veneno com um relaxamento completo do tonus e parada das contracções rhythmicas (Fig. 4). Uma outra preparação de duodeno do mesmo animal, suspensa algum tempo depois da experiencia precedente, que não apresentava movimento algum e inteiramente relaxada, respondeu á mesma dóse de veneno com uma contracção pronunciada. A acção de uma forte dóse de veneno (100 milligrs.) sobre uma preparação de duodeno de sapo que se contrahia rhythmicamente, apenas provocou um reforço das contracções rhythmicas. Sobre esta mesma preparação a applicação de uma dose de adrenalina (1 c. c. de sol, a 1 ° °), produziu uma quéda consideravel do tonus e diminuição na amplitude das contracções rhythmicas. A fig. 5 exemplifica uma observação digna de destaque: uma metade de utero de rato que apresentava normalmente contracções rhythmicas bem pronunciadas, reagiu a uma dóse de 25 milligrs. de veneno com uma contracção extraordinariamente elevada. Logo após, a addição de 1 c. c. de sol. millesimal de adrenalina provocou phenomeno opposto. Suspensa a outra metade do utero, esta mostrou-se inteiramente inerte (Fig. 6), reagindo por uma contracção intensa á dóse de 50 milligrs. de veneno (A). A solução de veneno empregada nesta ultima esperiencia havia sido preparada 8 mezes antes, tendo sido conservada durante todo este tempo em um balão de vidro transparente e fechado com um tampão de algodão, permittindo assim que a solução do veneno soffresse a acção da luz e do ar. Em (B), mais 10 milligrs. de veneno fresco (solução preparada no dia da experiencia) produziram nova contracção e aparecimento de actividade rhythmica.

Discussão:—Quando resolvemos estudar a acção do veneno do sapo sobre o musculo liso, tinhamos em mente tentar por este meio resolver, o problema da existencia ou não de adrenalina nesta substancia venenosa. As provas de natureza physiologica (muito mais sensiveis do que as de natureza chimica) invocadas em favor da primeira daquellas hypotheses, não me pareceram sufficientes. A acção vaso-constrictora do veneno de modo algum pode ser tomada como conclusiva, visto como esta acção é commum a um grande numero de substancias.

Por outro lado, a dilatação pupillar do olho enucleado da rã sob a influencia do veneno do sapo, poderia, quando muito, levantar a suspeita da existencia da adrenalina, mas nunca provar esta existencia. Contra o valor desta prova já se levantaram Commessatti (\*), que mostrou ser esta dilatação tambem observavel com o chloreto de sodio e Waterman (\*), que observou o mesmo phenomeno usando a urina e o sôro sanguineo. Com relação á glycosuria provocada pela injecção sub-cutanea do veneno, podemos tambem acrescentar que não somente a adrenalina, mas tambem muitas substancias como o ether, o chloroformio, a quinina, a picrotoxina, o curare, a morphina e outras mais possuem acção semelhante quando administrada pela mesma via.

Stewart recommenda para a pesquiza da adrenalina em uma solução qualquer, usar-se duas preparações de musculo liso que respondam differentemente á acção da adrenalina, isto é, uma por contracção e outra por inhibição.

O veneno do sapo agindo sobre a musculatura intestinal tem dado resultados oppostos, provocando ora contracção e ora relaxamento.

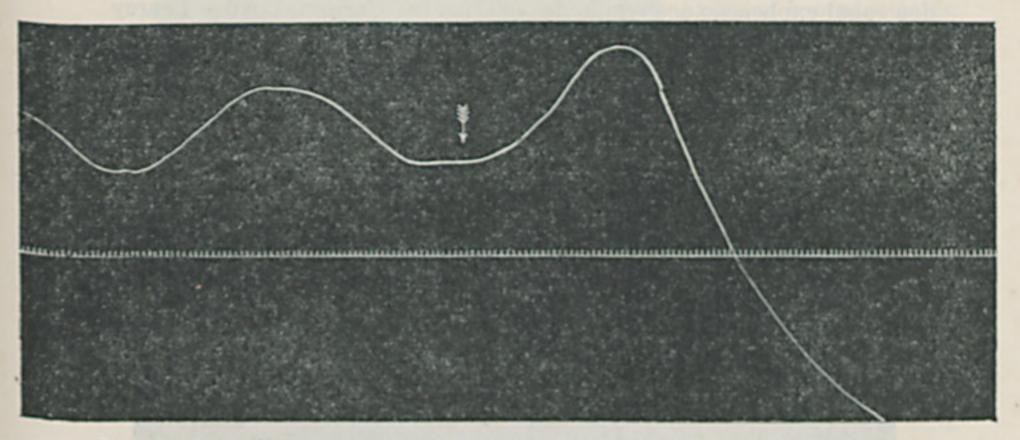


Figura 3 — Preparação de musculatura longitudinal de chaca de sapo, immersa em 50 c.c. de solução de Ringer, No ponto indicado pela flexa 10 milligra, de veneno (10 c.c. de 1 %) foram addicionados ao banho. Tempo egual a I segundo.

O utero do coelho responde sempre por contracção (como alliás

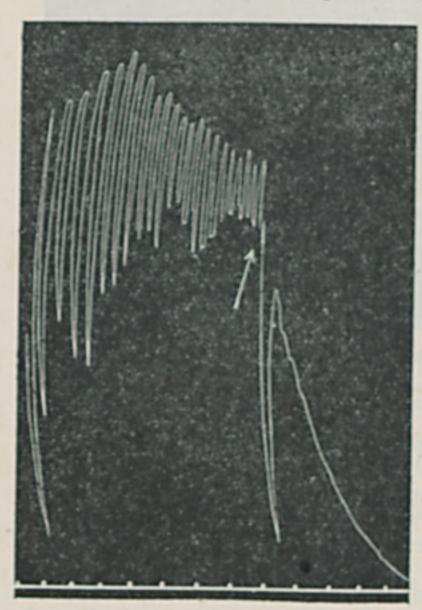


Figura 4 — Preparação de musculatura longitudinal de duodeno de coelho, immersa em 50 c.c., de solução de Ringer-Locke. No ponto indicado pela flexa 100 milligrs. de veneno (10 c.c. de %) foram addicionados ao banho, Tempo egual a 30 segundos.

acontece com a adrenalina) e o utero do rato que é inhibido pela adrenalina, mostra-se activado pelo veneno do sapo. De um modo geral e de accordo com as nossas experiencias, pode-se admittir que o veneno do sapo tem acção excitatoria sobre o musculo liso. Para corroborar esta affirmativa ha ainda o facto bastante significativo de que a injecção endo-venosa de uma solução de veneno, no cão, provoca exagerado peristaltismo, em completa opposição ao que succede com uma injecção endo-venosa de adrenalina.

Como relatamos no capitulo anterior, tivemos occasião de observar, por vezes, uma acção sympathicomimetica do veneno do sapo. Uma preparação de cloaca do sapo e outra de duodeno do coelho responderam á acção do veneno por uma inhibição pronunciada do tonus e das contracções rhythmicas. Não seria difficil interpretar estes resultados, quando se sabe que uma

excitação feita com uma frequencia excessivamente alta, póde produzir a inhibição do elemento contractil da fibra muscular (10), (11) e (12). Veach baseado em suas observações sobre a inervação do musculo liso, deu cabal explicação aos resultados obtidos por Carlson, Boyd e Pearcy que observaram inhibição e contracção do cardia por excitação do nervo vago, quando aquella preparação se achava em estado de tonus ou de relaxamento, respectivamente (Inhibição de Wedenski). Se o cardia já se achava hypertonico, a excitação do vago, augmentando o numero de impulsos excitatorios já existentes, produzia relaxamento.

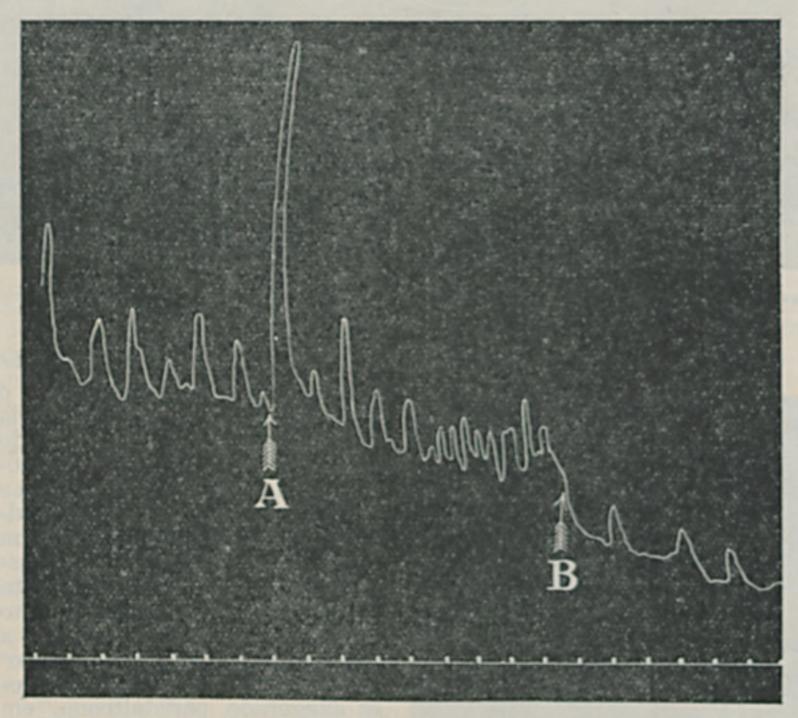


Figura 5 — Preparação de utero de rato (metade longitudinal do utero e respectivo corno uterino) immersa em % c.c. de solução de Ringer-Locke. Nos pontos indicados pelas flexas foram addicionados: em A, 25 milligrs, de veneno (2,5 c.c. de 1 %) e em B, 1 c.c. de solução millesimal de chlorhydrato de adrenalina (P. D.). Tempo egual a 30 segundos.

Não nos parece ter outra explicação os factos por nós observados. Os unicos casos de inhibição que observamos com o veneno do sapo, foram aquelles em que as preparações musculares se apresentavam hypertonicas. Nestes casos, pois, a addição de um agente chimico excitador, como nos parece ser o veneno do sapo, apenas augmenta o numero de impulsos que chegam ao elemento conductor de fibra muscular, de forma que cada impulso caminha dentro do periodo refractario deixado pelo impulso precedente, tornando-se por isso de valor excitatorio abaixo do limiar e por conseguinte insufficiente para pôr em actividade o elemento contractil da fibra. Se o tonus inicial da preparação é baixo, o veneno do sapo provoca sempre a sua ele-

vação e mesmo o apparecimento de contracções rhythmicas, se estas já não estavam presentes . (Ver fig. 6, B) .

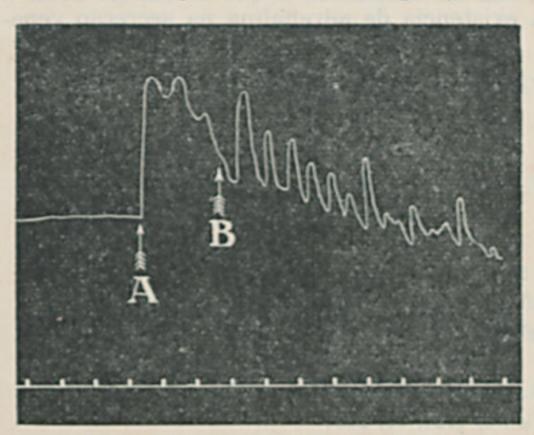


Figura 6 — Preparação de utero de rato (metade longitudinal do utero e respectivo corno uterino) immersa em 50 c.c. de solução de Ringer-Locke. Mesmo animal de Figura 5. Nos pontos indicados pelas flexas, foram addicionados: em A. 50 milligrs. de veneno (5 c.c. de uma solução a 1%, preparada 8 mezes antes) e em B. 50 milligrs, de veneno (5 c.c. de uma solução a 1%, preparada no dia da experiencia).

Assumindo como verdadeira a conclusão de Abel e Macht de que o veneno do sapo contém nunca menos de 5 % (podendo attingir a 6, 72 %) de adrenalina, e tendo nos usado em nossas experiencias soluções de veneno cujos titulos variaram entre 1:500 á 1:5.000, podemos admittir que as nossas soluções de veneno correspondiam a soluções de adrenalina em concentrações de 1:10.000 a 1:100.000. Gruber (13), que mais extensivamente estudou a acção da adrenalina sobre a musculatura do tracto digestivo da ra, concluiu que «as

soluções fracas de adrenalina augmentam o tonus e em alguns cas s o numero e a força das contracções de ambas as camadas musculares do estomago, do intesino delgado, do recto e da cloaca da rã. As solucões fortes produzem relaxamento de todos estes orgãos". Nas suas experiencias, Gruber usou soluções de titulos variando entre 1:100.000 a 1:1.000.000.000, sendo que em poucos casos a solução attingiu ás proporções baixas de 1:10.000 e 1:1000. As soluções usadas em nossas experiencias (1:10.000 a 1:100.000) correspondem portanto as soluções fortes de Gruber e desta maneira ellas deveriam provocar a inhibição das preparações musculares do tracto digestivo do sapo. assumindo uma possivel similiaridade funccional do tracto digestivo deste animal com o da rã-sapo (Bull frog) usada por Gruber. Tal porém não succede. Não levando em conta os casos excepcionaes em que o veneno produziu effeitos inhibitorios e que podem ser perfeitamente explicados de accôrdo com o phenomeno inhibitorio de Wedenski, o veneno sempre se mostrou excitatorio, razão porque duvidamos da conclusão dos autores que acreditam existir adrenalina na secreção venenosa do sapo.

### CONCLUSÕES:

1. A secreção venenosa do sapo (Bufo Marinus) tem acção excitatoria sobre a musculatura lisa do tracto digestivo do coelho e do sapo, do utero do coelho e do rato, da bexiga e do estomago da cobaia.

2. Em alguns casos, quando o tonus da preparação muscular é normalmente elevado, o veneno do sapo póde provocar a sua inhibição, por um phenomeno identico ao da inhibição de Wendenski.

3. Os resultados obtidos com aquellas diversas preparações de musculo liso, não supportam as conclusões a que chegaram Abel e Macht e Novaro sobre a existencia de adrenalina na secreção venenosa do sapo.

#### REFERENCIAS:

- (1) Abel and Macht: Jour. of Pharmac. and Exp. Therap. 1911, 3, 319.
- (2) Stewart: A Manual of Physiology. 1918, pag. 635.
- (3) Swale Vincent: Introd. to the Study of Secretion. 1924, pag. 67.
- (4) Bayliss: Principles of General Physiology. 1925, pag. 733.
- (5) Novaro: Comp. Rend. Soc. Biol. 1923, 88, 371.
- (6) Cit. por Sharpey-Schafer: The Endocrine Organs, 1924, pag. 152.
- (7) Wieland: Bioch. Zeitschirift. 1921, 127.
- (8) Commessati: Arch. f. Exp. Path. u. Pharmak. 1909, 60, 233.
- (9) Waterman: Deut. Med. Wochensch. 1908, 34, 1102.
- (10) Veach and Pereira: Science, 1924, 60, 225.
- (11) Pereira: Jour. de Physiol. et Pathol. Gen. 1925, 23, 549.
- (12) Veach and Pereira: Am. Jour. of Physiol. 1925, 74, 257.
- (13) Gruber: Jour. of Pharmac. and Exp. Trerap. 1922, 20, 321.

with the street of the street · Chi abrata della compania della co

# SUR L'ACTION PHYSIOLOGIQUE DU VENIN DE CRAPAUD

III—VENIN DU CRAPAUD (BUFO MARINUS) ET MUSCLE LISSE

TAR LE

DR. JAYME R. PEREIRA

### SOMMAIRE

Divers auteurs, se basant sur des preuves chimiques ont signalé la présence d'adrénaline en quantité élevée (5 °/°) dans le venin de crapaud; les preuves physiologiques sont au contraire peu nettes et d'autres auteurs ont nié l'existence de ce produit dans le venin.

L'Auteur a étudié comparativement l'action de l'adrénaline et du venin de crapaud (Bufo marinus) sur la fibre musculaire lisse du tractus digestif du lapin et du propre crapaud, de l'utérus du lapin et du rat, de la vessie et de l'estomac du cobaye, du cloaque du crapaud.

Résultats:—Le venin de crapaud en solution à 1:500 à 1:5000, exerce une action excitante sur la fibre musculaire lisse, même après l'action inefficace de l'adrénaline. En quelques cas, lorsque le tonus de la préparation musculaire est normalement élevé, le venin de crapaud peut provoquer son inhibition par un phénomène identique à celui de l'inhibition de Wedenski.

En dehors de ce cas particulier, le venin de crapaud ayant toujours montré une forte action excitante sur la fibre musculaire lisse, l'Auteur ne croit pas à l'existence de l'adrénaline dans cette sècretion.