

2.304.220
CH 21273
02/07/99

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
Centro de Ciências da Saúde
Departamento de Fisiologia e Farmacologia

UFCE	BIBLIOTECA UNIVERSITÁRIA
Nº. R 1131303	
02 107 199	

**EFEITOS DA ESTIMULAÇÃO IMUNOLÓGICA E FARMACOLÓGICA
SOBRE A TRANSMISSÃO SINÁPTICA NO GÂNGLIO CERVICAL
SUPERIOR DE MAMÍFEROS**

ALINE ALICE CAVALCANTE DE ALBUQUERQUE

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Farmacologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará para obtenção do Título de Doutor em Farmacologia.

7638
EDIC. 14
N. 1131303
02/07/99

Orientador :
Prof. José Henrique Leal Cardoso

Fortaleza - CE
1997

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Farmacologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Farmacologia, encontrando-se à disposição dos interessados na Biblioteca Central da referida Universidade.

Parte desta Tese está publicada como trabalho completo no periódico *Autonomic Nervous System* **61**:139-144,1996; e como short communication no periódico *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* **30**:909-912,1997.

A citação de qualquer trecho desta Tese é permitida, desde que seja feita de conformidade com as normas da ética científica.

Aline Alice Cavalcante de Albuquerque

Tese Aprovada em : 12/09/1994

Prof. José Henrique Leal Cardoso, Ph.D. (Orientador)
Prof. Titular da UFC

Prof. Aldo Angelo Moreira Lima, Doutor
Prof. Adjunto da UFCE

Prof. Talapala Naidu, Ph.D.
Prof. Adjunto da UFCE

Prof. Gilberto Fernando Xavier, Doutor
Prof. Assistente da USP

Prof. Mohamed Saad Lahlou, Doutor
Prof. Visitante da UFPe



A Deus

UNIVERSITY OF TORONTO LIBRARY

À memória de meu pai



Aos meus tesouros
Clayrton, Julliana,
Jamille e Gustavo.

AGRADECIMENTOS

No momento em que atinjo esse importante degrau de minha vida profissional, gostaria de agradecer a todos aqueles, que de alguma forma contribuíram para esse objetivo.

De forma muito especial, gostaria de agradecer ao Prof. José Henrique Leal Cardoso, meu orientador e acima de tudo um grande amigo, responsável pela minha formação científica, pelo seu exemplo, apoio, incentivo, confiança e inestimável ajuda no decorrer desse trabalho.

Também de modo especial, gostaria de deixar explícito meus sinceros agradecimentos ao Dr. Daniel Weinreich, meu orientador nos Estados Unidos, um ser humano de inestimável valor, por sua gentileza e consideração, por seu exemplo de homem da ciência, e por ter me proporcionado todas as condições para a execução desse trabalho.

Aos amigos Glen Taylor e Samir Jafri, meus mestres e anjos da guarda, pela indispensável ajuda na fase inicial e mais difícil de meu trabalho experimental.

Aos Drs. John Hamlyn e Paolo Manunta, do Departamento de Fisiologia da Universidade de Maryland, pelo apoio científico, pelo fornecimento dos animais hipertensos utilizados nesse trabalho, e pelo carinho e amizade.

Ao Dr. Brad Udem e sua equipe, da John Hopkins University, pela atenção e pronto atendimento nas dosagens de histamina e fornecimento de órgãos para experimentação.

À Universidade Federal do Ceará por me proporcionar a oportunidade de me qualificar.

Ao Departamento de Fisiologia e Farmacologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Ceará, na pessoa de todos os seus funcionários e professores, pelo incentivo e apoio que tem dado a todos aqueles que procuram se qualificar.

De modo especial, aos queridos companheiros da disciplina Fisiologia, que num gesto de apoio e amizade assumiram total ou parcialmente minhas atividades didáticas.

À coordenação do Curso de Pós-Graduação em Farmacologia, na pessoa dos Professores Manoel Odorico de Moraes e Khrisnamurti de Moraes Carvalho, pelo apoio, incentivo e amizade.

Aos Secretários do Curso de Pós-graduação em Farmacologia, Vasco Pinheiro Diógenes Bastos e Silvia Maria de Azevedo Lima, pelo carinho e atenção a mim dispensados.

À Profa. Andreлина Noronha Coelho de Sousa, pelo apoio, incentivo e amizade a mim dedicados, durante a realização desse trabalho.

À todos aqueles que fazem o Laboratório de Eletrofisiologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia- técnico, bolsistas de graduação, pós-graduandos e professores - pelo carinho e amizade.

Aos meus filhos e meus tesouros, Julliana, Jamille e Gustavo, que na inocência de crianças, muitas vezes deixaram de compreender a minha ausência, mesmo estando presente, minha falta de tempo e a minha dedicação aos livros, mas que por amor e carinho as aceitavam.

Ao NIH, CAPES, CNPq e FUNCAP pelo imprecendível apoio financeiro.

Aos animais utilizados nesse trabalho (ratos e cobaios) que com o alto preço de suas vidas permitiram a aquisição de novos conhecimentos, minha reverência e respeito.

Enfim, a DEUS por me possibilitar atingir esse degrau, permitindo a realização desse trabalho, me servindo de porto seguro durante os momentos mais difíceis, e pela SUA presença constante em minha vida.

“Imagination is more important than knowledge”

Albert Einstein

SUMÁRIO

	pag.
Agradecimentos	vi
Lista de Figuras	xv
Lista de Tabelas	xvii
Lista de Abreviaturas	xx
Resumo	xxiv
Capítulo I : Introdução Geral	01
1.Sistema Nervoso Autônomo	02
2.Desenvolvimento Histórico do Conceito da Transmissão Ganglionar. Aspectos Anatômicos e Morfológicos	07
3.Transmissão Ganglionar Simpática	14
4.Gânglio Cervical Superior (SCG)	22
5.Potenciação Pós-Tetânica (PTP)	33
6.Potenciação de Longa Duração (LTP)	36
7.Associação entre o ANS e o Sistema Imunológico	62
8.Associação entre o ANS e os Mastócitos	64
9.Mastócitos	74
10.ANS e Hipertensão	82
11.Objetivos	90
Capítulo II : Comparações das Alterações Eletrofisiológicas Induzidas pelo Choque Antigênico no Gânglio Cervical Superior (SCG) de Cobaio Sensibilizado Ativa e Passivamente	92

1.Introdução	93
2.Métodos	96
2.1.Animais	96
2.2.Sensibilização dos Animais	97
2.2.1.Sensibilização ativa	97
2.2.2.Sensibilização passiva	97
2.2.2.1. <i>in vivo</i>	97
2.2.2.2. <i>in vitro</i>	98
2.3.Obtenção dos Sôros e dos Controles	98
2.4.Estudo da Liberação de Histamina	99
2.5.Preparação dos Tecidos e Protocolo Experimental	99
2.6.Registro Eletrofisiológico	102
2.7.Análise dos Dados	103
2.8.Preparação e Fontes das Substancias Químicas	106
2.9.Análise Estatística	106
3.Resultados	107
3.1.Caracterização da potenciação ganglionar que segue a sensibilização ativa	107
3.2.Caracterização da potenciação ganglionar que segue a sensibilização passiva (<i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>)	107
3.3.Experimentos Controles (<i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>)	108
3.4.Liberação de histamina induzida pelo antígeno de SCGs sensibilizados ativa e passivamente	110
4. Discussão	114

Durante o Choque Antigênico, no Desenvolvimento das Mudanças Eletrofisiológicas que Ocorrem nos Neurônios Ganglionares	121
1.Introdução	122
2.Métodos	162
2.1.Animais	162
2.2.Preparação dos Tecidos e Protocolo Experimental	163
2.3.Registro Eletrofisiológico	163
2.4.Análise dos Dados	163
2.5. Fontes das Substancias Químicas	163
2.6.Análise Estatística	163
3. Resultados	164
3.1.Mediadores Inflamatórios	164
3.1.1.Fator de Ativação Plaquetária (PAF)	164
3.1.2.Composto U44619	167
3.1.3.Prostaglandinas	167
3.1.4.Bradicinina	170
3.1.5.Fator de Necrose Tumoral (TNF α)	170
3.1.6.Endotelina-1 (ET-1)	172
3.2.Antígeno Sensibilizante	173
4. Discussão	176
Capítulo IV : Estudo das Alterações nas Funções Sinápticas Ganglionares Produzidas pela Hipertensão Experimental	185
1.Introdução	186

2.Métodos	199
2.1.Produção da Hipertensão Experimental	199
2.1.1.Animais	199
2.1.2.Infusão da Ouabaina	200
2.1.3.Medidas da Pressão Arterial	200
2.2.Preparação dos Tecidos e Protocolo Experimental	201
2.3.Registro Eletrofisiológico	202
2.4.Análise dos Dados	203
2.5.Preparação e Fontes das Substancias Químicas	203
2.6.Análise Estatística	204
3. Resultados	204
3.1.Efeitos na pressão arterial média (PAM) produzidos pelo tratamento crônico com digitálicos	204
3.2.Alteração no potencial de ação composto basal (CAPb) produzida pelo tratamento crônico com digitálicos	204
3.3.Efeitos da potenciação pós-tetânica (PTP) produzida pela aplicação de um trem de estimulação (Buzz; 40 Hz/ 20 seg)	205
3.4.Correlação entre os Aspectos de Input/Output após o tratamento prolongado com Ouabaina	211
4.Discussão	212
Summary	222
Referências Bibliográficas	225

LISTA DE FIGURAS

	pag.
Fig. I-1. - Desenho esquemático das divisões simpática e parassimpática do Sistema Nervoso Autônomo	04
Fig. I-2. - Gânglio cervical superior de gato e seus nervos	24
Fig. I-3. - Respostas elétricas dos nervos do gânglio cervical superior de gato a um simples estímulo aplicado ao nervo simpático cervical	31
Fig. II-1 - Esquemas de sensibilização ativa e sensibilização passiva <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>	100
Fig. II-2 - Desenho esquemático do setup de trabalho	104
Fig. II-3 - Curso temporal da potenciação na transmissão sináptica induzida pelo choque antigênico no gânglio cervical superior (SCG) de cobaio sensibilizado ativamente à Ovalbumina (OVA; 10 µg/ml)	109
Fig. II-4. -.Curso temporal da potenciação na transmissão sináptica induzida pelo choque antigênico no gânglio cervical superior (SCG) de cobaio sensibilizado passivamente <i>in vivo</i> à Ovalbumina (OVA; 10 µg/ml)	111
Fig. II-5. - Curso temporal da potenciação na transmissão si-	

- náptica induzida pelo choque antigênico no gânglio cervical superior (SCG) de cobaio sensibilizado passivamente *in vitro* à Ovalbumina (OVA; 10 µg/ml) 113
- Fig. II-6. - Gráfico característico do curso temporal da integral do CAP em 2 experimentos com antígenos não sensibilizantes 115
- Fig. III-1.-. Curso temporal da potenciação na transmissão sináptica induzida pela administração do Fator de Agregação Plaquetária (PAF; 0,3 µM) ao gânglio cervical superior (SCG) de cobaios 166
- Fig. III-2.-. Curso temporal da potenciação na transmissão sináptica induzida pela administração do composto U44619 (1,0 µM) ao gânglio cervical superior (SCG) de cobaios 168
- Fig. III-3.-. Curso temporal da potenciação na transmissão sináptica induzida pela administração de Prostaglandina D₂ (PGD₂; 1,0 µM) ao gânglio cervical superior (SCG) de cobaios 171
- Fig. III-4.-. Curso temporal da potenciação na transmissão sináptica induzida pela administração da Endotelina-1 (ET-1; 0,50 µM) ao gânglio cervical superior (SCG) de cobaios 175
- Fig. III-5. - Curso temporal da potenciação na transmissão sináptica induzida pelo choque antigênico no gânglio cervical superior (SCG) de cobaio sensibilizado ativamente à

Ovalbumina (OVA; 10 µg/ml)	177
Fig. IV-1.-. Alteração da pressão arterial média (PAM) produzida pelos vários tratamentos com digitálicos em ratos	206
Fig. IV-2.-. Alteração do potencial de ação composto pós-ganglionar na condição basal de estimulação (CAPb) produzida pelos vários tratamentos com digitálicos, em gânglio cervical superior (SCG) de ratos	208
Fig. IV-3.-. Características do curso temporal da potenciação pós-tetânica (PTP) em gânglio cervical superior (SCG) de ratos	209
Fig. IV-4.-. Alterações dos parâmetros do potencial de ação composto (CAP) pós-ganglionar após a aplicação de um trem de estimulação em gânglio cervical superior (SCG) de ratos	210
Fig. IV-5.-. Diagrama de dispersão dos valores de amplitude pico a pico do potencial de ação composto (CAP) pós-ganglionar (output) em função do correspondente valor pré-ganglionar (input) obtidos em gânglio cervical superior de rato	213
Fig. IV-6.-. Regressão linear da função input/output obtida em gânglio cervical superior (SCG) de rato	214

- Tabela IV-1.-. Valores da integral e da amplitude pico a pico do potencial de ação composto na condição basal de estimulação (CAPb) obtidos em gânglios cervicais superiores (SCGs) de ratos 215
- Tabela IV-2.-. Curso temporal das alterações dos valores da integral e da amplitude pico a pico do potencial de ação composto (CAP) pós-ganglionar após a aplicação de um trem de estimulação em gânglios cervicais superiores de ratos 216

LISTA DE ABREVIATURAS

ACh	- Acetilcolina
AChE	- Acetilcolinesterase
ADP	- Adenosina Difosfato
AHP	- Hiperpolarização lenta tardia
AIDS	- Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
A-LTP	- Potenciação de Longa Duração Induzida pelo Antígeno
ANS	- Sistema Nervoso Autônomo
APB	- Ácido 2-amino-4-fosfonobutírico
APV	- Ácido 2-amino-5-fosfonoaléico
ATP	- Trifosfato de Adenosina
A-V	- Atrio-Ventricular
BK	- Bradicinina
BMMC	- Mastócitos Derivados da Medula Óssea
BSA	- Albumina de Sôro Bovino
cAMP	- Monofosfato de Adenosina Cíclico
CAP	- Potencial de Ação Composto
CAPb	- Potencial de Ação Composto basal
CAPs	- Potenciais de Ação Compostos
C _{3a}	- Subproduto do Complemento
C _{4a}	- Subproduto do Complemento
C _{5a}	- Subproduto do Complemento
Células SIF	- Células Pequenas Intensamente Fluorescente
cGMP	- Monofosfato de Guanosina Cíclico
CGRP	- Peptídeo Relacionado Geneticamente à Calcitonina
CNS	- Sistema Nervoso Central
CO	- Monóxido de Carbono

CPP	- Ácido (3-[(+)-2-carboxipiperazina-4-il]-propil-1, fosfónico
DA	- Dopamina
DNA	- Ácido Desoxirribonucleico
E	- Epinefrina
EDRF	- Fator Relaxante Derivado do Endotélio
EGTA	- Ácido etileno glicol-bis-(beta-aminoetil eter)N,N,N',N'tetraacético
EPSP	- Potencial Excitatório Pós-Sináptico
ET	- Endotelina
ET _A	- Receptor tipo A para Endotelina
ET _B	- Receptor tipo B para Endotelina
ET _C	- Receptor tipo C para Endotelina
ET-1	- Endotelina-1
ET-2	- Endotelina-2
ET-3	- Endotelina-3
Fc	- Porção do Anticorpo IgE
FC _ε RI	- Receptor para Mastócito
FC _ε	- Receptor para Mastócito
FSH	- Hormônio Folículo Estimulante
GABA	- Ácido Gama Amino Butírico
H ₁	- Receptor para Histamina tipo 1
H ₂	- Receptor para Histamina tipo 2
H ₃	- Receptor para Histamina tipo 3
HETE	- Ácido hidroxieicasotetraenóico
HFR	- Fatores Liberadores da Histamina
5-HT	- 5-Hidroxi-Triptamina (Serotonina)
HPETE	- Ácido Hidroperoxieicasotetraenóico
Hz	- Hertz

Ic	- Canal de Potássio tipo C
IgE	- Imunoglobulina E
IgG	- Imunoglobulina G
IL	- Interleucina
IL-1	- Interleucina-1
IL-3	- Interleucina-3
IL-4	- Interleucina-4
IL-6	- Interleucina-6
IL-9	- Interleucina-9
IL-10	- Interleucina-10
I _{max}	-Potenciação máxima do CAP
I ₃₀	- Potenciação do CAP aos 30 minutos
IPSP	-Potencial Inibitório Pós-Sináptico
LH	- Hormônio Luteinizante
LHRH	- Hormônio Liberador do Hormônio Luteinizante
LPS	- Polissacarídeo Bacterial
LTs	- Leucotrienos
LTA ₄	- Leucotrieno A ₄
LTB ₄	- Leucotrieno B ₄
LTC ₄	- Leucotrieno C ₄
LTD ₄	- Leucotrieno D ₄
LTE ₄	- Leucotrieno E ₄
LTP	- Potenciação de Longa Duração
mcPAF	- Análogo do PAF
MCD	- Peptídeo Degranulador dos Mastócitos
MC _T	- Mastócito contendo Triptase
MC _{TC}	- Mastócito contendo Triptase e Quinase
MCTC	- Mastócitos do Tecido Conjuntivo

MMC	- Mastócitos da Mucosa
mRNA	- Ácido Ribonucleico mensageiro
N	- Número de Experimentos
NE	- Noradrenalina
NDGA	- Ácido nordihidroguaiarético
NGF	- Fator de Crescimento do Nervo
N-LTP	- Potenciação de Longa Duração Neurogênica
NMDA	- N-Metil-D-Aspartato
NO	- Óxido Nítrico
OVA	- Ovoalbumina
P	- Área do CAP
P2X	- Purinoceptor
PAF	- Fator de Ativação Plaquetária
PGs	- Prostaglandinas
PGA ₁	- Prostaglandina A ₁
PGB ₁	- Prostaglandina B ₁
PGD ₂	- Prostaglandina D ₂
PGE ₁	- Prostaglandina E ₁
PGE ₂	- Prostaglandina E ₂
PGF _{1α}	- Prostaglandina F _{1α}
PGF _{2α}	- Prostaglandina F _{2α}
PGH ₂	- Prostaglandina H ₂
PGG ₂	- Prostaglandina G ₂
PGI ₂	- Prostaglandina I ₂
PGX	- Prostaciclina
PHP ₁	- Hiperpolarização lenta
PKC	- Proteína Quinase C
PNS	- Sistema Nervoso Periférico

PTP	- Potenciação Pós-Tetânica
RNA	- Ácido Ribonucleico
RPM	- Rotações Por Minuto
S-A	- Sino-Atrial
SCG	- Gânglio Cervical Superior
SEM	- Erro Padrão da Média
SHR	- Ratos Espontaneamente Hipertensos
SRS-A	- Substancia de Reatividade Baixa da Anafilaxia
STP	- Potenciação de Curta Duração
t	- tempo
TNF α	- Fator de necrose tumoral alfa
TSC-GS	- Tronco Simpático Cervical-Glândula Submandibular
TXA ₂	- Tromboxano A ₂
TXB ₂	- Tromboxano B ₂
U44619	- Análogo do Tromboxano
VIC	- Constrictor Intestinal Vasoativo
VIP	- Peptídeo Intestinal Vasoativo
V _c	- Controle médio da integral
V _t	- Integral do CAP no tempo t

RESUMO

Este trabalho científico constou de três estudos realizados no gânglio cervical superior (SCG) isolados de mamíferos e superfundidos com solução nutritiva de Locke, equilibrada com O₂ (95%)/CO₂ (5%), a 37°C, nos dois primeiros e à temperatura ambiente no terceiro. Em todos eles investigou-se alterações na eficiência sináptica através da quantificação de alterações na integral e, em alguns casos, também na amplitude pico a pico do potencial de ação composto (CAP) pós-ganglionar evocado a partir da estimulação elétrica do tronco nervoso cervical simpático a frequências basais que variaram entre 0,2 e 0,033 Hz.

No primeiro estudo, realizado em SCG de cobaio, verificou-se a exequibilidade de indução de sensibilização passiva por dois métodos: i) injeção, em animal não sensibilizado, de soro de animal sensibilizado ativamente e ii) incubação de gânglio proveniente de animal não sensibilizado, em soro de animal sensibilizado ativamente. Como ambos os métodos induziram sensibilização, comparou-se a magnitude da alteração da integral do CAP e da liberação de histamina em gânglios sensibilizados ativamente (três injeções de 10 mg/kg de peso corpóreo) e passivamente pelos dois métodos acima descritos. A administração do antígeno sensibilizante, ovalbumina (OVA), aos SCGs sensibilizados pelos três métodos, produziu uma potenciação sustentada do CAP que perdurou por mais de 30 min (potenciação de longa duração induzida pelo antígeno (A-LTP)), e um aumento na liberação de histamina. Nem a magnitude, nem a duração da A-LTP induzida pelas sensibilizações passivas diferiram significativamente dos resultados obtidos com a sensibilização ativa. A magnitude da liberação de histamina foi menor nos casos de sensibilização passiva. A ocorrência de A-LTP em SCGs sensibilizados por métodos passivos indica que o componente celular específico do processo de sensibilização ativa

do sistema imunológico não é requerido para o desenvolvimento desse fenômeno e que as células e os mediadores responsáveis pela A-LTP são residentes dos gânglios simpáticos.

Tendo sido determinado previamente, que após o choque antigênico, ou seja, após a ativação dos mastócitos, ocorre a liberação de lipídios e mediadores peptidérgicos que podem modular a função sináptica, a segunda etapa desse estudo foi determinar se alguns mediadores derivados dos mastócitos, como a prostaglandina D₂ (PGD₂; 1,0 μM), o fator de agregação plaquetária (PAF; 0,3 μM), o composto U44619 (análogo do tromboxano; 1,0 μM), a bradicinina (BK; 100 μM), o fator de necrose tumoral (TNFα; 7,14 nM) e também a endotelina-1 (ET-1; 0,5 μM) induzem potenciação sináptica no gânglio cervical superior de cobaias, e comparar o efeito de cada um na transmissão sináptica com aquele induzido pelo antígeno sensibilizante (OVA; 10 μg/ml). Os experimentos foram realizados em SCGs isolados de cobaias machos adultos (200-250g) não sensibilizados ou sensibilizados ativamente à OVA, e mantidos em solução de Locke aerada à 37°C. A potenciação sináptica foi medida através das alterações na integral do potencial de ação composto pós-ganglionar (CAP). Todas as drogas testadas produziram potenciação de longa duração (≥ 30 min.; LTP) ou de curta duração (< 30 min; STP) na eficiência sináptica, como mostrado pelo aumento na integral do CAP pós-ganglionar. A magnitude da potenciação induzida pelo mediador em nenhum dos casos foi a mesma que aquela da potenciação de longa duração induzida pelo antígeno (A-LTP). O agente que melhor mimetizou o antígeno foi a PGD₂, a qual induziu um aumento de 75% na integral do CAP no caso da LTP (antígeno 94%) e um aumento de 34% para a STP (antígeno 91%). O aumento na integral do CAP induzido pelo PAF, U44619, BK, TNFα e ET-1 variou para a LTP de 34 a 47%, e para a STP de 0 a 26%. Esses resultados sugerem que os agentes investigados, podem interagir sinergicamente e assim, significativamente contribuir para a indução da A-LTP.

No terceiro estudo, realizado em SCG de rato, utilizando modelo de indução de hipertensão que consiste na administração contínua, por mais de um mes, de ouabaina (30 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de peso corpóreo/dia), compararam-se a integral e a amplitude pico a pico dos CAPs do ritmo basal de estimulação e após trem de estimulação (40 Hz/20 seg) para induzir potenciação pós-tetânica da transmissão sináptica (PTP) em quatro condições: i) controle, animais receberam infusão contínua do veículo; ii) pré-hipertensão, animais receberam ouabaina durante quatorze dias; iii) ouabaina, animais receberam ouabaina durante 47 dias; iv) digoxina, animais receberam 30 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de peso corpóreo/dia durante 35 dias. Apenas na condição ouabaina a pressão arterial média do rato se tornou significativamente mais alta do que no controle. Em todas as condições, exceto no controle, houve um aumento significativo da integral e da amplitude pico a pico do CAP do ritmo basal, o que sugere ser esta alteração relacionada com a administração prolongada dos glicosídeos cardioativos. A PTP foi alterada apenas na condição ouabaina, o que sugere que esta alteração esteja relacionada com a indução de hipertensão. Os dados deste estudo demonstram que a administração prolongada, contínua de glicosídeos cardioativos pode induzir alterações de parâmetros eletrofisiológicos ganglionares, cuja significância funcional não foi elucidada neste estudo.

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO GERAL

1. SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO

O Sistema Nervoso Autônomo (Autonomic Nervous System, ANS) é uma parte do Sistema Nervoso que participa de maneira importante na regulação das funções do organismo animal que independem do controle direto da volição e que se relacionam com a vida vegetativa e com reações instintivas de agressão e de fuga. Esse sistema é formado por uma coleção de neurônios motores, cujos neurossomas se situam no Sistema Nervoso Central (Central Nervous System, CNS) e em estruturas chamadas gânglios autonômicos, que são estruturas constituídas de neurônios, células gliais e do tecido conjuntivo que os rodeia.

Os gânglios autonômicos são ligados entre si e com o CNS por fibras nervosas e situam-se ou a distancia dos efetadores, com os quais se comunicam por nervos (gânglios extramurais), ou na intimidade desses efetadores (gânglios intramurais).

Todos os gânglios recebem fibras pré-ganglionares provenientes do CNS e enviam fibras pós-ganglionares para os efetadores : os músculos liso e cardíaco e as glândulas (KOIZUMI & BROOKS,1974).

Como originalmente definido por LANGLEY (1921), o ANS consiste de três sub-divisões : os sistemas **simpático**, **parassimpático** e **entérico**.

As divisões simpática e parassimpática têm funções que, apesar de frequentemente antagônicas, funcionam integradamente para manutenção da constância do meio interno, ou seja, da homeostase (LIVINGSTON,1991). Essas divisões apresentam diferenças anatômicas, farmacológicas e funcionais.

Anatomicamente, a inervação pré-ganglionar é proveniente, nos gânglios parassimpáticos, dos núcleos do III, VII, IX e X nervos cranianos e das porções sacrais da medula (S₂-S₄), enquanto nos gânglios simpáticos a inervação pré-ganglionar origina-se dos segmentos torácicos e lombares (T₁-L₃) da medula (RANSON & CLARCK, 1959) (Figura I-1).

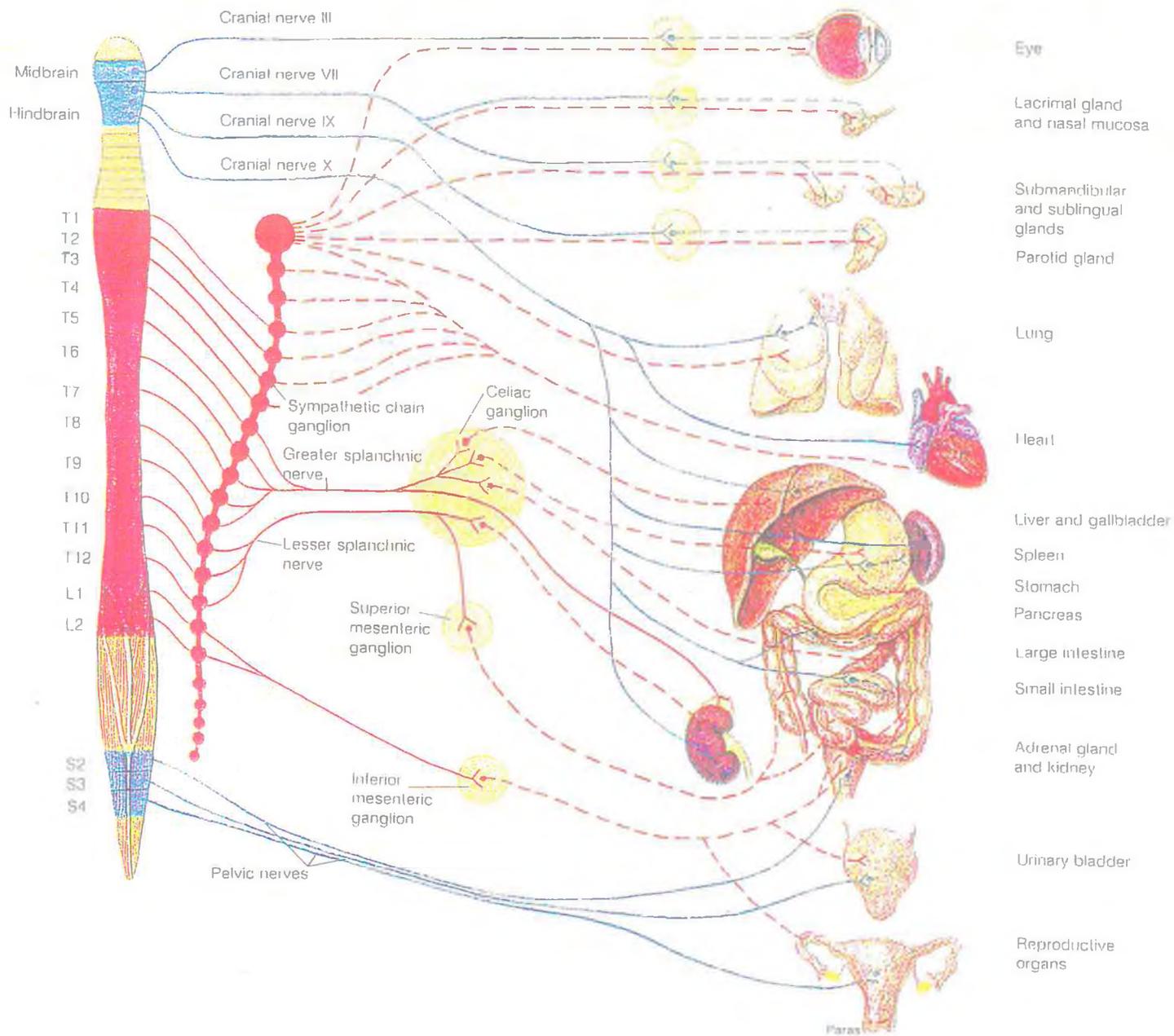
A divisão parassimpática apresenta gânglios do tipo **extramural** como o ciliar, esfenopalatino, ótico, submaxilar e o sublingual relacionados com os nervos cranianos, e **intramurais** relacionados com os nervos sacrais e os nervos vagos. Já os gânglios da divisão simpática são do tipo extramural, com exceção da medula da supra-renal. Como consequência, as fibras pós-ganglionares parassimpáticas são curtas e as simpáticas longas (LOEWI & SPYER,1990). Na divisão simpática, esses gânglios extramurais localizam-se próximo e lateralmente à coluna vertebral e na cavidade abdominal (Figura I-1).

Os primeiros constituem o chamado tronco simpático, principal componente da porção simpática do ANS, formado por uma cadeia de gânglios ligados por ramos interganglionares. Os gânglios dessa cadeia são chamados de gânglios paravertebrais ou simplesmente vertebrais devido localizarem-se nas proximidades das vértebras, ao nível das vértebras cervicais, torácicas, lombares e sacrais, ordenados à direita e a esquerda, numa série de 22 gânglios (Figura I-1). Cada gânglio se encontra ligado com o nervo espinhal correspondente através de dois ramos, o ramo comunicante branco e o ramo comunicante cinzento. As fibras pré-ganglionares entram no gânglio através do ramo comunicante branco, enquanto as fibras pós-ganglionares o deixam através do ramo comunicante cinzento e entram no nervo espinhal correspondente (RANSON & CLARCK,1959). Os principais são os gânglios cervicais superior, médio e inferior e o gânglio estrelar. Dentre esses gânglios, vale ressaltar o gânglio cervical superior (Superior Cervical Ganglion, SCG) - preparação biológica utilizada no presente trabalho de tese - o qual constitui uma bem conhecida preparação para o estudo da fisiologia e farmacologia da transmissão sináptica.

Os outros gânglios pertencentes à divisão simpática localizados na cavidade abdominal, são os chamados gânglios pré-vertebrais. Estes recebem fibras pré-ganglionares que se originam na medula e atravessam os gânglios paravertebrais sem realizar sinapse (SKOK,1973). Os principais são os gânglios

FIGURA I-1. DESENHO ESQUEMÁTICO DAS DIVISÕES SIMPÁTICA E PARASSIMPÁTICA DO SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO

Traços azuis cheios, representam as fibras pré-ganglionares parassimpáticas; traços azuis pontilhados, representam as fibras pós-ganglionares parassimpáticas; traços cheios vermelhos, representam as fibras pré-ganglionares simpáticas; traços pontilhados vermelhos, representam as fibras pós-ganglionares simpáticas. (Reproduzido de Human Physiology, Stuart I.Fox)



celíaco, mesentérico superior e os aórticos-renais, também chamados conjuntamente de plexo solar, e o gânglio mesentérico inferior (Figura I-1).

Do ponto de vista farmacológico, nas divisões simpática e parassimpática, o mediador entre os neurônios pré- e pós-ganglionar é a Acetilcolina (Acetylcholine, ACh), enquanto que entre o neurônio pós-ganglionar e o efetador é, principalmente, a Norepinefrina (Norepinephrine, NE) no simpático e a ACh no parassimpático. Entretanto, essa descrição dos mediadores do ANS, universalmente aceita até poucas décadas passadas está sendo progressivamente revisada e amplificada. A medida que se tem coletado evidências, surgem indicações de que outras substâncias, tais como neuropeptídeos (substância P; peptídeo intestinal vasoativo (Vasoactive Intestinal Peptide, VIP), bombesina, etc.), também participam como transmissores ou moduladores e/ou como mediadores (JAN & JAN,1982;KUFFLER & SEJNOWSKI,1983; HORN & STOFER,1988; LOEWI & SPYER,1990).

O sistema nervoso entérico situa-se totalmente na parede intestinal, começando no esôfago e estendendo-se até o ânus. É constituído por neurônios mioentéricos originados da crista neural, que colonizam as paredes intestinais antes que os neurônios simpáticos e parassimpáticos enviem seus prolongamentos. Nesse sistema, o número de neurônios é da ordem de 100.000.000, quase exatamente igual ao número em toda a medula espinhal, ilustrando a importância do mesmo para o controle da função gastrointestinal. Ele controla em particular, os movimentos e a secreção gastrointestinal.

Plexos mioentéricos periféricos apresentam uma desproporção entre os neurônios pré- e pós-ganglionares, grosseiramente da ordem de $10^5:1$, e nesse sistema a divisão celular pode continuar mesmo após a expressão fenotípica já ter sido estabelecida (GERSHON et al.,1983).

No sistema nervoso entérico os neurônios são encontrados dispostos em lâminas chamadas plexos. É assim formado, principalmente, por dois plexos,

um plexo externo, situado entre as camadas musculares longitudinal e circular, denominado plexo mioentérico ou plexo de Auerbach, e um plexo interno, denominado plexo submucoso ou plexo de Meissner. O plexo mioentérico controla principalmente os movimentos gastrointestinais, enquanto o plexo submucoso controla sobretudo a secreção gastrointestinal e o fluxo sanguíneo local.

Embora o sistema entérico possa funcionar por si mesmo, independentemente de nervos extrínsecos, a estimulação dos sistemas parassimpático e simpático pode ativar ou inibir ainda mais as funções gastrointestinais. Além disso, também existem terminações nervosas sensitivas que se originam no epitélio gastrointestinal ou na parede intestinal que desencadeiam reflexos locais no próprio intestino, bem como reflexos que são transmitidos para o intestino, a partir dos gânglios pré-vertebrais ou do CNS.

Os reflexos entéricos envolvem sinapses axo-axônicas adrenérgicas e colinérgicas, as quais se encontram largamente distribuídas no ANS. Entretanto, além da ACh e da Epinefrina (Epinephrine, E), como transmissores conhecidos, recentemente têm sido identificados uma série de diferentes substâncias que são liberadas pelas terminações nervosas de diferentes neurônios entéricos. Assim, a pressão intestinal interna libera serotonina (5-Hydroxy-Tryptamine, 5-HT) (GERSHON,1981; GERSHON et al.,1983), enquanto a inibição descendente necessária para o peristaltismo é controlada pela somatostatina. Outras substâncias liberadas além daquelas supra citadas, são o trifosfato de adenosina (Adenosine Triphosphate, ATP), dopamina (Dopamine, DA), colescistocinina, substância P, VIP, leu-encefalina, met-encefalina e bombesina. Tais substâncias têm sido encontradas participando como possíveis neurotransmissores, embora a função das mesmas como reais neurotransmissores ainda necessite de maiores comprovações.

2. DESENVOLVIMENTO HISTÓRICO DO CONCEITO DA TRANSMISSÃO GANGLIONAR : ASPECTOS ANATÔMICOS E MORFOLÓGICOS

É de costume se iniciar a história da pesquisa concernente as características anatômicas da transmissão ganglionar com os trabalhos de GASKELL (1886) e LANGLEY (1878;1921). Entretanto, tal história se inicia bem mais cedo com as observações de GALENO (129-200 A.D.) que descreveu sete pares de “protuberâncias ganglionares” dos nervos cranianos, que correspondiam aos gânglios cervical superior e nodoso e aos gânglios estrelar e celíaco. Ele também descreveu o tronco vagosimpático e seus ramos comunicantes. Mas mesmo assim, os estudos de GALENO foram precedidos por aqueles de HEROPHILUS (ca. 300 BC) e ERASISTRATUS (ca. 290 BC), uma vez que eles descreveram nervos periféricos, alguns dos quais podendo ser autonômicos.

As descrições dos nervos cranianos e do tronco vagosimpático por GALENO, foram posteriormente usadas ou plagiadas por VESALIUS (1543). A primeira separação clara do vago e dos nervos simpáticos foi obtida por ESTIENNE (1545), EUSTACHIO (1564) e REID (1634), que se referiram a esses últimos como “nervos intercostais”.

O tronco simpático foi descrito com maiores detalhes por WILLIS (1664), embora ele o tenha considerado como um ramo dos abducentes ou como um nervo craniano, nervos esplâncnicos, gânglios paravertebrais e plexos viscerais. Como seus antecessores, ele descreveu a função dos mesmos como um fluxo de “espíritos” originados no cérebro, e foi o primeiro a distinguir entre movimentos voluntários e “involuntários”.

Em 1727, PETIT determinou que a cadeia “intercostal” era de origem mais subcranial que cranial, demonstrando também que tal cadeia inervava o

olho. Por outro lado, os primeiros achados da natureza da influência vagal sobre o coração teve que esperar pelos trabalhos de WEBER & WEBER (1845), que demonstraram a ação inibitória vagal sobre o coração após a aplicação de um estímulo, através de um estimulador de Faraday, no nervo vago. Esse trabalho constituiu uma etapa fundamental no desenvolvimento das investigações relacionando a morfologia com a função.

Entretanto, esses pesquisadores, não foram os primeiros a estudar essa ligação. WINSLOW (1732), WHYTT (1751;1765), MECKEL (1751), JOHNSTONE (1764), e MONRO (1783) também contribuíram para os estudos morfológicos de mamíferos e foram os primeiros a usar o termo “gânglio” (MECKEL,1751). Tais autores, também descreveram plexos e a possível contribuição sensorial para os gânglios, bem como mostraram que os nervos aferentes eram estruturas diferentes dos pré-ganglionares, e re-nomearam os “intercostais” como “nervi sympathici maximi” (WINSLOW,1732). Eles também enfatizaram a geração de efeitos no “animal” via esses nervos no coração, intestino, bexiga e pupila. Algumas vezes eles se referiram a essas funções como sendo devidas a “sympathies” que os nervos pertinentes transportavam (WINSLOW,1732). Dessa forma, eles atribuíram “sensibilidade” a esses nervos e reconheceram o que hoje pode ser chamado de características reflexas das funções involuntárias (WHYTT,1765). Finalmente, ressaltando a complexa morfologia dos gânglios e seus fluxos externos simpáticos e a importância dos mesmos com respeito a atividades involuntárias e viscerais (BICHAT,1802), eles referiram-se aos gânglios como “pequenos cérebros” (WINSLOW,1732; JOHNSTONE,1764).

Entretanto, um maior grau de compreensão sobre a morfologia e a fisiologia ganglionar só foi desenvolvida no século XVIII, uma vez que foi somente aí que os pesquisadores tiveram um melhor entendimento da natureza homeostática da atividade ganglionar, do controle dos mesmos sobre a função

visceral e de seus papeis na relaao existente entre as emooes e seus efeitos funcionais.

O século XIX trouxe descrioes adicionais de nervos pós-ganglionares não-mielinizados (REMAK,1838), ramos comunicantes, e vias deixando os gânglios e se dirigindo para a espinha dorsal e para os efetores, bem como de gânglios especiais como o ótico, e descrioes de plexos (MEISSNER,1857; AUERBACH,1864).

O significado funcional dessas estruturas tornou-se claro com a descoberta da musculatura lisa na iris, útero, bexiga, vasos arteriais e trato gastrointestinal (para referências veja : PICK,1970). Contudo, a maior contribuiao para o entendimento do papel funcional do que hoje chamamos de ANS, foi dada pelos trabalhos de CLAUDE BERNARD (1852). Em seus experimentos, ele descobriu que a secao unilateral do “nervo simpático cervical...”, em coes, levava ao “aquecimento ipsilateral da cabeça” e a uma “circulaao sanguea mais ativa”. Esses achados foram considerados por BERNARD em conexão com o efeito das lesões do CNS sobre a circulaao corporal, descrito por P.FLOURENS (1824). Entretanto, o completo significado desses experimentos so foi esclarecido quando BROWN-SÉQUARD (1852) mostrou que a estimulaao galvânica de nervos simpáticos, de animais, gelava a pele e atenuava o fluxo sangueo cutâneo (veja também : PICK,1970).

Trabalhos subsequentes realizados por PFLUGER (1857) (veja: BROOKS,1979; BROOKS & SELLERS,1981), e particularmente BERNARD (1858;1878) levaram ao estabelecimento do papel do que hoje é referido como sistemas simpático e parassimpático no controle das funoes oculares, glandulares, vasculares, gastrointestinais e genitais, bem como de outras funoes. Além disso, BERNARD demonstrou a relaao entre esses fenômenos e a medula, e renunciando CANNON, enfatizou o papel homeostático dos sistemas envolvidos. Nesse contexto, é importante ressaltar a descoberta do nervo e do

reflexo inibidor, por LUDWIG (1866), o que o torna responsável pelo desenvolvimento do conceito de feedback (BROOKS & SELLER, 1981).

Ainda no século XIX, GASKELL e LANGLEY, combinaram um estudo completo da morfologia do Sistema Nervoso Periférico (Peripheral Nervous System, PNS) com a pertinente interpretação funcional.

GASKELL (1886;1916) traçou as raízes anterior e posterior dos nervos cranianos da “cadeia ganglionar lateral ou vertebral” e os ramos comunicantes, descrevendo os três pontos de saída das fibras medulares (hoje chamadas pré-ganglionares) ou seja, as saídas bulbar, toraco-lombar e sacral. Ele referiu-se a esse sistema como o sistema nervoso involuntário. Em adição, ele também descreveu “gânglios pré-vertebrais ou colaterais”, e finalmente discutiu a relação entre as raízes posteriores (i.e. sensoriais) e o gânglio, e suas raízes esplâncnicas. Uma vez que ele também estudou o papel funcional dos nervos “vagosimpáticos” (GASKELL, 1886) e os nervos cranianos no controle das atividades cardíacas, pupilares, e glandulares (salivares e lacrimais) ele fundamentalmente sugeriu a existência de um “arco-reflexo” análogo ao “arco reflexo voluntário”. Ou seja, uma aferência ou um receptor nervoso terminal no corno lateral da medula ou no núcleo vagal, e um nervo conector unindo o corno lateral ou o núcleo vagal com as células ganglionares simpáticas ou vagais. É também de particular importância o fato de que GASKELL (1886;1916) enfatizou seus achados e aqueles de outros pesquisadores, sugerindo que “cada... tecido... involuntário é inervado por dois conjuntos de fibras nervosas de características opostas”; ele também ressaltou que sua “explicação de inibição se aplicava ao que ocorria no CNS” e que o conceito de “atividade excitatória... e inibitória” dizia respeito a este último.

Esses achados de GASKELL, serviram como uma sólida base para os trabalhos de LANGLEY (1852-1925), que foi o primeiro investigador a fazer o uso sistêmico de ferramentas químicas e farmacológicas para investigar nervos ou funções sinápticas e seus sítios. Em seus estudos, LANGLEY primeiramente

utilizou a Pilocarpina, e subsequentemente a Nicotina (LANGLEY & DICKINSON,1889), com o intuito de mapear as células do sistema nervoso periférico que inervavam os efetores “involuntários”.

Esses e outros estudos levaram LANGLEY a definição de “neurônios pré- e pós-ganglionares” e do “sistema nervoso autônomo”, o qual adotou o sistema “parassimpático” descrito anteriormente por GASKELL como consistindo das saídas sacral e craniana, bem como as cadeias ganglionares pré-vertebrais e vertebrais.

LANGLEY, também demonstrou, via experimentos em que a nicotina foi aplicada diretamente no gânglio, que o sítio de ação bloqueadora da nicotina era o próprio gânglio, e não as terminações nervosas da saída simpática. Finalmente, LANGLEY (1921) reconheceu que os plexos de Auerbach e Meissner constituíam o “sistema entérico” independente, sem “nenhuma conexão significativa com a saída autonômica da espinha dorsal” (NORTH,1982). Nesse contexto, vale ressaltar a contribuição prévia de RAMÓN Y CAJAL (1892).

A descrição do ANS gerada no final de 1880 por GASKELL & LANGLEY que foi amplificada nos 25 anos seguintes por investigações relacionadas com o papel dos neurotransmissores, finalizou o entendimento essencial dos aspectos morfológicos e funcionais do sistema autonômico.

Dentre os importantes estágios do desenvolvimento do conhecimento da estrutura e função ganglionar, deve ser ressaltada a demonstração de que não somente as aferências periféricas (GASKELL,1886), mas também e, particularmente, as aferências viscerais (HERING & BREUER,1868; RANSON & BILLINGSLEY,1916) contribuem para o arco reflexo de GASKELL. O próprio LANGLEY contribuiu para esses estudos, e os estudos prévios da “dor visceral” foram importantes nesse contexto. De fato, desde o fim do século XIX, SCHAFER (1900) descreveu o comprimento do axônio e os reflexos ganglionares, bloqueio ganglionar e outros fenômenos.

Outros importantes achados relacionados a interconexões ganglionares referem-se as sua histologia e citologia. Assim, os processos axônicos e dendríticos das células autonômicas, identificados previamente por RAMÓN Y CAJAL (1881) serviram subsequentemente para a classificação anatômica das células autonômicas (RAMÓN Y CAJAL,1911; CARPENTER & CONEL,1914; veja também : BOTAR,1966). Dessa forma, muitos investigadores avaliaram o conteúdo das fibras, a razão de fibras pré- e pós-ganglionares e a contagem de células e a presença de gânglios aberrantes, sinapses ou fibras (KUNTZ,1938; PICK,1970). Além disso, esses estudos revelaram que os gânglios podem constituir estações de transmissão podendo subservir discretas interações entre vários inputs anatômicos, o que foi subsequentemente revelado como de natureza multitransmissora, caracterizando assim, a complexa morfologia ganglionar.

Finalmente, a estrutura citológica mais fina das células ganglionares que inclui : mitocôndrias, aparelho de Golgi, neuroglia, especializações sub- e pré-sináptica, e vesículas pré-sinápticas, foi descrita por PALAY & PALADE (1955) e DeROBERTIS & BENNETT (1955), embora a identificação das vesículas sinápticas tenha sido inicialmente proposta por ROSENBLUTH (1963) e TAXI (1967).

Um particular avanço ocorrido na morfologia ganglionar, se deu com a descoberta das células pequenas e intensamente fluorescentes (Small Intensity Fluorescent cells, células SIF). O fato dessas células estarem presentes nos gânglios e que podem ser inervadas pré-ganglionicamente, foi previamente sugerido por SMIRNOW (1890). Posteriormente, a E foi identificada como sendo a catecolamina presente nessas células, fato que foi confirmado por estudos com a microscopia fluorescente (ERÄNKÖ & HANKONEN,1965; NORBERG et al.,1966).

Um outro importante aspecto da organização ganglionar, relaciona-se

com suas conexões espinhais e supra-espinhais. Embora GASKELL (1886) já tivesse descrito o “conector” intrasegmental no pool de neurônios pré-ganglionares, a sua exata localização e distribuição, à despeito dos numerosos estudos realizados (BIEDL,1895; POLJAK,1922), não foram totalmente descritos, até as últimas duas décadas.

O fato que permanece mais incompleto, entretanto, diz respeito ao controle supra espinhal dos gânglios autonômicos. A existência de tal controle tem sido conhecido desde as investigações e ensaios eurísticos, sendo mencionado por MAGENDIE, FLOURENS e BERNARD (veja também: MAREY,1863;1881).

O controle central da pressão sanguínea e de outras reações autonômicas foram subseqüentemente demonstradas por OWSJANNIKOV (1869). Tal investigador, relacionou, particularmente, o controle hipotalâmico sobre o sistema autonômico. Esses trabalhos foram, a seguir, expandidos brilhantemente por BARD (1929) e pelo ganhador do prêmio Nobel, HESS (1954). O papel de outras áreas supra espinhais presentes na córtex (KORNER,1971) e no sistema límbico, medula e eixo bulbo-espinhal (LIM et al.,1938), bem como dos barro- e quimiorreceptores (HEYMANS & NEIL,1958) foi investigado posteriormente.

Pode ser adicionado nesse contexto, que enquanto as vias autonômicas ascendentes e descendentes têm sido estudadas continuamente, iniciando-se com os trabalhos de BRUCE (1906), GREVING (1925) e BOK (1928), suas exatas localizações e origens centrais, ainda não são exatamente conhecidas. Assim, a origem central do controle hipotalâmico direto ou indireto ou o controle límbico sobre os núcleos pré-ganglionares, ainda não é precisamente entendido (SAPER et al.,1976).

Dessa forma, os efeitos autonômicos relacionados com áreas do CNS que se combinam com influências comportamentais para preservar a homeostase

autônômica, como refletido nos padrões da pressão arterial, temperatura, e outras funções corporais, de uma maneira geral é sómente entendida parcialmente. Certamente esses controle central tem que ser considerado dentro da estrutura do conceito da clássica função “involuntária” do ANS e do reflexo autonômico.

3. TRANSMISSÃO GANGLIONAR SIMPÁTICA

O termo sinapse foi introduzido por SHERRINGTON em 1897, para descrever aquelas áreas de íntimo contato que são especializadas para a transmissão efetiva de um neurônio para o outro.

A investigação experimental do mecanismo pelo qual a ação sináptica excitatória evoca a descarga de impulsos está íntimamente ligada com os meios pelos quais o impulso nervoso pré-sináptico evoca uma despolarização pós-sináptica. As primeiras especulações sobre a natureza da transmissão através das regiões juncionais têm de longe, precedido o período de controvérsia, nos anos 30, entre os exponentes das hipóteses química e elétrica. Assim, a história da transmissão ganglionar está ligada com o desenvolvimento do conceito químico como um rival do conceito da transmissão elétrica.

O conceito da transmissão química tem se desenvolvido desde a época do conceito dos “espíritos animais”, que de acôrdo com GALENO eram fluídos que viajavam em nervos ôcos ou vazios, para atuarem no corpo (veja : BRAZIER,1959; BROOKS & SELLER,1981). Essa especulação foi compartilhada nos 200 anos seguintes por DESCARTES (1649), von HALLER (1755) e CROONE (1852) que falavam de “espíritos líquidos” que descendiam através de nervos tubulares para distender o músculo como um balão, durante a sua contração.

Esse conceito de “espírito animal” foi, então mudado pelo da

irritabilidade dos efetores (GLISSON,1677) e da “eletricidade animal” (GALVANI,1791). Finalmente, no século XIX, a escolha foi estabelecida entre as forças “nervosa” e “elétrica” (ou galvânica) (MATEUCCI,1840).

No caso da transmissão parassimpática, dados obtidos em meados do século XVIII, por vários investigadores, tais como WEBER & WEBER (1845), SCHMIEDEBERG & KOPPE (1869) e GASKELL (1887), já apontavam para a transmissão química. Observações feitas por esses pesquisadores mostraram que a pilocarpina e a muscarina produziam efeitos similares àqueles da estimulação vagal (SCHMIEDEBERG & KOPPE,1869; GASKELL,1887; DIXON,1907).

DuBOIS-RAYMOND (1877) foi o primeiro a sugerir que a transmissão juncional poderia ser tanto química como elétrica, sendo mais provavelmente do tipo química, enquanto KÜHNE (1888) acreditava que a mesma fosse elétrica. A controvérsia entre esses dois pontos de vista, continuou no século seguinte, e apesar disso, dados concernentes a transmissão química em sítios efetores simpáticos e parassimpáticos, continuaram a se acumular através do século XIX e das primeiras décadas do século XX. O próximo passo significativo nesse sentido, ocorreu em 1904, quando ELLIOT sugeriu que o impulso nervoso simpático atuava pela liberação de uma substância química, a E, nas regiões juncionais em músculos lisos.

A essa altura, talvez com o trabalho de ELLIOT e as especulações de DuBOIS-RAYMOND em mente, LANGLEY (1905) apresentou a idéia de neurotransmissores químicos e de receptores. Um pouco depois, DIXON (1906) propôs que os impulsos parassimpáticos atuavam pela liberação de uma outra substância que assemelhava-se a muscarina.

Na mesma época, HUNT & TAVEAU (1906), ressaltaram a ação vasodepressora extraordinariamente potente da colina acetilada (ACh), quando comparada com aquela da colina. Em 1914, DALE (1914) ressaltou a possível presença de uma esterase no sangue, o que poderia explicar o efeito fugaz da

ACh, no sistema cardiovascular, quando administrada intravenosamente, bem como os efeitos pressores dos derivados da colina. Além disso, DALE criou os termos “muscarínicos” e “nicotínicos” para identificar as ações excitatórias da ACh nos sítios parassimpáticos e nos gânglios autonômicos, respectivamente.

Entretanto, apesar do assunto continuar interessando os pesquisadores, foi sómente na década de 20 que o mesmo tornou-se mais claro. As investigações pioneiras de LOEWI (1921) e de LOEWI & NAVRATIL (1926) mostraram que o nervo vago inibia o coração por meio da liberação de um transmissor químico, e utilizando fisostigmina na preparação vago-cardíaca de LOEWI, confirmaram o conceito de DALE sobre a ação da ACh. Isso então, explicou os efeitos da fisostigmina em muitos sítios, descritos no decorrer do século por : HAMER, LENZ, BEZOL & GOTZ, e ARNSTEIN & SUSTSCHINSKY (veja : KARCZMAR,1970; HOLMSTEDT,1972), o que levou ao esclarecimento do conceito da fisostigmina como um anti-colinesterásico. Um pouco mais tarde, CANNON & BACQ (1931) e CANNON & ROSENBLUETH (1933) observaram que a estimulação ortosimpática liberava uma substancia semelhante a E e assim causava aceleração do coração.

A demonstração da liberação de E ou de substancias análogas a E, em vários tecidos, indicou que a mesma exercia no ANS, uma função que era análoga, mas oposta aquela da ACh.

Uma série, particularmente boa, de investigações experimentais (FELDBERG & GADDUM,1934; DALE et al.,1936) estenderam a hipótese da transmissão química aos gânglios simpáticos e a transmissão neuromuscular, tendo como neurotransmissor a ACh (BARSOUM et al.,1934; DALE,1935;1937;1938; EMMELIN & MUREN,1950).

Finalmente, KOPPANYI et al. (1947) demonstraram que gânglios simpáticos eram os sítios estratégicos da ação pressora da ACh e da nicotina, e que a fisostigmina e outros anti-colinesterásicos, incluindo os organo-fosforados,

exerciam ações ganglionares que eram consistentes com a natureza colinérgica da transmissão ganglionar. Os trabalhos de KOPPANYI, assim contribuíram para a generalização do conceito da colinérgicidade da transmissão ganglionar. Como bem expressado por VOLLE (1966), esses e outros resultados adicionais, todos obtidos na década de 30, constituem a prova final da colinérgicidade que hoje referimos como transmissão ganglionar autonômica primária.

Entretanto, apesar de todos essas evidências, ao contrário da visão de pesquisadores tais como FELDEBERG, BROWN, BACQ e outros, que eram a favor da transmissão química, ECCLES preferia a teoria elétrica da transmissão. Foi sómente na década de 40 que ele rendeu-se aos argumentos dos pesquisadores que apoiavam a teoria química.

No CNS, a transmissão química foi proposta primeiramente por ADRIAN (1924) e logo depois confirmada por SHERRINGTON (1925), e posteriormente por DALE (1935). Contudo, a hipótese elétrica da transmissão sináptica no CNS, continuou tendo um largo suporte (ERLANGER, 1939; ARVANITAKI & CHALAZONITIS, 1949; FESSARD, 1951) até que foi descartada por investigações experimentais a partir de 1951, através do emprego de registros intracelulares. Através de análises eletrofisiológicas e farmacológicas, ECCLES et al. (1954) demonstraram a existência da transmissão colinérgica em sinapses entre as células espinhais de Renshaw e os motoneurônios.

A controvérsia existente entre as duas teorias, portanto, serviu como um potente estímulo para a investigação das mesmas. A transmissão química levou a investigações farmacológicas minuciosas, como aquelas revistas por BACQ (1935), BROWN (1937), DALE (1937; 1938), KOELLE & GILMAN (1949), HUNT & KUFFLER (1950) e RIKER (1953), enquanto a hipótese elétrica exigia um estudo bem mais preciso dos eventos elétricos pré- e pós-

sinápticos (KUFFLER,1949) e dos eventos elétricos que ocorriam através de modelos sinápticos (KATZ & SCHMITT,1939; ARVANITAKI,1942; MARRAZZI & LORENTE de NÓ,1944; GRANIT & SKOGLUND,1945a,b).

Toda essa confusão, entretanto, foi posta por terra pelo advento do microeletrodo e da microscopia eletrônica, nos anos 50. A velha controvérsia foi então, substituída pela clara evidência de que algumas sinapses são químicas e outras elétricas. Assim, com a utilização da microscopia eletrônica tornou-se claro as principais estruturas requeridas para a explicação fisiológica da transmissão química. As sinapses dos gânglios simpáticos de sapo estão entre as primeiras a serem estudadas pela microscopia eletrônica (DeROBERTIS & BENNETT,1955), com reconhecimento da acumulação de vesículas pré-sinápticas e espessamento das membranas de ambos os lados da fenda sináptica. Tais observações mostraram, portanto, as feições características de uma sinapse química.

O que foi adicionado mais tarde a essas evidências foi a demonstração de potenciais excitatórios miniaturas e a localização e distribuição das colinesterases. A palavra final no papel da ACh como transmissor primário, foi dada por NISHI et al.(1967) utilizando uma série de métodos eletrofisiológicos e de microscopia eletrônica.

Entretanto, mesmo esses avanços, não deram por terminada a história da transmissão química, nos gânglios autonômicos. Temos ainda que considerar outros transmissores que não a ACh.

GADDUM, conjecturou no início da década de 50, e subsequentemente demonstrou a presença de 5-HT nos gânglios autonômicos (GADDUM & GIARMAN,1956). Tais achados foram posteriormente confirmados nos laboratórios de KURUME-LOYOLA por meio de métodos quimio-sensitivos e de cromatografia líquida de alta precisão. Esses autores também sugeriram que a 5-HT se encontrava localizada pós-ganglionarmente e

sugeriram que ela atuava retrógrada e pré-sinápticamente.

A proposta de que os interneurônios ganglionares, seguindo sua ativação muscarínica, libera catecolaminas, foi primeiramente feita por ECCLES & LIBET (1961). Posteriormente, LIBET (1970) e LIBET & OWMAN (1974) utilizando métodos histoquímicos e citoespectro-fluorométricos, relacionaram o potencial inibitório pós-sináptico (Inhibitory Post Synaptic Potential, IPSP) lento com as catecolaminas liberadas pelas células SIF.

Por outro lado, diversas investigações têm sugerido aminoácidos, peptídeos e nucleotídeos cíclicos, como possíveis neurotransmissores. Tem sido demonstrado, que o ácido gama-amino-butírico (Gamma-Aminobutyric Acid, GABA) se encontra presente nos gânglios (WANIEWSKI & SURIA,1977) e possivelmente em neuroglia (BOWERY & BROWN,1972). Isso foi confirmado por BERTILSSON et al.(1976) através de métodos microquímicos.

Também tem sido conhecido ao longo do tempo que peptídeos, tais como a substancia P e a somatostatina estão presentes no cérebro ou na espinha dorsal ou em ambos (PERNOW,1963). Em adição, vários peptídeos têm sido identificados nos gânglios através de métodos de imunofluorescência ou imunohistoquímica (HÖKFELT et al.,1977). Além disso, a presença de nucleotídeos cíclicos foi estabelecida, nos anos 70 (BLOOM,1972; GREENGARD,1978), quase simultaneamente no CNS e em gânglios (GEORGE et al.,1970; McAFEE et al.,1971), sendo também demonstrado que a ACh e/ou colinomiméticos e a estimulação pré-sináptica leva ao aumento de monofosfato de adenosina cíclico (Cyclic Adenosine Mono Phosphate, cAMP) e de monofosfato de guanosina cíclico (Cyclic Guanosine Mono Phosphate, cGMP).

Dessa forma, os eventos ao nível da sinapse podem ser interpretados tanto de acordo com a teoria química como pela teoria elétrica. A teoria química atribui a resposta da célula pós-sináptica a uma substancia química liberada pelos

terminais nervosos pré-sinápticos. Já o mecanismo elétrico, pré-supõe a ativação dos neurônios pós-sinápticos por correntes elétricas que fluem diretamente dos terminais pré-sinápticos para as células pós-sinápticas. Exemplos de cada um desses tipos de transmissão podem ser encontrados em vários tipos de sinapses entre vertebrados e invertebrados. Entretanto, ainda não foram obtidas evidências concretas da existência da transmissão elétrica nas sinapses de mamíferos.

Dentre as preparações utilizadas para o estudo da transmissão sináptica simpática se encontra o SCG. Esse gânglio tem uma importância histórica muito relevante. Ele se encontra entre os primeiros tecidos nervosos utilizados para testar a teoria química da transmissão sináptica. A sua existência foi demonstrada desde o século II D.C. (129-200) por GALENO (1528).

FELDBERG & GADDUM (1934) seguindo um paradigma semelhante ao usado por LOEWI com relação a demonstração da Vagustoff, foi capaz de demonstrar, no SCG, que a estimulação das fibras pré-ganglionares liberava ACh. Através de uma série de elegantes experimentos ele claramente demonstrou que sinapses colinérgicas ativaram respostas nicotínicas diferentes das respostas muscarínicas conhecidas. Ele provou que a liberação ocorria a partir das fibras pré-ganglionares e não das pós-ganglionares (FELDBERG & GADDUM,1934). Essas abordagens farmacológicas foram, logo a seguir, complementadas por estudos eletrofisiológicos (ECCLES,1935a,b,c;1944).

O SCG de rato, como originalmente descrito por LARRABEE & POSTERNAK (1952), é um tecido simpático periférico que oferece várias vantagens para a investigação da fisiologia e da farmacologia da transmissão sináptica simpática de um modo geral (McAFEE,1982) e, em particular dos mecanismos das diversas formas de neuroplasticidade (ZENGEL et al.,1980; BROWN & McAFEE,1982). Suas bem caracterizadas sinapses colinérgicas nicotínicas localizam-se entre os nervos pré- e pós-ganglionares.

O SCG constitui pois, uma preparação bem estabelecida para o estudo

das sinapses colinérgicas (BROWN & FELDBERG,1937; MacINTOSH,1938; HARVEY & MacINTOSH,1940; PATON & ZAIMIS,1951; EMMELIN & MacINTOSH,1956; GRUNDFEST,1964).

Entretanto, ele não constitui somente um modelo de sinapse colinérgica, mas sim uma versátil preparação nervosa, pois embora as sinapses nesse gânglio sejam primariamente colinérgicas, existe uma multiplicidade de receptores pré- e pós-ganglionares para aminas biogênicas, aminoácidos e mesmo peptídeos (WALLIS,1979). Ele é, portanto, apropriado para o estudo da liberação e atuação da ACh e a modulação desse processo por outros neurotransmissores e neurohormônios (McAFEE,1982). Em adição, existem evidências de sinapses adrenérgicas no gânglio, uma vez que existe uma significativa rede de terminais contendo catecolaminas por todo o gânglio, os quais têm sido hipotetizados como originados dos dendritos ou de colaterais recorrentes de neurônios pós-ganglionares adrenérgicos (BIRKS & McINTOSH,1961; DAIL et al.,1980). Contudo, a transmissão catecolaminérgica no gânglio tem sido questionada por vários investigadores e permanece sujeita a uma vigorosa controvérsia e a uma intensa experimentação (GROB,1977). É também provável, que outros neurotransmissores sinápticos também sejam encontrados (LIBET,1970; BROWN et al.,1981). Dessa forma, ele é mais que um simples modelo de sinapse colinérgica.

Estudos recentes (KIERNAN,1990; PRYSTOWSKY,1994; LEVINE,1994; MCCANN,1994) têm ressaltado uma íntima associação entre o sistema nervoso e o sistema imunológico. HUGHES et al.(1992) encontraram evidências de que existe uma ligação entre o sistema imune e o sistema nervoso de invertebrados, e que as citocinas imunoreativas como o Fator de Necrose Tumoral (Tumour Necrosis Factor, TNF), parecem ter um papel nessa interação. Isso demonstra que esses sistemas têm muito mais em comum do que previamente se imaginou. Eles trabalham juntos, eficientemente e estão em

constante comunicação um com o outro. Nesse sentido, o SCG tem se mostrado como uma preparação biológica bastante útil no esclarecimento das interações existentes entre esses dois sistemas (UNDEM et al.,1991), podendo servir muito em breve como um sistema transitório entre a junção neuromuscular e o cérebro, bem como um elo de ligação entre tais sistemas.

4. GÂNGLIO CERVICAL SUPERIOR (SCG)

O SCG, classificado pela maioria dos estudiosos do ANS como um gânglio paravertebral, reside no seio carotídeo, mais precisamente na bifurcação da artéria carótida (Figura I-2), a alguns milímetros do forame jugular, na parte superior do pescoço e próximo a base do crânio. Em muitos mamíferos, o gânglio é bilobado ou duplo fusiforme, em formato, possivelmente como resultado da fusão durante a ontogênese com o equivalente gânglio cervical médio. Seu tamanho e peso são proporcionais ao peso corporal do animal. No rato seu peso seco é cêrca de 1 mg, no coelho 10 mg e no bezerro cêrca de 200 mg. Já o conteúdo proteico é de aproximadamente 1/7 do peso seco. Suas células possuem dendritos, os quais se estendem várias centenas de micras além do corpo celular. O número de suas células, bem como a complexidade de sua árvore dendrítica estão relacionadas ao tamanho do animal (PURVES et al.,1986).

É apropriado para estudos neuroquímicos e estruturalmente bem adaptado para medidas eletrofisiológicas. Tem sido usado como modelo para estudos farmacológicos neurobiológicos, e também como uma fonte primária de células para cultura de tecidos (VOLLE,1975; O'LAGUE et al.,1978). Pode ser estudado *in situ* ou isolado e mantido *in vitro* por horas ou mesmo dias, sem detrimento óbvio de suas respostas eletrofisiológicas.

Ele é simples em sua estrutura tendo bem definidos nervos de entrada e

saída que emanam de seu corpo. Entre seus nervos estão alguns que não são constantes, como o nervo para a faringe e o nervo cardíaco superior (BILLINGSLEY & RANSON,1918; REIGHARD & JENNINGS, 1935; PERRY,1953).

É relativamente homogêneo na composição celular, com axônios pré-ganglionares colinérgicos terminando em corpos celulares e dendritos adrenérgicos.

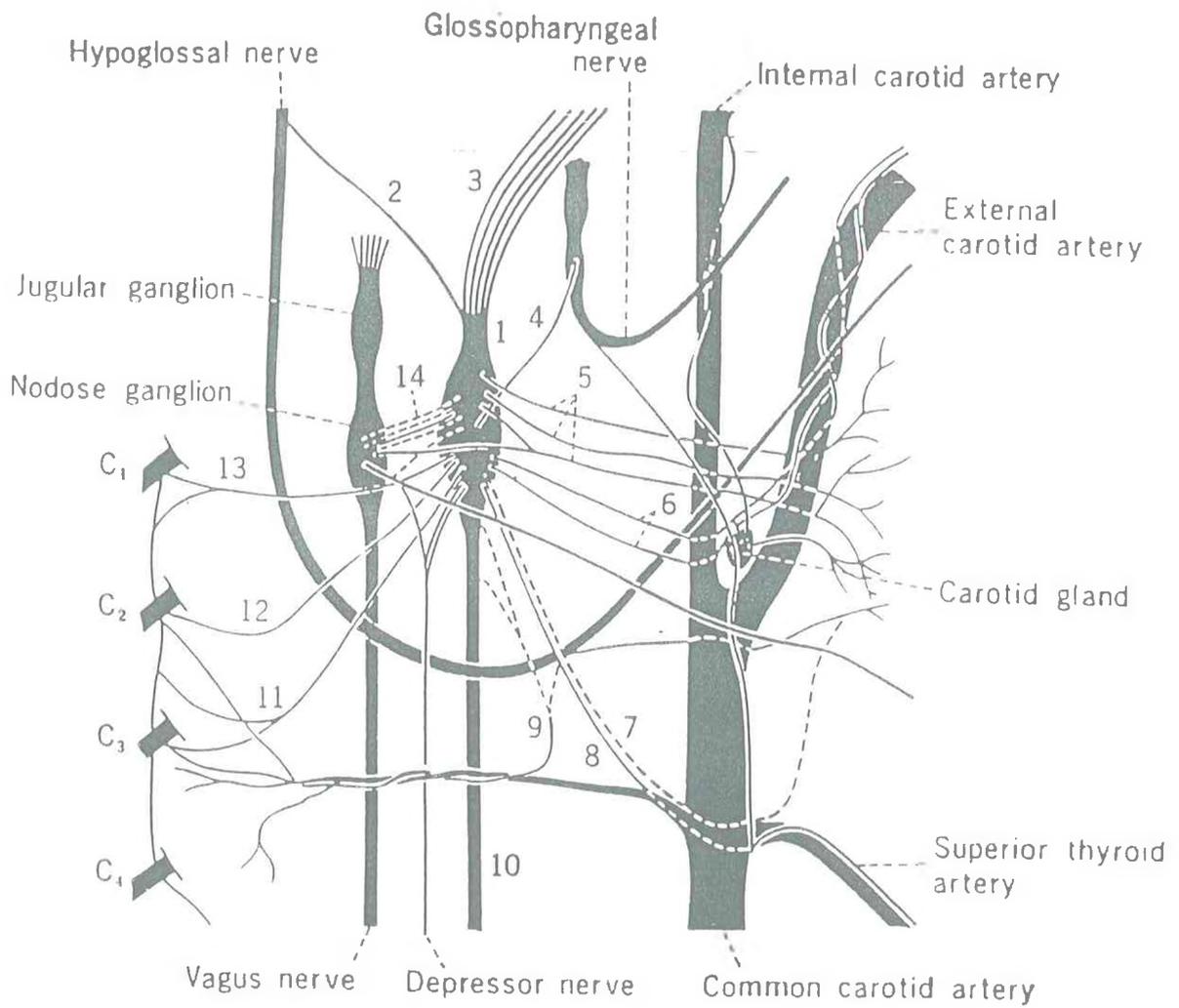
As fibras pré-ganglionares que se dirigem ao SCG trafegam pelo nervo simpático cervical (Figura I-2), um de seus nervos mais volumosos. Este é composto largamente por axônios originados de neurônios colinérgicos na coluna celular intermediolateral da porção torácica da medula espinhal. Essa mistura de nervos mielinizados e não mielinizados entram no polo posterior do gânglio e cada axônio pré-ganglionar divide-se em numerosas ramificações antes de terminar em neurônios pós-ganglionares (divergência) e cada neurônio do gânglio é suprido por várias fibras pré-ganglionares (convergência). De acordo com PERRI et al. (1970a) fibras pré-ganglionares com diferentes velocidades de condução convergem para os neurônios ganglionares.

Através de experimentos com a nicotina, LANGLEY (1899) determinou que as fibras pré-ganglionares do SCG passam direto (sem interrupção sináptica) pelo gânglio estrelar. De acordo com LANGLEY (1897), a nicotina aplicada no referido gânglio bloqueia a passagem do estímulo em todas as rotas, demonstrando que todas as fibras que trafegam pelo gânglio sofrem interrupções sinápticas. Tais dados foram confirmados posteriormente por estudos morfológicos (GIBSON,1940) bem como por estudos eletrofisiológicos do gânglio (BISHOP & HEINBECKER,1930; ECCLES,1935a).

BOWERS & ZIGMOND (1979) usaram a técnica de coloração para investigar a localização dos neurônios do SCG de rato que projetam-se em diferentes troncos nervosos pós-ganglionares. Tais pesquisadores observaram que

**FIGURA I-2. GÂNGLIO CERVICAL SUPERIOR DE GATO E SEUS
NERVOS**

1: gânglio cervical superior; 2: ramo para o nervo hipoglosso; 3: nervo interno da carótida; 4: ramo para o nervo glossofaríngeo; 5: ramos para a faringe; 6: ramos para a artéria carótida externa; 7: anastomoses com o ramo do nervo hipoglosso; 8: ramo para a artéria tireóidea superior; 9,11-13: ramos comunicantes cinzentos para os nervos espinhais cervicais mais altos; 10: nervo simpático; 14: ramos para o nervo vago. (Reproduzido de *Physiology of Autonomic Ganglia*, Vladimir I.Skok).



cêrca de 45% do total da população de neurônios enviavam processos para o nervo carotídeo externo, e que seus corpos celulares estavam localizados quase exclusivamente na porção proximal (caudal) do gânglio. Os axônios dos corpos celulares localizados próximo, mas distalmente ao ponto de origem do nervo carotídeo externo, geralmente passavam pelo nervo carotídeo interno, como todos aqueles originados dos somas na porção distal (rostral) do gânglio. Axônios de aproximadamente 30% dos neurônios trafegavam no nervo carotídeo interno. Na parte proximal do gânglio uma população de somas foi encontrada com seus axônios projetando-se para o tronco cervical simpático (“nervo pré-ganglionar”), enquanto algumas fibras do nervo carotídeo externo se originavam dos gânglios cervicais médio e inferior (BOWERS & ZIGMOND,1981). Observações semelhantes foram feitas no coelho (DOUGLAS et al.,1960) e no SCG de gato (JACOBOWITZ & WOODWARD,1968). Entretanto, nem todos os nervos adrenergicos encontrados no tronco cervical simpático ou próximo do SCG podem ser assumidos como originados desses corpos celulares, uma vez que, pelo menos no coelho, muitos axônios originados nos gânglios estrelar e cervicais médio e acessório, passam através do SCG para emergir no nervo carotídeo externo (DOUGLAS & RITCHIE,1956; DAIL et al.,1980).

Também foram encontradas fibras pré-ganglionares que se dirigem ao SCG provenientes do nervo vago. Além disso, algumas fibras vagais podem entrar no nervo simpático cervical e descer caudalmente através desse nervo (FOLEY,1945).

Existem dois maiores nervos pós-ganglionares que deixam o gânglio : os nervos carotídeos interno e externo (MATTHEWS & ROBISON,1980). O nervo carotídeo externo deixa o gânglio através do lobo posterior no meio do gânglio, e o nervo carotídeo interno, o deixa através do polo anterior (Figura I-2). Este último, principal via das fibras pós-ganglionares que deixam o gânglio, é geralmente usado para registros extracelulares de descargas pós-ganglionares.

Esses nervos distribuem-se juntamente com suas respectivas artérias.

Estimulação do tronco nervoso pós-ganglionar (nervo carotídeo interno) leva a ativação sináptica da grande maioria dos neurônios simpáticos do SCG do cobaio (PERRI et al.,1970b). Resultados semelhantes foram obtidos por ERULKAR & WOODWARD (1968) no coelho. A estimulação desse nervo evoca um potencial pós-ganglionar de considerável amplitude no nervo cardíaco.

O nervo carotídeo interno é formado por 4 ou 5 ramos, e de acordo com LANGLEY (1904) a localização de cada ramo é constante, mas BILLINGSLEY & RANSON (1918) não observaram esta mesma constância. Este nervo entra no crânio onde um ramo inerva a glândula pineal, e os outros distribuem-se com o nervo oculomotor para inervar os músculos dilatadores da íris e os músculos lisos da membrana nictante e das pálpebras. Já o nervo carotídeo externo, inerva os vasos sanguíneos da face e também as glândulas sudoríparas, no homem.

Algumas fibras pós-ganglionares do SCG retornam ao nervo simpático cervical (FOLEY,1945; DOUGLAS et al.,1961; NIELSEN et al.,1969), ou entram no nervo vago através de anastomoses entre o SCG e o gânglio nodoso, passando em direção ao coração (NIELSEN et al.,1969), de maneira semelhante aquelas fibras em outros animais, que formam o nervo cardíaco superior (DAIL et al.,1980).

Existem ainda no SCG, um grupo de pequenas células intensamente fluorescentes, cujos axônios não se estendem para fora do gânglio. São as chamadas células SIF as quais recebem estimulação pré-ganglionar (HAMBERGER et al.,1963; NORBERG & SJÖVIST,1966; MATTHEWS & RAISMAN,1969; ERÄNKO & ERÄNKO,1971).

Evidências morfológicas (SIEGRIST et al.,1968; WILLIAM & PALAY,1969; MATTHEWS,1971) e fisiológicas (LIBET & OWMAN,1974), mostram que as células SIF não são células cromafins liberando as substâncias no

sangue, mas sim interneurônios inibitórios enviando fibras para os neurônios ganglionares (LIBET & OWMAN,1974). Acredita-se que as células SIF sejam dopaminérgicas nos mamíferos e adrenérgicas nos anfíbios (LIBET & KOBAYASHI,1974).

Contudo, o maior elemento celular nesse gânglio são as células satélites achatadas que parecem rodear os neurônios, e que provavelmente explicam a difusão e as barreiras mecânicas dentro desse tecido. Finalmente, em algumas espécies, o gânglio é revestido ou encapsulado por uma resistente bainha de tecido conjuntivo, com a carga equivalente aquela do gânglio desnervado (BLACKMAN,1974; WILLIAMS et al.,1976; WALLIS & NORTH,1978).

A transmissão do impulso através do gânglio ocorre por meio da ACh liberada pelas fibras pré-ganglionares que ativam os receptores nicotínicos da membrana neuronal (MARSHALL,1981). Cada receptor nicotínico combina-se com no mínimo duas moléculas de ACh e isso produz um aumento na condutância da membrana subsináptica ao Na^+ e K^+ , resultando no aparecimento do potencial excitatório pós-sináptico (Excitatory Post Synaptic Potential, EPSP) rápido, com geração de um potencial de ação (ECCLES & LIBET,1961; BLACKMAN et al.,1963; CHIBA & WILLIAMS,1975; SKOK & SELYANKO,1978a,b; SELYANKO & SKOK,1979; KUBA & MINOTA,1986).

Os efeitos da estimulação das fibras pré-ganglionares do SCG são conhecidos a longo tempo (LANGLEY & DICKINSON,1889; LANGLEY,1897). Eles incluem : a dilatação da pupila, a contração da membrana nictante do gato e do músculo da pálpebra superior (a exoftalmia), a secreção salivar, vasoconstrição da conjuntiva e da pele da face e do pescoço, constrição do músculo pilomotor e o aumento da secreção hormonal pelas glândulas hipófise e tireóide. A estimulação do nervo simpático cervical se acompanha de modificações da atividade elétrica da córtex cerebral, da pressão intracranial através da modificação do tônus dos vasos cerebrais e do tônus da

Estímulo de baixa intensidade aplicado a fibras pré-ganglionares mielinizadas foi seguido por um duplo potencial de ação pós-ganglionar. O primeiro componente deveu-se a excitação de finas fibras pós-ganglionares mielinizadas, enquanto o segundo componente resultou das fibras pós-ganglionares não mielinizadas.

ECCLES (1935a) desenvolvendo experimentos nessa mesma linha, encontrou que um simples estímulo aplicado no nervo simpático cervical evocava no nervo carotídeo interno um potencial de ação composto (Compound Action Potential, CAP) de quatro ondas : S_1 , S_2 , S_3 e S_4 , sendo que S_2 sempre se funde com S_3 (Figura I-3). Como o aparecimento das ondas dependia da intensidade do estímulo, ele concluiu que cada onda era devida a excitação de diferentes grupos de fibras pré-ganglionares. Esses grupos pareceram diferir na velocidade de condução do retardo sináptico no gânglio e na velocidade de condução nas fibras pós-ganglionares com as quais elas se relacionam.

Esses diferentes grupos de fibras foram confirmados por outros autores (BISHOP & HEINBECKER,1932; FERNANDEZ et al.,1965; ERULKÄR & WOODWARD,1968), embora tenham sido encontradas pequenas diferenças nas velocidades de condução das mesmas.

ECCLES (1952) demonstrou que no coelho, o CAP pós-ganglionar, apresenta dois maiores componentes. O primeiro S_1 , é evocado pela estimulação de fibras pré-ganglionares do tipo B, enquanto o segundo, S_2 é evocado pela estimulação das fibras pré-ganglionares do tipo C.

De acordo com ECCLES a excitação do grupo S_1 de neurônios resultou na contração da membrana nictante e músculos de MÜLLER, bem como na dilatação da pupila, enquanto que a excitação do grupo S_2 resultou em efeitos vasoconstritores e pilomotor. As outras ondas ocorrem em todos os outros nervos do gânglio (ECCLES,1935a). A excitação das fibras pré-ganglionares com o mais alto limiar está relacionada com o efeito simpático

vasodilatador (FOLKOW et al.,1958).

Usando métodos de registros intracelulares NISHI & KOKETSU (1968b) (veja também VOLLE,1966) demonstraram que essas ondas correspondiam a três respostas sinápticas : os EPSPs rápido e lento, e o IPSP lento (NISHI,1970;1974).

Tem sido proposto que a ACh liberada pelas fibras pré-ganglionares ativa não somente os receptores nicotínicos responsáveis pelo EPSP rápido (NISHI et al.,1967,1978; SKOK,1973;1979), o qual é bloqueado pelo hexametônio, mas também os receptores muscarínicos ganglionares, evocando o EPSP lento (bloqueado pela atropina) (ECCLES & LIBET,1961). Ela também ativa receptores muscarínicos das células SIF, as quais respondem liberando E (ECCLES & LIBET,1961; WILLIAMS et al.,1975), ou DA (LIBET & OWMAN,1974) evocando assim, IPSP lento nos neurônios ganglionares. Uma hipótese alternativa sugere que o IPSP lento seja resultado da ação direta da ACh liberada pelas fibras pré-ganglionares, nos receptores muscarínicos dos neurônios ganglionares (WEIGHT & PADJEN,1973a,b; HARTZELL et al.,1977), não existindo grupos especiais de fibras pré-ganglionares responsáveis pelo IPSP lento. Alguns dados indicam que os receptores muscarínicos dos neurônios principais diferem daqueles das células SIF (GARDIER et al.,1978).

O EPSP lento é produzido pelas mesmas fibras pré-ganglionares que produzem o EPSP rápido e tem sido observado em todos os gânglios que mostram IPSP lento. Ocasionalmente, é possível observar EPSP lento sem EPSP rápido no gânglio não curarizado quando o estímulo pré-ganglionar é subliminar para o EPSP rápido nessa particular célula utilizada (LIBET & TOSAKA,1969). É também possível observar IPSP lento no gânglio não curarizado quando os estímulos pré-ganglionares aplicados são subliminares para o EPSP rápido (TOSAKA et al.,1968; LIBET & TOSAKA,1969).

A eletrogênese do EPSP lento varia em diferentes neurônios do gânglio

FIGURA I-3. RESPOSTAS ELÉTRICAS DOS NERVOS DO GÂNGLIO CERVICAL SUPERIOR DE GATO A UM SIMPLES ESTÍMULO APLICADO AO NERVO SIMPÁTICO CERVICAL

A resposta foi registrada a partir de todos os ramos do nervo carotídeo interno (1), a partir de cada um de seus ramos (2-5), a partir do ramo para o nervo hipoglosso (6), a partir de cada um dos 3 ramos para a faringe (7-9), a partir do ramo para a artéria tiróidea superior (10), a partir do ramo para a artéria carótida externa e para o terceiro nervo espinhal cervical (1), e a partir de um dos ramos para os 3 primeiros nervos cervicais (12).

Na esquerda de cada registro está mostrada esquematicamente a localização dos eletrodos de estimulação (linhas paralelas) e de registro (triângulos); na presente figura os gânglios nos esquemas são mostrados no mesmo plano como nas figuras correspondentes ilustrando suas vias. No registro 1 as ondas estão classificadas (rotuladas). Cada registro se inicia com o artefato do choque. Todos os registros foram obtidos de diferentes preparações; a deflexão ascendente indica negatividade no eletrodo de registro próximo aos eletrodos de estimulação. Calibração: 100 μ V, 20 ms. Nos registros 3-5 a calibração é a mesma do registro 2. (Reproduzido de *Physiology of Autonomic Ganglia*, Vladimir I. Skok).

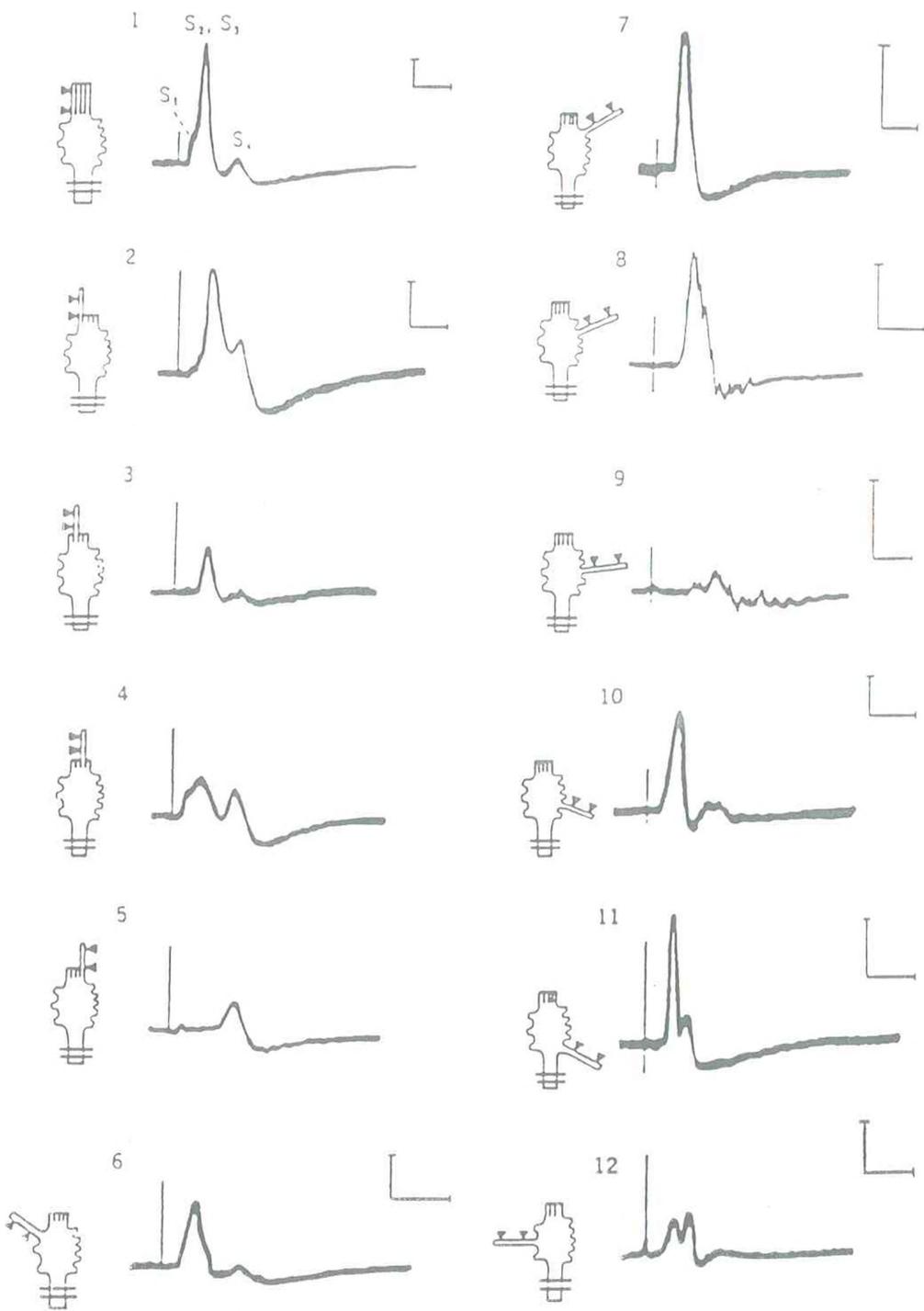
porção cranial do esôfago (YOUMANS,1968; OWMAN & WEST,1970).

Tem sido conhecido durante anos, que populações de neurônios funcionalmente distintas no SCG de mamíferos são inervados por fibras pré-ganglionares originadas em diferentes níveis da medula espinal (LANGLEY,1892;1897; MURRAY & THOMPSON,1957; GUTH & BERNSTEIN,1961).

LANGLEY determinou que as fibras pré-ganglionares torácicas rafegam da medula para o gânglio através dos sete nervos torácicos espinais mais superiores (T_1 a T_7). As fibras responsáveis pela dilatação da pupila trafegam através dos nervos espinais T_1 a T_3 , enquanto que aquelas que interferem com o músculo da órbita, da pálpebra e da membrana nictante, emergem dos nervos torácicos T_1 a T_5 (MURRAY & THOMPSON,1956). Já as fibras que se relacionam com os vasoconstritores da orelha, nascem dos nervos espinais T_2 - T_5 (LANGLEY,1897), aquelas dos músculos pilomotores surgem dos nervos T_4 - T_7 (LANGLEY,1891; LANGLEY & SHERRINGTON,1891) e as das glândulas salivares se originem de T_2 a T_3 . Resultados semelhantes foram obtidos por NJA & PURVES (1977) no cobaio, confirmando que as fibras pré-ganglionares originadas de diferentes níveis da medula espinal inervam populações de neurônios funcionalmente distintos no SCG.

Importantes informações a cerca dos trajetos do SCG foram obtidas em experimentos onde potenciais de ação evocados pela estimulação dos nervos ganglionares foram registrados a partir de seus outros nervos ou de simples neurônios.

BISHOP & HEINBECKER (1932), BROWN (1934) e ECCLES (1935b,c) foram os primeiros a descrever os potenciais elétricos originados de fibras pós-ganglionares quando da estimulação das fibras pré-ganglionares. Eles encontraram vários grupos de fibras pré-ganglionares envolvidas na excitação que eram dependentes da intensidade do estímulo.



(WEIGHT & VOTAVA,1970; KUBA & KOKETSU,1974). EPSP lento é devido a um aumento na condutância da membrana ao Na^+ e ao Ca^{++} (KUBA & KOKETSU,1974) e a uma diminuição na condutância da membrana ao K^+ . Tem sido sugerido ainda, que o cGMP é o mensageiro intracelular do EPSP lento (McAFEE & GREENGARD,1972; GREENGARD,1976), mas outros dados não confirmaram esta hipótese (DUN et al.,1978).

A eletrogênese do IPSP lento é diferente daquela do IPSP rápido observado nos neurônios do CNS, o qual se deve ao aumento da condutância da membrana ao K^+ e ao Cl^- . Nos neurônios ganglionares simpáticos de anfíbios, o IPSP lento consiste de dois componentes : um gerado pela ativação da bomba eletrogênica de Na^+ (NISHI & KOKETSU,1968b) e o outro gerado pelo aumento na permeabilidade da membrana ao K^+ .

É provável que dois mecanismos semelhantes estejam envolvidos na geração do IPSP lento nos gânglios simpáticos de mamíferos, embora alguns autores neguem a possibilidade de envolvimento da bomba eletrogênica de Na^+ (LIBET et al.,1977). Tem sido sugerido ainda, que a produção de IPSP lento é mediada pelo cAMP dos neurônios ganglionares (GREENGARD & KEBABIAN,1974), mas existem evidências contra esta hipótese (GALLAGHER & SHINNICK-GALLAGHER,1977).

O papel fisiológico do IPSP lento permanece obscuro. Esse lento processo não tem efeito inibitório aparente na transmissão de gânglios simpáticos não curarizados de anfíbios (KOKETSU & NISHI,1967; LIBET et al.,1968). IPSP lento não tem sido observado durante a atividade natural espontânea de neurônios ganglionares simpáticos dos mamíferos (MIRGORODSKY & SKOK,1969; CROWCROFT & SZURSZEWSKI,1971) ou durante a inibição da atividade simpática aferente causada por estimulação aferente (SKOK,1973;1976). Assim, é provável que o IPSP lento não tenha nenhuma função inibitória semelhante aquela do IPSP rápido dos neurônios do CNS, mas

talvez esteja relacionado com algum processo metabólico desconhecido (SKOK,1976).

Quanto às características de excitabilidade, os neurônios do SCG podem ser classificados em três tipos: fásicos, neurônios com hiperpolarização lenta (PHP_l) e neurônios tônicos. Aproximadamente 15% dos seus neurônios são PHP_l, 80% fásicos e 5% tônicos (WEINREICH, comunicação pessoal).

Além de todas essas características, o SCG também oferece vantagens para o estudo dos mecanismos das diversas formas de plasticidade sináptica, tais como a Potenciação Pós-Tetânica (Post-Tetanic Potentiation, PTP) e a Potenciação de Longa Duração (Long-Term Potentiation, LTP).

5. POTENCIAÇÃO PÓS-TETÂNICA (PTP)

Plasticidade sináptica no sistema nervoso de vertebrados tem sido objeto de numerosas investigações (para revisão veja : KANDEL & SPENCER,1968).

O fenômeno da potenciação pós-ativação das respostas comportamentais e neurais, tem sido objeto de discussão por parte dos neurocientistas, por mais de um século. SECHENOV (1863) ressaltou a evidência fisiológica para a “capacidade de retenção” e, em seus trabalhos deixou claro o seu interesse pelos fenômenos neurais de longa duração. Por outro lado, ROMANES (1885) realizando experimentos com a água-viva (*Aurelia*), encontrou que a repetição da estimulação de baixo nível de sua copa com a mesma intensidade, resultava num progressivo aumento na força das contrações evocadas. Ele referiu-se a esse evento como “memória”.

Nos fins do século passado e no início deste, um grande número de experimentos foram realizados no sentido de estudar esses fenômenos de longa

duração, os quais, ainda hoje, continuam a despertar nosso interesse.

Alguns pesquisadores consideraram a potenciação pós-ativação das contrações do músculo cardíaco (CUSHNY & MATTHEWS,1897) enquanto outros reportaram tais fenômenos como devidos ao efeito da tetanização em remover o bloqueio produzido pelo curare (HOFMANN,1903). Por outro lado, SHERRINGTON (1906) descreveu o fenômeno da “somação” no arco reflexo. Estímulos que eram sub-liminares para evocar a resposta reflexa, poderiam evocá-la se repetidos a uma frequência moderada. Da mesma forma, estímulos de alta intensidade, na pele, poderiam levar a uma facilitação dos reflexos evocados subsequentemente.

Com o aparecimento de técnicas neurofisiológicas mais sofisticadas, a atenção foi então, desviada para eventos mais “unitários”. FENG (1941) investigando o potencial de placa terminal, encontrou que o mesmo era potenciado após a ativação do axônio pré-sináptico e, que o potencial de ação pré-sináptico permanecia inalterado por esse tratamento, o que levou FENG a criar o termo “potenciação pós-tetânica” (Post-Tetanic Potentiation, PTP). Resultados semelhantes foram obtidos no gânglio estrelar (LARRABEE & BRONK,1947) e na medula espinhal (LLOYD,1949). Esses investigadores também demonstraram que a PTP, naqueles sistemas, era um fenômeno homosináptico, ou seja, que somente as vias ativadas eram afetadas.

PTP constitui um exemplo de plasticidade sináptica dependente de atividade, uma vez que requer um breve trem de estimulação (tétano) pré-sináptico para a sua iniciação, persistindo de alguns segundos a uns poucos minutos (MAGLEBY & ZENGEL,1975b; SCHLAPFER et al.,1976; WOJTOWICZ & ATWOOD,1986). PTP é, pois, um fenômeno bem conhecido que consiste num aumento relativamente prolongado na resposta que ocorre após a região juncional ter sido submetida a uma ativação ortodrômica repetitiva (DUNWIDDIE et al.,1978).

MAGLEBY & ZENGEL (1975b;1976a,b) demonstraram que a PTP, inicialmente considerada como um processo simples, é melhor descrita como sendo a soma de dois componentes exponenciais, que eles definiram como “aumento” e “potenciação”. Ambos os componentes, na junção neuromuscular de sapo à 20°C, decaem de uma maneira exponencial, tendo a “potenciação” uma constante de tempo de cerca de 2-3 minutos, enquanto o “aumento” tem uma constante de tempo de 7 segundos.

Além do gânglio estrelar (LARRABEE & BRONK,1947) e da medula espinhal (LLOYD,1949), PTP também tem sido observada no plexo mioentérico de cobaio (KADLEC et al.,1990), na artéria mesentérica de rato (SJOBLOM-WIDFELDT, 1990), no sistema visual (núcleo geniculado ou córtex visual) (HUGHES et al.,1956), no girus dentado (GLOOR et al.,1964) e no hipocampo (CAMPBELL & SUTIN,1959), podendo ainda ser produzida em , virtualmente, qualquer via cerebral (RACINE et al.,1972;1975;1983).

Os mecanismos envolvidos na PTP no PNS e na medula espinhal, parecem envolver um aumento na liberação do neurotransmissor, sugerindo que no mecanismo da PTP estão envolvidos componentes pré-sinápticos. As principais evidências para isso foram obtidas pelos experimentos que empregaram a análise quantal (del CASTILLO & KATZ,1954a,b,c; LILEY,1956a,b; HUBBARD,1963; ROSENTHAL,1969; MAGLEBY & ZÉNGEL,1975a,b).

Estudos posteriores têm mostrado fortes evidências de que esse aumento se deve a um acúmulo de Ca^{++} que é induzido pela ativação do terminal pré-sináptico (WEINREICH,1971; ALNAES & RAHAMINOFF,1975; ERULKÄR & RAHAMINOFF,1978; RAHAMINOFF et al.,1980; MISLER & HURLBUT,1983).

Na junção neuromuscular, os íons Ca^{++} se encontram claramente implicados na gênese da PTP, uma vez que tem sido demonstrado que

aumentos na concentração de Ca^{++} no banho durante um trem de estimulação tetânica (ROSENTHAL,1969), bem como a iontoforese desse cátion na região terminal (WEINREICH,1971) prolongam a duração da PTP.

Técnicas de análise quantal também têm sido aplicadas às células do tronco cerebral com resultados semelhantes (VORONIN,1983).

Entretanto, não está esclarecido se o aparente aumento na liberação quantal se deve aos mesmos mecanismos periféricos, uma vez que no tronco cerebral os contatos sinápticos são muito distantes. Pode ser que tal aumento resulte, por exemplo, de um aumento no número de terminais.

PTP tem sido utilizada, por muitos teóricos, na tentativa de proporcionar uma base neurofisiológica do armazenamento de informação, memória e condicionamento. ECCLES (1953) a considerou como um possível mecanismo de memória no cérebro. Contudo, a sua duração, que é de apenas alguns minutos para muitas das junções estudadas em condições normais, incluindo as sinapses neocorticais (AMASSIAN & WEINER,1966; VORONIN,1969), proporciona uma explicação sómente para a memória de curta duração.

Dessa forma, o papel fisiológico da PTP, particularmente no cérebro de mamíferos, ainda é desconhecido e merece mais atenção.

6. POTENCIAÇÃO DE LONGA DURAÇÃO (LTP)

CARACTERIZAÇÃO

LTP tem sido definida como sendo uma mudança plástica e funcional no mecanismo da transmissão sináptica. Resulta numa longa e duradoura (horas, dias e até mesmo meses) mudança na eficiência sináptica, como consequência de

uma intensa e rápida atividade pré-sináptica como a tetanização, ou também da ação de transmissores ou hormônios liberados por outros neurônios ou por células endócrinas (LOMO,1971; BLISS & LOMO,1973; SCHWARTZKROIN & WESTER,1975; BLISS,1979; ANDERSEN et al.,1980; KUBA et al.,1981; BLISS & DOLPHIN,1982; BAXTER et al.,1985; KUBA & KUMAMOTO,1986; BLISS & LYNCH,1987; BROWN et al.,1988a,b), podendo ainda ocorrer em consequência da ativação da proteína quinase C (Protein Kinase C, PKC) em áreas hipocâmpais, como na área CA₁ (MALENKA et al.,1986), e no giro dentado (WILLIAMS et al.,1989).

Existe um limiar para a frequência e a duração do estímulo tetanizante que induz LTP (BLISS & LOMO,1973; SCHWARTZKROIN & WESTER,1975; McNAUGHTON et al.,1978; ANDERSEN et al.,1980; YAMAMOTO & SAWADA,1981; BROWN & MCAFEE,1982; BRIGGS et al.,1985a). Esta, pois, pode ser induzida por uma larga variedade de frequências tetanizantes que variam desde 0.2 a 400 Hz (DOUGLAS,1977; SKELTON et al.,1983). A intensidade do tétano é outro fator importante para a geração da LTP. Ela deve exceder a um certo limiar, o qual deve ser maior que a intensidade do estímulo que causa uma resposta pós-sináptica mínima, indicando que um certo número de fibras aferentes devem ser coativadas para a geração da LTP (BLISS & LOMO,1973; McNAUGHTON et al.,1978; LEVY & STEWARD,1979; ANDERSEN et al.,1980; YAMAMOTO & SAWADA,1981). Assim LTP é considerada como um fenômeno “limiar”, uma vez que requer um trem de intensidade condicionante crítico para a sua indução (McNAUGHTON et al.,1978; LEVY & STEWARD,1979; BARRIONUEVO & BROWN,1983).

LTP se distingue na sua longa e duradoura natureza (mais de algumas dezenas de minutos) de outras mudanças funcionais da transmissão sináptica, como a facilitação e a PTP, ambas de origem pré-sináptica e encontradas na maioria das sinapses (FENG,1940; MALLART & MARTIN,1967; ZENGEL et

al.,1980; ZENGEL & MAGLEBY,1981; MAGLEBY & ZENGEL,1982; ZUCKER,1989).

Tem sido sugerido por BLISS & LOMO (1973) que a LTP se encontra confinada à via estimulada tetânicamente, e tais achados foram posteriormente confirmados nas células piramidais CA₁ (LYNCH et al.,1977) e nas sinapses das células granulares da via perforante (LOVINGER & ROUTTENBERG, 1988).

LTP em vias sinápticas de mamíferos foi primeiramente descoberta por LARRABEE & BRONK (1947) e mais tarde confirmada por LLOYD (1949) e por VOLLE (1966) e DUNANT & DOLIVO (1968) em gânglios simpáticos. LTP também foi observada no hipocampo por LOMO (1966) e posteriormente analisada por BLISS & LOMO (1973) em coelhos anestesiados, e por BLISS & GARDNER-MEDWIN (1973) em coelhos não anestesiados, e confirmada em ratos acordados por DOUGLAS & GADDARD (1975). Tais achados marcaram a primeira demonstração de uma alteração neurofisiológica do cérebro de mamíferos, apresentando um considerável curso temporal.

Comparada com a espinha dorsal (LLOYD,1949; BESWICK & CONROY,1965) a duração da potenciação sináptica no hipocampo é prolongada e o grau de facilitação é pronunciado. Desde esses relatos iniciais, o fenômeno tem sido confirmado em várias espécies de mamíferos e em outras vias hipocampais (DEADWYLER et al.,1975; SCHWARTZKROIN & WESTER,1975; DUDEK et al.,1976; e para revisão veja : BLISS & LYNCH,1987).

Tem-se sugerido que a LTP constitui um dos importantes substratos fisiológicos da aprendizagem e memória no CNS, uma vez que a sua longa duração resulta de um modesto trem de estimulação (CHUNG,1977; BERGER & THOMPSON,1978; BLISS,1979; SWANSON et al.,1982; VORONIN,1983; ECCLES,1983; LYNCH et al.,1983; BERGER,1984; MORRIS et al.,1986;

BLISS & LYNCH,1987; MATTHIES,1989; e as revisões: TSUKAHARA,1981; TEYLER & DISCENNA,1984; SQUIRE,1986; ECCLES,1988; HAWKINS et al.,1993; IZQUIERDO,1994). Contudo, o mecanismo responsável por esse fenômeno tem permanecido elusivo.

LTP tem sido encontrada especialmente em sinapses excitatórias (BLISS & LYNCH,1987; BROWN et al.,1988a,b), e desde a sua descoberta nas células granulares do giro dentado, tem sido demonstrada não somente em outras sinapses excitatórias da formação hipocampal - área CA1 (SCHWARTZKROIN & WESTER,1975; LYNCH et al.,1977); área CA3 (ALGER & TEYLER,1976; YAMAMOTO & CHUGO,1978); giro dentado (ALGER & TEYLER,1976); projeções entorrinais do giro dentado (WILSON et al.,1979); projeções comissurais para a área CA1 (BUZSÁKI,1980); interneurônios inibitórios da área CA1 (BUZSÁKI & EIDELBERG,1982); projeções septais de CA1 (RACINE et al.,1983) e projeções do giro dentado (MCNAUGHTON & MILLER,1984); projeções do curso perforante para CA1 ipsilateral (DOLLER & WEIGHT,1985) - mas também numa variedade de outras áreas cerebrais (veja as revisões : TEYLER & DISCENNA,1984).

Nos mamíferos, LTP tem sido encontrada na córtex visual (TSUMOTO & SUDA,1979; KOMATSU et al.,1981; ARTOLA & SINGER,1987; PERKINS & TEYLER,1988; TSUMOTO,1990); na córtex estriada após a estimulação da substancia branca adjacente (KOMATSU et al.,1981); no núcleo geniculado medial (GERREN & WEINBERGER,1983); no cerebelo (THOMPSON,1983); na córtex cerebelar (ITO,1983); na córtex entorrinal após estimulação da amígdala (RACINE et al.,1983); na córtex (ECCLES,1983; TEYLER & DISCENNA,1984;1985; ARTOLA & SINGER,1987); na córtex piriforme após a estimulação do bulbo olfatório (STRIPLING et al.,1984; STRIPLING & PATNEAU,1985); nas fibras calosais da neocórtex (WILSON,1984); na córtex somatossensoria após a estimulação da substancia branca adjacente

(VORONIN,1985; METHERATE et al.,1987; BINDMAN et al.,1988; THOMSON et al.,1989; TSUMOTO,1990); no núcleo cerebelar profundo (RACINE et al.,1986) e nas projeções claustrum da córtex entorrinal (WILHITE et al.,1986).

Em sistemas de vertebrados não-mamíferos, LTP também tem sido observada nos dendritos apicais dos neurônios da córtex medial de répteis (NORTHCUTT,1981; LARSON & LYNCH,1985) e no teto óptico do peixe vermelho (LEWIS & TEYLER, 1986a).

LTP, uma vez considerada como sendo uma propriedade única das sinapses hipocampais, é de fato uma característica muito mais geral da função sináptica. Essa forma de memória sináptica pode significativamente influenciar o processamento das informações, bem como o controle das mesmas em outras regiões do sistema nervoso, incluindo os gânglios autonômicos (BROWN & McAFEE,1982). Assim, surpreendentemente, LTP, também tem sido encontrada operando em sinapses periféricas, incluindo os sistemas muscarínicos de gânglios autonômicos (LIBET et al.,1975), os sistemas nicotínicos do SCG de rato, documentada alguns anos antes da descoberta do fenômeno hipocampal análogo (DUNANT & DOLIVO,1968; DUNANT,1969; BROWN & McAFEE,1982; BRIGGS et al.,1983;1985a,b), os gânglios simpáticos de sapo (KUMAMOTO & KUBA,1983a; KOYANO et al.,1985), de gatos (BACHOO & POLOSA,1986;1991), de cobaias (DUN & MINOTA,1981; DUN et al.,1984), de coelhos (LIBET & TOSAKA,1970; LIBET et al.,1975; KOBAYASHI et al.,1978; ZENGEL et al.,1980) e na junção neuromuscular do sapo, estruturas tais, que aparentemente não participam do mecanismo de memória e aprendizagem (ZENGEL et al.,1980; KUBA et al.,1981; JOHNSTON et al.,1983; DOLPHIN,1985; BAXTER et al.,1985; WOJTOWICZ & ATWOOD,1986; ZUCKER,1989).

WALTERS & BYRNE (1985) demonstraram que LTP não se encontra

limitada sómente aos vertebrados. Também pode ser obtida na *Aplysia* e, talvez na junção neuromuscular do camarão de água-doce (LNEMICKA & ATWOOD,1985; BAXTER et al.,1985). Nesses motoneurônios fásicos, um aumento da transmissão juncional é vista após a estimulação do neurônio motor (LNEMICKA & ATWOOD,1985), efeito este atribuído a um aumento no conteúdo quantal após a tetanização (BAXTER et al.,1985).

O desenvolvimento da LTP durante a ontogênese foi observado no hipocampo de roedores, onde ela se desenvolve entre o sétimo e o décimo dia pós-natal na área CA1 (BAUDRY et al.,1981; HARRIS & TEYLER,1983) e mais tardiamente (sétimo-vigésimo oitavo dia) no giro dentado (DUFFY & TEYLER,1978; WILSON,1984).

RACINE et al.(1983) e RACINE & DEJONGE (1988) sugeriram que diferentes formas de LTP podem ser classificadas baseando-se no decaimento da constante de tempo. Assim, podemos encontrar LTP "decremental", a qual decresce no curso do tempo de dezenas de minutos, e "não-decremental", que apresenta um pequeno ou nenhum decaimento detectável durante a duração de um experimento (JOHNSTON et al.,1988).

LTP parece ser um fenômeno bastante difundido, entretanto ainda não se encontra bem estabelecido se esses diversos exemplos de aumento da atividade sináptica se originam de um único mecanismo.

MECANISMOS DA LTP

A despeito da multiplicidade de estudos realizados no intuito de esclarecer o(s) mecanismo(s) da LTP, especialmente no hipocampo, usando-se técnicas eletrofisiológicas, morfológicas e bioquímicas, o *loci* preciso e seus mecanismos ainda não foram esclarecidos. Ao contrário, o *loci* da LTP nas sinapses periféricas parece ser bem mais compreendido do que aquele nas

sinapses centrais. Contudo, ainda não está esclarecido como essas formas de LTP estão relacionadas entre si.

Dessa forma, a LTP que inicialmente acreditou-se ser confinada a sinapses hipocâmpais, tem sido encontrada em outras regiões do CNS e também no PNS. É provável, portanto, que os mecanismos envolvidos variem entre as diferentes sinapses.

As interpretações dos achados experimentais parecem convergir para dois blocos de mecanismos : um pré- e outro pós-sináptico (DOLPHIN et al.,1982; BLISS & DOLPHIN,1982; LYNCH et al.,1983; LYNCH & BAUDRY, 1984; KUHNT et al.,1985).

Para se considerar os mecanismos envolvidos, é conveniente separar LTP em dois componentes, ou seja, sua indução e sua manutenção. A indução descreve as mudanças que ocorrem durante a tetanização que permitem que o efeito seja estabelecido, enquanto que a manutenção se encontra relacionada com os mecanismos que diretamente promovem a expressão do efeito.

MECANISMOS NAS SINAPSES CENTRAIS

A primeira evidência sugerindo que mecanismos pré-sinápticos estão envolvidos na manutenção da LTP foi demonstrada pelos resultados de SKREDE & MALTHE SORENSEN (1981). Tais autores demonstraram que a liberação não-estimulada de D-aspartato radioativo foi significativamente aumentada no hipocampo, após a estimulação tetânica. Em apoio a esse mecanismo pré-sináptico, também tem sido determinado um aumento na liberação de glutamato recém-sintetizado (DOLPHIN et al.,1982) e de glutamato endógeno (BLISS et al.,1986) associada com a LTP. Esses e outros experimentos (DUNWIDDIE et al.,1978; KRUG et al.,1982; COLLINGRIDGE et al.,1983; LYNCH et al.,1985;

FEASEY et al.,1986; BLISS et al.,1986;1987; ERRINGTON et al.,1987) mostram claramente que a manutenção da LTP, no hipocampo, está intimamente associada com um aumento na liberação do transmissor - aspartato (SKREDE & MALTHER-SORENSEN,1981) e glutamato (DOLPHIN et al.,1982) - sendo então proposto que tal fato é, no mínimo em parte, responsável pela manutenção da LTP (LYNCH,1989). Tais evidências constituem a mais forte sugestão de que o terminal pré-sináptico é a fonte de um componente do mecanismo da LTP (LYNCH et al.,1985; FEASEY et al.,1986; HESS et al.,1987; SAYER et al.,1989).

Por outro lado, evidências *in vitro* de um aumento da fixação de glutamato ao receptor, o que implica num aumento no número dos receptores, têm sido apresentadas como representando um mecanismo puramente pós-sináptico para a LTP (LYNCH & BAUDRY,1984).

No sentido de melhor entender os mecanismos da LTP, considerável interesse tem sido dado à atividade de um sub-tipo de receptor para aminoácidos, classificado como receptor N-Metil-D-Aspartato (N-methyl-D-aspartate, NMDA) (COLLINGRIDGE et al.,1983; COLLINGRIDGE, 1985). Tais receptores são encontrados em grande número em uma variedade de regiões cerebrais (MONAGHAN & COTMAN,1985) e parecem mediar a transmissão em pequenos, mas importantes grupos de sinapses na neocórtex (THOMSON et al.,1985; THOMSON,1986) e também mediar a iniciação de várias formas de plasticidade sináptica (ARTOLA & SINGER,1987; STELZER et al.,1987), como por exemplo a LTP hipocampal (BLISS & LOMO,1973; COLLINGRIDGE et al.,1983; HARRIS et al.,1984; MONAGHAN & COTMAN,1985; HARRIS & COTMAN,1986; COLLINGRIDGE & BLISS,1987). Esses receptores também estão implicados na plasticidade neuronal durante o desenvolvimento em mamíferos jovens e na aquisição da memória em adultos (MORRIS et al.,1986; ARTOLA & SINGER,1987). Experimentos realizados por LYNCH et al.(1985)

têm sugerido a existência desses receptores nos neurônios pré-sinápticos.

No hipocampo de rato, os receptores NMDA parecem ser cruciais na plasticidade sináptica, provavelmente controlando a entrada de Ca^{++} nos neurônios que iniciam os processos bioquímicos dependentes de Ca^{++} , que suportam as mudanças de longa duração na função sináptica (FAGG et al.,1986; MacDERMOTT et al.,1986). Esses receptores são ativados temporariamente pela estimulação tetânica, levando à indução da LTP (COLLINGRIDGE et al.,1983; HARRIS et al.,1984; HERRON et al.,1986).

A aplicação do ácido 2-amino-5-fosfonovalérico (2-amino-5-phosphonovaleric Acid, APV), antagonista específico desses receptores, bloqueia a LTP, sem afetar significativamente a transmissão normal, em fatias da área CA1 (DUNWIDDIE et al.,1978; COTMAN et al.,1981; COLLINGRIDGE et al.,1983; HARRIS et al.,1984; KAUER et al.,1988), no girus dentado intacto (MORRIS et al.,1986) e a LTP dependente do aumento da liberação de glutamato no girus dentado (LYNCH et al.,1985; ERRINGTON et al.,1987). Subsequentemente, foi estabelecido que o canal iônico associado com esse receptor se encontra sujeito a um bloqueio dependente de voltagem pelo Mg^{++} (NOWAK et al.,1984). Esse bloqueio é suspenso pela despolarização, de modo que no seu estado aberto o canal é permeável aos íons Ca^{++} o que permite o influxo desses íons para a região pós-sináptica (NOWAK et al.,1984; MAYER & WESTBROOK,1985; JAHR & STEVENS,1987).

Por outro lado, COLLINGRIDGE (1985) sugeriu que a despolarização produzida pela alta frequência de estimulação pode ser suficiente para abrir os canais dos receptores NMDA, e essa despolarização adicional pode por sua vez abrir mais receptores NMDA, produzindo um efeito cascata e de algum modo iniciando o processo da LTP. Afirma-se que a atividade dos receptores NMDA está acoplada a um mecanismo para a manutenção do aumento da atividade sináptica através desses receptores, que parecem estar envolvidos na iniciação

mas não na manutenção da LTP (COLLINGRIDGE,1985).

Diversas evidências sugerem que o Ca^{++} tem um importante papel na indução da potenciação no hipocampo (YAMAMOTO & SAWADA,1981; BLISS et al,1984; HIGASHIMA & YAMAMOTO,1985). Exposição de fatias hipocampais a soluções com altas concentrações de Ca^{++} ou perfusão do hipocampo *in vivo* com uma alta concentração de Ca^{++} , induz uma condição muito similar a LTP. Isso foi primeiramente descrito na área CA1 (TURNER et al.,1982) e posteriormente no girus dentado *in vitro* (WILLIAMS & BLISS,1988) e *in vivo* (BLISS et al.,1987) e na área CA3 *in vivo* (BLISS et al.,1984; REYMANN et al.,1986; MELCHERS et al.,1987). Além disso, diversos experimentos mostraram que a LTP foi bloqueada sob condições de baixos níveis de Ca^{++} , indicando que o mesmo tem um papel crítico na sua produção (DUNWIDDIE et al.,1978; DUNWIDDIE & LYNCH,1979; WIGSTRÖM et al.,1979).

Essas observações foram estendidas pelos experimentos de BAIMBRIDGE & MILLER (1981), que demonstraram que a captação e a retenção do cálcio marcado estão aumentadas após a LTP. Em adição, KUHN et al.(1985) demonstraram um grande aumento nos depósitos de Ca^{++} dos dendritos com a indução da LTP, e LYNCH et al.(1987) encontraram que a LTP se encontrava associada com um aumento no Ca^{++} intrasinaptossomal. Esses resultados sugerem um papel adicional do Ca^{++} na LTP envolvendo um componente pré-sináptico no mecanismo da mesma, além daquele da transmissão sináptica normal.

Tem sido proposto que o Ca^{++} responsável pela iniciação da LTP atinge os neurônios durante a estimulação de alta frequência através dos canais de Ca^{++} dependente de voltagem (WONG & PRINCE,1978; MALINOW & MILLER,1986; MULKEEN et al.,1987), relacionados com os receptores

NMDA, que possuem uma alta permeabilidade ao Ca^{++} (COLLINGRIDGE et al.,1983;1992; HARRIS et al.,1984; HERRON et al.,1986; MacDERMOTT et al.,1986; LARSON & LYNCH,1988). Também tem se sugerido que o Ca^{++} , entrando através dos canais NMDA, atua como um segundo mensageiro ou cofator para desencadear a translocação ou ativação enzimática necessária para ativar a LTP (DUNWIDDIE & LYNCH,1979; LYNCH et al.,1983; AKERS & ROUTTENBERG,1985; AKERS et al.,1986; LOVINGER et al.,1987; SCHWARTZ & GREENBERG,1987; MALINOW et al.,1988; BLISS & LYNCH,1987; NICOLL et al.,1988). Contudo, o influxo de Ca^{++} através dos mesmos parece não ser sempre obrigatório para iniciar a LTP, uma vez que tem sido demonstrado no "*stratum lucidum*" da área CA3, que a LTP não é bloqueada pelo APV (HARRIS & COTMAN,1986).

Essa dependência de Ca^{++} para a produção da LTP não pode ser explicada simplesmente pela dependência de Ca^{++} para a liberação do neurotransmissor (embora isto esteja de alguma forma envolvida), mas primariamente pela dependência de Ca^{++} por parte de outros mecanismos, um dos quais pode ser a ativação dos receptores NMDA na membrana pós-sináptica. Essa hipótese é embasada pelos achados de que a injeção intracelular de ácido etileno glicol-bis-(beta-aminoetil eter)N,N,N',N'tetra acético (ethyleneglycol-bis-(β -aminoethyl ether)N,N,N',N'-tetraacetic acid, EGTA) nas células piramidais da área CA1 bloqueia o aparecimento da LTP (LYNCH et al.,1983; MALENKA et al.,1988). Tais resultados dão suporte a hipótese de que a LTP é causada por modificações nos neurônios pós-sinápticos, estimulados pelo Ca^{++} (DUNWIDDIE & LYNCH,1979).

Esses achados foram confirmados pelos estudos de MALENKA et al.(1988) que demonstraram que é necessário um aumento na concentração do Ca^{++} pós-sináptico para induzir LTP. Em adição, CONNOR et al.(1988)

demonstraram um acoplamento entre a ativação dos receptores NMDA e a elevação intracelular de Ca^{++} , de longa duração, nos neurônios hipocâmpais da área CA1. Da mesma forma, DOLPHIN (1983) encontrou no giro dentado que a utilização de 2-cloroadenosina, um bloqueador da adenosina que também pode inibir o influxo de Ca^{++} , bloqueia a produção da LTP.

Dado o papel central do Ca^{++} no processo sináptico, vários laboratórios têm estudado o envolvimento do sistema cálcio/calmodulina na LTP. Uma vez que existem fortes evidências de que a LTP no hipocampo é acompanhada por um aumento no número de receptores do glutamato, foi sugerido que esses efeitos poderiam ser modulados através de uma proteína ativada pelo Ca^{++} (BAUDRY & LYNCH, 1980a,b; BAUDRY et al., 1980; 1981). Aventa-se que o grande aumento do Ca^{++} nas células granulares e piramidais resulta na sua combinação com a proteína específica, a calmodulina, para formar um sistema de segundo mensageiro, o qual produz mudanças metabólicas, levando a um aumento nos receptores da membrana das densidades pós-sinápticas para o transmissor sináptico glutamato (ECCLES, 1983).

Tais achados dão suporte a um componente pós-sináptico para a LTP hipocâmpal, e os dados de OBENAU et al. (1989) são consistentes com as hipóteses de que a liberação pós-sináptica de Ca^{++} de estoques intraneuronais é um pré-requisito crítico para que a LTP seja induzida.

Calmodulina, que é uma proteína ligadora de Ca^{++} e ativadora de vários processos dependentes de Ca^{++} (TEO & WANG, 1973; KAKIUCHI & SOBUE, 1983) via proteína quinase dependente de cálcio/calmodulina (FUJISAWA et al., 1984), e PKC (NISHIZUKA, 1984) parece estar envolvida no aumento sustentado do glutamato liberado durante a LTP, estando portanto, fortemente implicada nesse processo (KLEE et al., 1980; MODY et al., 1984; SUZUKI, 1994).

Vários pesquisadores têm demonstrado que a PKC se encontra envolvida na indução da LTP na área CA₁ e no giro dentado (MURAKAMI & ROUTTENBERG, 1985; MALENKA et al., 1986; LINDEN et al., 1987; GUSTAFSSON et al., 1988; MALINOW et al., 1990; MULLER et al., 1991; PASINELLI et al., 1995). Em adição, a ativação da proteína quinase levando a fosforilação das proteínas neuronais, parece ocupar um papel chave no desenvolvimento e na expressão da plasticidade sináptica (ROUTTENBERG, 1979; KANDEL & SCHWART, 1982; LYNCH & BAUDRY, 1984; MALINOW et al., 1988; 1989). No mesmo sentido, tem sido sugerido que a ativação da PKC estimulada por Ca⁺⁺/fosfolípido (TAKAI et al., 1977; 1979), e conseqüentemente a fosforilação de um de seus substratos, a proteína F₁ (ROUTTENBERG, 1984; AKERS & ROUTTENBERG, 1985; AKERS et al., 1986; MALENKA et al., 1986; MALINOW et al., 1988), podem mediar a persistência, mas não a iniciação da LTP (para revisão veja: LOVINGER et al., 1986). Também tem sido reportado, que a ativação da PKC *in vivo* pode ser dependente da translocação da quinase do citosol para o componente lipídico da membrana seguindo a estimulação de alta frequência (AKERS et al., 1986; KRAFT & ANDERSEN, 1993).

Por outro lado, também tem sido demonstrado que o papel da PKC na LTP não está confinado apenas a mudanças pré-sinápticas. HU et al. (1987) demonstraram que a injeção de PKC purificada nas células da área CA₁, produziu mudanças na excitabilidade celular semelhantes a LTP, apontando para um papel pós-sináptico.

A indicação de que a LTP é independente de eventos pré-sinápticos é dada pela ação do ácido 2-amino-4-fosfonobutírico (2-amino-4-phosphonobutyric acid, AFB), o qual bloqueia a ação do transmissor nos receptores pós-sinápticos, mas não tem ação pré-sináptica (DUNWIDDIE et al., 1978). Esses achados claramente indicam que a LTP resulta de uma ação trans-sináptica, isto é, que ela

é iniciada pós-sinápticamente.

Uma teoria que sugeriu mecanismos pós-sinápticos primariamente responsáveis pela manutenção da LTP, foi proposta por BAUDRY & LYNCH (1980a). Tal teoria foi chamada teoria do receptor e propunha que havia um aumento do número de receptores pós-sinápticos para o glutamato seguindo a indução da LTP. Vários experimentos bioquímicos e de ligação aos receptores têm suportado esses achados (BAUDRY et al.,1980; veja também para revisão : LYNCH & BAUDRY,1984).

Apoiando o mecanismo pós-sináptico, nenhuma mudança no potencial de repouso, na resistência de entrada, na constante de tempo da membrana e na corrente limiar, todos medidos com um eletrodo intracelular no soma, foi observada durante a geração da LTP nos neurônios das áreas CA₁ e CA₃ (ANDERSEN et al.,1980; HAAS & ROSE,1982; BARRIONUEVO & BROWN,1983; BARRIONUEVO et al.,1986). Um papel pós-sináptico na indução da LTP foi mais tarde confirmado quando MALINOW & MILLER (1986) mostraram que a hiperpolarização das células alvo também bloqueia a indução da LTP.

Os achados experimentais para esclarecer o(s) mecanismo(s) da LTP são obviamente diversificados e dessa forma sugerem mecanismos pré- e pós-sinápticos. Fica pois, bem claro que o sítio de expressão da LTP é bastante controverso, mas estudos recentes com análise quantal (BEKKERS & STEVENS,1990) têm fortificado a evidência de que, após a indução pós-sináptica, a LTP é expressa por um aumento na liberação do transmissor a partir dos terminais pré-sinápticos como já previsto por DOLPHIN et al.(1982) e BLISS et al. (1986).

O requerimento de ambos os elementos pré- e pós-sinápticos na indução da LTP têm sido claramente demonstrados pelos trabalhos de BLISS & LOMO (1973); VAN HARREVELD & FIFKOVA (1975); McNAUGHTON et

al.(1978); ANDERSEN et al.(1980); BAUDRY et al.(1981); KELSO et al.(1986); BLISS et al.(1986); HVALBY et al.(1987); BEKKERS & STEVENS (1990); BASKYS et al.(1991); KULLMANN & NICOLL (1992); LARKMAN et al.(1992). Esses trabalhos provêm a mais forte evidência de que a associação das atividades pré- e pós-sinápticas são essenciais para a indução da LTP. De acordo com os resultados de BARANYI & FEHÉR (1981) a continuidade temporal de excitações pré- e pós-sinápticas, é indispensável para a facilitação sináptica, como previamente postulado por HEBB (1949).

Assim, LTP que inicialmente foi proposta como sendo um mecanismo exclusivamente pós-sináptico, pode envolver várias mudanças secundárias pré-sinápticas (SKREDE & MALTHE-SORENSEN,1981; BLISS & DOLPHIN,1982; DOLPHIN et al.,1982; TURNER et al.,1982; MALGAROLI,1994).

Várias hipóteses têm sido propostas para integrar as aparentes contribuições pré- e pós-sinápticas para a LTP. ECCLES (1983) propôs que as mudanças pós-sinápticas, secundárias ao influxo de Ca^{++} induzido pelo tétano, induzem o aumento na liberação do transmissor por meio de um fator trófico. Ao contrário, KRUG et al.(1984) sugeriram que o evento primário é o aumento na liberação do transmissor, o qual por sua vez induz mudanças estruturais de longa duração no neurônio pós-sináptico.

Embora mecanismos multimodais para o aumento da eficiência sináptica sejam possíveis, um mecanismo de cascata envolvendo ambos os elementos pré- e pós-sinápticos em série pode ocorrer. Para que esse mecanismo de cascata envolvendo ambos os elementos ocorra, deve existir transmissão química da informação por meio da difusão das substâncias. Existem evidências para isso. Tais mecanismos estão pois, relacionados com os processos de manutenção da LTP. Entretanto, avanços nesse sentido têm sido relativamente lentos.

Uma vez que a indução da LTP requer a ocupação dos receptores NMDA pelo glutamato com um conseqüente aumento no influxo de Ca^{++} pós-sináptico, e a manutenção da LTP parece envolver mudanças pré-sinápticas que levam a um aumento da liberação de glutamato, é provável que possa existir algum fator produzido pós-sinápticamente que atue como um sinal retrógrado e volte a atuar no sítio pré-sináptico para informar sobre os eventos pós-sinápticos.

Estudos usando anticorpos poli ou monoclonais têm sugerido a existência de substâncias difusíveis ou sítios no espaço extracelular envolvidas no mecanismo da LTP (MOORE,1965; LEWIS & TEYLER,1986b; STANTON et al.,1987).

Um peptídeo encontrado no veneno da abelha, o peptídeo degranulador dos mastócitos (Mast Cell Degranulator, MCD), tem sido apontado por CHERUBINI et al.(1987) como um possível candidato a substância sinalizante extracelular, uma vez que, MCD produz LTP de EPSP registrados intracelularmente na área CA1 do hipocampo de rato.

Por outro lado, com a descoberta de que a estimulação dos receptores NMDA pode levar a produção e a liberação do Óxido Nítrico (Nitric Oxide, NO) (GARTHWAITE et al.,1988;1989), este foi sugerido como provável mensageiro retrógrado, visto sua habilidade para se difundir, sua curta vida, e sua mais recente função como um mensageiro neuronal no cérebro (SNYDER & BREDT,1991; DAWSON et al.,1992).

Além disso, existem várias indicações que o NO se encontra envolvido na geração da LTP (BÖHME et al.,1991; O'DELL et al.,1991; SCHUMAN & MADISON,1991; HALEY et al.,1992; SNYDER,1992; ZHUO et al.,1993; LUM-RAGAN & GRIBKOFF,1993), tornando-o portanto, um excelente candidato a mensageiro retrógrado.

Em adição, os trabalhos de MIZUTANI et al.(1993) dão suporte a idéia de que o NO se encontra envolvido na geração da LTP nas sinapses

das células granulares do giro dentado *in vivo*.

Por outro lado, vários autores (ZHUO et al.,1993; HAWKINS et al.,1994) apresentaram evidências implicando um diferente gás, o Monóxido de Carbono (Carbon Monoxide, CO), na plasticidade sináptica. Esses autores mostraram que o aumento de longa duração produzido pelo NO ou pelo CO é espacialmente restrito as sinapses pré-sinápticas ativadas, e que o aumento não envolve um efeito pós-sináptico generalizado, mas antes um efeito localizado. Os resultados sustentam a possibilidade de que o NO e o CO têm um *locus* de ação pré-sináptico.

O papel do ácido aracdônico ou seus metabólitos, ácido hidroperoxieicasotetraenóico (Hydroperoxyeicosatetraenoic Acid, HPETE) e ácido hidroxieicasotetraenóico (Hydroxyeicosatetraenoic Acid, HETE) como outros mensageiros trans-sinápticos no mecanismo da LTP também tem sido sugerido (DUMUIS et al.,1988; BLISS et al.,1990; LYNCH et al.,1991). Estes constituem fortes candidatos para esses mensageiros da fase tardia da LTP, uma vez que são compostos pequenos e lipossolúveis, podendo atravessar a membrana com certa facilidade, e assim produzir as alterações pré-sinápticas características da LTP (PIOMELLI et al.,1987). Em adição, DUMUIS et al.(1988) sugerem que os receptores NMDA são receptores pós-sinápticos que iniciam a síntese desses prováveis mensageiros trans-sinápticos.

Fortes evidências para o papel da cascata do ácido aracdônico na geração de um mensageiro trans-sináptico no mecanismo da LTP tem sido obtido por LYNCH et al.(1989) e WILLIAMS et al.(1989). Esses autores sugeriram que o sítio da liberação do ácido aracdônico está localizado na membrana pós-sináptica.

LYNCH et al.(1989) e também BLISS et al.(1988) hipotetizaram que a ativação dos canais iônicos dos receptores NMDA na membrana pós-sináptica ativam a fosfolipase A₂, por meio de um aumento na $[Ca^{++}]_i$ e causam a

liberação do ácido aracdônico e/ou de seus metabólitos, que por sua vez atuam nos terminais pré-sinápticos, levando a ativação do mecanismo de expressão e manutenção da potenciação da liberação do transmissor (possivelmente através da ativação do turnover do fosfatidil-inositol e/ou quinase C).

Por outro lado, dados mais recentes, fortemente indicam o Fator de Ativação Plaquetária (Platelet-Activating Factor, PAF) como um dos mais prováveis candidatos a mensageiro retrógrado, envolvido na sinalização da célula pré- para a pós-sináptica durante a LTP hipocampal (GODA,1994; KATO et al.,1994).

Evidências suportando a idéia de que ambos os elementos pré- e pós-sinápticos estão envolvidos na manutenção da LTP também têm sido obtidas a partir de estudos morfológicos.

Um grande número de evidências mostram que mudanças morfológicas também ocorrem após a indução da LTP, e que possivelmente tais mudanças estão envolvidas na manutenção do efeito. Essas mudanças relacionam-se com o número de espinhos e botões, a largura dos espinhos, o comprimento da haste dos espinhos, o número de hastes sinápticas, o aumento no número de vesículas sinápticas e nas densidades da membrana pós-sináptica, após a estimulação do hipocampo com alta frequência (RALL,1962; VAN HARREVELD & FIFKOVÁ,1975; FIFKOVÁ & VAN HARREVELD,1977; LEE et al.,1980; DESMOND & LEVY,1983; CHANG & GRENOUGH,1984; e veja também BLISS & LYNCH,1987).

Esses fatos deram origem a uma série de estudos sobre o papel da síntese proteica na LTP. Usando métodos de dupla marcação, DUFFY et al.(1981) encontraram que a LTP da população de spikes na região CA1 ou no giro dentado, estava associada com a liberação de proteínas recém-sintetizadas para o fluído extracelular. Dados semelhantes foram obtidos por

CHARRIAUT-MARLANGUE et al.(1988). Por outro lado, evidências recentes têm implicado a fosforilação de proteínas como importante mecanismo regulatório na expressão da plasticidade neuronal (GISPEN et al.,1986). Vários pesquisadores têm relatado mudanças ao nível de fosforilação de um certo número de proteínas, após a estimulação em alta frequência (BROWNING et al.,1979; BÄR et al.,1980; ROUTTENBERG et al.,1985). Como a fosforilação de proteínas pode ocorrer dentro de segundos e persistir (ROUTTENBERG & EHRLICH,1975), esse fato se torna um candidato atrativo para o substrato bioquímico da LTP. Em adição, tem sido sugerido que tanto a indução (STANTON & SARVEY,1984) como a manutenção (FIFKOVÁ et al.,1982; KRUG et al.,1984) da LTP são bloqueadas por inibidores da síntese proteica.

Experimentos realizados por FREY et al.(1988) na área CA1 *in vitro* e por OTANI et al.(1989) no girus dentado *in vivo*, utilizando inibidores da síntese proteica, permitiram concluir que a fase inicial da manutenção da LTP é provavelmente independente da síntese proteica, enquanto que a fase mais tardia requer a síntese de novas proteínas.

A observação de que as aminas biogênicas podem induzir uma profunda e duradoura facilitação na eficácia de um segundo transmissor em um número de sinapses centrais (BRUNELLI et al.,1976; FREEDMAN et al.,1977; READER et al.,1979; ROGAWSKI & AGHAJANIAN,1980; BLISS et al.,1981) é intrigante, e tem atraído considerável interesse nos últimos anos, uma vez que isso pode servir como um substrato neural para a aprendizagem e a memória (KANDEL & SCHWARTZ,1982).

Além disso, existem várias observações que sugerem que as vias monoaminérgicas têm a capacidade de influenciar a LTP (PETTIGREW & KASAMATSU,1978). Os resultados obtidos por BLISS et al.(1981) mostram que monoaminas podem modular mudanças de longa duração na função sináptica do girus dentado, e sugerem que a 5-HT é mais potente nesse sentido que a NE.

Existem evidências de projeções noradrenérgicas para o hipocampo (SWANSON & HARTMAN,1975; LOY et al.,1980) e da habilidade da NE servir como um neuromodulador (SEGAL,1982; HAAS & KONNERTH,1983; HOPKINS & JOHNSTON,1983). Além disso, BLISS et al.(1983) demonstraram que a integridade das projeções noradrenérgicas para o girus dentado, é importante para a completa expressão da LTP.

HOPKINS & JOHNSTON (1984;1988) demonstraram que a NE aumenta a magnitude e a duração da LTP induzida por tétano, na área CA3. Tal ação provavelmente, se deve a redução do efeito depressivo do IPSP no mecanismo da LTP. O sítio de ação da NE na área CA3 parece ser pós-sináptico, e o aumento da despolarização induzida pelo tétano parece resultar de dois modos de ação da mesma na membrana das células piramidais, ou seja, a supressão da corrente de Ca^{++} dependente de K^+ durante a hiperpolarização lenta tardia (After Hyperpolarization, AHP) que acompanha o potencial de ação (MADISON & NICOLL,1986; HAAS & ROSE,1987), e o aumento na corrente de Ca^{++} durante o potencial de ação (GRAY & JOHNSTON,1987). Esses dois efeitos da NE podem não só se oporem aos efeitos hiperpolarizantes do IPSP, mas também resultarem no aumento do influxo de Ca^{++} nos elementos pós-sinápticos.

Entretanto, essas ações pós-sinápticas que levam a um aumento da LTP são aparentemente inconsistentes com a sugestão de que esta na área CA3 é gerada por um aumento do transmissor liberado pelos terminais pré-sinápticos (YAMAMOTO et al.,1989). Assim, o sítio de ação da NE para aumentar a liberação de glutamato parece ser pré-sináptico e mediado por um sistema ativado pelo cAMP (STANTON & SARVEY,1985c), o qual pode resultar no aumento da síntese de uma proteína específica no mecanismo da LTP. Dessa forma, se todos os achados discutidos acima forem corretos, temos que assumir novamente um processo trans-sináptico mediando a transferência de informação entre os

neurônios pré- e pós-sinápticos, ou um mecanismo pós-sináptico da ação da NE com aumento total da sensibilidade da membrana pós-sináptica ao transmissor.

Já no girus dentado, a NE, por si mesma, é capaz de produzir LTP (NEUMAN & HARLEY, 1983). Essa observação foi confirmada por STANTON & SARVEY (1985a) e WINSON & DAHL (1985) e é também consistente com os achados de BLISS et al. (1983) e STANTON & SARVEY (1985b) que demonstraram que a depleção da NE endógena nos neurônios do locus coeruleus, os quais enviam seus neurônios para o girus dentado, resulta numa redução da magnitude da LTP induzida por tétano. Embora haja algumas informações (KRUG et al., 1983; ROBINSON & RACINE, 1985) inconsistentes com esses achados, é provável que a NE liberada pelos neurônios adrenérgicos durante o tétano na via perforante tenha um papel essencial na geração da LTP no girus dentado. Por outro lado, DUNWIDDIE et al. (1982) encontraram que a NE não está envolvida na produção da LTP na área CA₁.

Estudos realizados por BURGARD et al. (1989), mostraram que antagonistas dos receptores NMDA, APV e ácido(3-[(+)-2-carboxipiperazina-4-il]propil-1, fosfônico (3-[(±)-2-carboxypiperazin-4-il] propyl-1-phosphonic acid, CPP) significativamente suprimem a geração da LTP induzida pela NE.

Esses resultados sugerem o envolvimento da ativação dos receptores NMDA no mecanismo da LTP induzida pela NE através de uma ação pré-sináptica (para produzir um aumento sustentado na liberação do glutamato) ou uma ação pós-sináptica (para ativar o mecanismo da LTP que é normalmente ativado pelo tétano), ambas produzidas possivelmente, pela liberação espontânea de glutamato, pelos terminais pré-sinápticos.

WILLIAMS & JOHNSTON (1988) demonstraram que os efeitos muscarínicos da ACh também parecem modular os mecanismos da LTP induzida pelo tétano nas regiões CA₁ e CA₃. Um possível modo de envolvimento do sistema colinérgico muscarínico pode ser através do efeito despolarizante, o qual

facilita a ativação dos receptores NMDA que causam o influxo de Ca^{++} nos neurônios pós-sinápticos. Nesse caso, os receptores muscarínicos operam para facilitar a indução da LTP. Entretanto, essa ação pós-sináptica pode não ser consistente com o possível mecanismo pré-sináptico da LTP na região CA3.

Dados recentes demonstraram que a perfusão de Acetilcolinesterase (AChE) em fatias hipocâmpais de cobaio, induz uma LTP na transmissão sináptica hipocâmpal, a qual faz lembrar a clássica LTP produzida pela estimulação tetânica (APPLEYARD,1995).

MECANISMOS NAS SINAPSES PERIFÉRICAS

A LTP ganglionar resulta de um aumento na eficiência da transmissão sináptica nicotínica sem mudanças no potencial de repouso ou na resistência de entrada do neurônio pós-sináptico (ANDERSEN et al.,1980; BARRIONUEVO & BROWN,1983; BRIGGS et al.,1983;1985a,b). Esta parece ser gerada através de um processo pré-sináptico que induz uma potenciação duradoura (horas) evocada pela ACh endógena liberada (McCAMAN et al.,1984), uma vez que a ativação direta dos neurônios pós-ganglionares não causa a potenciação da transmissão sináptica (BRIGGS et al.,1985a). Nenhuma alteração foi observada na liberação espontânea ou no conteúdo ganglionar de ACh, o que sugere que a longa duração na eficiência sináptica seja devida, pelo menos em parte, ao aumento da quantidade de ACh liberada pelos impulsos aferentes (BRIGGS et al.,1985b).

De acordo com BRIGGS & McAFEE (1988) a expressão da LTP é acompanhada por uma potenciação na liberação da ACh, e pelo menos aparentemente, por um aumento generalizado na sensibilidade nicotínica. Assim, a LTP nicotínica no SCG de rato, parece ser largamente, se não

exclusivamente devida a mecanismos pré-sinápticos. Contudo, ainda não está bem esclarecido se a mesma é totalmente uma propriedade dos terminais nervosos colinérgicos, ou se também envolve a liberação de algum neuromodulador, como por exemplo algum peptídeo.

Similarmente, a análise quantal da LTP na junção neuromuscular do camarão de água-doce, também tem indicado que o *locus* da LTP é pré-sináptico (BAXTER et al.,1985).

Em adição, o mecanismo pós-sináptico foi descartado por vários experimentos usando técnicas de registro intracelular (BRIGGS & McAFEE,1988). Entretanto, no gânglio simpático, a estimulação repetitiva tem induzido um aumento, que dura horas, da resposta sináptica nicotínica, mas aparentemente através de um mecanismo pós-sináptico (KUMAMOTO & KUBA,1983b). Esse efeito parece diferir da LTP no SCG do rato, em outros aspectos pois, no gânglio do sapo, a potenciação da transmissão sináptica foi induzida antidrômicamente pela estimulação repetitiva do nervo pós-ganglionar. Já no gânglio de rato, a estimulação repetitiva não-sináptica do neurônio pós-ganglionar não induziu LTP (BROWN & McAFEE,1982; BRIGGS et al.,1983) e nem a transmissão colinérgica ou adrenérgica parece ser responsável pela indução da LTP por estimulação repetitiva (BRIGGS et al.,1985a).

A idéia de que a LTP se deve a um mecanismo pré-sináptico é também sugerida por outros estudos em uma variedade de tecidos (BAXTER et al.,1985; KOYANO et al.,1985; BLISS et al.,1986; GOELET et al.,1986; APPLGATE et al.,1987). Contudo, outros autores têm sugerido que um aumento na sensibilidade pós-sináptica para o transmissor explica ou contribui para a LTP (LYNCH & BAUDRY,1984; KOYANO et al.,1985; LYNCH et al.,1985; GOH et al.,1986).

Por outro lado, ambos os mecanismos pré- e pós-ganglionares foram encontrados operando na LTP induzida por tétano no gânglio simpático de sapo (KUMAMOTO & KUBA,1983a,b; KOYANO et al.,1985). Em relação ao seu

curso temporal, a LTP pré-sináptica nos gânglios simpáticos de sapo, relembra aquela no hipocampo BLISS & LOMO,(1973) e no córtex motor (BARANY & FÉHER,1981).

Como discutido anteriormente, é geralmente aceito que os íons Ca^{++} têm um importante papel no processo da LTP (ECCLES,1983; BRIGGS et al.,1985a), mas existe um desacordo com relação aos possíveis sítios de ação envolvidos na potenciação (BLISS & LOMO,1970; ECCLES,1983; BRIGGS et al.,1985a).

Existem evidências de que o grande aumento na $[Ca^{++}]_i$ no terminal pré-sináptico produzido pela atividade tetânica (BRIGGS et al.,1985a) inicia o mecanismo do aumento de longa duração da ACh liberada. A necessidade da presença de Ca^{++} , juntamente com a não necessidade da estimulação dos receptores nicotínicos (BRIGGS et al.,1985a), sugere que o Ca^{++} requerido é mais pré- que pós-sináptico.

PARDUCZ et al.(1987) observaram que o Ca^{++} não somente acumula-se nas vesículas sinápticas, isto é, dentro dos elementos pré-sinápticos, mas também aparece nos vacúolos dendríticos. Esses mesmos autores também demonstraram através de estudos morfológicos, que tal aumento no conteúdo de Ca^{++} pode ser devido a um aumento no número de vesículas que se ligam ao Ca^{++} . Porém, não existem experimentos para analisar como tal aumento na $[Ca^{++}]_i$ ativa o mecanismo de cascata da LTP. Um aumento no nível basal do Ca^{++} livre intraterminal $[Ca^{++}]_i$ tem sido sugerido como sendo o mecanismo para o aumento na liberação do neurotransmissor que apoia a LTP pré-sináptica (KOYANO et al.,1985; KUBA et al.,1988). Dessa forma, LTP pré-sináptica nos gânglios simpáticos de parece ser causada por um aumento sustentado do nível basal do $[Ca^{++}]_i$ nos terminais nervosos pré-sinápticos e possivelmente através da ativação de processos dependentes da calmodulina (MINOTA et

al.,1990). BROWN & McAFEE (1982) mostraram que a remoção do Ca^{++} extracelular da solução de perfusão, bloqueava a indução da LTP, enquanto que a adição de atropina (2 μ M) ou um aumento da concentração de Hexametônio de 200 μ M para 3 mM, durante o período da aplicação do tétano, não apresentava nenhum efeito sobre a LTP pré-existente. Em adição, a aplicação de carbacol (0.1-1.0 mM) não gerava LTP na transmissão nicotínica (BRIGGS et al.,1985a). Dessa forma, esses autores mostraram que a LTP ganglionar é um processo dependente de Ca^{++} e temperatura que aparentemente pode ser criado independentemente da ativação dos receptores nicotínicos (BRIGGS et al.,1985a), muscarínicos (LIBET et al.,1975) ou adrenérgicos (BROWN & DUNN,1983).

Um outro possível mecanismo para a LTP ganglionar, envolve uma ainda desconhecida substancia modulatória, a qual é liberada pelos terminais pré-ganglionares durante o tétano e que pode atuar aumentando os componentes pré- ou pós-sinápticos da transmissão nicotínica. Um dos candidatos é um peptídeo, o peptídeo semelhante ao hormônio liberador do hormônio luteinizante (Luteinizing Hormone-Releasing Hormone like, LHRH-like), o qual é co-liberado a partir das fibras C de gânglios simpáticos de sapo (JAN & JAN,1983).

Por outro lado, dados mais recentes apontam para um importante papel do NO no mecanismo da LTP dos gânglios autonômicos. Isso provavelmente ocorre através de uma diminuição na corrente de potássio I_c , pela ação modulatória das cGMP e cAMP fosfodiesterases, que iriam afetar a fosforilação do cAMP do canal I_c , ou seja, o NO liberado pelo terminal durante o tétano, levaria a uma alteração da fosforilação do cAMP do canal I_c , aumentando assim, a liberação do transmissor (BENNETT,1994).

Estudos para examinar um possível envolvimento da transmissão adrenérgica no mecanismo da LTP induzida por tétano, parece não terem sido bem sucedidos (VOLLE & PATTERSON,1983). Entretanto, exposição

prolongada do gânglio simpático de sapo a altas concentrações de E tem sido documentada como induzindo uma potenciação duradoura da transmissão nicotínica (KUBA et al.,1981; BROWN & DUNN,1983; KUMAMOTO & KUBA,1983a).

KUMAMOTO & KUBA (1987) sugeriram que a LTP induzida pela E é modulada pela dessensibilização dos adrenoceptores do tipo beta, e é um processo que envolve o cGMP endógeno atuando em uma etapa subsequente à produção do cAMP. Essa LTP é também eventualmente evocada por um crescimento do nível do Ca^{++} intraterminal no gânglio simpático de sapo (KUBA et al.,1981; KUMAMOTO & KUBA,1983a;1986; KUBA & KUMAMOTO,1986). Essa LTP induzida pela E pode servir não sómente na manutenção do alto nível do tônus simpático periférico, mas também como um sistema modelo da LTP no CNS.

LTP também tem sido reportada no EPSP lento dos gânglios simpáticos do coelho, pela ação da DA presente nas células SIF, atuando nos receptores muscarínicos elevando os níveis de cAMP nos neurônios pós-ganglionares (LIBET & TOSAKA,1970; LIBET et al.,1975; KOBAYASHI et al.,1978; LIBET & MOCHIDA,1988).

Neuropeptídeos também são passíveis de induzir LTP, uma vez que estão presentes nos terminais axônicos pré-ganglionares do gânglio estrelar do gato, e de existir evidência da liberação dos mesmos pela estimulação pré-ganglionar (BACHOO et al.,1987; CAVERSON et al.,1989). Em adição, as células tipo B dos gânglios simpáticos do sapo podem gerar um EPSP lento tardio após a estimulação tetânica do nervo pré-ganglionar do tipo C (NISHI & KOKETSU, 1968a), o qual foi gerado pela ação do LHRH e/ou liberação da Substancia P pelos terminais pré-sinápticos do tipo C (JAN et al.,1980; NISHI et al.,1980; JAN & JAN,1983; KATAYAMA & NISHI,1986).

Uma transmissão excitatória lenta, resistente a antagonistas

colinérgicos, foi descrita para o gânglio mesentérico inferior de cobaio (NEILD,1978), sendo proposto que o mediador seja a Substancia P ou um peptídeo similar (DUN & KARCZMAR,1979; DUN & MINOTA,1981; DUN & JIANG,1982; JIANG et al.,1982; DUN & KIRALY,1983). Além disso, a Substancia P (STEINACKER,1977) e o hormônio adrenocorticotrópico (Adrenocorticotropic Hormone, ACTH) (JOHNSTON et al.,1983), aplicados por alguns minutos em sinapses colinérgicas, aumentaram a amplitude do potencial de placa terminal na junção neuromuscular de sapo por cerca de 1 a 3 horas.

No SCG de rato e de gato, o VIP exógeno, produziu uma LTP da transmissão nicotínica (MALENKA et al.,1987) e muscarínica (KAWATAMI et al.,1985), respectivamente.

Dessa forma, os resultados obtidos até então para explicar os mecanismos da LTP, nas sinapses centrais e periféricas, são fragmentados, e nos levam a concluir que ainda é prematuro se delinear uma conclusão definitiva.

7. ASSOCIAÇÃO ENTRE O ANS E O SISTEMA IMUNOLÓGICO

Históricamente, tem-se acreditado que o sistema imunológico está posicionado independente e flexivelmente para proteger o corpo, reagindo sómente contra invasores estranhos. Entretanto, nos últimos anos, esse dogma tem sido questionado por dados que mostram a participação do sistema nervoso na regulação do sistema imune e vice-versa. Isto nos leva a acreditar que esses sistemas são interativos, ao invés de isolados, como anteriormente acreditado.

Entre as características mais marcantes do sistema imune está a sua habilidade para adaptar-se constantemente às mudanças de condições e a lembrança de como deve responder a cada uma dessas condições. A maior parte de sua memória é expressa na maneira como ele responde aos antígenos aos quais

o organismo foi previamente exposto. Da mesma forma, o sistema nervoso, por muito tempo considerado como sendo morfológicamente estático, com pouca habilidade para mudanças, também está constantemente mudando e adaptando-se em resposta à mudanças de condições. Por exemplo, é agora bastante claro, que as modificações comportamentais que ocorrem durante a aprendizagem resultam também de mudanças estruturais nas conexões entre as células nervosas e no modo como as mensagens respondem aos neurotransmissores (PRYSTOWSKY,1994).

Evidências recentes sugerem que ocorre comunicação entre as células do sistema nervoso e as do sistema imune (LEVINE,1994; MCCANN,1994). A base para essa comunicação é a liberação de mediadores químicos imunocompetentes entre as quais estão as citocinas (BASBAUM & LEVINE,1991; MORGANTI-KOSSMANN et al.,1992; HUGHES et al.,1992), e produtos hormonais do sistema neuroendócrino.

Esses sistemas não somente estão interligados em condições patológicas e fisiológicas, mas a perturbação aberrante de um sistema pelas células e produtos do outro, pode ser responsável pelo desenvolvimento de patologias. A integridade da barreira hemáto-encefálica e as alterações dessa barreira em patologias cerebrais, também influenciam as interações entre esses dois sistemas. Em doenças do sistema nervoso causadas por infecções virais e bacteriais, doenças imunes ou após injúria traumática, pode ocorrer infiltração de células do sistema imune, incluindo os linfócitos T e B e fagócitos mononucleares, e liberação de citocinas (HOFMAN,1989). Além disso, células residentes do sistema nervoso, particularmente astrócitos e microglia, podem eventualmente funcionar como células imunocompetentes (FREI & FONTANA,1989).

Sendo o ANS um dos componentes importantes da regulação da homeostase, através do controle das funções vegetativas, não é tão surpreendente

que haja importantes interações entre ele e o outro sistema encarregado de manter a homeostase através da defesa do organismo contra agentes invasores, o sistema imunológico.

8. ASSOCIAÇÃO ENTRE O ANS E OS MASTÓCITOS

Na reação inflamatória, que está sob controle do sistema imunológico, participam componentes que em linhas bem gerais, podem ser divididos em eventos vasculares e celulares (DALE & FOREMAN,1989).

Nos eventos celulares, a participação do mástócito exerce um papel relevante por duas razões. Primeiro, pelos autacóides que pode liberar (alguns dos quais são também, neurotransmissores ou candidatos a tal) e pela sua provável quimiossensibilidade a neurotransmissores (BIENENSTOCK,1992), o que enfatiza a interrelação entre o sistema imunológico e o ANS. Segundo, pelo seu posicionamento em tecidos do organismo que são estratégicos em relação as rotas de entrada dos agentes invasores (GOLUB & GREEN,1991).

Os mastócitos são células imunes granulocíticas observadas, predominantemente, em regiões perivasculares dos tecidos mucosos e serosos. Também são residentes do sistema nervoso normal, e frequentemente são observados em íntima aposição a neurônios, em uma grande variedade de tecidos periféricos. A estrutura do organismo mais rica em mastócitos, por unidade de peso (mg) é provavelmente um gânglio do ANS, o gânglio mesentérico inferior (LEAL-CARDOSO,1993).

STEAD & BIENENSTOCK (1990) sugeriram que uma provável função dos mastócitos seja a de funcionar como um transmissor integrativo entre o sistema nervoso e os eventos inflamatórios, dessa forma regulando a homeostase através de sua interação com os nervos.

Evidências indiretas, como liberação de histamina induzida pela ACh, em mastócitos de ratos (FANTOZZI et al.,1978) e a desgranulação dos mesmos por estimulação antidrômica de nervos cutâneos (KIERNAN,1972;1977) têm sugerido uma relação funcional entre nervos e mastócitos teciduais. As evidências encontradas na literatura tornam claro agora, que a comunicação entre nervos e mastócitos é bidirecional, sendo a secreção de mastócitos capaz de estimular reflexos nervosos (BIENNESTOCK et al.,1991; UNDEM et al.,1991), enquanto os neuropeptídeos secretados por fibras sensoriais, por sua vez, têm a capacidade de iniciar a secreção pelos mastócitos (BENYON et al.,1987a).

Uma vez que os produtos liberados pelos mastócitos nos nervos periféricos podem exercer um efeito local sobre as estruturas localizadas nas vizinhanças dessas células, a ocorrência dos mesmos no sistema nervoso e as suas reações nos vários estados patológicos é de considerável interesse. Assim, a elucidação do papel dessas células no CNS e no PNS tem despertado enorme interesse nas últimas décadas.

No CNS, a localização e o comportamento dos mastócitos, na saúde e na doença, é pouco conhecida quando comparado com o que se sabe sobre o papel dessas células em outras partes do organismo. Contudo, já está documentado que na ausência de patologias, algumas áreas do CNS são mais ricas em mastócitos do que outras. Assim, embora os mastócitos tenham sido observados numa variedade de regiões do CNS, em diferentes espécies (cão, coelho, cobaio, rato, sapo, hamster, carneiro, macaco, homem), eles parecem estar concentrados em relativamente poucas áreas. Essas áreas incluem : o parênquima diencefálico, particularmente o tálamo, o tecido conectivo que recobre o sistema nervoso, tais como as meninges e o endoneuro, o plexo coróide, a área prostrema, o corpo pineal, a hipófise, o bulbo olfatório e o núcleo facial (KELSALL,1966; CAMPBELL & KIERNAN,1966; OLSSON,1967;1968; IBRAHIM,1974; DROPP,1976; GOLDSCHMIDT et al.,1984; DIMITRIADOU

et al.,1987;1990; FERRANTE et al.,1990; DIMLICH et al.,1991).

Entretanto, tem sido demonstrado que os mastócitos também podem aparecer em áreas nas quais eles normalmente não existem, como um acompanhante tardio de certas doenças. Assim, já em 1890, NEUMANN reportou que os mastócitos ocorriam na periferia de infartos do cérebro humano e de placas na esclerose múltipla.

Ao contrário do CNS, os mastócitos nos nervos periféricos têm sido alvo de numerosas investigações. O interesse por essas células nos nervos periféricos pode ser explicado pelo fato de que eles podem ser afetados em vários tipos de neuropatias periféricas e que seus produtos podem influenciar outras mudanças tissulares que ocorrem no nervo lesado. Assim, os mastócitos têm sido encontrados em troncos nervosos periféricos, num largo número de mamíferos, incluindo o homem (RILEY & WEST,1955; WERLE & SCHAUER,1956; RILEY,1959; HAGBERG et al.,1962; BOSCHI,1964; ENERBÄCK et al.,1965; OLSSON,1966;1967) em tecidos associados com os gânglios, neurônios e terminações nervosas do ANS (GERTNER,1955; OLSSON,1966;1967;1968; HOLLINSHEAD & GERTNER,1969; LINDEL et al.,1974; METCALFE et al.,1981; WEINREICH,1985; WEINREICH & UNDEM,1987).

Interações funcionais entre esses dois tipo de células na pele (KIERNAN,1971; KOWALSKI & KALINER,1988), intestino (BAIRD & CUTHBERT,1987; CASTRO,1989; ARIZONO et al.,1990; PERDUE et al.,1991), nas vias respiratórias (SESTINI et al.,1990; MYERS et al.,1991) e em gânglios simpáticos (WEINREICH & UNDEM,1987; UNDEM et al.,1990; WEINREICH et al.,1992; LEAL-CARDOSO,1993) têm sido demonstradas. Esses dados são suportados por estudos morfológicos ao nível dos microscópios ótico e eletrônico, que têm reportado mastócitos localizados em íntima aposição à terminações nervosas autonômicas numa variedade de tecidos, incluindo a pele,

trato gastrointestinal, trato respiratório, mesentério, diafragma, timo, e vasos sanguíneos cerebrais (HEINE & FÖRSTER,1975a,b; DVORAK et al.,1980; WILLIAMS & FELTEN,1981; WIESNER-MENZEL et al.,1981; NEWSON et al.,1983; SKOFITSCH et al.,1985; YONEI et al.,1985; STEAD et al.,1987;1989; DIMITRIADOU et al.,1987; BIENESTOCK et al.,1988;1989;1993; WEIHE et al.,1989; FERRANTE et al.,1990; MULLER & WEIHE,1991; BLENNERHASSETT et al.,1991).

CAUNA & CAUNA (1974) observaram uma íntima associação de fibras nervosas e células plasmáticas na mucosa nasal humana. Resultados similares foram obtidos por BÖCK (1974) em células epidérmicas do extrato germinativo do cobaio. Ele descreveu fibras nervosas terminais não mielinizadas penetrando na membrana basal e atingindo as invaginações da membrana celular. Por outro lado, HEINE & FÖRSTER (1975a,b) descreveram fibras nervosas terminais em contato com mastócitos de vários órgãos de mamíferos (homem,camundongo e cachorro).

NEWSON et al.(1983), demonstraram evidência estrutural da formação de botões entre os mastócitos e nervos entéricos no íleo de rato, e YONEI et al.(1985) observaram uma íntima associação entre nervos colinérgicos e mastócitos no colon de rato.

A distribuição de mastócitos em diferentes compartimentos de troncos nervosos periféricos normais, também tem sido estudada em ratos (ENERBÄCK et al.,1965). Numerosos mastócitos foram encontrados nas bainhas perineural e epineural do nervo ciático e em seus principais ramos. Eles também estão presentes no endoneuro dos interstícios entre as fibras nervosas (ENERBÄCK et al., 1965; OLSSON,1967).

Em adição, mastócitos são encontrados em íntima proximidade com fibras nervosas mielinizadas e não-mielinizadas (WIESNER-MÉNDEL et al.,1981; NEWSON et al.,1983) e podem de fato, entrar em contato com axônios

não-mielinizados contendo substância P e o peptídeo relacionado geneticamente à calcitonina (Calcitonin-gene-related peptide, CGRP) (SKOFITSCH et al.,1985; STEAD et al.,1987;1988). Os achados anatômicos, juntamente com as evidências de que, tanto os mastócitos da mucosa intestinal como aqueles do tecido conectivo, podem *in vitro* ser estimulados a liberar histamina em resposta a substância P (SHANAHAN et al.,1985; STEAD et al.,1990), sugerem que a proximidade de nervos peptidérgicos e mastócitos possa, então, facilitar a ocorrência de ativação de mastócitos por neuropeptídeos. Assim, é possível que neuropeptídeos interajam com mastócitos na produção da inflamação local.

A associação entre os mastócitos da mucosa e os nervos, também foi encontrada no homem (OLSSON,1971; STEAD et al.,1989). Esses dados foram corroborados por várias outras publicações que registraram a associação microanatomica entre os mastócitos e os nervos (veja a revisão : STEAD et al.,1990), e foram confirmados na mucosa intestinal por ARIZONO et al.,1990).

Estudos morfométricos demonstraram que há uma associação entre os mastócitos e os gânglios do ANS, e que estes apresentam uma densidade de mastócitos semelhante aquela de tecidos ricos nessas células, como o são a pele e as mucosas do trato respiratório (OLSSON,1968; STEAD et al.,1987). Dessa forma, a presença de mastócitos em gânglios simpáticos paravertebrais bem como em outros gânglios simpáticos tem sido demonstrada em diversas espécies, como no homem no gato, no rato, na vaca e no sapo (TORP,1961; VILLENA et al.,1986). No sistema nervoso parassimpático, mastócitos também foram observados no endoneuro do nervo vago de gato, cobaio e rato (TORP,1961) e no gânglio nodoso do vago. Esses estudos sugeriram uma interação entre os mastócitos e o ANS, que vem sendo confirmada.

Como o antígeno pode estimular a desgranulação de mastócitos em gânglios cervicais isolados (WEINREICH & UNDEM,1987) e uma responsividade autonômica aumentada tem sido encontrada em pacientes

atópicos (CASALE,1983), é possível que essa interação nervo/mastócito no PNS tenha um papel em certas doenças alérgicas, tais como a asma brônquica.

Nas últimas duas décadas, muitas evidências têm sugerido que elementos do sistema nervoso podem influenciar o crescimento, a diferenciação e, particularmente, o estado de ativação dos mastócitos. Experimentos realizados, predominantemente *in vitro*, utilizando-se mastócitos isolados, têm sido efetuados no intuito de verificar as ações dos neurotransmissores e neuropeptídeos sobre os mastócitos. Essas investigações têm demonstrado que os mastócitos exibem uma série de respostas a NE (MANNAIONI et al.,1975; ALM & BLOOM,1981; BOTANA et al.,1987) e a ACh (FANTOZZI et al.,1978; MOTAVKIN et al.,1979; KAZIMIERCZAK et al.,1980; WEST,1985), e que essas respostas são heterogêneas e dependentes da origem dos mastócitos e do sistema experimental utilizado. Da mesma forma, estudos realizados com neuropeptídeos, dentre eles a substância P, o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (Calcitonin-gene-related peptide,CGRP), o VIP, neurocininas, bradicinina (BK), somatostatina, neurotensina, neuropeptídeo Y, peptídeos opióides e nucleotídeos da adenina, têm sido reportados como estimuladores da liberação de mediadores pelos mastócitos, tanto pela estimulação direta dos mesmos como pela modulação das respostas de outros estímulos desgranulantes (THEOHARIDES & DOUGLAS,1978; ERJAVEC et al.,1981; FEWTRELL et al.,1982; YAWASAKI et al.,1982; SYDBOM,1982; CASALE et al.,1984; SERTL & KALINER,1987; SHANAHAN et al.,1985; PIOTROWSKI & FOREMAN,1985; EBERTZ et al.,1987; STEAD et al.,1987; FOREMAN,1987; SYDBOM,1988; LEVI-SCHAFFER & SHALIT,1989; ARZUBIAGA et al.,1991; CHURCH et al.,1991). Em adição, os estudos de STEAD et al.(1987) utilizando neuropeptídeos, têm sugerido que o sistema nervoso participa da regulação da defesa imunológica das mucosas.

Entretanto, existe uma heterogeneidade intra-espécie da resposta de

diferentes populações de mastócitos a varios neuropeptídeos. Mastócitos peritoneais de ratos liberam histamina em resposta a somatostatina, substancia P, VIP, e neurotensina, enquanto que mastócitos intestinais de rato, respondem sómente a substancia P (ALI et al.,1986). No homem a substancia P e agonistas opióides podem desgranular mastócitos na pele, mas não têm nenhum efeito sobre os mastócitos do parênquima pulmonar (LAWRENCE et al.,1987; CHURCH et al.,1989a,b). Também existe heterogeneidade de resposta dos mastócitos a neuropeptídeos entre espécies. Muitas populações de mastócitos em ratos, camundongos e hamsters, respondem a substancia P, enquanto que os mastócitos de cobaio são completamente resistentes a essa substancia (ALI et al.,1986).

Por outro lado, é do conhecimento médico que as doenças alérgicas apresentam um componente nervoso, sendo as suas recidivas associadas à ansiedade e ao estresse fisiológico. Demonstrações experimentais desse tipo de associação já foram descritas, há décadas, por HOLMES et al. (1950) quando quantificaram os efeitos da emoção sobre a secreção nasal, incluindo o transudato celular, e sobre a composição de leucócitos circulantes. Outros dados corroboram esses achados. Sabe-se que os tecidos linfóides são inervados (FELTEN et al.,1985). Sabe-se também, que ratos condicionados pela apresentação simultânea de estímulo imunológico e psicológico, respondem à apresentação em separado do estímulo psicológico com a desgranulação de mastócitos (MacQUEEN et al.,1989).

Em adição, estudos sobre a *Aplysia californica*, mostram que em animais que sofreram sensibilização prolongada ao estímulo sensitivo e doloroso, há formação de varicosidades e novos contatos sinápticos, bem como aumento dos pós-potenciais sinápticos excitatórios nos nervos envolvidos (GLANSMAN et al.,1980; GOELET et al.,1986). Essa facilitação da transmissão sináptica depende da liberação do transmissor (5-HT) e é bloqueada por

inibidores da síntese proteica, e depende de cAMP (CASTELLUCCI et al.,1989; BARZILAI et al.,1989; BERGOLD et al.,1990).

Vários autores demonstraram que para que sejam geradas respostas inflamatórias cutâneas, caracterizadas por vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, são requeridos neurônios sensoriais intactos na área lesada (LEWIS,1927; JANCOSO et al.,1967; BERNSTEIN et al.,1981). Por outro lado, JANCOSO et al.(1968) e STRICKER (1976), demonstraram que a estimulação elétrica dos nervos periféricos pode reproduzir essas reações, levando a uma vasodilatação e aumentando a permeabilidade vascular. Essas respostas vasculares dependentes da inervação são referidas como inflamação neurogênica. Várias evidências sugerem que a inflamação neurogênica cutânea resulta da ativação, primariamente, de fibras nervosas aferentes não mielinizadas que contêm uma variedade de peptídeos como neuromediadores (TOREBJORK & HALLIN,1974; KENNINS,1981).

Dessa forma, a inflamação neurogênica cutânea envolve a ativação de nervos sensoriais com a liberação de neuropeptídeos vasoativos dos terminais nervosos sensoriais (LEMBECK & HOLZER,1979; LEMBECK et al.,1982; COUTURE & CUELLO,1984). Reações da pele também podem envolver componentes neurogênicos, uma vez que, a aplicação local de capsaicina, uma neurotoxina específica para a inervação sensorial, inibe as reações de queimação induzidas por antígeno e pode também prevenir a urticária induzida pelo frio ou pelo calor (JANCOSO et al.,1967; LEMBECK et al.,1982; TOTH-KASA et al.,1983; LUNDBLAD et al.,1987). Por outro lado, a mera estimulação de alguns nervos pode levar à inflamação neurogênica e à desgranulação de mastócitos (DIMITRIADOU et al.,1991) enquanto que a estimulação de outros nervos pode inibir essa desgranulação (MIURA et al.,1990).

Os mastócitos encontrados no ANS têm um amplo conteúdo de

histamina, que representa o principal “pool” dos gânglios (LINDEL et al.,1974; WEINREICH,1985). A histamina liberada pelos mastócitos pode ser considerada como sendo o principal mediador entre o sistema imunológico e o PNS de mamíferos. De fato, os mastócitos são capazes de regular a transmissão sináptica (VILLENA et al.,1986; WEINREICH & UNDEM,1987; CHRISTIAN et al.,1989; UNDEM et al.,1991; WEINREICH et al.,1992; LEAL-CARDOSO,1993) tendo a histamina como o principal efetor e assim, induzem mudanças eletrofisiológicas *in vitro*, tanto em neurônios do CNS (SEGAL,1980;1981; HAAS & KONNERTH,1983; PELLMAR,1986), quanto do sistema nervoso entérico (NEMETH et al.,1984), bem como do ANS (BRIMBLE & WALLIS,197; LINDEL,1983; VILLENA et al.,1986; SNOW & WEINREICH,1987; GREEN et al.,1988; UNDEM et al.,1990; WEINREICH et al.,1992; LEAL-CARDOSO,1993).

É sabido, que nervos simpáticos e parassimpáticos podem modular o estado de ativação dos mastócitos na periferia (STEAD et al.,1990). Assim, a estimulação dessas fibras autonômicas induz a desgranulação dos mastócitos e a liberação de histamina e de outros mediadores nos tratos respiratório e gastrointestinal do homem e de outros animais (BANISACCHI et al.,1986; RUCCI et al.,1988; KIERNAN,1990). Em adição as fibras autonômicas, neuropeptídeos liberados de fibras sensoriais cutâneas ativadas, também induzem os mastócitos a secretarem histamina. Vários neuropeptídeos, como por exemplo a substancia P, podem causar a liberação de histamina (SYDBOM,1982; FOREMAN & JORDAN,1983; SHANAHAN et al.,1985; ALI et al.,1986; LAWRENCE et al., 1987; EBERTZ et al.,1987; FOREMAN,1987; SERTL & KALINER,1987; CHURCH et al.,1989a,b; LOUIS & RADERMECKER, 1990;1991). A histamina, por sua vez, induz vasodilatação e aumenta a permeabilidade vascular e pode, assim, estar envolvida na inflamação neurogênica.

Por outro lado, neuropeptídeos liberados por nervos sensoriais cutâneos afetam os músculos lisos, vasos sanguíneos e leucócitos, através da ação de mediadores liberados pelos mastócitos e dessa forma, a interação dos mastócitos com nervos pode, assim, estar envolvida em desordens de hipersensibilidade, tais como as reações do tipo imediatas e do tipo tardias (PAYAN & GOETZL,1988; GIROLOMONI & TIGELAAR,1990) e inflamação neurogênica (KIERNAN,1990).

Influências neuronais também podem ter um papel no metabolismo dos mastócitos, uma vez que uma atividade nervosa aumentada pode aumentar os níveis de 5-HT intracelular nos mastócitos meníngeos, enquanto a desnervação leva a uma diminuição no conteúdo desse neurotransmissor (FERRANTE et al.,1990).

Interessantemente, o fator de crescimento do nervo (nerve growth factor, NGF), além de aumentar a liberação de histamina mediada pelo antígeno (STANISZ et al.,1987) pode também, por si própria, estimular a desgranulação dos mastócitos (BRUNI et al.,1982; PEARCE & THOMPSON,1986), bem como afetar o desenvolvimento dos mastócitos, uma vez que a sua administração em cultura de células sanguíneas, causa um aumento no número e no tamanho dos mastócitos (ALOE,1977;1988).

Embora muitas descrições de conexões anatomicas e funcionais entre mastócitos e nervos periféricos *in vitro* e *in vivo* (BIENENSTOCK et al.,1989;1991) sugiram enfaticamente um papel fisiológico para as interações nervo/mastócito, a natureza precisa das moléculas responsáveis por essa interação e como esses mediadores alteram o comportamento dos canais iônicos de membranas sinápticas e extrasinápticas ainda permanece indefinida (MARSHALL et al,1989; BIENENSTOCK et al.,1991). Entretanto, as evidências de que a unidade nervo-mastócito executa um papel regulatório homeostático são convincentes.

Uma vez que os mastócitos podem ser sensibilizados aos anticorpos IgE e IgG, os quais se ligam com alta afinidade aos receptores na membrana, eles também podem reagir com antígenos do meio contra os quais esses anticorpos foram feitos. Nesse sentido, os mastócitos associados a nervos, poderiam atuar como formas não usuais de receptores sensoriais. Eles poderiam, então, prover o sistema nervoso com informações sobre a disponibilidade de tais antígenos. Esse sistema poderia também envolver, potencialmente, o tipo de comunicação reflexa axônica e poderia ser, portanto, particularmente importante na proteção da mucosa epitelial dos tratos intestinal e respiratório.

Já que, a estimulação de nervos e mesmo o condicionamento psicológico, podem causar a desgranulação de mastócitos, os sistemas nervoso central e o periférico não podem ser desconsiderados na tentativa do entendimento e explicação da função dos mastócitos. Acredita-se, portanto, que a associação nervo/mastócito tenha importância biológica fundamental (veja a revisão : JOHNSON & KRENGER,1992).

9. MASTÓCITOS

Os mastócitos são células perivasculares ou perilinfáticas, relativamente grandes, encontradas no tecido conectivo frouxo de todos os órgãos (RILEY,1959). Em humanos, os mastócitos, são relativamente abundantes na pele, timo, útero, tecido linfóide, bexiga, língua, mesentério, ao redor dos grandes e pequenos vasos sanguíneos, nas camadas subserosa e submucosa do trato digestivo e no trato respiratório (NORRIS, et al.,1963; BENDITT & LAGUNOFF,1964; SEYLE,1965; KITAMURA et al.,1978; METCALFE et al.,1981; YAMATODANI et al.,1982; SAAVEDRA-DELGADO & METCALFE,1983; GALLI et al.,1984; SCHWARTZ & AUSTEN,1984; GALLI

& LICHTENSTEIN,1988; KITAMURA,1989; GALLI,1990; STEAD et al.,1990).

Eles estão largamente distribuídos em muitos tecidos dos mamíferos, tanto na superfície das mucosas como no interior do tecido conectivo. Ao nível das mucosas, tais como as do intestino e, possivelmente da superfície luminal dos pulmões, o papel primário dos mastócitos parece ser o de defender o organismo contra infecções por parasitas (MILLER et al.,1986). Contudo, em tecidos conectivos tais como a dermis da pele, a íntima associação entre os mastócitos, nervos e vasos sanguíneos (EADY et al.,1979; WIESNER-MENZEL et al.,1981) sugere que o desenvolvimento dessas células pode ser influenciada pelo meio, tornando-as capazes de realizar um papel mais homeostático do que defensivo.

Os mastócitos são células derivadas de precursores hematopoiéticos (KITAMURA,1989; GALLI,1990) e foram descritas pela primeira vez por EHRLICH (1877;1878) em tecido conjuntivo com base nas propriedades metacromáticas de coloração de seus grânulos basofílicos (GALLI,1990). Podem ser encontrados em qualquer região do corpo dos vertebrados e em todas as espécies, com raras exceções.

As primeiras evidências das funções dos mastócitos surgiram somente com os trabalhos de JORPES et al.(1937) que demonstraram as primeiras evidências de que os mesmos continham heparina, evidência essa que foi posteriormente confirmada por vários pesquisadores (BENDITT et al.,1956; SCHILLER & DORFMAN,1959; BLOOM & RINGERTZ,1960; PAREKH & GLICK,1962; SCHILLER,1963). Vários anos depois foi demonstrado que essas células contêm em seus grânulos a grande maioria da histamina corporal (RILEY & WEST,1953; FAWCETT,1954; METCALFE et al.,1981). Por outro lado, WEINREICH (1985) demonstrou por comparação entre camundongos normais e deficientes em mastócitos, que mais de 90% da histamina do SCG está associada aos mastócitos.

A demonstração da presença de histamina deu uma nova direção na busca do papel fisiológico dos mastócitos nos vertebrados, uma vez que foi descoberto que a histamina é um dos mediadores da alergia aguda ou reação anafilática. A presença de 5-HT também tem sido demonstrada nos mastócitos e mastocitomas de ratos e camundongos (BENDITT et al.,1955a;1963).

Os mastócitos, juntamente com os basófilos encontrados no compartimento vascular, apresentam um citoplasma usualmente cheio de grânulos ricos em mediadores químicos importantes para os processos imunológicos alérgicos e inflamatórios. Esses mediadores são liberados para o interstício por estímulos imunológicos ou experimentais (HOLGATE et al.,1988). Dessa forma, os mastócitos representam uma fonte rica de uma variedade de potentes mediadores biologicamente ativos, alguns dos quais são estocados nos grânulos citoplasmáticos e outros que são gerados após estimulação apropriada dessas células (SCHWARTZ & AUSTEN,1984; GALLI & LICHTENSTEIN,1988; STEAD et al.,1990).

Em todas as espécies de mamíferos, os mastócitos expressam receptores na membrana plasmática do tipo $FC\epsilon RI$ que se ligam, com especificidade e grande afinidade, à porção Fc do anticorpo IgE, uma imunoglobulina monomérica típica, que consiste de duas cadeias pesadas e duas leves (CONRAD et al.,1975; METZGER et al.,1986; KINNET,1989; RIVERA,1993). Esses receptores, que são moléculas glicoproteicas, têm um papel central nas doenças alérgicas por mediarem a secreção celular após a exposição ao agente alérgeno. Contudo, a ligação do antígeno manomérico IgE ao mastócito, por si mesma, não leva a ativação celular. Mas, quando ocorre a ligação cruzada por anti-IgE ou por um antígeno específico, IgE induz a desgranulação dos mastócitos, através da agregação dos receptores $FC\epsilon$ (ISHIZAKA et al.,1972; SCHLESSINGER et al.,1976; SEGAL et al.,1977). Assim, após a sensibilização ativa, ou passiva com IgE de um animal já

sensibilizado, a exposição ao antígeno específico leva os mastócitos a sofrerem uma série de alterações exocitóticas não citolíticas, bioquímicas e estruturais (KALINER,1977; GALLI et al.,1984; SCHWARTZ & AUSTEN,1984; ISHIZAKA & ISHIZAKA,1984; METZGER et al.,1986; ISHIZAKA,1988), que resultam na exposição dos grânulos citoplasmáticos ao meio externo ou na desintegração da membrana plasmática dos mesmos, com consequente liberação de seus conteúdos para o meio exterior. Esse processo exocitótico leva a três respostas : (1) exocitose de grânulos secretórios contendo histamina e outros mediadores pré-formados da hipersensibilidade imediata (heparina, proteogliconas sulfatadas e algumas proteinases); (2) síntese “de novo” e liberação de mediadores eicosanóides, tais como prostaglandinas (PGs) e leucotrienos (LTs) (JACKSON ROBERTS II et al.,1979; SCHWARTZ & AUSTEN,1984; OKANO et al.,1985); (3) síntese e secreção de citocinas (GORDON et al.,1990). A maioria das citocinas secretadas pelos mastócitos representam as proteínas recém-sintetizadas e, dessa forma, aparecem várias horas após a estimulação. Contudo, tem sido recentemente reportado que o TNF α além de se encontrar entre aquelas proteínas recém sintetizadas, também se encontra pré-formado e estocado nos grânulos secretórios, de modo que essa citocina aparece dentro de minutos (YOUNG et al.,1987; RICHARDS et al.,1988; STEFFEN et al.,1989; PLAUT et al.,1989; WODNAR-FILIPOWICZ et al.,1989; BURD et al.,1989; GORDON & GALLI,1990; GORDON et al.,1990; GALLI et al.,1991; GORDON & GALLI,1991).

Dessa forma, quando o antígeno sensibilizante entra em contacto com os mastócitos, ele se liga a membrana reagindo com o anticorpo. Isso por sua vez, produz um sinal que provoca a desgranulação do mastócito e a síntese de várias moléculas bioativas a partir da porção lipídica de sua membrana. A mistura de mediadores estocados nos grânulos (histamina, enzimas, fatores quimiotáticos,etc) e mediadores recém-sintetizados (metabólitos lipídicos :PGs,

LTs, PAF, etc) atuam em uma variedade de células efectoras, resultando numa constelação de efeitos que caracterizam a reação alérgica (METCALFE et al.,1981).

A desgranulação de mastócitos humanos pode ser induzida por uma variedade de secretagogos imunológicos e não-imunológicos, bem como por uma larga variedade de neurotransmissores ou neuromoduladores endógenos (PEARCE,1982a; LAGUNOFF et al.,1983; WASSERMAN,1984; COCHRANE,1985; ROSENGARD et al.,1986; WHITE,1993). O mais bem estudado é a IgE, entretanto, numerosos outros agentes de importância potencial em doenças humanas, também podem causar a desgranulação de mastócitos. Opióides, tais como a morfina, causam desgranulação de mastócitos cutâneos, através de um receptor sensível à naloxona (LAGUNOFF et al.,1983; CASALE et al.,1984). A hipóxia, também pode induzir a desgranulação (HAAS & BERGOFSKU,1972) potencialmente recrutando a participação dos mastócitos em situações de hipóxia. Vários sub-produtos do complemento, como C_{5a} , C_{4a} e C_{3a} , causam a desgranulação mediada por receptor (COCHRANE & MULLER-EBERHARD,1968; GORSKI et al.,1979) e assim podem ser capazes de recrutar a participação dos mastócitos em doenças imunes complexas. Certas drogas, como os antibióticos polimixina B e anfoterexina B, os bloqueadores neuro-musculares D-tubocurarina e succinilcolina, e meio de contraste iodado (METCALFE et al.,1981) são também capazes de induzir a desgranulação dos mastócitos. Secretagogos de interesse na pesquisa incluem o composto 48/80 (MOTA et al.,1953; NORTON,1954; FAWCETT,1954;1955; RILEY & WEST,1955; SMITH,1963; SINGLETON & CLARCK,1965; OLSSON,1966; RÖHLICH et al.,1971; MORRISON & HENSON,1978; LAGUNOFF et al.,1983), concavalina A, a qual faz a ligação cruzada da IgE (MARGO,1974), o composto cálcio ionoforo A23187, o qual induz a secreção dos mastócitos por aumentar o transporte de Ca^{++} para o interior da célula (FOREMAN et al.,1973;

COCHRANE & DOUGLAS,1974; JOHANSEN,1978; LAGUNOFF et al.,1983). Certos estímulos físicos, como calor, luz, frio, vibração e pressão, também podem causar a desgranulação dos mastócitos (KAPLAN,1983; CASALE et al.,1986; HUSTON et al.,1986; KEAHEY et al.,1987; JOAD & CASALE,1988). Contudo, nesses casos, o mecanismo preciso ainda não foi esclarecido. Finalmente, dois grupos de secretagogos derivados das células inflamatórias são de interesse, os fatores liberadores da histamina (HFR) e os neuropeptídeos.

Os neuropeptídeos constituem o mais recente grupo conhecido de neurotransmissores presentes tanto no CNS como nos nervos periféricos. Na pele, neuropeptídeos tais como substancia P, neurocinina A, somatostatina, neurotensina e o CGRP são encontrados em nervos sensoriais nas proximidades de superfícies epiteliais, vasos sanguíneos e glândulas (CUELLO et al.,1978; DALSGAARD et al.,1983; HARTSCHUH et al.,1983; LANDIS & FREDIEU,1986).

Os neuropeptídeos causam permeabilidade vascular, contração da musculatura lisa, e ativação de leucócitos e macrófagos (HARTUNG et al.,1986; PAYAN & GOETZL,1987; SERTL et al.,1988). A injeção intradérmica de substancia P, CGRP, somatostatina, VIP ou neurotensina na pele humana induz a reação tríplice de Lewis (FOREMAN & JORDAN,1983; PIOTROWSKI & FOREMAN,1986; FULLER et al.,1987b), enquanto que a substancia P tem sido liberada durante a inflamação aguda na pele de rato (WHITE & HELME,1985; HELME et al.,1986; YONEHARA et al.,1987).

Assim, em adição à ativação mediada pela interação antígeno-anticorpo, os mastócitos em certos tecidos também podem ser estimulados a liberar histamina pelo NGF (BRUNI et al.,1982; PEARCE & THOMPSON,1986) e por vários neuropeptídeos, tais como a substancia P (FEWTRELL et al.,1982; LAWRENCE et al.,1987), neurotensina (ROSSIE &

MILLER,1982), VIP (FJELLNER & HAGERMARK,1981) e o CGRP (FOREMAN,1987). Contudo, a responsividade dos mastócitos aos vários secretagogos é dependente do tecido de origem (BIENNESTOCK et al.,1982; PEARCE & THOMPSON,1986; LAWRENCE et al.,1987).

A desgranulação dos mastócitos neurais e a liberação de seus componentes ativos podem também, ocorrer em certas condições patológicas dos nervos periféricos. De fato, a desgranulação dos mastócitos tem sido observada no sítio primário da lesão em nervo ciático seccionado de rato (ENERBÄCK et al.,1965; OLSSON,1967). Em outros tecidos de rato, também tem sido demonstrado que a desgranulação dos mastócitos induzida experimentalmente é seguida por vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular a soro-proteínas, que são características do processo inflamatório agudo (BENDITT et al.,1955b; ROWLEY & BENDITT,1956). Essas reações têm sido atribuídas, em parte, a liberação de aminas biogênicas, primeiro, porque elas podem ser suprimidas por anti-histamínicos e por antagonistas da 5-HT (SPECTOR & WILLOUGHBY,1963;1964), e segundo, porque reações vasculares semelhantes podem ser produzidas experimentalmente pela injeção de histamina e 5-HT (MAJNO & PALADE,1961). É assim possível que as aminas biogênicas liberadas dos mastócitos neurais participem do desenvolvimento do edema que ocorre em algumas condições patológicas dos nervos periféricos.

Os mastócitos não constituem uma população homogênea (ENERBÄCK,1974; MILLER,1980; DIMLICH et al.,1980; KALINER, 1980; BIENENSTOCK et al.,1982; 1983; PEARCE,1982b;1986; METCALFE,1983; BARRETT & METCALFE,1984; LAWRENCE et al., 1987; SCHWARTZ,1993). Já em 1895 HARDY & WESTBROOK publicavam o que, possivelmente, foi a primeira documentação de diferentes tipos de mastócitos. Populações de mastócitos em diferentes órgãos, e mesmo em diferentes regiões do mesmo órgão, podem exibir significativa heterogeneidade

em múltiplos aspectos de fenótipo, incluindo morfologia, conteúdo de mediadores (variação quantitativa e provavelmente, qualitativa, tanto em relação aos mediadores estocados como nos padrões dos mediadores recém-sintetizados, elaborados em resposta a estimulação), sensibilidade a estimulação por vários secretagogos e respostas a citocinas e agentes farmacológicos (OLSSON,1966; ENERBÄCK,1986; GALLI & LICHTENSTEIN,1988; KITAMURA,1989; SCHWARTZ,1989; STEVENS & AUSTEN,1989; GALLI,1990). Essa diferenciação foi definitivamente estabelecida com os trabalhos de ENERBÄCK (1986) que estabeleceram critérios para diferenciação dos mastócitos de ratos em dois tipos : atípicos ou da mucosa (MMC) encontrados na lâmina própria intestinal, e mastócitos do tecido conjuntivo (MCTC), encontrados na pele, na cavidade peritoneal e em outros locais.

Tais mastócitos, diferem não apenas nas características morfológicas e histológicas, mas também nos critérios bioquímicos e funcionais relacionadas com a inflamação e a imunidade (ENERBACK,1986; MILLER et al.,1989). Experimentos realizados com camundongos indicam que as características fenotípicas das populações de mastócitos podem mudar, algumas vezes reversivelmente, em resposta a alterações no meio (KITAMURA,1989; GALLI,1990). Essa plasticidade fenotípica pode permitir a essas células responder a mudanças no meio produzidas por doenças ou respostas imunológicas.

Vale salientar que essa classificação dos mastócitos em dois tipos não é nem completa nem claramente discriminatória, e outros tipos de mastócitos, que não se enquadram em nenhuma das duas categorias, já são descritos (ALDENBORG & ENERBACK,1988; WERSHIL & GALLI,1991). Também no homem, os mastócitos apresentam variedade (STROBEL et al.,1981; DVORAK,1993). O uso de anticorpo específico contra as proteases neutras, triptase e quimase, dos mastócitos (SCHWARTZ,1985; IRANI et al.,1986;1989)

tem demonstrado que, do ponto de vista imunocitoquímico, os mastócitos podem ser divididos em pelo menos duas subpopulações. A maioria dos mastócitos do pulmão e mucosa intestinal contém somente triptase (MC_T), enquanto aqueles da pele e da submucosa intestinal contém tanto triptase como quimase (MC_{TC}) (IRANI et al.,1986). Dessa forma, diferenças têm sido catalogadas no que diz respeito à ultraestrutura dos grânulos citoplasmáticos, propriedades histoquímicas, conteúdo dos grânulos (IRANI et al.,1986; CRAIG et al.,1986; SCHECHTER et al.,1990; GALLI,1990), sensibilidade à estimulação com vários secretagogos (CHURCH et al.,1982; LAWRENCE et al.,1987; BENYON et al.,1987a; UNDEM et al.,1990), e susceptibilidade a drogas (PEARCE et al.,1974; TING et al.,1983; FLINT et al.,1985; BEFUS et al.,1987; CHURCH & HIROI,1987).

10. ANS E HIPERTENSÃO

A notável estabilidade da pressão sanguínea, preservando a todo momento uma perfusão adequada dos órgãos vitais, de acordo com suas respectivas necessidades metabólicas, é conhecida como sendo, em grande parte, dependente do controle autonômico sobre o sistema cardiovascular.

O controle do sistema cardiovascular pelo sistema nervoso simpático, tem sido postulado desde o século passado quando CLAUDE BERNARD (1851) observou que a secção da cadeia simpática cervical provocava uma vasodilatação dos vasos sanguíneos da face. Logo depois, BROWN-SÉQUARD (1854) demonstrou que a estimulação da cadeia simpática cervical produzia uma vasoconstricção desses mesmos vasos.

A regulação autonômica da pressão sanguínea é realizada por meio de um mecanismo de feedback negativo, através de um complexo arco-reflexo

(EDIS & SHEPHERD,1970). Clássicamente, o seio carotídeo, o arco aórtico e outros grandes vasos são reconhecidos como sendo os principais sítios barrosensoriais do sistema cardiovascular. Esses barroreceptores são ativados por distensão vascular local, como resultado de um aumento na pressão intra-arterial, e essa informação, através de um sistema de fibras aferentes, é levada aos centros vasomotor e cardiomodulador da medula oblongata. Esses centros, são também influenciados ou modulados por centros altamente integrativos localizados no hipotálamo, no sistema límbico e na cortex. Essas várias entradas, por sua vez, são integradas nos centros cardiovasculares e servem para reajustar continuamente o tônus do sistema cardiovascular periférico pela rede eferente de fibras autonômicas.

O componente eferente parassimpático do ANS, constituído por uma rede de fibras inibitórias colinérgicas, se distribui principalmente ao coração, embora também o faça para alguns territórios vasculares não muito significantes. Ao contrário, o componente simpático eferente está mais dinamicamente ligado ao sistema periférico vascular por um denso plexo de fibras adrenérgicas distribuídas ao coração e a todas as redes vasculares, com exceção dos vasos intracerebrais. (NORBERG,1967; BURNSTOCK et al.,1970). As pequenas arteríolas, que são cruciais para a homeostase da pressão sanguínea (MELLANDER & JOHANSSON,1968), são o segmento mais densamente inervado da árvore vascular. Em adição a essa rede de fibras, o sistema simpático é também responsável pelo controle da secreção de catecolaminas, pela medula adrenal (MALMEJAC,1964). Assim, uma vez que o coração e os vasos sanguíneos contêm receptores específicos para as catecolaminas (AHLQUIST,1948), essas estruturas podem ser influenciadas tanto pela NE liberada pelas terminações nervosas simpáticas, como pelas catecolaminas liberadas pela medula adrenal.

A possível participação de um componente neural na hipertensão

parece ser suportado por evidências obtidas, principalmente, por bases morfológicas, mas também por bases farmacológicas. Nas células do SCG de ratos espontaneamente hipertensos (Spontaneous Hypertensive Rats, SHR), foi observado um aumento no tamanho celular e nuclear (MATSUMOTO,1966), bem como na razão dimensional das ilhotas que estocam a NE na medula adrenal (TABELI,1966). Por outro lado, OKAMOTO et al.(1966a) demonstraram que a resposta a certas drogas autonômicas são de alguma forma diferente daquelas dos controles. Trabalhos desenvolvidos por esses mesmos autores, permitiram concluir que o aumento na descarga vasoconstrictora simpática, originada no tronco cerebral, constitui um importante fator na patogênese ou no mínimo, na manutenção da hipertensão nos SHR.

Dessa forma, a contribuição de mecanismos adrenérgicos para a homeostase da pressão arterial normal, bem como para a etiologia e a manutenção de várias formas de hipertensão é plausível, considerando-se a presença de fibras noradrenérgicas em vários pontos críticos ao longo do arco reflexo cardiovascular, como sugerido por várias linhas de pesquisa (REIS & FUXE,1968; BOLME et al.,1972; FUXE et al.,1975).

Numerosas fibras noradrenérgicas têm sido demonstrados ao nível dos barorreceptores (REIS & FUXE,1968), sendo postulado que tais fibras poderiam modular a sensibilidade dos mesmos. No CNS, os centros cardiomodulador e vasomotor, bem como o corno intermédio lateral da medula espinhal, são encontrados como sendo intensamente inervados por fibras noradrenérgicas (BOLME et al.,1972). Fibras adrenérgicas também têm sido descobertas em íntima associação com centros cardiovasculares (FUXE et al.,1975). Na periferia, a maioria das fibras pós-ganglionares simpáticas têm sido descritas como sendo noradrenérgicas (NORBERG,1967), enquanto foi encontrado que a medula adrenal contribui significativamente para o nível das catecolaminas circulantes. Assim, é razoável a suposição de que uma variedade

de disfunções nos mecanismos adrenérgicos, ocorrendo em vários pontos, ao longo do arco reflexo cardiovascular, possa resultar num prejuízo do mecanismo regulatório da pressão, levando ao desenvolvimento da hipertensão.

O importante papel das fibras simpáticas e da medula adrenal na manutenção da homeostase da pressão sanguínea tem sido determinado por vários pesquisadores (DE CHAMPLAIN & NODEAU,1971; GAUTHIER et al.,1972; DE CHAMPLAIN & VAN AMERINGER,1972), que demonstraram que na ausência desses componentes simpáticos, as funções cardiovasculares não são sustentadas em níveis viáveis, indicando assim a importância do sistema simpático para a manutenção dessas funções. Estudos similares realizados em ratos hipertensos, demonstraram também que não só as fibras simpáticas, mas também a medula adrenal são essenciais para a manutenção da hipertensão. Nesse caso, uma vez que a remoção de ambos os componentes do sistema simpático resultou numa marcada queda da pressão sanguínea para os mesmos níveis basais de ratos normotensos, tais trabalhos permitiram concluir que os elevados níveis de pressão sanguínea nesses ratos são mantidos, principalmente, por uma hiperatividade sinérgica desses dois componentes (DE CHAMPLAIN & VAN AMERINGER,1972).

A utilização de várias formas de hipertensão experimental tem permitido uma visão mais aproximada da função do sistema simpático central e periférico sob condições fisiológicas e patológicas. Desses estudos, pode ser concluído que vários tipos de disfunções adrenérgicas podem ser iniciadas por diferentes fatores. Todos esses fatores, de naturezas aparentemente diferentes, podem influenciar a atividade do sistema nervoso simpático, tanto por uma ação direta na periferia, como indiretamente, através de um mecanismo central. Vários fatores são postulados para a etiologia da hipertensão humana e é provável que muitos deles sejam responsáveis pelo desenvolvimento e manutenção da hipertensão aumentando direta ou indiretamente a atividade do

sistema simpático. Dessa forma, parece possível que o sistema nervoso simpático possa servir como uma via comum para uma variedade de fatores etiológicos. Entretanto, o papel do sistema nervoso simpático no desenvolvimento e na manutenção da hipertensão em SHR permanece controverso.

Muitos estudos sugerem que a atividade simpática é normal ou mesmo baixa em SHR. A grande maioria desses estudos, indiretamente procuraram avaliar a atividade simpática pela medida do turnover de catecolaminas em órgãos inervados (LOUIS et al.,1968;1970; NAKAMURA et al.,1971; SJOERDSMA,1972; KAZUO,1973) ou pela medida das concentrações plasmáticas ou urinárias de catecolaminas ou proteínas liberadas pelas terminações nervosas simpáticas (NAGATSU et al.,1971; ROIZEN et al.,1975).

Por outro lado, várias linhas de evidências sugerem que a atividade de nervos simpáticos é mais alta nesses ratos (SHR) que em controles normotensos. Muitos desses estudos têm demonstrado, indiretamente, elevada atividade simpática em SHR, através da demonstração de que a abolição farmacológica ou cirúrgica da atividade nervosa simpática resulta na redução da pressão sanguínea (OKAMOTO et al.,1966b; YAMORI et al.,1972; NOSAKA,1973; IRIUCHIJIMA,1973; NUMAO & IRIUCHIJIMA,1974; IRIUCHIJIMA et al.,1975). Nesse contexto, vários pesquisadores também demonstraram que a simpatectomia imunológica, ou química em SHR jovens, inibe a subsequente elevação da pressão sanguínea (FOLKOW et al.,1972; VAPAATALO et al.,1974; FINCH,1975; PROVOOST & DE JONG,1976). Em adição, o desenvolvimento de hipertensão em SHR é retardada pela destruição neonatal dos nervos simpáticos (SMIRK,1970; FOLKOW et al.,1972), dessa forma, implicando a hiperatividade crônica do sistema nervoso simpático, como um fator etiológico no desenvolvimento da alta pressão arterial. Por outro lado, HALLBACK & FOLKOW (1974) demonstraram que SHR, respondem à tensão ambiental com um grande aumento na pressão sanguínea, quando

comparados com os controles (ratos Wistar-Kyoto). Também foi observado que após a aplicação de hexametônio, o registro da atividade elétrica pré-ganglionar em SHR foi maior que aquela da linhagem normotensa. Tal fato sugere que a hiperatividade e a hiperresponsividade em SHR ocorre, pelos menos em parte, dentro do sistema nervoso (MORRISON & WHITEHORN,1984).

Um largo corpo de evidências têm sido coletadas nos últimos anos, implicando uma aumentada atividade nervosa simpática basal e ambientalmente evocada, no desenvolvimento e na manutenção da hipertensão observada em modelos animais experimentais, tais como os SHR, bem como na própria hipertensão essencial (JUDY et al.,1976; TOUW et al.,1980; FROHLICH,1982; SCHRAMM & CHRONOBY,1982). Por outro lado, JUDY et al.(1976) demonstraram que o sistema nervoso simpático tem um papel importante no desenvolvimento e na manutenção da hipertensão em SHR, e que centros simpáticos, desinibidos por barroreceptores aferentes, tornam-se ativos durante o desenvolvimento da hipertensão nesses animais.

Em suporte a essa hipótese, níveis aumentados de catecolaminas sanguíneas e aumentada atividade dopamina- β -hidroxilase (ROIZEN et al.,1975), aumentada resposta da atividade nervosa simpática à estimulação hipotalâmica (JUDY et al.,1976; JUSKEVICH et al.,1978; TAKEDA & BUNÑAG,1978; THOREN & RICKSTEN,1979; SCHRAMM & BARTON,1979; FOLKOW,1982), níveis aumentados de nucleotídeos cíclicos em gânglios simpáticos (ARIANO & KENNY,1987), hiperatividade simpática ao estímulo estressante (LUNDIN & THOREN,1982; KOEPKE et al.,1987) e registros diretos de uma exagerada atividade nervosa simpática basal (JUDY et al.,1976; SCHRAMM & CHRONOBY,1982), bem como a hiperexcitabilidade simpática (McCARTY et al.,1978; TAKEDA & BUÑAG,1978; SCHRAMM & BARTON,1979; KVETNANSKY et al.,1979) têm sido reportada em SHR.

Além disso, uma alteração intrínseca na membrana, que resulta na

perda de acomodação de spikes, tem sido observada em neurônios do SCG de SHR, e essa excitabilidade neuronal aumentada tem sido sugerida como estando envolvida na elevação da atividade nervosa simpática (YAROWSKY & WEINREICH,1985; JUBELIN & KANNAN,1990). Alternativamente, a elevação da atividade neuronal simpática pode ser a manifestação de uma modificação na transmissão sináptica. Tal modificação tem sido observada na junção neuroefetora simpática de SHR, onde existe uma hiperresponsividade e um aumento na liberação de NE induzida pela estimulação (EKAS Jr. & LOKHANDWALA,1981; WESTFALL & MELDRUM,1985), além de uma exagerada sensibilidade para essa catecolamina em músculos arteriais (HERMSMEYER,1976). Também, uma transmissão aumentada com frequências fisiológicas da atividade nervosa pré-ganglionar e uma habilidade prejudicada para transmitir altas frequências de atividade pré-ganglionar têm sido observada em SCGs isolados de SHR (MAGEE & SCHOFIELD,1992). Por outro lado, alterações na concentração e no turnover de catecolaminas em muitas áreas cardiovasculares centrais e em gânglios simpáticos também têm sido observados nesses animais (SAAVEDRA et al.,1978; LUTOLD et al.,1979; ARIANO & KENNY,1987; HENLEY & BELLUSH,1989). Assim, parece que as funções simpáticas pós- e pré-sinápticas estão alteradas nesse modelo de hipertensão. Atividade simpática pré-ganglionar aumentada tem sido demonstrada em SHR (MORRISON & WHITEHORN,1984), e também que os neurônios pós-ganglionares no SCG apresentam uma excitabilidade aumentada à estimulação intracelular (YAROWSKI et al.,1981).

Dessa forma, alterações sinápticas no sistema nervoso simpático de SHR pode também ter um significativo papel na elevação da atividade neuronal simpática. Trabalhos desenvolvidos por MAGEE & SCHOFIELD (1992) demonstraram uma exagerada atividade nervosa simpática na patogênese da hipertensão no modelo de SHR e revelaram que uma alteração da transmissão

sináptica pode participar na geração da exagerada atividade nervosa, frequentemente observada nesses ratos. Esses mesmos autores, também demonstraram que essa exagerada atividade nervosa, parece resultar de uma elevação no conteúdo quantal do EPSP mais do que um aumento no tamanho quantal (MAGEE & SCHOFIELD,1994), e que a neurotransmissão alterada observada nos gânglios desses ratos não resulta de uma modificação da responsividade da membrana pós-sináptica à ACh (MAGEE & SCHOFIELD,1995).

Em adição, existem evidências de que a disfunção dos neurônios adrenérgicos centrais (YAMORI et al.,1970; CHALMERS,1975; DE CHAMPLAIN et al.,1977; SAAVEDRA et al.,1978) e o sistema nervoso simpático periférico (DE CHAMPLAIN et al.,1969; NAGAOKA & LOVENBERG,1976; GROBECKER et al.,1975;1977) estão implicados no desenvolvimento e na manutenção da hipertensão espontânea.

Trabalhos desenvolvidos por PALERMO et al.(1981) mostraram que níveis plasmáticos de NE estavam mais elevados nos ratos hipertensos e que um aumento no número de receptores α_1 e α_2 se verificava no hipotálamo e no tronco cerebral, respectivamente. Tais mudanças no número de receptores em SHR, sugerem uma estimulação aumentada no centro vasomotor, de modo que o aumento na atividade simpática periférica, traduzida pelo aumento nos níveis plasmáticos de NE, é provavelmente secundária a disfunção dos neurônios simpáticos centrais que se projetam para o centro vasomotor do tronco cerebral.

OBJETIVOS

O presente trabalho de Tese consiste de três projetos separados, mas interrelacionados com a plasticidade no ANS. Especificamente, tais projetos dizem respeito a mudanças na transmissão sináptica ganglionar produzidas por estímulos imunológicos, farmacológicos e fisio-patológicos.

De acordo com a literatura, tem sido demonstrado que seguindo-se ao choque antigênico, em gânglios sensibilizados ativamente, ocorrem alterações eletrofisiológicas na transmissão ganglionar que podem perdurar desde alguns segundos até dezenas de minutos. Também tem sido demonstrado que tais alterações parecem decorrer da ação de autacóides neuroativos liberados pelos mastócitos ganglionares, quando de sua ativação. Baseado nesses dados, resolveu-se investigar se essas alterações refletem mudanças na função neural forjada pelo processo de sensibilização ativa, ou se a sobreposição da alça do sistema imune levaria a observação dos mesmos resultados. Dessa forma, no primeiro projeto se comparou as mudanças eletrofisiológicas que ocorrem na transmissão ganglionar, em resposta ao choque antigênico após a sensibilização ativa e passiva.

Sabendo-se que após o choque antigênico ocorre a liberação de vários autacóides neuroativos, dentre eles a histamina, metabólitos do ácido aracdônico, além de citocinas e peptídeos, resolveu-se investigar o papel de alguns desses mediadores inflamatórios, na tentativa de se demonstrar o possível ou possíveis mediadores responsáveis pelas mudanças eletrofisiológicas que ocorrem no gânglio durante o choque antigênico, o que é estudado no segundo projeto.

A literatura também tem demonstrado que durante o estado hipertensivo se observa uma exagerada atividade basal do ANS, além de uma super-excitabilidade dos neurônios pós-ganglionares. Baseado nessas informações, no terceiro projeto, se investiga as possíveis alterações

eletrofisiológicas produzidas pelo estado hipertensivo na transmissão sináptica ganglionar.

CAPÍTULO II

*COMPARAÇÕES DAS
ALTERAÇÕES
ELETROFISIOLÓGICAS
INDUZIDAS PELO CHOQUE
ANTIGÊNICO NO GÂNGLIO
CERVICAL SUPERIOR (SCG) DE
COBAIO SENSIBILIZADO ATIVA E
PASSIVAMENTE*

1. INTRODUÇÃO

Interação do antígeno com anticorpos ligados aos mastócitos e a consequente liberação de mediadores inflamatórios, são geralmente imaginados como sendo os eventos chaves na resposta alérgica. Embora nossos conhecimentos a respeito do mecanismo da ativação dos mastócitos esteja progredindo rapidamente, pouco ainda é conhecido a cerca dos efeitos neurofisiológicos dessa ativação em vários tecidos nos quais os mastócitos residem.

Gânglios autonômicos são de particular interesse neste sentido, porque estão dotados de um largo conteúdo de mastócitos (OLSSON,1968; WEINREICH,1985) e representam o controle chave do tônus autonômico. Além disso, gânglios simpáticos, especialmente o SCG, participam da fase tardia da inflamação pulmonar subsequente a indução da reação anafilática (MATHISON et al.,1994). Assim, a despeito da conhecida presença de mastócitos nos gânglios autonômicos e o papel dos mesmos na anafilaxia, suas funções imunofisiológicas nos gânglios autonômicos permanecem enigmáticas.

Trabalhos desenvolvidos por WEINREICH et al.(1995), no sentido de estudar essa interação funcional, revelaram que mastócitos presentes no SCG de cobaios sensibilizados ativamente, respondem com especificidade ao antígeno sensibilizante. Tal resposta se caracteriza pela liberação de uma larga variedade de autacóides neuroativos, pré-formados e recém-sintetizados, incluindo a histamina e os metabólitos do ácido aracdônico, como as prostaglandinas (PGE_2 , PGD_2 , $9,11\beta$ - PGF_2 , $PGF_{2\alpha}$ e TxB_2) e os leucotrienos (LTC_4) (WEINREICH & UNDEM,1987; CHRISTIAN et al.,1989; UNDEM et al.,1990; WEINREICH et al.,1992; LEAL-CARDOSO,1993). Concomitantemente, o número de mastócitos corados pelo azul de toluidina no gânglio é significativamente reduzido (WEINREICH & UNDEM,1987; LEAL-

CARDOSO,1993).

Acompanhando essas mudanças histoquímicas e bioquímicas, o choque antigênico também produz mudanças na eletrofisiologia dos neurônios ganglionares, tais como a despolarização da membrana e aumento da impedância de entrada da membrana (CHRISTIAN et al.,1989; CHRISTIAN & WEINREICH,1992; WEINREICH et al.,1992; LEAL-CARDOSO,1993).

Dessa forma, a liberação desses mediadores é seguida por mudanças fisiológicas na função ganglionar que podem variar desde um aumento transitório (minutos) na excitabilidade neuronal (CHRISTIAN et al.,1989) até um profundo e duradouro (horas) aumento na eficácia sináptica nicotínica (WEINREICH & UNDEM.1987; WEINREICH et al.,1995).

Essa forma de plasticidade sináptica independente de ativação quando tem um efeito de longa duração (mais de 30 minutos) tem sido chamada de Potenciação de Longa Duração Induzida pelo Antígeno (Antigen-Induced Long-Term Potentiation, A-LTP) (WEINREICH et al.,1995). Esta assemelha-se à Potenciação de Longa Duração Neurogênica (Neurogenic Long-Term Potentiation, N-LTP) registrada em gânglios simpáticos de ratos (DUNANT & DOLIVO,1968; DUNANT,1969; BROWN & McAFEE,1982; BRIGGS et al.,1985a,b; BRIGGS,1995), de sapos (KUMAMOTO & KUBA,1983b; KOYANO et al.,1985), de gatos (BACHOO & POLOSA,1986;1991), de cobaias (DUN & MINOTA,1981; DUN et al.,1984; WEINREICH et al.,1995) e de coelhos (LIBET & TOSAKA,1970; LIBET et al.,1975; KOBAYASHI et al.,1978), e é comparável a N-LTP de outras sinapses periféricas (DOLPHIN,1985) e de sinapses centrais (LANDFIELD & DEADWYLER,1988). Ambas as formas de mudanças de longa duração na plasticidade sináptica (N-LTP e A-LTP) podem coexistir no mesmo gânglio simpático, e o desenvolvimento de uma forma não impede a indução da outra.

Embora existam similaridades entre N-LTP e A-LTP, há uma diferença

clara entre os mecanismos de ação de cada uma delas. N-LTP é um processo dependente de atividade, requerendo um breve tétano pré-ganglionar para induzir um aumento sustentado na amplitude de uma resposta sináptica (LANDFIELD & DEADWYLER,1988). Ao contrário, a indução de A-LTP não é dependente de estimulação pré-sináptica, pois ela foi induzida mesmo quando a estimulação pré-sináptica foi sustada durante a superfusão do gânglio com o antígeno sensibilizante (WEINREICH et al.,1995). Assim, nem a neurosecreção nem a atividade evocada da transmissão ganglionar são necessárias para a indução da A-LTP.

Esse tipo de alteração de longa duração na transmissão sináptica que independe de atividade, também tem sido demonstrada pela aplicação exagerada de catecolaminas nos gânglios simpáticos (DUN et al.,1984; BRIGGS,1995; KUBA & KUMAMOTO,1986), e pela rápida aplicação de peptídeos capazes de desgranular mastócitos, sobre neurônios de fatias hipocampais (CHERUBINI et al.,1987).

A liberação ganglionar, durante o choque antigênico, de mediadores com efeitos pronunciados sobre a eletrofisiologia neuronal, a qual é dependente da ativação dos mastócitos, sugere que estes têm um papel importante na integração entre as funções nervosas e imunológicas. O estudo desses efeitos é importante pois eles são presumivelmente a base da comunicação integrativa entre as funções neurais e imunes.

Contudo, ainda não se encontra esclarecido, se tais mudanças fisiológicas induzidas pelo antígeno, são secundárias ao anticorpo homocitotrópico gerado durante a sensibilização ativa, ou se as mesmas são atribuídas a resposta imune celular associada com a sensibilização ativa. Como se sabe, a sensibilização ativa requer as ações coordenadas de numerosas células, incluindo linfócitos que utilizam uma variedade de citocinas e seus receptores. É agora reconhecido que muitas das citocinas imunes são também expressas no

tecido nervoso onde elas podem servir como fatores neurotróficos, regulando o crescimento, a sobrevivência, e a expressão gênica neural (PATERSON, 1994).

Assim, as mudanças eletrofisiológicas que se observa seguindo-se o choque antigênico em SCG de animais sensibilizados ativamente, podem refletir alterações na função neural forjada pelo processo de sensibilização ativa.

Além disso, mastócitos do ANS possuem muitas peculiaridades (UNDEM et al., 1990) e se encontram agrupados no espaço intersticial ganglionar, o qual forma uma barreira de proteção para macromoléculas (De PACE, 1982). Tal fato torna, pois, questionável a hipótese da viabilidade da sensibilização passiva nesses gânglios.

Para elucidar se algum componente da resposta imune celular, específico da sensibilização ativa, pode contribuir para os efeitos eletrofisiológicos observados no presente estudo, gânglios de animais não-sensibilizados foram submetidos a protocolos de sensibilização passiva *in vivo* e *in vitro*, e compararam-se as alterações eletrofisiológicas, bem como a liberação de histamina que seguem a apresentação do antígeno sensibilizante em SCGs de cobaios sensibilizados ativa e passivamente.

Nossos resultados mostram que é exequível a indução de sensibilização passiva e que as alterações eletrofisiológicas ligadas à transmissão ganglionar são semelhantes em gânglios tratados com ambos os processos de sensibilização, ativa e passiva.

2. MÉTODOS

2.1. ANIMAIS

Foram utilizados cobaios Hartley, machos, jovens e adultos (350-800

g), obtidos a partir da Buckberg Laboratories (Tomkins Cove, NY, USA) e mantidos no biotério local durante o período de experimentação.

Os animais foram mantidos em ambiente com ar condicionado, a uma temperatura constante de 23°C, com um ciclo claro/escuro de 12 horas, submetidos a uma dieta normal e com livre acesso a água.

2.2. SENSIBILIZAÇÃO DOS ANIMAIS

2.2.1. Sensibilização Ativa

Cobaios machos, adultos, pesando entre 350 e 800 g, foram sensibilizados ativamente à albumina (chicken egg albumin, grau V; Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), através da administração intraperitoneal de (chicken egg albumin, OVA; 10 mg/kg de peso corporal) em dias alternados, por 6 dias. Vinte-e-hum a cinquenta dias após a última injeção, os animais foram sacrificados por asfixia com CO₂ (Figura II-1) e ambos os SCGs, juntamente com seus troncos nervosos pré- e pós-ganglionares foram, então, dissecados.

2.2.2. Sensibilização Passiva

Cobaios machos, jovens, pesando entre 320 e 780 g, foram sensibilizados passivamente *in vivo* e *in vitro* à albumina (chicken egg albumin, grau V; Sigma Chemical Co.).

2.2.2.1 Sensibilização *in vivo*

Os animais foram injetados intraperitonealmente, durante 2 dias

consecutivos, com sôro (0,5 ml) de animais sensibilizados ativamente, e sacrificados por asfixia com CO₂, entre o primeiro e o oitavo dia após a última injeção (Figura II-1), não havendo diferenças nos resultados, entre o primeiro e o oitavo dia. Imediatamente após o sacrifício, ambos os SCGs, juntamente com suas fibras pré- e pós-ganglionares foram, então, dissecados.

2.2.2.2. Sensibilização *in vitro*

Animais não sensibilizados foram sacrificados com CO₂ (over-dose) e após a dissecação, ambos os SCGs foram imediatamente submersos em solução de Locke gelada (5°C) equilibrada continuamente com 95% de O₂ e 5% de CO₂. Após 1-2 horas eles foram, então, submersos em sôro (1-2 ml) de animais sensibilizados ativamente e estocados durante a noite (15-24 horas) no refrigerador (Figura II-1).

2.3. OBTENÇÃO DOS SÔROS E DOS CONTROLES

Sôro sensibilizado ou não-sensibilizado foram obtidos por centrifugação do sangue de animais sensibilizados ou não-sensibilizados, respectivamente, durante 15 minutos a 2.000 RPM e estocados em alíquotas à -80°C.

Os controles foram obtidos usando-se gânglios de animais não-sensibilizados incubados em sôro (1-2 ml) de animais não-sensibilizados, utilizando-se o mesmo protocolo experimental.

Para se verificar a especificidade do antígeno, em gânglios sensibilizados à OVA, verificou-se a capacidade do albumina de sôro bovino (BSA) em produzir A-LTP.

Em cada experimento um gânglio de cada animal foi usado para medir as mudanças eletrofisiológicas induzidas pelo antígeno, e o outro para medir a liberação de histamina.

2.4. ESTUDOS DA LIBERAÇÃO DE HISTAMINA

Os gânglios utilizados para a dosagem da liberação de histamina, foram expostos ao seguinte protocolo : **(a) liberação espontânea** : incubação em solução de Locke (500 μ l) durante 15 minutos à $37 \pm 1^\circ\text{C}$; **(b) liberação induzida pelo antígeno** : incubação em solução de Locke (500 μ l) + OVA (10 μ g/ml) durante 15 minutos à $37 \pm 1^\circ\text{C}$.

A histamina liberada bem como a histamina residual mantida no gânglio, foram calculadas como a percentagem do conteúdo histamínico total do gânglio (liberada + residual). O conteúdo residual foi determinado pela incubação do gânglio, durante 15 minutos, em 500 μ l de ácido perclórico 0,4 N, em banho fervente.

A quantidade de histamina em alíquotas de 500 μ l foi quantificada dentro de 72 horas de cada experimento, utilizando-se a fluometria automatizada, como descrito por SIRAGANIAN (1974), a qual tem seu limiar de sensibilidade (2 vezes o branco) em 10 picomoles/ml.

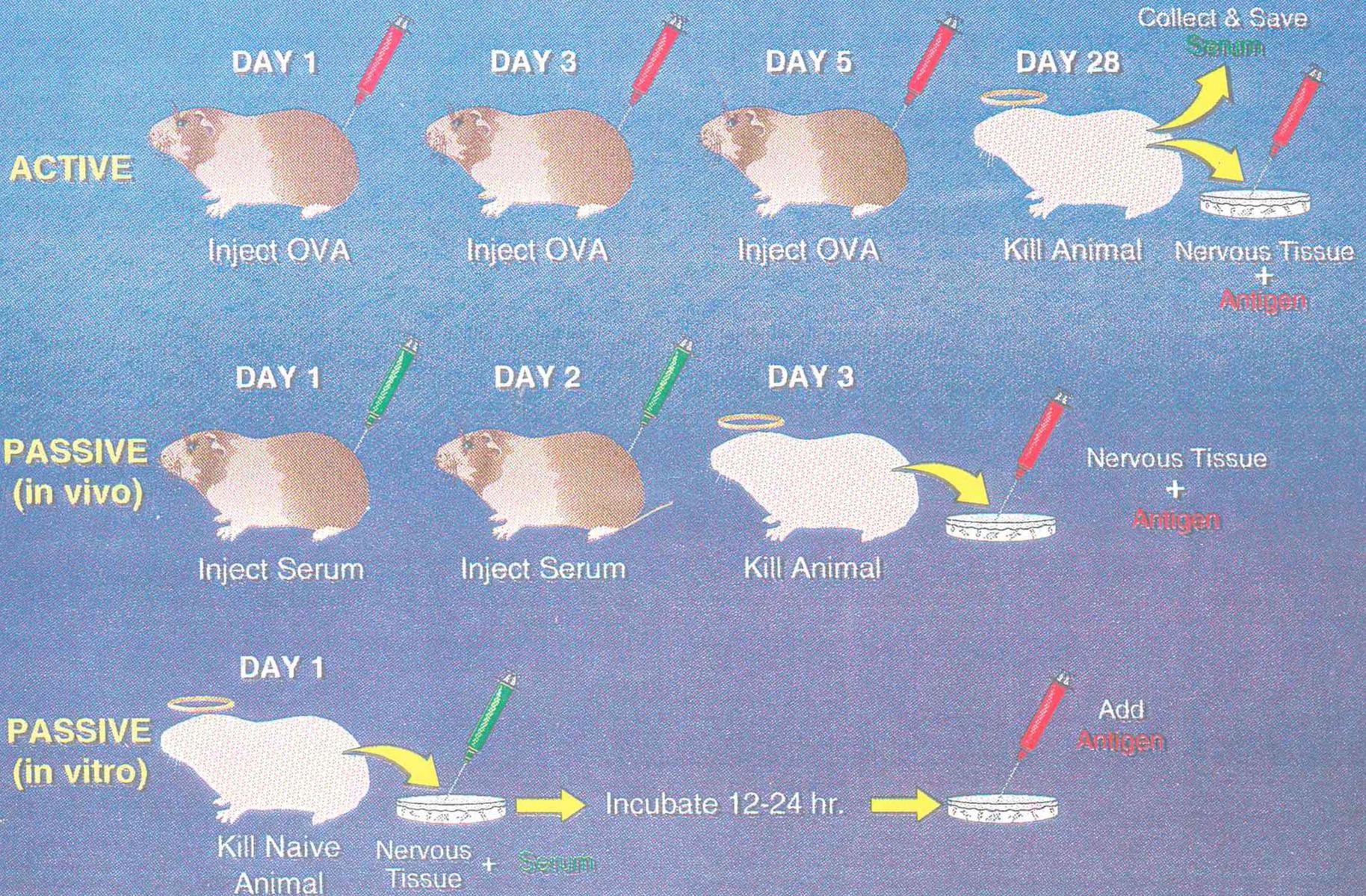
2.5. PREPARAÇÃO DOS TECIDOS E PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Após a dissecação, os gânglios foram imediatamente submersos em solução de Locke gelada (5°C), cuja composição em mM foi a seguinte : NaCl, 136,0; KCl, 5,6; NaHCO_3 , 14,3; NaH_2PO_4 , 1,2; CaCl_2 , 2,2; MgCl_2 , 1,2;

FIGURA II-1. ESQUEMAS DE SENSIBILIZAÇÃO ATIVA E DE SENSIBILIZAÇÃO PASSIVA *IN VIVO* E *IN VITRO*

Sensibilização ativa : administração intraperitoneal de ovalbumina (OVA; 10 mg/kg de peso corporal) em 3 dias alternados e sacrificados entre o vigésimo primeiro e quinquagésimo dia após a última injeção. Sensibilização passiva *in vivo* : administração intraperitoneal, durante 2 dias consecutivos, com sôro (0,5 ml) de animais sensibilizados ativamente e sacrificados entre o primeiro e o oitavo dia após a última injeção. Sensibilização passiva *in vitro* : animais não sensibilizados sacrificados e ambos os SCGs submersos em sôro (1-2 ml) de animais sensibilizados ativamente e estocados durante 15-24 horas no refrigerador.

ACTIVE & PASSIVE SENSITIZATION



Dextrose, 11,0; Cloreto de Colina, 0,03; equilibrada continuamente com 95% de O₂ e 5% de CO₂ (pH 7.3-7.4).

Os gânglios dos animais sensibilizados ativamente e dos animais controles foram, geralmente, utilizados no mesmo dia da dissecação. Contudo, em alguns experimentos eles foram estocados durante a noite em solução de Locke gelada, mantida no refrigerador, para uso no dia seguinte. A estocagem não afetou consideravelmente as mudanças eletrofisiológicas produzidas pelo antígeno.

Durante os experimentos, os gânglios foram transferidos para uma câmara de dissecação contendo solução de Locke à temperatura ambiente ($22-24 \pm 1^\circ\text{C}$) e foram-lhes removidos os excessos de tecido conjuntivo e vasos sanguíneos que os envolviam. A seguir foram então, transferidos para uma câmara de registro (volume $\sim 0,25$ ml) e com o auxílio de um microscópio fixados através de um pequeno pino de metal na camada de Sylgard (Dow Corning Co., Midband, MI, USA) que recobre o fundo da câmara. Os gânglios foram superfundidos (2 ml/min) com solução de Locke oxigenada (95% O₂ e 5% CO₂) que foi mantida à $36-37 \pm 1^\circ\text{C}$, por meio de uma serpentina de vidro aquecida pelo banho, colocada na entrada da câmara de registro.

A temperatura do banho foi monitorizada através de um termistor (Thermometric Corp., Edison, NJ, USA), posicionado a aproximadamente 2 mm do gânglio.

A solução de Locke, o antígeno e as outras drogas utilizadas, foram administradas manualmente à preparação intercambiando-se a fonte de líquido superfusor de um reservatório principal contendo solução de Locke para um outro contendo as soluções testes, ambos com um pequeno borbulhador de ar. Tais soluções deixaram a câmara de perfusão através de um orifício no fundo da mesma. A monitorização da integral e/ou dos valores pico-a-pico do CAP foi feita no controle e após essa medida se mostrar estável por 20 minutos foi

iniciado o período experimental. Os agonistas ou antígenos utilizados, foram superfundidos sobre o gânglio por 5 minutos, e o tempo de contagem da duração do efeito para classificação da potenciação, se iniciou com a aplicação do agonista ou antígeno.

2.6. REGISTRO ELETROFISIOLÓGICO

Medidas extracelulares pós-ganglionares do CAP foram obtidas através de um eletrodo de sucção no nervo interno da carótida, e eletrodos de estimulação colocados ao nível do tronco cervical simpático (Figura II-2).

Os eletrodos bipolares de sucção foram fabricados a partir de capilares de vidro (1,2 mm o.d.; 0,68 mm i.d.; WPI Corp., New Haven, CT, USA) e conectados via um porta eletrodo comercial (E.W.Wright Co., Guilford, CT, USA; modelo EH-2MS) a um estágio de entrada de um pré-amplificador com acoplamento AC para corrente alternada (0.1-1.0 KHz; WPI Corp., modelo DAM-5A). Os dados foram filtrados a 1 KHz e quando necessário a 10 Hz.

A porção terminal do tronco nervoso pré-ganglionar, o tronco nervoso simpático cervical, foi posicionada em eletrodos duplos de platina para a estimulação do nervo pré-ganglionar.

O estímulo pré-ganglionar foi gerado por um estimulador GRASS, modelo 88 (GRASS Instrument Co., Quincy, MA, USA), e durante o decorrer do experimento, os gânglios foram estimulados com pulsos monofásicos retangulares de 300 μ seg de duração, intensidade variável e frequência de 0.20 Hz. A intensidade do estímulo foi duas vezes aquela necessária para produzir o CAP pós-ganglionar máximo (Figura II-2).

2.7. ANÁLISE DOS DADOS

O efeito da aplicação do antígeno (OVA), de agonistas e antagonistas, na transmissão sináptica ganglionar foi determinada pelas mudanças na área do CAP que foram tomadas como um índice do número de células pós-ganglionares em que estava sendo evocado o potencial de ação.

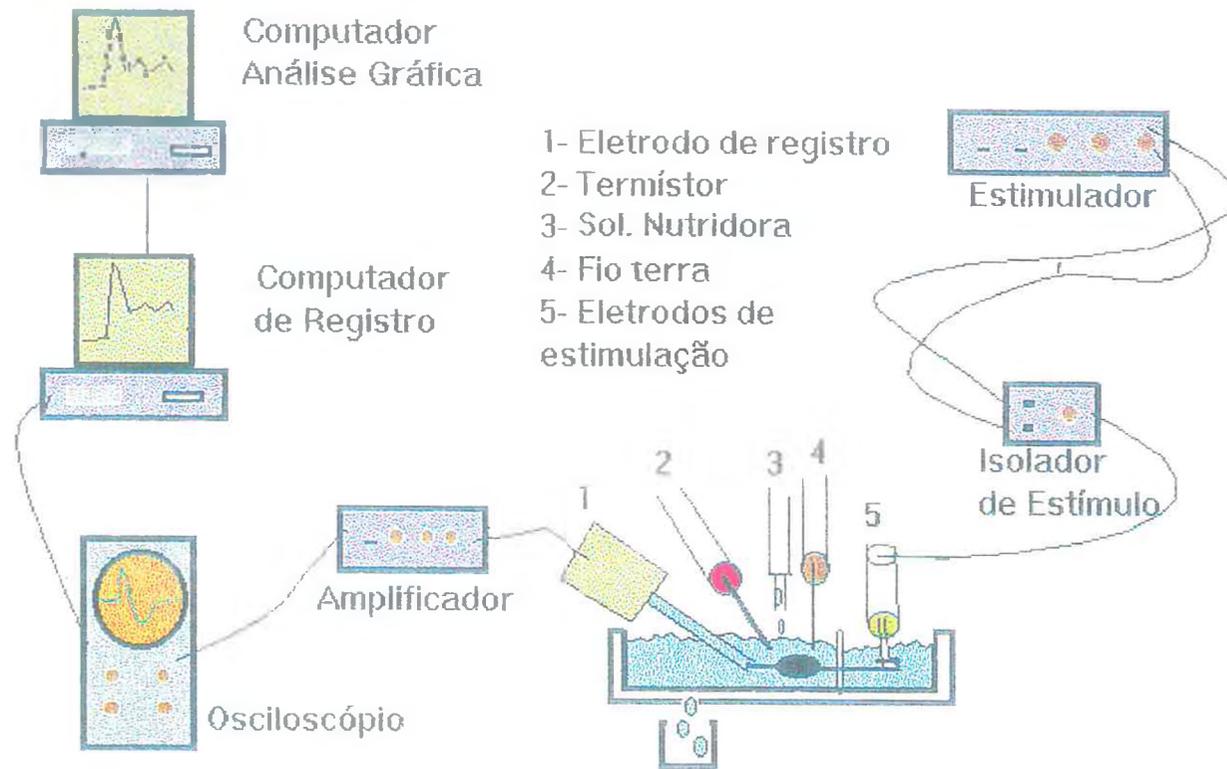
CAPs foram evocados a 0.2 Hz e a média de 12 CAPs foi coletada através do software pClamp (Axon Instruments Inc., Foster City, CA, USA) funcionando em um computador IBM PC XT com uma interface TL1. CAPs pós-ganglionares evocados em frequências testes maiores que 1/min foram salvos como médias de 1 minuto de coleta. O computador IBM PC XT foi conectado a um Sistema Dell 320 (40 MHz, 486) via uma rede de dois nós, com o propósito de monitorizar as respostas do CAP “on-line” (Figura II-2).

O programa de monitorização/análise (“CAP”), escrito em colaboração com a BME Systems INC., Baltimore, MD, USA) foi executado através de um Sistema Dell 320, o que permitiu um tratamento quantitativo da integral e da amplitude pico a pico do CAP durante o experimento. O programa “CAP” se encontra disponível a partir de uma solicitação ao Dr. Daniel Weinreich (Department of Pharmacology and Experimental Therapeutics, School of Medicine, University of Maryland at Baltimore, 655 West Baltimore St., Baltimore, MD, 21201, USA).

Os valores das integrais do CAP foram determinados pelo posicionamento dos cursores controlados pelo mouse no dado digitalizado e mostrado no monitor de vídeo; um cursor foi posicionado após o artefato do choque, imediatamente antes da fase inicial de crescimento do CAP, e outro localizado no ponto onde o potencial tenha retornado a linha de base. Simultaneamente com o valor da integral, o programa registrou automaticamente o valor da amplitude pico a pico do CAP. O programa “CAP” armazenou a

FIGURA II-2. DESENHO ESQUEMÁTICO DO SETUP DE TRABALHO

CAPs pós-ganglionares são obtidos através de um eletrodo de sucção posicionado no nervo interno da carótida, e por eletrodos de estimulação colocados ao nível do tronco cervical simpático. O eletrodo de sucção está conectado a um amplificador que envia a resposta pós-ganglionar a um osciloscópio que se encontra conectado a um computador de registro, que por sua vez envia as informações a um segundo computador que permite monitorizar os CAPs “on line”. O estímulo pré-ganglionar é gerado por um estimulador que está conectado a um isolador de estímulo que leva o estímulo até os eletrodos de estimulação.



posição dos cursores e utilizou as mesmas para a medida uniforme das respostas controle e experimental num dado experimento. Os arquivos dos dados desses valores foram salvos no disco rígido para posterior análise.

A percentagem da alteração (P) na área do CAP pós-ganglionar em relação ao controle no tempo t após o choque antigênico provocado pela aplicação de antígenos ou agonistas, foi computada utilizando-se a seguinte equação :

$$P(t) = [(V_t - V_c) \times 100]/V_c$$

onde V_t é a integral do CAP pós-ganglionar no tempo t após o choque antigênico ou aplicação de agonistas, e V_c é o valor médio controle da integral do CAP pós-ganglionar.

O curso temporal das alterações induzidas pelo antígeno ou agonistas foi avaliada pela monitorização da magnitude da integral do CAP em intervalos de 5 minutos, expresso como a percentagem da potenciação máxima induzida pelo antígeno.

CAPs foram, geralmente, evocados a uma frequência de 0.2 Hz. Essa frequência foi utilizada para minimizar a depressão sináptica (McAFEE et al.,1980) e a potenciação sináptica dependente de atividade (DUNANT & DOLIVO, 1968; ZENGEL et al.,1980; BRIGGS et al.,1985a; BRIGGS,1995; BACHOO & POLOSA,1986).

As condições de estimulação e registro foram primeiramente estabelecidas enquanto os gânglios eram superfundidos com Locke à temperatura ambiente (21-24°C) e a partir daí a temperatura foi aumentada para 36-37°C.

A adição de hexametônio (100-300 μ M), um antagonista colinérgico nicotínico, foi efetuada para se obter uma resposta ganglionar com aproximadamente a metade da amplitude maximal, permitindo assim, a identificação de potenciação e antagonismo. Após os ajustes finais dos

parâmetros de estimulação, os gânglios foram, então, monitorizados por 30 minutos para que fossem estabelecidas as condições controle. As respostas controle foram registradas por 10 a 30 minutos antes da aplicação do antígeno ou de agonistas, para que fossem estabelecidas os valores da linha de base.

2.8. PREPARAÇÃO E FONTES DAS SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS

Todos os sais utilizados foram de pureza analítica, e juntamente com a OVA, dihidroclorato de histamina e hexametônio, foram obtidos a partir da Sigma Chemical Corp. Os gânglios foram superfundidos com OVA do mesmo lote utilizado para sensibilizar os animais. As soluções foram preparadas diariamente para os experimentos, a partir de alíquotas concentradas (> 10 mM) da droga, que eram estocadas à -20°C.

2.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram expressos como a média \pm SEM (standard error of mean; erro padrão da média) . Duas amostras foram comparadas usando-se o teste t Student, enquanto que múltiplas comparações foram feitas com o teste paramétrico ANOVA, ou com a Kruskal-Wallis ANOVA no caso dos dados não apresentarem homocedasticidade. Médias foram consideradas como diferindo significativamente se o valor de p para a ocorrência da hipótese nula fosse menor do que 0,05.

3. RESULTADOS

3.1. CARACTERIZAÇÃO DA POTENCIAÇÃO GANGLIONAR QUE SEGUE A SENSIBILIZAÇÃO ATIVA

A breve exposição (5 minutos) de gânglios de animais sensibilizados ativamente ao antígeno OVA (10 ug/ml), produziu um vigoroso aumento na magnitude do CAP. A concentração de OVA utilizada foi aquela capaz de produzir a resposta máxima, como previamente demonstrado por WEINREICH et al.(1995).

A potenciação iniciada poucos segundos após a aplicação do antígeno, tornou-se máxima dentro de 5 minutos (Figura II-3). A magnitude da potenciação mostrada na Figura II-3 foi de uma resposta robusta e pouco comum; a integral do CAP aumentou cerca de 4 vezes. Em média, a potenciação máxima do CAP (I_{max}) induzida pelo antígeno foi de $61 \pm 2.1\%$ (n=60; Tabela II-1).

A potenciação induzida pelo antígeno foi também de longa duração. No experimento ilustrado na Figura II-3, o CAP permaneceu potenciado por mais de 30 minutos após o choque antigênico. A resposta potenciada, registrada 30 minutos após o choque antigênico nesse gânglio, foi cerca de 50%. Para 60 gânglios a média do incremento do CAP aos 30 minutos (I_{30}) foi de $56 \pm 1.8\%$.

3.2. CARACTERIZAÇÃO DA POTENCIAÇÃO GANGLIONAR QUE SEGUE A SENSIBILIZAÇÃO PASSIVA (*in vivo e in vitro*)

A potenciação ganglionar induzida pelo antígeno também foi observada em gânglios de animais normais que foram injetados com soro obtido de cobaios sensibilizados ativamente.

O experimento mostrado na Figura II-4 ilustra uma resposta típica induzida pelo antígeno, em um SCG de cobaio sensibilizado passivamente. A magnitude e a duração da potenciação que seguem o choque antigênico foram comparáveis às respostas observadas em gânglios de animais sensibilizados ativamente. I_{\max} e I_{30} representaram um aumento de $50 \pm 7.2\%$ e $49 \pm 4.4\%$, respectivamente ($n=6$; Tabela II-1), do valor controle da integral do CAP.

Em uma série separada de experimentos, em que foram utilizados gânglios sensibilizados passivamente *in vitro* (gânglios normais incubados por 15-24 horas com sôro de animais sensibilizados ativamente), foi demonstrado que quando esses gânglios foram tratados com antígeno sensibilizante (OVA), eles mostraram uma potenciação e um curso temporal semelhantes aquelas vistos com a sensibilização ativa e passiva (*in vivo*).

Os dados da Figura II-5 mostram a resposta de um SCG individual, e a Tabela II-1 sumariza as respostas de sete gânglios. I_{\max} e I_{30} foram $55 \pm 7.0\%$ e $47 \pm 4.3\%$, respectivamente.

Não existiram diferenças significativas ($p < 0,05$) na alteração da integral do CAP induzida pelo antígeno, seja no seu valor de máximo, seja no I_{30} , entre os três grupos de tratamento - sensibilização ativa, sensibilização passiva *in vivo* ou *in vitro*.

3.3. EXPERIMENTOS CONTROLES (*in vivo* e *in vitro*)

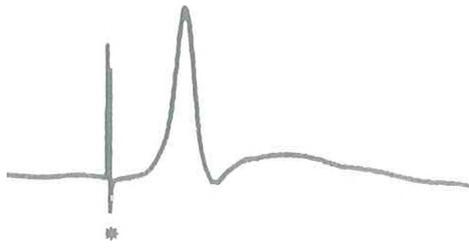
Dois tipos de experimento controle foram realizados.

No primeiro tipo, três SCGs foram passivamente sensibilizados com OVA *in vivo*, e três outros foram sensibilizados passivamente com OVA *in vitro*. Todos os gânglios foram então, expostos à albumina de sôro bovino (BSA; 10 ug/ml) por 5 minutos, não havendo significante potenciação da transmissão

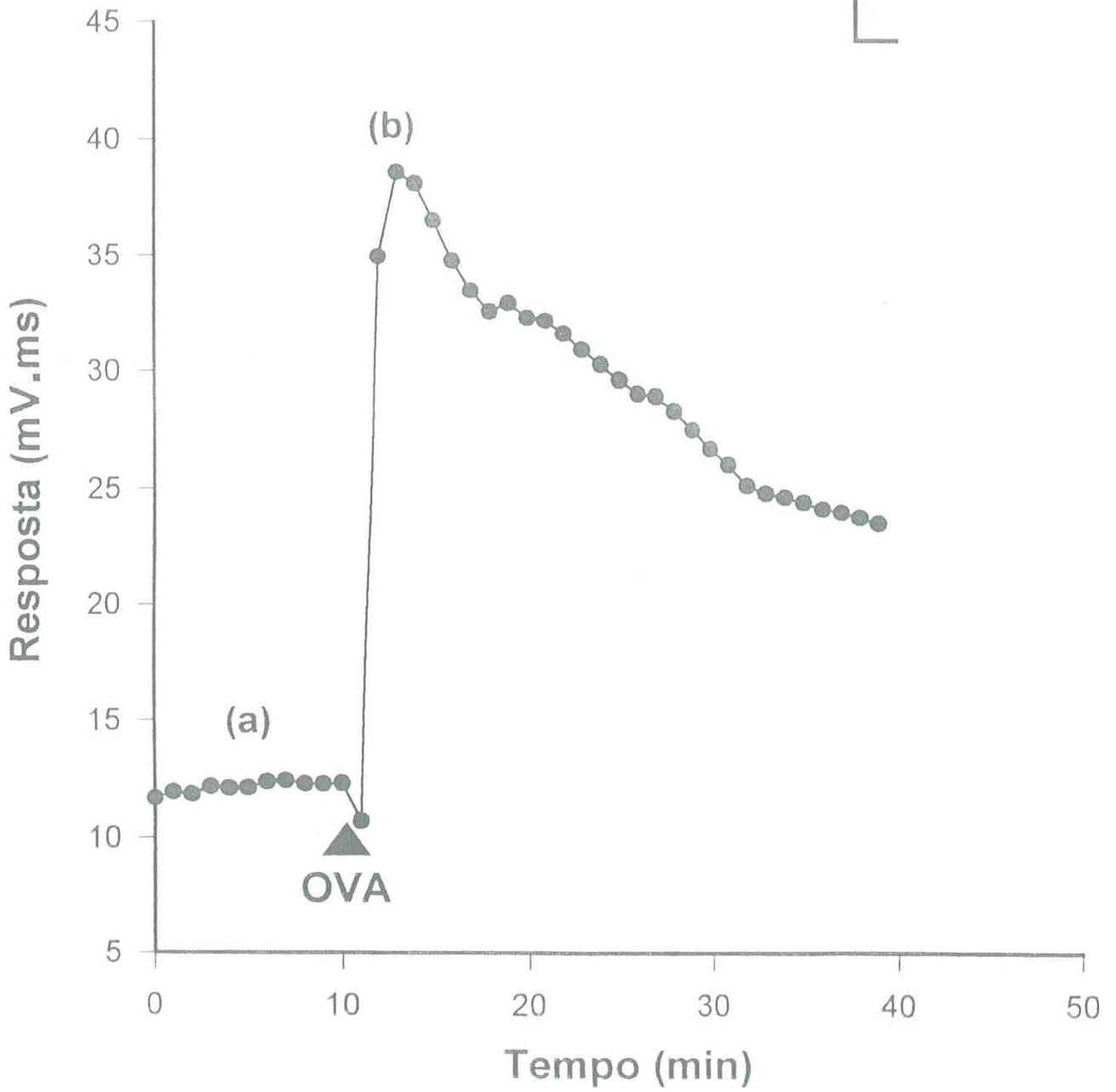
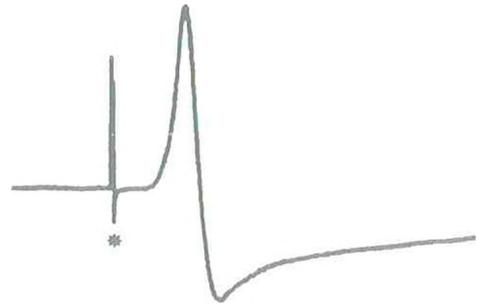
FIGURA II-3. CURSO TEMPORAL DA POTENCIAÇÃO NA TRANSMISSÃO SINÁPTICA INDUZIDA PELO CHOQUE ANTIGÊNICO NO GÂNGLIO CERVICAL SUPERIOR (SCG) DE COBAIO SENSIBILIZADO ATIVAMENTE À OVALBUMINA (OVA; 10 μ g/ml)

O triângulo indica o início de superfusão do gânglio com solução nutritora contendo o antígeno sensibilizante (OVA). Cada ponto representa a magnitude média da integral de 12 potenciais de ação compostos (CAPs) pós-ganglionares evocados à 0,2 Hz. Ordenada, integral do CAP, em mV.ms. Os pequenos traçados na parte superior da figura representam o registro osciloscópico do potencial de ação antes (**a**) e durante (**b**) a administração do antígeno. O asterisco sob o registro experimental de voltagem mostra o momento da estimulação e o correspondente artefato do choque. Calibração: 0,5 mV; 10 ms.

(a) CONTROLE



(b) OVA



sináptica ganglionar induzida pelo BSA em nenhum dos grupos. A combinação dos dados desses 6 gânglios é mostrada na Tabela II-1.

Numa segunda série de experimentos controle, três gânglios de animais não sensibilizados foram incubados em soro controle (soro de animal não sensibilizado) por 24 horas e então superfundido com OVA (10 ug/ml). Três cobaios foram também injetados com soro controle, seguindo o mesmo protocolo usado para o soro obtido de animais sensibilizados ativamente (veja Métodos), e dois a quatro dias mais tarde, os SCGs desses animais foram preparados para o registro *in vitro*. Quando esses gânglios foram colocados em presença de OVA (10 ug/ml) por 5 minutos, a magnitude do CAP não mudou significativamente comparada aos valores controles (teste t não pareado). A Tabela II-1 mostra os resultados dessa série de experimentos. Os dados da Figura II-6 mostram a resposta típica de um SCG sensibilizado à OVA e tratado com BSA, e de um outro não sensibilizado e tratado com OVA.

Seis gânglios controle (3 do grupo da OVA e 3 do grupo da BSA, descritos acima), 30 minutos após a exposição ao antígeno, foram testados para sua capacidade de apresentar potenciação sináptica. A superfusão desses gânglios por 5 minutos com 10 uM de histamina, produziu uma robusta, embora transiente, potenciação da transmissão sináptica (aumento de $95 \pm 27\%$ na amplitude do CAP sobre os valores controles), indicando que a transmissão sináptica nesses gânglios era capaz de apresentar plasticidade sináptica.

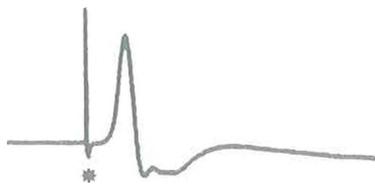
3.4. LIBERAÇÃO DE HISTAMINA INDUZIDA PELO ANTÍGENO DE SCGs SENSIBILIZADOS ATIVA E PASSIVAMENTE

Estudos realizados previamente, mostraram que a exposição de SCGs, isolados de cobaios sensibilizados ativamente, ao antígeno sensibilizante OVA

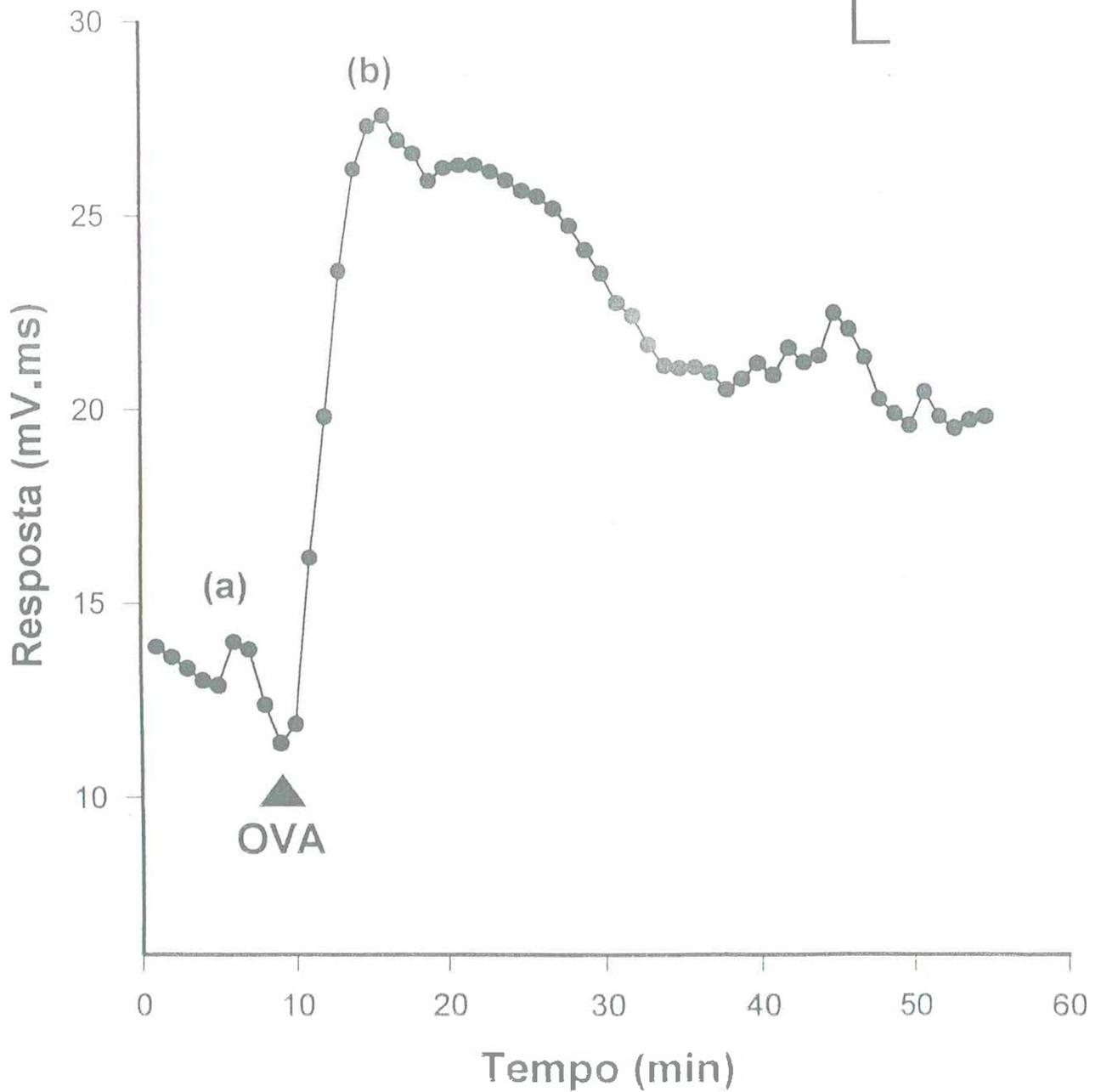
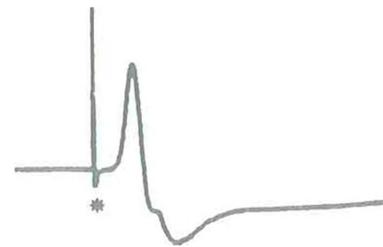
FIGURA II-4. CURSO TEMPORAL DA POTENCIAÇÃO NA TRANSMISSÃO SINÁPTICA INDUZIDA PELO CHOQUE ANTIGÊNICO NO GÂNGLIO CERVICAL SUPERIOR (SCG) DE COBAIO SENSIBILIZADO PASSIVAMENTE *IN VIVO* À OVALBUMINA (OVA; 10 $\mu\text{g/ml}$)

O triângulo indica o início de 5 minutos de superfusão do gânglio com a solução nutritora contendo o antígeno sensibilizante (OVA). Cada ponto representa a magnitude média da integral de 12 potenciais de ação compostos (CAPs) pós-ganglionares evocados à 0,2 Hz. Ordenada, integral do CAP, em mV.ms. Os pequenos traçados na parte superior da figura representam o registro osciloscópico do potencial de ação antes (**a**) e durante (**b**) a administração do antígeno. O asterisco sob o registro experimental de voltagem mostra o momento da estimulação e o correspondente artefato do choque. Calibração: 0,25 mV; 20 ms.

(a) CONTROLE



(b) OVA



resulta na degranulação de mastócitos com a consequente liberação de mediadores inflamatórios, incluindo a histamina e uma variedade de eicosanoides (UNDEM et al.,1990; WEINREICH & UNDEM,1987).

No presente trabalho foram determinadas as quantidades de histamina liberada pelos dois tipos de SCGs passivamente sensibilizados (*in vivo* e *in vitro*) seguindo o choque antigênico. Os dados mostrados na Tabela II-2 resumizam estes experimentos.

A quantidade de histamina liberada por esses gânglios durante o choque antigênico foi significativamente maior que a liberação espontânea de histamina por esses dois grupos de gânglios - sensibilizados passivamente *in vivo* (n=6) ou *in vitro* (n=7). Nesses gânglios, a aplicação do antígeno resultou em uma liberação de cerca de 10% do pool total de histamina ganglionar (~200 pmole). Em contraste, o choque antigênico (OVA) nos gânglios controles não produziu significativa elevação na liberação de histamina, acima da liberação espontânea.

Com propósitos comparativos, a Tabela II-2 também mostra os dados obtidos em trabalhos prévios realizados por UNDEM et al.(1990), onde foi medida a liberação de histamina induzida pelo antígeno em SCGs removidos de cobaias sensibilizados ativamente. Embora a quantidade de histamina liberada espontaneamente em todos os gânglios não tenha sido significativamente diferente, a quantidade de histamina liberada de SCGs seguindo o choque antigênico, foi cerca de 3 vezes maior nos gânglios removidos de animais ativamente sensibilizados (33 vs. 10%).

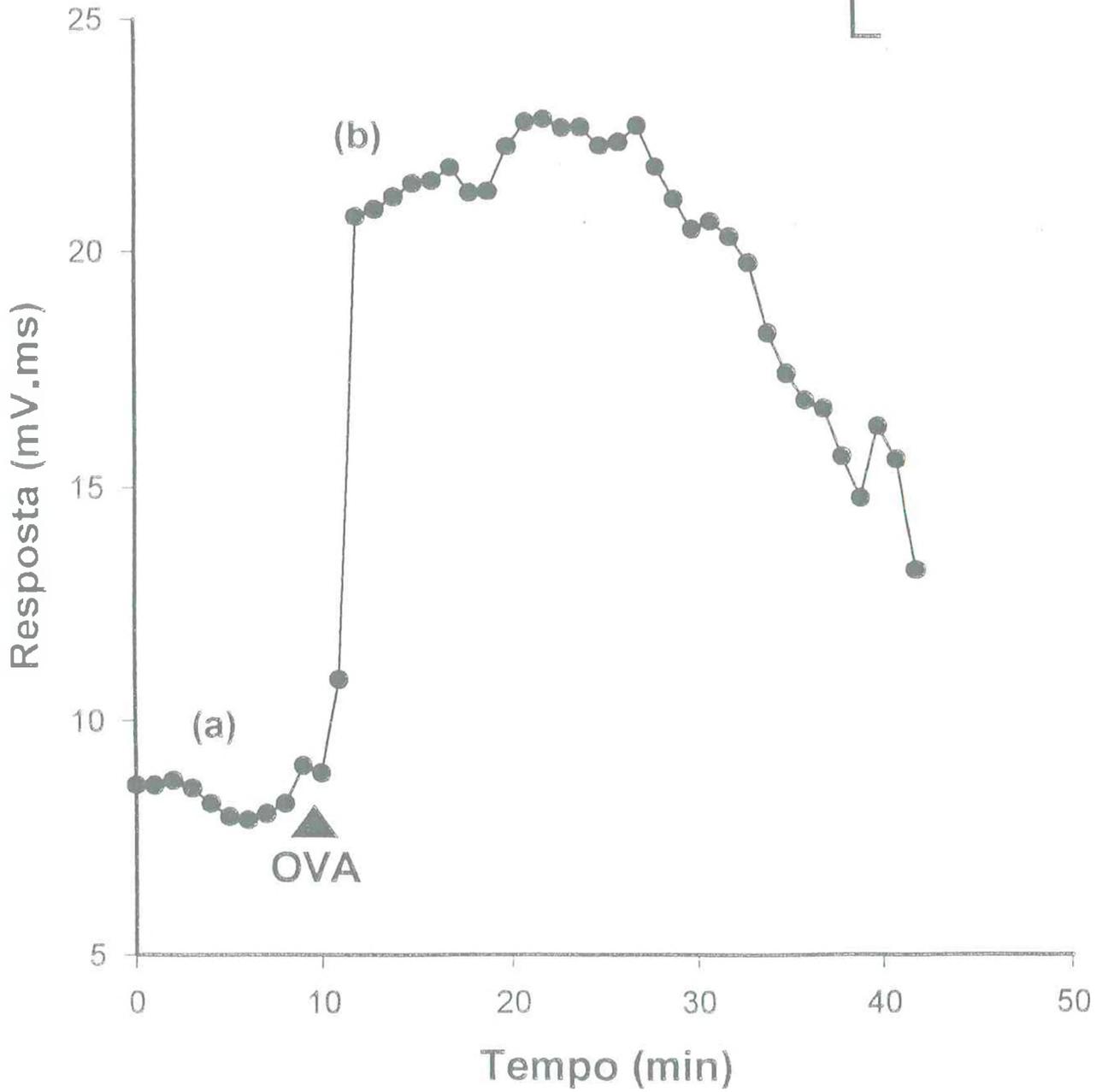
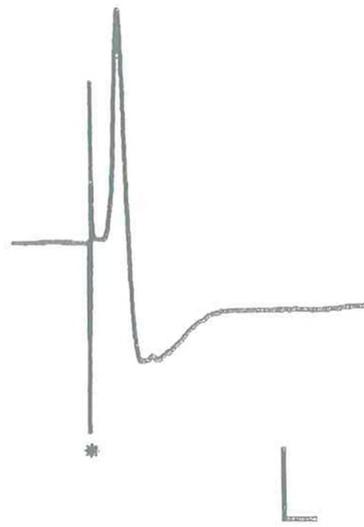
FIGURA II-5. CURSO TEMPORAL DA POTENCIAÇÃO NA TRANSMISSÃO SINÁPTICA INDUZIDA PELO CHOQUE ANTIGÊNICO NO GÂNGLIO CERVICAL SUPERIOR (SCG) DE COBAIO SENSIBILIZADO PASSIVAMENTE *IN VITRO* À OVALBUMINA (OVA; 10 $\mu\text{g/ml}$)

O triângulo indica o início de 5 minutos de superfusão do gânglio com solução nutritora contendo o antígeno sensibilizante (OVA). Cada ponto representa a magnitude média da integral de potenciais de ação compostos (CAPs) evocados à 0,2 Hz. Ordenada, integral do CAP, em mV.ms. Os pequenos traçados na parte superior da figura representam o registro osciloscópico do potencial de ação antes **(a)** e durante **(b)** a administração do antígeno. O asterisco sob o registro experimental de voltagem mostra o momento da estimulação e o correspondente artefato do choque. Calibração: 0,5 mV; 20ms.

(a) CONTROLE



(b) OVA



4. DISCUSSÃO

Nosso principal achado é que o choque antigênico específico produzido no gânglio simpático isolado de cobaias sensibilizados passivamente, produz um aumento sustentado na eficiência da transmissão sináptica.

Trabalhos anteriores de WEINREICH et al.(1995) mostraram que o choque antigênico específico produzido em gânglios simpáticos removidos de cobaias sensibilizados ativamente, produziram um aumento sustentado da transmissão sináptica, designado de A-LTP.

Outro achado importante revelado pelos dados do presente trabalho revelam que não existe diferença significativa na magnitude ou duração da potenciação sináptica ganglionar induzida pelo antígeno produzida tanto pela sensibilização ativa quanto passiva.

Assim, a existência de A-LTP que se segue à sensibilização passiva nos gânglios simpáticos, indica que o componente celular específico do processo de sensibilização ativa do sistema imunológico, não é requerido para o desenvolvimento desse fenômeno e que as células imunes e os mediadores responsáveis pela A-LTP são residentes dos gânglios simpáticos. Esses resultados se encaixam bem com a hipótese de trabalho de que é a ativação dos mastócitos e talvez de outras células imunológicas ganglionares que é requerida para o desenvolvimento da A-LTP.

Por outro lado, a quantidade de histamina liberada pelos gânglios simpáticos de cobaias sensibilizados ativamente, quando submetidos ao choque antigênico foi 3 vezes maior que aquela dos gânglios obtidos a partir de animais sensibilizados passivamente ($p < 0,001$, teste t de Student). Apesar disso, a magnitude e a duração da A-LTP foram semelhantes em ambos os grupos. Resultados análogos foram reportados para a contração de anéis de traquéia retirada de cobaias sensibilizados ativamente e passivamente com anticorpos

FIGURA II-6. GRÁFICO CARACTERÍSTICO DO CURSO TEMPORAL DA INTEGRAL DO CAP EM 2 EXPERIMENTOS COM ANTÍGENOS NÃO-SENSIBILIZANTES

Um SCG controle (animal não sensibilizado; Círculos cheios) foi incubado em sêro normal por 24 horas e então superfundido durante 5 minutos com OVA (10 $\mu\text{g/ml}$). O outro (Círculos vazios) foi removido de um cobaio sensibilizado passivamente à OVA e superfundido durante 5 minutos com albumina de sêro bovino (BSA; 10 $\mu\text{g/ml}$). Os triângulos indicam o momento da chegada dos antígenos não-sensibilizantes (OVA e BSA) ao gânglio. Cada ponto representa a magnitude média da integral de 12 potenciais de ação compostos (CAPs) pós-ganglionares evocados à 0,2 Hz.

TABELA II-1. EFEITO DO CHOQUE ANTIGÊNICO SOBRE A TRANSMISSÃO SINÁPTICA EM GÂNGLIOS CERVICAIS SUPERIORES (SCGs) REMOVIDOS DE COBAIOS SENSIBILIZADOS ATIVA E PASSIVAMENTE À OVALBUMINA (OVA)

CONDIÇÃO	ANTÍGENO	N ^d	POTENCIAÇÃO MÁXIMA (I _{max})	POTENCIAÇÃO AOS 30 MIN.(I ₃₀)
Sensibilização Ativa	OVA	60	61 ± 2,1 ^a	56 ± 1,8 ^a
Sensibilização Passiva(in vivo)	OVA	6	50 ± 7,2 ^a	49 ± 4,4 ^a
Sensibilização Passiva(in vitro)	OVA	7	55 ± 7,0 ^a	47 ± 5,4 ^a
Controle	BSA ^b	6	3 ± 1,7	0 ± 0,0
	OVA ^c	6	5 ± 2,6	0 ± 0,0

Os valores mostrados são a média ± SEM do incremento da integral do potencial de ação composto (CAP), em percentuais do valor controle, medidos no momento da incrementação máxima (I_{max}) e aos 30 minutos após o início da exposição do gânglio a 10 µg de OVA (I₃₀). Protocolos para a sensibilização ativa, passiva (*in vivo*) e passiva (*in vitro*) estão descritos na secção 2.2.

^aNão houve diferença significativa ($p < 0,001$) entre as médias dos 3 grupos de sensibilização (ativa, passiva *in vivo* e passiva *in vitro*) após o choque antigênico, mas apenas entre esses e o controle (Kruskal-Wallis ANOVA).

^bExperimentos controles utilizando 3 SCGs de animais injetados com sôro de animais sensibilizados ativamente e 3 SCGs de animais não sensibilizados incubados com sôro de animais sensibilizados ativamente. Todos os 6 gânglios foram individualmente expostos à albumina de sôro bovino (BSA; 10 µg/ml), por 5 minutos.

^cExperimentos controles utilizando 3 SCGs de animais injetados com sôro de animais não sensibilizados (sôro controle) e 3 SCGs de animais controles incubados durante 24 horas em sôro controle. Todos os gânglios foram individualmente expostos à OVA (10 µg/ml), por 5 minutos.

^dN, número de gânglios estudados

TABELA II-2. EFEITO DO CHOQUE ANTIGÊNICO SOBRE A LIBERAÇÃO DE HISTAMINA POR GÂNGLIOS CERVICAIS SUPERIORES (SCGs) REMOVIDOS DE COBAIOS SENSIBILIZADOS ATIVA E PASSIVAMENTE À OVALBUMINA (OVA)

CONDIÇÃO	N	LIBERAÇÃO ESPONTÂNEA(%) ^a	LIBERAÇÃO INDUZIDA PELO ANTÍGENO(%) ^a
Sensibilização Ativa ^b	61	< 1,0	33 ± 2,0
Sensibilização Passiva(in vivo) ^c	6	1,7 ± 0,39	9 ± 3,1 ^d
Sensibilização Passiva(in vitro) ^c	7	1,5 ± 0,53	10 ± 3,9 ^d
Controle ^e	6	0,8 ± 0,11	0,5 ± 0,2

Os valores mostrados representam a média ± SEM. N, número de gânglios estudados.

^aA liberação de histamina é expressa como a percentagem do conteúdo total de histamina (liberada + conteúdo residual do gânglio). Os gânglios foram ativados com Ovalbumina (chicken egg albumin; OVA; 10 µg/ml).

^bOs dados para a sensibilização ativa foram retirados de UNDEM et al., 1990.

^cOs protocolos para a sensibilização passiva *in vivo* e *in vitro* estão delineados na secção 2.2.

^dValores significativamente diferentes ($p < 0,001$) dos valores da sensibilização ativa e dos valores controle.

^eExperimentos controles consistiram de 3 SCGs removidos de animais injetados intraperitonealmente com soro controle e 3 SCGs de animais controle incubados *in vitro* durante 24 horas com soro controle. Todos os 6 gânglios foram individualmente tratados com OVA. O tratamento com OVA não alterou significativamente a liberação acima da liberação espontânea ($p < 0,05$).

IgGs (UNDEM et al.,1985). Esses resultados no SCG não são surpreendente uma vez que WEINREICH et al.(1995) observaram que baixas concentrações de antígeno (OVA; 0,01 µg/ml) liberava sómente ~ 6% do pool ganglionar de histamina, o que já era responsável pela produção não decremental de A-LTP.

Como reduções significantes na quantidade de histamina liberada pelo antígeno sensibilizante, observada neste estudo, e reduções bem maiores documentadas por outros autores (WEINREICH et al.,1995) não impediram a indução de A-LTP, é difícil concluir que a quantidade de histamina liberada na sensibilização passiva seja responsável pela duração e magnitude da A-LTP.

Uma explicação para a semelhança de magnitude da A-LTP nos gânglios sensibilizados ativa e passivamente, é que o mediador ou mediadores responsáveis pela A-LTP seja(m) liberado(s) em quantidades similares em ambos os tipos de sensibilização. Nesse sentido, é instrutivo notar que, embora a histamina seja liberada durante o choque antigênico em gânglios sensibilizados ativamente, ela não é diretamente responsável pela A-LTP (WEINREICH et al.,1995), a qual provavelmente se deve a liberação de outros mediadores pelos mastócitos (CHRISTIAN et al.,1989; CHRISTIAN & WEINREICH,1992; WEINREICH et al.,1992) e dessa forma, a quantidade de histamina liberada pode não ser paralela à liberação do mediador ou mediadores críticos que dão suporte a A-LTP.

Além disso, a similaridade das alterações eletrofisiológicas em gânglios sensibilizados ativa e passivamente, torna a sensibilização passiva no gânglio um bom modelo para se estudar as interações neuro-imunes em gânglios simpáticos.

Outro achado importante demonstrado por esse trabalho é que, embora existam dados na literatura mostrando uma barreira, similar à barreira hematoencefálica, recobrindo o gânglio (DePACE,1982; SZURSZEWISKI & KING,1989), a qual pode impedir o transporte de proteínas como a IgE para o espaço intersticial ganglionar, foi possível se induzir a sensibilização passiva.

A literatura afirma que o SCG se encontra envolvido por uma cápsula fibrosa de tecido conjuntivo, a qual se assemelha ao perineuro dos nervos periféricos, impedindo a difusão de proteínas para o espaço extracelular ganglionar (DePACE,1982; SZURSZEWISKI & KING,1989). Os vários tipos celulares no gânglio parecem ter seus espaços extracelulares com diferentes graus de proteção, por uma barreira hemato-ganglionar, contra a difusão de grandes partículas e macromoléculas a partir do lúmen capilar (ERANKO,1976; DePACE,1982). Tais achados tornam pois, interrogatória o fato da IgE poder atingir os mastócitos ganglionares e estabelecer a sensibilização passiva. Entretanto, esse estudo mostra a possibilidade desse tipo de sensibilização.

Além disso, comparando-se os dois tipos de protocolo (sensibilização passiva *in vivo* e *in vitro*), obteve-se quantidades similares da liberação de histamina. Isto sugere que o nível máximo da sensibilização passiva já é atingido com o protocolo mais simples, que é a incubação “over-night” do gânglio com o soro de animais sensibilizados ativamente. A obtenção da sensibilização passiva com o protocolo mais simples, não obstante a cápsula fibrosa que envolve o gânglio, pode ser explicada pela difusão da proteína sensibilizante até o gânglio através dessa cápsula ou através das extremidades seccionadas dos nervos pré- e pós-ganglionares. Já a indução da sensibilização passiva pela injeção intraperitoneal do soro de animais sensibilizados ativamente (*in vivo*), sugere que as proteínas plasmáticas têm um fácil acesso ao espaço extracelular dos mastócitos ganglionares a partir do espaço intravascular.

Finalmente, a habilidade para evocar A-LTP por meio da sensibilização passiva provê considerável vantagem sobre a sensibilização ativa para os futuros estudos dos mecanismos envolvidos, em termos de economia de tempo e dinheiro.

Com a sensibilização passiva *in vivo*, os cobaios injetados com o antígeno são mantidos por somente poucos dias (2-3), enquanto na sensibilização

ativa são requeridos, no mínimo, 21 dias. Assim, o custo de manutenção dos animais em biotério é grandemente reduzido com a sensibilização passiva. Adicionalmente, há um pequeno tempo de espera com a sensibilização passiva, especialmente àquela *in vitro*, uma vez que experimentos podem ser realizados em menos de 24 horas.

Além disso, uma vez que a estocagem de gânglios em solução de Locke no refrigerador por 48 horas não tem demonstrado degradação considerável dos parâmetros eletrofisiológicos (observações não publicados), a indução da sensibilização passiva *in vitro* nos permite comparar esses parâmetros no mesmo gânglio, antes e após a sensibilização, se necessário fôr.

Em conclusão, podemos verificar que os resultados obtidos no presente estudo têm de interessantes em relação aos trabalhos anteriores (em que se havia estudado a A-LTP em gânglios do ANS sensibilizados ativamente) a demonstração da viabilidade da sensibilização passiva, bem como delineam um protocolo simples e rápido para o estudo das mudanças eletrofisiológicas ganglionares produzidas pelo choque antigênico e conseqüentemente facilitam o estudo das relações entre os sistemas nervoso e imunológico.

Antigen-induced synaptic plasticity in sympathetic ganglia from actively and passively sensitized guinea-pigs

Aline Alice Cavalcante de Albuquerque, Jose Henrique Leal-Cardoso, Daniel Weinreich*

Department of Pharmacology and Experimental Therapeutics, School of Medicine, University of Maryland at Baltimore, 655 West Baltimore Street, Baltimore, MD 21201, USA

Received 3 January 1996; revised 28 May 1996; accepted 5 June 1996

Abstract

Alterations in synaptic efficacy induced by antigen challenge to isolated superior cervical ganglia (SCG) were monitored by measuring the magnitude of the postganglionic compound action potential (CAP) elicited by electrical stimulation of the cervical sympathetic nerve trunk. Antigen-induced changes in the CAP were measured in SCG removed from actively and from passively sensitized guinea-pigs. Additionally, some SCG were sensitized *in vitro* by incubating naive ganglia 24 h in serum obtained from actively sensitized animals. Histamine released from SCG upon specific antigenic challenge was measured to assess the effectiveness of the two forms of sensitization. Challenging SCG isolated from passively or actively sensitized animals with the sensitizing antigen, ovalbumin (OVA), produced a sustained potentiation of the CAP lasting longer than 30 min (antigen-induced long-term potentiation, A-LTP) and a net increase in histamine release. Neither the magnitude nor duration of A-LTP induced by passive sensitization differed significantly ($p < 0.05$) from results after active sensitization. The existence of A-LTP in SCG following passive sensitization indicates that the afferent limb of the immune system is not required for the development of this phenomenon and that the immune cells and the mediators responsible for A-LTP are resident to sympathetic ganglia.

Keywords: Long-term potentiation; Synaptic transmission; Autonomic ganglia; Superior cervical ganglion; Mast cell; Immediate hypersensitivity

1. Introduction

Interaction of antigen with mast cell-bound antibodies and the consequent release of inflammatory mediators are generally thought to be the pivotal events in an allergic response. Although our knowledge regarding the mechanism of mast cell activation is rapidly progressing, little is known about the neurophysiological effects this activation has in the various tissues in which mast cells reside. Autonomic ganglia are of particular interest in this regard because they are enriched with mast cells [10,15] and they represent a key control point for balance of autonomic tone. Furthermore, sympathetic ganglia, specifically the superior cervical ganglion (SCG), participate in late phase pulmonary inflammation subsequent to the induction of an anaphylactic reaction [8]. Despite the known presence of mast cells in autonomic ganglia and their documented role

in anaphylaxis, their function within autonomic ganglia still remains enigmatic.

To study the potential functional interaction between mast cells and neurons in autonomic ganglia, we have developed an *in vitro* model based upon the classical Shultz–Dale technique. Adult male guinea-pigs are actively sensitized to a foreign antigen (chick ovalbumin, OVA). Twenty one days later they are killed and their SCG are removed for study *in vitro*. Upon specific antigen challenge with OVA (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$), isolated SCG release a variety of preformed and newly synthesized inflammatory mediators including histamine, leukotrienes (LTC_4) and prostaglandins (PGE_2 , PGD_2 , $9\text{-}\beta\text{-PGF}_2$, $\text{PGF}_{2\alpha}$, and TxB_2) [14,17]; concomitantly, the number of toluidine blue stainable mast cells in the SCG are significantly reduced [17]. Accompanying these histochemical and biochemical changes, antigen challenge produces physiological alterations in the SCG that range from a transient increase in neuronal excitability lasting many minutes [4] to a profound and long-lasting enhancement in the efficacy of ganglionic synaptic neurotransmission lasting many hours

* Corresponding author. Tel.: +1 410 7065833; fax: +1 410 7060032.

[4,18]. This latter phenomenon is designated antigen-induced long-term potentiation (A-LTP) because it resembles neurogenic LTP in this ganglia [2,3,18]. Neither treatment of ganglia from sensitized animals with non-sensitizing antigens nor application of OVA to SCG removed from control animal, produces observable release of mediators, changes in mast cell numbers or measurable electrophysiological changes [16]. Thus, the observation that specific antigen challenge releases known mast cell mediators and reduces the number of stainable ganglionic mast cells suggests that immunological activation of ganglionic mast cells is an integral step for the antigen-induced physiological changes.

It is still unclear, however, whether the antigen-induced neurophysiological changes observed are indeed secondary to homocytotropic antibody generated during active sensitization or whether the changes observed are attributable to cellular immune responses associated with active sensitization. Active sensitization requires the coordinated actions of numerous cells (including lymphocytes) that utilize a variety of cytokines and their receptors. It is now recognized that many of these immune cytokines and their receptors are also expressed in nervous tissue where they can serve as neurotrophic factors regulating neural growth, survival and gene expression [7,11]. Thus the electrophysiological changes we observe following antigen challenge to SCG removed from actively sensitized animals could reflect alterations in neural function wrought by the process of active sensitization.

To bypass the afferent limb of the immune system and thereby test whether some aspect of the cellular immune response might contribute to the observed antigen-induced electrophysiological effects, we treat non-sensitized SCG with antigen-specific antibodies. This process (passive sensitization) can be achieved through two manipulations. Serum obtained from actively sensitized guinea-pigs can be intraperitoneally injected into naive guinea-pigs and SCG from these animals can be removed 1 to 4 days later, or alternatively, ganglia from naive animals can be isolated and then incubated directly with serum obtained from actively sensitized guinea-pigs. In the current work we use both methods of passive sensitization and tested for the presence of A-LTP and histamine release following specific antigen challenge. Our results show that passive or active sensitization produces similar physiological changes in ganglionic synaptic transmission.

2. Materials and methods

2.1. Preparation of tissue

Male guinea-pigs (350 to 800 g) were killed by administration of CO_2 . Preparation of the SCG and the composition of the Locke solution were identical to those described [18]. Ganglia were superfused at 3–4 ml/min with

oxygenated Locke solution that was maintained at 36–37°C.

2.2. Active and passive sensitization of animals and ganglia

2.2.1. Active sensitization

Ovalbumin (chicken egg albumin, ovalbumin grade V; Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) was intraperitoneally injected into guinea-pigs as described previously [17]. Animals were injected with doses of ovalbumin (OVA; 10 mg/kg body weight) every other day for three doses. Ganglia were studied 21 to 50 days after the last injection.

2.2.2. Passive sensitization

Guinea-pigs were injected intraperitoneally on two consecutive days with serum (0.5 ml) obtained from actively sensitized animals. SCG were removed from these animals 1–5 days after the last injection. There was no significant difference in results obtained at 1 or 5 days. Passive sensitization *in vitro* was accomplished by incubating SCG from naive animals in serum (0.5 ml) obtained from actively sensitized animals for 15–24 h at (5°C).

Serum from actively sensitized and from control animals was stored in aliquots at -80°C .

2.3. Histamine release studies

Histamine released from isolated SCG was quantified by automated fluorometry [12] as described by [14]. This procedure has a limit of sensitivity (two times the blank) of 10 pmol/ml.

2.4. Electrophysiological studies

Extracellular recordings of the postganglionic compound action potential (CAP) were measured with bipolar suction electrodes connected to the input stage of an AC-coupled differential preamplifier (0.1–1.0 kHz; WPI Corp.; model DAM-5A). Data was filtered at 1 kHz and when necessary sampled at 10 kHz (see [18] for details).

The effect of antigen and drugs on ganglionic synaptic transmission was assessed by measuring changes in the integral of the evoked CAP. Alterations in the area of the CAP were taken as an index of the number of ganglion cells synaptically excited to spike threshold. CAPs were evoked at 0.2 Hz and 12 CAPs were collected and averaged via pClamp software (Axon Instruments Inc., Foster City, CA, USA) running on an IBM PC with a TL1 interface. Data files were analyzed off-line as described [18].

The 0.2 Hz presynaptic rate of stimulation was chosen to minimize synaptic depression [9] and activity-dependent synaptic potentiation [1–3,6,19]. The postganglionic response was made approximately one half the maximal

amplitude by the addition of the nicotinic antagonist hexamethonium (100–300 μ M). After the CAP amplitude had declined to a steady-state baseline in the presence of hexamethonium, CAPs were monitored for 30 min before antigen challenge.

2.5. Preparation and delivery of drug solutions

Ovalbumin, histamine dihydrochloride, and hexamethonium were obtained from Sigma, St. Louis, MO. SCG were challenged with ovalbumin with the same lot number used to sensitize the animal. Drug solutions were prepared daily for experiments from concentrated (≥ 10 mM) stock aliquots which were stored frozen (-20°C). Reservoirs containing oxygenated solutions of superfusate with various drugs were connected to the inflow line to the recording chamber by three-way valves which could rapidly divert flow from the main reservoir to these solutions.

2.6. Statistical analysis

Data were expressed as mean \pm SE. Two samples were compared using Student's *t*-test; multiple comparisons were done with parametric ANOVA, or Kruskal–Wallis ANOVA in cases where the distribution is unknown. Means were considered to differ significantly if *p* values for null hypothesis occurrence were ≤ 0.05 .

3. Results

3.1. Characteristics of ganglionic potentiation following active sensitization

A brief (5 min) exposure to antigen (ovalbumin, OVA; 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) produced a vigorous increase in the magnitude of the postganglionic compound action potential (CAP) which reach a maximum within 5 min (Fig. 1A). At this concentration OVA produces a maximum potentiation [18]. The magnitude of the potentiation shown in Fig. 1A was an unusually robust response; the integral of the CAP increased about 4-fold. On the average, maximum antigen-induced potentiation of the CAP (I_{max}) was $61 \pm 2.1\%$ ($n = 60$, Table 1). Potentiation was also long-lasting. The fractional potentiated response 30 min after OVA (I_{30}) in the ganglion shown in Fig. 1A about 50%; for 60 ganglia the average I_{30} value was $56 \pm 1.8\%$. These values for antigen-induced potentiation are in the same range as those previously reported by our laboratory [18].

3.2. Characteristics of ganglionic potentiation following passive sensitization (in vivo and in vitro)

Antigen-induced ganglionic potentiation was also observed in ganglia from normal animals that had been injected with serum harvested from actively sensitized

guinea-pigs. The experiment shown in Fig. 1B illustrates a typical antigen-induced response in a SCG from a passively sensitized guinea-pig. The onset of the potentiation, the magnitude and the duration of potentiation following antigen challenge were comparable to responses observed in ganglia from actively sensitized animals. I_{max} and I_{30} were $50 \pm 7.2\%$ and $49 \pm 4.4\%$, respectively ($n = 6$, Table 1).

In a separate series of experiments seven SCG were passively sensitized by incubating normal ganglia for 15–24 h in serum obtained from actively sensitized animals. Upon antigen challenge these ganglia showed synaptic potentiation with a time course similar to that observed with active sensitization or passive sensitization (in vivo); see Fig. 1C and Table 1. There were no significant differences ($p < 0.01$) in the magnitude or duration of antigen-induced potentiation between the three groups of treatments – active sensitization, passive sensitization (in vivo) or passive sensitization (in vitro).

3.3. Control experiments (in vivo and in vitro)

Three SCG were passively sensitized with OVA in vivo and three ganglia were passively sensitized with OVA in vitro. These ganglia were then challenged with bovine serum albumin (BSA, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) for 5 min. BSA challenge did not significantly ($p < 0.001$) potentiate synaptic transmission in either group (Fig. 1D and Table 1).

Table 1

Effect of antigen challenge on synaptic transmission in superior cervical ganglia removed from actively or passively sensitized guinea-pigs

Conditions	Antigen	N	Potentiation (I_{max})	Duration (I_{30})
Active sensitization	OVA	60	61 ± 2.1^a	56 ± 1.8^a
Passive sensitization (in vivo)	OVA	6	50 ± 7.2^a	49 ± 4.4^a
Passive sensitization (in vitro)	OVA	7	55 ± 7.0^a	47 ± 5.4^a
Control	BSA ^b	6	3 ± 1.7	0.0 ± 0.0
	OVA ^c	6	5 ± 2.6	0.0 ± 0.0

Values are means \pm SE. I_{max} is the magnitude of potentiation of the postganglionic compound action potential (CAP) measured as the integral of the CAP. I_{30} is the fractional potentiated CAP amplitude 30 min after a 5 min application of antigen (ovalbumin, OVA; 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$). Procedures for active, passive (in vivo) and passive (in vitro) sensitization are described in the Section 2.

^a Using Kruskal–Wallis ANOVA, there were no significant differences ($p < 0.01$) between the means of the three groups of sensitization (active and passive in vivo and in vitro) following antigen challenge.

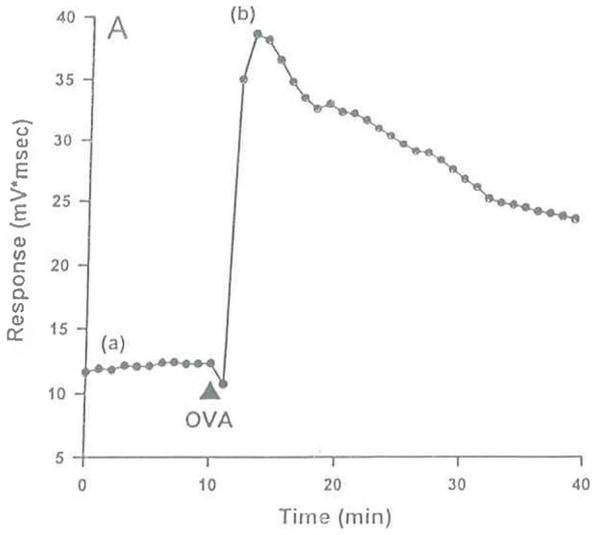
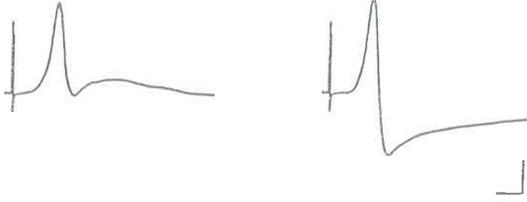
^b Control OVA experiments consisted of three animals injected with serum from naive animals (control serum) and three SCG from naive animals incubated in control serum. All six ganglia were individually challenged with 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ OVA for five minutes.

^c Control experiments consisted of three animals injected with serum from actively sensitized animals and three SCG from naive animals incubated in serum from actively sensitized animals. All six SCG were individually challenged with 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ bovine serum albumin (BSA).

ACTIVE

(a) CONTROL

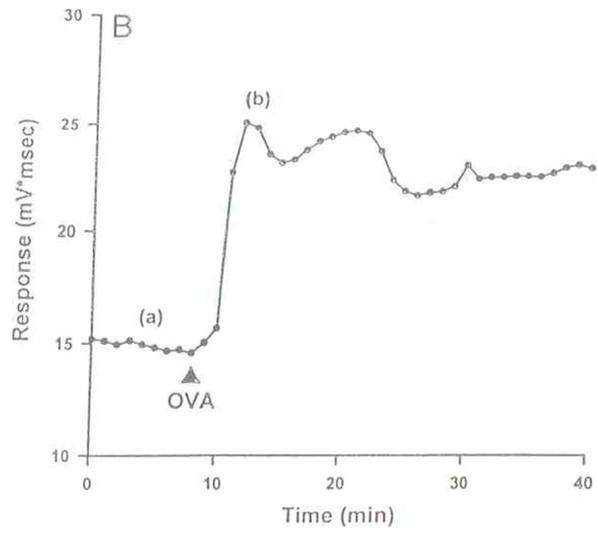
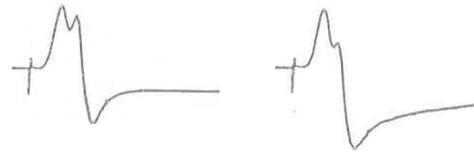
(b) OVA



PASSIVE (*in vivo*)

(a) CONTROL

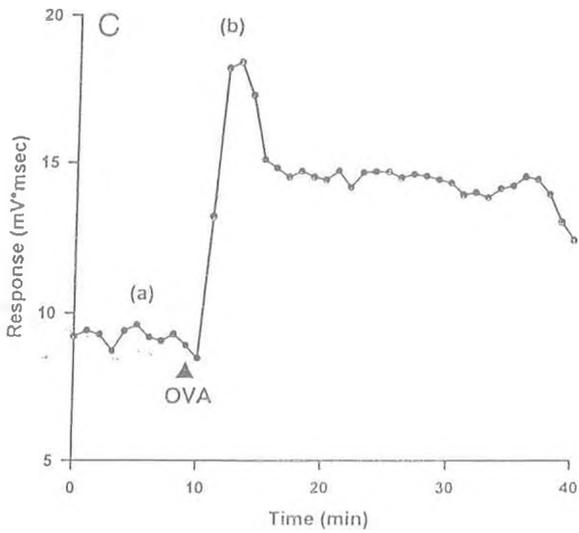
(b) OVA



PASSIVE (*in vitro*)

(a) CONTROL

(b) OVA



CONTROL

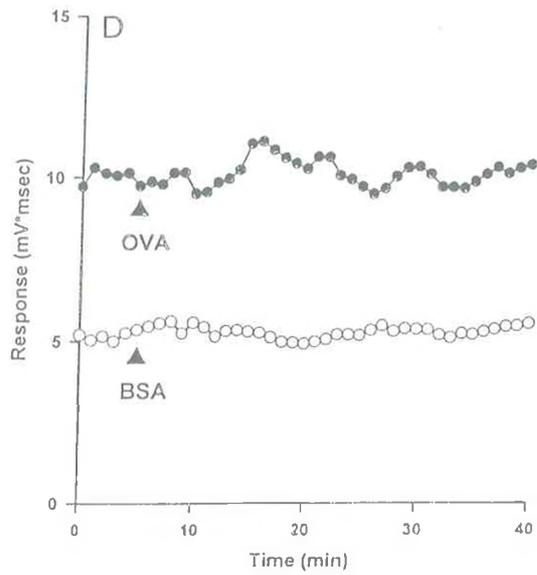


Table 2
Effect of antigen challenge on histamine release from superior cervical ganglia removed from actively or passively sensitized guinea-pigs

Condition	N	Spontaneous release (%)	Net antigen induced release (%) ^a
Active sensitization ^b	61	< 1.0	33 ± 2.0
Passive sensitization (in vivo)	6	1.7 ± 0.39	9 ± 3.1 ^c
Passive sensitization (in vitro)	7	1.5 ± 0.53	10 ± 3.9 ^c
Control ^d	6	0.8 ± 0.11	0.5 ± 0.2

Values shown are means ± SE.

^a Released histamine is expressed as a percentage of total histamine content (released plus residual ganglion content). Ganglia were challenged with 10 µg/ml chick ovalbumin (OVA).

^b Data for active sensitization taken from [14]. Characteristics of passive sensitization in vivo and in vitro delineated in Table 1 legend and in Section 2.

^c Values significantly different ($p < 0.001$) from values for active sensitization or from control values.

^d Control experiments consist of three SCG removed from animals intraperitoneally injected with control serum and three SCG incubated with control serum in vitro. All six ganglia were individually challenged with OVA. OVA treatment did not significantly increase release above spontaneous release ($p < 0.001$).

In another series of experiments, three ganglia from naïve animals were incubated in vitro in control serum for 24 h and then challenged with OVA (10 µg/ml for 5 min). Three guinea-pigs were also injected with control serum following the same protocol used for serum obtained from actively sensitized animals (see Section 2). Two to four days later ganglia from these animals were challenged in vitro with OVA. The magnitude of the CAP did not change significantly ($p < 0.001$) (Table 1).

Six control ganglia (three from the OVA group and three from the BSA group described above) were tested for their ability to reveal synaptic potentiation. Superfusing these ganglia for 5 min with 10 µM histamine produced a robust, albeit transient, potentiation of synaptic transmission (95 ± 27% increase in the CAP amplitude over control values) indicating that synaptic transmission in these ganglia was capable of plasticity [5].

3.4. Antigen-induced histamine release from actively and passively sensitized SCG

We have previously shown that exposing SCG isolated from actively sensitized guinea-pigs to the sensitizing antigen results in mast cell degranulation and the release of

inflammatory mediators including histamine and a variety of eicosanoids [14,17]. In the present work we determined whether histamine was released from two types of passively sensitized SCG following antigen challenge. The amount of histamine released from passively sensitized ganglia upon antigenic challenge was significantly greater ($p < 0.001$) than spontaneous histamine release. Table 2. In these 13 passively sensitized ganglia (six in vivo and seven in vitro), antigenic challenge released about 10% of the total ganglionic histamine pool (~200 pmol). By contrast, OVA application to control ganglia produced no significant ($p < 0.001$) elevation in histamine release above spontaneous release.

For comparative purposes, Table 2 also shows the data from our previous work measuring antigen-induced histamine release from SCG removed from actively sensitized guinea-pigs [14]. Although the amounts of histamine spontaneously released from all groups of ganglia were not significantly different ($p < 0.05$), the amount of histamine released from SCG following antigen challenge was significantly larger (about 3-fold; $p < 0.001$) in ganglia removed from the actively sensitized animals (33 versus 10%).

4. Discussion

Our principle finding is that specific antigen challenge of sympathetic ganglia isolated from passively sensitized guinea-pigs produces a sustained increase in the efficacy of synaptic transmission. We had shown previously that specific antigen challenge of sympathetic ganglia removed from actively sensitized guinea-pigs produced a sustained enhancement of synaptic transmission that we designated antigen-induced long-term potentiation (A-LTP; [18]). The data from the current work reveals that there is no significant difference in the magnitude or duration in antigen-induced ganglionic synaptic potentiation evoked by either passive or active sensitization. Thus, the existence of A-LTP in ganglia following passive sensitization indicates that the afferent limb of the immune system is not required for the development of this phenomenon and that the immune cells and the mediators responsible for A-LTP are resident to sympathetic ganglia. This result fits well with our working hypothesis [18] that ganglionic mast cell activation is required for A-LTP.

The amount of histamine released from sympathetic ganglia of actively sensitized guinea-pigs by antigen chal-

Fig. 1. Time course and magnitude of antigen-induced potentiation of synaptic transmission in the superior cervical ganglion (SCG) in vitro. At the time indicated by the triangle the sensitizing antigen, chick ovalbumin (OVA, 10 µg/ml, or control antigen), was superfused over the SCG for five minutes. Each data point represents the average magnitude (integral) of 12 evoked postganglionic compound action potentials (CAPs) evoked at 0.2 Hz. (A) Effect of antigen challenge recorded from an SCG removed from an actively sensitized animal. (B) Antigen challenge to SCG removed from passively sensitized animal (in vivo). (C) Antigen challenge to a normal SCG incubated 18 h in serum from actively sensitized guinea-pigs. (D) Two control experiments. OVA challenge (10 µg/ml) of a normal SCG incubated in control serum for 24 h. Another SCG was removed from a guinea-pig passively sensitized to OVA (in vivo) and challenged with 10 µg/ml bovine serum albumin (BSA). Calibration: (A) 0.5 mV, 10 ms. (B, C) 1 mV, 10 ms.

lence was three-fold higher than from ganglia taken from passively sensitized animals ($p < 0.001$). Despite this, the magnitude and duration of A-LTP were similar in both groups. Analogous results were reported for OVA-induced contraction of tracheal rings taken from guinea-pigs actively or passively sensitized with IgG₁ antibody [13]. This result in the SCG is not surprising because we have previously observed that low concentrations of antigen (0.01 $\mu\text{g}/\text{ml}$ OVA) released only $\sim 6\%$ of the ganglionic histamine pool yet produced nondecremental A-LTP [18]. Though the duration of A-LTP elicited by this low concentration of antigen was comparable to that observed with maximal antigen challenge (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$), the magnitude of A-LTP was only 75% of maximum. Thus it is difficult to conclude that a smaller amount of mediator released in passive sensitization is responsible for both duration and magnitude of A-LTP. One explanation for the similarity of the magnitude of A-LTP in passively sensitized ganglia to that in actively sensitized tissue may be that the mediator(s) responsible for A-LTP is released in similar amounts in both types of sensitization. In this regard it is instructive to note that although histamine is released upon antigen challenge it is clearly not responsible for A-LTP [18] and therefore the amount of histamine released may not parallel the release of the critical mediator(s) underlying A-LTP.

Finally, the ability to evoke A-LTP with passive sensitization provides considerable advantage over active sensitization for future studies of the underlying mechanisms, as animals need to be held for only a few days (or not at all) prior to the experiment.

Acknowledgements

We wish to thank Ms. Jennifer O'Brien for participating in some of the experiments and Dr. Brad Udem for measurements of histamine. The authors thank Ms. Kimberly Moore for constructive suggestions on an earlier draft of this manuscript. This work was supported by NINDS grants NS22069 and NS25598 to D.W.

References

- [1] Bachoo, C.A. and Polosa, C., Long-term potentiation of nicotinic transmission by a heterosynaptic mechanism in the stellate ganglion of the cat, *J. Neurophysiol.*, 65 (1991) 639–647.
- [2] Briggs, C.A., Long-term potentiation of synaptic transmission in the sympathetic ganglion: multiple types of mechanisms. In E.M. McLachlan (Ed.), *Autonomic Ganglia*, Harwood Academic Publishers GmbH, Luxembourg, 1995, pp 297–347.
- [3] Briggs, C.A., Brown, T.H. and McAfee, D.A., Neurophysiology and pharmacology of long-term potentiation in the sympathetic ganglion, *J. Physiol. (London)*, 359 (1985) 503–521.
- [4] Christian, E.P., Udem, B.J. and Weinreich, D., Endogenous histamine excites neurones in the guinea-pig superior cervical ganglion in vitro, *J. Physiol. (London)*, 409 (1989) 297–312.
- [5] Christian, E.P. and Weinreich, D., Presynaptic histamine H₁ and H₂ receptors modulate sympathetic ganglionic synaptic transmission in the guinea-pig, *J. Physiol. (London)*, 457 (1992) 407–430.
- [6] Dunant, Y. and Dolivo, M., Plasticity of synaptic functions in the excised sympathetic ganglion of the rat, *Brain Res.*, 10 (1968) 272–273.
- [7] Kuno, M., *The synapse: function plasticity, and neurotrophism*, Oxford University Press, New York, NY, 1995.
- [8] Mathison, R., Davison, J.S. and Befus, A.D., Neuroendocrine regulation of inflammation and tissue repair by submandibular gland factors, *Immunol. Today*, 15 (1994) 527–532.
- [9] McAfee, D.A., Henon, B.K., Whiting, K., Horn, J.P., Yarowsky, P.J. and Turner, D.K., The action of cAMP and catecholamine in mammalian sympathetic ganglia, *Fed. Proc.*, 285 (1980) 2997–3002.
- [10] Olson, Y., Mast cells in the nervous system, *Int. Rev. Cytol.*, 24 (1968) 27–70.
- [11] Patterson, P., Leukemia inhibitory factor, a cytokine at the interface between neurobiology and immunology, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 91 (1994) 7833–7835.
- [12] Siraganian, R.P., An automated continuous flow for the extraction and fluorometric analysis of histamine, *Anal. Biochem.*, 57 (1974) 383–394.
- [13] Udem, B.J., Buckner, C.K., Harley, P. and Graziano, F.M., Smooth muscle contraction and release of histamine and slow-reacting substance of anaphylaxis in pulmonary tissues isolated from guinea IgG₁ passively sensitized with IgG₁ or IgE antibodies, *Am. Rev. Respir. Dis.*, 131 (1985) 260–266.
- [14] Udem, B.J., Hubbard, W.C., Christian, E.P. and Weinreich, D., Mast cells in the guinea-pig superior cervical ganglion: a functional and histological assessment, *J. Autonomic Ner. Sys.*, 30 (1990) 75–88.
- [15] Weinreich, D., Multiple sites of histamine storage in superior cervical ganglia, *Exp. Neurol.*, 90 (1985) 36–43.
- [16] Weinreich, D., Leal-Cardoso, J.H. and Udem, B.J., Functional Effects of Mast Cell Activation in Sympathetic Ganglia. In: R.H. Stead, M.H. Perdue, H. Cooke, D.W. Powell, and K.E. Barrett (Eds.), *Neuro-Immuno-Physiology of the Gastrointestinal Mucosa*, Vol. 664, Ann. NY Acad. Sci., New York, 1992, pp 293–308.
- [17] Weinreich, D. and Udem, B.J., Immunological regulation of synaptic transmission in isolated guinea-pig autonomic ganglia, *J. Clinical Invest.*, 79 (1987) 1529–1532.
- [18] Weinreich, D., Udem, B.K., Taylor, G. and Barry, M.F., Antigen-induced long-term potentiation of nicotinic synaptic transmission in the superior cervical ganglion of the guinea pig, *J. Neurophysiol.*, 73 (1995) 2004–2016.
- [19] Engel, J.E., Magleby, K.L., Horn, J.P., McAfee, D.A. and Yarowski, P.J., Facilitation, augmentation and potentiation of synaptic transmission at the superior cervical ganglion of the rat, *J. Gen. Physiol.*, 76 (1980) 213–231.

CAPITULO III

*PAPEL DOS MEDIADORES
INFLAMATÓRIOS LIBERADOS
PELOS MASTÓCITOS, DURANTE O
CHOQUE ANTIGÊNICO, NO
DESENVOLVIMENTO DAS
MUDANÇAS
ELETROFISIOLÓGICAS QUE
OCORREM NOS NEURÔNIOS
GANGLIONARES*

1. INTRODUÇÃO

Como citado no Capítulo II, durante o choque antigênico uma larga variedade de mediadores inflamatórios são liberados pelos mastócitos presentes no SCG de cobaios sensibilizados ativamente (WEINREICH & UNDEM,1987; CHRISTIAN et al.,1989; UNDEM et al.,1990; WEINREICH et al.,1992).

Dessa forma, tem crescido continuamente o interesse pelo estudo do papel dos mesmos nos processos fisiológicos e fisiopatológicos ligados à alergia e a inflamação. Essas moléculas são química e biologicamente diferentes, liberadas por um longo período de tempo, gerando tanto as reações alérgicas imediatas como as tardias, e possuem também a capacidade de induzir muitas, se não todas, as mudanças fisiopatológicas vistas na asma (KALINER,1980). Destas, aquela mais antigamente conhecida é a histamina. A histamina constitui o principal neurotransmissor liberado pelos mastócitos ativados por uma variedade de estímulos (WADA et al.,1991). Sua liberação ocorre dentro de 30-45 segundos após o estímulo liberador, e sua ação na vascularização local se inicia entre 1-5 minutos (THEOHARIDES,1989).

O importante papel da histamina nos processos inflamatórios tem sido reconhecido desde os trabalhos pioneiros de DALE nas primeiras décadas deste século. DALE & LAIDLAW (1911;1919), demonstraram que a reação anafilática é uma consequência direta da combinação de um dado antígeno com um tecido sensibilizado pela presença de anticorpos específicos ao antígeno. DALE & LAIDLAW comprovaram também que a histamina, quer aplicada *in vitro* (músculo liso), quer *in vivo*, imitava os efeitos da reação anafilática. Na mesma época, ABDEL & KUBOTA (1919) demonstraram a presença da histamina em vários tecidos. Em seguida, BEST et al.(1927) demonstraram uma alta concentração de histamina no tecido pulmonar, e BARTOSCH et al.(1932) comprovaram que a estimulação do tecido pulmonar sensibilizado libera

histamina quando colocado em presença do antígeno. Por outro lado, LEWIS & GRANT (1924) demonstraram que a injeção de histamina na pele reproduzia a reação tríplice de lesão da pele.

O papel da histamina nas reações inflamatórias foi mais substanciado ainda quando RILEY & WEST (1953) documentaram o papel dos mastócitos como armazenadores de histamina, o que permitiu o estudo molecular de como o estímulo imunológico leva à liberação da histamina, bem como as comparações mais elaboradas entre a reação anafilática e os efeitos da histamina. Assim, no trato gastrointestinal dos mamíferos, um local do organismo muito rico em mastócitos e onde se encontra concentrada grande número de células de importância imunológica (BIENENSTOCK,1992) a comparação da apresentação do antígeno com os efeitos da injeção direta da histamina tem demonstrado grande similaridade. Tanto a apresentação do antígeno quanto a administração de histamina a um dado segmento do intestino, promovem uma resposta que se caracteriza por aumento da secreção e ativação da musculatura lisa intestinal com estabelecimento de um vigoroso peristaltismo que esvazia, rapidamente, o conteúdo do segmento para porções mais distais do intestino. A nível dos neurônios do plexo entérico que controlam a motilidade intestinal às respostas ao antígeno e à histamina também são muito parecidas. Ambos promovem uma resposta que se caracteriza por despolarização da membrana e aumento da resistência elétrica de entrada da mesma e o conseqüente aumento da excitabilidade do neurônio. Esses efeitos da histamina e do antígeno foram reproduzidos pela substância dimaprit, agonista com especificidade para o receptor H_2 da histamina e bloqueados pela cimetidina, antagonista de H_2 (WOOD,1992).

No coração de cobaio, a histamina e o antígeno também provocaram efeitos similares e intensos (LEVI & ZAVEC,1979). Eles induziram taquicardia, dissociação atrioventricular e geração de focos ectópicos ventriculares. Esses

efeitos foram parcialmente antagonizados pela cimetidina. Além dessas ações no intestino e no coração, a histamina tem efeitos importantes no ANS.

Além do papel mediador da histamina em reações alérgicas e inflamatórias, a ela são atribuídas funções reguladoras (modificadoras do efeito de outros mediadores) ou moduladoras (DALE & FOREMAN,1989). Entre elas se situam um efeito pro-inflamatório em eosinófilos e efeitos anti-inflamatórios em basófilos (inibição da liberação de histamina)(TUNG et al.,1982) e em linfócitos (inibição da proliferação de linfócitos T).

O estudo do sistema histaminérgico, até os nossos dias, revelou que a histamina atua através de 3 tipos de receptores : H₁, H₂ e H₃ (BLACK et al.,1972; ARRANG et al.,1983; HILL,1990), já existindo agonistas e antagonistas específicos para os mesmos. A existência de mais de um tipo específico de receptor para a histamina foi inicialmente proposta por ASH & SCHILD (1966) após a observação de que alguns dos efeitos conhecidos da histamina, tais como a secreção gástrica ácida e o relaxamento uterino, não podiam ser bloqueados pelos anti-histamínicos convencionais.

Em 1972, BLACK et al., sintetizaram um composto, a burimamida, que competitiva e seletivamente bloqueou a secreção gástrica ácida e o relaxamento uterino. Esses receptores antagonizados pela burimamida foram designados receptores H₂. Um terceiro tipo de receptor específico para a histamina foi descoberto por ARRANG et al.(1983) e tem sido subsequentemente confirmado por estudos envolvendo o uso de agonistas e antagonistas seletivos (ARRANG et al.,1987; SCHWARTZ et al.,1990).

O uso desses antagonistas tem contribuído para esclarecer o papel da histamina como mediador inflamatório. Esses antagonistas têm se mostrado eficazes no bloqueio das ações da histamina *in vitro* e da histamina exógena *in vivo*. Contudo, nos processos alérgicos e inflamatórios *in vitro* e *in vivo*, as ações dos antagonistas da histamina têm sido bem menos eficazes (WHITE &

KALINER,1988a,b). Em alguns processos inflamatórios *in vitro*, o bloqueio se verifica apenas para o efeito que ocorre nos minutos iniciais subsequentes à reação anafilática.

Em algumas doenças inflamatórias da pele os anti-histamínicos (anti-H₁ ou melhor a combinação anti-H₁ e anti-H₂) são mais eficazes (como na dermatite atópica e em algumas urticárias), mas isso é mais uma exceção à regra. Essa falta de eficácia dos anti-histamínicos é atribuída ao fato de que a histamina é apenas um entre muitos mediadores importantes nos processos alérgicos e inflamatórios (DALE & FOREMAN,1989).

Dentre outros grupos de substancias envolvidas na mediação dos processos alérgicos e inflamatórios liberados pelos mastócitos ativados, estão aqueles derivados do ácido aracdônico, os eicosanóides (de importancia a prostaciclina, algumas PGs, peptidoleucotrienos e os ácidos eicosatetraenóicos) (ROBERTS II et al.,1979; OKANO et al.,1985).

O ácido aracdônico, é um ácido graxo poli-insaturado que pode ser obtido diretamente da dieta e do alongamento da cadeia do ácido linoleico dietético. É transportado no sangue, ligado à albumina, sendo incorporado como um componente estrutural dos fosfolipídeos da membrana celular e de outras estruturas subcelulares de todos os tecidos corporais (RAMWELL et al.,1977). Pode ser liberado da membrana celular pela ação de enzimas do grupo das fosfolipases (fosfolipase A₂), que são ativadas por diversos tipos de estímulos, inclusive estímulos inflamatórios (FLOWER & BACKWELL,1976; VONKEMAN & VAN DORP,1968). O ácido aracdônico livre pode então, sofrer a ação de enzimas ciclo-oxigenases convertendo-se em PGs e TXs, ou a ação de enzimas lipo-oxigenases transformando-se em produtos tais como os LTs.

As PGs são derivados ciclopentanos, formados a partir de ácidos graxos poli-insaturados, por muitos tecidos de mamíferos e por tecidos de vertebrados inferiores e certos invertebrados. A simples estimulação pode levar a

geração de PGs, como se verifica nos pulmões (PIPER & VANE,1971), no baço (GRYGLEWSKI & VANE,1972) e nas plaquetas (SALZMAN et al.,1976). Também podem ser liberadas por mastócitos (ROBERTS II et al.,1979;1980). Elas modulam um certo número de estímulos hormonais, neuro-hormonais, além de outros estímulos, e possuem uma variedade de ações farmacológicas.

Foram primeiramente descritas nas glândulas genitais acessórias e no semên humano, independentemente por GOLDBLATT (1933) e VON EULER (1934). Vários anos depois, BERGSTRÖM & SJÖVALL (1960) isolaram em forma pura a PGE₁ e a PGF_{1 α} , e posteriormente, várias outras PGs estáveis foram isoladas (BERGSTRÖM et al.,1963; MITCHELL et al.,1978).

As enzimas que sintetizam as PGs estão presentes em muitos dos órgãos até então estudados, exceto os eritrócitos (CHRIST & VAN DORP,1972), mas alguns tecidos, como as vesículas seminais, rins e pulmões, possuem maior capacidade que outros para sintetizá-las.

A cascata dos metabólitos do ácido aracdônico que leva à formação das PGs, se inicia com a oxigenação e a ciclização do ácido graxo, pela ação da ciclo-oxigenase, para formar a endoperoxidase PGG₂. Esta é então, convertida a PGH₂, que por sua vez, é quebrada enzimática ou não-enzimaticamente em substancias estáveis como a PGE₂, PGF_{2 α} e a PGD₂.

As PGs endoperoxidasas (PGG₂ e PGH₂) (SAMUELSSON,1965; HAMBERG & SAMUELSSON,1973; HAMBERG et al.,1974a) são também transformadas enzimaticamente, em dois outros produtos instáveis, a prostaciclina (PGI₂), pela ação da prostaciclina sintetase, e o tromboxano A₂ (TXA₂), pela tromboxano sintetase. Tais produtos foram descritos numa larga variedade de tecidos (veja : MONCADA & VANE.,1979).

Foi inicialmente imaginado, que dos metabólitos do ácido aracdônico quimicamente identificados, os que apresentavam substancial atividade biológica seriam a PGE₂ e a PGF_{2 α} . Contudo, desde 1973, têm ocorrido importantes

descobertas sobre a natureza dos intermediários do metabolismo do ácido aracônico. Essas substâncias, que incluem as PGs endoperoxidases (PGG_2 e PGH_2), TXA_2 e PGI_2 são instáveis, mas apresentam potentes atividades biológicas.

PGs endoperoxidases são fortes indutores da agregação plaquetária (HAMBERG et al.,1974a), e contraem o músculo liso vascular, gastrointestinal e bronquial (HAMBERG et al.,1975a; KADOWITZ et al.,1977; MONCADA et al.,1978) *in vitro*. No músculo liso gastrointestinal, as ações das PGs endoperoxidases não são qualitativamente diferentes daquelas das estáveis PGE_2 e $\text{PGF}_{2\alpha}$ (HAMBERG et al.,1975a; MONCADA et al.,1978), mas no músculo traqueal do cobaio, as endoperoxidases são várias vezes mais potente que a $\text{PGF}_{2\alpha}$ (HAMBERG et al.,1975a). Em fatias de músculo liso vascular como em tiras de aorta de coelho (NEEDLEMAN et al.,1976), artérias cerebrais bovinas (ELLIS et al.,1977), artéria umbilical humana (TUVEMO et al.,1976) e veias intrapulmonares de cães (KADOWITZ et al.,1977), as PGs endoperoxidases induzem contração como um efeito direto. Em alguns tecidos, a contração pode ser parcialmente devida a conversão das mesmas em TXA_2 , uma vez que a tromboxano sintetase tem sido demonstrada na artéria umbilical (TUVEMO et al.,1976). Em outras fatias vasculares, como aquelas de coronária bovina (KULKARNI et al.,1976; DUSTING et al.,1977a) e artéria celíaca e mesentérica de coelho (BUNTING et al.,1976), as endoperoxidases induzem relaxamento ou uma contração de curta duração, seguida por relaxamento. PGG_2 e PGH_2 também relaxam fatias isoladas de ducto arteriosos de carneiro, mas são menos ativas que a PGE_2 (COCEANI et al.,1978). Além disso, na preparação Langendorff de coração isolado de coelho, PGH_2 induz vasoconstrição coronária (NEEDLEMAN et al.,1978), a qual é algumas vezes seguida por uma vasodilatação (SCHROR et al.,1978).

In vivo, PGH_2 induz principalmente vasodilatação que é comparável

aquela produzida por PGE₂ ou vasodilatação precedida por vasoconstrição de curta duração. Esses efeitos ocorrem nas redes vasculares do mesentério (PAUSTIAN et al.,1977; SVENSSON & FREDHOLM,1977; DUSTING et al.,1978a; FEIGEN et al.,1978), dos membros posteriores (SVENSSON & FREDHOLM,1977; DUSTING et al.,1978a), da coronária (DUSTING et al.,1978b; HYMAN et al.,1978) e dos rins (FEIGEN et al.,1978) de cães e gatos, e na microcirculação da bolsa facial do hamster (LEWIS et al.,1977; HIGGS et al.,1978). Na rede vascular pulmonar do cão e do gato, PGH₂ é um vasoconstrictor (HYMAN et al.,1977; KADOWITZ et al.,1977). PGG₂ e PGH₂ aumentam a pressão de inflação traqueal quando administradas intravenosamente no cobaio (HAMBERG et al.,1975a), sendo 5 a 10 vezes mais ativas que a PGF_{2α}. Contudo quando administradas via aerosol, elas produzem um aumento menor que a PGF_{2α} (HAMBERG et al.,1975a). Em adição, alguns pesquisadores têm indicado que as PGs endoperoxidases ou seus análogos estáveis têm efeitos semelhantes a PGE₂, potenciando os efeitos pró-inflamatórios de outros mediadores (VANE, 1976).

PGD₂, juntamente com a PGF_{2α} e a PGE₂ (seu isômero mais bem estudado), é um produto natural derivado da endoperoxidase PGH₂, que quando colocada em solução aquosa a 37°C, enzimática ou não-enzimaticamente se decompõe numa mistura de PGE₂ e PGD₂ (GRANSTRÖM et al.,1968; NUGTEREN & CHRIST-HAZELHOF,1973; HAMBERG & SAMUELSSON,1973; HAMBERG et al.,1974a;1975a; NUGTEREN & CHRIST-HAZELHOF,1980; COLEMAN et al.,1990). As duas enzimas envolvidas, a PGD₂ isomerase e PGD₂ sintetase, se encontram presentes no citosol.

A produção de PGD₂ ocorre numa variedade de células como os macrófagos, plaquetas e mastócitos, com níveis particularmente altos em células cerebrais (FLOWER et al.,1973; BLACKWELL et al.,1975; TAI et al.,1976;

FREDHOLM & HAMBERG,1976; KINGSTON & GREAVES,1976; PACE-ASCIAK & NASHAT,1976; DAWSON et al.,1976; OELZ et al.,1977; ADKINSON et al.,1980; SCHULMAN et al.,1981; LEWIS et al.,1982; PETERS et al.,1982; ROBINSON et al.,1984; HOLGATE et al.,1984; BENYON et al.,1987b). PGD₂ também tem sido obtida pela incubação do ácido aracdônico com microsomas da glândula vesicular do carneiro (WLODAWER & SAMUELSSON,1973).

Ao contrário dos efeitos farmacológicos potentes e diversificados da PGF_{2α} e da PGE₂, a PGD₂ foi originalmente reportada como um produto inativo da PGH₂ (NUGTEREN & CHRIST-HAZELHOF,1973). Tal observação foi demonstrada tanto *in vivo* como *in vitro*. Entretanto, trabalhos posteriores têm acumulado uma vasta gama de evidências que a tornam responsável por uma variedade de atividades farmacológicas em um número de diferentes sistemas, incluindo o da coagulação sanguínea, o cardiovascular e o pulmonar (MILLS & MacFARLANE,1974; HORTON & JONES,1974; NISHIZAWA et al.,1975; HAMBERG et al.,1975a).

Da mesma forma que a PGE₁ (KLOEZE,1967) e a PGI₂ (MONCADA et al.,1976), a PGD₂ apresenta-se como um potente inibidor da agregação plaquetária, em várias espécies, induzida tanto pela adenosina difosfato (ADP) como pelo colágeno (MILLS & MacFARLANE,1974; NISHIZAWA et al.,1975; WHITTLE et al.,1978). Além disso, PGD₂ também aumenta os níveis de cAMP plaquetários (MILLS & MacFARLANE,1974; TATESON et al.,1977; WHITTLE et al.,1978). Contudo, os receptores plaquetários que mediam as respostas da PGD₂, parecem ser diferentes daqueles da PGE₁ e PGI₂.

Na musculatura lisa vascular, os efeitos da PGD₂ variam com a espécie e com a rede e o tônus vascular. Em muitas espécies, a infusão sistêmica causa um efeito vasodepressor global. Uma diminuição da pressão sanguínea e da resistência vascular total ocorre em ratos (ARMSTRONG et al.,1976), cães

(WASSERMAN et al.,1977; ANGERIO et al.,1977), gatos (HEMKER & AIKEN,1980), macacos (WHITTLE et al.,1983) e no homem (NAKAGAWA et al.,1981). No cobaio, PGD_2 produz uma queda transitória na pressão sanguínea, que é seguida por um efeito pressor (HAMBERG et al.,1975a) e no carneiro, coelho e porco, ela produz somente um efeito pressor (HORTON & JONES,1974; JONES,1976;1978). PGD_2 , também aumenta a pressão na artéria pulmonar em cães (WASSERMAN et al.,1977; ANGERIO et al.,1977) e em macacos (WHITTLE et al.,1983), e diminui o fluxo sanguíneo mesentérico em cães, mas aumenta o fluxo renal (FEIGEN et al.,1977; CHAPNICK et al.,1978) Contudo, em ratos, PGD_2 sistêmica causa redução no fluxo sanguíneo renal (GERBER & NIES,1979), e em cobaios, tem sido reportado uma resposta bifásica, ou seja, uma vasoconstrição inicial que é seguida por uma prolongada vasodilatação (BEDWANI et al.,1983).

Em muitas preparações de músculo liso vascular atônico isolados, a PGD_2 produz uma vasoconstrição, como ocorre nas artérias cerebrais, coronárias, renais e femorais de cão (TODA,1982), artérias cerebrais de felinos (USKI & ANDERSON,1984), veia intrapulmonar canina e bovina (GRUETTER et al.,1978) e artéria coronária humana (ROBERTSON et al.,1985).

Essa diversidade de efeitos da PGD_2 sobre a musculatura lisa vascular, é devida provavelmente a presença de diferentes receptores, para a contração e o relaxamento (CHAPNICK et al.,1978). Nesse contexto, TODA (1982) sugeriu que a resposta de um dado vaso a PGD_2 dependeria da densidade relativa desses receptores naquele tecido.

Em músculo liso não vascular, *in vitro*, PGD_2 produz contração em fatias de traquéia de cobaios (embora relaxamento seja observado em altas doses), sendo bem mais ativa que a $PGF_{2\alpha}$ (HAMBERG et al.,1975a; COPAS et al.,1981), e de fatias do parênquima pulmonar (SCHNEIDER & DRAZEN,1980). *In vivo*, a infusão intra-venosa ou a inalação por aerosol

aumenta a resistência pulmonar e diminui a complacência em cobaios (HAMBERG et al.,1975a; COLEMAN et al.,1981), cães (WASSERMAN et al.,1977) e macacos (PATTERSON et al.,1980). Efeitos semelhantes são encontrados no homem, onde a PGD_2 contrai anéis isolados de brônquio (BLACK et al.,1986) e bronquíolos (FINNEY et al.,1985), e quando inalada, PGD_2 produz uma significativa queda na condutância das vias aéreas (HARDY et al.,1984).

PGD_2 produzida por mastócitos pulmonares humanos, é um potente broncoconstrictor *in vivo* (HARDY et al.,1984) e pode, além de atuar de maneira sinérgica com outros mediadores broncoespásticos e inflamatórios (GOETZL et al.,1979; PATTERSON et al.,1980; SOTER et al.,1983) provocar a liberação desses mediadores por outras células pulmonares (PETERS et al.,1984). Em adição, PGD_2 também potencia a broncoconstricção produzida pela histamina administrada por inalação (FULLER et al.,1984). Por outro lado, os trabalhos de WASSERMAN et al.(1977) mostraram que a PGD_2 é mais ativa que a $PGF_{2\alpha}$ como um broncoconstrictor, em diminuir a complacência dinâmica pulmonar, o volume tidal e a velocidade do fluxo aéreo expiratório, bem como em elevar a resistência pulmonar. Essas observações sugerem pois, que a PGD_2 se encontra entre os possíveis mediadores da resposta precoce da asma.

No músculo liso intestinal, o efeito da PGD_2 também varia consideravelmente com a espécie. Ela contrai o jejuno de coelho (HORTON & JONES,1974) e o íleo longitudinal do cobaio (BENNETT et al.,1980). Por outro lado, relaxa fatias do miométrio humano (SANGER et al.,1982) e o oviduto de coelho, embora este último seja, algumas vezes, precedido por uma contração (HORTON & JONES,1974).

A presença de PGs (E_2 , D_2 e $F_{2\alpha}$) no tecido cerebral, foi primeiramente demonstrado por SAMUELSSON (1964) e a seguir confirmado por outros autores (RAMWELL & SHAW,1966; NICOSIA & GALLI,1975; WOLFE et

al.,1976a,b). A determinação de grandes quantidades de PGD_2 no cérebro de rato (ABDEL-HALIM et al.,1977) levou a suposição de que a mesma poderia atuar como um possível neuromodulador nessa espécie (SHIMIZU et al.,1979; ARISAWA et al.,1983; TASAKA et al.,1983; MITSUMA & NAGIMORI,1984). Em adição, SHIMIZU et al.(1979) mostraram uma alta atividade da enzima PGD sintetase no hipocampo e no tálamo. Tal atividade foi no mínimo 40 vezes maior nos neuroblastomas que nos gliomas, o que sugere um significativo papel da PGD_2 na função neural. Esses pesquisadores também demonstraram que a PGD_2 é um específico e potente ativador da adenilato ciclase em cultura de neuroblastomas. Assim, essas observações de um efeito da PGD_2 em cultura de tecido nervoso, juntamente com aquelas de que o homogenato de cérebro contém substancial quantidade de PGD_2 (ABDEL-HALIM et al.,1977) aumentam a possibilidade de que a mesma possa modular a função nervosa no CNS.

A ação da PGD_2 na neurotransmissão também tem sido estudada. HEMKER & AIKEN (1980) demonstraram em gatos anestesiados que a PGE_2 e PGI_2 , administradas via i.a., produziram um aumento na amplitude da contração da membrana nictante, produzida pela estimulação nervosa, enquanto, a PGD_2 produziu uma diminuição. Segundo esses autores, essa depressão na neurotransmissão simpática, provavelmente se deve a uma diminuição na liberação do neurotransmissor, o que sugere que a PGD_2 modula a neurotransmissão através de um efeito nos terminais nervosos simpáticos.

No CNS a PGD_2 também produz sono. A injeção intravenosa de PGD_2 no macaco, produziu um efeito sedativo, sem significantes eventos cardiovasculares (ELLIS et al., 1979; HAYAISHI et al.,1987). Por outro lado, várias evidências têm demonstrado que no cérebro, a PGD_2 possui efeitos que são opostos àqueles do seu isômero mais bem estudado, a PGE_2 .

Assim, enquanto a PGD_2 baixa a temperatura corporal, a PGE_2 a aumenta (UENO et al.,1982), por outro lado, PGE_2 estimula a secreção do LHRH

e a PGD_2 a suprime (KINOSHITA et al.,1982) Além disso, HAYAISHI & MATSUMURA (1995) tem sugerido que essas duas PGs podem estar entre as principais substancias endógenas reguladoras do sono numa variedade de espécies - no rato, cachorro, coelho, macaco e talvez até mesmo no homem - com a PGD_2 induzindo o sono e a PGE_2 a vigília. Essas observações podem ter mais que uma simples relevância acadêmica, uma vez que níveis de PGD_2 se encontram marcadamente elevados no fluido cérebro espinhal de pacientes com avançada doença do sono (PENTREATH et al.,1990).

A PGD_2 também atua inibindo a proliferação celular, o ácido desoxirribonucleico (deoxyribonucleic acid, DNA), o ácido ribonucleico (ribonucleic acid, RNA) e a síntese proteica em várias linhagens de células leucêmicas de ratos e de humanos (FUKUSHIMA et al.,1982; SIMMET & JAFFE,1983). Essa divergência de efeitos da PGD_2 pode ser explicada pela sua interação com diferentes receptores para as PGs ($PGF2\alpha$) e TXs (TXA_2) (JONES et al.,1982; NARUMIYA & TODA,1985; HAMID-BLOOMFIELD & WHITTLE,1986), além da interação com seus próprios receptores.

Os TXs têm sido identificados em uma variedade de tecidos, incluindo as plaquetas (HAMBERG & SAMUELSSON,1974b; HAMBERG et al.,1974b;1975b), pulmões (HAMBERG & SAMUELSSON,1974a; DAWSON et al.,1976); baço, polimorfonucleares (SAMUELSSON,1976; HIGGS et al.,1976), cérebro (WOLFE et al.,1976b) e granuloma inflamatório (CHANG et al.,1977). Eles apresentam um papel fisiológico na homeostase normal e são de considerável interesse fisiopatológico em doenças trombo-embólicas e reações anafiláticas.

TXs são obtidos rapidamente, a partir das endoperoxidases (PGG_2 e PGH_2), por uma enzima microsomal plaquetária (BUNTING et al.,1976; NEEDLEMAN et al.,1976) a tromboxano sintetase (MONCADA et al.,1976; NEEDLEMAN et al.,1976), que as transforma no composto altamente instável, o

TXA₂ (HAMBERG et al.,1974b), o qual é degradado a um composto estável, mas biologicamente inativo, o tromboxano B₂ (TXB₂).

O TXA₂ é um potente indutor da agregação plaquetária, da reação de liberação de plaquetas (HAMBERG et al.,1975b; SVENSSON & HAMBERG,1976; MONCADA & VANE,1977) e potente constritor da musculatura lisa, sendo originalmente descrito como substancia contraturante da aorta de coelho (PIPER & VANE,1969;1971). TXA₂ é geralmente, mais potente em contrair a musculatura lisa vascular e as vias aéreas *in vitro*, que as parentes endoperoxidases. Tais tecidos incluem a aorta de coelho (MONCADA et al.,1976; NEEDLEMAN et al.,1976), artéria umbilical humana (TUVEMO et al.,1976), traqueia de cobaio (HAMBERG et al.,1975a), artéria coronária bovina e de cobaio (SVENSSON & HAMBERG,1976; DUSTING, et al.,1977a,b), artérias cerebrais bovinas (ELLIS et al.,1977) e ducto arterioso de carneiro (COCEANI et al.,1978).

In vivo, TXA₂ é um potente constritor de redes vasculares em cães (DUSTING et al.,1978a) e gatos (SVENSSON & FREDHOLM,1977) e, além disso, aumenta a pressão de inflação traqueal em cobaios anestesiados (HAMBERG et al.,1975a).

A PGI₂, foi originalmente chamada PGX (BUNTING et al.,1976; GRYGLEWSKI et al.,1976; MONCADA et al.,1976) e posteriormente identificada quimicamente por JOHNSON et al.(1976). É sintetizada por tecidos vasculares de todas as espécies, até então estudadas, incluindo o coelho, o boi e o homem (BUNTING et al.,1976;1977; MONCADA et al.,1977), e é o principal produto metabólico do ácido aracdônico no tecido vascular isolado (JOHNSON et al.,1976; SALMON et al.,1978). Além do tecido vascular, ela também pode ser encontrada numa grande variedade de tecidos (veja : MONCADA & VANE,1979).

A PGI₂ é o mais potente inibidor endógeno da agregação plaquetária,

já descoberto. É 30 a 40 vezes mais potente que a PGE_1 (MONCADA & VANE,1977) e mais de 1000 vezes mais ativa que a adenosina (BORN,1962). *In vivo*, a PGI_2 aplicada localmente em baixas concentrações inibe a formação de trombos, devido a ADP, na microcirculação da bolsa facial do hamster (HIGGS et al.,1977), e administrada sistemicamente ao coelho, previne a formação de trombos induzidos elétricamente, na artéria carótida e aumenta o tempo de sangramento (UBATUBA et al.,1979). Em cães anestesiados, PGI_2 em doses variando entre 50 a 100 ng/kg/min., é hipotensiva (ARMSTRONG et al.,1977), e bradicardia tem sido observada seguindo a hipotensão (ARMSTRONG et al.,1977; DUSTING et al.,1978b). PGI_2 , é também um potente vasodilatador da circulação mesentérica e dos membros posteriores do cão (onde TXA_2 é um vasoconstrictor)(DUSTING et al.,1978a) e no lado pré-capilar da microcirculação da bolsa facial do hamster (HIGGS et al.,1979), onde ela também reverte a vasoconstricção induzida pela E. Na circulação pulmonar do cão, PGI_2 é o único produto do ácido aracdônico que produz potente vasodilatação (KADOWITZ et al.,1977; MULLANE et al.,1979). Ela também dilata a rede vascular pulmonar, onde sua potencia é maior que aquela da PGE_1 , mas menor que a da PGE_2 (LEFFLER & HESSLER,1979). A PGI_2 também induz vasodilatação e hipotensão no homem, quando administrada tanto por inalação como intravenosamente (GRYGLEWSKI et al.,1978; SZCZEKLIK et al.,1978; O'GRADY et al.,1980), o que é acompanhado por taquicardia.

PGI_2 *in vitro*, relaxa muitas fatias vasculares, incluindo artérias celiaca e mesentérica de coelho (BUNTING et al.,1976), artéria coronária bovina (DUSTING et al.,1977a; NEEDLEMAN et al.,1978), artérias cerebrais humanas (BOULLIN et al.,1979) e o ducto arterioso do carneiro (COCEANI et al.,1978). As exceções incluem algumas fatias de tecido venoso de rato e veia safena isolada do homem (LEVY,1978), as quais são fracamente contraídas pela PGI_2 .

Os LTs constituem um grupo de mediadores derivados do ácido

aracdônico pela ação de enzimas lipo-oxigenases (SAMUELSSON,1983). São formados pela transformação do ácido aracdônico em um intermediário instável, leucotrieno A₄ (LTA₄)(ROUZER et al.,1986), o qual pode ser convertido enzimaticamente por hidratação a leucotrieno B₄ (LTB₄) (BORGEAT & SAMUELSSON,1979; COREY et al.,1980), e por adição de glutation a leucotrieno C₄ (LTC₄) (MURPHY et al.,1979). Este último é então, metabolizado a leucotrieno D₄ (LTD₄) (MORRIS et al.,1980) e E₄ (LTE₄) (LEWIS et al.,1980), por sucessiva eliminação do resíduo γ-glutamil e glicina.

Os Lts possuem propriedades biológicas que indicam que os mesmos têm potencial para serem importantes mediadores de processos inflamatórios (FORD-HUTCHINSON,1985). Evidências para o envolvimento de LTs em condições patológicas, incluindo doenças tais como asma (BRAY et al.,1981; JONES et al.,1982; MAROM et al.,1982; WEISS et al.,1983; DRAZEN & AUSTEN,1987; OKUBO et al.,1987; LAM et al.,1988; FERRERI et al.,1988; WARDLAW et al.,1989), psoríase (FORD-HUTCHINSON & RACKHAM,1983; GREAVES,1983; BRAIN et al.,1984;1985; KRAGBALLE et al.,1985), colites ulcerativas (SHARON & STENSON,1984; PESKAR et al.,1986; LAURITSEN et al.,1986), artrite reumatóide (KLICKSTEIN et al.,1980; DAVIDSON et al.,1983) e gôta (RAE et al.,1982) vêm se acumulando.

LTB₄ se encontra envolvido na mediação da resposta inflamatória, através de 4 mecanismos ; (i) é um potente agente quimiotático para leucócitos polimorfonucleares (SMITH et al.,1980; BHATTACHERJEE et al.,1981; BRAY et al.,1981); (ii) é um mediador de mudanças na permeabilidade vascular (WEDMORE & WILLIAMS,1980; BRAY et al.,1981); (iii) é um mediador de mudanças no fluxo sanguíneo (BRAY et al.,1981), e (iv) é um modulador das respostas dolorosas (RACKHAM & FORD-HUTCHINSON,1983). Dessa forma, LTB₄ produz adesão e movimento quimiotático de leucócitos (DAHLÉN et al.,1980) e estimula agregação (FORD-HUTCHINSON et al.,1980;

MALMSTEN et al.,1980), liberação de enzimas, e geração de superóxido em neutrófilos humanos (PALMBLAD et al.,1981) e pode ter também atividade ionofórica (SERHAN et al.,1982).

LTB₄ é ainda, espasmogênico da musculatura lisa das vias aéreas, mas evoca a resposta indiretamente via a biossíntese dos produtos constrictores da ciclo-oxigenase (SIROIS et al.,1981). Também pode ter um papel no mecanismo da hiperresponsividade bronquial (FABBRI et al.,1984). Nas vias aéreas, LTB₄ e outros Lts, parecem estimular a secreção de muco (MAROM et al.,1982).

LTC₄ e LTD₄, e em menor extensão LTE₄, são potentes agentes espasmogênicos da musculatura lisa não-vascular (DRAZEN et al.,1980), e coletivamente contribuem para a atividade biológica conhecida como SRS-A (slow reacting substance of anaphylaxis) (SAMUELSSON,1983). Tais Lts são potentes broncoconstrictores em várias espécies, incluindo o homem, com efeitos específicos nas vias aéreas superiores (DAHLÉN et al.,1980; HEDQVIST et al.,1980; SMEDEGARD et al.,1982; WEISS et al.,1982), sendo assim, os principais mediadores da anafilaxia das vias aéreas. Quando liberados do tecido pulmonar de indivíduos asmáticos expostos ao alérgeno específico, têm um papel fisiopatológico nas reações de hipersensibilidade imediata. Esses LTs, bem como o LTB₄, apresentam efeito pró-inflamatório.

Em adição, eles apresentam outras propriedades que podem ser importantes em termos da mediação de processos inflamatórios, como aquela de produzir mudanças no fluxo sanguíneo (BISGAARD et al.,1982) e aumento da permeabilidade vascular (FORD-HUTCHINSON,1983).

Também podem ter efeitos sobre a função dos leucócitos, aumentando a aderência de neutrófilos e mediando a liberação de mediadores inflamatórios a partir de macrófagos (SCHENKELAARS & BONTA,1983). São capazes de evocar respostas mecânicas pulmonares broncoconstrictoras após a infusão intravenosa (LEITCH et al.,1983a) bem como pela simples inalação (LEITCH et

al.,1983b). São também potentes vasoconstrictores e apresentam efeito inotrópico negativo sobre as contrações.

O Fator de Ativação Plaquetária (PAF; 1-alkyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine), outro composto liberado pelos mastócitos ativados (TRIGGLIANI et al.,1992), é o mediador lipídico mais potente já descoberto. Foi sintetizado por GODFROID et al.(1980), e assim denominado por BENVENISTE et al.(1972), por ser uma substancia capaz de ativar as plaquetas.

Pela alta potencia e similaridade de ação com alguns processos inflamatórios e pela sua capacidade de imitar a maioria das ações inflamatórias, tem se despontado como um importante candidato a mediador dos processos imunes e inflamatórios (CAMUSSI et al.,1990; HOSFORD et al.,1990; SNYDER,1990; ARCHER,1993; MARTIN et al.,1994).

É produzido por células inflamatórias ativadas, como os monócitos/macrófagos, mastócitos, plaquetas, neutrófilos, eosinófilos e células endoteliais (veja as revisões : HOSFORD et al.,1990; CAMUSSI et al.,1990; BORISH & JOSEPH,1992).

Suas ações são exercidas através da atividade de receptores específicos, encontrados numa grande variedade de tecidos e, o processo de transdução do sinal induzido por ele parece ser modulado por proteínas G, o que ocorre tanto nas plaquetas humanas como nas de coelho (HWANG,1990).

PAF é conhecido como estimulando um largo espectro de respostas biológicas, variando desde a agregação e degranulação das plaquetas e neutrófilos, até uma variedade de efeitos celulares envolvendo a estimulação da quimiotaxia; formação de superóxido; fosforilação proteica; ativação da PKC, ácido aracdônico e metabólitos fosfoinositois; glicogenólise, e produção de Fator de Necrose Tumoral (Tumour Necrosis Factor; TNF) (SNYDER,1990).

Obviamente, com tal diversidade de atividades biológicas, não é

surpreendente que o PAF tenha sido considerado como sendo um componente chave em numerosas doenças relacionadas com as respostas inflamatórias e de hipersensibilidade.

Nos vasos, o PAF, através de ações diretas e indiretas, promove vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, provocando eritema e edema no local (HUMPHREY et al.,1982). Por causa de sua potente ação hipotensora, tem sido considerado como um importante fator na regulação da pressão sanguínea (SNYDER,1990).

No sistema respiratório, é produzido pelas células respiratórias, especialmente pelos macrófagos alveolares (MARTIN et al.,1994). Seus efeitos se devem principalmente, à ativação plaquetária e incluem broncoespasmo e, mais caracteristicamente, uma hiper atividade dos músculos lisos bronquiolares a outros agentes (como a histamina), que permanece durante dias após a exposição do organismo ao PAF. Dessa forma, no sistema respiratório, os efeitos do PAF assumem uma importancia fisiopatológica especial. Sua capacidade para induzir broncoespasmo com obstrução respiratória, inflamação e hiperatividade do trato respiratório, o tornam ,o candidato mais ideal a mediador dos fenômenos alérgicos da asma (PAGE,1988; HOSFORD et al.,1990; MASSION & FRANS,1992; LEFORT et al.,1992; MARTIN et al.,1994).

O PAF também apresenta importantes efeitos nos rins. A sua produção no glomérulo pela infiltração de células inflamatórias ou residentes, pode influenciar a expressão clinicopatológica das doenças glomerulares (CAMUSSI et al.,1990; EGIDO et al.,1990), enquanto no trato gastrointestinal apresenta potentes ações, atuando como mediador da enterocolite necrozante (CAPLAN & MACKENDRICK,1994; TRAVIS & JEWELL,1994).

PAF também possui muitas atividades biológicas que são relevantes para as patogenias das doenças da velhice. Dados recentes demonstram a sua participação em doenças cardiovasculares, tromboembolismo, esquemia cerebral

e doenças neurovegetativas (KROEGEL et al.,1992).

Além de todos os efeitos acima relatados, nos últimos anos, têm se intensificado as evidências das ações do PAF no sistema nervoso. Foi demonstrado que o mesmo é produzido por células granulares cerebelares em cultura e, extraído do tecido cerebral. Além disso, múltiplos receptores para o mesmo têm sido demonstrados no tecido nervoso (FEUERSTEIN et al.,1990), com ênfase no hipotálamo, córtex cerebral e bulbo olfatório de ratos (BITO et al.,1993), sendo ainda demonstrado no cérebro de rato, a existência de ácido ribonucleico mensageiro (messenger RNA, mRNA) funcional para seus receptores (BITO et al.,1992).

PAF tem uma potente ação nos vasos cerebrais e no metabolismo quando administrado *in vivo*, e parece ter um importante papel na modulação da função cerebral e em processos fisiopatológicos na esquizofrenia cerebral e trauma (FEUERSTEIN et al.,1990), uma vez que é acumulado no cérebro durante convulsões ou esquizofrenias (CLARCK et al.,1992).

Também é gerado durante intensa atividade sináptica (CLARCK et al.,1992), e BAZAN et al.(1993) encontraram sítios de ligações específicos para o PAF nas membranas sinápticas e intracelulares. Utilizando pares de sinapses hipocámpais, em ratos pós-natais, esses autores mostraram que o PAF aumenta especificamente a liberação do neurotransmissor excitatório. Esse efeito na transmissão sináptica excitatória pode ser uma etapa crítica na LTP, na plasticidade sináptica, formação de memória e na gênese da epilepsia (BAZAN et al.,1993; WIERASZKO et al.,1993).

Em adição, KATO et al.(1994) demonstraram evidências de que o PAF, atuando em receptores localizados em regiões sinápticas, participa da LTP na região CA1 de fatias hipocámpais de rato, podendo servir como parte de uma cascata retrógrada sinalizante. Por outro lado, IZQUIERDO et al.(1995) utilizando a infusão de um análogo do PAF (mcPAF) no hipocampo dorsal, na

amígdala e no córtex entorrinal do rato, encontraram evidências que dão suporte a hipótese de que a memória envolve eventos, tais como a LTP, que são regulados pelo PAF.

Outro grupo importante de substâncias liberadas pelos mastócitos, é o das cininas. O conceito de que as cininas têm papel na patogênese da alergia não é novo. BERALDO (1950), um ano após a descoberta da BK por ROCHA e SILVA et al. (1949), sugeriu que a mesma podia ser gerada durante as reações anafiláticas. Uma década após, foi novamente sugerido que as cininas podiam ser importantes mediadores das doenças inflamatórias (ELLIOT et al., 1960). Entretanto, apesar desse interesse precoce na hipótese de que as cininas pudessem ser mediadores das reações alérgicas humanas, os 20 anos seguintes mostraram poucas evidências consistentes, que pudessem suportar o papel desses peptídeos nos eventos dependentes da ativação de mastócitos.

Vários estudos tentaram demonstrar um aumento na geração das cininas durante a anafilaxia (BROCKLEHURST & LAHIRI, 1962), asma (ABE et al., 1967) e rinites alérgicas (DOLOVICH et al., 1970), mas essas observações não foram perseguidas. Entretanto, na última década, tem sido dado um interesse renovado sobre o papel das cininas nas doenças alérgicas (PROUD & KAPLAN, 1988). A geração de cininas tem sido agora demonstrada em reações alérgicas em vários tecidos humanos, e se tem ganho compreensão adicional na relação existente entre a ativação dos mastócitos e a geração de cininas. Avanços também têm sido feitos quanto a delimitação da contribuição potencial das cininas na fisiopatologia dos eventos alérgicos.

Vários trabalhos têm demonstrado que a geração das cininas em eventos alérgicos, ocorre subsequentemente à ativação dos mastócitos e basófilos (NACLERIO et al., 1986; PIPKORN et al., 1987a). Nesse ponto, é mais provável que a ligação entre a ativação dos mastócitos e a geração das cininas relacione-se com a liberação de mediadores vasoativos, tais como a histamina. Esses

mediadores aumentam a permeabilidade vascular e permitem o influxo dos cininogênios e a ativação da calicreína plasmática.

Assim, anti-histamínicos que antagonizam as ações da histamina nos receptores vasculares H_1 e inibem a liberação da histamina *in vivo*, são efetivos em reduzir a geração de cininas durante as respostas alérgicas imediatas (TOGIAS et al.,1986; NACLERIO et al.,1990).

A melhor evidência suportando a possível geração de cininas durante os eventos alérgicos foi obtida indiretamente por SMITH et al.(1980). Já a primeira evidência direta, foi obtida por PROUD et al.(1983), utilizando um modelo de provocação nasal com alérgeno, no qual os mediadores inflamatórios podiam ser medidos em secreções recuperadas pela lavagem. Nesse caso, a presença de cininas foi altamente relacionada com os níveis de histamina.

Em adição, também tem sido demonstrado que a geração de cininas correlaciona-se com a produção de PGD_2 e de LTC_4 , LTD_4 e LTE_4 (PIPKORN et al.,1987b).

Seguindo a demonstração da formação de cininas durante a resposta alérgica imediata nas vias aéreas superiores, observações análogas têm sido feitas em outros órgãos alvo da resposta alérgica (CHRISTIANSEN et al.,1987; PROUD et al.,1990).

Está claro que a resposta imediata ao agente alérgeno não reflete adequadamente a doença alérgica crônica. Assim, foi de interesse determinar se a geração de cininas também ocorria durante as reações alérgicas tardias. Estudos nas vias aéreas superiores demonstraram claramente que as cininas são produzidas durante a resposta tardia, embora em níveis mais baixos que aqueles observados durante a resposta imediata ao antígeno, e que a PGD_2 não é produzida durante a fase tardia (NACLERIO et al.,1985). Ao contrário das vias aéreas superiores, os níveis de cininas em lavagens broncoalveolares obtidas 19 horas após a aplicação do alérgeno em indivíduos alérgicos, foi

consideravelmente maior que aqueles coletados após 5 minutos da aplicação do alérgeno (LIU et al.,1990). Na pele, é também provável que a geração de cininas possa ocorrer durante a fase tardia (ATKINS et al.,1987).

As cininas, além da habilidade para contrair vários tipos de músculo liso e atuarem como vasodilatadores periféricos, elas também são cerca de aproximadamente 100 vezes mais potentes que a histamina em induzir permeabilidade vascular. Como consequência direta de tal fato, elas são extremamente efetivas em induzir a formação de edemas (GARCIA-LEME,1978). As cininas também são capazes de estimularem o transporte iônico epitelial (MUSCH et al.,1983; LEIKAUF et al.,1985; WIDDICOMBE et al.,1985) e podem estimular as fibras sensoriais do tipo A_δ e C produzindo dor e hiperalgesia (KAUFMAN et al.,1980; TAIWO & LEVINE,1988; HALEY et al.,1989). Além do mais, elas são claramente capazes de induzir a liberação de lipídeos biologicamente ativos, incluindo o PAF e PGs, a partir de uma variedade de tipos celulares (HONG & LEVINE,1976; McINTYRE et al.,1985; CHURCHILL et al.,1989).

A formação de cininas também tem sido documentada em condição na qual a ativação dos mastócitos ocorre, aparentemente, por mecanismos independentes da ação de antígenos (TOGIAS et al.,1985). Também nesse caso, o aumento de cininas correlacionou-se com o aumento de histamina, o que reflete a ativação dos mastócitos. Essas observações, claramente demonstraram que a geração de cininas está associada com vários tipos de reações inflamatórias dependentes da ativação dos mastócitos.

Aqui consideremos, brevemente, a representante mais importante das cininas, a BK. Esta tem uma vasta gama de atuação no organismo. Apesar de atuar de maneira variada em músculo liso (contraíndo alguns, como o músculo intestinal, uterino e bronquiolar e relaxando outros), nos músculos lisos dos vasos circulatórios sua ação é mais homogênea : produz vasodilatação nas arteríolas e

aumento da permeabilidade vascular nas vênulas (TODA,1977). O efeito vasodilatador é frequentemente endotélio-dependente e é potencializado pelas PGE₂, PGI₂ e PGD₂. A BK é algogênica, um efeito potencializado pelas PGs.

Vários investigadores têm demonstrado que a BK na forma de aerosol, aplicada sobre as vias respiratórias baixas de humanos, é um potente broncoconstrictor em indivíduos asmáticos, mas não em indivíduos normais (HERXHEIMER & STRESEMANN,1961; VARONIER & PANZANI,1968; SIMONSSON et al.,1973; FULLER et al.,1987a).

BK pode causar constrição do músculo liso bronquial *in vivo*, em várias espécies animais, mas ela tem sido reportada como sendo um fraco constrictor de amostras de tecido das vias áreas humanas (BHOOLA et al.,1962; SIMONSSON et al.,1973; NEWBALL et al.,1976), embora SIMMONSSON et al.(1973) tenham reportado que tecidos de indivíduos com obstrução respiratória crônica, tendem a ser mais sensíveis que os normais. Também existem evidências de que as cininas podem aumentar o volume da secreção das vias aéreas durante as reações asmáticas (BAKER et al.,1977; LEIKAUF et al.,1985; WIDDICOMBE et al.,1985).

DAVIS et al.(1982) demonstraram que a BK é capaz de aumentar a secreção das glândulas traqueais caninas através de um mecanismo reflexo após a estimulação de fibras bronquiais do tipo C. Nas vias aéreas superiores, tem sido demonstrado que a BK na mucosa nasal humana, resulta na indução dose-dependente dos sintomas da rinite, tais como, obstrução nasal, rinórrea e dor de garganta (PROUD et al.,1988; HOLMBERG et al.,1990). Entretanto, a BK não induz espirros, sugerindo que, ao contrário das vias aéreas inferiores, esse peptídeo não estimula as fibras sensoriais aferentes.

Embora tenha sido reportado que a BK possa liberar histamina a partir dos mastócitos de roedores (JOHNSON & ERDOS,1973; ISHIZAKA et al.,1985), a habilidade da mesma para induzir os sintomas da rinite não parece se

dever a ativação de mastócitos, uma vez que, os níveis de histamina nas secreções nasais não aumentaram após a aplicação desse peptídeo (PROUD et al.,1988). Isso é consistente com a observação de que a BK não é secretagoga para os mastócitos e basófilos humanos *in vitro* (LAWRENCE et al.,1989). Na pele, os efeitos da BK, novamente, parecem ser dirigidos principalmente, para os tecidos vasculares e não resultantes da liberação de histamina pelos mastócitos (LAWRENCE et al.,1989). Isso sugere que a resposta intradermal da BK (eritema localizado) é largamente resultante de um aumento local da permeabilidade vascular.

A falta de um efeito pronunciado direto da BK na musculatura lisa, juntamente com a habilidade da mesma para induzir tosse em todos os indivíduos, tem levado a sugestão de que esse peptídeo exerce seus efeitos, em parte, pela estimulação das fibras aferentes do tipo C (FULLER et al.,1987a). A habilidade da BK para estimular tais fibras tem sido demonstrada em cachorros (KAUFMAN et al.,1980).

Apesar de seus efeitos imitarem muitos dos fenômenos inflamatórios, o papel da BK como mediador inflamatório não está bem elucidado. Uma das dificuldades nessa elucidação tem sido a falta de antagonistas específicos (FULLER & BARNES,1988).

Até recentemente, os mecanismos utilizados para explicar a participação dos mastócitos nos processos fisiológicos e patológicos, eram limitados a grupos de moléculas chamadas mediadores pré-formados (histamina, proteoglicanos, enzimas proteolíticas) e recém-sintetizados (LTs, PGs, PAF). É agora considerado, que uma classe adicional de mediadores conhecidos como citocinas, são sintetizados e liberados pelos mastócitos, e as mesmas podem também assumir um importante papel na fisiologia de doenças alérgicas e imunológicas. Assim, a descoberta de que os mastócitos respondem a estimulação imunológica pela indução de um largo painel de genes de citocinas e

secreção de moléculas de citocinas bioativas, sugere que *in vivo*, os mastócitos podem servir como uma fonte de larga variedade de citocinas multifuncionais.

As citocinas são proteínas ou moléculas glicoproteicas, sintetizadas e secretadas por uma grande variedade celular, incluindo os mastócitos (COSTA et al.,1993). As interleucinas (IL), interferons e fatores estimulantes colônicos, foram as primeiras categorias de citocinas descobertas, e têm sido extensivamente estudadas. De uma maneira geral, a indução dos genes das citocinas ocorre em resposta a lesão ou ativação celular, embora também existam exemplos da produção constitutiva de citocinas.

Essas proteínas, exercem seus efeitos biológicos pela interação com moléculas receptoras específicas localizadas na superfície das células alvo. Como um grupo, elas possuem um largo espectro de atividades biológicas e têm sido encontradas tomando parte no crescimento celular, reparo celular, inflamação e em respostas imunes (COSTA et al.,1993).

A descoberta que os mastócitos produzem citocinas (PLAUT et al.,1989; WODNAR-FILIPOWICZ et al.,1989; BURD et al.,1989; GORDON & GALLI,1990; GORDON et al.,1990; OHNO et al.,1990a; GALLI et al.,1991; GALLI,1993; HARVIMA et al.,1994; WALSH,1995), tem expandido o papel dessas células além de uma simples célula efetora, para incluir possíveis funções como um elemento regulatório e modulatório tanto das respostas inflamatórias como das respostas imunes. Contudo, deve ser enfatizado que até o presente, virtualmente todos os estudos descrevendo a produção de citocinas por mastócitos tem utilizado linhagem de mastócitos do tipo murine ou de roedores, ou ainda culturas primárias de mastócitos (FARRAM & NELSON,1980; CHUNG et al.,1986; BROWN et al.,1987; STEFFEN et al.,1989; MARSHALL et al.,1989; OHNO et al.,1990a,b; GORDON & GALLI,1990; GURISH et al.,1991). Entretanto, a extensão na qual os mastócitos humanos são também capazes da síntese e secreção de citocinas, ainda não foi totalmente determinada.

As citocinas influenciam a própria biologia dos mastócitos, interferindo no estágio de maturação, diferenciação, proliferação e outras características dessas células (KITAMURA,1989; SCHWARTZ,1989; STEVENS & AUSTEN,1989; GALLI,1990). Tem sido descrito na literatura, que várias citocinas, tais como IL-3 (SCHRADER et al.,1981; NAGAO et al.,1981; TERTIAN et al.,1981; RAZIN et al.,1981;1984; PLUZNIK et al.,1982; IHLE et al.,1983; KIRSHENBAUM et al.,1989; BROIDE et al.,1989;BRESSLER et al.,1989;1990; BOSWELL et al.,1990), IL-4 (MOSMANN et al.,1986; SMITH & RENNICK,1986; ZSEBO et al.,1990), IL-9 (HULTNER et al.,1989;1990; RENAULD et al.,1990) e IL-10 (THOMPSON-SNIPES et al.,1990) tanto estimulam como inibem o crescimento ou a diferenciação dos mastócitos.

Dentre as citocinas, vale ressaltar o TNF α (BEUTLER et al.,1986), que é um polipeptídeo produzido em larga escala por monócitos e macrófagos (OLD,1985), bem como por mastócitos (OHNO et al.,1990a,b; GORDON & GALLI,1990; COSTA et al.,1993; HARVIMA et al.,1994; WALSH,1995) em resposta a endotoxina (BEUTLER et al.,1985b; MAHONEY Jr. et al.,1985) ou a outro estímulo que leva a invasão do hospedeiro (HOTEZ et al.,1984), que tem sido implicado como mediador da resposta do hospedeiro a sepsia (EASMON,1990; DOFFERHOFF et al.,1991) e a neoplasia, nesse caso atuando como um agente anti-cancerígeno (GOH,1990; BALKWILL et al.,1990; BALKWILL,1992; MALIK,1992).

Tal citocina promove infiltração leucocítica através de um efeito sobre as células vasculares endoteliais e sobre os leucócitos, podendo promover inflamação, formação de granuloma, angiogênese e fibrose tissular através de uma variedade de mecanismos (GORDON & GALLI,1990). Entre outros efeitos sobre as células endoteliais, também tem sido observado que o TNF altera os padrões de expressão gênica (COLLINS et al.,1986; POBER et al.,1986), a produção de IL-1 LIBBY et al.,1986; NAWROTH et al.,1986) e o rearranjo

celular (SATO et al.,1986) *in vitro*. A soma desses efeitos pode explicar muitas das ações do hormônio *in vivo*.

A história do TNF iniciou-se no fim do século passado quando COLEY (1893) observou que pacientes que apresentavam simultaneamente, cancer e infecção por estreptococos, apresentavam uma regressão parcial nos tumores malignos. Cêrca de meio século após, foi demonstrado que o polissacarídeo bacterial (LPS) induzia a produção de um fator sérico no camundongo, que era capaz de provocar a necrose de tumores (O'MALLEY et al.,1962). Esse fator foi identificado mais precisamente em 1975 (CARSWELL et al.,1975), e foi sequenciado e clonado por PENNICA et al.(1984). Desde então, extensivos estudos têm sido desenvolvidos no sentido de esclarecer o papel preciso dessa citocina.

Quando administrado intravenosamente, TNF liga-se a receptores específicos de alta afinidade em adipósitos e mieloblastos, bem como em uma larga variedade de tecidos (BEUTLER et al,1985a,b; IMAMURA et al.,1987). Após se ligar, ele atua suprimindo a expressão de várias espécies de mRNA específicos (TORTI et al.,1985), afetando assim, mudanças difundidas no metabolismo celular. No tecido adiposo, TNF α , causa completa supressão da enzima lipoproteína lipase, dessa forma prevenindo a captação exógena de triglicerídeos pelas células gordurosas e causando a lipemia paradoxal, frequentemente associada com infecção (ROUZER & CERAMI,1980) ou com doenças neoplásicas BARCLAY & SKIPSKI,1975; BRENNEMAN et al.,1975; KANNAN & BAKER,1977).

TNF- α parece exercer três funções distintas. Primeiro, é central para a indução da resposta inflamatória, produzindo atividade metabólica e aumentando a atividade fagocítica (SHALABY et al.,1985; KLEBANOFF et al.,1986); aumenta a destruição de bactérias e parasitas (DJEU et al.,1986); aumenta a expressão das células vasculares a Classe I de histocompatibilidade complexo-

antígenos e a expressão de adesão de moléculas a superfície celular (GAMBLE et al.,1985); aumenta a produção de pro-coagulantes e baixa a regulação de produção de trombomodulina (um ativador da proteína C), dessa forma convertendo o endotélio vascular a uma superfície “pro-coagulante” (STERN & NAWROTH,1986; BEVILACQUA et al.,1986). Ambos esses efeitos favorecem então, a secreção de trombina que irá levar a coagulação intravascular disseminada ao nível sistêmico e a oclusão dos vasos tumorais. TNF também induz febre, inicialmente por aumentar a síntese de PGE₂ no hipotálamo e subsequentemente por induzir IL-1, uma citocina que tem múltiplos efeitos na resposta inflamatória (DINARELLO et al.,1986).

Enquanto que o recrutamento dos processos inflamatórios pode ser de valor para o organismo, a súbita produção de altos níveis de TNF ou a síntese de citocinas por um período de tempo prolongado, pode levar a produção de efeitos adversos. Está claro, que a excessiva produção de TNF tem um papel central na síndrome do choque séptico por bactérias gram negativas (TRACEY et al.,1987; WAAGE et al.,1987) e na caquexia associada com infecções crônicas (KAWAKAMI & CERAMI,1981; CERAMI et al.,1985; OLIFF et al.,1987; ESPAT et al.,1994), e doenças malignas (BALKWILL et al.,1987; KELLER,1993).

TNF é muito provavelmente o mediador dos efeitos da lipossacarídeo, a qual atua iniciando o grande número de eventos que levam ao choque e a lesão dos tecidos. Lts (HAGMANN & KEPPLER,1982) e o PAF (McMANUS et al.,1980; TERASHITA et al.,1985; DOEBBER et al.,1985) têm sido repetidamente implicados na patogênese do choque endotóxico, e é muito provável que TNF origine a produção dessas substancias (HUBER et al.,1988). A infiltração de leucócitos polimorfonucleares em numerosos órgãos, particularmente os pulmões, após a administração de TNF pode resultar em parte da elaboração desses mediadores secundários.

Em segundo lugar, TNF- α é um modulador imunológico, tendo uma ação direta sobre o crescimento e a diferenciação das células T e B (JELINEK & LIPSKY,1987; ZUCALLI et al.,1987); tem também um efeito indireto sobre o sistema imune, mediado pela liberação de outras citocinas, incluindo a IL-1 α e β e o fator de diferenciação das células B (IL-6 ou β 2 interferon) (ONOZAKI et al.,1988). No global essas atividades provavelmente têm um importante papel na determinação e na modificação da natureza da resposta aos antígenos encontrados pelo sistema imunológico, e animais deficientes da produção de TNF podem ser particularmente pré-dispostos a doenças autoimunes como as glomerulonefrites (JACOB & McDEVITT,1988).

E terceiro, pode tanto aumentar como diminuir a sobrevivência de células tumorais, através de efeitos diretos (AGGARWALL et al.,1985; KULL et al.,1985), como através de efeitos indiretos (PALLADINO et al.,1987; CORDINGLEY et al.,1988).

Investigações do possível papel do TNF α em patologias associadas com mastócitos, podem ser de particular interesse. No camundongo, populações de mastócitos normais maduros, constitutivamente contêm altos níveis de bioatividade de TNF α , e uma proporção significativa de infiltração de leucócitos que ocorre após a estimulação de mastócitos cutâneos por IgE e antígeno, é dependente de TNF α (GALLI et al.,1991).

Além disso, a estimulação de mastócitos peritoneais de camundongos dependente de IgE ou de células formadas *in vitro* resultaram numa rápida liberação de TNF α pré-formado, bem como na liberação sustentada (por no mínimo 2 horas) de substancial quantidade de TNF α recém-sintetizado (GORDON & GALLI,1991). Ou seja, ao contrário dos mediadores pré-formados, tais como a histamina, ou dos mediadores recém-sintetizados, como a PGD₂ ou os Lts sulfidopeptídeos, o TNF α liberado pelos mastócitos de camundongos originam-se de ambos os pools : pré-formado e recém-sintetizado

(GORDON & GALLI,1990;1991). Assim, a prolongada cinética de liberação do TNF α pelos mastócitos, sugere que tal citocina pode influenciar a imigração ou as características funcionais dos leucócitos e que tenha outros efeitos por longos períodos durante as respostas dependentes de IgE ou talvez de outras respostas biológicas.

Esses achados indicam que TNF α representa um novo tipo de mediador dos mastócitos e identificam os mastócitos de camundongos como o primeiro exemplo de um tipo celular que contém estoques de TNF α pré-formado e disponível para a liberação imediata. Tais achados sugerem ainda, que a liberação de TNF α por mastócitos pode contribuir para a defesa do hospedeiro, para a fisiopatologia das doenças alérgicas e outros processos dependentes de TNF α (GORDON & GALLI,1990).

Dessa forma, TNF α pode promover a infiltração local de células inflamatórias (OLD,1985; GAMBLE et al.,1985; TRACEY et al.,1988; BEUTLER & CERAMI,1988; RAMPART et al.,1989) de modo que a liberação do mesmo por mastócitos ativados pela IgE, pode contribuir para a infiltração de leucócitos que é observada na resposta imune a parasitas (ASKENASE,1980) ou nas reações tardias, como aquelas envolvidas na asma (KIPS et al.,1993) e outras doenças alérgicas (LICHTENSTEIN,1988).

A produção de TNF α por mastócitos, também pode ser importante em outras respostas biológicas, nas quais tanto o TNF α (OLD,1985; LEIBOVICH et al.,1987; BEUTLER & CERAMI,1988), como os mastócitos (SEYLE,1965; STARKEY et al.,1988; GALLI,1990) estejam envolvidos, incluindo a resposta do hospedeiro a tumores, regulação da cicatrização do ferimento e angiogênese, e modulação da hematopoiese e imunidade. Numerosas doenças inflamatórias de diversas origens podem depender da produção de TNF com todas as suas contínuas consequências. Por exemplo, a excessiva produção de colagenase e PGE₂ pode levar a perda óssea e de cartilagem na artrite reumatóide, processo

esse que pode depender em parte da produção de $TNF\alpha$ a nível local. Da mesma forma, doenças inflamatórias do sistema nervoso (MORGANTI-KOSSMANN et al.,1992), trato gastrointestinal (HOANG et al.,1994), pulmões (KIPS et al.,1993; REMIK,1993; CARRE & LEOPHONTE,1993), rins (WALDHERR et al.,1993), pele (HARVIMA et al.,1994), articulações, músculos e outros tecidos, podem também depender da liberação de $TNF\alpha$ (DAS,1991a,b. WAKEFIELD & LLOYD,1992). Além disso, TNF tem demonstrado importante papel na fisiopatologia da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (Acquired Immunodeficiency Syndrome, AIDS) (ODEH,1990).

Endotelina (ET), um polipeptídeo com importantes propriedades farmacológicas, inicialmente identificado nas células endoteliais vasculares por YANAGISAWA et al.(1988a), constitui o mais potente vasoconstrictor identificado até o presente.

Sua molécula, composta de 21 aminoácidos, se caracteriza pela presença de dois anéis dissulfetos internos, sendo sua configuração atípica entre os peptídeos conhecidos em mamíferos. Entretanto, é frequentemente encontrado num certo grupo de peptídeos tóxicos (toxinas) que atuam nos canais da membrana, encontrados em venenos de cobras, abelhas, escorpiões e peixes (FONTECILLA-CAMPS et al.,1980; JOVER et al.,1980; KOPEYAN et al.,1985; KLOOG et al.,1988; YANAGISAWA et al.,1988a; TAKASAKI et al.,1988; WOLLBERG et al.,1988). A forma biologicamente ativa, resulta de uma pré-proteína precursora (preproET) muito maior (203 aminoácidos), a qual requer processamento bioquímico especial para que seja transformada na forma ativa de 21 aminoácidos (YANAGISAWA et al.,1988a).

Desde a sua descrição original, tem se tornado claro que pelo menos 4 peptídeos estão codificados por genes distintos, no homem, rato e porco (INOUE et al.,1989). Tais isoformes apresentam o mesmo número de aminoácidos e conservam as pontes dissulfetos. Foram chamados endotelina-1 (ET-1),

endotelina-2 (ET-2), endotelina-3 (ET-3) e constritor intestinal vasoativo (vasoactive intestinal constrictor, VIC) (ITOHO et al.,1988; INOUE et al.,1989; YANAGISAWA et al.,1989; FU et al.,1989; ISHIDA et al.,1989; SAIDA et al.,1989).

ET-1, originalmente isolada do sobrenadante da cultura de células endoteliais, tem sido encontrada em vários tecidos (MASAKI et al.,1992). KITAMURA et al.(1990) demonstraram que a concentração de ET é particularmente alta nos pulmões e nos rins, seguida pelo coração, hipotálamo e baço, que apresentam a segunda maior concentração. Em adição, a síntese de ET tem sido demonstrada em culturas de músculo liso, neurônio, fígado e fibroblastos (GIAID et al.,1989; KITAMURA et al.,1990). Dados mais recentes, demonstram a síntese e a secreção de ET-1 pelos mastócitos derivados da medula óssea (Bone Marrow Mast Cells, BMMC) de camundongos, bem como a presença de receptores do tipo ET_A nessas células (EHRENREICH et al.,1992).

A presença de mRNA de ET tem sido detectada em diversos tipos celulares, em diversas espécies (YANAGISAWA et al.,1988a; UCHIDA et al.,1988; DeNUCCI et al.,1988; WHITTLE & ESPLUGUES,1988; LAGENTE et al.,1989; INOUE et al.,1989; TAKAHASHI et al.,1990; YOSHIZAWA et al.,1990; PARKER-BOTELHO et al.,1991; INAGAKI et al.1991). Sítios de ligação para ET têm sido demonstrados em numerosos tipos celulares, como as células musculares lisas vasculares, células cardíacas, nervosas, da córtex renal, mesangiais, epiteliais, do baço, da medula adrenal, intestinais, etc. (HIRATA et al.,1988a,b; KOHZUKI et al.,1989; GU et al.,1989; MARSDEN et al.,1989; KOSEKI et al.,1989; POWER et al.,1989; KANSE et al.,1989; ORITA et al.,1989; NAYLER,1990). Além disso, estudos autoradiográficos têm sugerido a localização de sítios de ligação para ET-1 tanto no neuroeixo central como no periférico, ou seja, na córtex, cerebelo, gânglios basais, espinha dorsal e troncos nervosos periféricos (POWER et al.,1989; HOYER et al.,1989; AMBAR et

al.,1989; KOSEKI et al.,1989), o que sugere um possível papel da mesma como um neurotransmissor.

Estudos mais recentes têm demonstrado diversos tipos de receptores para a ET (ARAI et al.,1990; SAKURAI et al.,1990; NAKAMUTA et al.,1991; LIN et al.,1991). Um tipo tem alta afinidade para ET-1 e ET-2, mas baixa afinidade para ET-3 (ARAI et al.,1990). Outro tipo tem uma afinidade igual para ET-1, ET-2 e ET-3 (SAKURAI et al.,1990). Esses receptores foram chamados ET_A, o primeiro tipo e ET_B, o segundo. Em adição a esses dois tipos, um terceiro tipo de receptor específico para ET-3, foi demonstrado e chamado de ET_C (EMORI et al.,1990). ET_A se encontra nas células musculares lisas e é responsável pela constrição. ET_B pode estar nas células endoteliais e pode ser responsável pela produção do fator derivado do endotélio (EDRF), e ET_C pode existir em neurônios.

A infusão intravenosa de pequenas quantidades de ET induz uma hipotensão transiente que é seguida por uma sustentada resposta hipertensiva, tanto em ratos anestesiados, quimicamente desnervados e conscientes (YANAGISAWA et al.,1988a; YOSHIZUMI et al.,1988; WRIGHT & FOZARD,1988; MIYAUCHI et al.,1989; ROHMEISS et al.,1990; NAMIKI et al.,1992). Essa queda na pressão sanguínea, é dose-dependente do efeito vasodilatador periférico, uma vez que o índice cardíaco não diminui durante esse período (WRIGHT & FOZARD,1988; KING et al.,1989). Tal resposta vasodepressora ocorre com todos os isoformas da ET, sendo proeminente com a ET-3 (INOUE et al.,1989; WARNER et al.,1989; NAMIKI et al.,1992).

Esse efeito vasodepressor, pode ser explicado pelo fato da ET estimular a liberação de EDRF e de PGI₂, dois conhecidos hipotensores, pelo mesentério e pulmões isolados de ratos, respectivamente (DeNUCCI et al.,1988; WARNER et al.,1989; NAMIKI et al.,1992); de funcionar como um secretagogo do peptídeo vasorelaxante natriurético atrial (FUKADA et al.,1988; HU et

al.,1988), além de inibir a liberação da NE periférica, o que potencia a resposta hipotensora (WIKLUND et al.,1988). Essas duas últimas observações, juntamente com a ação da ET no tecido renal (SIMONSON,1993) sugerem um papel potencial da mesma na manutenção do volume líquido homeostático (WIKLUND et al.,1988; FUKADA et al.,1988; MILLER et al.,1989).

Seguindo essa resposta vasodepressora, *in vivo*, ET induz uma potente e prolongada resposta vasoconstrictora, a qual é causada primariamente, pela sua ação direta sobre os vasos. Esse efeito pressor da ET ocorre tanto em cães como em ratos, a despeito da queda no índice cardíaco, o que aumenta marcadamente a resistência periférica total, e conseqüentemente a pressão arterial (GOETZ et al.,1988; HU et al.,1988; HINOJOSA-LABORDE et al.,1989; KING et al.,1989). Com relação a esse efeito pressor, a rede vascular exhibe heterogeneidade na sua resposta, de acordo com o tipo de vaso e a espécie (YANAGISAWA et al.,1988a,b; MARSDEN et al.,1989). As veias são mais sensíveis que as artérias (De NUCCI et al.,1988), mas nos microvasos, as arteríolas são mais sensíveis que as vênulas (BRAIN,1989). Os vasos linfáticos também são sensíveis a ET (YANAGISAWA et al.,1988b). Todos os isoformes são proeminentes vasoconstrictores, sendo a ET-1 mais potente e a ET-3 menos potente (YANAGISAWA et al.,1988b; INOUE et al.,1989).

Vários mecanismos têm sido reportados como sendo responsáveis pelas ações biológicas da ET, incluindo a estimulação da fosfolipase C (RESINK et al.,1989; TAKUWA et al.,1989; KASUYA et al.,1989; MARSDEN et al.,1989), ativação da PKC, via estimulação do turnover do fosfitidil-inositol (TAKUWA et al.,1989; MULDOOM et al.,1989; VAN RENTERGHEM et al.,1989) ou inibição dos inibidores da PKC, estimulação do metabolismo do ácido aracdônico (RAKUGI et al.,1989; TAKAYASU et al.,1989) e interação com canais de cálcio. Neste último caso, atuando provavelmente como moduladora de canais de cálcio dependentes de voltagem (YANAGISAWA et

al.,1988a; HIRATA et al.,1988a) ou com canais de cálcio sensíveis a dihidropiridina (VAN RENTERGHEM et al.,1989; GOTO et al.,1989). Ainda nesse contexto, TAKAYASU et al.(1989) demonstraram que ET em baixas concentrações aumenta o cálcio intracelular, e que o PAF e o TXA₂ podem estar envolvidos no mecanismo de mobilização de cálcio induzido pela ET, em células de músculo liso vascular de ratos e coelhos. Também tem sido demonstrado que ET produz a ativação da fosfolipase A₂ (RESINK et al.,1989).

Tais mecanismos têm sido reforçados por observações de que as ações da ET são bloqueadas por antagonistas dos canais de cálcio (YANAGISAWA et al.,1988a; MARSDEN et al.,1989), pela elevação dos níveis intracelulares de AMP e cGMP (YANAGISAWA et al.,1988a; MARSDEN et al.,1989) e pelos inibidores da PKC.

Essa resposta bifásica e o sustentado efeito hipertensivo, distinguem a ET de outros conhecidos vasoconstrictores endógenos, bem como de outros fatores produzidos pelas células endoteliais. Assim, esse potente efeito pressor sugere portanto, que a ET tem um importante papel na patogênese da hipertensão sistêmica (FURCHGOTT,1984; VANHOUTTE et al.,1986; VANHOUTTE,1988; DAVIES et al.,1988; YOKOKAWA et al.,1991). Em adição, além de seu próprio efeito pressor, a ET também aumenta a vasoconstricção induzida por outros agonistas (TABUCHI et al.,1989b; YANG et al.,1992).

Entretanto, além do seu potente efeito vasoconstrictor, ET também apresenta uma variedade de outras atividades biológicas. Estas incluem contração das vias aéreas, da musculatura lisa intestinal e uterina (UCHIDA et al.,1988; DeNUCCI et al.,1988; LAGENTE et al.,1989; TAKAHASHI et al.,1990), modulação de leucócitos polimorfonucleares (ISHIDA et al.,1990; FARRE et al.,1991), regulação da transmissão neuroefetora adrenérgica e colinérgica em vários sítios, incluindo o intestino (WILKLUND et al.,1988;1989a,b; TABUCHI

et al.,1989a) e prejuízo da mucosa gástrica pela infusão intra arterial (WHITTLE & ESPLUGES,1988).

Nos músculos das vias aéreas de várias espécies, incluindo o homem, cobaio, rato, camundongo e coelho (UCHIDA et al.,1988; MAGGI et al.,1989; MACQUIN-MAVIER et al.,1989; ADVENIER et al.,1990; HENRY et al.,1990; GRUNSTEIN et al.,1991), ET produz uma contração dose-dependente, sendo a potencia de ET-1 maior que a dos outros isoformes (ADVENIER et al.,1990). Essa constrição parece envolver dois mecanismos, um mediado pela ativação dos canais de cálcio (ADVENIER et al.,1990; GRUNSTEIN et al.,1991; SARRIA et al.,1990) e o outro mediado pelos metabólitos da ciclo-oxigenase (MACQUIN-MAVIER et al.,1989; O'DONNELL et al.,1990). Por outro lado, McKAY et al.(1991) demonstraram que no homem a constrição do tecido bronquial não depende de nenhum desses mecanismos, enquanto BATTISTINI et al.(1990) demonstraram que no cobaio, tal constrição é mediada pelo PAF.

As ETs se encontram entre os mais potentes bronquiconstritores já descritos. Na vasculação pulmonar, ETs podem eliciar tanto uma vasodilatação como uma vasoconstrição, e podem aumentar a permeabilidade vascular. ETs também podem modular a ativação das células inflamatórias. Expressão e/ou produção de ET tem sido detectada na asma, certos tumores pulmonares e, estados de choque associados com hipertensão pulmonar. Tais achados sugerem que pela regulação da vasculatura pulmonar e tônus das vias aéreas, ativação das células inflamatórias e crescimento e/ou diferenciação celular, as ETs tenham um importante papel na fisiopatologia pulmonar (FILEP,1993).

No coração, além daqueles efeitos responsáveis pela vasoconstrição periférica, ET também apresenta efeitos intrínsecos. Vários pesquisadores têm demonstrado, em preparações isoladas de atrios e ventrículos de cobaios (ISHIKAWA et al.,1988; HU et al.,1988) bem como de ratos e de humanos (MORAVEC et al.,1989) um efeito inotrópico positivo, de lento desenvolvimento

e longa duração. Além disso, é capaz de liberar EDRF, prostanóides e fator natriurético atrial (RANDALL,1991). Tais resultados são compatíveis com os achados de que sítios de ligações específicos estão presentes nas membranas das células cardíacas de ratos, galinhas, porcos e humanos (VIJAYARAGHAVAN et al.,1990; KOSEKI et al.,1989; VIGNE et al.,1989).

A ação da ET no CNS, também tem sido especulada, uma vez que uma vasta gama de sítios de ligação (KOSEKI et al.,1989; MIURA et al.,1991) e mRNA para ET (GLAID et al.,1989; MACCUMBER et al.,1989) terem sido encontrados nessa região. Na espinha dorsal, ET-1 eliciu excitação de neurônios, que foi inibida por antagonistas da substancia P, o que sugere que a ação da ET é mediada em parte pela substancia P. Por outro lado, no gânglio pélvico vesical do coelho, ET causa despolarização da membrana celular (NISHIMURA et al.,1991a). ET também tem sido demonstrado no hipotálamo, particularmente nos núcleos supra-ótico e paraventricular e no lobo posterior da hipófise (YOSHIZAWA et al.,1990), onde sua distribuição é muito semelhante aquela da vasopressina. Em adição, ET foi completamente depletada, após quatro dias de privação de água, sugerindo um papel da ET no controle do balanço hídrico. ET também foi encontrada como sendo um fator que estimula a liberação de gonadotropina (LH ou FSH) na hipófise anterior de modo semelhante ao hormônio hipotalâmico liberador de gonadotropina (GOETZ et al.,1988; MACCUMBER et al.,1989; YOSHIZAWA et al.,1990; STOJILKOVIC et al.,1990).

Ainda no sistema nervoso, a infusão crônica de ET-1 nos ventrículos cerebrais de ratos conscientes, evoca um progressivo aumento na pressão arterial, que é acompanhada por um aumento na excreção urinária de NE, ACh e vasopressina (TAKASHI et al.,1990), provavelmente refletindo ativação de centros autonômicos vasomotores. Tais observações sugerem que ET produzido no CNS poderá modular o controle central da circulação. Devido a suas

características ações nos vasos sanguíneos cerebrais, as ETs parecem estar envolvidas nas mais comuns doenças cerebro-vasculares, como a hemorragia subaracnóide, isquemia cerebral e enxaqueca (CARDELL et al.,1994).

Várias evidências demonstram que as ETs também atuam na transmissão sináptica. Trabalhos desenvolvidos por WIKLUND et al.(1991) mostraram que a ET-1 exerce um efeito estimulatório pós-juncional e, concomitantemente, um efeito inibitório pré-juncional na transmissão adrenérgica e colinérgica, enquanto que o efeito inibitório pré-juncional produzido pela ET-3, só foi evidente na neurotransmissão colinérgica. Esse efeito da ET-3 foi confirmada nos gânglios cardíaco simpático e estrelar do cão (KUSHIKU et al.,1991;1995). Tais autores também demonstraram que essa inibição envolvia a ativação da produção endógena de TXA₂.

Nos neurônios do gânglio colônico parassimpático de gatos, NISHIMURA et al.(1991b) demonstraram que a ET bloqueia o potencial de ação ortodrômico e produz uma depressão prolongada e reversível do EPSP rápido, que é dependente da dose, além de produzir uma despolarização da membrana seguida por uma hiperpolarização. Tais achados levaram a esses autores a concluir que a ET modula a transmissão sináptica pela despolarização lenta, hiperpolarização da membrana e prolongada depressão do EPSP rápido. Isso sugere que o bloqueio do potencial de ação ortodrômico e a depressão do EPSP rápido é primariamente devido a inibição da liberação de ACh pelos terminais pré- sinápticos.

Em adição, LAU et al.(1995) mostraram que a facilitação da neurotransmissão simpática induzida pela ET no vaso deferente de rato, se deve a potenciação dos efeitos pós-juncionais do co-transmissor, ATP, atuando nos purinoceptores P2X, o que indica que esses efeito é mediado através das ações dos receptores da ET que não os do tipo ET_B.

Além de todas essas funções já citadas, ET também contribui para a

liberação de peptídeos endógenos, inibe a agregação plaquetária (DOUSSET & JACOB,1992), aumenta a secreção do peptídeo natriurético atrial, aldosterona e catecolaminas (LEPPALUOTO & RUSKOAHO,1992), e é um potente agente mitogênico em culturas de músculo liso (KOMURO et al.,1988; BOBIK et al.,1990), fibroblasto (TAKUWA et al.,1989), osteoblastos (TAKUWA et al.,1989) e provavelmente de células epiteliais (TAKAGI et al.,1990; VIGNE et al.,1990). Além disso, ET atua em culturas de osteoblastos como um fator de crescimento. Nesse caso, ET-1 e ET-2 são quase equipotentes (VIGNE et al.,1990), enquanto ET-3 é aproximadamente uma ordem de grandeza menos potente. Tal fato sugere que o efeito mitogênico da ET, é mediado pelos receptores ET_A e ET_B (TAKAGI et al.,1990).

Essa série de ações biológicas atribuídas a ET, podem ser consideradas com funções autócrinas (KRELL et al.,1983; SNYDER & KRELL,1984; WINKLER et al.,1988) e parácrinas (FERRI et al.,1983; ZIPSER et al.,1987; LEWIS et al.,1990), além de vários dados suportarem uma potencial função endócrina para esse peptídeo (SMITH et al.,1990; JETT et al.,1991). Como discutido acima, ET possui uma larga variedade de efeitos, em diversos sistemas, como o cardiovascular, renal, endócrino, que se considerados conjuntamente com os níveis circulantes no plasma, níveis cerebro-espinhal, e níveis excretados na urina, podem ser consistentes com uma função endócrina.

Concentrações aumentadas de ET no plasma têm sido encontradas em diversas condições clínicas, como hipertensão, infarto do miocárdio, choque cardiogênico, hipertensão induzida pela gravidez, arteriosclerose, doença de Raynaud's, hemorragia sub-aracnóide, uremia, colite ulcerativa, doença de Crohn's e operações cirúrgicas, sugerindo que as ETs têm um papel significativo em diversos processos fisiopatológicos (LEPPALUOTO & RUSKOAHO,1992).

Trabalhos desenvolvidos por WEINREICH e colaboradores têm demonstrado que muitas mudanças na eletrofisiologia dos neurônios ganglionares

seguem a liberação desses mediadores pelos mastócitos e que a histamina constitui um dos mediadores envolvidos nessas mudanças (CHRISTIAN et al.,1989; CHRISTIAN & WEINREICH,1992; WEINREICH et al.,1992). Contudo, está evidente que a indução ou a manutenção de A-LTP não pode ser explicada somente pela ação da histamina, por várias razões. Primeiro, embora a histamina possa ativar receptores ganglionares do tipo H₁, que levam a potenciação da transmissão sináptica, a potenciação induzida pela histamina não é sustentada, revertendo-se rapidamente quando é removida do superfusato. Segundo, adicionando-se antagonistas dos receptores H₁, H₂ e H₃ ao superfusato antes ou após o choque antigênico, não há prevenção do desenvolvimento ou manutenção de A-LTP. Terceiro, a superfusão contínua do gânglio com concentrações de histamina 10 vezes maiores que aquelas necessárias para eliciar a potenciação máxima da transmissão ganglionar (100-500 μM) induz níveis variáveis de dessensitização de receptores da histamina mas não bloqueia a A-LTP. No conjunto, esses dados mostram que a histamina não parece ter um papel importante na A-LTP (WEINREICH et al.,1992).

Dessa forma, o presente trabalho foi desenvolvido no sentido de se tentar identificar a participação dos mediadores liberados imunologicamente na indução e manutenção de A-LTP, e assim se obter uma melhor compreensão das mudanças fisiológicas que ocorrem no gânglio durante o choque antigênico. Para tal, foram examinados os efeitos de uma variedade desses mediadores inflamatórios liberados pelos mastócitos durante o choque antigênico.

Foram consideradas as alterações na integral CAP pós-ganglionar, como uma medida para a potenciação de longa e de curta duração (LTP e STP, respectivamente). Além disso, também foram consideradas as alterações na amplitude pico a pico do CAP, que embora não seja uma medida tão exata quanto as alterações na integral, nos dá uma idéia da sincronização dos potenciais de ação individuais.

Nossos resultados mostraram que esses mediadores induzem potenciação sináptica de longa e curta duração, mas que nenhum deles isoladamente foi capaz de reproduzir a magnitude da potenciação induzida pelo choque antigênico. Isso nos leva a sugerir a hipótese de que esses mediadores interajam sinérgicamente durante a liberação dos mesmos pelos mastócitos ativados, ao nível da transmissão sináptica e assim contribuam significativamente para a indução da A-LTP.

2. MÉTODOS

2.1. ANIMAIS

Foram empregados cobaios machos, jovens e adultos, pesando entre 200 e 900 g, obtidos a partir da Buckber Laboratories (Tomkins Cove, NY, USA), não-sensibilizados e sensibilizados ativamente à albumina (chicken egg albumin, Sigma Chemical Co.) de acordo com a técnica mostrada no Capítulo II, e mantidos no biotério local durante o período de experimentação nas mesmas condições mostradas no Capítulo II.

Após sacrifício dos animais por asfixiação com CO₂, ambos os SCGs, juntamente com seus troncos nervosos pré- e pós-ganglionares foram então, dissecados.

Aproximadamente 90% dos gânglios utilizados para a exposição ao mediador inflamatório foram provenientes de animais sensibilizados à OVA. Um dado gânglio sofreu exposição a apenas um único tipo de mediador inflamatório.

2.2. PREPARAÇÃO DOS TECIDOS E PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Veja secção 2.5 do Capítulo II.

2.3. REGISTRO ELETROFISIOLÓGICO

Veja secção 2.6 do Capítulo II.

2.4. ANÁLISE DOS DADOS

Veja secção 2.7 do Capítulo II.

2.5. FONTES DAS SUBSTANCIAS QUÍMICAS

Todos os sais utilizados foram de pureza analítica, e obtidos a partir da Sigma Chemical Corp.(St. Louis, Missouri, USA). ET-1, PAF, Composto (análogo do tromboxano A₂), PGDs, BK e TNF α , foram gentilmente cedidos pelo Dr. B.Undem da Johns Hopkins University.

2.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Veja secção 2.9 do Capítulo II.

3. RESULTADOS

Foram testados quanto a capacidade de produzir potenciação da transmissão sináptica, vários mediadores inflamatórios derivados dos mastócitos, que são liberados do SCG de cobaio durante o choque antigênico (WEINREICH & UNDEM,1987; UNDEM et al.,1990; WEINREICH et al.,1992), quais sejam, PGs e TX (derivados do ácido aracdônico), BK (cinina), TNF α (citocina), PAF (derivado lipídico) e ET-1 (peptídeo). Alternadamente com os experimentos usando mediadores inflamatórios, realizaram-se experiências usando gânglios de animais sensibilizados ativamente à OVA (10 μ g/ml).

As alterações do CAP, seguindo a sugestão de Weinreich et al. (1995) foram classificadas, tomando como critério o tempo que se mantiveram presentes, como : i) as potenciações com duração \geq 30 min, que foram chamadas de potenciação de longa duração (LTP); ii) as potenciações com duração $<$ 30 min, que foram chamadas de potenciação de curta duração (STP), e iii) as potenciações com duração nula, ou seja, os casos em que não houve alteração. Não foram observadas alterações inibitórias com os mediadores inflamatórios utilizados neste estudo. Como potenciação entende-se aqui, um aumento dos parâmetros do CAP pós-ganglionar.

3.1. MEDIADORES INFLAMATÓRIOS

3.1.1. FATOR DE ATIVAÇÃO PLAQUETÁRIA (PAF)

A exposição de gânglios cervicais superiores de cobaios ao PAF, na concentração de 3×10^{-7} M, produziu alterações variáveis na integral do CAP.

Essas alterações foram de três tipos. Em 31% (em 5 de um total de 16 (5/16)) dos gânglios o PAF promoveu LTP nos quais o incremento (estatisticamente significativo, $p < 0,05$, teste t pareado) foi de $6,90 \pm 1,85$ mV.ms ($n=5$) em relação ao valor controle ($14,81 \pm 4,95$ mV.ms ($n=5$), vide Tabela III-1) e a duração do incremento foi $32,80 \pm 2,14$ minutos. Houve ocorrência de aumento estatisticamente significativo ($p < 0,001$, teste t pareado) da integral do CAP com duração inferior a 30 minutos em 38% dos gânglios (6/16). Esse aumento foi de $5,02 \pm 0,35$ mV.ms ($n=6$) sobre o valor controle ($21,76 \pm 3,72$ mV.ms ($n=6$)) e durou $9,38 \pm 3,76$ minutos. Em 31% (5/16) dos gânglios estudados o PAF não induziu alteração da integral do CAP. A Figura III-1 mostra o gráfico, bem como traçados osciloscópicos de um experimento típico da indução de LTP e STP pelo PAF.

Apesar da amplitude pico a pico do CAP não ser o instrumento mais preciso para classificação ou não de uma plasticidade sináptica como LTP, como o PAF induziu aumentos desse parâmetro cujas durações pareceram distribuir-se bimodalmente, agrupando-se em torno de dois valores, um em torno de 33 minutos e outro em torno de 5 minutos, resolvemos quantificar essas alterações agrupando-as em três grupos, utilizando os mesmos critérios de duração usados acima para a integral (Tabela III-2). Em 44% (7/16) dos gânglios, o PAF promoveu aumento da amplitude pico a pico do CAP com duração ≥ 30 minutos. Nesses gânglios o incremento (estatisticamente significativo, $p < 0,01$, teste t pareado) foi de $0,37 \pm 0,07$ mV.ms ($n=7$) em relação ao valor controle $1,38 \pm 0,24$ mV ($n=7$). Em outros 44% dos gânglios (7/16) a ocorrência de aumento estatisticamente significativo, $p < 0,02$, teste t pareado, da amplitude pico a pico foi de $0,21 \pm 0,06$ mV.ms ($n=7$) em relação ao valor do controle ($1,90 \pm 0,31$ mV ($n=7$)) e a duração foi de $4,71 \pm 1,06$ minutos. Em 12% (2/16)

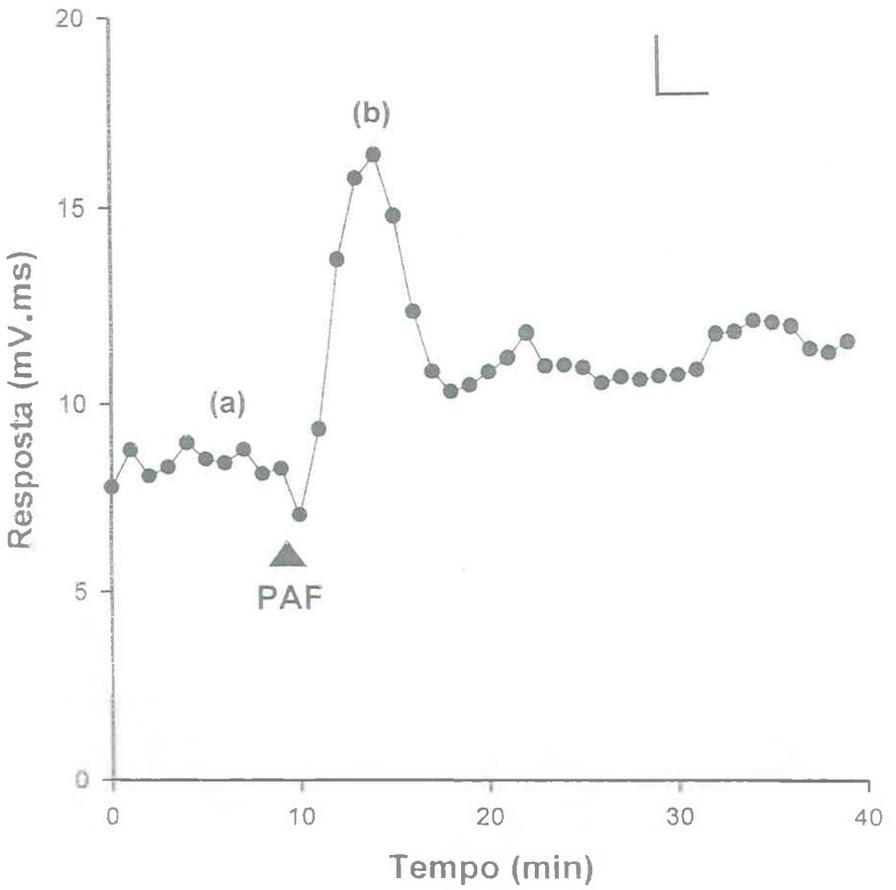
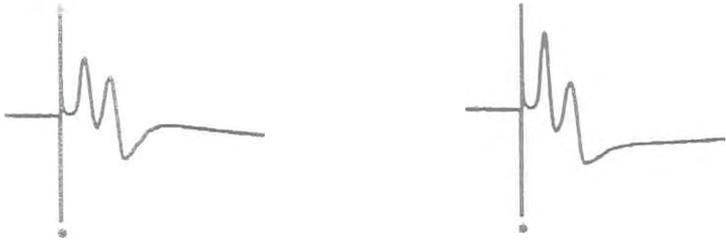
FIGURA III-1. CURSO TEMPORAL DA POTENCIAÇÃO NA TRANSMISSÃO SINÁPTICA INDUZIDA PELA ADMINISTRAÇÃO DO FATOR DE AGREGAÇÃO PLAQUETÁRIA (PAF; 0,3 μ M) AO GÂNGLIO CERVICAL SUPERIOR (SCG) DE COBAIOS

Painel A : Potenciação da transmissão sináptica com duração ≥ 30 minutos (LTP). **Painel B** : Potenciação da transmissão sináptica com duração < 30 minutos (STP). Os triângulos indicam o início de 5 minutos de superfusão do gânglio com solução nutritiva contendo o PAF. Cada ponto representa a magnitude média da integral de 12 potenciais de ação compostos (CAPs) pós-ganglionares, evocados à 0,2 Hz. Ordenada, integral do CAP, em mV.ms. Os pequenos traçados na parte superior de cada painel representam o traçado osciloscópico do potencial de ação antes (**a**) e durante (**b**) a administração do PAF. O asterisco sob o registro experimental de voltagem mostra o momento da estimulação e o correspondente artefato do choque. Calibração : 0,5 mV; 20 ms.

A

(a) CONTROLE

(b) PAF

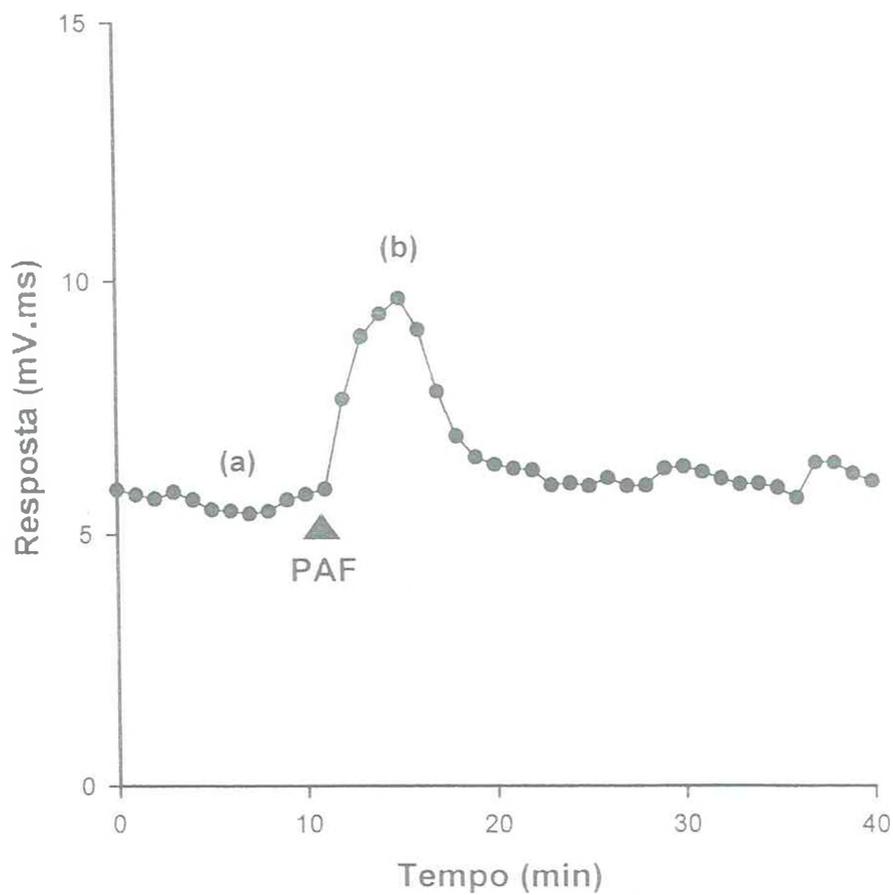
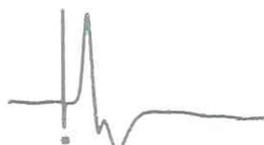


B

(a) CONTROLE



(b) PAF



3.1.2. COMPOSTO U44619

A aplicação do composto U44619, na concentração de 1 μ M durante 5 minutos no líquido de perfusão, produziu três tipos de alterações na integral (Tabela III-1) e na amplitude pico a pico do CAP (Tabela III-2).

Em 75% (3/4) dos gânglios estudados, o composto U44619 produziu LTP, cujo aumento estatisticamente significativo, $p < 0,05$, teste t pareado, na integral do CAP foi de $5,25 \pm 1,05$ mV.ms ($n=3$) em relação ao minutos (Figura III-2). Em 25% (1/4) dos gânglios estudados esse composto não induziu nenhuma alteração mensurável na integral do CAP.

Em relação às alterações produzidas sobre a amplitude pico a pico do CAP, em 25% (1/4) dos gânglios estudados, o composto U44619 promoveu aumento nessa amplitude, a qual perdurou por 40 minutos. Nesse gânglio o incremento foi de 0,37 mV ($n=1$) em relação ao valor controle (1,75 mV). Em outros 50% (2/4) dos gânglios o aumento da amplitude foi de $0,43 \pm 0,09$ mV ($n=2$) em relação ao controle ($1,28 \pm 0,20$ mV ($n=2$)), com uma duração de $6,00 \pm 4,00$ minutos. E em 25% (1/4) dos gânglios, o composto U44619 não induziu nenhuma alteração mensurável na amplitude pico a pico do CAP.

3.1.3. PROSTAGLANDINAS (PGs)

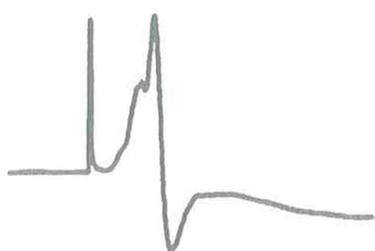
A caracterização da capacidade das PGs em induzir e/ou manter A-LTP, foi realizada empregando-se alguns desses derivados do ácido aracdônico que são liberados pelos mastócitos, tais como PGD_2 ($n=15$); PGE_1 ($n=3$) e PGE_2 ($n=2$). Dentre essas, a única que, pelo menos em parte, induziu LTP e STP, foi a PGD_2 .

A administração de PGD_2 1 μ M por 5 minutos, produziu alterações na

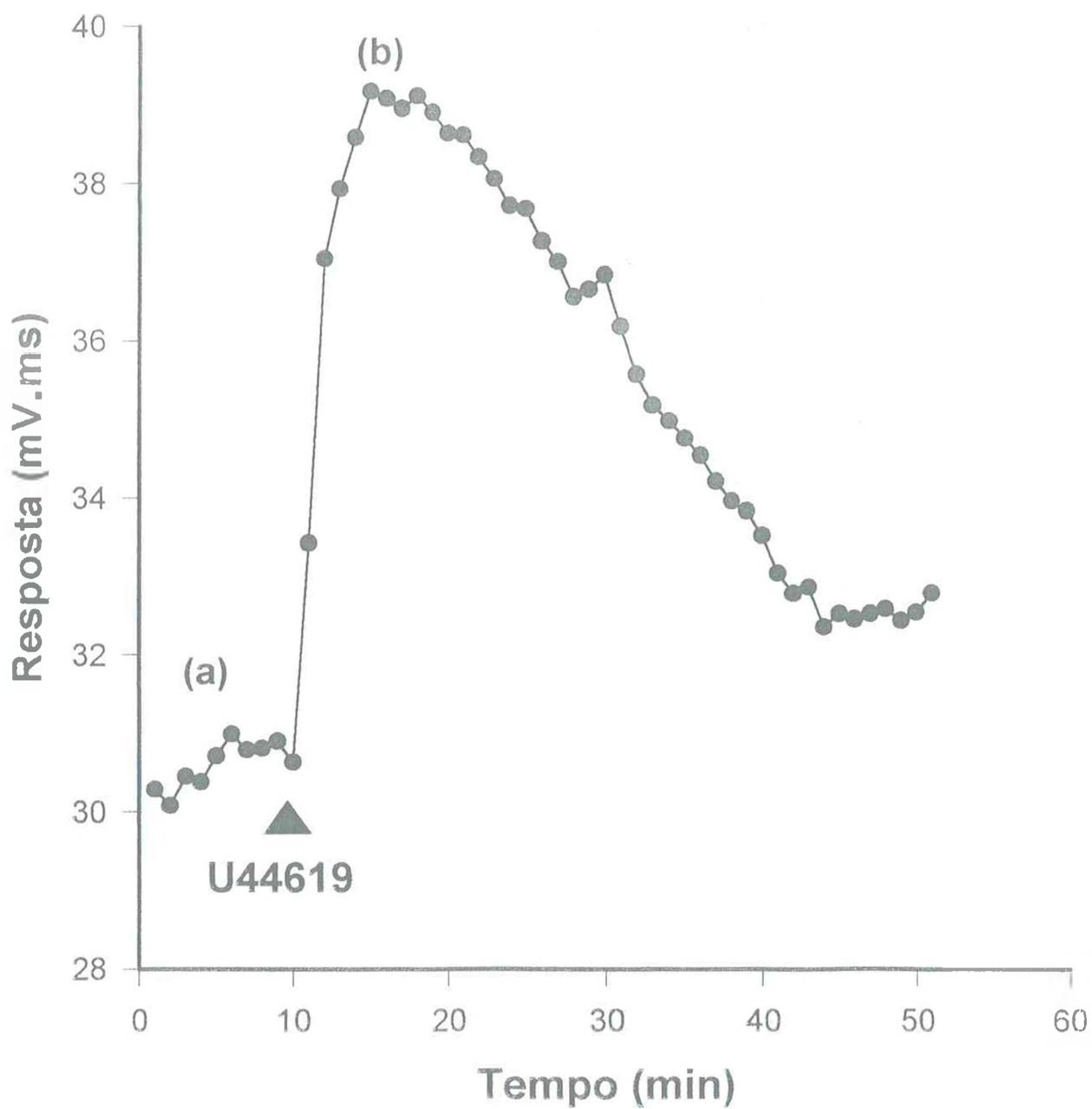
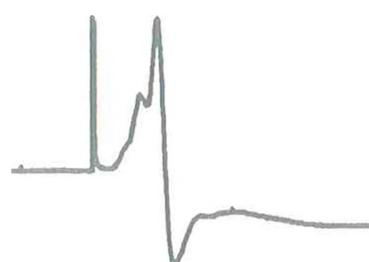
FIGURA III-2. CURSO TEMPORAL DA POTENCIAÇÃO NA TRANSMISSÃO SINÁPTICA INDUZIDA PELA ADMINISTRAÇÃO DO COMPOSTO U44619 (1,0 μ M) AO GÂNGLIO CERVICAL SUPERIOR (SCG) DE COBAIO

A figura mostra a potenciação sináptica com duração ≥ 30 minutos (LTP). O triângulo indica o início da superfusão do gânglio com a solução nutritora contendo o composto U44619. Cada ponto representa a magnitude média da integral de 12 potenciais de ação compostos (CAPs) pós-ganglionares, evocados à 0,2 Hz. Ordenada, integral do CAP, em mV.ms. Os pequenos traçados na parte superior da figura representam o registro osciloscópico do potencial de ação antes (a) e durante (b) a administração do composto U44619. O asterisco sob o registro experimental de voltagem mostra o momento da estimulação e o correspondente artefato do choque. Calibração : 1 mV; 20 ms.

(a) CONTROLE



(b) U44619



integral (Tabela III-1) e na amplitude pico a pico do CAP (Tabela III-2).

Como observado com os mediadores acima apresentados, as alterações na integral do CAP foram classificadas em 3 tipos, de acordo com a sua duração (Tabela III-1). Assim, em 47% (7/15) dos gânglios estudados a PGD_2 induziu LTP, cuja potenciação estatisticamente significativa, $p < 0,001$, teste t pareado, foi de $9,9 \pm 1,62$ mV.ms (n=7) em relação ao valor controle ($13,24 \pm 1,96$ mV.ms (n=7)), com uma duração de $36,29 \pm 3,06$ minutos. A Figura III-3 mostra o gráfico e os registros osciloscópicos de um experimento típico da indução da LTP e STP pela PGD_2 .

Em 33% (5/15) dos gânglios, o aumento (estatisticamente significativo, $p < 0,05$, teste t pareado) da integral do CAP induzido pela PGD_2 foi de $5,10 \pm 2,09$ mV.ms (n=5) em relação ao valor controle ($15,08 \pm 3,65$ mV.ms (n=5)), com duração de $16,20 \pm 2,59$ minutos. E em 20% (3/15) dos gânglios, a PGD_2 não produziu alterações na integral do CAP.

As alterações produzidas na amplitude pico a pico pela PGD_2 também puderam ser classificadas de acordo com suas durações (Tabela III-2). Em 60% (9/15) dos gânglios utilizados, a potenciação estatisticamente significativa, $p < 0,01$, teste t pareado, induzida pela PGD_2 na amplitude foi de $0,5 \pm 0,15$ mV (n=9) em relação ao valor controle ($1,28 \pm 0,23$ mV (n=9)), com duração de $32,78 \pm 2,43$ minutos. Nos 40% (6/15) restantes dos gânglios, a potenciação (estatisticamente significativa, $p < 0,02$, teste t pareado) da amplitude pico a pico do CAP foi de $0,11 \pm 0,03$ mV (n=6) em relação ao valor controle ($0,98 \pm 0,20$ mV (n=6)), com duração de $15,00 \pm 3,83$ minutos.

3.1.4. BRADICININA (BK)

A aplicação de BK na concentração de 100 μ M, por 5 minutos, também produziu alterações na integral (Tabela III-1) e na amplitude pico a pico do CAP (Tabela III-2).

As alterações na integral do CAP foram classificadas em dois grupos, de acordo com suas durações. Em 20% (1/5) dos gânglios estudados a BK induziu LTP, cujo incremento na integral do CAP foi de 59,15% (n=1) em relação ao valor controle (16,55 mV.ms (n=1)), e duração de 30 minutos.

Em 80% (4/5) dos gânglios o incremento (estatisticamente significativo) na integral do CAP foi de $16,2 \pm 7,54$ mV.ms (n=4) em relação ao valor controle ($23,79 \pm 9,83$ mV.ms (n=4)), com duração de $14,25 \pm 3,92$ minutos (Tabela III-1).

As alterações induzidas pela BK na amplitude pico a pico (Tabela III-2), mostram que em 20% (1/5) dos gânglios, ocorreu indução de LTP, cujo incremento foi de 0,23 mV (n=1) em relação ao valor controle (0,69 mV (n=1)), com duração de 31 minutos. Em 60% (3/5) dos gânglios, o incremento da amplitude do CAP foi de $0,26 \pm 0,09$ mV (n=3) em relação ao valor controle ($1,65 \pm 0,75$ mV (n=3)), com duração de $13,67 \pm 6,17$ minutos. E em 20% (1/5) dos gânglios, a BK não induziu alteração mensurável na amplitude pico a pico do CAP.

3.1.5. FATOR DE NECROSE TUMORAL (TNF α)

A perfusão com TNF α na concentração de 7,14 nM, durante 5 minutos, produziu alterações na integral (Tabela III-1) e na amplitude pico a pico do CAP (Tabela III-2).

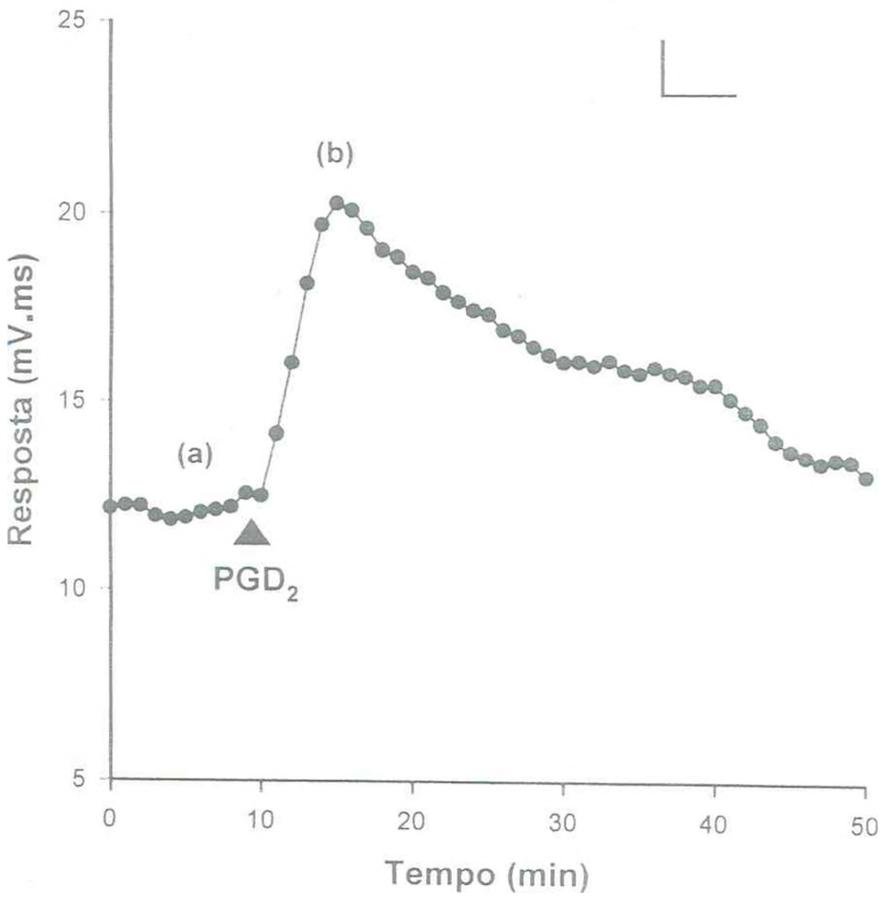
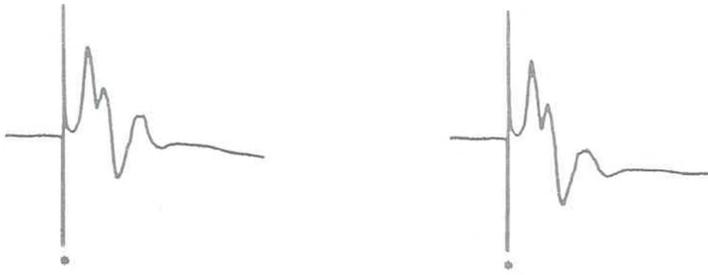
FIGURA III-3. CURSO TEMPORAL DA POTENCIAÇÃO NA TRANSMISSÃO SINÁPTICA INDUZIDA PELA ADMINISTRAÇÃO DA PROSTAGLANDINA D₂ (PGD₂, 1,0 μM) AO GÂNGLIO CERVICAL SUPERIOR (SCG) DE COBAIOS

Painel A : Potenciação da transmissão sináptica com duração ≥ 30 minutos (LTP). **Painel B** : Potenciação da transmissão sináptica com duração < 30 minutos (STP). Os triângulos indicam o início da superfusão do gânglio com a solução nutritiva contendo PGD₂. Cada ponto representa a magnitude média da integral de 12 potenciais de ação compostos (CAPs) pós-ganglionares, evocados à 0,2 Hz. Ordenada, integral do CAP, em mV.ms. Os pequenos traçados na parte superior de cada painel representam o registro osciloscópico do potencial de ação antes (**a**) e durante (**b**) a administração da PGD₂. O asterisco sob o registro experimental de voltagem mostra o momento da estimulação e o correspondente artefato do choque. Calibração : Painel A, 0,5 mV; 20 ms; Painel B, 0,25 mV; 20 ms.

A

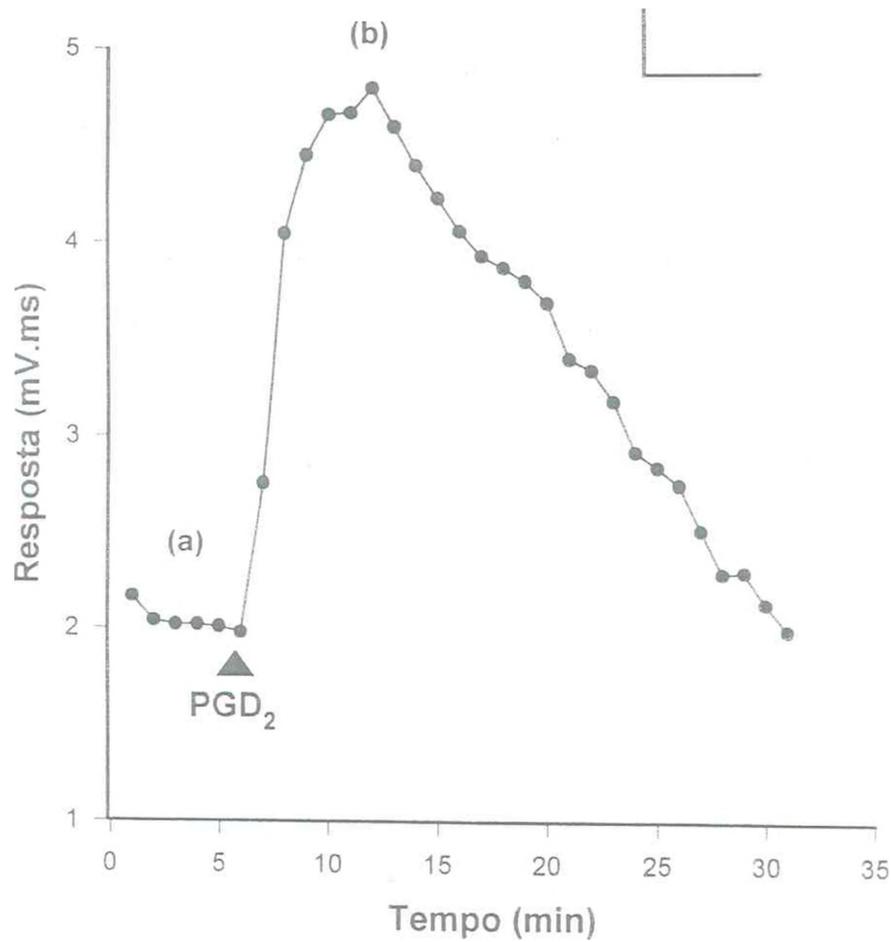
(a) CONTROLE

(b) PGD₂



B

(a) CONTROLE

(b) PGD₂

Seguindo o mesmo padrão apresentado pelos mediadores já apresentados, as alterações na integral do CAP foram classificadas de acordo com o curso temporal.

Em 67% (2/3) dos gânglios, o TNF α produziu LTP, cujo aumento (estatisticamente significativo, $p < 0,01$, teste t pareado) na integral do CAP foi de $4,60 \pm 0,14$ mV.ms ($n=2$) em relação ao valor controle ($30,98 \pm 8,14$ mV.ms ($n=2$)), com uma duração de $43,50 \pm 3,51$ minutos. Nos 33% (1/3) dos gânglios, o TNF α não produziu alteração na integral do CAP.

Seguindo o mesmo padrão de classificação, as alterações produzidas pelo TNF α na amplitude pico a pico do CAP, foram classificadas em : (i) aquelas com duração ≥ 30 minutos; e (ii) aquelas em que essas alterações apresentaram duração < 30 minutos (Tabela III-2).

Em 33% (1/3) dos gânglios, o TNF α apresentou um incremento na amplitude pico a pico do CAP da ordem de $0,09$ mV ($n=1$) em relação ao valor controle ($1,07$ mV ($n=1$)), com duração de 47 minutos. Nos 67% (2/3) dos gânglios restantes, o incremento (estatisticamente não significativo) da amplitude foi de $0,10 \pm 0,02$ mV ($n=2$) em relação ao valor controle ($1,99 \pm 0,04$ mV ($n=2$)), com duração de $7,00 \pm 2,00$ minutos.

3.1.6. ENDOTELINA-1 (ET-1)

A administração de ET-1, na concentração de 500 nM por 5 minutos, apresentou alterações variáveis na integral (Tabela III-1) e na amplitude pico a pico do CAP (Tabela III-2). Acompanhando o mesmo padrão apresentado pelos demais mediadores estudados, as alterações na integral do CAP, foram classificadas de acordo com sua duração.

Em 25% (3/12) dos gânglios utilizados, registrou-se um incremento estatisticamente significativo, $p < 0,05$, teste t pareado, na integral do CAP de $5,70 \pm 1,60$ mV.ms (n=3) em relação ao valor controle ($13,40 \pm 0,72$ mV.ms (n=3)), com duração de $33,67 \pm 2,60$ minutos.

Em 67% (8/12) dos casos, houve ocorrência de aumento da integral do CAP com duração inferior a 30 minutos. Esse aumento (estatisticamente significativo, $p < 0,01$, teste t pareado) foi de $4,90 \pm 1,05$ mV.ms (n=8) em relação ao valor controle ($19,23 \pm 1,52$ mV.ms (n=8)), com duração de $12,29 \pm 2,19$ minutos. E em 8% (1/12) dos gânglios estudados a ET-1 não produziu alteração na integral do CAP. A Figura III-5 mostra um experimento típico, onde são mostrados o gráfico e os traçados osciloscópicos da alteração da integral do CAP, induzida pela ET-1.

Na amplitude pico a pico do CAP, as alterações produzidas pela ET-1 seguiram o mesmo padrão, sendo classificadas de acordo com a sua duração.

Assim, em 42% (5/12) dos gânglios a ET-1 promoveu um incremento (estatisticamente significativo, $p < 0,02$, teste t pareado) na amplitude pico a pico da ordem de $0,36 \pm 0,08$ mV (n=5) em relação ao valor controle ($1,88 \pm 0,37$ mV (n=5)), com duração de $35,00 \pm 2,39$ minutos. Incremento da amplitude com duração inferior a 30 minutos ocorreu em 33% (4/12) dos gânglios estudados. Esse aumento (estatisticamente significativo, $p < 0,01$, teste t pareado) foi de $0,11 \pm 0,02$ mV (n=4) em relação ao valor controle ($1,56 \pm 0,22$ mV (n=4)), com duração de $8,33 \pm 2,01$ minutos. E nos 25% (3/12) restantes dos gânglios, a ET-1 não promoveu alteração mensurável da amplitude pico a pico do CAP.

3.2. ANTÍGENO SENSIBILIZANTE

A exposição de SCGs ao antígeno sensibilizante OVA produziu dois

tipos de potenciação na transmissão sináptica. Em 57% de 60 gânglios estudados, houve indução de LTP, cuja incrementação (estatisticamente significativa, $p < 0,001$, teste t pareado da integral do CAP foi de $15,80 \pm 1,81$ mV.ms (n=34) acima do valor controle ($17,70 \pm 1,53$ mV.ms (n=34)). Nos outros 43% dos 60 gânglios houve indução de STP, cuja magnitude da incrementação (estatisticamente significativa, $p < 0,001$, teste t pareado) foi de $11,80 \pm 1,42$ mV.ms (n=26) acima do valor controle ($17,80 \pm 3,37$ mV.ms (n=26)).

A Figura II-5 mostra um experimento típico, onde são mostradas o gráfico e os traçados osciloscópicos das alterações da integral do CAP induzidas pelo antígeno sensibilizante.

Em relação às alterações produzidas pelo antígeno sensibilizante sobre a amplitude pico a pico do CAP, em 48% dos 60 gânglios, OVA promoveu um aumento nessa amplitude com duração ≥ 30 minutos, cuja magnitude da incrementação (estatisticamente significativa, $p < 0,001$, teste t pareado) foi de $0,57 \pm 0,06$ mV (n=29) acima do valor controle ($1,70 \pm 0,17$ mV (n=29)). Em outros 35% dos 60 gânglios houve indução de aumento nessa amplitude com duração < 30 minutos, cuja magnitude da incrementação (estatisticamente significativa, $p < 0,001$, teste t pareado) foi de $0,36 \pm 0,06$ mV (n=21) acima do valor controle ($1,70 \pm 0,21$ mV (n=21)). Nos restantes 17% dos 60 gânglios não foram observadas alterações na amplitude pico a pico do CAP.

Em relação à comparação da magnitude dos efeitos dos mediadores inflamatórios com aqueles do antígeno sensibilizante, pode-se observar na segunda coluna da Tabela III-1 que o aumento da integral do CAP produzido pelo PAF, composto U44619 ou ET-1, foi aproximadamente 50% daquele induzido pelo antígeno (94%), e comparando-se o pool dos valores de potenciação dessas substâncias com a incrementação induzida pelo antígeno, verifica-se que houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$; ANOVA e teste de Scheffé). A taxa de ocorrência da LTP foi mais alta com o composto U44619 e mais baixa

FIGURA III-4. CURSO TEMPORAL DA POTENCIAÇÃO NA TRANSMISSÃO SINÁPTICA INDUZIDA PELA ADMINISTRAÇÃO DA ENDOTELINA-1 (ET-1; 0,5 μ M) AO GÂNGLIO CERVICAL SUPERIOR (SCG) DE COBAIOS

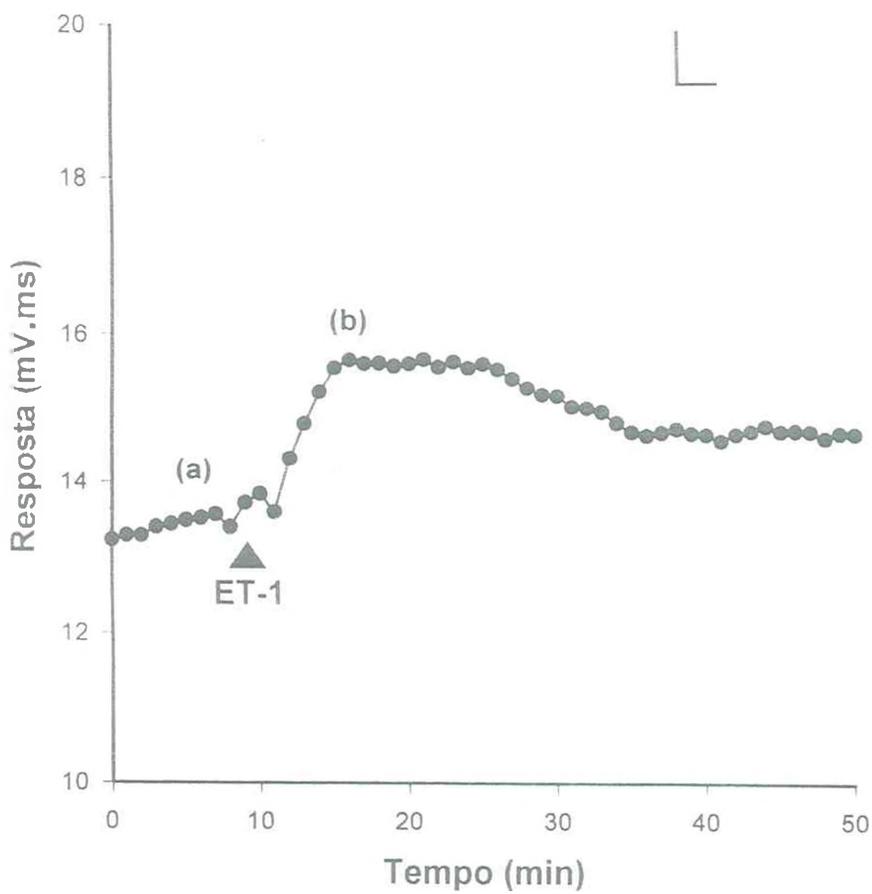
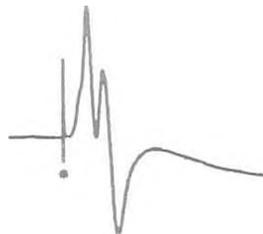
Painel A : Potenciação da transmissão sináptica com duração \geq 30 minutos (LTP). **Painel B :** Potenciação da transmissão sináptica com duração $<$ 30 minutos (STP). Os triângulos indicam o início da perfusão do gânglio com solução nutritiva contendo a ET-1. Cada ponto representa a magnitude média da integral de 12 potenciais de ação compostos (CAPs) pós-ganglionares, evocados à 0,2 Hz. Ordenada, integral do CAP, em mV.ms. Os pequenos traçados na parte superior de cada painel representam o registro osciloscópico do potencial de ação antes (**a**) e durante (**b**) a administração da ET-1. O asterisco sob o registro experimental de voltagem mostra o momento da estimulação e o correspondente artefato do choque. Calibração : 0,5 mV; 20 ms.

A

(a) CONTROLE



(b) ET-1

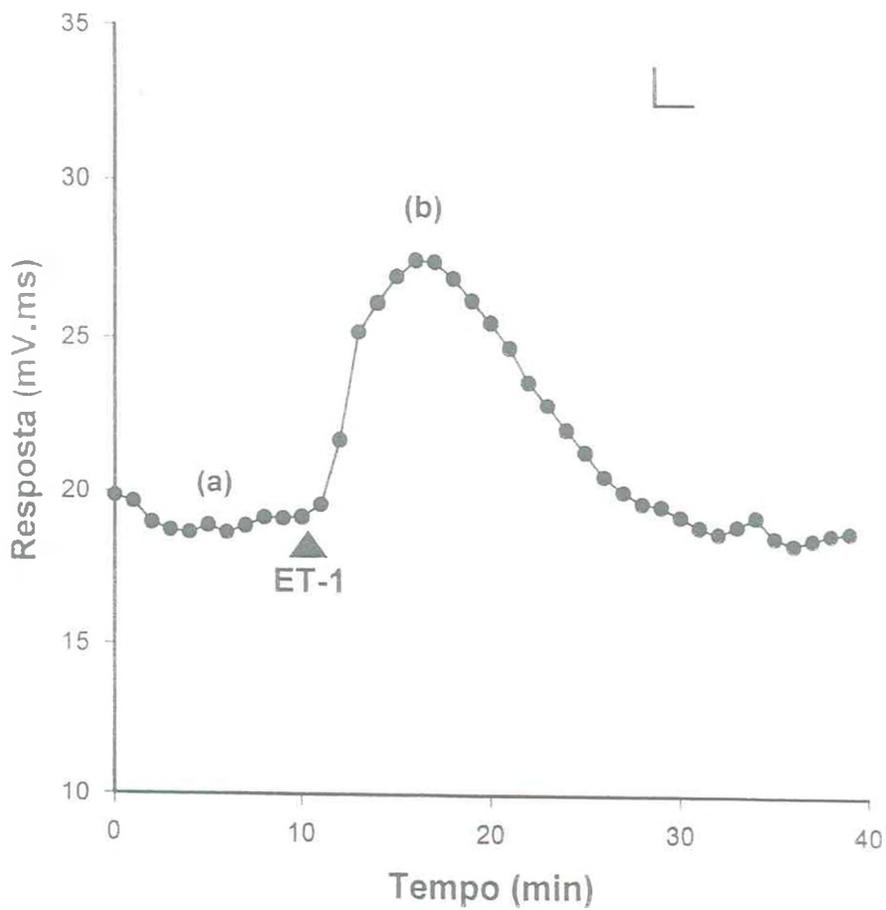
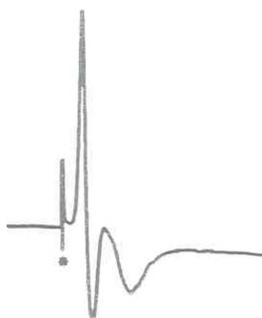


B

(a) CONTROL



(b) ET-1



com o PAF e ET-1, quando comparada com a do antígeno sensibilizante (34/60). PGD₂ causou um aumento na integral do CAP (75%) cuja magnitude não foi estatisticamente diferente (ANOVA) e cuja taxa de incidência foi similar àquela do antígeno sensibilizante.

A terceira coluna da Tabela III-1 mostra que os mediadores inflamatórios induziram STP com taxa de incidência que foi maior (ET-1) ou menor (PAF e PGD₂) do que aquela produzida pelo antígeno sensibilizante (26/60). As comparações acima mencionadas são baseadas nos dados da integral do CAP (Tabela III-1), que mais fidedignamente refletem o número de potenciais de ação trafegando nos axônios do nervo (JOHNSTON & WU,1995). Os dados de amplitude pico a pico, quantificados e apresentados nesse trabalho, também levam à mesma conclusão geral que os vários mediadores estudados induzem LTP e STP, contudo com magnitude que, com esse parâmetro, tendem a ser mais similares ao antígeno sensibilizante do que quando a comparação é feita usando o parâmetro integral do CAP (Tabela III-2).

4. DISCUSSÃO

A principal descoberta deste estudo, considerando-se que nos controles, com apresentação do antígeno (OVA) ao gânglio não sensibilizado não houve alteração da transmissão sináptica, é que todos os mediadores inflamatórios, derivados de mastócitos, aqui estudados, induziram plasticidade sináptica. Em todos os casos essa plasticidade foi facilitatória, como verificado através da integral do CAP pós-sináptico. Essa facilitação desloca o funcionamento do neurônio, em termos eletrônicos, de um padrão eminentemente integrador rápido em direção ao padrão chaveador rápido. Isso implica numa maior passagem de impulsos aferentes através do gânglio e, portanto, um

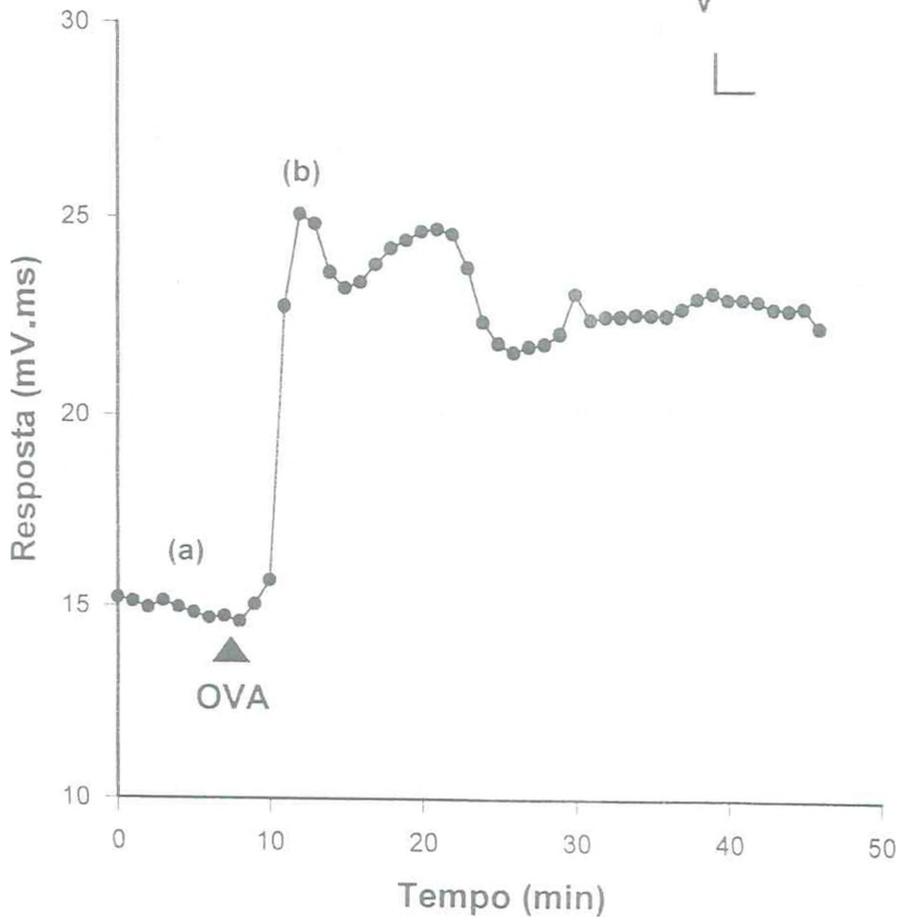
FIGURA III-5. CURSO TEMPORAL DA POTENCIAÇÃO NA TRANSMISSÃO SINÁPTICA INDUZIDA PELO CHOQUE ANTIGÊNICO NO GÂNGLIO CERVICAL SUPERIOR (SCG) DE COBAIOS SENSIBILIZADOS ATIVAMENTE À OVALBUMINA (OVA; 10 µg/ml)

Painel A : Potenciação da transmissão sináptica com duração ≥ 30 minutos (LTP). **Painel B** : Potenciação da transmissão sináptica com duração < 30 minutos (STP). Os triângulos indicam o início da superfusão do gânglio com solução nutritiva contendo o antígeno sensibilizante (OVA). Cada ponto representa a magnitude média da integral de 12 potenciais de ação compostos (CAPs) pós-ganglionares evocados à 0,2 Hz. Ordenada, integral do CAP, em mV.ms. Os pequenos traçados na parte superior de cada painel representam o registro osciloscópico do potencial de ação antes (a) e durante (b) a administração do antígeno. O asterisco sob o registro experimental de voltagem mostra o momento da estimulação e o correspondente artefato do choque. Calibração : 0,5 mV; 10 ms.

A (a) CONTROLE

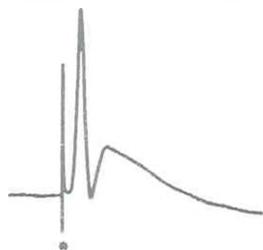


(b) OVA

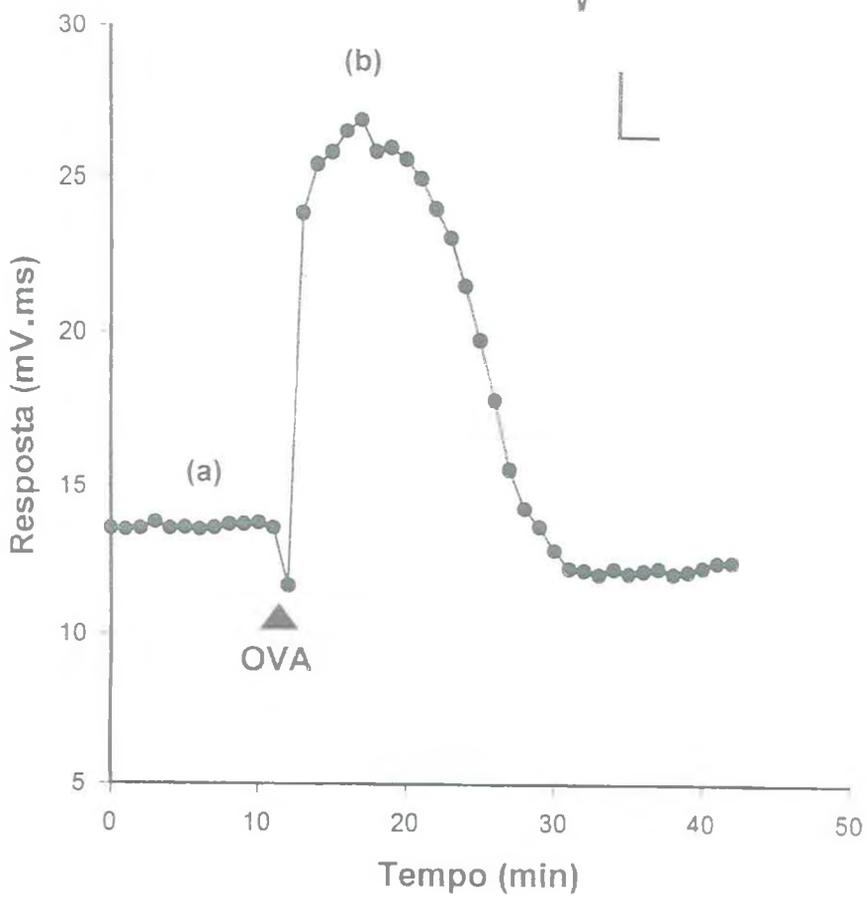
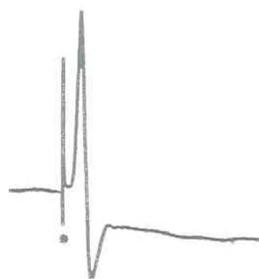


B

(a) CONTROLE



(b) OVA



tônus simpático aumentado junto aos efetadores simpáticos inervados por esse gânglio. O significado desse fenômeno no cobaio não foi investigado neste estudo e não se encontram disponíveis na literatura estudos que permitam aquilatar sua importância.

Estudos recentes de MATHISON et al.(1994) envolvendo o SCG de rato, sugerem que estes achados podem ser muito importantes. MATHISON et al. demonstraram que o eixo “tronco simpático cervical-glândula submandibular” (Cervical sympathetic trunk-submandibular gland, TSC-GS) têm um papel muito importante na regulação da defesa imunológica cardiovascular. O eixo TSC-GS tem potentes ações imunomodulatórias sobre as células inflamatórias, sobre a secreção de fatores de crescimento ligados aos processos cicatriciais e tem-se sugerido que ele contribua no controle da pressão arterial sistêmica.

Estudos de CARDINALI & ROMEO (1990) têm também documentado o importante papel da influência do tronco cervical sobre o eixo hipotálamo-hipofisário na manutenção da homeostase em algumas situações de stress.

A facilitação sináptica apresentada nesse estudo foi causada por vários agentes inflamatórios. Como esses agentes *in vivo* podem alterar o volume do espaço intersticial e assim alterar a resistência do espaço extracelular e a amplitude e a integral do CAP, pode-se arguir que essa potenciação seja um mero artefato de alteração da resistência elétrica do espaço extracelular. Duas evidências experimentais descartam essa hipótese : i) em controles anteriormente realizados (WEINREICH et al.,1995) observou-se que, quando a estimulação é pré-ganglionar, comprovada pelo bloqueio total que lhe oferece o hexametônio (1 mM), o antígeno e a histamina induzem potenciação. Quando a estimulação é feita diretamente sobre o gânglio, estimulando diretamente os neurônios ganglionares e dispensando a etapa da transmissão sináptica, então não há indução de potenciação sináptica. ii) o nervo pré-sináptico, que se encontra no

TABELA III-1. EFEITO DO ANTÍGENO SENSIBILIZANTE (OVA), FATOR DE AGREGAÇÃO PLAQUETÁRIA (PAF), COMPOSTO U44619, PROSTAGLANDINA D₂ (PGD₂), ENDOTELINA-1 (ET-1), BRADICININA (BK) E FATOR DE NECROSE TUMORAL (TNF) SOBRE A INTEGRAL DO POTENCIAL DE AÇÃO COMPOSTO (CAP) EM GÂNGLIO CERVICAL SUPERIOR (SCG) DE COBAIOS

AGENTE	POTENCIAÇÃO DE LONGA DURAÇÃO(LTP)^a	POTENCIAÇÃO DE CURTA DURAÇÃO(STP)^a	AUSÊNCIA DE ALTERAÇÃO
Antígeno Sensibilizante (OVA 10 µg/ml)	93,75 ± 8,08 ^b (34/60) ^c	90,97 ± 11,87 (26/60) ^d	(0/60)
PAF (0,3 µM)	46,65 ± 13,74 (5/16)	23,09 ± 9,46 (6/16)	(5/16)
U44619 (1,0 µM)	34,26 ± 6,85 (3/4)	(0/4)	(1/4)
PGD₂ (1,0 µM)	75,07 ± 19,12 (7/15)	33,92 ± 13,87 (5/15)	(3/15)
ET-1 (0,5 µM)	41,97 ± 12,71 (3/12)	25,45 ± 5,47 (8/12)	(1/12)
BK (100 nM)	59,15 (1/5)	67,99 ± 31,71 (4/5)	(0/5)
TNF (7,14 nM)	14,87 ± 0,44 (2/3)	(0/3)	(1/3)

^aRepresenta a potenciação com duração ≥ 30 min.(LTP); potenciação com duração < 30 min.(STP).

^bOs valores mostrados são a média ± SEM do aumento na integral do CAP registrado como a porcentagem da integral controle. Para a significância estatística das diferenças entre as médias, veja texto.

^c(número de ocorrências do incremento com duração ≥ 30 min./total dos testes)

^d(número de ocorrências do incremento com duração < 30 min./total dos testes)

TABELA III-2. EFEITO DO ANTÍGENO SENSIBILIZANTE (OVA), FATOR DE AGREGAÇÃO PLAQUETÁRIA (PAF), COMPOSTO U44619, PROSTAGLANDINA D₂ (PGD₂), ENDOTELINA-1 (ET-1), BRADICININA (BK) E FATOR DE NECROSE TUMORAL (TNF) SOBRE A AMPLITUDE PICO A PICO DO POTENCIAL DE AÇÃO COMPOSTO (CAP) EM GÂNGLIO CERVICAL SUPERIOR (SCG) DE COBAIOS

AGENTE	POTENCIAÇÃO DE LONGA DURAÇÃO(LTP) ^a	POTENCIAÇÃO DE CURTA DURAÇÃO(STP) ^a	AUSÊNCIA DE ALTERAÇÃO
Antígeno Sensibilizante (OVA 10 µg/ml)	33,28 ± 1,03 ^b (29/60) ^c	14,38 ± 1,72 (21/60) ^d	(10/60)
PAF (0,3 µM)	26,68 ± 5,30 (7/16)	11,26 ± 3,48 (7/16)	(2/16)
U44619 (1,0 µM)	21,14 (1/4)	19,21 ± 6,92 (2/4)	(1/4)
PGD₂ (1,0 µM)	39,14 ± 11,75 (9/15)	11,32 ± 3,17 (6/15)	(0/15)
ET-1 (0,5 µM)	19,02 ± 4,31 (5/12)	6,87 ± 1,10 (4/12)	(3/12)
BK (100 nM)	33,33 (1/5)	15,51 ± 5,53 (3/5)	(1/5)
TNF (7,14 nM)	9,34 (1/3)	5,26 ± 1,14 (2/3)	(0/3)

^aRepresenta a potenciação com duração ≥ 30 min.(LTP); potenciação com duração < 30 min.(STP).

^bOs valores mostrados são a média ± SEM do aumento na amplitude do CAP registrado como a porcentagem da amplitude pico a pico controle. Para a significância estatística das diferenças entre as médias, veja texto.

^c(número de ocorrências do incremento com duração ≥ 30 min./total dos testes)

^d(número de ocorrências do incremento com duração < 30 min./total dos testes)

banho e portanto também é exposto ao mediador inflamatório, não apresenta alteração do CAP. Além dessas duas evidências, o gânglio superfundido *in vitro* não tem a microcirculação funcionante e com capacidade para desenvolver edema.

A indução da plasticidade sináptica pelos mediadores inflamatórios foi de ocorrência importante vez que, para todos os agonistas testados, ela incidiu na maioria das preparações. No que concerne à magnitude da potenciação, houve uma grande variação, que se situou entre 15 e 75%. Estudos anteriores de efeitos de mediadores inflamatórios sobre a transmissão sináptica no SCG têm se restringido à histamina (CHRISTIAN et al.,1989; CHRISTIAN & WEINREICH,1991; WEINREICH et al.,1992;1995), que é um dos principais mediadores liberados pelos mastócitos. Esses estudos (vide também capítulo anterior), usando medidas do CAP, demonstraram que a potenciação induzida pela histamina, a curto termo (poucos minutos após a exposição da preparação ao antígeno sensibilizante) é semelhante, em incidência e magnitude, aqueles induzidos pelo antígeno sensibilizante. Com a técnica do microeletrodo intracelular, esses autores demonstraram que os efeitos da histamina são também quantitativa e qualitativamente similares aqueles do antígeno sensibilizante. Observados os efeitos a longo prazo (duração ≥ 30 min.) histamina e antígeno sensibilizante diferiram profundamente em que os efeitos dessa amina foram sempre de duração inferior a 30 minutos.

Participação de outros mediadores foi pesquisada indiretamente, através de antagonistas. Em presença de bloqueadores H₁, H₂ e H₃, os efeitos da histamina foram bloqueados, mas não os do antígeno sensibilizante a curto e longo prazo, o que confirmou a participação de outros mediadores. Bloqueadores adrenérgicos e serotoninérgicos, indometacina e ácido nordihidroguaiarético (Nordihydroguaiaretic acid, NDGA), aplicados isoladamente, não bloquearam a potenciação. Esses dados foram interpretados como sugestão de que o mediador

responsável pela LTP não seria um agonista adrenérgico ou serotoninérgico, nem um mediador lipídico derivado do ácido aracdônico (WEINREICH et al.,1995).

Os dados do presente trabalho mostram que essa interpretação precisa ser revista. Todos os mediadores incluídos nesse estudo foram capazes de induzir LTP, embora com taxas de ocorrência e amplitudes menores do que aquelas do antígeno sensibilizante. Assim, é possível sugerir-se que a LTP induzida pelos mediadores liberados pelos mastócitos não seja causada por um mediador único, mas pela ação sinérgica de muitos, de tal maneira que o bloqueio a um mediador ou mesmo a um grupo deles não se reflita num bloqueio total da LTP, pois outros mediadores arariam com a produção do efeito. O mesmo pode ser sugerido em relação à STP.

A robusta LTP, bem como a potenciação de curta duração, produzidas pela aplicação exógena de PGD₂, um conhecido mediador lipídico derivado do ácido aracdônico e liberado pelos mastócitos ativados (WEINREICH et al.,1992), sugerem que o envolvimento desse prostanóide na indução e/ou manutenção da A-LTP, merece ser reavaliada. Nossos resultados mostraram que a magnitude da potenciação da transmissão sináptica ganglionar obtida em 47% dos gânglios estudados ($75 \pm 19,1\%$) se aproximou daquela obtida pelo antígeno sensibilizante ($94 \pm 8,1\%$), enquanto 33% dos gânglios apresentou potenciação de curta duração. Isso nos sugere que esse mediador parece estar fortemente implicado na indução e/ou manutenção da A-LTP.

Outro derivado do ácido aracdônico, o composto U44619, análogo do TXA₂, também produziu uma LTP em 75% dos gânglios estudados, embora a magnitude dessa potenciação tenha sido de apenas 36% daquela produzida pelo antígeno sensibilizante.

Esses resultados nos sugerem que tais mediadores derivados do ácido aracdônico, de alguma maneira parecem contribuir para o desenvolvimento da LTP induzida pelo choque antigênico, embora quando aplicados isoladamente

não produzam potenciação com a mesma magnitude daquela induzida pelo antígeno sensibilizante.

Em apoio a essa suposição, dados da literatura têm demonstrado evidências de que o ácido aracdônico e seus derivados da via lipoxigenase (HETE e HPETE) desempenham um importante papel na indução da LTP hipocampal, funcionando como um provável mensageiro retrógrado (LYNCH et al.,1991), uma vez que o NDGA, um inibidor da lipoxigenase e da fosfolipase A₂, bloqueia a indução da LTP no giro dentado do rato (LYNCH et al.,1989).

Os resultados obtidos com a superfusão do gânglio com o PAF, um derivado lipídico liberado pelos mastócitos ativados (TRIGGLIANI et al.,1992), não foram suficientemente capazes de implicá-lo de modo importante na indução da A-LTP. Entretanto, tais resultados nos fornecem indícios de que esse composto, de alguma maneira parece estar envolvido na indução desse fenômeno.

Dados recentes da literatura demonstraram que no hipocampo de rato, o PAF parece estar envolvido na indução da LTP hipocampal, possivelmente servindo como parte de uma cascata sinalizante retrógrada, regulando eventos como a LTP, envolvidos na formação da memória (KATO et al.,1994; GODA,1994; IZQUIERDO et al.,1995). Esses dados vêm portanto, corroborar nossa suposição de que o PAF também possa estar envolvido como um dos possíveis mediadores responsáveis pela indução da LTP ganglionar, produzida pelo choque antigênico, uma vez que mecanismos semelhantes parecem estar envolvidos na indução da LTP central e periférica.

A ocorrência infrequente de LTP observada pela aplicação exógena de BK (1/5), ET-1 (3/12) e TNF α (2/3), torna improvável que tais mediadores tenham um papel maior na indução da A-LTP. Entretanto, tal fato não descarta totalmente a parcela de contribuição de cada um desses mediadores no desenvolvimento desse fenômeno.

A discussão acima mencionada se fundamentou nos dados da integral do CAP. Um parâmetro bem mais simples de medir-se é a amplitude pico a pico. Este último parâmetro, contudo não é tão inequívoco, pois enquanto a integral é influenciada apenas pelo número de potenciais de ação que trafegam nos axônios e fatores que geralmente se mantêm constantes, como a resistência elétrica do espaço intersticial, a amplitude pico a pico é influenciada também pela sincronização com que trafegam esses potenciais, que pode variar com alterações da velocidade de condução do potencial de ação ou com alterações dos potenciais pós-sinápticos (JOHNSTON & WU,1995). Neste estudo quantificou-se também a amplitude pico a pico para se comparar as suas medidas e conclusões com aquelas oriundas da integral do CAP. Pode-se verificar que, no que concerniu à verificação da indução, por um dado agente, de alteração estatisticamente significativa da magnitude do CAP em relação ao controle, as conclusões baseadas na amplitude pico a pico e na integral foram, geralmente, semelhantes. No que concerniu à comparação da magnitude da alteração do CAP entre os vários mediadores inflamatórios entre si e entre eles e o antígeno sensibilizante, apesar da medida pico a pico levar à mesma conclusão geral que os mediadores inflamatórios induzem STP e LTP, as diferenças quantitativas na magnitude e na incidência dos efeitos entre antígeno sensibilizante e mediadores inflamatórios são atenuadas, o que sugere um menor grau de precisão da medida pico a pico.

Em resumo, podemos concluir a partir dos dados obtidos, que dos mediadores estudados vários foram capazes de induzir LTP e, a PGD2 foi o que apresentou um efeito mais aproximado àquele do antígeno sensibilizante em induzir LTP. Os dados nos levam a aventar a hipótese de que esses vários mediadores liberados pelos mastócitos durante o choque antigênico, possam interagir sinérgicamente e assim, significativamente contribuir para a indução e/ou manutenção da A-LTP.

Role of mast cell- and non-mast cell-derived inflammatory mediators in immunologic induction of synaptic plasticity

A.A.C. Albuquerque¹,
J.H. Leal-Cardoso²
and D. Weinreich³

¹Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Ceará, 60430-270 Fortaleza, CE, Brasil

²Departamento de Ciências Fisiológicas, Centro de Ciências da Saúde, Fundação Universidade Estadual do Ceará, 60740-000 Fortaleza, CE, Brasil

³Department of Pharmacology and Experimental Therapeutics, School of Medicine, University of Maryland at Baltimore, Baltimore, MD 21201, USA

Abstract

We have previously discovered a long-lasting enhancement of synaptic transmission in mammalian autonomic ganglia caused by immunological activation of ganglionic mast cells. Subsequent to mast cell activation, lipid and peptide mediators are released which may modulate synaptic function. In this study we determined whether some mast cell-derived mediators, prostaglandin D₂ (PGD₂; 1.0 μM), platelet aggregating factor (PAF; 0.3 μM) and U44619 (a thromboxane analogue; 1.0 μM), and also endothelin-1 (ET-1; 0.5 μM) induce synaptic potentiation in the guinea pig superior cervical ganglion (SCG), and compared their effects on synaptic transmission with those induced by a sensitizing antigen, ovalbumin (OVA; 10 μg/ml). The experiments were carried out on SCGs isolated from adult male guinea pigs (200-250 g) actively sensitized to OVA, maintained in oxygenated Locke solution at 37°C. Synaptic potentiation was measured through alterations of the integral of the post-ganglionic compound action potential (CAP). All agents tested caused long-term (LTP; duration ≥30 min) or short-term (STP; <30 min) potentiation of synaptic efficacy, as measured by the increase in the integral of the post-ganglionic CAP. The magnitude of mediator-induced potentiation was never the same as the antigen-induced long-term potentiation (A-LTP). The agent that best mimicked the antigen was PGD₂, which induced a 75% increase in CAP integral for LTP (antigen: 94%) and a 34% increase for STP (antigen: 91%). PAF-, U44619-, and ET-1-induced increases in CAP integral ranged for LTP from 34 to 47%, and for STP from 0 to 26%. These results suggest that the agents investigated may participate in the induction of A-LTP.

Key words

- Prostaglandin D₂
- Platelet aggregating factor
- Endothelin-1
- Thromboxane
- Mast cell
- Synaptic plasticity

Correspondence

A.A.C. Albuquerque
Departamento de Fisiologia e
Farmacologia, CCS, UFC
Rua Cel. Nunes de Melo, 1127
60430-270 Fortaleza, CE
Brasil
Fax: 55 (085) 243-9333

Presented at the XI Annual Meeting
of the Federação de Sociedades de
Biologia Experimental, Caxambu,
MG, Brasil, August 21-24, 1996.

Research supported by CAPES,
CNPq and NIH (No. NS 22069).

Received April 11, 1996

Accepted June 2, 1997

Presynaptic stimulation can cause conspicuous changes in the synaptic efficacy of chemical synaptic transmission which can last from seconds to hours. An increase in synaptic efficacy is called short-term potentiation (STP) or long-term potentiation (LTP) if it persists for a few minutes, or many minutes to hours, respectively (1). LTP is thought to be strongly related to the mechanism of memory and pain (2-4).

It has been demonstrated that antigen-antibody-mediated activation of resident mast cells in the superior cervical ganglion (SCG) causes an increase in the efficacy of synaptic transmission which, in most cases, is long lasting (>30 min) and has been termed antigen-induced long-term potentiation (A-LTP) (5,6). Histamine, which is released from mast cells in the guinea pig SCG upon antigen challenge, has been shown to have a stimulatory (through H_1 receptors) action on ganglionic nicotinic transmission (7), but causes only a short-lasting (<10 min) potentiation of synaptic efficacy (8). Catecholamines (which can be released from sympathetic cell bodies) and serotonin (found in mast and enterochromaffin cells) can potentiate ganglionic synaptic transmission (9,10). Since blockade of α - and β -adrenergic, muscarinic and nicotinic cholinergic, and serotonergic receptors did not block A-LTP, we investigated whether other substances released by mast cell activation can induce LTP. We examined three derivatives of arachidonic acid, prostaglandin D_2 (PGD_2), platelet aggregating factor (PAF) and U44619 (a thromboxane analogue), as well as endothelin-1 (ET-1). All compounds were shown to induce LTP, although not to the same extent as A-LTP.

The experiments were carried out on adult male guinea pigs (200-250 g) actively sensitized to ovalbumin (OVA; chicken egg albumin, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO), as described previously (5). Briefly, animals were injected intraperitoneally with ovalbumin (10 mg/kg) at two-day intervals for 6 days. Twenty-one to 45 days after the last injection, the animals were killed and the

SCG, along with their pre- and postganglionic nerve trunks, were dissected and immediately submerged in cold (5°C) Locke solution with the following composition: 136 mM NaCl, 5.6 mM KCl, 14.3 mM $NaHCO_3$, 1.2 mM NaH_2PO_4 , 2.2 mM $CaCl_2$, 1.2 mM $MgCl_2$, 11 mM dextrose, and 0.03 mM choline chloride, bubbled continuously with 95% O_2 -5% CO_2 , pH 7.2 to 7.4.

SCG were trimmed of excess connective tissue and pinned to the Sylgard (Dow Corning, Midland, MI) coated floor of a recording chamber (\approx 0.25 ml volume). Ganglia were superfused (3-5 ml/min) at 36-37°C with oxygenated Locke solution. Unless otherwise stated, agonists were superfused over ganglia for 5 min.

Evoked compound action potentials (CAP) were routinely recorded with extracellular suction electrodes placed 2-4 mm distant from the ganglion at the level of the superior nerve branch, and connected to the preamplifier (0.1-1 kHz; WPI, Sarasota, FL). Stimulation was carried out with suction electrodes placed 3-10 mm away from the ganglion at the level of the cervical sympathetic nerve trunk (CST). The effect of application of an antigen or reagent on ganglionic synaptic transmission was assessed by measuring changes in the integral of the evoked CAP. CAP were evoked and collected via pCLAMP software (Axon Instruments, Foster City, CA) running on an IBM PC XT with a TL1 interface (Axon Instruments). The computer was connected to a Dell System 320 (20 MHz, 386 PC) via a two-node local area network (Lantastic Artisoft Inc., Tucson, AZ) for the purpose of monitoring the peak-to-peak amplitude and integral CAP responses "on-line". The monitoring/analysis program ("CAP", written in collaboration with BME Systems Inc., Baltimore, MD) run on the Dell 320 system permitted analysis of the responses during the experiment.

Postganglionic CAP were usually evoked at a frequency of 0.2 Hz, and the control CAP integral was usually adjusted to values close to

50% of the maximum attainable either by adjusting preganglionic stimulus intensity or by adding hexamethonium (100-300 μ M) to the Locke solution and stimulating the CST supramaximally. Potentiation of synaptic transmission was considered to be long-term if it lasted ≥ 30 min, and STP for periods of time < 30 min.

All salts were analytical grade and were purchased from Sigma Chemical Company. ET-1, PAF, PGD₂, and U44619 were kindly donated by Dr. B. Udem, Johns Hopkins University.

Data are reported as mean \pm SEM and were considered to be significant at $P < 0.05$.

The effects of the arachidonic acid derivatives PAF and PGD₂, of the thromboxane analogue U44619, and of the cytokine ET-1 are shown in Table 1. Also shown for comparison are the effects produced by the antigen OVA (Figure 1). Five ganglia from sensitized and 7 from non-sensitized guinea pigs were exposed to bovine serum albumin (10 μ g/ml) and OVA (10 μ g/ml) (sensitizing antigen), respectively. No alteration of synaptic transmission ($> 5\%$) was observed. Unsensitizing antigen, therefore, never induced synaptic potentiation.

Column 2 in Table 1 shows the quantification of induction of long-term potentiation, reported as the increase in CAP integral and ratio of occurrence (given in parentheses) of LTP. All four substances induced LTP, as recorded in at least 25% preparations tested. The magnitude of CAP potentiation produced by PAF, U44619 or ET-1 was $\sim 50\%$ that induced by antigen (94%) and, taking values of all three agents together, differed significantly from the values for sensitizing antigen ($P < 0.05$, ANOVA and the Scheffé test). The incidence of LTP was higher with U44619 but lower with PAF and ET-1 when compared with A-LTP (34 of 60 trials). PGD₂ caused an increase in CAP (75%) that was not statistically different from potentiation produced by the antigen. Interestingly, PGD₂ induced LTP with nearly the same incidence as OVA.

Table 1 - Effect of sensitizing antigen, platelet aggregating factor (PAF), U44619, prostaglandin D₂ (PGD₂), and endothelin-1 (ET-1) on the efficacy of synaptic transmission in guinea pig superior cervical ganglion (SCG).

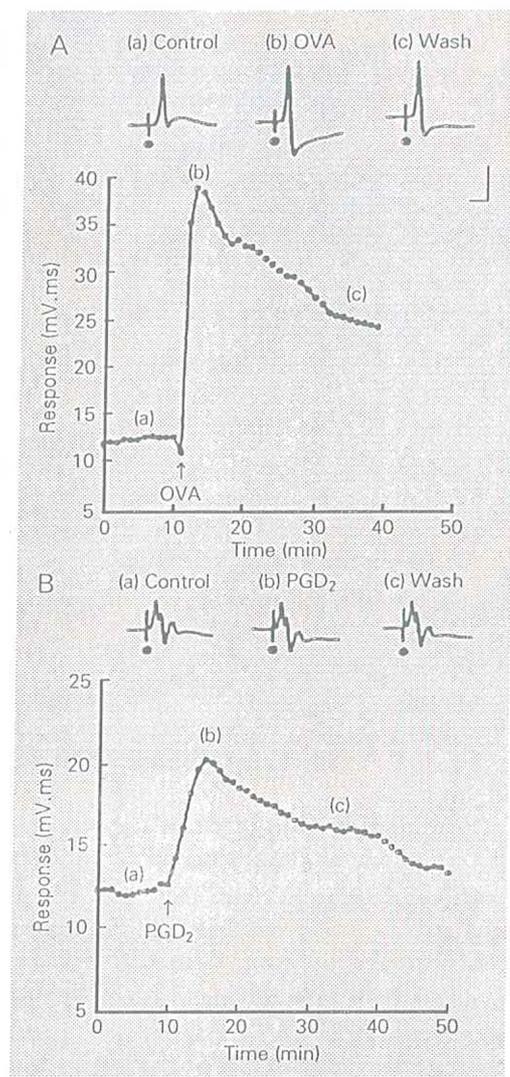
^aMean potentiation lasting ≥ 30 min (LTP); potentiation lasting < 30 min (STP). ^bMean increase in compound action potential (CAP) integral reported as percentage of control integral \pm SEM. For the statistical significance of differences between means, see text. CAP integrals (mV.ms) in preparations exposed to sensitizing antigen and PGD₂ were 17.76 ± 1.67 (N = 60) and 13.24 ± 1.96 (N = 14), respectively, and 31.81 ± 2.34 and 21.27 ± 2.39 , in the presence of these agents. ^cNumber of increases with a duration ≥ 30 min/total of trials. ^dNumber of increases with a duration < 30 min/total of trials.

Agent	Increase in CAP integral in LTP ^a	Increase in CAP integral in STP ^a	No change in synaptic transmission
Sensitizing antigen	94 \pm 8.1 ^b (34/60) ^c	91 \pm 11.9 (26/60) ^d	- (0/60)
PAF (0.3 μ M)	47 \pm 13.7 (5/16)	24 \pm 9.4 (6/16)	- (5/16)
U44619 (1.0 μ M)	34 \pm 6.8 (3/4)	- (0/4)	- (1/4)
PGD ₂ (1.0 μ M)	75 \pm 19.1 (7/15)	34 \pm 13.9 (5/15)	- (3/15)
ET-1 (0.5 μ M)	42 \pm 12.7 (3/12)	26 \pm 5.5 (8/12)	- (1/12)

The third column in Table 1 shows the inflammatory mediators that induced STP with ratios of occurrence that were either higher (ET-1) or lower (PAF and PGD₂) than that produced by the antigen (26/60). The average magnitude of potentiation was significantly smaller (0-34%) than that induced by the antigen ($P < 0.05$, ANOVA and the Scheffé test). The fourth column shows the ratio of occurrence when there was no potentiation of synaptic transmission.

The major finding of the present study is that some mast cell mediators induce short- and long-term synaptic potentiation in the isolated superior cervical ganglion of the guinea pig. Two types of control experiments reported in previous studies (6,8) have shown that these synaptic potentiations are not attributable to artifacts, such as alterations of extracellular series and shunt resistances. Firstly, sensitizing antigen and histamine, although inducing an increase in postsynaptic CAP integral, did not affect the presynaptic CAP. Secondly, CAP evoked by

Figure 1 - Antigen- and prostaglandin D₂ (PGD₂)-induced long-term potentiation in the superior cervical ganglion *in vitro*. Representative course of variation of the compound action potential (CAP) integral (mV.ms; ordinate) recorded before, during (5 min) and after ganglionic exposure to a sensitizing antigen (ovalbumin (OVA); 10 µg/ml) in A or to PGD₂ (1.0 µM) in B. The arrow indicates the time when the challenge started. Insets on top of each panel: actual CAP voltage recordings under control (a) and experimental (b) conditions during exposure to OVA (panel A) or to PGD₂ (panel B) and after wash (c). Each data point represents the average magnitude of the integral of 12 postganglionic CAPs evoked at 0.2 Hz. Calibration: 1 mV, 10 ms.



direct ganglion stimulation in the presence of hexamethonium (1-5 µM) was not affected by either antigen or histamine. Previous investigations have revealed that histamine, an important mediator released from mast cells, can potentiate ganglionic synaptic transmission in guinea pig ganglia. However, this biogenic amine has been convincingly shown not to participate in A-LTP (8). We also observed that preincubation of SCG with indomethacin did not interfere with the induction of A-LTP. Thus, the mast cell mediator(s) responsible for A-LTP remain uncharacterized. The robust LTP produced by exogenously applied PGD₂, a known mast cell-derived lipid mediator, suggests that the involvement of these prostanoids in A-LTP should be reassessed. PAF is also released from mast cells upon antigenic stimulation.

ET-1, though not a known mast cell-derived mediator, may be formed in autonomic ganglia following antigenic stimulation of resident mast cells. Although this cytokine could induce STP and LTP in the guinea pig SCG, the infrequent occurrence of LTP produced by ET-1 makes it unlikely that this peptide plays a major role in A-LTP. However, various mediators may perhaps undergo synergistic interaction and thus significantly contribute to A-LTP.

References

- Bliss TVP & Lomo T (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of anaesthetized rabbits following stimulation of the perforant path. *Journal of Physiology*, 232: 331-356.
- Chung SH (1977). Synaptic memory in the hippocampus. *Nature*, 266: 677-678.
- Teyler TJ & Discenna P (1984). Long-term potentiation as a candidate mnemonic device. *Brain Research Review*, 7: 15-28.
- Hawkins RD, Kandel ER & Siegelbaum SA (1993). Learning to modulate transmitter release: themes and variations in synaptic plasticity. *Annual Review in Neuroscience*, 16: 625-665.
- Weinreich D & Udem BJ (1987). Immunological regulation of synaptic transmission in isolated guinea pig autonomic ganglia. *Journal of Clinical Investigation*, 79: 1529-1532.
- Weinreich D, Udem BJ & Leal-Cardoso JH (1992). Functional effects of mast cell activation in sympathetic ganglia. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 664: 293-308.
- Christian EP & Weinreich D (1992). Presynaptic histamine H1 and H2 receptors modulate sympathetic ganglionic synaptic transmission in the guinea pig. *Journal of Physiology*, 457: 407-430.
- Weinreich D, Udem BJ, Taylor G & Barry MF (1995). Antigen-induced long-term potentiation of nicotinic synaptic transmission in the superior cervical ganglion of the guinea pig. *Journal of Neurophysiology*, 73: 2004-2016.
- Trendelenburg U (1956). The action of 5-hydroxytryptamine on the nictitating membrane and on the superior cervical ganglion of the cat. *British Journal of Pharmacology*, 11: 74-80.
- Briggs CA, McAfee DA & McCaman RE (1988). Long-term regulation of synaptic acetylcholine release and nicotinic transmission: the role of cyclic AMP. *British Journal of Pharmacology*, 93: 399-411.

CAPÍTULO IV

*ESTUDO DAS ALTERAÇÕES NAS
FUNÇÕES SINÁPTICAS
GANGLIONARES PRODUZIDAS
PELA HIPERTENSÃO
EXPERIMENTAL*

1. INTRODUÇÃO

Uma exagerada atividade basal do sistema nervoso simpático, tem sido implicada no desenvolvimento e na manutenção da hipertensão observada em SHR, bem como na hipertensão essencial (JUDY et al.,1976; TOUW et al.,1980; FROHLICH,1982; SCHRAMM & CHRONOBY,1982).

Estudos com SHR têm demonstrado a existência de (i) um aumento basal do tônus simpático dos nervos simpáticos viscerais e não viscerais, e uma elevada descarga simpática durante e após a estimulação do hipotálamo anterior (JUDY et al.,1976; JUSKEVICH et al.,1978; TAKEDA & BUÑAG,1978; THOREN & RICKSTEN,1979; SCHRAMM & BARTON,1979; FOLKOW,1982); (ii) um aumento das catecolaminas plasmáticas, bem como um aumento da atividade da enzima dopamina- β -hidroxilase (ROIZEN et al.,1975); (iii) um aumento nos níveis de nucleotídeos cíclicos nos gânglios simpáticos (ARIANO & KENNY,1987); (iv) uma hiper-atividade simpática em resposta à estímulos estressantes (LUNDIN & THOREN,1982; KOEPKE et al.,1987); (v) uma hiper-resposta vasoconstrictora em vários órgãos, seguindo a estimulação dos nervos simpáticos (YAMAGUCHI & KOPIN,1980), e (vi) uma exagerada sensibilidade para a NE em músculos arteriais (HERMSMEYER,1976).

Dessa forma se encontra bem estabelecido na literatura a ocorrência de um aumento na atividade basal do sistema nervoso simpático, durante o estado hipertensivo.

Por outro lado, sabe-se também que alguns glicosídeos cardíacos estão implicados na geração de hipertensão. Estudos sugerindo explicação para esse fenômeno já datam de 1942 (REIN,1942).

É geralmente aceito que os glicosídeos cardíacos promovem sua ação cardiotônica ligando-se ao sítio de reconhecimento da $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$, exposto extracelularmente (AKERA,1977; ANNER,1985). A presença de um sítio de

reconhecimento específico para os digitálicos na $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$, levanta a questão de que certos compostos endógenos possam interagir fisiologicamente com essas estruturas, e assim, regular a função da $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ em todos os tecidos, inclusive o coração. Essa sugestão data de alguns anos, e já em 1942, REIN relatou que o fígado podia elaborar uma substância similar aos digitálicos, que melhorava a contração de um coração insuficiente (LaBELLA, 1985). Subsequentemente, SZENT-GYORGYI (1953) sugeriu que os digitálicos não são drogas, mas substitutos para compostos endógenos que podem ser reguladores fisiológicos da contração do músculo cardíaco. Desde então, existem especulações de que reguladores endógenos da $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ (bomba de sódio) com propriedades dos glicosídeos cardíacos possam existir nos animais.

A utilização dos glicosídeos cardíacos no tratamento da insuficiência cardíaca e em certas arritmias, vem sendo feita por mais de 2 séculos. Nos últimos 40 anos eles têm sido empregados extensivamente como ferramenta experimental no bloqueio seletivo da bomba $\text{Na}^+\text{-K}^+$ (e na $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ da membrana plasmática, a manifestação bioquímica da bomba) (ALLEN et al., 1971; TSUDA et al., 1989).

Altas concentrações de glicosídeos cardíacos ($> 10^{-6}$ M) são suficientes para bloquear a maioria das bombas $\text{Na}^+\text{-K}^+$, e portanto são letais. De fato, muitos desses compostos têm sido utilizados como venenos em flechas e lanças por nativos Africanos e Sulamericanos (FIESER & FIESER, 1959).

Os glicosídeos cardíacos foram formalmente introduzidos no armamentário médico como um tratamento para a “dropsy” (insuficiência cardíaca congestiva com edema) por WILLIAM WITHERING em 1785. Contudo, bem antes de WITHERING, os digitálicos foram utilizados em vários medicamentos tópicos (GROVES & BISSET, 1991). Foram utilizados terapêuticamente pelos anciãos Gregos, Egípcios e Romanos (FIESER & FIESER, 1959; GREEFF & SCHADEWALDT, 1981), e mencionados no EBERS

PAPYRUS (cêrca de 1500 a.c.) e recomendados no Corpus Hippocraticum (cêrca de 400 a.c.) para produzir diurese (MOVITT,1949; GREEFF & SCHADEWALDT,1981). Foram identificados como “Flores glofa” no livro farmacêutico Irlandês “Meddygon Myddmai” por volta de 1250 (GREEFF & SCHADEWALDT,1981; SKOU,1986), e LEONHART FUCHS, primeiro aplicou o nome “digitálicos” a dedaleira utilizada na preparação de seu shampoo (GREEFF & SCHADEWALDT,1981; JUNG,1986; SCHADEWALDT,1986; SKOU,1986), e este foi, então, incluído na Farmacopéia Londrina de 1650 (GREEFF & SCHADEWALDT,1981). Entretanto, foram os cuidadosos e sistemáticos ensaios clínicos de WITHERING com os extratos da *Digitalis purpurea* (WITHERING,1785; e veja SKOU,1986), que claramente estabeleceram a utilidade dos esteróides cardiotônicos no tratamento da insuficiência cardíaca congestiva. Desde então, essas substâncias estão entre as principais drogas utilizadas para o tratamento dessas anomalias, uma vez que as mesmas estão entre as 20 drogas mais prescritas no mundo inteiro. Contudo, o uso clínico e o mecanismo celular das mesmas continuam sendo controverso (FOZZARD & SHEETS,1985; SMITH,1988; ANTMAN & SMITH,1989; THOMAS et al.,1990).

A ação potenciadora dos glicosídeos cardíacos sobre a ação do nervo vago e da ACh no coração, tem sido examinada por muitos investigadores mas com resultados conflitantes. A potenciação foi encontrada na preparação coração-pulmão de cachorro e no coração isolado de rã, sapo, coelho e de feto humano (ABDON et al.,1938; ABDON & NIELSEN,1938), enquanto outros trabalhos encontraram que essas substâncias produziam um aumento na susceptibilidade ao estímulo vagal (GAFFNEY et al.,1958). Por outro lado, alguns autores não encontraram nenhum efeito (WELLS et al.,1943).

Como os glicosídeos modificam as trocas de K^+ e Na^+ através da membrana celular do músculo estriado, tem-se assumido que a ação direta dessas

substâncias no miocárdio, também resulte de um desequilíbrio desse tipo, levando assim, a uma potenciação da ação da ACh nessas células. Contudo, a ação dos glicosídeos no coração também pode ser explicada de uma outra maneira, ou seja, eles podem potenciar a ação da ACh por sensibilização das células ganglionares vagais intracardíacas ao invés das células miocárdias. Essa possibilidade foi vislumbrada por KONZETT & ROTHLIN (1952) que demonstraram que os glicosídeos além de potenciarem o efeito da ACh, também potenciavam a estimulação do nervo pré-ganglionar do SCG do gato, o que foi posteriormente confirmado por PERRY & REINERT (1954). Tais autores sugeriram então, que os glicosídeos podem ter um efeito semelhante nas células ganglionares vagais intracardíacas. Em adição, esses autores mostraram que a bradicardia produzida por pequenas doses de ACh no coração perfundido de gato, podia ser prevenida por pequenas doses de bloqueadores ganglionares. Tal observação permitiu a esses pesquisadores concluírem que a ACh, em tais doses, atuava em células ganglionares vagais intracardíacas, e que a ação direta da ACh no miocárdio seria produzida somente com doses elevadas. Assim, no tecido cardiovascular, a literatura documenta que os glicosídeos cardíacos afetam tanto a divisão simpática como a parassimpática do ANS, bem como o próprio tecido cardiovascular (MOE & HAN, 1969).

De há muito é conhecido que os glicosídeos cardíacos apresentam importantes efeitos no ANS. Entretanto, a extensão e a complexidade dessa interação começou a ser apreciada somente na década de 70 (LEVITT et al., 1970; GILLIS, 1975). Essas substâncias parecem atuar em todos os níveis do arco reflexo autonômico para influenciar a função vascular. Interações ocorrem com quimio e barorreceptores, estruturas do CNS, gânglios, terminações nervosas pré- e pós-ganglionares, com terminações colinérgicas, bem como receptores adrenérgicos pós-sinápticos (KONZETT & ROTHLIN, 1952; PERRY & REINERT, 1954; MÉNDEZ et al., 1961a; TODA & WEST, 1966; QUEST &

GILLIS,1971;).

Em relação ao componente aferente da via reflexa autonômica, tem sido demonstrado que os glicosídeos cardíacos aumentam a velocidade de descarga dos neurônios do tronco nervoso do seio carotídeo (McLAIN,1970; QUEST & GILLIS,1971;1974). Nesse caso, a velocidade das fibras quimio e barorreceptoras no seio carotídeo, está aumentada.

Se os efeitos autonômicos dos glicosídeos cardíacos ocorrem como resultado de interações com estruturas do CNS, é controverso. Ou seja, é difícil verificar a partir da literatura se os sítios de estimulação no CNS são de importancia quando os digitálicos são administrados sistemicamente. GILLIS e colaboradores observaram que altas doses de digitálicos administradas sistemicamente, causam aumento da atividade nervosa simpática pré-ganglionar, o que está de acôrdo com um mecanismo central (GILLIS,1969; GILLIS et al.,1972;1978; PACE & GILLIS,1976). Ao contrário desses achados, WEAVER et al.(1976), encontraram que doses tóxicas de glicosídeos sómente aumentam a atividade em nervos pós-ganglionares e não em pré-ganglionares. Entretanto, dois outros trabalhos parecem dar suporte aos achados de GILLIS e colaboradores, de que os glicosídeos atuam no CNS para aumentar o fluxo simpático. Em um deles, a administração de ouabaina aumentou a descarga simpática pré-ganglionar provocada por estimulação elétrica no hipotálamo posterior (EVANS & GILLIS,1975), e no outro, a digoxina produziu constricção coronariana mediada simpaticamente, em experimentos de perfusão cruzada (GARAN et al.,1974).

Resultados obtidos através de medidas da descarga de nervos parassimpáticos pré-ganglionares, são também consistentes com a ação dos glicosídeos em excitar os centros autonômicos centrais. McLAIN (1969), GILLIS et al.(1972) e PACE & GILLIS (1976) têm demonstrado um aumento na velocidade de disparo dos neurônios no tronco nervoso vagal após a administração de doses sub-arritmicas e arritmicas de glicosídeos. Também

apoiando um sítio central de ação para os efeitos vagomiméticos dessas substâncias, estão os achados de GREENE & PEELER (1915), KRAYER (1944) e CHAI et al.(1967). KRAYER observou efeitos vagomiméticos quando glicosídeos cardíacos eram injetados no suprimento arterial do cérebro de cachorro perfundido separadamente, enquanto CHAI et al., observaram esse efeito quando essas substâncias eram injetadas tanto na artéria vertebral como na cânula implantada no 4º ventrículo do cérebro de gato. Contudo, a consequência dessa ação para a função cardíaca tem sido descrita como mínima (CHAI et al.,1967) ou mesmo ausente, dependendo da preparação testada (KRAYER,1944). Assim, embora os glicosídeos cardíacos administrados diretamente no CNS produzam efeitos vagais (CHAI et al.,1967), existem poucas evidências para um efeito central quando administrados sistemicamente. A estimulação vagal pelos digitálicos parece ser devida a estimulação de receptores no sinus carotídeo e no arco aórtico, mas existe alguma evidência de que certos receptores sensoriais cardíacos também estejam envolvidos (OBERG & THOREN,1972).

Nos nervos autonômicos pré-ganglionares, efeitos dos glicosídeos cardíacos têm sido observados por BIRKS (1963), que demonstrou que a ACh liberada era significativamente aumentada na presença de digoxina. Em adição, TEN EICK & HOFFMAN (1969) demonstraram um aumento no potencial evocado registrado tanto a partir de nervos pré-ganglionares simpáticos como parassimpáticos.

Os gânglios autonômicos também são afetados pelos glicosídeos cardíacos. KONZETT & ROTHLIN (1952) demonstraram que essas substâncias potenciaram a resposta contrátil da membrana nictante para a ACh e o K, administrados diretamente no SCG. Esses mesmos autores, também observaram potenciação das respostas contráteis ao estímulo das fibras pré-ganglionares. PERRY & REINERT (1954) utilizando a mesma preparação obtiveram

resultados semelhantes. Por outro lado, WEAVER et al.(1976) concluíram de seus estudos com registros da atividade espontânea de terminações nervosas simpáticas pós-ganglionares, que os glicosídeos cardíacos estimulam os gânglios simpáticos. Eles observaram aumento da atividade simpática pós-ganglionar, mas nenhum aumento na atividade nervosa pré-ganglionar. Ainda nesse contexto, GILLIS (1975) reportaram que a administração de glicosídeos pode resultar na ativação de receptores ganglionares muscarínicos pela ACh liberada pelas terminações nervosas pré-ganglionares.

Já em relação aos nervos autonômicos pós-ganglionares, existem relatos de que a administração de glicosídeos irá aumentar a excitabilidade desses nervos (TEN EICK & HOFFMAN,1969). Entretanto, os dados têm demonstrado que nos nervos vagos, doses anti-arrítmicas, bem como doses arrítmicas, são capazes de causar aumento de disparo desses nervos, enquanto nos nervos eferentes simpáticos, o aumento de disparo é sómente observado com doses tóxicas. Doses pequenas ou anti-arrítmicas, geralmente resultam numa diminuição da descarga simpática (GILLIS,1969; PACE & GILLIS,1976). Isso provavelmente se deve ao fato de que doses sub-arrítmicas ativam o componente aferente do reflexo simpático, resultando numa redução do fluxo simpático central. Já grandes doses, presumivelmente exercem um efeito no CNS, o qual ofusca o efeito do reflexo periférico e resulta num aumento do fluxo simpático (GILLIS,1969; PACE & GILLIS,1976).

GILLIS (1969), demonstrou que a ouabaina pode produzir uma inibição ou uma estimulação da atividade espontânea em nervos simpáticos. A inibição parece ser de natureza reflexa e não está presente quando os nervos são seccionados. A estimulação está correlacionada com o desenvolvimento das arritmias cardíacas e é antagonizada pelo propranolol. Entretanto, alguns investigadores não foram capazes de estabelecer a correlação entre a atividade neural autonômica cardíaca e a indução de cardiotoxicidade pelos glicosídeos.

Tais investigadores reportaram que a interrupção cirurgica ou farmacológica da influência neural no coração não altera a habilidade dos glicosídeos em induzir desordens no ritmo cardíaco (MORROW et al.,1963; WILLMAN et al.,1965; SMITH et al.,1968; KOCH-WESER,1971). Esses pesquisadores concluíram que a cardiotoxicidade induzida pelos digitálicos resulta de uma ação direta dessas substancias sobre as células do miocárdio. Dessa forma, os efeitos dos glicosídeos sobre o reflexo periférico e sobre o CNS têm ações opostas no fluxo simpático, e ambos os efeitos, resultam num aumento do fluxo eferente vagal.

Assim, embora o papel dos glicosídeos cardíacos sobre o sistema nervoso simpático tenha sido estudado por muitos investigadores, as opiniões são bastante divergentes. De acôrdo com alguns, o sistema nervoso simpático é ativado por essas substâncias, e os efeitos dessa ativação contribuem para as respostas contráteis (TANZ,1964) e arritmogênicas (ROBERTS et al.,1965). Já outros admitem que o sistema nervoso simpático é inibido pelos glicosídeos cardíacos e os efeitos dessa inibição modifica a velocidade cardíaca de propagação do estímulo cardíaco (MÉNDEZ et al., 1961a), o período refratário (MÉNDEZ et al.,1961b), e as respostas contráteis (DAGGETT & WEISFELDT,1965). Dois desses autores reportaram que os glicosídeos inibem as descargas eferentes das fibras nervosas pré- e pós-ganglionares do gânglio estrelar (DAGGETT & WEISFELDT,1965). Por outro lado, alguns investigadores sustentam que essas substancias não são dependentes do sistema nervoso simpático para as suas funções (WILLMAN et al.,1965).

Ainda sobre o papel dos digitálicos sobre o sistema nervoso simpático, existe uma vasta literatura sobre os efeitos dessas substancias na síntese, estocagem, liberação, re-captção e catabolização das catecolaminas. Entretanto, os resultados são bastante conflitantes, variando em largo espectro de possibilidades, como aumento, inibição e mesmo ausência de efeitos. Ouabaina tem sido encontrada diminuindo a síntese de NE no CNS (ANAGNOSTE &

GOLDSTEIN,1967; GOLDSTEIN et al.,1970). Já estudos relacionados com a estocagem, têm demonstrado tanto um aumento (ANGELUCCI et al.,1966; HARVEY,1975) como nenhuma alteração (SWAMY et al.,1965; TANZ et al.,1968; KOCH-WESER,1971) no conteúdo de catecolaminas em órgãos como o coração, adrenais, baço e cérebro. Por outro lado, a maioria dos estudos sobre a liberação das catecolaminas, têm demonstrado que os glicosídeos cardíacos produzem um aumento na liberação (KISPERKAR et al.,1970; SEIFEN,1974; HARVEY,1975) embora KOCH-WESER (1971) não tenha encontrado nenhuma alteração no coração isolado de gato. Em relação aos mecanismos de re-captção, os achados são também bastante conflitantes. Entretanto, a maioria dos investigadores têm demonstrado uma inibição *in vitro* (DENGLER et al.,1962; LEITZ & STEFANO,1970; STICKNEY,1976). Em adição, EIKENBURG & STICKNEY (1977) demonstraram inibição *in vivo*, no cobaio.

Dessa forma, os dados da literatura parecem sugerir que os glicosídeos cardíacos em concentrações terapêuticas e sob condições *in vivo*, têm pequeno ou nenhum efeito direto sobre o sistema nervoso simpático (ECKSTEIN et al.,1961; SWAMY et al.,1965; LEVY & RICHARDS,1965a,b; FAWAZ,1967; SPANN et al.,1968; KOCH-WESER,1971; JOUBERT,1976). Contudo, parece evidente a sugestão de que devido a mudanças hemodinâmicas sob condições normais e particularmente na insuficiência cardíaca ou devido a um efeito direto sobre os barorreceptores e quimiorreceptores no sinus carotídeo e no arco aórtico, pode ocorrer uma diminuição do tônus simpático por ação reflexa. Já em concentrações tóxicas, contudo, existem amplas evidências para um efeito simpaticomimético (BOYAJY & NASH,1965; TAKAGI et al.,1965; LEVITT & ROBERTS,1966; ATTRÉE et al.,1972; NADEAU & DE CHAMPLAIN,1973; DOGGETT & CASE,1975).

Além de seus efeitos no coração e músculo estriado (LEVITT et al.,1970), os glicosídeos cardíacos também apresentam um efeito bem conhecido

no CNS (GOLD et al.,1947). Existem dados na literatura indicando que os glicosídeos cardíacos exercem importantes efeitos excitatórios no tronco cerebral (veja a revisão : LEVITT et al.,1970). Tem sido demonstrado que essas substancias produzem convulsões (WEISS,1932; GOLD et al.,1947), vômitos (HATCHER & EGGLESTON,1912; BORISON & WANG,1951; BORISON & BRIZZEE,1951; WANG & BORISON,1952; GAITONDE et al.,1965), além de outras desordens nas funções do CNS (BATTERMAN & GUTNER,1948). Muitos investigadores têm reportado arritmias após a administração de glicosídeos cardíacos diretamente no CNS (WEINBERG & HALEY,1955; STICKNEY & LUCCHESI,1969; DOGGETT & SPENCER,1971). Nesse caso, a área mais sensível parece ser o hipotálamo posterior (SAXENA & BHARGAVA,1975). Por outro lado, parece não existir concentração preferencial em áreas cerebrais específicas após a administração sistêmica (DUTTA et al.,1977).

Ações respiratórias dos digitálicos, também têm sido documentadas (USUBIAGA et al.,1968; SOHN et al.,1970; STICKNEY & MEYERS,1973).

Estimulação respiratória tem sido descrita após a administração de doses moderadas de glicosídeos cardíacos. Descargas aumentadas no nervo frênico e hiperventilação têm sido reportadas após administração intravenosa de digoxina em gatos (GILLIS et al.,1972; PACE & GILLIS,1976; VIANA,1977). Em doses maiores podem causar paralisia respiratória. Assim, inicialmente os digitálicos induzem hiperventilação, mas quando grandes doses são aplicadas, ocorre um prejuízo na eficiência das trocas dos gases respiratórios (SOHN et al.,1970). Os dados da literatura também mostram, que a resposta respiratória aos digitálicos parece ser determinada pela espécie, o tipo e a dose utilizados.

Dois mecanismos têm sido propostos para a paralisia respiratória causada pelos glicosídeos cardíacos. Ouabaina administrada diretamente em certas áreas medulares, em gatos, produziu depressão respiratória (BASU-RAY

et al.,1972), sugerindo um sítio de ação central. Por outro lado, experimentos com animais intactos, bem como em preparações isoladas de frênico-diafragma, sugeriram que a perda de potássio pelos músculos respiratórios e outros músculos, com resultante hipercalemia e distúrbio do gradiente sódio-potássio através das membranas celulares, pode ser o responsável direto pela paralisia. Evidências para ambos os mecanismos têm sido obtidas (DAL-RI & SCHMIDT,1960). GILLIS et al.(1972) demonstraram que a ativação neural produzida pela ouabaina tem um significativo papel no desenvolvimento das arritmias cardíacas e na hiperventilação, e que os processos que diminuem a influência neural (propranolol e secção espinhal) previnem ou reverterem a cardiotoxicidade induzida pela ouabaina.

Os glicosídeos também apresentam importantes ações na junção neuroefetora autonômica. Estudos realizados com a junção neuroefetora parassimpática do coração, revelam um aumento nas respostas colinérgicas no nodo sino-atrial (S-A) (GAFFNEY et al.,1958; TODA & WEST,1966; CHAI et al.,1967), e no nodo atrio-ventricular (A-V) (GAFFNEY et al.,1958; GREENSPAN & LORD,1973). Já os estudos realizados com junção neuroefetora simpática, têm sido feitos utilizando-se tecidos cardíaco, vascular e não-vascular. No tecido cardíaco, alguns investigadores reportaram que a resposta cronotrópica positiva (sinoatrial, juncional e ventricular) em resposta a injeção de catecolaminas ou estimulação nervosa simpática, é bloqueada (MÉNDEZ et al.,1961a,b; NADEAU & JAMES,1963; ROBERTS,1970; SEIFEN,1974), inalterada (GILLIS,1975) ou aumentada (PEARLE & GILLIS,1974) pelos glicosídeos cardíacos. Os achados em tecidos vascular e não-vascular indicam somente um aumento da resposta contrátil pelos digitálicos, tanto para a estimulação nervosa simpática como para as catecolaminas (OZAWA & KATSURAGI,1972;1974; BROCKAERT & GODFRAND,1973).

Ouabaina é um glicosídeo cardíaco, previamente imaginado como só existindo em plantas, a partir da casca e da raiz da árvore Ouabaio (*Acocanthera ouabaio* ou *schimperi*) do leste da África, e das sementes do *Strophanthus gratus*, mas recentemente demonstrado em animais, inclusive no homem, como uma provável substância endógena, estando presente em todos os tecidos de mamíferos, especialmente na cortex adrenal (HAMLYN et al.,1990;1991; MANUNTA et al.,1992a,b,c; LUDENS et al.,1992). Desde 1900, tem sido utilizada intravenosamente no tratamento do choque, na insuficiência cardíaca congestiva e em certas arritmias (HORTON & DAVISON,1955). Não é utilizável como um agente oral porque é muito hidrofílica e muito pobremente absorvida a partir do intestino (GREEFF & WIRTH,1981). Contudo, ouabaina, é clinicamente utilizável como cardiotônico quando administrada parenteralmente, e por causa de sua pronta solubilidade em meio aquoso tem sido extensivamente utilizada para propósitos experimentais, especialmente para estudos *in vitro*.

As plantas *Strophanthus* e a árvore Ouabaio são membros da família *Apocynaceae*, a qual inclui um número de espécies que produzem substâncias cardioativas. As plantas *Strophanthus* foram primeiramente descritas e nominadas pelo botânico Francês Descandolle (citado por MOVITT,1949). Por outro lado, JOHN KIRK um botânico da expedição de DAVID LIVINGSTONE no leste da África (1858-1864), administrou em si próprio o veneno de flechas (“kombi” ou “strophnathin k”), extraído das sementes do *S.kombé*, e reportou que o mesmo diminuiu seu pulso (LIVINGSTONE & LIVINGSTONE,1865). Em adição FAGGE & STEVENSON(1865) mostraram que essa substância causou parada cardíaca em sapos, e juntamente com PELIKAN (1865) comentaram sobre as similaridades de ação desses extratos com aqueles de plantas do gênero *Digitalis*. Em 1888, ARNAUD descobriu e nomeou ouabaina, ao veneno de flechas, que ele isolou na forma cristalina a partir da casca e da raiz da árvore Ouabaio. Ele também demonstrou que essa substância era idêntica ao veneno das

flechas (“strophanthin g”) dos Pahouins, um povo indígena de Gabão, Oeste da África, isolado do *S.gratus* (ARNAUD,1888; JACOBS & BIGELOW,1932).

Em relação à pressão arterial, embora a administração aguda de glicosídeos cardíacos ao homem normal esteja associada com uma ação vasopressora de curta duração (MASON & BRAUNWALD,1964; GUTHRIE Jr.,1984; CAPPUCCIO et al.,1986) ou raramente com uma franca hipertensão (KUMAR et al.,1973), a indução de hipertensão crônica em pacientes submetidos a uma terapia de longa duração com digoxina não tem sido reportada e é provavelmente, insignificante clinicamente (SMITH & HABER,1973). Além disso, os digitálicos podem ser úteis terapêuticamente no tratamento de alguns pacientes com hipertensão (ABARAQUEZ,1967). Em adição, a inabilidade dos glicosídeos cardíacos em produzir hipertensão quando administrado em várias espécies (OVERBECK et al.,1980; OVERBECK,1981; NIRASAWA et al.,1985; SPENCE et al.,1989) tem reforçado a opinião de que os inibidores endógenos da bomba de sódio tenham pequena ou nenhuma ação pressora. Entretanto, recentemente HAMLIN e colaboradores, demonstraram que a ouabaina, surpreendentemente, produz hipertensão em ratos, e que a mesma está associada com a hipertensão humana. A infusão prolongada e contínua de ouabaina em ratos normais, aumenta dose-dependentemente os níveis desse esteroide na circulação, rins, hipotálamo e pituitária, e aumenta a pressão sanguínea sem produzir toxicidade. O aumento na pressão sanguínea não é afetada pelo teor de sal da dieta, é reversível e ocorre na ausência das adrenais (MANUNTA et al.,1994).

Dado o fato da literatura demonstrar que durante o estado hipertensivo ocorre um aumento da atividade basal do sistema nervoso simpático e utilizando-se como modelo experimental, aquele desenvolvido por HAMLIN e col. para indução de hipertensão (HAMLIN & MANUNTA,1992; YUAN et al.,1993; MANUNTA et al.,1994) , neste estudo procurou-se elucidar se alterações na

transmissão sináptica ganglionar simpática participam do aumento da atividade do sistema nervoso simpático durante o estado hipertensivo. Nossos resultados demonstram uma significativa amplificação do potencial de ação composto basal (CAPb) produzida pelo tratamento com os glicosídeos cardíacos, e um bloqueio da PTP induzida pelo tratamento prolongado com ouabaina.

2. MÉTODOS

2.1. PRODUÇÃO DA HIPERTENSÃO EXPERIMENTAL

2.1.1. Animais

Foram utilizados ratos machos *Sprague-Dawley* (acima de 6 semanas de idade), pesando entre 220 e 530 g, obtidos a partir da Zivic Miller Inc. (Zelienople, Pennsylvania, USA) e mantidos no biotério local durante o período de experimentação.

Os animais foram mantidos em ambiente com ar condicionado a uma temperatura constante de $23 \pm 1^\circ\text{C}$, com um ciclo claro/escuro de 12 horas, e submetidos a uma dieta normal (0,5-1% de sódio; 1.1% de potássio) e com livre acesso a água.

O peso corporal de todos os animais foi controlado uma vez por semana e os mesmos foram aclimatados ao meio durante 10 dias antes dos experimentos serem iniciados.

2.1.2. Infusão da Ouabaina

Os animais receberam octahidrato de ouabaina (Sigma Chemical Co), Digoxina ou então o veículo (solução salina tamponada com fosfato) que foram infundidas por meio de bombas mini-osmóticas (ALZET 2002; ALZA Corporation, Palo Alto, CA, USA) a uma velocidade de bombeamento de 12 μ l/dia.

Ouabaina e Digoxina, foram dissolvidas em solução salina estéril tamponada com fosfato, para produzir uma dose a ser infundida de 30 μ g/kg/dia.

As bombas mini-osmóticas foram equilibradas em solução salina estéril tamponada com fosfato, durante a noite anterior à implantação. Sob anestesia com éter, a região dorsal do animal foi depilada e esterilizada com solução iodada. Foi, então, feita uma incisão na pele do animal e uma bomba foi inserida subcutaneamente e clips foram usados para fechar a incisão. O procedimento cirúrgico levou cerca de 5 minutos e a recuperação dos animais em torno de 10 minutos.

As bombas foram recolocadas a cada 14 dias e a função das mesmas foi avaliada rotineiramente durante a recolocação e após o sacrifício dos animais, pela inspeção do volume remanescente do infusato.

2.1.3. Medidas da Pressão Arterial

A pressão sanguínea sistólica indireta e a pressão arterial média, foram registradas uma vez por semana, através de um pletismógrafo tail-cuff, utilizando-se um sistema fotoelétrico comercial (medidor da pressão sanguínea acoplada a um amplificador, modelo 29; IITC, Inc., Woodland Hills, CA, USA) e um aparelho fornecendo a razão constante do manguito de inflação e deflação. A saída de ambos os aparelhos foi registrada em um polígrafo (Gould Inc., Valley

View, Ohio, USA).

Nesse procedimento, ratos conscientes foram retidos em caixas de acrílico por 5 a 10 minutos, em uma sala quente e silenciosa, e foram condicionados a numerosos ciclos do manguito de inflação/deflação, por um operador treinado.

Os valores médios para a pressão sanguínea e a frequência cardíaca em cada animal foram subseqüentemente obtidas a partir de 4 a 6 ciclos sequenciais do manguito de inflação/deflação.

O princípio das oscilações durante a fase de deflação do manguito com esse instrumento acoplado ao amplificador modelo 29, representa a pressão sanguínea sistólica, enquanto a amplitude maximal das oscilações, corresponde a pressão arterial média em ratos retidos acordados (BUÑAG & TERÄVÄINEN,1991). Além disso, as variações nas pressões sanguíneas indiretas obtidas sob essas condições, correspondem bem ($r^2 > 0.9$) aquelas registradas simultaneamente a partir de cateteres intra-arteriais sobre a variação 80-200 mmHg, obtidas em nosso laboratório (ASHEN & HAMLIN, comunicação pessoal).

2.2. PREPARAÇÃO DOS TECIDOS E PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Foram utilizados gânglios cervicais superiores de ratos *Sprague-Dawley* que desenvolveram hipertensão pela administração crônica de Ouabaina (30 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dia}$, durante 47 dias); gânglios de animais em estágio de pré-hipertensão pela administração de Ouabaina (30 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dia}$, durante 14 dias); gânglios de animais tratados com Digoxina (30 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dia}$, durante 35 dias) e gânglios de animais controle tratados com solução salina, durante o mesmo período em que foram realizados os experimentos.

O sacrifício dos animais foi feito por decapitação após a administração de pentobarbital (15 mg/rato) e logo a seguir, removidas as bifurcações das carótidas direita e esquerda contendo o respectivo SCG.

Após a dissecação, os gânglios foram imediatamente submersos em solução de Locke gelada (5°C), cuja composição em mM foi a seguinte : NaCl, 136,0; KCl, 5,6; NaHCO₃, 14,3; NaH₂PO₄, 1,2; CaCl₂, 2,2; MgCl₂, 1,2; Dextrose, 11,0; Cloreto de Colina, 0,03, acrescida de Hexametônio (200µM), e equilibrada continuamente com 95% de O₂ e 5% de CO₂ (pH 7.2-7.4). A seguir os gânglios foram transferidos para uma câmara de dissecação contendo solução de Locke à temperatura ambiente (22-24 ± 1°C) onde foram removidos os excessos de tecido conjuntivo, vasos sanguíneos e da capa de tecido conjuntivo que os recobre. Foram, então, colocados na câmara de registro (volume ~ 0,25 ml) e perfundidos (2 ml/min) com solução de Locke + Hexametônio (200 µM), aerada e mantida a temperatura ambiente.

2.3. REGISTRO ELETROFISIOLÓGICO

O registro eletrofisiológico utilizado foi o mesmo empregado no Capítulo II, excetuando-se o fato de que a frequência do estímulo utilizada foi de 0,033 Hz e a intensidade foi , em todos os casos (exceto naqueles experimentos para a medida input/output), 20% acima da mínima para, no controle, produzir o valor máximo da integral do CAP pós-ganglionar.

Após o estabelecimento da linha de base, todos os gânglios foram submetidos a um trem de estimulação (Buzz) de 40 Hz durante 20 segundos.

Curvas input/output foram construídas para se obter a descrição da eficiência sináptica ou eficiência de todo o sistema. A função input/output

descreve a razão entre as magnitudes do impulso aferente e eferente. Tais curvas foram obtidas colocando-se três eletrodos na fibra pré-ganglionar (dois de platina para estimulação, e um terceiro de sucção para registro do CAP), e um eletrodo de sucção para o registro do CAP na fibra pós-ganglionar. Essas curvas foram , então, construídas usando-se a integral e a amplitude pico a pico dos CAPs pré- e pós-ganglionares, enquanto a voltagem do estímulo foi variada da limiar à maximal.

2.4. ANÁLISE DOS DADOS

O efeito da aplicação de um trem de estimulação (Buzz) na transmissão sináptica ganglionar foi determinado pelas mudanças na integral e na amplitude pico a pico do CAP pós-ganglionar, seguindo o mesmo padrão e a mesma técnica de aquisição de dados apresentados no Capítulo II.

2.5. PREPARAÇÃO E FONTE DAS SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS

Todos os sais utilizados, bem como o octahidrato de ouabaina, a digoxina, o tampão fosfato e o hexametônio, foram de pureza analítica, obtidos a partir da Sigma Chemical Corp.(St. Louis, Missouri,USA).

Ouabaina e digoxina foram dissolvidas em solução salina estéril (0,9%) na concentração de 20 µg/ml, e então estocada no escuro por mais de uma semana à 4°C.

2.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Veja secção 2.9 do Capítulo II.

3. RESULTADOS

3.1. EFEITOS NA PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA (PAM) PRODUZIDOS PELO TRATAMENTO CRÔNICO COM DIGITÁLICOS

Em animais tratados durante 47 dias com infusão contínua de ouabaina (30 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dia}$) a monitorização semanal da pressão arterial média, não registrou alteração significativa (ANOVA) dessa pressão, em relação ao controle ($108,0 \pm 2,10$ mmHg, $n=12$) até o 14º dia de tratamento, mas a partir dessa data elevou-se progressivamente até estabilizar-se por volta do 35º dia em valores significativamente diferentes do controle ($p < 0,05$; ANOVA e contraste pela técnica de Scheffé) (Figura IV-1).

Os valores de pressão arterial média ao 14º e 47º dia de tratamento com ouabaina foram $106 \pm 3,68$ mmHg, $n=8$ e $121,1 \pm 1,05$ mmHg, $n=7$, respectivamente. Em animais tratados durante 35 dias com infusão contínua de digoxina (30 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dia}$), a monitorização semanal da pressão arterial média não registrou alteração dessa pressão, que ao fim do tratamento foi de $105,5 \pm 2,10$ mmHg, $n=8$, valor não significativamente diferente do controle (ANOVA).

3.2. ALTERAÇÃO NO POTENCIAL DE AÇÃO COMPOSTO BASAL (CAPb) PRODUZIDA PELO TRATAMENTO CRÔNICO COM DIGITÁLICOS

Na apresentação dos resultados que se segue, a um dado grupo de valores das medidas de um dado parâmetro no 14° e 47° dia de tratamento com ouabaina, chama-se-á “pré-hipertensão” (PHIP) e ouabaina (OUAB), respectivamente. As medidas no 35° dia de tratamento com a digoxina chamar-se-á “digoxina” (DIGO), e o grupo de animais tratados com solução salina, chamar-se-á controle (CONT).

Em PHIP, OUAB e DIGO houve alteração da integral e da amplitude pico a pico do CAP pós-ganglionar evocado pela frequência basal de estimulação (0,033 Hz), que passaremos a denominar CAP basal (CAPb).

Os valores da integral e da amplitude pico a pico do CAPb são mostrados em valores absolutos, na Tabela IV-1 e em percentuais do valor controle (preparações não submetidas a tratamento), na Figura IV-2. Para todos os tratamentos esses valores diferiram significativamente do controle ($p < 0,05$, ANOVA e contraste pela técnica de Scheffé).

Em situação controle (preparações não submetidas a tratamento), uma maneira de se obter potenciação da transmissão sináptica é aplicar um trem de estímulos ao nervo pré-sináptico, e essa potenciação se chama PTP.

3.3. EFEITOS DA POTENCIAÇÃO PÓS-TETÂNICA (PTP) PRODUZIDA PELA APLICAÇÃO DE UM TREM DE ESTIMULAÇÃO (Buzz; 40 Hz/20 seg)

Como o CAPb nas preparações tratadas com digitálicos já se apresentava potenciado em relação às não tratadas, investigou-se se as preparações tratadas apresentavam uma potenciação adicional após a aplicação do trem de estimulação, ou seja, se elas mostravam PTP (uma potenciação do CAP pré- em relação ao CAP pós-trem de estimulação).

**FIGURA IV-1. ALTERAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA (PAM)
PRODUZIDA PELOS VÁRIOS TRATAMENTOS COM DIGITÁLICOS EM
RATOS**

Medidas da pressão arterial média (PAM) feitas em ratos que receberam infusão contínua do veículo (CONT) ou ao 14^o (PHIP) ou ao 47^o (OUAB) dia, respectivamente, de tratamento com ouabaina ou ao 35^o dia de tratamento com digoxina (DIGO). Infusão de ouabaina e digoxina (30 µg/kg de peso corporal/dia, na velocidade de 12 µl/dia).

O traço vertical em cima de cada coluna representa o erro padrão.

* $p < 0,005$ vs controle

Para tal, o protocolo seguido consistiu em, após pelo menos 20 minutos de medida estável da integral e da amplitude pico a pico do CAPb, aplicar-se um trem de estimulação (Buzz; 40Hz/20 seg) e logo em seguida medirem-se os valores máximos (CAPm) bem como aqueles mostrados aos 5 (CAP5), 10 (CAP10), 15 (CAP15), 20 (CAP20), 25 (CAP25) e 30 (CAP30) minutos após o término do trem de estimulação.

Observou-se que houve aumento das medidas da amplitude pico a pico e da integral do CAP, cujo valor máximo ocorreu imediatamente após a aplicação do trem de estimulação (Figura IV-3).

A incrementação dos valores de amplitude e integral do CAPm os tornou significativamente diferentes daqueles do CAPb em três condições : CONT, PHIP e DIGO, mas não na condição OUAB. A quantificação desses resultados é mostrada na Tabela IV-2 e na Figura IV-4. Também, a integral do CAPm na condição OUAB foi significativamente diferente do CAPm nas condições CONT e DIGO. Assim, por dois critérios, pode-se dizer que a PTP foi bloqueada pelo tratamento prolongado com ouabaina, o qual foi também o único que induziu hipertensão arterial.

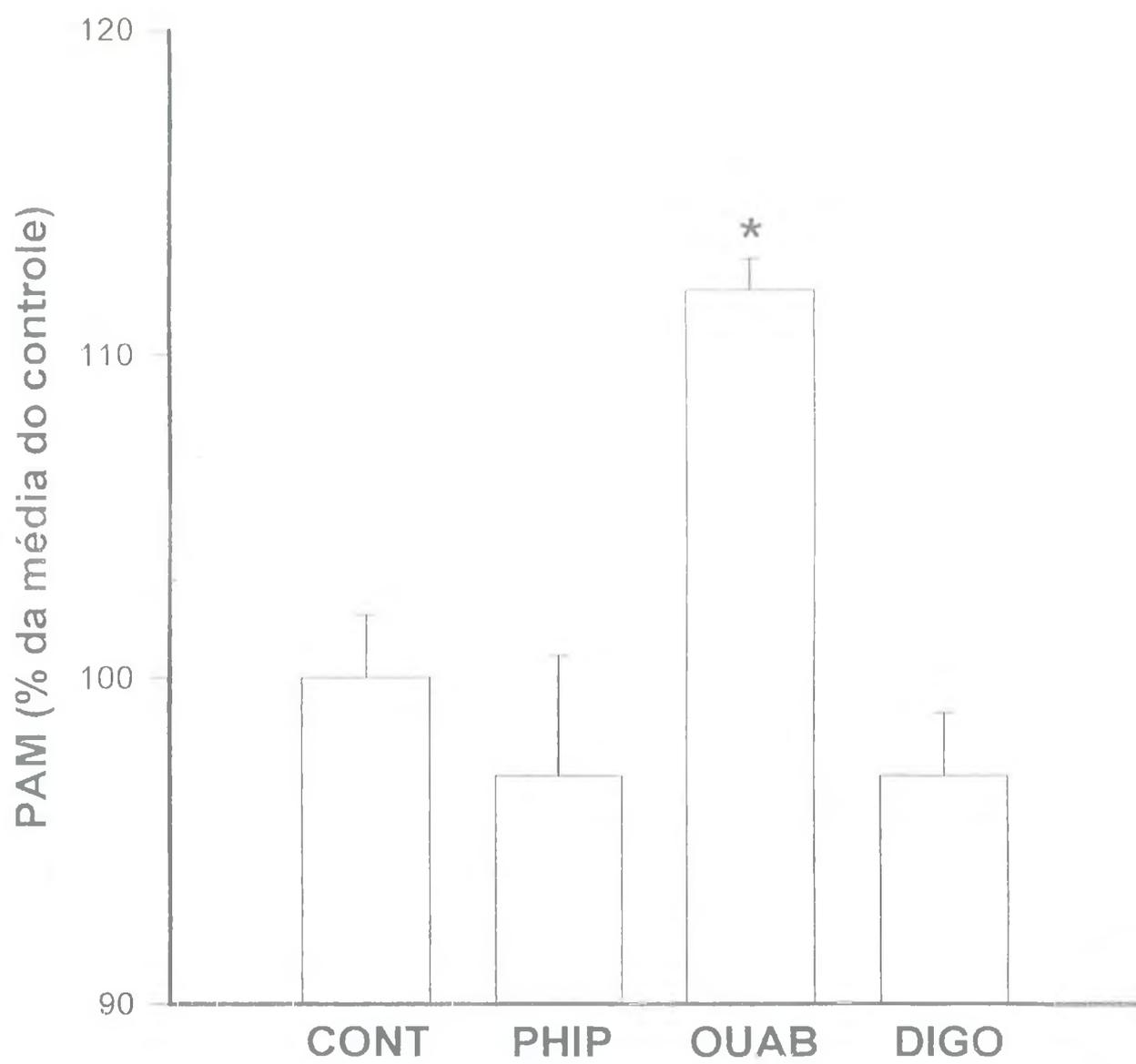
Em relação às medidas do CAP a cada 5 minutos entre o 5° e o 30° min., que são mostradas na Tabela IV-2 e Figura IV-4, observou-se que, em relação à integral, todos os valores a um dado tempo diferiram significativamente entre si para as condições PHIP e CONT; e apenas do 5° ao 15° min. para as condições DIGO e CONT, e apenas no 30° min., para as condições OUAB e CONT. Em relação à amplitude pico a pico, todos os valores a um dado tempo também diferiram significativamente entre si para as condições PHIP e CONT, e apenas do 20° ao 30° min. para as condições DIGO ou OUAB e CONT.

FIGURA IV-2. ALTERAÇÃO DO POTENCIAL DE AÇÃO COMPOSTO PÓS-GANGLIONAR NA CONDIÇÃO BASAL DE ESTIMULAÇÃO (CAPb) PRODUZIDA PELOS VÁRIOS TRATAMENTOS COM DIGITÁLICOS, EM GÂNGLIO CERVICAL SUPERIOR (SCG) DE RATOS

Colunas abertas e achuriadas representam a média dos valores normalizados da integral e da amplitude pico a pico, respectivamente, do CAPb, medidos em ratos que receberam infusão contínua do veículo por 47 dias (CONT), ou por 14 (PHIP; estado pré-hipertensivo) ou 47 (OUAB; estado hipertensivo) de tratamento com ouabaina, ou por 35 dias de tratamento com digoxina (DIGO). Infusão de ouabaina e digoxina (30 µg/kg de peso corporal/dia), na velocidade de 12 µl/dia.

Traço vertical em cima de cada coluna representa o erro padrão.

* $p < 0,05$ vs controle (ANOVA e teste de Scheffé)



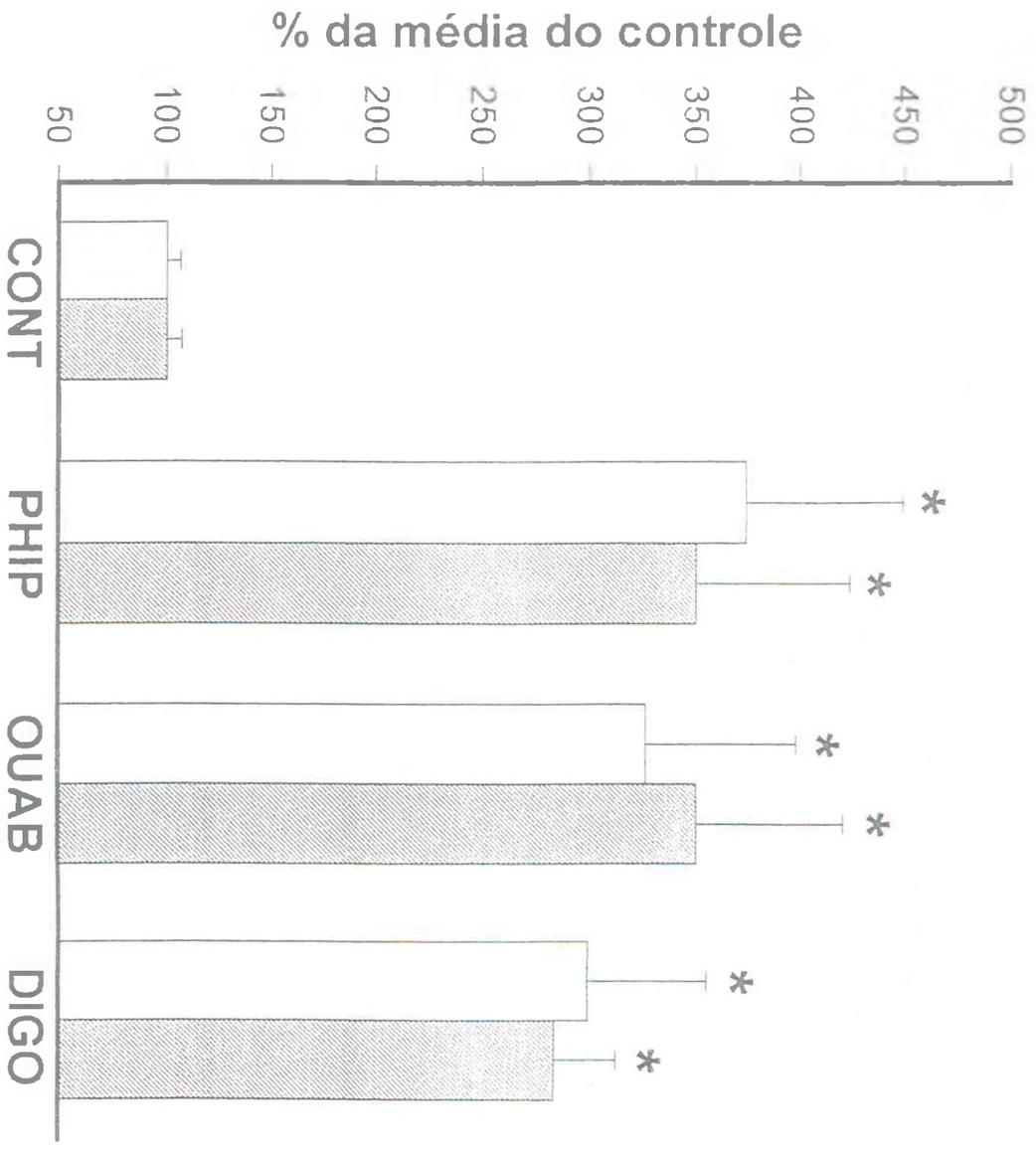


FIGURA IV-3. CARACTERÍSTICAS DO CURSO TEMPORAL DA POTENCIAÇÃO PÓS-TETÂNICA (PTP) EM GÂNGLIO CERVICAL SUPERIOR (SCG) DE RATOS

Painel A : Gânglio de animal tratado com solução salina tamponada com fosfato, durante 47 dias (Controle). **Painel B** : Gânglio de animal tratado com ouabaina (30 µg/kg de peso corporal/dia, na velocidade de 12 µl/dia) durante 47 dias.

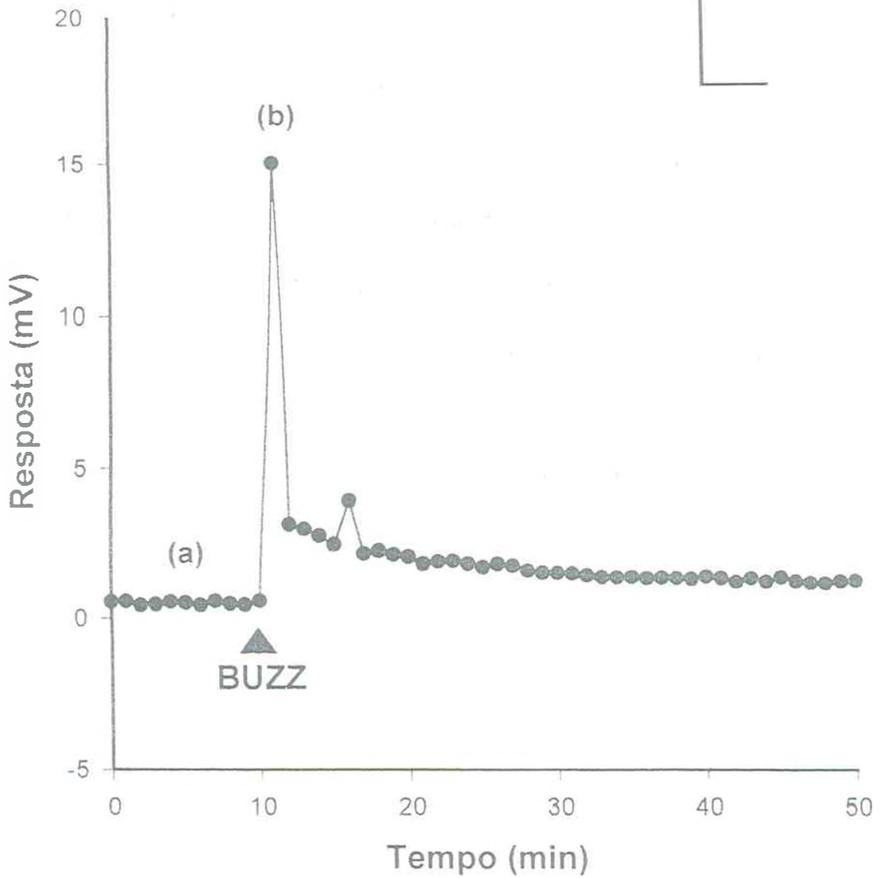
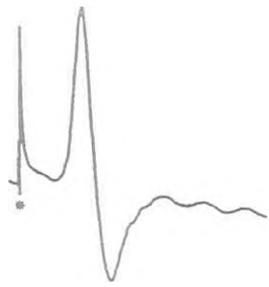
Os triângulos indicam o momento da aplicação do trem de estimulação (Buzz; 40 Hz/20 seg). Cada ponto representa a média de 12 potenciais de ação compostos (CAPs) pós-ganglionares, evocados à 0,033 Hz. Ordenada, amplitude pico a pico do CAP pós-ganglionar, em mV. Os pequenos traçados na parte superior de cada painel representam o registro osciloscópico do potencial de ação colhido a 0,033 Hz antes (**a**) e imediatamente após (**b**) a aplicação do trem de estimulação. O asterisco sob o registro experimental de voltagem mostra o momento da estimulação e o correspondente artefato do choque. Calibração : 1 mV; 20 ms.

A

(a) CONTROLE



(b) BUZZ



B

(a) CONTROLE



(b) BUZZ

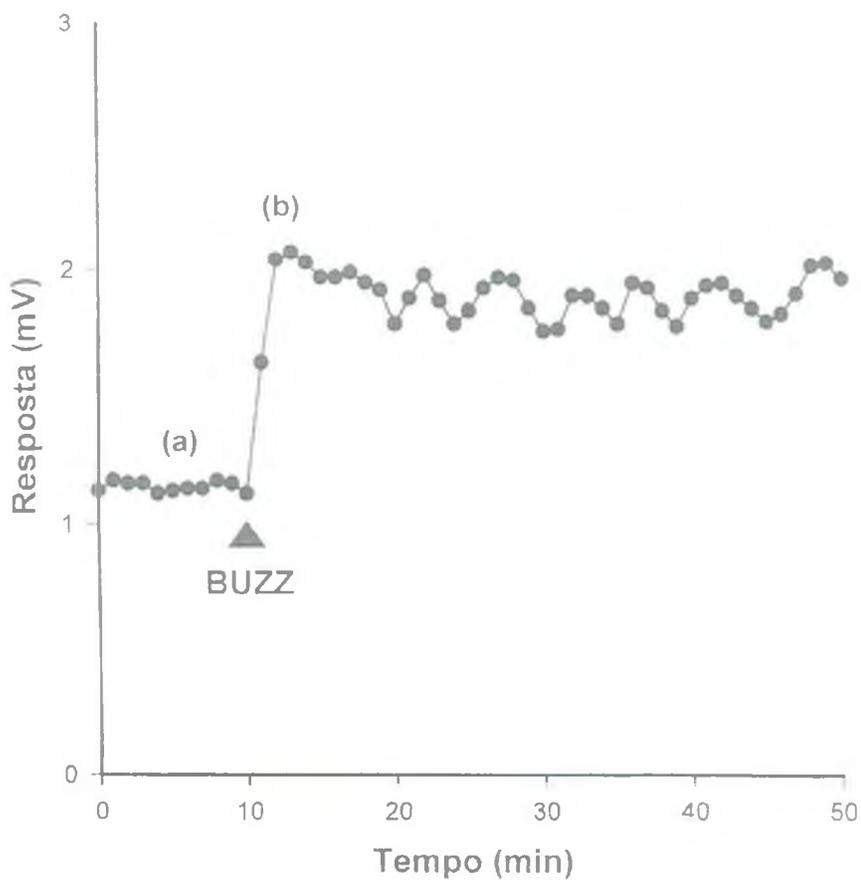
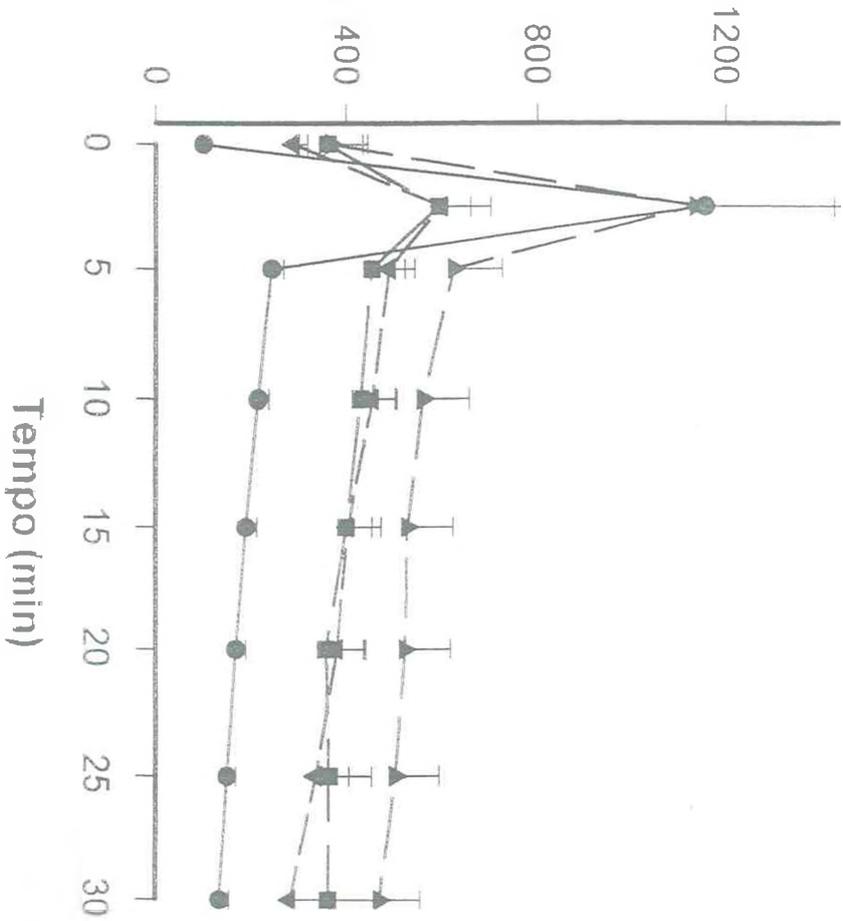
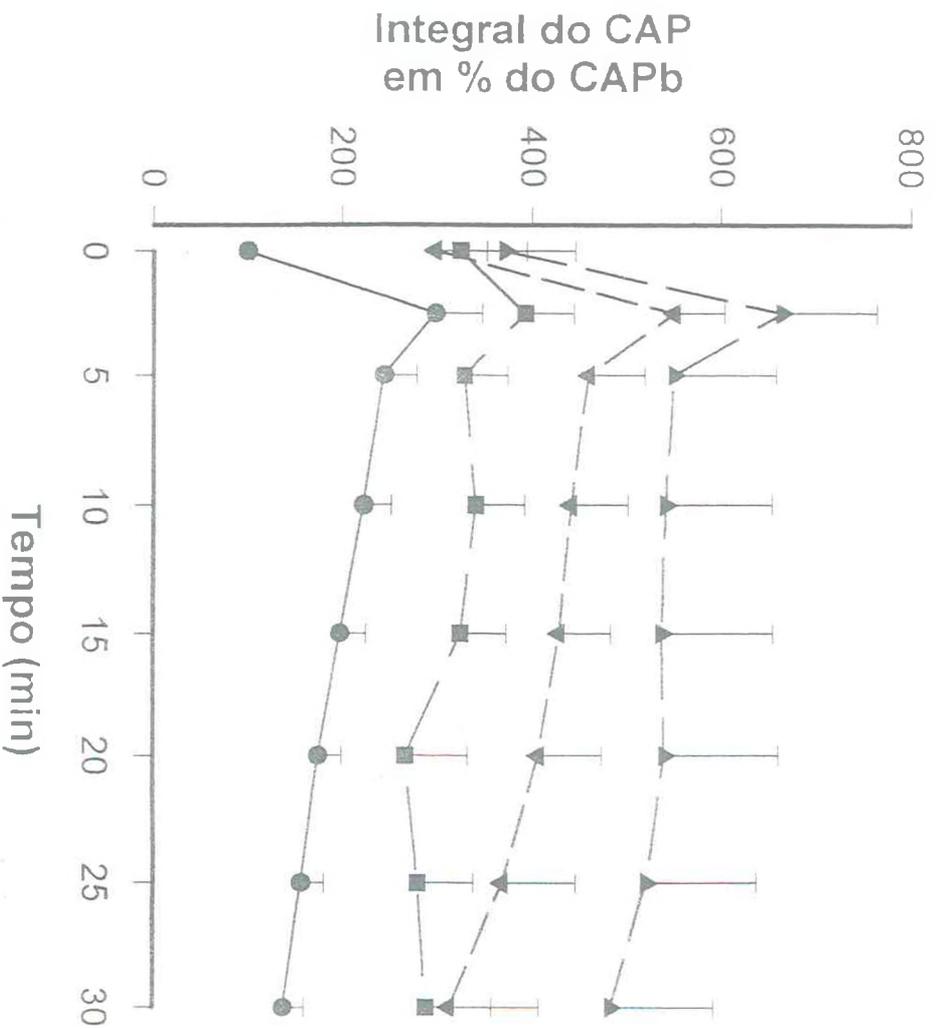


FIGURA IV-4. ALTERAÇÕES DOS PARÂMETROS DO POTENCIAL DE AÇÃO COMPOSTO (CAP) PÓS-GANGLIONAR APÓS A APLICAÇÃO DE UM TREM DE ESTIMULAÇÃO EM GÂNGLIO CERVICAL SUPERIOR (SCG) DE RATOS

Painel A : alterações na integral do CAP. **Painel B** : alterações na amplitude pico a pico do CAP. Círculos, representam os gânglios de animais controles (CONT). Quadrados, representam os gânglios de animais tratados com ouabaina durante 47 dias (OUAB). Triângulos, representam os gânglios de animais tratados com ouabaina durante 14 dias (PHIP). Triângulos invertidos (apontando para baixo), representam os gânglios tratados com digoxina (DIGO), durante 35 dias. Tratamento com ouabaina ou digoxina : infusão contínua de 30 µg/kg de peso corporal/dia, na velocidade de 12 µl/dia. Barras verticais tocando os pontos : erro padrão da média.

Amplitude pico a pico do CAP em % do CAPb



A**B**

1600

T

3.4. CORRELAÇÃO ENTRE OS ASPECTOS DE INPUT/OUTPUT APÓS O TRATAMENTO PROLONGADO COM OUABAINA

Investigou-se também se a potenciação do CAPb depende do número de sinapses envolvidas na transmissão do impulso nervoso através do gânglio. Para tal, no controle e em preparações tratadas com ouabaina, mantendo-se a estimulação na frequência basal (0,033 Hz), alterou-se progressivamente a intensidade do estímulo de maneira a aumentar o número de axônios apresentando potencial de ação em resposta ao estímulo no nervo pré-sináptico e, assim, a integral e a amplitude pico a pico do CAP pré-ganglionar. Concomitantemente, mediram-se os aumentos na integral e na amplitude pico a pico dos nervos pré- e pós-ganglionar, para compará-los. A quantificação dos resultados é mostrada na Figura IV-5, onde a abcissa é o valor do CAPb pré-ganglionar (input), em % do CAPb pré-ganglionar máximo atingível com o aumento da intensidade do estímulo, e a ordenada é o valor do CAPb pós-ganglionar (output), também em % do CAPb pré-ganglionar máximo. Observou-se que para qualquer nível de intensidade do estímulo e, conseqüentemente, da amplitude pico a pico do CAPb pré-ganglionar, o CAPb pós-ganglionar está amplificado nas condições CONT e OUAB, ou seja, para um dado nível de input, o output e, conseqüentemente a transmissão sináptica, estão amplificados nas preparações controles e tratadas com ouabaina. O cálculo através de regressão linear, pelo método dos mínimos quadrados determinou que as retas que melhor descrevem a função input/output nas condições controle e ouabaina foram $y=2,00.x$ e $y=2,27.x$, respectivamente, onde x é o valor da amplitude pico a pico do CAPb pré-ganglionar e y é o correspondente valor da amplitude pico a pico pós-ganglionar (Figura IV-6). No cálculo dessas retas de regressão impôs-se ao coeficiente linear o valor zero, já que para um valor nulo de input observou-se um valor nulo de output. Esses coeficientes angulares não

apresentaram diferença estatisticamente significativa. Também a comparação, para as condições CONT versus OUAB, do pool de valores de output para input de 40 a 60% ou de 80 a 100% do máximo, não apresentaram diferença estatística significativa (teste t pareado) (Figura IV-5).

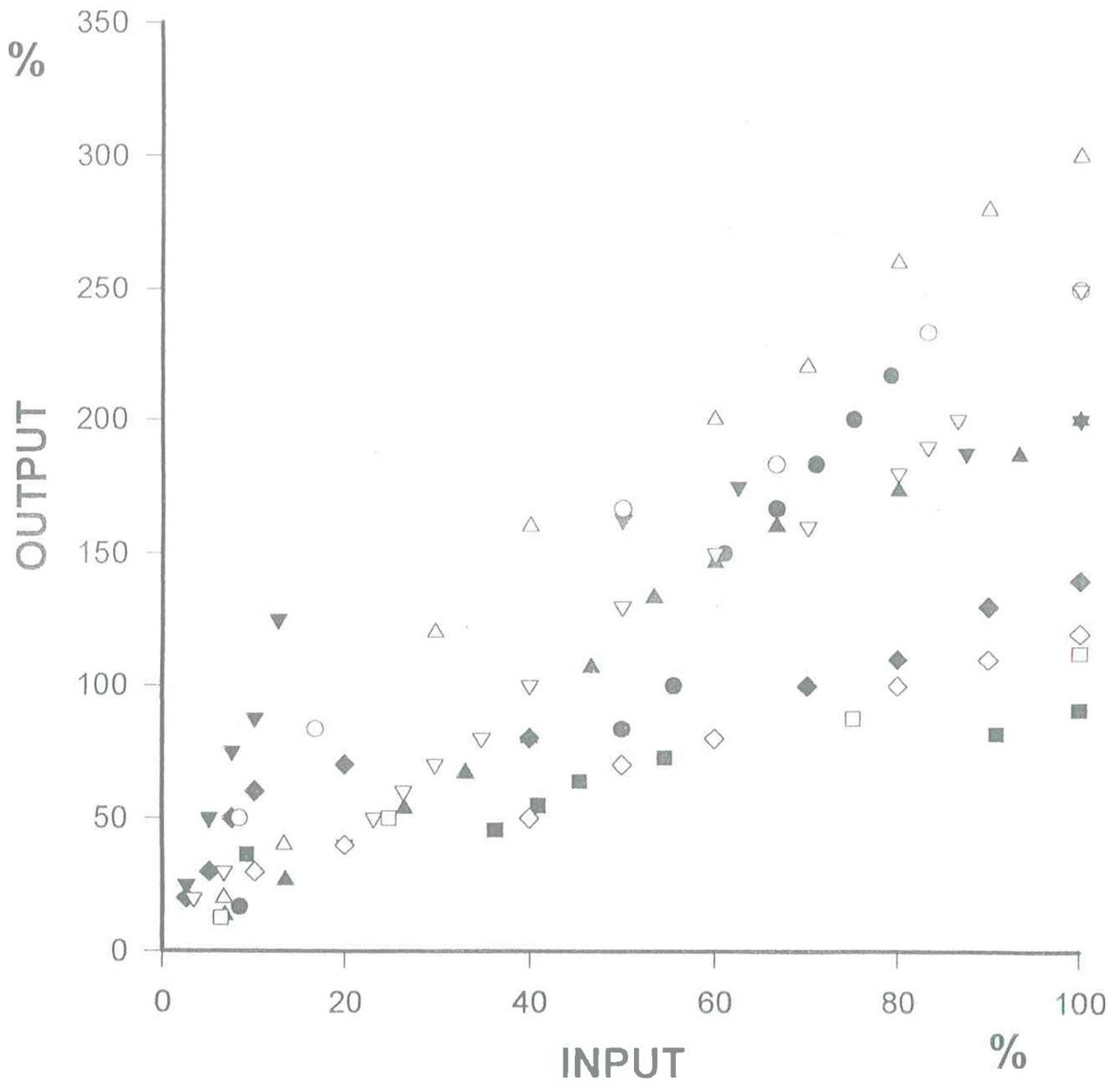
4. DISCUSSÃO

Duas descobertas se constituem as mais importantes do presente trabalho. São elas a amplificação do CAPb pós-sináptico em todos os casos de tratamento com os glicosídeos cardíacos, e o bloqueio da PTP, induzida pelo tratamento prolongado com ouabaina.

A amplificação do CAPb pós-sináptico, já que ocorreu em todos os casos de tratamento com os glicosídeos cardíacos, parece ser um efeito próprio desses glicosídeos, o qual se instala com relativa rapidez, uma vez que já foi observado na condição PHIP, e não parece estar relacionado com a indução de hipertensão arterial, pois também se manifestou no tratamento com digoxina que não alterou a pressão arterial média. Neste estudo não foram investigados a significância e o(s) mecanismo(s) causador(es) desse fenômeno. Em relação à esses mecanismos, uma importante hipótese aventável é que ele seja devido a um aumento, em relação ao controle, da amplificação do sinal ao nível da sinapse. Essa amplificação adicional já ocorre em muitas circunstâncias fisiológicas e fisiopatológicas, como a estimulação dos terminais pré-sinápticos a frequências mais altas (MAGLEBY & ZENGEL,1975b; SCHLAPFER et al.,1976; WOJTOWICZ & ATWOOD,1986), presença de neurotransmissores (BLISS et al.,1981; HOPKINS & JOHNSTON,1988; WILLIAMS & JOHNSTON,1988), de mediadores inflamatórios (CHRISTIAN et al.,1989; WEINREICH & UNDEM,1987; WEINREICH et al.,1995, e veja também o Capítulo III

FIGURA IV-5. DIAGRAMA DE DISPERSÃO DOS VALORES DE AMPLITUDE PICO A PICO DO POTENCIAL DE AÇÃO COMPOSTO (CAP) PÓS-GANGLIONAR (OUTPUT) EM FUNÇÃO DO CORRESPONDENTE VALOR PRÉ-GANGLIONAR (INPUT) OBTIDOS EM GÂNGLIO CERVICAL SUPERIOR DE RATO

Símbolos vazios e cheios representam valores individuais, para os tratamentos controle e ouabaina, respectivamente, do output em função do input. Para cada experimento um diferente tipo de símbolo. Abcissa e ordenada, valores do CAPb pré- e pós-ganglionar, respectivamente, em % do CAPb pré-ganglionar máximo.



**FIGURA IV-6. REGRESSÃO LINEAR DA FUNÇÃO INPUT/OUTPUT
OBTIDA EM GÂNGLIO CERVICAL SUPERIOR (SCG) DE RATO**

Painel A : Condição controle. **Painel B** : Tratamento com ouabaina. Abcissa e ordenada, valores do CAPb pré- e pós-ganglionar, respectivamente, em % do CAPb pré-ganglionar máximo. Tratamento com ouabaina : infusão contínua de 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso corporal/dia, na velocidade de bombeamento de 12 $\mu\text{l}/\text{dia}$, durante 47 dias. Condição controle : infusão contínua de solução salina tamponada com fosfato, na velocidade de bombeamento de 12 $\mu\text{l}/\text{dia}$, durante 47 dias.

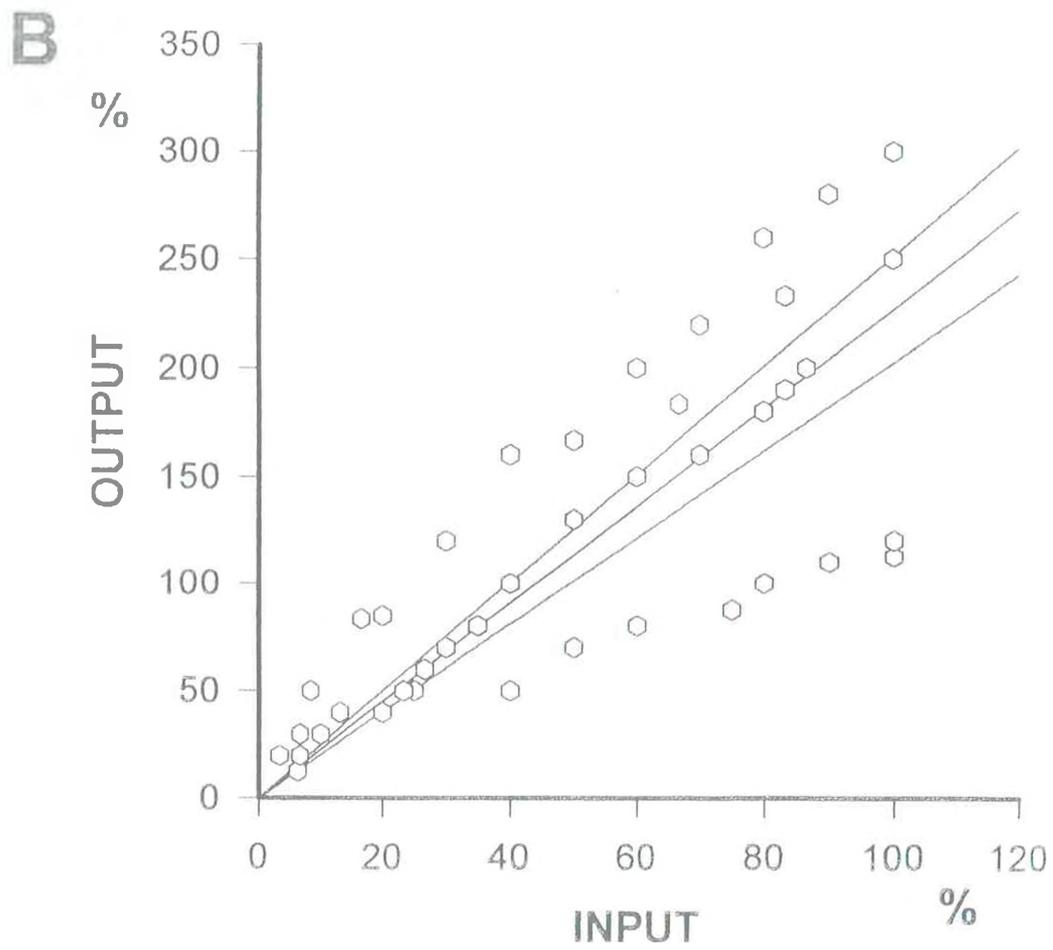
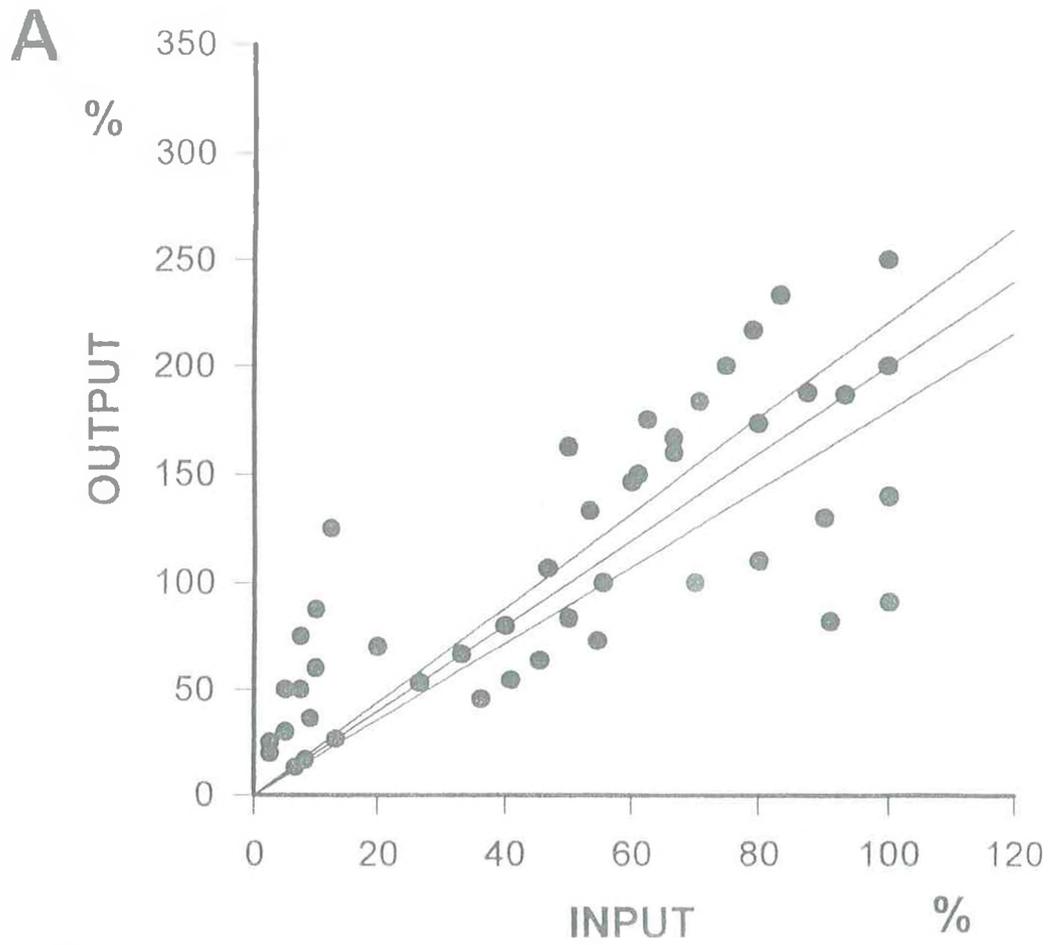


TABELA IV-1. VALORES DA INTEGRAL E DA AMPLITUDE PICO A PICO DO POTENCIAL DE AÇÃO COMPOSTO NA CONDIÇÃO BASAL DE ESTIMULAÇÃO (CAPb) OBTIDOS EM GÂNGLIOS CERVICAIS SUPERIORES (SCGs) DE RATOS.

Tipo de medida do CAP	Controle^a	Ouabaina	Pré-hipertensão	Digoxina
Integral (mV.ms)	8,6 ± 0,50 (8) ^b	27,4 ± 5,98 (7)	31,4 ± 6,29 (6)	25,1 ± 4,72 (6)
Pico a Pico (mV)	0,6 ± 0,04 (8)	2,1 ± 0,42 (7)	2,1 ± 0,44 (6)	1,7 ± 0,17 (6)

^aGânglios de animais tratados com solução salina tamponada com fosfato durante 47 dias (**Controle**), ou com ouabaina (30 µg/kg de peso corporal/dia, 12 µg/dia) durante 14 dias (**Pré-hipertensão**) ou 47 dias (**Ouabaina**) ou com digoxina (30 µg/kg de peso corporal/dia, 12 µg/dia) durante 35 dias (**Digoxina**).

^b Os valores mostrados são a média ± SEM (número de experimentos)

TABELA IV-2. CURSO TEMPORAL DAS ALTERAÇÕES DOS VALORES DA INTEGRAL E DA AMPLITUDE PICO A PICO DO POTENCIAL DE AÇÃO COMPOSTO (CAP) PÓS-GANGLIONAR APÓS A APLICAÇÃO DE UM TREM DE ESTIMULAÇÃO EM GÂNGLIOS CERVICAIS SUPERIORES (SCGs) DE RATOS.

Tempo	(min)	0,0	1,0	5,0	10,0	15,0	20,0	25,0	30,0
Controle ^a (8) ^b	Pico a pico ^c	0,6 ± 0,04	6,6 ± 1,54	1,4 ± 0,15	1,2 ± 0,13	1,1 ± 0,13	1,0 ± 0,12	0,9 ± 0,11	0,8 ± 0,12
	Integral ^c	8,5 ± 0,50	25,1 ± 4,25	20,6 ± 2,88	18,8 ± 2,46	16,8 ± 2,29	14,8 ± 2,15	13,3 ± 2,02	11,7 ± 1,90
Ouabaina (7)	Pico a pico	2,1 ± 0,42	3,4 ± 0,61	2,6 ± 0,40	2,5 ± 0,42	2,9 ± 0,43	2,0 ± 0,45	2,1 ± 0,52	2,1 ± 0,56
	Integral	27,4 ± 5,98	33,2 ± 4,29	27,8 ± 3,86	28,8 ± 4,41	27,4 ± 4,18	22,5 ± 5,60	23,5 ± 5,09	24,3 ± 5,96
Pré-hipertensão (6)	Pico a pico	2,1 ± 0,44	6,5 ± 1,94	3,6 ± 0,58	3,2 ± 0,55	3,0 ± 0,54	3,0 ± 0,54	2,9 ± 0,52	2,7 ± 0,49
	Integral	31,4 ± 6,29	56,3 ± 8,36	46,5 ± 9,19	45,8 ± 9,60	45,5 ± 10,02	45,7 ± 10,30	44,1 ± 9,93	40,8 ± 9,33
Digoxina (6)	Pico a pico	1,7 ± 0,17	3,4 ± 0,34	2,8 ± 0,31	2,6 ± 0,29	2,3 ± 0,30	2,2 ± 0,35	1,9 ± 0,39	1,6 ± 0,48
	Integral	25,1 ± 4,72	46,5 ± 4,50	38,8 ± 5,10	37,3 ± 5,12	36,3 ± 4,60	34,5 ± 5,58	31,2 ± 6,53	26,4 ± 8,11

^aGânglios de animais tratados com solução salina tamponada com fosfato durante 47 dias (**Controle**), ou com ouabaina (30 µg/kg de peso corporal/ dia, durante 14 dias (**Pré-hipertensão**) ou 47 dias (**Ouabaina**) ou com digoxina (30 µg/kg de peso corporal/dia, 12 µg/dia) durante 35 dias (**Digoxina**).^b Os valores mostrados são a média ± SEM (número de experimentos). ^cValores da amplitude pico a pico e da integral dados em mV e mV.ms, respectivamente.

desta tese), e estímulos imunológicos (WEINREICH et al.,1995, e veja também o Capítulo II desta tese). A ausência de diferença estatisticamente significativa entre os dados de input/output da amplitude pico a pico em CONT e OUAB, contudo, torna pouco provável que um aumento adicional da amplificação sináptica contribua de maneira importante para o desenvolvimento do fenômeno. Mesmo que os coeficientes angulares das retas que correlacionam input com output em CONT e OUAB fossem estatisticamente diferentes (teste t), a importância funcional dessa diferença estatística para a explicação do fenômeno seria, provavelmente pequena, já que seus valores, 2,00 e 2,27, são de diferença pequena para explicar a grande diferença de valores do CAPb no CONT e OUAB.

Os aumentos significantes e de magnitudes similares, em relação à condição CONT, da integral e da amplitude pico a pico do CAPb nas condições PHIP, OUAB e DIGO, devem, provavelmente, admitir explicação única. No caso da condição OUAB, essa explicação, pelas razões acima discutidas, é pouco provável que seja uma potenciação, adicional em relação ao controle, da transmissão sináptica. Pode-se sugerir que se deva a um aumento da excitabilidade celular. Essa hipótese teria a seu favor o fato de que nela esperasse-se-ia que estivessem aumentados tanto o CAP pré- quanto pós-ganglionar. E isso é o que deve estar ocorrendo, baseado nos dados de input/output, que mostram um CAP pré-ganglionar aproximadamente duas vezes menor que o pós-ganglionar, em CONT e em OUAB.

É interessante observar-se a grande PTP nas condições PHIP e DIGO, em que o CAPm atinge níveis muito acima do CAPb nessas condições, e esse CAPb por sua vez já está em níveis próximos àquele do CAPm controle, que já está muito aumentado em relação ao CAPb controle. Isso talvez se tenha tornado possível porque o CAPb controle é obtido em presença de estímulo maximal e hexametônio, para reduzi-lo a valores submaximais em relação ao

valor na ausência desse fármaco.

Contudo, essa grande diferença entre CAPm em PHIP e CAPb controle, levanta a suspeita de que, além do aumento da excitabilidade, outro fator possa ter contribuído para o desenvolvimento do fenômeno. Caso exista esse fator adicional, poder-se-ia sugerir, como hipótese de trabalho, que ele talvez seja uma alteração das concentrações eletrolíticas no espaço intersticial do nervo, diminuindo a resistência elétrica desse último e dessa forma, melhorando a propagação dos potenciais elétricos para o espaço extra-celular extra interstício neuronal. Essa alteração eletrolítica seria um aumento na concentração de eletrólitos na vizinhança imediata do axônio causada pelo bloqueio parcial da sódio-potássio ATPase, pelos glicosídeos cardíacos (ALLEN et al.,1971; LINDENMAYER,1976; TSUDA et al.,1989).

Enquanto sobre o CAPb o tratamento com glicosídeos cardíacos teve um efeito estimulante, sobre a PTP, apenas o tratamento prolongado com a ouabaina foi ativo, e essa atividade foi depressora.

A PTP é um fenômeno sináptico e seu bloqueio deve possivelmente, envolver mecanismos específicos da transmissão sináptica ligados à modulação dessa transmissão induzida por alterações de frequência (DUNWIDDIE et al.,1978). É interessante observar que apesar do grande aumento dos valores do CAPb em todos os tratamentos, que poderiam saturar a capacidade de incrementação desse CAP, a PTP ainda ocorreu nas condições PHIP e DIGO, o que foi um dado interessante em relação à transmissão sináptica autonômica, e demonstra que o bloqueio da PTP na condição OUAB foi real, e não meramente uma saturação do sistema.

O bloqueio da PTP, induzido pelo tratamento prolongado com ouabaina, está provavelmente relacionado com a hipertensão, pois ambos os fenômenos foram observados apenas nesse tratamento. O tipo de relação, contudo, ainda espera elucidação. É possível que o bloqueio da PTP seja apenas

uma ocorrência simultânea com a hipertensão, ou que seja uma consequência direta da hipertensão e apenas indireta da ouabaina. Caso seja uma consequência direta da hipertensão, é ainda possível que seja uma peculiaridade desse modelo (hipertensão induzida com o uso de glicosídeos cardioativos). Contudo, é também possível que essa seja uma ocorrência frequente da hipertensão. A elucidação desse interessante aspecto exigirá que se estenda essa pesquisa a outros modelos de hipertensão, como o dos ratos espontaneamente hipertensos, o modelo DOCA-sal, e o modelo da ingestão do l-NAME. Esse bloqueio poderia aparecer nas hipertensões de origem não-neurogênica e funcionar como um mecanismo de feedback negativo protegendo a pressão arterial de surtos de aumento devido a surtos de hiperatividade simpática.

Uma outra observação interessante relacionada aos dados desse trabalho é que, apesar de ser um conceito muito aceito que a hipertensão se associa a um aumento da atividade simpática (JUDY et al.,1976; JUSKEVICH et al.,1978; TAKEDA & BUÑAG,1978; THOREN & RICKSTEN,1979; SCHRAMM & BARTON,1979; TOUW et al.,1980; FOLKOW,1982; FROHLICH,1982; SCHRAMM & CRONBY,1982; LUNDIN & THOREN,1982; KOEPKE et al.,1987), o aparecimento de hipertensão nos ratos tratados com ouabaina não acarretou nenhuma alteração adicional dos valores de CAPb pós-ganglionar (em relação aos ratos tratados que não desenvolveram hipertensão), o que seria associável a um aumento de excitabilidade e, na transmissão sináptica ganglionar, sua atividade demonstrada foi do tipo inibitória, o bloqueio da PTP.

É comumente aceito que em situações *in vivo* e em concentrações terapêuticas, e particularmente na insuficiência cardíaca congestiva, devido às mudanças hemodinâmicas que induz e a um efeito direto sobre os barorreceptores do seio carotídeo e quimiorreceptores periféricos, os glicosídeos cardíacos induzem diminuição do tônus simpático por ação reflexa (BOYAJY & NASH,1965; TAKAGI et al.,1965; LEVITT & ROBERTS,1966; ATTRÉE et

al.,1972; NADEAU & DeCHAMPLAIN,1973; DOGGETT & CASE,1975). O estudo direto dos efeitos dos glicosídeos cardíacos nos nervos e estruturas simpáticas, têm mostrado resultados não concordantes e mesmo conflitantes. Assim, estudos de KONZET & ROTHLIN (1952), posteriormente confirmados por PERRY & REINERT (1954) afirmam que os glicosídeos cardíacos potenciam a estimulação do nervo pré-ganglionar do SCG do gato.

BIRKS (1963) documentou que a digoxina aumenta significativamente a liberação de ACh pela terminação pré-ganglionar. KONZET & ROTHLIN (1952) demonstraram que os glicosídeos cardíacos potencializam a resposta contrátil da membrana nictante do gato em resposta à aplicação de Ach ou alta concentração de K^+ diretamente sobre o SCG. TEN EICK & HOFFMAN (1969) determinaram que os glicosídeos cardíacos aumentam a excitabilidade dos nervos autonômicos pré-ganglionares. Por outro lado, GILLIS (1969), PACE & GILLIS (1976) e WEAVER et al.,(1976) afirmam que doses sub-tóxicas de glicosídeos cardíacos promovem diminuição dos disparos dos nervos simpáticos. MÉNDEZ et al., (1961a,b) e DAGGETT & WEISFELDT (1965) afirmam que a inibição da atividade simpática com diminuição dos disparos dos nervos pré- e pós-ganglionar simpático, participam das alterações induzidas pelos glicosídeos cardíacos na velocidade de contração e nas respostas contráteis do coração e na duração do período refratário.

As razões dessas divergências não foram investigadas, mas é possível que elas sejam devidas a uma série de fatores, alguns dos quais são sugeridos pelos nossos dados. Assim, as ações da ouabaina podem diferir muito daquela da digoxina, como já documentado por outros (HAMLYN & MANUNTA,1992, YUAN et al.,1993; MANUNTA et al.,1994) e nesse estudo em relação à tendência a induzir hipertensão e bloqueio da PTP, pela ouabaina . No caso da ouabaina, a ausência de efeito sobre a transmissão sináptica à frequência de 0,033 Hz, com bloqueio da potencialização dessa transmissão pelo trem de

estimulação a 40 Hz/20 seg, mostra que o efeito sináptico pode ser dependente da frequência do sinal, comportando assim, modulação de frequência.

Essa modulação, é considerada hoje muito importante na transmissão sináptica, pelas implicações sobre a quantidade e o tipo de co-transmissor liberado, podendo levar a alterações qualitativas e quantitativas no funcionamento sináptico (KARCZMAR et al.,1986; LOEWI & SPYER, 1990; JONHSTON & WU,1995). Assim, enquanto as análises anteriores dos efeitos diretos dos glicosídeos cardíacos sobre os componentes do ANS têm se restrito à análise da excitabilidade dos nervos, os nossos dados mostram que esses glicosídeos podem alterar aspectos importantes da transmissão sináptica, e sugerem que essas alterações envolvem um componente dependente de frequência.

Em resumo, os dados deste trabalho confirmam a descoberta de HAMLYN & MANUNTA (1992) e MANUNTA et al.(1992a) de que a administração contínua e prolongada de ouabaina induz hipertensão em ratos. Esses dados também demonstram que a administração prolongada e contínua, de glicosídeos cardioativos pode induzir alteração de parâmetros eletrofisiológicos nervosos ganglionares, como foi aqui documentado com digoxina e ouabaina, e bloqueio da PTP, no tratamento com ouabaina.

SUMMARY

This scientific work is comprised of three studies carried out on mammalian isolated superior cervical ganglia (SCG) superfused with Locke nutrient solution bubbled with O₂ (95%)/CO₂ (5%) and maintained at 37°C in the first and second cases, and at room temperature in the third one. In all the studies we investigated the alterations of synaptic efficiency (evoked by electric stimulation of the cervical sympathetic nerve trunk at frequencies which ranged from 0.2 to 0.33 Hz) via quantification of variation of the integral and peak to peak amplitude of the compound action potential (CAP).

In the first study in guinea pig SCG, the feasibility of induction of passive sensitization was investigated using two methods: i) administration of serum of sensitized animals to naive guinea pig; ii) incubation of ganglia isolated from non-sensitized guinea pigs in the serum of actively sensitized ones. Since both methods induced sensitization, a comparison of the CAP integral and of histamine release in ganglia sensitized actively (three injections of 10 mg/Kg body weight on alternate days) and passively by the two methods was made. The administration of the sensitizing antigen (ovalbumin, OVA) to the SCGs induced a maintained CAP potentiation which lasted over 30 mins (antigen-induced long term potentiation, A-LTP) and an increase in histamine release. Neither the magnitude nor the duration of A-LTP differed between the three methods of sensitization. The magnitude of histamine release, however, was smaller in the two methods of passive compared with active sensitization. The incidence of A-LTP in passively sensitized SCG shows that the cellular component specific to active sensitization is not necessary for the occurrence of A-LTP and that the cells and mediators responsible for A-LTP are resident to SCG.

The second part of this study was to determine whether some mast cell-derived mediators, like prostaglandin D₂ (PGD₂; 1,0 μM), platelet aggregating factor (PAF; 0,3 μM), U44619 (a thromboxane analogue; 1,0 μM), bradikinin (BK; 100 μM), tumour necrosis factor alpha (TNFα; 7,14 nM), and also endothelin-1 (ET-1; 0,5 μM) induce synaptic potentiation in the guinea pig superior cervical ganglion (SCG), and compared their effects on synaptic transmission with those induced by a sensitizing antigen, ovalbumin (OVA; 10 μg/ml). The experiments were carried out on SCG isolated from adult male guinea pigs (200-250 g) actively sensitized to OVA, maintained in oxygenated Locke solution at 37°C. Synaptic potentiation was measured through alterations of the integral of the post-ganglionic compound action potential (CAP). All agents tested caused long-term (LTP; duration ≥30 min) or short-term (STP; < 30 min) potentiation of synaptic efficacy, as measured by the increase in the integral of the post-ganglionic CAP. The magnitude of mediator-induced potentiation was never the same as the antigen-induced long-term potentiation (A-LTP). The agent that best mimicked the antigen was PGD₂, which induced a 75% increase in CAP integral for LTP (antigen : 94%) and a 34% increase for STP (antigen : 91%). PAF-, U44619-, BK-, TNFα- and ET-1-induced increases in CAP integral ranged for LTP from 34 to 47%, and for STP from 0 to 26%. These results suggest that the agents investigated may participate in the induction of A-LTP.

In the third study in rat SCG, using a model in which hypertension is induced by continuous ouabain infusion (30 μg/Kg body weight/day, (lasting longer than a month)), we compared the integral and the peak to peak amplitude of the CAPs of basal rhythm and following a train of stimuli (to induce post-tetanic potentiation, PTP) under four experimental conditions: i) control; animals which received continuous vehicle infusion; ii) pre-hypertension; animals which received ouabain for fourteen days; iii) ouabain; rats received ouabain for 37 days; iv) digoxin; animals received infusion of 30 μg/Kg body weight/day of

digoxin during 35 days. Only the ouabain-treated animals showed a significant increase in mean arterial blood pressure, as compared with control. In all the three experimental groups a significant increase in integral and peak to peak amplitude of CAP was induced, which suggests that this alteration is related to the long lasting administration of cardiac glycosides. The PTP was altered only in the ouabain groups, which suggests that this alteration is related to the induction of hypertension. Our data have demonstrated that the continuous, prolonged administration of cardiac glycosides may induce alteration of ganglial electrophysiological parameters whose functional role remains to be determined.

CAPÍTULO V

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABARAQUEZ,R.F. Digitalis in the treatment of hypertension, a preliminary report. *Acta Med.Philippina*, v.3, p.161-170, 1967.
- ABE,K., WATANABE,N., KUMAGAI,N., MOURI,T., YOSHINAGA,K. Circulating plasma kinin in patients with bronchial asthma. *Experientia*, v.23, p.626-627, 1967.
- ABDEL,J.J., KUBOTA,S. On the presence of histamine (B-imidazolylethylamine) in the hypophysis cerebri and other tissues of the body and its occurrence among the hydrolytic decomposition products of proteins. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, v.13, p.243-300, 1919.
- ABDEL-HALIM,M.S., HAMBERG,M., SJOQUIST,B., ANGGARD,E. Identification of prostaglandin D₂ as a major prostaglandin in homogenates of rat brain. *Prostaglandins*, v. 14, p.633-643, 1977.
- ABDON,N.O., HAMMARSKJÖLD,S.O., NIELSEN,N.A. (1938) apud PERRY,W.L.M., REINERT,H. The action of cardiac glycosides on autonomic ganglia. *Br.J.Pharmacol.*, v. 9, p. 324-328,1954.
- ABNT. Referências bibliográficas. NBR-6023. Rio de Janeiro, 1989.
- ADKINSON,N.F.Jr., NEWBALL,H.H., FINDLAY,S., ADAMS,K., LICHTENSTEIN,L.M. Anaphylactic release of prostaglandins from human lung *in vitro*. *Am.Rev. Respir.Dis.*, 121, p. 911-920, 1980.
- ADRIAN,E.D. Some recent work on inhibition. *Brain*, v. 47, p. 399-416, 1924.
- ADVENIER,C., SARRIA,B., NALINE,E., PUYBASSET,L., LAGENTE,V. Contractile activity of three endothelins (ET-1;ET-1 and ET-3) on the human isolated bronchus. *Br.J.Pharmacol.*, v. 100, p. 168-172, 1990.
- AGGARWALL,B.B., ESSALU,T.E., HASS,P.E. Characterisation of receptors for human tumour necrosis factor and their regulation by γ -interferon. *Nature*, v. 318, p. 665-667, 1985.
- AHLQUIST,R.P. A study of the adrenotropic receptors. *Am.J.Physiol.*, v. 153, p. 586-600, 1948.
- AKERA,T. Membrane adenosinetriphosphatase : a digitalis receptor ? *Science*, v. 158, p. 569-574, 1977.
- AKERS,R.F., ROUTTENBERG,A. Protein kinase C phosphorylates a 47M_r protein (F1)

- directly related to synaptic plasticity. *Brain Res.*, v. 334, p. 147-151, 1985.
- AKERS,R.F., LOVINGER,D.M., COLLEY,P.A., LINDEN,D.J., ROUTTENBERG, A. Translocation of protein kinase C activity may mediate hippocampal long-term potentiation. *Science*, v. 231, p. 587-589, 1986.
- ALDENBORG,F., ENERBÄCK,L. Histochemical heterogeneity of dermal mast cells in athymic and normal rats. *Histochem.J.*, v. 20, p. 19-28, 1988.
- ALGER,B.E., TEYLER,T.J. Long-term and short-term plasticity in the CA₁, CA₃ and dentate region of the rat hippocampal slice. *Brain Res.*, v. 110, p. 463-480, 1976.
- ALI,K., LEUNG,K.P.B., PEARCE,F.L., HAYES,N.A., FOREMAN,J.C. Comparison of the histamine-releasing action of substance P on mast cells and basophils from different species and tissues. *Int.Arch.Allergy Appl.Immunol.*, v. 79, p. 413-418, 1986.
- ALLEN,J.C., MARTINEZ-MALDONADO,M., EKNIGRANN,G., SUKA,W.N., SCHWARTZ,N. Relation between digitalis binding in vivo and inhibition of sodium, potassium-adenosine triphosphatase in canine kidney. *Biochem.Pharmacol.*, v. 20, p. 73-80, 1971.
- ALM,P.E., BLOOM,G.D. What-if any-is the role of adrenergic mechanisms in histamine release from mast cells? *Agents Actions*, v. 11, p. 60-66, 1981.
- ALNAES,E., RAHAMIMOFF,R. On the role of mitochondria in transmitter release from motor nerve terminals. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 248, p. 285-306, 1975.
- ALOE,L. Mast cells increase in tissue of neonatal rats injected with nerve growth factor. *Brain Res.*, v. 133, p.358-366, 1977.
- _____.The effect of nerve growth factor and its antibody on mast cells *in vivo*. *J.Neuroimmunol.*, v. 18, p. 1-12, 1988.
- AMASSIAN,V.E., WEINER,H. Monosynaptic and polysynaptic activation of pyramidal tract neurons by thalamic stimulation. In : PURPURA,D.P., YAHR,M.D. (Eds). The Thalamus. New York : Columbia University Press, 1966. p. 255-282.
- AMBAR,I., KLOOG,Y., SCHVANTZ;HAZUM,E., SOKOLOVSKY,M. Competitive interaction between endothelin and sarafotoxin :binding and phosphoinositide hydrolysis in rat atria and brain. *Biochem.Biophys.Res.Commun.*, v. 158, p. 195-201, 1989.

- ANAGNOSTE,B., GOLDSTEIN,M. The effects of ouabain on catecholamines biosynthesis in different areas of rat's brain. *Pharmacologist.*, v. 9, p. 210, 1967.
- ANDERSEN,P., SUNDBERG,S.H., SVEEN,O., SWANN,J.W., WIGSTRÖM, H. Possible mechanisms for long-lasting potentiation of synaptic transmission in hippocampal slices from guinea-pigs. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 302, p. 463-482, 1980.
- ANGELUCCI,L., LORENTZ,G., BALDIERI,M. The relation between noradrenaline content of rabbit heart muscle and the amount of k-strophanthin needed to produce arrhythmias. *J.Pharm.Pharmacol.*, v. 18, p. 775-782, 1966.
- ANGERIO,A.D., RAMWELL,P.W., KOT,P.A., ROSE,J.C. Cardiovascular response to PGD₂ in the dog. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.*, v. 156, p. 393-395, 1977.
- ANNER,B.M. The receptor function of Na⁺-K⁺-activated adenosine triphosphatase system. *Biochem.J.*, v. 227, p. 1-11, 1985.
- ANTMAN,E.M., SMITH,T.W. Current concepts in the use of digitalis. *Adv.Intern.Med.*, v. 34,p. 425-454, 1989.
- APPLEGATE,M.D., KERR,D.S., LANDFIELD,P.W. Redistribution of synaptic vesicles during long-term potentiation in the hippocampus. *Brain Res.*, v. 401, p. 401-406, 1987.
- APPLEYARD,M.E. Acetylcholinesterase induces long-term potentiation in CA₁ pyramidal cells by a mechanism dependent on metabotropic glutamate receptors. *Neurosci.Lett.*, v. 190, p. 25-28, 1995.
- ARAI,H., HORI,S., ARAMORI,I., OHKUBA,H., NAKANISHI,S. Cloning and expression of cDNA encoding an endothelin receptor. *Nature*, v. 348, p.730-732, 1990.
- ARCHER,C.B. Platelet-activating factor - a mediator of inflammation in in the skin-medical implications. *Clin.Exp.Dermatol.*, v. 18, p. 489-495, 1993.
- ARIANO,M.A., KENNY,S.L. Neurochemical differences in the superior cervical ganglion of the SHR stroke-prone variant. *Brain Res.*, v. 415, p. 115-121, 1987.
- ARISAWA,M., MAKINO,T., IZUMI,S., IIZUKA,R. Effects of prostaglandin D₂ on gonadotropin release from rat anterior pituitary *in vitro*. *Fertil.Steril.*, v. 39, p. 93-96, 1983.
- ARIZONO,N., MATSUDA,S., HATTORI,T. KOJIMA,Y., MAEDA,T., GALLI, S.J. Anatomical variation in mast cell nerve associations in the rat small intestine, heart, lung,

- and skin : Similarities of distances between neural processes and mast cells, eosinophils, or plasma cells in the jejunal lamina propria. *Lab.Invest.*, v. 62, p. 626-634, 1990.
- ARMSTRONG,J.M., BOURA,A.L.A., HAMBERG,M., SAMUELSSON,B. A comparison of the vasodepressor effects of the cyclic endoperoxides PGG₂ and PGH₂ with those of PGD₂ and PGE₂ in hypertensive and normotensive rats. *Eur.J.Pharmacol.*, v. 39, p. 251-258, 1976.
- ARMSTRONG,J.M., CHAPPLE,D.J., DUSTING,G.J., HUGHES,R., MONCADA,S., VANE,J.R. Cardiovascular actions of prostacyclin (PCI₂) in chloralose anaesthetized dogs. *Br.J.Pharmacol.*, v. 61, p. 136P, 1977.
- ARNAUD,M.(1888) apud BLAUSTEIN,M.P. Physiological effects of endogenous ouabain: control of intracellular Ca²⁺ stores and cell responsiveness. *Am.J.Physiol.*, v. 264, p. C1367-C1387, 1993.
- ARRANG,J.M., GARBARG,M., SCHWARTZ,J.C. Autoinhibition of brain histamine release mediated by a novel class (H₃) of histamine receptor. *Nature*, v. 302, p. 832-837, 1983.
- ARRANG,J.M., GARBARG,M., LANCELOT,J.C., LeCOMTE,J.M., POLLARD,H., ROBBA,M., SCHUNACK,W., SCHWARTZ,J.C. Highly potent and selective ligands for histamine H₃-receptors. *Nature*, v 327, p. 117-123, 1987.
- ARTOLA,A., SINGER,W. Long-term potentiation and NMDA receptors in rat visual cortex. *Nature*, v. 330, p. 649-652, 1987.
- ARVANITAKI,A. Effects evoked in an axon by the electric activity of a contiguous one. *J.Neurophysiol.*, v. 5, p. 89-108, 1942.
- ARVANITAKI,A., CHALAZONITIS,N. Prototypes d'interactions neuroniques et transmission synaptiques. Données bioélectriques de préparations cellulaires. *Arch.Sci.Physiol.*, v. 3, p. 547-565, 1949.
- ARZUBIAGA,C., MORROW,J., ROBERTS,L.J., BIAGGIONI,I. Neuropeptide Y, a putative cotransmitter in noradrenergic neurons, induces mast cell degranulation but not prostaglandin D₂ release. *J.Allergy Clin.Immunol.*, v. 87, p. 88-93, 1991.
- ASH,A.S., SCHILD,H.O. Receptors mediating some actions of histamine. *Br.J.Pharmacol.*,v. 27, p. 427-439, 1966.

- ASKENASE,P.W. Immunopathology of parasitic diseases : Involvement of mast cells and basophils. *Springer Semin.Immunopathol.*, v. 2, p. 417-442, 1980.
- ATKINS,P.C., MIRAGLIOTTA,G., TALBOT,S.F., ZWEIMAN,B., KAPLAN, A.P. Activation of plasma Hageman factor and kallikrein in ongoing allergic reactions in the skin. *J.Immunol.*, v. 139, p. 2744-2748, 1987.
- ATTRÉE,T., SAWYER,P., TURNBULL,M.J. Interaction between digoxin and tricyclic antidepressants in the rat. *Eur.J.Pharmacol.*, v. 19, p. 294-296, 1972.
- AUERBACH,L.(1864) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum, 1986. p. 3-26.
- BACHOO,C.A., POLOSA,C. Heterosynaptic conditioning produces a long-lasting enhancement of nicotinic transmission in the stellate ganglion of the atropine-treated cat. *Physiol.Can.(Abstract)*, v. 17, p. 171, 1986.
- _____.Long-term potentiation of nicotinic transmission by a heterosynaptic mechanism in the stellate ganglion of the cat. *J.Neurophysiol.*, v. 65, p. 639-647, 1991.
- BACHOO,M., CIRIELLO,J., POLOSA,C. Effect of preganglionic stimulation on neuropeptide-like immunoreactivity in the stellate ganglion of the cat. *Brain Res.*, v. 400, p. 377-382, 1987.
- BACQ,Z.M. La transmission chimique des influx dans le système nerveux autonome. *Ergebn.Physiol.*, v, 37, p. 82-185, 1935.
- BAIMBRIGDE,K.G., MILLER,J.J. Calcium uptake and retention during long-term potentiation of neuronal activity in the rat hippocampal slice preparation. *Brain Res.*, v. 221, p. 299-305, 1981.
- BAIRD,A.G., CUTHBERT,A.W. Neuronal involvement in type I hypersensitivity reactions in gut epithelia. *Br.J.Pharmacol.*, v. 92, p. 647-655, 1987.
- BAKER,A.P., HILLEGASS,L.M., HOLDEN,D.A., SMITH,W.J. Effect of kallidin, substance P, and other basic polypeptides on the production of respiratory macromolecules. *Am.Rev.Resp.Dis.*, v. 115, p. 811-817, 1977.
- BALKWILL,F.R. Tumour necrosis factor and cancer. *Prog.Growth Factor Res.*, v. 4, p. 121

-137, 1992.

BALKWILL,F.R., OSBORNE,R., BURKE,F., NAYLOR,M.S., TALBOT,D., DURBIN,H., TAVERNIER,J., FIERS,W. Evidence for tumour necrosis factor/cachectin production in cancer. *Lancet*, v. 2, p. 1229-1232, 1987.

BALKWILL,F.R., NAYLOR,M.S., MALIK,S. Tumour necrosis factor as an anticancer agent. *Eur.J.Cancer*, v. 26, p. 641-644, 1990.

BANISACCHI,T., BARATTINI,M., BIANCHI,S., BLANDINA,P., BRUNELLESCHI,S., FANTOZZI,R., MANNAIONI,P.F., MASINI, E. The release of histamine by parasympathetic stimulation in guinea pig auricle and rat ileum. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 371, p. 29-43, 1986.

BÄR,P.R., SCHOTMAN,P., GISPEN,W.H., TIELEN,A.M., LOPES DA SILVA,F.H. Changes in synaptic membrane phosphorylation after tetanic stimulation in the dentate area of the rat hippocampal slice. *Brain Res.*, v. 198, p. 478-484, 1980.

BARANYI,A., FEHÉR,O. Long-term potentiation of excitatory synaptic transmission in single motor cortical neurones of the cat produced by repetitive pairing of synaptic potentials and action potentials following intracellular stimulation. *Neurosci.Lett.*, v. 23, p. 303-308, 1981.

BARCLAY,M., SKIPSKI,V.P. Lipoproteins in relation to cancer *Prog.Biochem. Pharmacol.*, v. 10, p. 76-111, 1975.

BARD,P. The central representation of the sympathetic nervous system as indicated by certain physiologic observations. *Arch.Neurol.Psychiatry*, v. 22, p. 230-246, 1929.

BARRETT,K.E., METCALFE,D.D. Mast cell heterogeneity : Evidence and Implications. *J.Clin.Immunol.*, v. 4, p. 253-261, 1984.

BARRIONUEVO,G., BROWN,T.H. Associative long-term potentiation in hippocampal slices. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, v. 80, p. 7347-7351, 1983.

BARRIONUEVO,G., KELSO,S.R., JOHNSTON,D., BROWN,T.H. Conduance mechanism responsible for long-term potentiation in monosynaptic and isolated excitatory synaptic inputs to hippocampus. *J.Neurophysiol.*, v. 55, p. 540-550, 1986.

BARSOUM,G.S., GADDUM,J.H., KHAYYAL,M.A. The liberation of a choline ester in the inferior mesenteric ganglion. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 28, p. 9-10P, 1934.

- BARTOSCH,R., FELDBERG,W., NAGEL,E. Das Freiwerden eines histaminähnlichen Stoffes bei der Anaphylaxie des Meerschweinchens. *Pflugers Arch.Ges.Physiol.*, v. 230, p. 120-135, 1932.
- BARZILAI,A., KENEDY,T.E., SWEATT,J.D., KANDEL,E.R. 5-HT modulates protein synthesis and the expression of specific proteins during long-term facilitation in Aplysia sensory neurons. *Neuron*, v. 2, p. 1577-1586, 1989.
- BASBAUM,A.I., LEVINE,J.D. The contribution of the nervous system to inflammation and inflammatory disease. *Can.J.Physiol.Pharmacol.*, v. 69, p. 647-651, 1991.
- BASKYS,A., CARLEN,P.L., WOJTOWICZ,M. Long-term potentiation of synaptic responses in the rat dentate gyrus is due to increased quantal content. *Neurosci.Lett.*, v. 127, p. 169-172, 1991.
- BASU-RAY,B.N., DUTTA,S.N., PRADHAN,S.N. Effects of microinjections of ouabain into certain medullary areas in cats. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, v. 181, p. 257-361, 1972.
- BATTERMAN,R.C., GUTNER,L.B. Hitherto undescribed neurological manifestations of digitalis toxicity. *Am. Heart J.*, v. 36, p. 582-586, 1948.
- BATTISTINI,B, SIROIS,P., BRAQUET,P., FILEP,J.G. Endothelin-induced constriction of guinea-pig airways : role of platelet-activating factor. *Eur.J.Pharmacol.*, v. 186, p. 307-310, 1990.
- BAUDRY,M., OLIVER,M., CREAGER,R., WIERASZKO,A., LYNCH,G. Increase in glutamate receptors following repetitive electrical stimulation in hippocampal slices. *Life Sci*, v. 27, p. 325-330, 1980.
- BAUDRY,M., LYNCH,G. Hypothesis regarding the cellular mechanisms responsible for long-term synaptic potentiation in the hippocampus. *Exp. Neurol.*, v. 68, p. 202-204, 1980a.
- _____.Regulation of hippocampal glutamate receptors : evidence for the involvement of a calcium-activated protease. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, v. 77, p. 2298-2302, 1980b.
- BAUDRY.M., BUNDMAN,M.C., SMITH,E.K., LYNCH,G. Micromolar calcium stimulates proteolysis and glutamate binding in rat brain synaptic membranes. *Science*, v. 212, p. 936-937, 1981.
- BAXTER,D.A., BITTNER,G.D., BROWN,T.H. Quantal mechanism of long-term synaptic

- potentiation. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, v. 82, p. 5978-5982, 1985.
- BAZAN,N.G., ZORUMSKI,C.F., CLARCK,G.D. The activation of phospholipase A₂ and release of arachidonic acid and other lipid mediators at the synapse : the role of platelet-activating factor. *J.Lipid Mediat.*, v. 6, p. 421-427, 1993.
- BEDWANI,J.R., ECCLES,R., JONES,A.S. Effects of prostaglandins E₂, I₂ and D₂ on pig nasal vasculature. *Clin.Otolaryngol.*, v. 8, p. 337-341, 1983.
- BEFUS,A.D., DYCK,N., GOODACRE,R., BIENESTOCK,J. Mast cells from the human intestinal lamina propria :Isolation, histochemical subtypes, and functional characterization. *Immunology*, v. 183, p. 2604-2610, 1987.
- BEKKERS,J.M., STEVENS,C.F. Presynaptic mechanism for long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, v. 346, p. 724-729, 1990.
- BENDITT,E.P., WONG,R.L., ARASE,M., ROEPER,E. 5-Hydroxytryptamine in mast cells. *Proc.Soc.Exp.Biol.N.Y.*, v. 90, p. 303-304, 1955a.
- BENDITT,E.P., BADER,S., LAM,K.B. Studies of the mechanism of acute vascular reactions to injury. 1.The relationship of mast cells and histamine to the production of edema by ovomucoid in rats. *Arch.Pathol.*, v. 60, p. 104-115, 1955b.
- BENDITT,E.P., ARASE,M., ROEPER,M.E. Histamine and heparin in isolated rat mast cells. *J.Histochem.Cytochem.*, v. 4, p. 419-420, 1956.
- BENDITT,E.P., HOLCENBERG,J., LAGUNOFF,D. The role of serotonin (5-hydroxytryptamine) in mast cells. *Ann.N.Y.Acad.Sci.*, v. 103, p. 179-208, 1963.
- BENDITT,E.P., LAGUNOFF,D. The mast cell : Its structure and function. *Progr.Allergy*, v. 8, p. 195-223, 1964.
- BENNETT,A., PRATT,D., SANGER,G.J. Antagonism by fenamates of prostaglandin action in guinea pig, human alimentary muscle. *Br.J.Pharmacol.*, v. 68, p. 357-362, 1980.
- BENNETT,M.R. Nitric oxide release and long-term potentiation at synapses in autonomic ganglia. *Gen.Pharmacol.*, v. 25, p. 1541-1551, 1994.
- BENVENISTE,J., HENSON,P.M., COCHRANE,C.G. Leukocyte dependent histamine release from rabbit platelets : the role of IgE, basophils, and platelet activating factor. *J.Exp.Med.*, v. 136, p. 1356-1377, 1972.

- BENYON,R.C., LOWMAN,M.A., CHURCH,M.K. Human skin mast cells : Their dispersion, purification, and secretory characterization. *J.Immunol.*, v. 138, p. 861-867, 1987a.
- BENYON,R.C., ROBINSON,C., HOLGATE,S.T., CHURCH,M.K. Prostaglandin D₂ release from human skin mast cells in response to ionophore A23187. *Br.J.Pharmacol.*, v. 92, p. 635-638, 1987b.
- BERALDO,W.T. Formation of bradykinin in anaphylactic and peptone shock. *Am.J.Physiol.*, v. 163, p. 283-290, 1950.
- BERGER,T.W. Long-term potentiation of hippocampal synaptic transmission affects rate of behavioral learning. *Science*, v. 224, p. 627-630, 1984.
- BERGER,T.W., THOMPSON,R.F. Neuronal plasticity in the limbic system during classical conditioning of the rabbit nictitating membrane response. I. The hippocampus. *Brain Res.*, v. 145, p. 323-346, 1978.
- BERGOLD,P.J., SWEATT,J.D., WINICOV,I., WEISS,K.R., KANDEL,E.R.,SCHWARTZ, J.H. Protein synthesis during acquisition of long-term facilitation is needed for the persistent loss of regulatory subunits of the Aplysia cAMP-dependent protein kinase. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, v. 87, p. 3788-3791, 1990.
- BERGSTRÖM,S., SJÖVALL,J. The isolation of prostaglandin F from sheep prostate glands. *Acta Chem.Scand.*, v. 14, p. 1693-1701, 1960.
- BERGSTRÖM,S., RYHAGE,R., SANUELLSSON,B., SJÖVALL,J. Prostaglandins and related factors. 15.The structure of prostaglandin E₁, F_{1alpha} and F_{1beta}. *Biol.Chem.*, v. 283, p. 3555-3564, 1963.
- BERNARD,C.(1851) apud GABELLA,G. Structure of the autonomic nervous system. New York : John Wiley, 1976.
- BERNARD,C.(1852) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum, 1986. p. 3-26.
- BERNARD,C.(1858) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum, 1986. p. 3-26.

- BERNARD,C.(1878) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum, 1986. p. 3-26.
- BERNSTEIN,J.E., SWIFF,R.M., SOLTANI,K., LORINCZ,A.L. Inhibition of axon reflex vasodilation by topically applied capsaicin. *J.Invest.Dermatol.*, v. 76, p. 394-395, 1981.
- BERTILSSON,L., SURIA,A., COSTA,E. γ -Aminobutyric acid in rat superior cervical ganglion. *Nature*, v. 260, p. 540-541, 1976.
- BEST,C.H., DALE,H.H., DUDLEY,H.W., THORPE,W.V. The nature of the vasodilator constituents of certain tissue extracts. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 62, p. 397-417, 1927.
- BESWICK,F.B., CONROY,T.W.L. Optimal tetanic conditioning of heteronymous monosynaptic reflexes. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 180, p. 134-146, 1965.
- BEVILACQUA,M.P., PROBER,J.S., MAJEAU,G.R., FIERS,W., COTRAN,R.S., GIMBRONE,M.A.Jr. Recombinant tumor necrosis factor induces procoagulant activity in cultured human vascular endothelium : characterization and comparison with the actions of interleukin 1. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, v. 83, p. 4533-4537, 1986.
- BEUTLER,B.A., MAHONEY,J., Le TRANG,N., PEKALA,P., CERAMI, A. Purification of cachectin, a lipoprotein lipase-suppressing hormone secreted by endotoxin-induced RAW 264,7 cells. *J.Exp.Med.*, v. 161, p. 984-995, 1985a.
- BEUTLER,B.A., MILSARK,I.W., CERAMI,A. Cachectin/tumor necrosis factor : production, distribution, and metabolic fate *in vivo*. *J.Immunol.*, v. 135, p. 3972-3977, 1985b.
- BEUTLER,B.A., KROCHIN,N., MILSARK,I.W., LUEDKE,C., CERAMI,A. Control of cachectin (tumor necrosis factor) synthesis : mechanisms of endotoxin resistance. *Science*, v. 232, p. 977-980, 1986.
- BEUTLER,B.A., CERAMI,A. The common mediator of shock, cachexia e tumor necrosis. *Adv.Immun.*, v. 42, p. 213-231, 1988.
- BHATTACHERJEE,P., HAMMOND,B., SALMON,J.A., STEPNEY,R., EAKINS, K.E. Chemotactic response to some arachidonic acid lipoxygenase products in the rabbit eye. *Eur.J.Pharmacol.*, v. 73, p. 21-28, 1981.
- BHOOLA,K.D., COLLIER,H.O.J., SCHACTER,M., SHORLEY,P.G. Actions of some

- peptides on bronchial muscle. *Br.J.Pharmacol.*, v. 19, p. 190-197, 1962.
- BICHAT,M.F.X.(1802) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum, 1986. p.3-26.
- BIEDL,A.(1895) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum, 1986. p. 3-26.
- BIENENSTOCK,J. Cellular communications networks, implications for our understanding of gastrointestinal physiology. *Ann.N.Y.Acad.Sci.*, v. 664, p. 1-9, 1992.
- BIENENSTOCK,J., BEFUS,A.D., PEARCE,F., DENBURG,J., GOODACRE, R. Mast cell heterogeneity : derivation and function with emphasis on the intestine. *J.AllergyClin. Immunol.*, v. 70, p. 407-412, 1982.
- BIENENSTOCK,J., BEFUS,A.D., DENBURG,J., GOODACRE,R., PEARCE,F.L., SHANAHAN,F. Mast cell heterogeneity. *Monogr.Allergy*, v. 18, p. 124-128, 1983.
- BIENENSTOCK,J., BLENNERHASSETT,M., KAKUTA,Y., MacQUENN,G., J., PERDUE,M., SIEGEL,S., TSUDA,T., DENBURG,J., STEAD,R. Evidence for central and peripheral nervous system interaction with mast cells. In: GALLI,S.J., AUSTEN,K.F. (Eds.). Mast cell and basophil differentiation and function in health and disease.New York, Raven Press, 1989. p. 275-284.
- BIENENSTOCK,J., MacQUENN,G., SESTINI,P., MARSHALL,J.S., STEAD,R.H., PERDUE,M.H. Mast cell/nerve interactions *in vitro* and *in vivo*. *Am.Rev.Resp.Dis.*, v. 143, p. 55-58, 1991.
- BILLINGSLEY,P.R., RANSON,S.W. Branches of the ganglion cervicale superius. *J.Comp. Neurol.*, v. 29, p. 367-384, 1918.
- BINDMAN,L.J., MURPHY,K.P.S.J., POCKETT,S. Postsynaptic control of the induction of long-term changes in efficacy of transmission at neocortical synapses in slices of rat brain. *J.Neurophysiol.*, v. 60, p. 1053-1065, 1988.
- BIRKS,R.I. The role of sodium ions in the metabolism of acetylcholine. *J.Biochem.Physiol.*, v. 41, p. 2573-2597, 1963.

- BIRKS,R., MacINTOSHI,F.C. Acetylcholine metabolism of a sympathetic ganglion. *Can.J. Biochem.Physiol.*, v. 39, p. 787-827, 1961.
- BISGAARD,H., KRISTENSEN,J., SONDERGAARD,J. The effect of leukotriene C₄ and D₄ on cutaneous blood flow in humans. *Prostaglandins*, v. 23, p. 797-801, 1982.
- BISHOP,G.H., HEINBECKER,P. Differentiation of axon types in visceral nerves by means of the potential record. *Am.J.Physiol.*, v. 94, p. 170-200, 1930.
- _____. A functional analysis of the cervical sympathetic nerve supply to the eye. *Am.J. Physiol.*, v. 100, p. 519-532, 1932.
- BITO,H., NAKAMURA,M.; HONDA,Z., IZUMI,T., IWATSUBO,T., SEYAMA,Y., OGURA,A., KUDO,Y.; SHIMIZU,T. Platelet-activating factor (PAF) receptor in rat brain : PAF mobilizes intracellular Ca²⁺ in hippocampal neurons. *Neuron*, v. 9, p. 285-294, 1992.
- BITO,H., KUDO,Y., SHIMIZU,T. Characterization of platelet-activating factor (PAF) receptor in the rat brain. *J.Lipid Mediat.*, v. 6, p. 169-174, 1993.
- BLACK,J.L., ARMOUR,C.L., VINCENC,K.S., JOHNSON,P.R.A. A comparison of the contractile activity of PGD₂ and PGF_{2α} on human isolated bronchus. *Prostaglandins*, v. 32:, p. 5-31, 1986.
- BLACK,J.W., DUNCAN,W.A., DURANT,C.J., GANELLIN,C.R., PARSONS, E. M. Definition and antagonism of histamine H₂ receptors. *Nature*, v. 236, p. 385-390, 1972.
- BLACKMAN,J.G. Function of autonomic ganglia. In : HUBBARD,J. (Ed.). The peripheral ervous system. New York : Plenum, 1974. p. 257-276.
- BLACKMAN,J.G., GINSBORG,B.L., RAY,C. Synaptic transmission in the sympathetic ganglion of the frog. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 167, p. 355-373, 1963.
- BLACKWELL,G.J., FLOWER,R.J., VANE,J.R. Some characteristics of the prostaglandin synthesizing system in rabbit kidney microsomes. *Biochim.Biophys.Acta*, v. 398, p. 178-190, 1975.
- BLENNERHASSETT,M.G., TOMIOKA,M., BIENENSTOCK,J. Formation of contactbetween mast cells and sympathetic neurons *in vitro*. *Cell Tissue Res.*, v. 265, p. 121-128, 1991.
- BLISS,T.V.P. Synaptic plasticity in the hippocampus. *Trends Neurosci.*, v. 2, p. 42-45, 1979.

- BLISS,T.V.P., DOLPHIN,A.C. What is the mechanism of long-term potentiation in the hippocampus ? *Trends Neurosci.*, v. 5, p. 289-290, 1982.
- BLISS,T.V.P., LYNCH,M.A. Long-term potentiation of synaptic transmission in the hippocampus. Properties and mechanisms. In : LANDFIELD,P.W., DEADWYLER, S. A. (Eds.). Long-term potentiation : from biophysics to behavior. New York : Alan R.Liss, 1987. p. 3-72.
- BLISS,T.V.P., LOMO,T. Plasticity in a monosynaptic cortical pathway. *J.Physiol (Lond.)*, v. 207, p. 61P, 1970.
- _____. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of anaesthetized rabbits following stimulation of the perforant path. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 232, p. 331-356, 1973.
- BLISS,T.V.P., GARDNER-MEDWIN,A.R. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the unanaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 232, p. 357-374, 1973.
- BLISS,T.V.P., ERRINGTON,M.L., LYNCH,M.A., WILLIAMS,J.H. The lipooxygenase inhibitor nordihydroguaiaretic acid (NDGA) blocks the induction of both tetanus-induced and calcium-induced long-term potentiation in the hippocampus on the rat. *Pflügers Arch.*, , v. 411, suppl, p. R120, 1988.
- BLISS,T.V.P., DOLPHIN,A.C., FEASEY,K.J. Elevated calcium induces a long-lasting potentiation of commissural responses in the hippocampal CA₃ cells of the rat *in vivo*. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 350, p. 65P, 1984.
- BLISS,T.V.P., ERRINGTON,M.L., LYNCH,M.A. Calcium-induced long-term potentiation in the dentate gyrus is accompanied by a sustained increase in glutamate release. In : HICKS,T. P. et al. (Eds.). Excitatory amino acid transmission. New York : Alan R.Liss, 1987. p. 337-340.
- BLISS,T.V.P., GODDARD,G.V., RIIVES,M. Reduction of long-term potentiation in the dentate gyrus of the rat following selective depletion of monoamines. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 334, p. 475-491, 1983.
- BLISS,T.V.P., GODDARD,G.V., ROBERTSON,H.A., SUTHERLAND,R.J. Noradrenaline

- depletion reduces long-term potentiation in the rat hippocampus. In : FEHÉR,O., JOÓ,F. (Eds.). Advances in Physiological Sciences.. Cellular analogues of condiotining and neural plasticity. Oxford, Pergamon, 1981. v. 36, p.175-185.
- BLISS,T.V.P., DOUGLAS,R.M., ERRINGTON,M.L., LYNCH,M.A. Correlation between long-term potentiation and release of endogenous amino acids from dentate gyrus of anaesthetized rats. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 377, p. 391-408, 1986.
- BLISS,T.V.P., ERRINGTON,M.L., CLEMENTS,M.P., WILLIAMS,J.H., VOSS,K.L., LYNCH, M.A. Presynaptic mechanisms in long-term potentiation and the role of arachidonic acid. In : SQUIRE,L.R., et al. (Eds.). The biology of memory. Stuttgart, Verlag, 1990. p. 223-228.
- BLOOM,F.E. Amino acids and polypeptides in neuronal function. *Neurosci.Res.Prog.Bull.*, v. 10, p. 121-251, 1972.
- BLOOM,G., RINGERTZ,N. Acid polysaccharides of peritoneal mast cells of the rat and mouse. *Ark.Kemi*, v. 16, p. 51-56, 1960.
- BOBIK,A., GROOMS,A., MILLAR,J.A., MITCHELL.A., GRINPUKEL,S. Growth factor activity of endothelin on vascular smooth muscle. *Am.J.Physiol.*, v. 258, p. C408-C415, 1990.
- BÖCK,P. (1974) apud HEINE,H., FÖRSTER,F.J. Relations between mast cells and preterminal nerve fibers. *Z.mikrosk. anat. Forrsch., Leipzig*, v. 89, p. S934-S937, 1975.
- BÖHME,G.A., BON,C., STUTZMANN,J-M., DOBLE,A., BLANCHARD,J-C. Possible involvement of nitric oxide in long-term potentiation. *Eur.J.Pharmacol.*, v. 199, p.379-381, 1991.
- BOK,S.T.(1928) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum, 1986. p. 3-26.
- BOLME,P., FUXE,K., LIDBRINK,P. On the function of central catecholamine neurons Their role in cardiovascular and arousal mechanisms. *Res.Commun.Chem. Pathol. Pharmacol.*, v. 4, p. 657-697, 1972.
- BORGEAT,P., SAMUELSSON,B. Transformation of arachidonic acid by rabbit

- polymorphonuclear leukocytes : formation of a novel dihydroxyeicosatetraenoic acid. *J.Biol.Chem.*, v. 254, p. 2643-2646, 1979.
- BORISH,L., JOSEPH,B.Z. Inflammation and the allergic responses. *Med.Clin.North Am.*, v.76, p. 765-787, 1992.
- BORISON,H.L., BRIZZEE,K.R. Morphology of emetic chemoreceptor trigger zone in the cat medulla oblongata. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.*, v. 77, p. 38-42, 1951.
- BORISON,H.L., WANG,S.C. Locus of the central emetic action of cardiac glycosides. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.*, v. 76, p. 335-338, 1951.
- BORN,G.V.R. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature*, v. 194, p. 927-929, 1962.
- BOSCHI,E. Le mastzellen nella degenerazione Walleriana e rigenerazione del nervo periferico. *Sist.Nerv.*, v. 16, p. 129-139, 1964.
- BOSWELL,H.S., MOCHIZUKI,D.Y., BURGESS,G.S., GILLIS,S., WALKER,E.B., ANDERSON,D., WILLIAMS,D.E. A novel mast cell growth factor (MCGF-3) produced by marrow-adherent cells that synergizes with interleukin 3 and interleukin 4. *Exp.Hematol.*, v. 18, p. 794-800, 1990.
- BOTANA,L.M., ESPINOSA,J., ELENO,N. Adrenergic activity on rat pleural and peritoneal mast cells. Loss of beta-receptors during the purification procedure. *Gen.Pharmacol.*, v. 18, p. 141-148, 1987.
- BOTAR,J. The Autonomic nervous system. Budapest : Akademiai Kiado, 1966.
- BOULLIN,D.J., BUNTING,S., BLASS,W.P., HUNT,T.M., MONCADA,S. Responses of human and baboon arteries to prostaglandin endoperoxides and biologically generated and synthetic prostacyclin : Their relevance to cerebral arterial spasm in man. *Br.J .Clin. Pharmacol.*, v. 7, p.139-147, 1979.
- BOWERS,C.W., ZIGMOND,R.E. Localization of neurons in the rat superior cervical ganglion that project into different postganglionic trunks. *J.Comp.Neurol.*, v. 185, p. 381-392, 1979.
- _____. Sympathetic neurons in the lower cervical ganglion send axons through the superior cervical ganglion. *Neuroscience*, v. 6, p. 1783-1791, 1981.
- BOWERY,N.G., BROWN,D.A. γ -aminobutyric acid uptake by sympathetic ganglia. *Nature*

- (London) *New Biol.*, v. 238, p. 89-91, 1972.
- BOYAJY,L.D., NASH,C.B. Influence of reserpine on arrhythmias, inotropic effects, and myocardial potassium balance induced by digitalis materials. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, 148, p. 193-201, 1965.
- BRAIN,S.D. The direct observation of arteriolar constriction induced by endothelin *in vivo*. *Eur.J.Pharmacol.*, v. 160, p. 401-403, 1989.
- BRAIN,S.D., CAMP,R.D., DOWD,P., BLACK,A.K., GREAVES,M. The release of leukotriene B₄-like material in biologically active amounts from the lesional skin of patients with psoriasis. *J.Invest.Dermatol.*, v. 83, p. 70-73, 1984.
- BRAIN,S.D., CAMP,R.D., BLACK,A.K., DOWD,P.M., GREAVES,M.W., FORD-HUTCHINSON,A.W., CHARLESON,S. Leukotrienes C₄ and D₄ in psoriatic skin lesions. *Prostaglandins*, v. 29, p. 611-619, 1985.
- BRAY,M.A., CUNNINGHAM,F.M., FORD-HUTCHINSON,A.W., SMITH, M. J.H. Leukotriene B₄ : a mediator of vascular permeability. *Br.J.Pharmacol.*, v. 72, p. 483-486, 1981.
- BRAZIER,M.A.B. The historical development of neurophysiology. In : :FIELD,J. (Ed.): Neurophysiology society. Washington : American Physiology Society, 1959. Sec. I, v. 1. p. 1-58.
- BRENNEMAN,D.E., MATHUR,S.N., SPECTOR,A.A. Characterization of the hyperlipidemia in mice bearing the Ehrlich ascites tumor. *Eur.J.Cancer.*, v. 11, p. 225-230, 1975.
- BRESSLER,R.B., THOMPSON,H.L., KEFFER,J.M., METCALFE, D. D. Inhibition of the growth of IL-3-dependent mast cells from murine bone marrow by recombinant granulocyte macrophage-colony-stimulating factor. *J.Immunol.*, v. 143, p. 135-139, 1989.
- BRESSLER,R.B., FRIEDMAN,M.M., KIRSCHENBAUM,A.S., IRANI,A-M.A., SCHWARTZ, L.B., METCALFE,D.D. Sequential appearance of basophils and mast cells from human bone marrow in long-term suspension culture. *Int.Arch.Allergy Appl. Immunol.*, v. 91, p. 403-410, 1990.
- BRIGGS,C.A. Long-term potentiation of synaptic transmission in the sympathetic ganglion :

- multiple types of mechanisms. In :McLACHLAN,E.M. (Ed.). Autonomic ganglia. Luxembourg : Harwood Academic Publishers, 1995. p .297-347.
- BRIGGS,C.A., McAFEE,D.A. Long-term potentiation of nicotinic synapses in the rat superior cervical ganglion. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 404, p. 129-144, 1988.
- BRIGGS,C.A., BROWN,T.H., McAFEE,D.A. Plasticity of nicotinic synaptic transmission. *Trans. Am. Soc. Neurochem.*, v. 14, p. 115, 1983.
- _____. Neurophysiology and pharmacology of long-term potentiation in the rat sympathetic ganglion. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 359, p. 503-521, 1985a.
- BRIGGS,C.A., McAFEE,D.A., McCAMAN,R.E. Long-term potentiation of synaptic acetylcholine release in the superior cervical ganglion of the rat. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 363, p. 181-190, 1985b.
- BRIMBLE,M.J., WALLIS,D.I. Histamine H₁ and H₂ receptors at a ganglionic synapse. *Nature*, v. 246, p. 156-159, 1973.
- BROCKAERT,A., GODFRAIND,T. The actions of ouabain in isolated arteries. *Archs.Int.Pharmacodyn. Thér.*, v. 203, p. 393-395,1973.
- BROCKLEHURST,W.E., LAHIRI,S.C. The production of bradykinin in anaphylaxis. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 160, p. 15P-16P, 1962.
- BROIDE,D.H., WASSERMAN,S.I., ALVARO-GRACIA,J., ZVAIFLER,N.J., FIRESTEIN, G.S. Transforming growth factor-beta₁ selectively inhibits IL-3-dependent mast cell proliferation without affecting mast cell function or differentiation. *J.Immunol.*, v. 143, p. 1591-1597, 1989.
- BROOKS,McC.C. The development of our knowledge of the autonomic nervous system. In : BROOKS,McC,C. et al. (Eds.). Integrative Function of the Autonomic Nervous System. North-Holland, Elsevier, 1979. p.473-496.
- BROOKS,McC.C., SELLERS,H. Early and late contributions to our knowledge of autonomic nervous system and its control made by German scientists. *J.Auton.Nerv.Sys.*, v. 3, p. 105-119, 1981.
- BROWN,D.A., CONSTANTIA,A., ADAMS,P.R. Slow cholinergic and peptidergic transmission in sympathetic ganglia. *Fed.Proc.*, v. 40, p. 2625-2636, 1981.

- BROWN,D.A., DUNN,P.M. Depolarization of rat isolated superior cervical ganglia mediated by Beta₂-adrenoreceptores. *Br.J.Pharmacol.*, v. 79, p. 429-439, 1983.
- BROWN,G.L. Conduction in the cervical sympathetic. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 81, p. 228-242, 1934.
- _____.Transmission at nerve endings by acetylcholine. *Physiol.Rev.*, v. 17, p. 485- 513, 1937.
- BROWN,G.L, FELDBERG,W. The acetylcholine metabolism of a sympathetic ganglion. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 88, p. 265-283, 1937.
- BROWN,M.A., PIERCE,J.H., WATSON,C.J., FALCO,J., IHLE,J.N., PAUL, W.E. B. cell stimulatory factor-1/Interleukin-4 mRNA is expressed by normal and transformed mast cells. *Cell*, v. 50, p. 809-818, 1987.
- BROWN-SÉQUARD,C.E.(1852) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum, 1986. p. 3-26.
- BROWN-SÉQUARD,C.E.(1854) apud DeCHAMPLAIN,J. The sympathetic system in hypertension. *Clin.Endocrinol.Metabol.*, v. 6, p. 633-655, 1977.
- BROWN,T.H., McAFEE,D.A. Long-term synaptic potentiation in the superior cervical ganglion. *Science*, v. 215, p. 1411-1413, 1982.
- BROWN,T.H., CHANG,V.C., GANONG,A.H., KEENAN,C.L., KELSO,S.R. In : LANDFIELD,P.W. et al. (Eds.). Long-term potentiation : from biophysics to behavior. New York: Alan R.Liss, 1988a. p .201-264.
- BROWN,T.H., CHAPMAN,P.F., KAIRISS,E.W., KEENAN,C.L. Long-term potentiation. *Science*, v. 242, p. 724-728, 1988b.
- BROWNING,M., DUNWIDDIE,T., BENNETT,W., GISPEN,W., LYNCH,G. Synaptic phosphoproteins : Specific changes after repetitive stimulation of the hippocampal slice. *Science*, v. 203, p. 60-62, 1979.
- BRUCE,A. Distribution of the cells in the intermedio-lateral tract of the spinal cord. *Trans.Roy.Soc.*, v. 45, p. 105, 1906.
- BRUNELLI,M., CASTELLUCI,V., KANDEL,E.R. Synaptic facilitation and behavioral sensitization in *Aplysia*: possible role of serotonin and cyclic AMP. *Science*, v. 194, p.

1178-1181, 1976.

BRUNI,A., BIGON,E., BOARATO,E., MIETTO,L., LEON,A., TOFFANO, F. Interaction between nerve growth factor and lysophosphatidyl-serine on rat peritoneal mast cells. *FEBS Lett.*, v. 138, p. 190-192, 1982.

BUÑAG,R.D., TERÄVÄINEN,T.L. Tail-cuff detection of systolic hypertension in different strains of aging rates. *Mech.Ageing Dev.*, v. 59, p. 197-213, 1991.

BUNTING,S., MONCADA,S., VANE,J.R. The effects of prostaglandin endoperoxides and thromboxane A₂ on strips of rabbit coeliac artery and other smooth muscle preparations. *Br.J.Pharmacol.*, v. 57, p. 462P-463P, 1976.

_____. Antithrombotic properties of vascular endothelium. *Lancet*, v. 2, p. 1075-1076, 197.

BURD,P.R., ROGERS,H.W., GORDON,J.R., MARTIN,C.A., JAYARAMAN,S., WILSON, S.D., DVORAK,A.M., GALLI,S.J., DORF,M.E. Interleukin 3-dependent and -independent mast cells stimulated with IgE and antigen express multiple cytokines. *J.Exp.Med.*, v. 170, p. 245-257, 1989.

BURGARD,E.C., DECKER,G., SARVEY,J.M. NMDA receptor antagonists block norepinephrine-induced long-lasting potentiation and long-term potentiation in rat dentate gyrus. *Brain Res.*, v. 482, p. 351-355, 1989.

BURNSTOCK,G., GANNON,B., IWAYAMA,T. Sympathetic innervation of vascular smooth muscle in normal and hypertensive animals. *Circ.Res.*, v. 26-27, Suppl.II, p. 5-25, 1970.

BUZSÁKI,G. Long-term potentiation of the commissural path-CA₁ pyramidal cell synapse in the hippocampus of the freely moving rat. *Neurosci.Lett.*, v. 19, p. 293- 296, 1980.

BUZSÁKI,G., EIDELBERG,E. Direct afferent excitation and long-term potentiation of hippocampal interneurons. *J.Neurophysiol.*, v. 48, p. 597-607, 1982.

CAMPBELL,B., SUTIN,J. Organization of cerebral cortex. IV. Posttetanic potentiation of hippocampal pyramids. *Am.J.Physiol.*, v. 196, p. 330-334, 1959.

CAMPBELL,D.J., KIERNAN,J.A. Mast cells in the central nervous system *Nature*, v. 210, p. 756-757, 1966.

CAMUSSI,G., TETTA,C., BUSSOLINO,F., ANDRES,G., TURELLO,E., BAGLIONE, C.

- Involvement of cytokines and platelet-activating factor in renal pathology. *J.Lipid Mediat.*, v. 2, Suppl., p. S203-S213, 1990.
- CANNON,W.B., BACQ,Z.M. Studies on the conditions of activity in endocrine organs. XXVI. A hormone produced by sympathetic action on smooth muscle. *Am.J.Physiol.*, v. 96, p. 392-412, 1931.
- CANNON,W.B., ROSENBLUETH,A. Studies on conditions of activity in endocrine organs. XXIX. Sympathin E and Sympathin I. *Am.J.Physiol.*, v. 104, p. 557-574, 1933.
- CAPLAN,M.S., MACKENDRICK,W. Inflammatory mediators and intestinal injury. *Clin.Perinatol.*, v. 21, p. 235-246, 1994.
- CAPPUCCIO,F.P., MARKANDU,N.D., SAGNELLA,G.A, MacGREGOR,G.A. The effect of oral digoxin on sodium excretion, renin-angiotensin-aldosterone system and bloodpressure in normotensive subjects. *Postgrad.Med.J.*, v. 62, p. 265-268, 1986.
- CARDELL,L.O., UDDMAN,R., EDVINSSON,L. Endothelins : a role in cerebrovascular disease ? *Cephalalgia*, v. 14, p. 259-265, 1994.
- CARDINALI,D.P., ROMEO,H.E. Peripheral neuroendocrine interrelationship in the cervical region. *NIPS*, v. 5, p. 100, 1990.
- CARPENTER,F.W., CONEL,J.L. A study of ganglion cells in the sympathetic nervous system with special reference to intrinsic sensory neurons. *J.Comp.Neurol.*, v. 24, p.269-281, 1914.
- CARRE,P., LEOPHONTE,P. Cytokines et fibroses pulmonaires. *Rev.Mal.Respir.*, v. 10, p. 193-207, 1993.
- CARSWELL,E.A., OLD,L.J., KASSEL,R.L., GREEN,S., FIORE,N., WILLIAMSON,B. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumours. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, v. 72, p. 3666-3671, 1975.
- CASALE,T.B. The role of autonomic nervous system in allergic disease. *Ann.Allergy*, v. 51, p. 423-429, 1983.
- CASALE,T.B., BOWMAN,S., KALINER,M. Induction of human cutaneous mast cell degranulation by opiates and endogenous opioid peptides : Evidence for opiate and non-opiate receptor participation. *J.Allergy Clin.Immunol.*, v. 73, p. 775-780, 1984.
- CASALE,T.B., KEAHEY,T.M., KALINER,M. Exercise-induced anaphylactic syndromes.

- JAMA*, v. 225, p. 2049-2053, 1986.
- CASTELLUCCI,V.F., BLUMENFELD,H., GOELET,P., KANDEL, E. R. Inhibitor of protein synthesis blocks long-term behavioral sensitization in the isolated gill-withdrawal reflex of *Aplysia*. *J.Neurobiol.*, v. 20, p. 1-19, 1989.
- CASTRO,G.A. Gut immunophysiology : regulatory pathways within a common mucosal immune system. *News Physiol.Sci.*, v. 4, p. 59-64, 1989.
- CAUNA,N., CAUNA,D. Association of nerve fibers and plasma cells in abnormal human nasal respiratory mucosa. *Ann.Otol.Rhinol.Laryngol.*, v. 83, p. 347-360, 1974.
- CAVERSON,M.M., BACHOO,M., CIRIELLO,J., POLOSA,C. Effect of preganglionic stimulation or chronic decentralization on neurotensin-like immunoreactivity in sympathetic ganglia of the cat. *Brain Res.*, v. 482, p. 365-370, 1989.
- CERAMI,A., IKEDA,Y., LE TRANG,N., HOTEZ,P.J., BEUTLER,B. Weight loss associated with an endotoxin-induced mediator from peritoneal macrophages : the role of cachectin (tumor necrosis factor). *Immunol.Lett.*, v. 11, p. 173-177, 1985.
- CHAI,D.Y., WANG,H.H., HOFFMAN,B.F., WANG,S.C. Mechanisms of bradycardia induced by digitalis substances. *Am.J.Physiol.*, v. 212, p. 25-34, 1967.
- CHALMERS,J.P. Brain amines and models of experimental hypertension. *Circ.Res.*, v.36, p. 469-480, 1975.
- CHANG,F-L.F., GREENOUGH,W.T. Transient and enduring morphological correlates of synaptic activity and efficacy change in the rat hippocampal slice. *Brain Res.*, v. 309, p. 35-46, 1984.
- CHANG,W.C., MUROTA,S.I., TSURUFUGI,S. Thromboxane B₂ transformed from arachidinic acid in carrageenin-induced granuloma. *Prostaglandins*, v. 13, p. 17-24, 1977.
- CHAPNICK,B.M., FEIGEN,L.P., HYMAN,A.L., KADOWITZ,P.J. Differential effects of prostaglandins in the mesenteric vascular bed. *Am.J.Physiol.*, v. 235, p. H326-H332, 1978.
- CHARRIAUT-MARLANGUE,C., ANIKSZTEJN,L., ROISIN,M.P., BEN-ARY,Y. Release of proteins during long-term potentiation in the hippocampus of the anaesthetized rat. *Neurosci.Lett.*, v. 91, p. 308-314, 1988.
- CHERUBINI,E., BEN-ARI,Y., GHO,M., BIDARD,J.N., LAZDUNSKI,M. Long-term

- Nature*, v. 328, p. 70-73, 1987.
- CHIBA,T., WILLIAMS,T.H. Histofluorescence characteristics and quantification of small intensely fluorescent (SIF) cells in sympathetic ganglia of several species. *Cell.Tiss.Res.*, v. 162, p. 331-341, ,1975,.
- CHRIST,E.J., VAN DORP,D.A. Comparative aspects of prostaglandins. *Adv.Biosc.*, v. 9, p. 35-38, 1972.
- CHRISTIAN,E.P., WEINREICH,D. Presynaptic histamine H₁ and H₂ receptors modulate sympathetic ganglionic synaptic transmission in the guinea pig. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 457, p. 407-430, 1992.
- CHRISTIAN,E.P., UNDEM,B.J., WEINREICH,D. Endogenous histamine excites neurons in the guinea pig superior cervical ganglion *in vitro*. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 409, p. 297-312, 1989.
- CHRISTIANSEN,S.C., PROUD,D., COCHRANE,C.G. Detection of tissue kallikrein in the bronchoalveolar lavage fluids of asthmatic subjects. *J.Clin.Invest.*, v. 79, p. 188-197, 1987.
- CHUNG,S.H. Synaptic memory in the hippocampus. *Nature*, v. 266, p. 677-678, 1977.
- CHUNG,S.W., WONG,P.M.C., SHEN-ONG,G., RUSCETTI,S., ISHIZAKA, T., EAVES,C.J. Production of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor by Abelson virus-induced tumorigenic mast cell lines. *Blood*, v. 68, p. 1074-1081, 1986.
- CHURCH,M.K., PAO,G.J.K., HOLGATE,S.T. Characterization of histamine secretion from mechanically dispersed human lung mast cells : Effects of anti-IgE, calcium ionophore A23187, compound 48/80, and basic polypeptides. *J.Immunol.*, v. 129, p. 2116-2121, 1982.
- CHURCH,M.K., HIROI,J. Inhibition of IgE-dependent histamine release from human dispersed lung mast cells by anti-allergic drugs and salbutamol. *Br.J.Pharmacol.*, v. 90, p. 421-429, 1987.
- CHURCH,M.K., BENYON,R.C., LOWMAN,M.A., HUTSON,P.A., HOLGATE,S. T. Allergy or inflammation : From neuropeptide stimulation of human skin mast cells to studies on the mechanism of the late asthmatic response. *Agents Actions*, v. 26, p. 22-30, 1989a.
- CHURCH,M.K., LOWMAN,M.A., ROBINSON,C., HOLGATE,S.T., BENYON,R. C.

- Interaction of neuropeptides with human mast cells. *Int.Arch.Allergy Appl.Immunol.*, v.88, p. 70-78, 1989b.
- CHURCH,M.K., EL-LATI,S, CAULFIELD,J.P. Neuropeptide-induced secretion from human skin mast cells. *Int.Arch.Allergy Appl.Immunol.*, v. 94, p. 310-318, 1991.
- CHURCHILL,L., CHILTON,F.H., RESAU,J.H., BASCOM,R., HUBBARD,W.C., PROUD,D. Cyclooxygenase metabolism of endogenous arachidonic acid by cultured human tracheal epithelial cells. *Am.Rev.Respir.Dis.*, v. 140, p. 449-459, 1989.
- CLARCK,G.D., HAPPEL,L.T., ZORUMSKI,C.F., BAZAN,N.G. Enhancement of hippocampal excitatory synaptic transmission by platelet-activating factor. *Neuron*, v. 9, p.1211-1216, 1992.
- COCEANI,F., BISHAI,I., WHITE,E., BODACHE,E., OLLEY,P.M. Action of prostaglandins endoperoxides and thromboxanes on the lamb ductus arteriosus. *Amer.J.Physiol.*, v. 234, p. H117-H122, 1978.
- COCHRANE,C.G., MULLER-EBERHARD,H.J. The derivation of the two distinct anaphylatoxin activities from the third and fifth components of human complement. *J.Exp.Med.*, v. 125, p. 371-377, 1968.
- COCHRANE,D.E. Histamine secretion from mast cells : An interplay of autonomic agents. *Trends Auton.Pharmacol.*, v. 3, p. 269-284, 1985.
- COCHRANE,D.E., DOUGLAS,W.W. Calcium-induced extrusion of secretory granules (exocytosis) in mast cells exposed to 48/80 on the ionophores A23187 and X-537A. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, v. 71, p.408-412, 1974.
- COLEMAN,R.A., FENUK,L., KENNEDY,I. A study of prostanoid receptors mediating bronchoconstriction in anaesthetised guinea pig and dog. *Br.J.Pharmacol.*, v.74, p. 913P - 914P, 1981.
- COLEMAN,R.A., KENNEDY,I., HUMPHREY,P.P.A., BUNCE,K., LUMLEY,P. Prostanoids and their receptors. In : HANSCH, SAMMERS, TAYLOR, (Eds.). Comprehensive medicinal chemistry. Oxford : Pergamon Press, 1990. v. 3, p. 643-714.
- COLEY,W.B.(1893) apud BEUTLER,B., CERAMI,A. Cachectin : more than a tumour necrosis factor. *N.Engl.J.Med.*, v. 316, p. 379-385, 1987.

- COLLINGRIDGE,G.L. Long-term potentiation in the hippocampus :Mechanisms of initiation and modulation by neuro transmitters. *Trends Pharmacol.Sci.*, v. 6, p. 407-411, 1985.
- COLLINGRIDGE,G.L., BLISS,T.V.P. NMDA receptors - their role in long-term potentiation. *Trends Neurosci.*, v. 10, p. 288-293, 1987.
- COLLINGRIDGE,G.L., KEHL,S.J., McLENNAN,H. Excitatory aminoacids in synaptic transmission in the Schaffer-comissural pathway of the rat hippocampus. *J.Physiol. (Lond.)*, v. 334, p. 33-46, 1983.
- COLLINGRIDGE,G.L., RANDALL,A.D., DAVIES,C.H., ALFORD,S. The synaptic activation of NMDA receptors and Ca²⁺ signalling in neurons. *Ciba Found.Symp.*, v. 164, p. 162-171, 1992.
- COLLINS,T., LAPIERRE,L.A., FIER,S,W., STROMINGER,J.L., ROBER,J.S. Recombinant human tumor necrosis factor increases mRNA levels and surface expression of HLA-A,B antigens in vascular endothelial cells and dermal fibroblasts *in vitro*. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, v. 83, p. 446-450, 1986.
- CONNOR,J.A., WADMAN.W.J., HOCKBERGER,P.E., WONG,R.K.S. Sustained dendritic gradients of Ca⁺⁺ induced by excitatory amino acids in CA₁ hippocampal neurons. *Science*, v. 240, p. 649-653, 1988.
- CONRAD,D.H., BAZIN,H., SEHON,A.H., FROESE,A. Binding parameters of the interaction between rat IgE and rat mast cell receptors. *J.Immunol.*, v. 114, p. 1688-1691, 1975.
- COPAS,J.L., GARDIER,P.J., WILSON,S.A. Tracheal relaxant effects of prostanoids are dependent on their contractile effects. *Br.J.Pharmacol.*, v. 74, p. 911P-912P, 1981.
- CORDINGLEY,F.T., HOFFBRAND,A.V., BRENNER,M.K. Cytokine induced enhancement of the susceptibility of hairy cell leukaemia lymphocytes to natural killer cell lysis.*Br.J.Haematol.*, v. 70, p. 37-41, 1988.
- COREY,E.J., MARFAT,A., GOTO,G., BRION,F. Leukotriene B : total synthesis and assignment of stereochemistry. *J.Am.Chem.Soc.*, v. 102, p. 7984-7985, 1980.
- COSTA,J.J., BURD,P.R., METCALFE,D.D. Mast Cell Cytokines. In: KALINER,M.A., METCALFE,D.D. (Eds.). The mast cell in health and disease. New York : Marcel Dekker, 1993. p.443-466.

- COTMAN,C.W., FOSTER,A., LANTHORN,T. An overview of glutamate as a neurotransmitter. In : DICHIARA,G., GESSA,G.L. (Eds.). Glutamate as a neurotransmitter. New York : Raven Press, 1981. p.1-27.
- COUTURE,R., CUELLO,A.C. Studies on the trigeminal antidromic vasodilatation and plasma extravasion in the rat. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 346, p. 273-285, 1984.
- CRAIG,S.S., DeBLOIS,G., SCHWARTZ,L.B. Mast cells in human keloids, small intestine, and lung by an immunoperoxidase technique using amurine monoclonal-antibody. *Am.J.Pathol.*, v. 124, p. 427-435, 1986.
- CROONE,W.(1852) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum, 1986. p. 3-26.
- CROWCROFT,P.J., SZURSZEWSKI,J.H. A study of the inferior mesenteric and pelvic ganglia of guinea pigs with intracellular electrodes. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 219, p.421-441, 1971.
- CUELLO,A.C., DeFIACCO,M., PAXINOS,G. The central and peripheral ends of the substance P-containing sensory neurones in the rat trigeminal system. *Brain Res.*, v. 52, p. 499-509, 1978.
- CUSHNY,A.R., MATTHEWS,S.A.(1897) apud RACINE,R.J., DeJONGE,M. Short-term potentiation in projection pathways and local circuits. In LANDFIELD,P.W. et al. (Eds.) Long-term potentiation : from biophysics to behavior. New York : Alan,R.Liss,1988. p. 167-197.
- DAGGETT,W.M., WEISFELDT,M.L. Influence of the sympathetic nervous system on the response of the normal heart to digitalis. *Am.J.Cardiol.*, v. 16, p. 394-405, 1965.
- DAHLÉN,S.E., HEDQVIST,P., HAMMARSTRÖM,S., SAMUELSSON, B. Leukotrienes are potent constrictors of human bronchi. *Nature*, v. 288, p. 484-486, 1980.
- DAIL.W.G., KHOUDARY,S., BARRAZA,C., MURRAY,H.M., BRADLEY,C. The fate of adrenergic fibers which enter the superior cervical ganglion. In : ERÄNKO,O. et al. (Eds.).Histochemistry and cell biology of autonomic neurons, SIF cells, and paraneurons. New York : Raven Press, 1980. p .287-297.

DALE,H.H. The action of certain esters and ethers of choline, and their relation to muscarine. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, v. 6, p. 147-190, 1914.

_____. Pharmacology and nerve endings. *Proc.Roy.Soc.Med.*, v. 28, p. 319-332, 1935.

_____. Transmission of nervous effects by acetylcholine. *Harvey Lect.*, v. 32, p. 229-245, 1937.

_____. Acetylcholine as a chemical transmitter substance of the effects of nerve impulses. *J.Mt.Sinai Hosp.*, v. 4, p. 401-429, 1938.

DALE,H.H., LAIDLAW,P.P. Further observations on the action of B-imidazolylethylamine. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 43, p. 182-195, 1911.

_____. Histamine shock. *J.Physiol. (Lond.)*, v. 52, p. 355-390, 1919.

DALE,H.H., FELDBERG,W., VOGT,M. Release of acetylcholine at voluntary motor nerve ending. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 86, p. 353-380, 1936.

DALE,M.M., FOREMAN,J.C.(1989) apud ROITT, I. Essential immunology. Oxford : Black-Well Scientific, 1991.

DAL-RI,H., SCHMIDT,G. Central and peripheral alteration respiration by toxin cardiac glycosides in the rat. *Naumyn Schmiedebergs Arch.Pharmacol.*, v. 239, p. 158-169, 1960.

DALSGAARD,C.F., JONSSON,C.E., HOKFELT,T., CUELLO,A.C. Localization of substance P-immunoreactive fibers in the human digital skin. *Experientia*, v 39, p. 1018-1020, 1983.

DAS,U.N. Interaction(s) between essential fatty acids, eicosanoides, cytokines, growth factors and free radicals : relevance to new therapeutic strategies in rheumatoid arthritis and other collagen vascular diseases. *Prostaglandins Leukot.Essent. Fatty Acids*, v. 44, p. 201-210, 1991a.

_____. Tumour necrosis factor/cachectin : biology and relevance to disease. *J.Assoc. Physicians India*, v. 39, p. 201-204, 1991b.

DAVIDSON,E.M., RAE,S.A., SMITH,M.J. Leukotriene B₄, a mediator of inflammation present in synovial fluid in rheumatoid arthritis. *Ann.Rheum.Dis.*, v. 43, p. 677-679, 1983.

DAVIES,P.F., OLESEN,S.P., CLAPHAM,D.E., MORREL,E.M., SCHOEN,F.J. Endothelial

- communication. State of the art lecture. *Hypertension*, v. 11, p. 563-572, 1988.
- DAVIS,B., ROBERTS,A.M., COLERIDGE,H.M., COLERIDGE,J.C.G. Reflex tracheal gland secretion evoked by stimulation of bronchial C-fibers in dogs. *J.Appl.Physiol.*, v. 53, p. 985-991, 1982.
- DAWSON,T.M., DAWSON,V.L., SNYDER,S.H. A novel neuronal messenger molecule in brain : the free radical nitric oxide. *Ann.Neurol.*, v. 32, p. 297-311, 1992.
- DAWSON,W., BOOT,J.R., COCKERILL,A.F., MALLEEN,D.N.B., OSBORNE, D.J. Release of novel prostaglandins and thromboxanes after immunological challenge of guinea pig lung. *Nature*, v. 262, p. 699-702, 1976.
- DEADWYLER,S.A., DUDEK,F.E., COTMAN,C.W., LYNCH,G. Intracellular responses of rat dentate granule cell *in vitro* : post-tetanic potentiation to perforant path stimulation. *Brain Res.*, v. 88, p. 80-85, 1975.
- De CHAMPLAIN,J., MEULLER,R.A., AXELROD,J. Turnover and synthesis of norepinephrine in experimental hypertension in rats. *Circ.Res.*, v. 25, p. 285-291, 1969.
- De CHAMPLAIN,J., NADEAU,R.A. 6-hydroxydopamine, 6-hydroxydopa and degeneration of adrenergic nerves. *Fed.Proc.*,v. 30, p. 877-885, 1971.
- De CHAMPLAIN,J., VAN AMERINGER,M.R. Regulation of blood pressure by sympathetic fibers and adrenal medulla in normotensive and hypertensive rats. *Circ.Res.*, v. 31, p. 617-628,1972.
- De CHAMPLAIN,J., COUSINEAU,D., VAN AMERINGEN,M.R., MARC-AURÉLE,J., YAMAGUCHI,N. The role of the sympathetic system in experimental and human hypertension. *Postgrad. Med.J.*, v. 53, Suppl.3, p. :15-30, 1977.
- Del CASTILLO,J., KATZ,B. Quantal components of the end plate potential. *J.Physiol. (Lond.)*, v. 124, p. 560-573, 1954a.
- _____. Statistical factors involved in neuromuscular facilitation and depression. *J.Physiol. (Lond.)*, v. 124, p. 574-585, 1954b.
- _____. Changes in end-plate activity produced by presynaptic polarization. *J.Physiol. (Lond.)*, v. 124, p. 586-604, 1954c.
- DENGLER,J.H., MICHAELSON,I.A., SPIEGEL,H.E., TITUS,E. The uptake of labelled

- norepinephrine by isolated brain and other tissues of the cat. *Intern.J.Neuropharmacol.*, v. 1, p. 23-28, 1962.
- DeNUCCI,G.D., THOMAS,R., D'ORLEANSJUSTE,P., ANTUNES,E., WALDER,C., WARNER,T.D., VANE,J.R. Pressor effects of circulating endothelin are limited by its removal in the pulmonary circulation and by the release of prostacyclin and endothelium-derived relaxing factor. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, v. 85, p. 9797-9800, 1988.
- De PACE,D.M. Evidence for a blood-ganglion barrier in the superior cervical ganglion of the rat. *Anat.Rec.*, v. 204, p. 357-363, 1982.
- DeROBERTIS,E.D.P., BENNETT,H.S. Some features of the submicroscopic morphology of synapses in frog and earthworm. *J.Biophys.Biochem.Cytol.*, v. 1, p. 47-58, 1955.
- DESCARTES,R.(1649) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al.(Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum, 1986. p. 3-26.
- DESMOND,N.L., LEVY,W.B. Synaptic correlates of associative potentiation/depression : An ultrastructural study in the hippocampus. *Brain Res.*, v. 265, p. 21-30, 1983.
- DIMITRIADOU,V., AUBINEAU,P., TAXI,J., SEYLAZ,J. Ultrastructural evidence for a functional unit between nerve fibers and type 2 cerebral mast cells in the cerebral vascular wall. *Neuroscience.*, v. 22, p. 621-630, 1987.
- DIMITRIADOU,V., LAMBRACHT-HALL,M., REICHLER,J., THEOHARIDES, T.C. Histochemical and ultrastructural characteristics of rat brain perivascular mast cells stimulated with compound 48/80 and carbachol. *Neuroscience.*, v. 39, p. 209-224, 1990.
- DIMITRIADOU,V., BUZZI,M.G. MOSKOWITZ,M.A., THEOHARIDES,T.C. Trigeminal sensory fibre stimulation induces morphological changes reflecting secretion in rat dura mater mast cells. *Neuroscience.*, v. 44, p. 97-112, 1991.
- DIMLICH,R.W.W., MEINEKE,A., REILLY,F.D., McCUSKEY,R.S. The fluorescent staining of heparin in mast cells using berberine sulfate : Compatibility with paraformaldehyde or ophthalaldehyde induced fluorescence and metachromasia. *Stain Technol.*, v. 55, p. 217-223, 1980.
- DIMLICH,R.W.W., KELLER,J.T., STRAUSS,T.A., FRITTS,M.J. Linear arrays of

- homogeneous mast cells in the dura mater of rat. *J.Neurocytol.*, v. 20, p. 485-503, 1991.
- DINARELLO,C.A., CANNON,J.G., WOLFF,S.M., BERNHEIM,H.A., BEUTLER,B., CERAMI,A., FIGARI,I.S., PALLADINO,M.A.Jr., O'CONNOR,J.V. Tumor necrosis factor (cachectin) is an endogenous pyrogen and induces production of interleukin 1. *J.Exp.Med.*, v. 163, p. 1433-1450, 1986.
- DIXON,W.E. Vagus inhibition. *Br.Med.J.*, v. 2, p. 1807, 1906.
- _____. On the mode of action of drugs. *Med.Mag.(London)*, v. 16, p. 454-457, 1907.
- DJEU,J.Y., BLANCHARD,D.K., HALKIAS,D., FRIEDMAN,H. Growth inhibition of candida albicans by human polymorphonuclear neutrophils : activation by interferon- γ and tumor necrosis factor. *J.Immunol.*, v. 137, p. 2980-2984, 1986.
- DOEBBER,T.W., WU,M.S., ROBBINS,J.C., CHOY,B.M., CHANG,M.N., SHEN,T.Y. Platelet activating factor (PAF) involvement in endotoxin-induced hypotension in rats : studies with PAF-receptor antagonist kadsurenone. *Biochem.Biophys.Res.Commun.*, v. 127, p. 799-808, 1985.
- DOFFERHOFF,A.S., VELLENGA,E., LIMBURG,P.C., van ZANTEN,A., MULDER, P.O., WEITS,J. Tumour necrosis factor (cachectin) and other cytokines in septic shock : are view of the literature. *Neth.J.Med.*, v. 30, p. 45-62, 1991.
- DOGGETT,N.S., CASE,G. Some observations on the interaction between cardiacglycosides and reserpine in the heart and central nervous system. *Toxicol.Appl. Pharmacol.*, v. 33, p.87-93, 1975.
- DOGGETT,N.S., SPENCER,P.S.J. Pharmacological properties of centrally administered ouabain and their modification by other drugs. *Br.J.Pharmacol.*, v. 42, p. 242-253, 1971.
- DOLLER,H.J., WEIGHT,F.F. Perforant pathway-evoked long-term potentiation of CA₁ neurons in the hippocampal slice preparation. *Brain Res.*, v. 333, p. 305-310, 1985.
- DOLOVICH,J., BACK,N., ARBESMAN,C.E. Kinin-like activity in nasal secretions of allergic patients. *Int.Arch.Allergy*, v. 38, p. 337-344, 1970.
- DOLPHIN,A.C. The adenosine agonist 2-chloroadenosine inhibits the induction of long-term potentiation of the perforant path. *Neurosci.Lett.*, v. 39, p. 83-89, 1983.
- _____. Long-term potentiation at peripheral synapses. *Trends Neurosci.*, v. 8, p. 376-378,

1985.

DOLPHIN, A.C., ERRINGTON, M.L., BLISS, T.V.P. Long-term potentiation of the perforant path *in vivo* is associated with increased glutamate release. *Nature*, v. 297, p. 496-498, 1982.

DOUGLAS, R.M. Long-lasting synaptic potentiation in the rat dentate gyrus following brief high frequency stimulation. *Brain Res.*, v. 126, p. 361-365, 1977.

DOUGLAS, R.M., GADDARD, G.V. Long-term potentiation of the perforant path-granule cell synapse in the hippocampus. *Brain Res.*, v. 86, p. 205-215, 1975.

DOUGLAS, W.W., RITCHIE, J.M. The conduction of impulses through the superior cervical and accessory cervical ganglia of the rabbit. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 133, p. 220-231, 1956.

DOUGLAS, W.W., LYWOOD, D.W., STRAUB, R.W. On the excitant effect of acetylcholine on structures in the preganglionic trunk of the cervical sympathetic : With a note on the anatomical complexities of the region. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 153, p. 250-264, 1960.

_____. The stimulant effect of barium on the release of the acetylcholine from the superior cervical ganglion. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 156, p. 515-522, 1961.

DOUSSET, B., JACOB, C. L'endotheline, vasoconstricteur peptidique. *Presse Med.*, v. 21, p. 665-669, 1992.

DRAZEN, J.M., AUSTEN, K.F. Leukotrienes and airway responses. *Ann.Rev.Respir. Dis.*, v. 136, p. 985-998, 1987.

DRAZEN, J.M., AUSTEN, K.F., LEWIS, R.A., CLARCK, D.A., GOTO, G., MARFAT, A., COREY, E.J. Comparative airway and vascular activities of leukotrienes C-1 and D *in vivo* and *in vitro*. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, v. 77, p. 4354-4358, 1980.

DROPP, J.J. Mast cells in mammalian brain. *Acta Anat.*, v. 94, p. 1-21, 1976.

DuBOIS-RAYMOND, E.(1877) apud KARCZMAR, A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR, A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum, 1986. p. 3-26.

DUDEK, F.E., DEADWYLER, S.A., COTMAN, C.W., LYNCH, G. Intracellular responses from granular cell layer on slices of rat hippocampus perforant path synapse. *J. Neurophysiol.*, v. 39, p. 384-393, 1976.

- DUFFY,C.J., TEYLER,T.J. Development of potentiation in the dentate gyrus of rat : Physiology and anatomy. *Brain Res.Bull.*, v. 3, p. 425-430, 1978.
- DUFFY,C., TEYLER,T.J., SHASHOUA,V.E. Long-term potentiation in the hippocampal slice : Evidence for stimulated secretion of newly synthesized proteins. *Science*, v. 212, p. 1148-1151, 1981.
- DUMUIS,A., SEBBEN,M., HAYNES,L., PIN,J-P., BOCKAERT,J. NMDA receptors activate the arachidonic acid cascade system in striatal neurons. *Nature*, v. 336, p. 68-70, 1988.
- DUN,N.J., JIANG,Z.G. Non-cholinergic excitatory transmission in inferior mesenteric ganglia of the guinea pig. Possible mediation by substance P. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 325, p. 145-159, 1982.
- DUN,N.J., KARCZMAR,A.G. Actions of substance P on sympathetic neurons. *Neuropharmacology.*, v. 18, p. 215-218, 1979.
- DUN,N.J., KIRALY,M. Capsaicin causes release of a substance P-like peptide in guinea-pig inferior mesenteric ganglia. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 340, p. 107-120, 1983.
- DUN,N.J., MINOTA,S. Effects of substance P on neurones of the inferior mesenteric ganglia of the guinea-pig. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 321, p. 259-271, 1981.
- DUN,N.J., JIANG,Z.G., MO,N. Long-term facilitation of peptidergic transmission by catecholamines in guinea-pig inferior mesenteric ganglia. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 357, p. 37-50, 1984.
- DUN,N.J., KAIBARA,K., KARCZMAR,A.G. Muscarinic and cGMP induced membrane potential changes : differences in electrogenic mechanisms. *Brain Res.*, v. 150, p. 658-661, 1978.
- DUNANT,Y. Presynaptic spike and excitatory postsynaptic potential in sympathetic ganglia. Their modifications by pharmacological agents. In : AKERT,K., WASER,P.G. (Eds.). Progress in brain research. Mechanisms of synaptic transmission. Amsterdam : Elsevier , 1969, v. 31. p.131-139.
- DUNANT,Y., DOLIVO,M. Plasticity of synaptic functions in the excised sympathetic ganglion of the rat. *Brain Res.*, v. 10, p. 271-273, 1968.

DUNWIDDIE,T.V., LYNCH,G. Long-term potentiation and depression of synaptic responses in the rat hippocampus :localization and frequency dependency. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 276, p. 353-367, 1978.

_____. The relationship between extracellular calcium concentrations and the induction of hippocampal long-term potentiation. *Brain Res.*, v. 169, p. 103-110, 1979.

DUNWIDDIE,T.V., MADISON,D., LYNCH,G. Synaptic transmission is required for initiation of long-term potentiation. *Brain Res.*, v. 150. p. 413-417, 1978.

DUNWIDDIE,T.V., ROBERSON,N.L., WORTH,T. Modulation of long-term potentiation : Effects of sdrenergic and neuroleptic drugs. *Pharm.Biochem.Behav.*, v. 17, p. 1257-1264, 1982.

DUSTING,G.J., MONCADA,S., VANE,J.R. Prostacyclin (PGX) is the endogenous metabolite responsible for relaxation of coronary arteries induced by arachidonic. *Prostaglandins*, v. 13, p. 3-15, 1977a.

_____. Prostacyclin is a weak contractor of coronary arteries in the pig. *Eur.J.Pharmacol.*, v. 45, p. 301-304, 1977b.

_____. Vascular actions of arachidonic acid and its metabolites in perfused mesenteric and femoral beds of the dog. *Eur.J.Pharmacol.*, v. 49, p. 65-72, 1978b.

DUSTING,G.J., CHAPPLE,D.J., HUGHES,R., MONCADA,S., VANE,J.R. Prostacyclin induces coronary vasodilatation in anaesthetized dogs. *Cardiovasc.Res.*, v. 12, p. 720-730, 1978a.

DUTTA,S., MARKS,B.H., SCHOENER,E.P. Accumulation of radioactive cardiac glycosidesby various brain regions in relation to the dysrhytmogenic effect. *Br.J.Pharmacol.*, v. 59, p. 101-106, 1977.

DVORAK,A.M. Human mast cells : ultrastructural observations of *in situ*, *ex vivo* and *in vitro* sites, sources and systems. In : KALINER,M.C., METCALFE,D.D. (Eds.). Lung biology in health and disease. The mast cell in health and disease.New York : Marcel Dekker, v. 62, 1993. p. 1-90.

DVORAK,A.M., OSAGE,J.E., MONAHAN,R.A., DICKERSIN,G.R. Crohn's disease: transmission electron microscopic studies. III. Target tissues. Proliferation of and injury to

- smooth muscle and the autonomic nervous system. *Hum.Pathol.*, v. 11, p. 620-634, 1980.
- EADY,R.A.J., COWEN,T., MARSHALL,T.F., PLUMMER,V., GREAVES,M.W. Mast cell population density, blood vessel density and histamine content of normal human skin. *Br. J.Dermatol.*, v. 100, p. 623-633, 1979.
- EASMAN,C.S. Pathogenesis of septicaemia. *J.Antimicrob-Chemoter.*, v. 25, Suppl.c, p. 9-16, 1990.
- EBERTZ,J.M., HVISHMAN,C.A., KETTLEKAMP,M.S., UNO,H., HANIFIN, J.M. Substance P-induced histamine release in human cutaneous mast cells. *J.Invest.Dermatol.*, v. 88, p. 682-685, 1987.
- ECCLES,J.C. The action potential of the superior cervical ganglion. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 85, p. 179-206, 1935a.
- _____. Facilitation and inhibition in the superior cervical ganglion. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 85, p. 207-238, 1935b.
- _____. Slow potential waves in the superior cervical ganglion. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 85, p. 464-510, 1935c.
- _____. The nature of synaptic transmission in a sympathetic ganglion. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 103,p.27-54,1944.
- _____. The neurophysiological basis of mind : The Principles of Neurophysiology. Oxford : Clarendon Press, 1953.
- _____. Calcium in long-term potentiation as a model for memory. *Neurosci.*, v. 10, p. 1071-1081, 1983.
- _____. Mammalian systems for storing and retrieving information. In : WOODY,C.D., ALKON,D.L. (Eds.). Cellular mechanisms of conditioning and behavioral plasticity. New York : Plenum, 1988. p.289-302.
- ECCLES,J.C., FATT,P., KOKETSU,K. Cholinergic and inhibitory synapses in a pathway from motor-axon collaterals to motoneurons. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 216, p. 524-562, 1954.
- ECCLES,R.M. Action potentials of isolated mammalian sympathetic ganglia. *J.Physiol. (Lond.)*, v. 117, p. 181-195, 1952.
- ECCLES,R.M., LIBET,B. Origin and blockade of the synaptic responses of curarized

- sympathetic ganglia. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 157, p. 484-503, 1961.
- ECKSTEIN,J.W., ABOUD,F.M., PEREDA,S.A. Hemodynamic responses to administration of acetyl strophanthidin before and after ganglionic blockade in normal dogs and in dogs treated with reserpine. *J.Lab.Clin.Med.*, v. 58, p. 814-815, 1961.
- EDIS,A.J., SHEPHERD,J.T. Autonomic control of the peripheral vascular system. *Arch. Intern. Med.*, v. 125, p. 716-724, 1970.
- EGIDO,J., GOMEZ-CHIARRI,M., LERMA,J.L., GONZALEZ,E., MAESTRE,C., ORTIZ,A., HEMANDO,L. Participacion del factor activator de las plaquetas y de citoquinas en la patogenia del dano glomerular. *Rev.Clin.Esp.*, v. 187, p. 137-143, 1990.
- EHRENREICH,H., BURD,P.R., ROTTEM,M., HULTER,L., HYLTON,J.B., GARFIELD ,M., COLIGAN,J.E., METCALFE,D.D., FAUCI,A.S. Endothelins belong to the assortment of mast cell-derived and mast cell-bound cytokines. *New Biol.*, v. 4, p. 147- 156, 1992.
- EHRlich.P.(1877) apud DVORAK,A.M. Lung biology in health and disease. New York : Marcel Dekker, 1993. v.2, p. 1-78.
- EHRlich,P.(1878) apud BENDITT,E.P., LAGEINOFF,D. The mast cell : its structure and function. *Prog.Allergy*, vol. 8, p. 195-223,1964.
- EIKENBURG,D.C., STICKNEY,J.L. Inhibition of sympathetic neuronal transport and ouabain-induced cardiac arrhythmias. *Res.Commun.Chem.Pathol.Pharmacol.*, v. 18,p. 587-599, 1977.
- EKAS,R.D.Jr., LOKHANDWALA,M.F. Sympathetic nerve function and vascular reactivity in spontaneously hypertensive rats. *Am.J.Physiol.*, v. 241 , p. R379-R384, 1981.
- ELLIOT,D.F., HORTON,E.W., LEWIS,G.P. Actions of pure bradykinin. *J.Physiol.(Lond.)*,v. 153, p. 473-480, 1960.
- ELLIS,E.F., NIES,A.S, OATES,J.A. Cerebral arterial smooth muscle contraction by thromboxane A₂. *Stroke*, v. 8, p. 480-483, 1977.
- ELLIS,E.F.. WEI,E.P., KONTOS,H.A. Vasodilation of cat cerebralarterioles by prostaglandins D₂, E₂ and I₂. *Am.J.Physiol.*, v. 237, p. H381-H385, 1979.
- EMMELIN,N., MUREN,A. Acetylcholine release at parasympathetic synapses. *Acta*

- Physiol.Scand.*, v. 20, p. 13-32, 1950.
- EMMELIN,N., MacINTOSH,F.C. The release of acetylcholine from perfused sympathetic ganglia and skeletal muscles. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 131, p. 477-496, 1956.
- EMORI,T., HIRATA,Y., MARUMO,F. Specific receptors for endothelin-3 in cultured bovine endothelial cells and its mechanisms of action.*FEBS Lett.*, v. 263, p. 261-264, 1990.
- ENERBÄCK,L. Berberine sulfate binding to mast cell polyanions : A cytofluorometric method for quantitation of heparin. *Histochemistry*, v. 42, p. 301-313, 1974.
- ENERBÄCK,L. Mast cell heterogeneity : The evolution of the concept of a specific mucosal mast cell. In : BEFUS,A.D. et al. (Eds.). Mast cell differentiation and heterogeneity. New York : Raven Press, 1986. p. 1-26.
- ENERBÄCK,L., OLSSON,Y., SOURANDER,P. Mast cells in normal and sectioned peripheral nerves. *Z.Zellforsch.*, v. 66, p. 596-608, 1965.
- ERÄNKO,O., ERÄNKO,L. Small intensely fluorescent granule containing cells in the sympathetic ganglion of the rat. *Prog.Brain Res.*, v. 34, p. 39-52, 1971.
- ERÄNKO,O., HÄRKÖNEN,M. Monoamine-containing cells in the superior cervical ganglion of the rat and an organ composed of them. *Acta Physiol.Scand.*, v. 63, p. 511-512,1965.
- ERJAVEC,F., LEMBERCK,F., FLORJANC-IRMAN,T., SKOFITSCH,G., DONNERER,J., SARIA,A., HOLZER,P. Release of histamine by substance P. *Naunyn Schmiedebergs, Arch.Pharmacol.*, v. 317, p. 67-70, 1981.
- ERLANGER,J. The initiation of impulses in axons. *J.Neurophysiol.*, v. 2, p. 370-379, 1939.
- ERRINGTON,M.L., LYNCH,M.A., BLISS,T.V.P. Long-term potentiation in the dentate gyrus : Induction and increased glutamate release are blocked by D(-) amino phosphonovalerate. *Neuroscience*, v. 20, p. 279-284, 1987.
- ERULKÄR,S.D., RAHAMIMOFF,R. The role of calcium ions in tetanic and posttetanic increase of miniature end-plate potential frequency. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 278, p. 501-511, 1978.
- ERULKÄR,S.D., WOODWARD,J.K. Intracellular recording from mammalian superior cervical ganglion *in situ*. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 199, p. 189-204, 1968.
- ESPAT,N.J., COPELAND,E.M., MOLDAWER,L.L. Tumour necrosis factor and cachexia : a

- current perspective. *Surg.Oncol.*, v. 3, p. 255-262, 1994.
- ESTIENNE,C.(1545) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum,1986. p. 3-26.
- EUSTACHIO(EUSTACHIUS),B.(1564) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum,1986. p. 3-26.
- EVANS,D.E., GILLIS,R.A. Effect of ouabain and its interaction with diphenylhydantoin on cardiac arrhythmias induced by hypothalamic stimulation. *J.Pharmac.Exp.Ther.*, v. 195, p. 577-586, 1975.
- FABBRI,L.M., AIZAWA,H., ALPERT,S.E., WALTERS,E.H., O'BYRNE,P.M., GOLD, B. D., NADEL,J.A., HOLTZMAN,M.J. Airway hyperresponsiveness and changes in cell counts in brochoalveolar lavage after ozone exposure in dogs. *Am.Rev.Respir.Dis.*, v. 129, p. 288-291, 1984.
- FAGG,G.E., FOSTER,A.C., GANONG.A.H. Excitatory amino acid synaptic mechanisms and neurological function. *Trends Pharmacol.Sci.*, v. 6, p. 357-363, 1986.
- FAGGE,C.H., STEVENSON,T.(1865) apud BLAUSTEIN,M.P. Physiological effects of endogenous ouabain : control of intracellular Ca^{2+} stores and cell responsiveness. *Am. J.Physiol.*, v.264, p. C1367-C1387.
- FANTOZZI,R., MORONI,F., BLANDINA,P., MANNAIONI,P.F., BANI-SACCHI,T. Release of histamine from mast cells by acetylcholine. *Nature*, v. 273, p. 473-474, 1978.
- FARRAM,E., NELSON,D.S. Mouse mast cells as anti-tumor effector cells. *Cell Immunol.*, v. 55, p. 294-301, 1980.
- FARRE,A.L., RIESCO,A., MOLIZ,A., EGIDO,J., CASADO,S., HERNANDO,L., CAMELO,C. Inhibition by l-arginine of the endothelin-mediated increase in cytosolic calcium in human neutrophils. *Biochem.Biophys.Res.Comm.*, v. 178, p. 884-891, 1991.
- FAWAZ,G. Effect of reserpine and pronethalol on the therapeutic and toxic actions of digitalis in the dog heart-lung preparation.*Br.J.Chemother.*, v. 29, p. 302-308, 1967.

- FAWCETT,D.W. Cytological and pharmacological observations on release of histamine by mast cells. *J.Exp.Med.*, v. 100, p. 217-224, 1954.
- _____. An experimental study of mast cell degranulation and regeneration. *Anat.Record*, v. 121, p. 29-52, 1955.
- FEASEY,K.J., LYNCH,M.A., BLISS,T.V.P. Long-term potentiation associated with an increase in calcium-dependent, potassium-stimulated release of [¹⁴C]glutamate from hippocampal slices : an ex vivo study in the rat. *Brain Res.*, v. 364, p. 39-44, 1986.
- FEIGEN,L.P., CHAPNICK,B.M., FLEMMING,J.E., FLEMMING,J.M., KADOWITZ,P.J. Renal vascular effects of endoperoxide analogs, prostaglandins and arachidonic acid. *Am.J.Physiol.*, v. 233, p. H573-H579, 1977.
- FEIGEN,L.P., CHAPNICK,B.M., GORMAN,R.R., HYMAN,A.L., KADOWITZ, P.J. The effect of PGH₂ on blood flow in the canine renal and superior mesenteric vascular beds. *Prostaglandins*, v. 16, p. 803-813, 1978.
- FELDBERG,W., GADDUM,J.H. The chemical transmitter at synapses in a sympathetic ganglion. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 81, p. 305-319, 1934.
- FELTEN,D.L., FELTEN,S.Y., CARLSON,S.L., OLSCHOWKA,J.A., LIVNAT, S. Noradrenergic and peptidergic innervation of lymphoid tissue. *J.Immunol.*, v. 135, p. 755-765, 1985.
- FENG,T.P. Studies on the neuro-muscular junction. XVIII. The local potentials around N-M junctions induced by single and multiple volleys. *Chin.J.Physiol.*, v. 15, p. 367-404, 1940.
- _____. Studies on the neuromuscular junction. XXVI. The changes of the end-plate potential during and after prolonged stimulation. *Chin.J.Physiol.*, v. 16, p. 341-372, 1941.
- FERNANDEZ DE MOLINA,A., KUNO,M., PERL,E.R. Antidromically evoked responses from sympathetic preganglionic neurones. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 180, p. 321-335, 1965.
- FERRANTE,F., RICCI,A., FELICI,L., CAVALLOTTI,C. AMENTA,F. Suggestive evidence for a functional association between mast cells and sympathetic nerves in meningeal membranes. *Acta Histochem.Cytochem.*, v. 23, p. 637-646, 1990.
- FERRERI,N.R., HOWLAND,W.C., STEVENSON,D.D., SPIEGELBERG,H.L. Release of leukotrienes, prostaglandins, and histamine into nasal secretions of aspirin-sensitive

- asthmatic during reaction to aspirin. *Am.Rev.Respir.Dis.*, v. 137, p. 847-854, 1988.
- FERRI,G.L., ADRIAN,T.E., GHATEL,M.A., O'SHAUGHNESSY,D.J., PROBERT,L., LEE,Y.C., BUCHAN,A.M., POLAK,J.M., BLOOM, S.R. Tissue localization and relative distribution of regulatory peptides in separated layers from the human bowel. *Gastroenterology*, v. 84, p. 777-786, 1983.
- FESSARD,A. Reflexions dans le prolongement d'une discussion sur les mécanismes synaptiques. *Arch.Int.Physiol.*, v. 59, p. 605-618, 1951.
- FEUERSTEIN,G., YUE,T.L.,LYSKO,P.G. Platelet-activating factor. A putative mediator in central nervous system injury ? *Stroke*, v. 21, Suppl. 11, p. III90-III94, 1990.
- FEWTRELL,C.M.S., FOREMAN,J.C., JORDON,C.C., OEHME,P., RENNER,H., STEWART,J.M. The effects of substance P on histamine and 5-hydroxytryptamine in the rat. *J.Physiol.*, v. 330, p. 393-411, 1982.
- FIESER,L.F., FIESER,M. Steroids. New York : Reinold, 1959. pp. 727-809.
- FIFKOVÁ,E., VAN HARREVELD,A. Long-lasting morphological changes in dendritic spines of dentate granular cells following stimulation of the enthorhinal area. *J.Neurocytol.*, v. 6, p. 211-230, 1977.
- FIFKOVÁ,E., ANDERSON,C.L., YOUNG,S.J., VAN HARREVELD, A. Effect of anisomycin on stimulation-induced changes in dendritic spines of the dentate granule cells. *J.Neurocytol.*, v. 11, p. 183-210, 1982.
- FILEP,J.G. Endothelin peptides : biological actions and pathophysiological significance in the lung. *Life Sci.*, v. 52, p. 119-133, 1993.
- FINCH,L. The role of central adrenergic neurones in the control of blood pressure. In : JONSSON,G. et al. (Eds.). Chemical tools in catecholamine research. New York : Elsevier, 1975. p. 223-229.
- FINNEY,M.J.B., KARLSSON,J.A., PERSSON,C.G.A. Effects of bronchoconstrictors and bronchodilators on a novel human small airway preparation. *Br.J.Pharmacol.*, v. 85, p. 29-36, 1985.
- FJELLNER,B., HAGERMARK,O.I. Studies on pruritogenic and histamine release effects of some putative peptide neurotransmitters. *Acta Derm. Venerese.*, v. 61, p. 245-248, 1981.

- FLINT,K.C., LEUNG,K.B.P., PEARCE.F.L., HUDSPITH,B.N., BROSTOFF,J., JOHNSON,N.M. Human mast cells recovered by bronchoalveolar lavage : Their morphology, histamine release and the effects of sodium cromoglycate. *Clin.Sci.*, v. 68, p. 427-432, 1985.
- FLOURENS,P.(1824) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum,1986. p. 3-26.
- FLOWER,R.J., CHEUNG,H.S., CUSHMAN,D.W. Quantitative determination of prostaglandins and malondialdehyde formed by the arachidonate oxygenase (prostaglandin synthetase) system of bovine seminal vesicle. *Prostaglandins*, v. 4, p. 325-341, 1973.
- FLOWER,R.J., BLACKWELL,G.J. The importance of phospholipase A2 in prostaglandin biosynthesis. *Biochem.Pharmacol.*, v. 25, p. 285-291, 1976.
- FOLEY,J.O. The components of the cervical sympathetic trunk with special reference to its accessory cells and ganglia. *J.Comp.Neurol.*, v. 82, p. 77-92, 1945.
- FOLKOW,B. Physiological aspects of primary hypertension. *Physiol.Rev.*, v. 62, p. 347-504, 1982.
- FOLKOW,B., JOHANSSON,B., OBERG,B. The stimulation threshold of different sympathetic fibres groups as correlated to their functional differentiation. *Acta Physiol. Scand.*, v. 44, p. 146-156, 1958.
- FOLKOW,B., HALLBACK,M., LUNDGREN,Y., WEISS,L. Effects of immunosympathectomy on blood pressure and vascular "reactivity" in normal and spontaneously hypertensive rats. *Acta Physiol.Scand.*, v. 84, p. 512-523, 1972.
- FONTECILLA-CAMPS,J.C., ALMASSY,R.J., SUDDATH,F.L., WATT,D.D., BUGG,C.E. Three-dimensional structure of a protein from scorpion venom : a new structural class of neurotoxins. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, v. 77, p. 6496-6500, 1980.
- FORD-HUTCHINSON,A.W. The role of leukotriene B₄ as a mediator of leucocyte function. *Agents Actions Suppl.*, v. 12, p. 154-164, 1983.
- _____. Leukotrienes : their formation and role as inflammatory mediators. *Fed.Proc.*, v.44, p. 25-29, 1985.

- FORD-HUTCHINSON,A.W., BRAY,M.A., DOIG,M.V., SHIPLEY,M.E., SMITH, M.J.H. Leukotriene B : a potent chemokinetic and aggregating substance from polymorphonuclear leucocytes. *Nature*, v. 286, p. 264-265, 1980.
- FORD-HUTCHINSON,A.W., RACKHAM,A. Leukotrienes as mediators of skin inflammation. *Br.J.Dermatol.*, v. 109, Suppl.25, p. 26-29, 1983.
- FOREMAN,J.C.. Substance P and calcitonin gene-related peptide : Effects on mast cells and human skin. *Int.Arch.Allergy Appl.Immunol.*, v. 82, p. 366-371, 1987.
- FOREMAN,J.C., JORDAN,C. Histamine release and vascular changes induced by neuropeptides. *Agents Actions*, v. 13, p. 105-116, 1983.
- FOREMAN,J.C., MONGAR,J.L., GOMPERTS,B.D. Calcium ionophores and movement of calcium ions following the physiological stimulus to a secretory process. *Nature*, v. 245, p. 249-251, 1973.
- FOZZARD,H.A., SHEETS,M.F. Cellular mechanism of action of cardiac glycosides.*J. Am. Coll.Cardiol.*, v. 5, p. 10A-15A, 1985.
- FREDHOLM,B.B., HAMBERG,M. Metabolism and effects of prostaglandin H₂ in adipose tissue. *Prostaglandins*, v. 11, p. 507-518, 1976.
- FREEDMAN,R., HOFFER,B.J., WOODWARD,D.J., PURO,D. Interaction of norepinephrine with cerebellar activity evoked by mossy and climbing fibers. *Exp.Neurol.*, v. 55, p. 269-288, 1977.
- FREI,K., FONTANA,A. Neuroimmune networks : physiology and diseases. New York, A.R. Liss, 1989, p. 127-132.
- FREY,U., KRUG,M., REYMANN,K.G., MATTHIES,H. Anisomycin, an inhibitor of protein synthesis, blocks late phases of LTP phenomena in the hippocampal CA1 region *in vitro*. *Brain Res.*, v. 452, p. 57-65, 1988.
- FROHLICH,E.D. Hemodynamic factors in the pathogenesis and maintenance of hypertension. *Fed.Proc.*, v. 41, p. 2400-2408, 1982.
- FU,T., CHANG,W., ISHIDA,N., SAIDA,K., MITSUI,Y., OKANO,Y., NOZAWA ,Y. Effects of vasoactive intestinal contractor (VIC) and endothelin on intracellular calcium level in neuroblastoma NG 108-15 cells. *FEBS Lett.*, v. 257, p. 351-353, 1989.

- FUJISAWA,H., YAMAUCHI,T., OKUNO,S., NAKATA,H. Regulation of monoamine biosynthesis by calmodulin-dependent protein kinase in the nervous system. In : GREENGARD,P. et al. (Eds.). Advances in cyclic nucleotide and protein phosphorylation research. New York : Raven Press, 1984. v. 17, p. 503-510.
- FUKADA,Y., HIRATA,Y., YOSHIMI,H., KOJIMA,T., KOBAYASHI,Y., YANAGISAWA,M., MASAKI,T. Endothelin is a potent secretagogue for atrial natriuretic peptide in cultured rat atrial myocytes. *Biochem.Biophys.Res.Commun.*, v. 155, p. 167-172, 1988.
- FUKUSHIMA,M., KATO,T., UEDA,R., OTA,O., NARUMIYA,S., HAYAISHI,O. Prostaglandin D₂. A potential anti-neoplastic agent. *Biochem.Biophys.Res.Commun.*, v. 105:, p. 956-964, 1982.
- FULLER,R.W., DIXON,C.M.S., DOLLERY,C.T., BARNES,P.J. Inhaled prostaglandin D₂ potentiates histamine induced bronchoconstriction. *Thorax*, v. 39, p. 699-698, 1984.
- FULLER,R.W., DIXON,C.M.S., CUSS,F.M.C., BARNES,P.J. Bradykinin-induced bronchoconstriction in humans. Mode of action. *Am.Rev.Resp.Dis.*, v. 135, p. 176-180, 1987a.
- FULLER,R.W., CONRADSON,T.B., DIXON,C.M.S., CROSSMAN,D.C., BARNES, P.J. Sensory neuropeptide effects in human skin. *Br.J.Pharmacol.*, v. 92, p. 781-788, 1987b.
- FULLER,R.W., BARNES,P.J. Kinins. In: BARNES,P.J. et al. (Eds.). Asthma : basic mechanisms and clinical management., New York, Academic, 1988. p.231-257.

- FURCHGOTT,R.F. The role of endothelium in the responses of vascular smooth muscle to drugs. *Annu.Rev.Pharmacol. Toxicol.*, v. 24, p. 175-197, 1984.
- FUXE,K., HOKFELT,T., BOLME,P., GOLDSTEIN,M., JOHANSSON,O., JONSSON,G., LIDBRINK,P., LJUNGDAHL,A., SACHS. CH. The topography of central catecholamine pathways in relation to their possible role in blood-pressure control. In : DAVIES, D.S., REID,J.L. (Eds.). Central action of drugs in bloodpressure regulation. London: Pitman Medical, 1975. p.8-23.
- GADDUM,J.H., GIARMAN,N.J. Preliminary studies on the biosynthesis of 5-hydroxy-tryptamine. *Br.J.Pharmacol.*, v. 11, p. 88-92, 1956.
- GAFFNEY,T.E., KAHN,J.B.Jr., VAN MAANEN,E.F., ACHESON,G.H. A mechanism of the vagal effect of cardiac glycosides. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, v. 122, p. 423-429, 1958.
- GAITONDE,B.B., McCATHY,L.E., BORISON,H.L. Central emetic action and toxic effect of digitalis in cats. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, v. 147, p. 409-415, 1965.
- GALENO,O.(1528) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum,1986. p. 3-26.
- GALLAGHER,J.P., SHINNIC-GALLAGHER,P. Cyclic nucleotides injected intracellularly into rat superior cervical ganglion cells. *Science*, v. 198, p. 851-852, 1977.
- GALLI,S.J. Biology of disease: new insights into “the riddle of the mast cells”: microenvironmental regulation of mast cell development and phenotypic heterogeneity. *Lab.Invest.*, v. 62, p. 5-33, 1990.
- GALLI,S.J. New concepts about mast cell. *New Engl.J.Med.*, v. 328, p. 257-265, 1993.
- GALLI,S.J., LICHTENSTEIN,L.M. Biology of mast cells and basophils. In: MIDDLETON,Jr.,E. et al. (Eds.). Allergy : principles and practice. St.Louis : CV,Mosby, 1988. p.106-134.
- GALLI,S.J., DVORAK,A.M., DVORAK,H.F. Basophils and mast cells : Morphologic insights into their biology and secretory patterns and function. In : ISHIZAKA,K. (Ed.). Progress in allergy. Mast cell activation and mediator release. Basel : Karger, v.34, 1984. p.1-141.
- GALLI,S.J., GORDON,J.R., WERSHIL,B.K. Cytokine production by mast cells and

- basophils. *Curr.Opin.Immunol.*, v. 3, p. 865-872, 1991.
- GALVANI,A.(1791) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum,1986. p. 3-26.
- GAMBLE,J.R., HARBAN,J.M., KLEBANOFF,S.J., VADAS M.A. Stimulation of the adherence of neutrophils to umbilical vein endothelium by human recombinant tumor necrosis factor. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, v. 82, p. 8667-8671, 1985.
- GARAN,H., SMITH,T.W., POWELL Jr.,W.J. The central nervous system as a site of action for coronary vasoconstrictor effect of digoxin. *J.Clin.Invest.*, v. 54, p. 1365-1372, 1974.
- GARCIA-LEME,J. Bradykinin systems. In: VANE,J.R., FERREIRA,S.H. (Eds.). Handbook of experimental pharmacology. Inflammation. Berlin : Springer-Verlag, v. 50, 1978. p. 464-522.
- GARDIER,R.W., TSEVDOS,E.J., JACKSON,D.B., DELAUNOIS,A.L. Distinct muscarinic mediation of suspected dopaminergic activity in sympathetic ganglion. *Fed.Proc.*, v. 37, p. 2422-2428, 1978.
- GARTHWAITE,J., CHARLES,S.L., CHESS-WILLIAMS,R. Endothelium-derived relaxing factor release on activation of NMDA receptors suggests role as intercellular messenger in the brain. *Nature*, v. 336, p. 385-388, 1988.
- GARTHWAITE,J., GARTHWAITE,G., PALMER,R.M.J., SALVADOR MONCADA NMDA receptor activation induces nitric oxide synthesis from arginine in rat brain slices. *Eur.J.Pharmacol.*, v. 172, p. 413-416, 1989.
- GASKELL,W.H.(1886) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum,1986. p. 3-26.
- GASKELL,W.H.(1887) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum,1986. p. 3-26.
- GASKELL,W.H.(1916) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric

ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum, 1986. p. 3-26.

- GAUTHIER,P., NADEAU,R.A., De CHAMPLAIN,J. Acute and chronic cardiovascular effects of 6-hydroxydopamine in dogs. *Circ.Res.*, v. 31, p. 207-217, 1972.
- GEORGE,W.J., POLSON,J.B., O'TOOLE,A.G., GOLDBERG,N.D. Elevation of guanosine 3',5'-cyclic phosphate in rat heart after perfusion with acetylcholine. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, v. 66, p. 398-403, 1970.
- GERBER,J.G., NIES,A.S. The haemodynamic effects of prostaglandins in the rat. Evidence of important species variation in renovascular responses. *Circ.Res.*, v. 44, p. 406-410, 1979.
- GERREN,R.A., WEINBERG,N.M. Long-term potentiation in the magnocellular medial geniculate nucleus of the anesthetized cat. *Brain Res.*, v. 265, p. 138-142, 1983.
- GERSHON,M.D. The enteric nervous system. *Ann.Rev.Neurosci.*, v. 4, p. 227-272, 1981.
- GERSHON,M.D., PAYETTE,R.F., ROTHMAN,R.P. Development of the enteric nervous system. *Fed.Proc.*, v. 42, p. 1620-1625, 1983.
- GERTNER,S.B The effect of compound 48/80 on ganglionic transmission. *Br.J.Pharmacol.*, v. 10, p. 103-109, .1955.
- GIAID,A., GILSON,S.J., IBRAHIM,N.B.N., LEGON,S., BLOOM,S.R., YANAGISAWA, M., MASAKI,T., VARNDELL,M., POLAK,M. Endothelin-1 and endothelium-derived peptide, is expressed in neurons of the human spinal cord and dorsal root ganglia. *Proc. Natl.Acad.Sci. USA*, v. 86, p. 7634-7638, 1989.
- GIBSON,W.C. Degeneration and regeneration of sympathetic synapses. *J.Neurophysiol.*, v. 3, p. 237-247, 1940.
- GILLIS,R.A. Cardiac sympathetic nerve activity : changes induced by ouabain and propranolol. *Science*, v. 166, p. 508-510, 1969.
- GILLIS,R.A., RAINES,A., SOHN,Y.J., LEVITT,B., STANDAERT,F.G. Neuroexcitatory effects of digitalis and their role in the development of cardiac arrhythmias. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, v. 183, p. 154-168, 1972.
- GILLIS,R.A. Digitalis : a neuroexcitatory drug. *Circ.Res.*, v. 52, p. 739-742, 1975.
- GILLIS,R.A., HELKE,C.J., KELLAR,K.J., QUEST,J.A. Autonomic nervous system actions of cardiac glycosides. *Biochem.Pharmacol.*, v. 27, p. 849-856, 1978.

- GIROLOMONI,G., TIGELAAR,R.E. Capsaicin-sensitive primary sensory neurons are potent modulators of murine delayed-type hypersensitivity reaction. *J.Immunol.*, v. 145, p.1105-1112, 1990
- GISPEN,W.H., DE GRAAN,P.N., CHAN,S.Y., ROUTTENBERG,A. Comparison between the neural acidic proteins B-50 and F1. *Prog.Brain Res.*, v. 69, p. 383-386, 1986.
- GLANSMAN,D.L., KANDEL,E.R., SCHACHER,S. Target-dependent structural changes accompanying long-term synaptic facilitation in Aplysia neurons. *Science*, v. 249, p. 799-802, 1980.
- GLISSON,F.(1677) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum,1986. p. 3-26.
- GLOOR,P., VERA,C.L., SPERTI,L. Electrophysiological studies of hippocampal neurons.III. Responses of hippocampal neurons to repetitive perforant path volleys. *Electroencephalogr. Clin.Neurophysiol.*, v. 17, p. 353-370, 1964.
- GODA,Y. Long-term potentiation. In pursuit of a retrograde messenger. *Curr.Biol.*, v. 4:, p. 48-150, 1994.
- GODFROID,J.J., HEYMANS,F., MICHEL,E., REDENILH,C., STEINER,E., BENVENISTE,J. Platelet activating factor (Paf-acether) : total synthesis of 1-o-octadecyl-2-o-acetyl-sn-glycerol-3-phosphorylcholine. *FEBS Lett.*, v. 116, p. 161-164, 1980.
- GOELET,P., CASTELLUCCI,V.F., SCHACHER,S., KANDEL,E.R. The long and short of long-term memory - a molecular framework. *Nature*, v. 322, p. 419-422, 1986.
- GOETZ,K., WANG,B., MADWED,J., UHU,J., LEADLEY,R. Cardiovascular, renal and endocrines responses to intravenous endothelin in conscious dogs. *Am.J.Physiol.*, v. 255, p. R1064-R1068, 1988.
- GOETZL,E.J., WELLER,P.F., VALONE,F.H. Biochemical and functional bases of the regulatory and protective roles of the human eosinophil. In : WEISSMAN,G. et al. (Eds.). Advances in inflammation research. New York : Raven Press, v. 1, 1979. p.157-167.
- GOH,C.R. Tumour necrosis factor in clinical practice. *Ann.Acad.Med.Singapore*, v. 19, p. 235-239, 1990.

- GOH,J.W., HO-ASJOE,M., SASTRY,B.R. Tetanic stimulation-induced changes in [³H] glutamate binding and uptake in rat hippocampus. *Gen.Pharmacol.*, v. 17, p. 537-542, 1986.
- GOLD,H., MODELL,W., CATTELL,McK., BENTON,J.G., COTLOVE,E.W. Action of digitalis glycosides on the central nervous system with special reference to a convulsant action of red squill. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, v. 91, p. 15-30, 1947.
- GOLDBLATT,M.W. A depressor substance in seminal fluid. *J.Soc.Chem.Ind.(London)*, v. 52, p. 1056-1057., 1933
- GOLDSCHMIDT,R.C., HOUGH,L.B., GLICK,S.D., PADAWER,J. Mast cells in rat thalamus : nuclear localization,sex difference and left-right asymetry. *Brain Res.*, v. 323, p. 209-217, 1974.
- GOLDSTEIN,M., OHI,Y., BACKSTROM,T. The effect of ouabain on catecholamine biosynthesis in rat brain cortex slices.*J.Pharmacol.Exp.Ther.*, v. 174, p. 77-82, 1970.
- GOLUB,E.S., GREEN,D.K. Immunology, a synthesis. Sunderland, Massachusetts, Sinauer Associates, 1991
- GORDON.J.R., GALLI,S.J. Mast cells as a source of both preformed and immunologically inducible TNFalpha/cachectin. *Nature*, v. 346, p. 274-276, 1990.
- _____. Release of both preformed and newly synthetized tumor necrosis factor alpha (TNF alpha/cachectin by mouse mast cells stimulated by the Fc_εRI : a mechanism for the sustained action of mast cell-derived TNFalpha during IgE-dependent biological responses. *J.Exp. Med.*, v. 174, p. 103-107, 1991.
- GORDON,J.R., BURD,P.R., GALLI,S.J. Mast cells as a source of multifunctional cytokines. *Immunol.Today*, v. 11, p. 458-464, 1990.
- GORSKI,J.P., HUGLI,T.E., MULLER,H.J. The third anaphylatoxin of the human complement system. *Proc.Natl. Acad.Sci.USA*, v. 76, p. 5299-5304, 1979.
- GOTO,K., KASUYA,Y., MATSUKI,N., TAKUWA,Y., KURIHARA,H., ISHIKAWA,T., KIMURA,S., YANAGISAWA,M., MATSUKI,T. Endothelin activates the dihydropuridone -sensitive voltage-dependent Ca²⁺ channel in vascular smooth muscle. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, v. 86, p. 3915-3918, 1989.

- GRANIT,R., SKOGLUND,C.R. Facilitation, inhibition and depression at the "Artificial Synapse" formed by the cut end of a mammalian nerve. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 103, p. 435-448, 1945a.
- _____. The effect of temperature on the artificial synapse formed by the cut end of the mammalian nerve. *J.Neurophysiol.*, v. 7, p. 211-217, 1945b.
- GRANSTRÖM,E., LANDS,W.E.M., SAMUELSSON,B. Biosynthesis of 9alpha,15-dihydroxy-11-ketoprost-13-enoic acid. *J.Biol. Chem.*, v. 243, p. 4104-4108, 1968.
- GRAY,R., JOHNSTON,D. Noradrenaline and beta-adrenoceptor agonists increase activity of voltage-dependent calcium channels in hippocampal neurons. *Nature*, v. 327, p. 620-622, 1987.
- GREAVES,M.W. Neutrophil polymorphonuclears, mediators and the pathogenesis of psoriasis. *Br.J.Dermatol.*, v. 109, p. 115-118, 1983.
- GREEFF,K., SCHADEWALDT,H. Introduction and remarks on the history of cardiac glycosides. In : GREEFF,K. (Ed.). Cardiac glycosides. Part I : experimental pharmacology. Berlin : Springer-Verlag, 1981. p. 1-12.
- GREEFF,K., WIRTH,K.E. Pharmacokinetics of Strophanthus glycosides. In : GREEFF,K. (Ed.). Cardiac glycosides. Part II : Pharmacokinetics and clinical pharmacology. Berlin : Springer-Verlag, 1981. p. 57-85.
- GREEN,R., FOWLER,J., MacGLASHAN,D., WEINREICH,D. IgE-challenged human lung mast cells excite vagal sensory neurons *in vitro*. *J.Appl.Physiol.*, v. 64, p. 2249-2253, 1988.
- GREENE,C.W., PEELER,J.O. The central action of digitalis as tested by the cardioinhibitory center. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, v. 7, p. 591-599, 1915.
- GREENGARD,P. Possible role for cyclic nucleotides and phosphorylated membrane protein in postsynaptic actions of neurotransmitters. *Nature*, v. 260, p. 101-108, 1976.
- _____. Cyclic nucleotides, phosphorylated proteins, and neuronal function. New York : Raven Press, 1978.
- GREENGARD,P., KEBABIAN,J.W. Role of cyclic AMP in synaptic transmission in the mammalian peripheral nervous system. *Fed.Proc.*, v. 33, p. 1059-1067, 1974.
- GREENSPAN,K., LORD,T.J. Digitalis and vagal stimulation during atrial fibrillation : effects

- on atrioventricular conduction and ventricular arrhythmias. *Cardiovas.Res.*, v. 7, p. 241-246, 1973.
- GREVING,R.(1925) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum,1986. p. 3-26.
- GROB,B. Basic electronics. New York : McGraw-Hill, 1977.
- GROBECKER,H., ROIZEN,M.F.K., WEISE,V., SAAVEDRA,J.M., KOPIN,I.J. Sympathoadrenal medullary activity in young spontaneously hypertensive rats. *Nature*, 258, p. 267-268, 1975.
- GROBECKER,H., SAAVEDRA,J.M., McCARTY,R., CHIUEM,C.C., KOPIN,I.J. Dopamine-beta-hydroxylase activity and catecholamine concentrations in plasma : experimental and essential hypertension. *Postgraduate Med.J.*, v. 53, Suppl.3, p. 43-48, 1977.
- GROVES,M.J., BISSET,N.G. A note on the use of topical digitalis prior to William Withering. *J.Ethnopharmacol.* , v. 35, p. 99-103, 1991.
- GRUETTER,C.A., McNAMARA,D.B., HYMAN,A.L., KADOWITZ,P.J. Contractile effects of a PGH₂ analogue and PGD₂ on intrapulmonary vessels. *Am.J.Physiol.*, v. 234, p. H139-H145, 1978.
- GRUNDFEST,H. The chemical mediators. In : ABRAMS,A. et al. (Eds.). Unfinished tasks in the behavioral sciences. Baltimore : Williams & Wilkin, 1964. p.61-110.
- GRUNSTEIN,M.M., CHUANG,S.T., SCHRAMM,C.M., PAWLOWSKI,N.A. Role of endothelin 1 in regulating rabbit airway contractility. *Am.J.Physiol.*, v. 260, p. L75-L82, 1991.
- GRYGLEWSKI,R.J., VANE,J.R. The generation from arachidonic acid of rabbit aorta contracting substance (RCS) by a microsomal enzyme preparation which also generates prostaglandins. *Br.J.Pharmacol.*, v. 46, p. 449-457, 1972.
- GRYGLEWSKI,R.J., BUNTING,S., MONCADA,S., FLOWER,R.J., VANE,J.R. Arterial walls are protected against deposition of platelet thrombi by a substance (prostaglandin X) which they make from prostaglandin endoperoxides. *Prostaglandins*, v. 12, p. 685-714,

1976.

- GRYGLEWSKI,R.J., SZCZEKLIK,A., NIZANKOWSKI,R. Antiplatelet action of intravenous infusion of prostacyclin in man. *Thromb.Res.*, v. 13, p. 153-163, 1978.
- GU,X.H., CASLEY,D.J, NAYLER,Q.G. Characterization of [¹²⁵I] endothelin-1 binding sites in rat cardiac membrane fragments. *J.Cardiovasc.Pharmacol.*, v. 13, Suppl.5, p. S155-S156, 1989.
- GURISH,M.F., GHILDYAL,N., ARM,J., AUSTEN,K.F., AVRAHAM,S., REYNOLDS, D., STEVENS,R.L. Cytokine mRNA are preferentially increased relative to secretory granule protein mRNA in mouse bone marrow-derived mast cell that have undergone IgE-mediated activation and degranulation. *J.Immunol.*, v. 146, p. 1527-1533, 1991.
- GUSTAFSSON,B., HUANG,Y-Y., WIGSTRÖM,H. Phorbol ester-induced synaptic potentiation differs from long-term potentiation in the guinea pig hippocampus *in vitro*. *Neurosci.Lett.*, v. 85, p. 77-81, 1988.
- GUTH,L., BERNSTEIN,J.J. Selectivity in the re-establishment of synapses in the superior cervical sympathetic ganglion of the cat. *Expl.Neurol.*, v. 4, p. 59-69, 1961.
- GUTHRIE,G.P.Jr. Effects of digoxin on responsiveness to the pressor actions of angiotensin and norepinephrine in man. *J.Clin.Endocrinol.Metab.*, v. 68, p. 76-80, 1984.
- HAAS,F., BERGOFSKU,E.H. Role of the mast cell in the pulmonary pressor response to hypoxia. *J.Clin.Invest.*, v. 51, p. 3154-3162, 1972.
- HAAS,H.L., ROSE,G. Long-term potentiation of excitatory synaptic transmission in the rat hippocampus : The role of inhibitory processes. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 329, p. 541-552, 1982.
- _____ Noradrenaline blocks potassium conductance in rat dentate granule cells *in vitro*. *Neurosci.Lett.*, v. 78, p. 171-174, 1987.
- HAAS,H.L., KONNERTH,A. Histamine and noradrenaline decrease calcium-activated potassium conductance in hippocampal pyramidal cells. *Nature*, v. 302, p. 432-434, 1983.
- HAGBERG,B., SOURANDER,P., THÓREN,L. Peripheral nerve changes in the diagnosis of metachromatic leucodystrophy. *Acta Paediat.(Uppsala)Suppl.*, v. 135, p. 63-71, 1962.
- HAGMANN,W., KEPPLER,D. Leukotriene antagonists prevent endotoxin lethality.

- Naturwissenschaften*, v. 69, p. 594-595, 1982.
- HALEY,J.E., DICKENSON,A.H., SCHACHTER,M. Electrophysiological evidence for a role of bradykinin in chemical nociception in the rat. *Neurosci.Lett.*, v. 97, p. 198-202, 1989.
- HALEY,J.E., WILCOX,G.L., CHAPMAN,P.F. The role of nitric oxide in hippocampal long-term potentiation. *Neuron*, v. 8, p. 211-216, 1992.
- HALLBACK,M., FOLKOW,B. Cardiovascular responses to acute mental "stress" in spontaneously hypertensive rats. *Acta Physiol.Scand.*, v. 90, p. 684-698, 1974.
- HAMBERGER,B., NORBERG,K.A., SJÖQVIST,F.D. Cellular localization of monoamines in sympathetic ganglia of the cat. A preliminary report. *Life Sci.*, v. 9, p. 659-661, 1963.
- HAMBERG,M., SAMUELSSON,B. Detection and isolation of an endoperoxide intermediate in prostaglandin biosynthesis. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, v. 70, p. 899-903, 1973.
- _____. Prostaglandin endoperoxides. VII. Novel transformations of arachidonic acid in guinea pig lungs. *Biochem.Biophys.Res.Commun.*, v. 61, p. 942-949, 1974a.
- _____. Novel transformations of arachidonic acid in human platelets. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, v. 71, p. 3400-3404, 1974b.
- HAMBERG,M., SVENSSON,J., WAKABAYASHI,T., SAMUELSSON,B. Isolation and structure of two prostaglandin endoperoxides that cause platelet aggregation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 71, p. 345-349, 1974a.
- HAMBERG,M., SVENSSON,J., SAMUELSSON,B. Prostaglandin endoperoxides. A new concept concerning the mode of action and release of prostaglandins. *Proc.Natl.Acad. Sci.USA*, v. 71, p. 3824-3828, 1974b.
- _____. Thromboxanes : A new group of biologically active compounds derived from prostaglandin endoperoxides. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, v. 72, p. 2994-2998, 1975a.
- HAMBERG,M., HEDQUIST,P., STRANDBERG,K., SVENSSON,J., SAMUELSSON,B. Prostaglandin endoperoxides. IV.Effects on smooth muscle. *Life Sci.*, v. 16, p. 451, 1975b.
- HAMID-BLOOMFIELD, WHITTLE,B.J.R. Prostaglandin D₂ interacts at thromboxane receptor-sites on guinea-pig platelets. *Br.J.Pharmacol.*, v. 88, p. 931-936, 1986.
- HAMLYN,J.M., HARRIS,D.W., RESAU,J., LUDENS,J.H. Digitalis-like activity in human and bovine adrenals. *FASEB J.*, v. 4, Abstr. 171, p. A295, 1990.

- HAMLIN, J.M., BLAUSTEIN, M.P., BORA, S., DuCHARME, D.W., HARRIS, D.W., MANDEL, F., MATHEWS, W.R., LUDENS, J.H.. Identification and characterization of a ouabain-like compound from human plasma. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, v. 88, p. 6259-6263, 1991.
- HAMLIN, J.M., MANUNTA, P. Ouabain, digitalis-like factors and hypertension. *J. Hypertens.*, v. 10, p. S99-S111, 1992.
- HARDY, C.C., ROBINSON, C., TATTERSFIELD, A.E., HOLGATE, S.T. The bronchoconstrictor effect of inhaled prostaglandin D₂ in normal and asthmatic men. *J.Med.*, v. 311, p. 209-213, 1984.
- HARDY, W.B., WESTBROOK, F.F. (1895) apud GALLI, S.J. Biology of disease : new insights into "The riddle of the mast cells" : microenvironmental regulation of mast cell development and phenotypic heterogeneity. *Lab.Invest.*, v. 62, p. 5-33, 1990.
- HARRIS, E.W., GANONG, A.H., COTMAN, C.W. Long-term potentiation in the hippocampus involves activation of N-methyl-D-aspartate receptors. *Brain Res.*, v. 323, p. 132-137, 1984.
- HARRIS, E.W., COTMAN, C.W. Long-term potentiation of guinea pig mossy fiber responses is not blocked by N-methyl D-aspartate antagonists. *Neurosci.Lett.*, v. 70, p. 132-137, 1986.
- HARRIS, K.M., TEYLER, T.J. Age differences in a circadian influence on hippocampal LTP. *Brain Res.*, v. 261, p. 69-73, 1983.
- HARTSCHUH, W., WEIHE, E., REINECKE, M. Peptidergic (neurotensin, VIP, substance P) nerve fibers in the skin. Immunohistochemical evidence of an involvement of neuropeptides in nociception, pruritus and inflammation. *Br.J.Dermatol.*, v. 109, Suppl. 25, p. 14-17, 1983.
- HARTUNG, H.P., WALTERS, K., TOYOKA, K.V. Substance P binding properties and studies on cellular responses in guinea pig macrophages. *J.Immunol.*, v. 136, p. 3856-3863, 1986.
- HARTZELL, H.C., KUFFLER, S.W., STICKGOLD, R., YOSHIKAMI, D. Synaptic excitation and inhibition resulting from direct action of acetylcholine on two types of chemoreceptors on individual amphibian parasympathetic neurons. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 271, p. 817-846, 1977.
- HARVEY, A.M., MacINTOSH, F.C. Calcium and synaptic transmission in a sympathetic ganglion. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 97, p. 408-416, 1940.

- HARVEY,S.C. The effects of ouabain and phenytoin on myocardial noradrenaline. *Arch.Int. Pharmacodyn.*, v. 213, p. 222-234, 1975.
- HARVIMA,I.T., HORSMANHEIMO,L., NAUKKARINEN,A., HORSMANHEIMO, M. Mast cell proteinases and cytokines in skin inflammation. *Arch.Dermatol.Res.*, v. 287, p. 61-67, 1994.
- HATCHER,R.A., EGGLESTON,C. The emetic action of digitalis bodies. *J.Pharmacol. Exp. Ther.*, v. 4, p. 113-134, 1912.
- HAWKINS,R.D., KANDEL,E.R., SIEGELBAUM,S.A. Learning to modulate transmitter release : themes and variations in synaptic plasticity. *Ann.Rev.Neurosci.*, v. 16, p. 625-665, 1993.
- HAWKINS,R.D., ZHUO,M., ARANCIO,O.. Nitric oxide and carbon monoxide as possible retrograde messengers in hippocampal long-term potentiation. *J.Neurobiol.*, v. 25, p. 652-665, 1994.
- HAYAISHI,O., UENO,R., ONOE,H., USAMA,H., FUGITA,I., NISHINO,H., OOMURA, Y. Prostaglandin D2 induces sleep when infused into the cerebral ventricle of concious monkeys. *Adv.Prostaglandin Thromboxane Res.*, v. 178, p. 946-948, 1987.
- HAYAISHI,O., MATSUMURA,H. Prostaglandins and sleep. *Adv.Neuroimmunol.*, v. 5, p. 211-216, 1995.
- HEBB,D.O. The Organization of behaviour.New York : John Willey, 1949.
- HEDQVIST,P., DAHLÉN,S.E., GUSTAFSSON,L., HAMMARSTRÖM,S., SAMUELSSON, B. Biological profile of leukotrienes C₄ and D₄. *Acta Physiol.Scand.*, v. 110, p. 331-333, 1980.
- HEINE,H., FÖRSTER,F.J. Histophysiology of mast cells in skin and other organs. *Arch. Derm.Res.*, v. 253, p. 225-228, 1975a.
- _____. Relationships between mast cells and preterminal nerve fibers. *Z.mikrosk.Anat.Forsch , Leipzig* , v. 89, p. 934-937, 1975b.
- HELME,R., KOSCHORKE,G.M., ZIMMERMAN,M. Immunoreactive substance P release from skin nerves in the rat by noxious thermal stimulation. *Neurosci.Lett.*, v. 63, p. 295-299, 1986.

- HEMKER,D.P., AIKEN,J.W. Modulation of autonomic neurotransmission by PGD_2 :comparison with effects of other prostaglandins in anaesthetised cats. *Prostaglandins*, v. 20, p. 321-332, 1980.
- HENLEY,W.N., BELLUSH,L.L. Central catecholaminergic responses in hypoxic moderation of spontaneous hypertension. *Brain Res.Bull.*, v. 22, p. 963-968, 1989.
- HENRY,P.J., RIGBY,P.J., SELF,G.F., PREUSS,J.M., GOLDIE,R.G. Relationship between endothelin-1 binding site densities and constrictor activities in human and animal airway smooth muscle. *Br.J.Pharmacol.*, v. 100, p. 786-792, 1990.
- HERING,E., BREUER,J.(1868) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum,1986. p. 3-26.
- HARRIS,K.M., TEYLER,T.J. Age differences in a circadian influence on hippocampal LTP. *Brain Res.*, v. 261, p. 69-73, 1983.
- HERMSMEYER,K. Electrogenesis of increased norepinephrine sensitivity of arterial vascular muscle in hypertension. *Circ.Res.*, v. 38, p. 362-367, 1976.
- HERRON,C.E., LESTER,R.A.J., COAN,E.J., COLLINGRIDGE,G.L. Frequency-dependent involvement of NMDA receptors in the hippocampus : a novel synaptic mechanism. *Nature* , v. 322, p. 265-268,1986.
- HERXHEIMER,H., STRESEMANN,E. The effect of bradykinin aerosol in guinea pigs and man. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 158, p. 38-39, 1961.
- HESS,G., KUHNT,U., VORONIN,L.L. Quantal analysis of paired-pulse facilitation in guinea pig hippocampal slices. *Neurosci.Lett.*, v. 77, p. 187-192, 1987.
- HESS,W.R. Diencephalon : Autonomic and extrapyramidal function. New York :Grune and Stratton, 1954.
- HEYMANS,C., NEIL,E. Reflexogenic areas of the cardiovascular center. London : Churchill, 1958.
- HIGASHIMA,M., YAMAMOTO,C. Two components of long-term potentiation in mossy fiber-induced excitation in hippocampus. *Exp.Neurol.*, v. 90, p. 529-539, 1985.
- HIGGS,G.A., BUNTING,S., MONCADA,S., VANE,J.R. Polymorphonuclear leukocytes

- produce thromboxane A₂-like activity during phagocytosis. *Prostaglandins*, v. 12, p. 749-757, 1976.
- HIGGS,G.A., MONCADA,S., VANE,J.R. Prostacyclin (PGI₂) inhibits the formation of platelet thrombi induced by adenosine diphosphate (ADP) *in vivo*. *Br.J.Pharmacol.*, v. 61, p. 137P, 1977.
- _____. Prostacyclin as a potent dilator of arterioles in the hamster cheek pouch. *J.Physiol. (Lond.)*, v. 275, p. 30-31P, 1978.
- HIGGS,G.A., CARDINAL,D.C., MONCADA,S., VANE,J.R. Microcirculatory effects of prostacyclin (PGI₂) in the hamster cheek pouch. *Microvasc.Res.*, v. 18, p. 245-254,1979.
- HILL,S.J. Distribution, properties, and functional characteristics of three classes of histamine receptors. *Pharmacol.Rev.*, v. 42, p. 45-89, 1990.
- HINOJOSA-LABORDE,C., OSBORN,J.W.Jr., COWLEY,A.W. Hemodynamic effects of endothelin in conscious rats. *Am.J.Physiol.*, v. 256, p. H1742-H1746, 1989.
- HIRATA,Y., YOSHIMI,H., TAKATA,S., WATANABE,T.X., KUMAGAI,S., NAKAJIMA, K., SAKAKIBARA,S. Cellular mechanism of action by a novel vasoconstrictor endothelin in cultured rat vascular smooth muscle cells. *Biochem.Biophys. Res.Commun.*, v. 154, p. 868-875, 1988a.
- HIRATA,Y., YOSHIMI,H., TAKAICHI,S., YANAGISAWA,M., MASAKI,T. Binding and receptor down-regulation of a novel vasoconstrictor endothelin in cultured rat vascular smooth muscle cells. *FEBS Lett.*, v. 239, p. 13-17, 1988b.
- HOANG,P., FIASSE,R., VAN-HEUVERZWYN,R., SIBILLE,C. Role of cytokines in inflammatory bowel disease. *Acta Gastroenterol.Belg.*, v. 57, p. 219-223, 1994.
- HOFMANN,F.B. Studien über den tetanus. *Pflugers Arch.*, v. 95, p. 484-532, 1903.
- to histamine release. *J.Immunol.*, v.133, p. 2138-2144, 1984.
- HOLGATE,S.T., ROBINSON,C., CHURCH,M.K. Mediators of immediate hypersensitivity. In:MIDDLETON Jr. et al. (Eds.). Allergy : principles and practice. 3ed. St.Louis : C.V. Mosby, 1988. p.135-163.
- HOLLINSHEAD,M.B., GERTNER,S.B. Mast cell change in denervated sympathetic ganglia. *Exp.Neurol.*, v. 24, p. 487-496, 1969.

- HOLMBERG,K., BAKE,B., PIPKORN,U. Vascular effects of topically applied bradykinin on the human nasal mucosa. *Eur.J.Pharmacol.*, v. 175, p. 35-41, 1990.
- HOLMES,T.H., GOODELL,H., WOLF,S., WOLFF,H.G. The nose. An experimental study of reactions within the nose in human subjects during varying life experiences. Springfield: C. C.Thomas, 1950.
- HOLMSTEDT,B. The ordeal bean of old calabar : The pageant of *Physostigma venenosum* in medicine. In : SWAIN,T. (Ed.). Plants in the development of modern medicine. Massachusetts : Cambridge University Press, 1972. p. 303-360.
- HONG,S.L. & LEVINE,L. Stimulation of prostaglandin biosynthesis by bradykinin and trombin and their mechanisms of action on MC5-5 fibroblasts. *J.Biol.Chem.*, v. 251, p. 5814-5816, 1976.
- HOPKINS,W.F., JOHNSTON,D. Beta-adrenergic receptor regulation of long-term potentiation in the hippocampus. *Soc.Neurosci.Abst.*, v. 9, p. A242.12, 1983.
- _____. Frequency-dependent noradrenergic modulation of long-term potentiation in the hippocampus. *Science*, v. 226, p. 350-352, 1984.
- _____. Noradrenergic enhancement of long-term potentiation at mossy fiber synapses in the hippocampus. *J.Neurophysiol.*, v. 59, p. 667-687, 1988.
- HORN,J.P.,STOFER,W.D. Double labeling of the paravertebral sympathetic C system in the bullfrog and antiserum to LHRH and NPY. *J.Auton.Nerv.Syst.*, v. 23, p. 17-24, 1988.
- HORTON,E.W., JONES,R.L. Biological activity of PGD₂ on smooth muscle. *Br.J.Pharmac.*, v. 52, p. 110-11P, 1974.
- HORTON,J.A.G., DAVISON,M.H.A. Ouabain in the treatment of shock. *Br.J.Anaesth.*, v. 27, p. 139-144, 1955.
- HOSFORD,D., MENCIA-HUERTA,J.M., BRAQUET,P. Platelet-activating factor (PAF) and PAF antagonism in asthma. *Crit.Rev.Ther Drug Carrier Syst.*, v. 7, p. 261-273, 1990.
- HOTEZ,P.J., Le TRANG,N., FAIRLAMB,A.H., CERAMI,A. Lipoprotein lipase suppression in 3T3-L1 cells by a haematoprotozoan-induced mediator from peritoneal exudate cells. *Parasite Immunol.*, v. 6, p. 203-209, 1984.
- HOYER,D.WAEBER,C., PALACIOS,J.M. [125I]endothelin-1 binding sites : autoradio

- graphic studies in the brain and periphery of various species including human. *J.Cardiovasc. Pharmacol.*, v. 13, Suppl.5, p. S162-S165, 1989.
- HU,G-Y., HVALBY,O., WALAAS,S.I., ALBERT,K.A.; SKJEFLO,P., ANDERSEN,P., GREENGARD,P. Protein kinase C injection into hippocampal pyramidal cells elicits features of long term potentiation. *Nature*, v. 328. p. 426-429, 1987.
- HU,J.R., BERNINGER,U.G., LANG,R.E. Endothelin stimulates atrial natriuretic peptide (ANP) release from rat atria. *Eur.J.Pharmacol.*, v. 158, p. 177-181, 1988.
- HUBBARD,J.I. Repetitive stimulation at the neuromuscular junction, and the mobilization of transmitter. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 169, p. 641-662, 1963.
- HUBER,M., BEUTLER,B., KEPPLER,D. Tumor necrosis factor alpha stimulates leukotriene production *in vivo*. *Eur.J.Immunol.*, v. 18, p. 2085-2088, 1988.
- HUGHES,J.R., EVARTS,E.V., MARSHALL,W.H. Posttetanic potentiation in the visual system of cats. *Am.J.Physiol.*, v. 186, p. 483-487, 1956.
- HUGHES,T.K., SMITH,E.M., LEUNG,M.K., STEFANO,G.B. Immunoreactive cytokines in mytilus edulis nervous and immune interactions. *Acta Biol.Hung.*, v. 43, p. 269-273, 1992.
- HULTNER,L., MOELLER,J., SCHMITT,E., JAGER,G., REISBACH,G., RING,J.,DORMER ,P. Thiol-sensitive mast cell lines derived from mouse bone marrow respond to a mast cell growth-enhancing activity different from both IL-3 and IL-4. *J.Immunol.*, v. 142, p. 3440-3446, 1989.
- HULTNER,L., DRUEZ,C., MOELLER,J., SCHMITT,E., UYTENHOVE,C., RUDE ,E., DORMER,P., VAN SNICK,J. Mast cell growth enhancing activity (MEA) is structurally related and functionally identical to the novel mouse T cell growth factor P40/TCGF III. *Eur.J.Immunol.*, v. 20, p. 1413-1416, 1990.
- HUMPHREY,D.M., McMANUS,L.M., SATOUCHI,K., HANAHAAN,D.J., PINCKARD, R.N. Vasoactive properties of acetyl glyceryl ether phosphorylcholine and analogues. *Lab.Invest.*, v. 42, p. 422-427, 1982.
- HUNT,C.C., KUFFLER,S.W.() Pharmacology of the neuromuscular junction. *Pharmacol. Rev.*, v. 2, p. 96-120, 1950.
- HUNT,R., TAVEAU,R.DE.M. On the physiological action of certain cholin derivatives and

- new methods for detecting cholin. *Br.Med.J.*, v. 2, p. 1788-1791, 1906.
- HUSTON,D.P., BRESSLER,R.B., KALINER,M., SOWELL,L.K., BAYLOR,M. W.
Prevention of mast-cell degranulation by ketotifen in patients with physical urticarias.
Ann.Intern.Med., v. 104, p. 507-510, 1986.
- HVALBY,O., LACAILLE,J-C., HU,G-Y., ANDERSEN,P. Postsynaptic long-term
potentiation follows coupling of dendritic glutamate application and synaptic activation.
Experientia, v. 43, p. 599-601, 1987.
- HWANG,S.B. Specific receptors of platelet-activating factor, receptor heterogeneity, and
signal transduction mechanism. *J.Lipid Mediat.*, v. 2, p. 123-158, 1990.
- HYMAN,A.L., CHAPNICK,B.M., KADOWITZ,P.J., LANDS,W.E.M., CRAWFORD, C. G.,
FRIED,J., BARTON,J. Unusual pulmonary vasodilator activity of 13,14-
dehydroprostacyclin methyl ester : Comparison with endoperoxides and other prostanoids.
Proc.Natl. Acad. Sci. USA, v. 74, p. 5711-5715, 1977.
- HYMAN.A.L., KADOWITZ,P.J., LANDS,W.E.M., CRAWFORD,C.G., FRIED,J.,
BARTON,J. Coronary vasodilator activity of 13,14-dehydro prostacyclin methyl ester :
comparison with prostacyclin and other prostanoids. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, v. 75, p.
3522-3526, 1978.
- IBRAHIM,M.Z. The mast cells of mammalian central nervous system. Part I. Morphology,
distribution and histochemistry. *J.Neurol.Sci.*, v. 21, p. 431-478, 1974.
- IHLE,J.N., KELLER,J., OROSZLAN,S., HENDERSON,L.E., COPELAND,T.D., FITCH, F.,
PRYSTOWSKY,M.B., GOLDWASSER,E., SCHRADER,J.W., PALASZYNSKI,E., DY,
M., LEBEL,B. Biological properties of homogeneous inteleukin 3.I. Demonstration of
WEHI-3 growth factor activity, P cell-stimulating factor activity, colony-stimulating factor
activity, and histamine-producing cell-stimulating factor activity. *J.Immunol.*, v. 131, p.
282-287, 1983.
- IMAMURA,K., SPRIGGS,D., KUFE,D. Expression of tumor necrosis factor receptors on
human monocytes and internalization of receptor bound ligand. *J.Immunol.*, v. 139, p.
2989-2992, 1987.
- INAGAKI,H., BISHOP,A.E., ESCRIG,C., WHARTON,J., ALLEN-MERSH,T.G., POLAK,

- J.M. Localization of endothelin-like immunoreactivity and endothelin binding sites in human colon. *Gastroenterology*, v. 101, p. 47-54, 1991.
- INOUE,A., YANAGISAWA,M., KIMURA,S., KASUYA,Y., MIYAUCHI,T., GOTO, K., MASAKI,T. The human endothelin family : three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, v. 86, p. 2863-2867, 1989.
- IRANI,A.A., SCHECHTER,N.M., CRAIG,S.S., DeBLOIS,G., SCHWARTZ, L.B. Two types of human mast cells that have distinct neutral protease compositions. *Proc.Natl. Acad. Sci.USA*, v. 83, p. 4464-4468, 1986.
- IRANI,A.M., BRADFORD,T.R., KEPLEY,C.L., SCHECHTER,N.M., SCHWARTZ,L.B. Detection of MC_T and MC_{TC} types of human mast cells by immunohistochemistry using new monoclonal anti-tryptase and anti-chymase antibodies. *J.Histochem.Cytochem.*, v. 37, p. 1509-1515, 1989.
- IRIUCHIJIMA,J. Sympathetic discharge in spontaneously hypertensive rats. *Jap.Heart J.*, v. 14, p. 350-356, 1973.
- IRIUCHIJIMA,J., NUMAO,Y., SUGA,H. Effect of increasing age on hemodynamics of spontaneously hypertensive rats. *Jpn.Heart J.*, v. 16, p. 257-264, 1975.
- ISHIDA,N., TSUJIOKA,K., TOMOI,M., SAIDA,K., MITSUI,Y. Differential activities of two distinct endothelin family peptides on ileum and coronary artery. *FEBS Lett.*, v. 247, p. 337-340, 1989.
- ISHIDA,K., TAKESHIGE,K., MINAKAMI,S. Endothelin-1 enhances superoxide generation of human neutrophils stimulated by the chemotactic peptide N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine. *Biochem.Biophys.Res.Comm.*, v. 173, p. 496-500, 1990.
- ISHIKAWA,T., YANAGISAWA,M., KIMURA,S., GOTO,K., MASAKI,T. Positive chronotropic effects of endothelin, a novel endothelium-derived vasoconstrictor peptide. *Pfuegers Arch.*, v. 413, p. 108-110, 1988.
- ISHIZAKA,T. Mechanisms of IgE-mediated hypersensitivity. In :MIDDLETON Jr.,E., et al. (Eds.). *Allergy : Principles and Practice*. 3 ed. St.Louis, C.V., Mosby, 1988. p.71-93.
- ISHIZAKA,T., ISHIZAKA,K. Activation of mast cells for mediator release through IgE

- receptors. *Prog.Allergy*, v. 34, p. 188-235, 1984.
- ISHIZAKA,T., CHANG,T.H., TAGGART,M., ISHIZAKA,K. Histamine release from rat mast cells by antibodies against rat basophilic leukemia cell membrane. *J.Immunol.*, v. 108, p. 339-345, 1972.
- ISHIZAKA,T., IWATA,M., ISHIZAKA,K. Release of histamine and arachidonate from mouse mast cells induced by glycosylation-enhancing factor and bradykinin. *J.Immunol.*, v. 134, p. 1880-1887, 1985.
- ITO,M. Evidence for synaptic plasticity in the cerebellar cortex. *Acta Morph.Acad. Sci.Hung.*,v. 31, p. 213-218, 1983.
- ITOH,Y., YANAGISAWA,S., OHKUBO,S., KIMURA,C., KOSAKA,T., INOUE,A.,ISHIDA,N., MITSUI,Y., ONDA,H., FUJINO,M., MASAKI,T. Cloning and sequence analysis of cDNA encoding the precursor of a human endothelium-derived vasoconstrictor peptide, endothelin : identity of human and porcine endothelin. *FEBS Lett.*, v. 231, p. 440-444, 1988.
- IZQUIERDO,I. Pharmacological evidence for a role of long-term potentiation in memory. *FASEB,J.*, v. 8, p. 1139-1145, 1994.
- IZQUIERDO,I., FIN,C., SCHMITZ,P.K., Da SILVA,R.C., JERUSALINSKY, D., QUILLFELDT,J.A., FERREIRA,M.B., MEDINA,J.H., BAZAN,N.G. Memory enhancement by intrahippocampal, intraamygdala, or intraenthorinal infusion of platelet-activating factor measured in an anhibitory avoidance task. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, v. 92, p. 5047-5051, 1995.
- JACKSON ROBERTS II,L., LEWIS,R.A., OATES,J., AUSTEN,K.F. Prostaglandin, thromboxane, and 12-hydroxy-5,8,10,14-eicosatetraenoic acid production by ionophore stimulated rat serosal mast cells. *Biochem.Biophys.Acta*, v. 575, p. 185-192, 1979.
- JACOB,C.O., McDEVITT,H.O. Tumour necrosis factor alpha in murine auto-immune "lupus" nephritis. *Nature*, v. 331, p. 356-358, 1988.
- JACOBOWITZ,D., WOODWARD,J.K. Adrenergic neurons in the cat superior cervical ganglion and cervical sympathetic nerve trunk : A histochemical study. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, v. 162, p. 213-226, 1968.

- JACOBS,W.A., BIGELOW,N.M. Ouabain or g-strophanthin. *J.Biol.Chem.*, v. 96, p. 647-658, 1932.
- Jahr,C.E., STEVENS,C.F. Glutamate activates multiple single channel conductances in hippocampal neurons. *Nature*, v. 325,p. 522-525, 1987.
- JAN,L.Y., JAN,Y.N. Peptidergic transmission im sympathetic ganglia of the frog. *J.Physiol. (Lond.)*, v. 327, p. 219-246, 1982.
- JAN,Y.N., JAN,L.Y., KUFFLER,S.W. Further evidence for peptidergic transmission in sympathetic ganglia. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, v. 77, p. 5008-5012, 1980.
- JAN,Y.N., JAN,L.Y. A LHRH-like peptidergic neurotransmitter capable of "action at a distance" in autonomic ganglia. *Trends Neurosci.*, v. 6, p. 320-325, 1983.
- JANCSO,N., JANCSO-GABOR,A., SZOLCSANYI,J. Direct evidence for neurogenic inflammation and its prevention by denervation and by pretreatment with capsaicin. *Br.J.Pharmacol.Chemother.*, v. 31, p. 138-151, 1967.
- _____. The role of sensory nerve endings in neurogenic inflammation induced in human skin and in the eye and paw of the rat. *Br.J.Pharmacol.Chemother.*, v. 32, p. 32-41, 1968.
- JELINEK,D.F., LIPSKY,P.E. Enhancement of human B cell proliferation and differentiation by tumor necrosis factor-alpha and interleukin 1. *J.Immunol.*, v 139, p. 970-2976, 1987.
- JETT,M.F., MARSHALL,P., FONDACAR,J.D., SMITH,P.L. Action of peptidoleukotrienes on ion transport in rabbit distal colon *in vitro*. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, v. 257, p. 698-705, 1991.
- JIANG,Z.G., SIMMONS,M.A., DUN,N.J. Enkephalinergic modulation of non-cholinergic transmission in mammalian prevertebral ganglia. *Brain Res.*, v. 235, p. 185-191, 1982.
- JOAD,J., CASALE,T.B. Histamine and airway caliber. *Ann.Allergy*, v. 61, p. 1-7, 1988.
- JOHANSEN,T. Mechanism of histamine release from mast cells induced by the ionophore A23187 : Effects of calcium and temperature. *Br.J.Pharmacol.*, v. 63, p. 643-649, 1978.
- JOHNSON,A.R., ERDOS,E.G. Release of histamine from mast cells by vasoactive peptides. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.*, v. 142, p. 1251-1256, 1973.
- JOHNSON,D., KRENGER,W. Interactions of mast cells with the nervous system -Recent Advances. *Neurochem.Res.*, v. 17, p. 939-951, 1992.

- JOHNSON,R.A., MORTON,D.R., KINNER,J.H., GORMAN,R.R., McGUIRE,J.C., SUN,F. F., WHITTAKER,N., BUNTING,S., SALMON,J., MONCADA,S., VANE,J.R. The chemical structure of prostaglandin X (prostacyclin). *Prostaglandins*, v. 12, p. 915-928, 1976.
- JOHNSTON,D., WU,S.M-S. Foundations of cellular neurophysiology. MIT Press, Cambridge : Massachusetsets, 1995.
- JOHNSTON,D., HOPKINS,W.F., GRAY,R. Noradrenergic enhancement of long-term synaptic potentiation. In : LANDFIELD,P.W. et al. (Eds.). Long-term potentiation : from biophysics to behavior. New York, 1988. p. 335-376.
- JOHNSTON,M.F., KRAVITZ,E.A., MEIRI,H., RAHAMIMOFF,R. Adrenocorticotopic hormone causes long-lasting potentiation of transmitter release from motor nerve terminals. *Science*, v. 220, p. 1071-1072, 1983.
- JOHNSTONE,J.(1764) apud KARCZMAR, A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum,1986. p. 3-26.
- JONES,R.L. Cardiovascular actions of prostaglandins D and E in sheep : Evidence for two distinct receptors. *Adv.Prostaglandin Thromboxane Res.*, v. 1, p. 221-230, 1976.
- _____. Definitions of prostaglandin-sensitive arterial constrictor system. *Acta Biol.Med. Germ.*, v. 37, p. 837-844, 1978.
- JONES,R.L., PEESAPATI,V., WILSON,N.H. Antagonism of the thromboxane-sensitive contractile systems of the rabbit aorta, dog saphenous vein and guinea pig trachea. *Br.J. Pharmacol.*, v. 76, p. 423-438, 1982.
- JONES,T.R., DAVIS,C., DANIEL,E.E. Pharmacological study of the contractile activity of leukotriene C₄ and D₄ on isolated human airway smooth muscle. *Can.J.Physiol.Pharmacol.*, v. 60, p. 638-643, 1982.
- JORPES,J.E., HOLMGREEN,H., WILANDER,O.(1937) apud BENDITT,E.P., LAGUNOFF ,D. The mast cell : its structure and function. *Prog.Allergy*, v. 8, p. 195-223,1964.
- JOUBERT,P.H. Digitalis in clinical practice. *S.Afr.Med.J.*, v. 50, p. 146-152, 1976.

- JOVER,E., COURAUD,F., ROCHAT,H. Two types of scorpion neurotoxins characterized by their binding to two separate sites on rat brain synaptosomes. *Biochem.Biophys. Res. Commun.*, v. 95, p. 1607-1614, 1980.
- JUBELIN,B.C., KANNAN,M.S. Neurons from neonatal hypertensive rats exhibit abnormal membrane properties *in vitro*. *Am.J.Physiol.*, v. 259, 3 pT 1, p. C389-C396, 1990.
- JUDY,W.B., WATANABE,A.M., HENRY,D.P., BESCH Jr.,H.R., MURPHY,W.R., HOCKEL,G.M. Sympathetic nerve activity : role in regulation of blood pressure in the spontaneously hypertensive rats. *Circ.Res.*, v. 38, Suppl. II, p. II21-II29, 1976.
- JUNG,L.M. Therapeutic use of digitalis until the time of William Withering. In :ERDMAN,E. et al.. (Eds.). Cardiac glycosides 1785-1985. Biochemistry-pharmacology-clinical relevance. Darmstadt, Germany : Steinkopff Verlag, 1986. p.17-18.
- JUSKEVICH,J.C., ROBINSON,D.S., WHITEHORN,D. Effect of hypothalamic stimulation in spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto rats. *Eur.J.Pharmacol.*, v. 51, p. 429-439, 1978.
- KADLEC,O., SEFERNA,I., SEVCIK,J., SOMOGYI,G.T., VIZI,E.S. The topographical basis of cholinergic transmission in guinea-pig ileum myenteric plexus. *Neuroscience.*, v.36, p. 793-802, 1990.
- KADOWITZ,P.J., GRUETTER,C.A., McNAMARA,D.B.;GORMAN,R.R., SPANNHAKE, E.W., HYMAN,A.L. Comparative effects of endoperoxide PGH₂ and analog on the pulmonary vascular bed. *J.Appl.Physiol.Res.Environ.Exercice Physiol.*, v. 42, p. 953-958, 1977.
- KAKIUCHI,S., SOBUE,K. Control of the cytoskeleton by calmodulin and calmodulin-binding proteins. *Trends Biochem.Sci.*, v. 8, p. 59-62, 1983.
- KALINER,M. Human lung and anaphylaxis. Evidence that cyclic nucleotides modulate the immunologic release of mediators through effects on microtubule assembly. *J.Clin. Invest.*, v. 60, p. 951-959, 1977.
- _____. Is a mast cell a mast cell a mast cell? *J.Allergy Clin.Immunol.*, v. 66, p. 1-4, 1980.
- KANDEL,E.R., SPENCER,W.A. Cellular neurophysiological approaches in the study of learning. *Physiol.Rev.*, v. 48, p. 65-134, 1968.

- KANDEL,E.R., SCHWARTZ,J.H. Molecular biology of learning : modulation of transmitter release. *Science*, v. 218, p. 433-443, 1982.
- KANNAN,R., BAKER,N. Hypertriglyceridemia in Ehrlich ascites carcinomatous mice : tumor and mouse strain differences. *Lipids*, v. 12, p. 153-158, 1977.
- KANSE,S.M., GHATEI,M.A., BLOOM,S.R. Endothelin binding sites in porcine aortic and rat lung membrane. *Eur.J.Biochem.*, v. 182, p. 175-179, 1989.
- KAPLAN,A.P. Urticaria and angioedema. In: MIDDLETON,E. et al. (Eds.). Allergy principles and practice. St.Louis : Mosby, 1983. p. 1341-1406.
- KARCZMAR,A.G. Introduction : History of the research with anticholinesterase agents. In : KARCZMAR,A.G. (Ed.). Anticholinesterase Agents. Oxford : Pergamon Press, 1970. v.1, p. 1-44.
- KASUYA,Y., TAKUWA,Y., YANAGISAWA,M., KIMURA,S., GOTO,K., MASAKI,T. Endothelin-1 induces vasoconstriction through two functionally distinct pathways in porcine coronary artery : contribution of phosphoinositide turnover. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v. 161, p. 1049-1055, 1989.
- KATAYAMA,Y., NISHI,S. Peptidergic transmission. In :KARCZMAN,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum, 1986. p. 181-200.
- KATO,K., CLARCK,G.D., BAZAN,N.G., ZORUMSKI,C.F. Platelet-activating factor as a potential retrograde messenger in CA₁ hippocampal long-term potentiation. *Nature*, v. 367, p. 175-179, 1994.
- KATZ,B., SCHMITT,O.H. Electric interaction between two adjacent nerve fibres. *J.Physiol. (Lond.)*, v. 97, p. 471-488, 1939.
- KAUER,J.A., MALENKA,R.C., NICOLL,R.A. A persistent postsynaptic modification mediates long-term potentiation in the hippocampus. *Neuron*, v. 1, p. 911-917, 1988.
- KAUFMAN,M.P., COLERIDGE,H.M., COLERIDGE,J.C.G., BAKER,D.G. Bradykinin stimulates afferent vagal C-fibers in intrapulmonary airways of dogs. *J.Appl.Physiol.*, v. 48, p. 511-517, 1980.
- KAWAKAMI,M., CERAMI,A. Studies of endotoxin-induced decrease in lipoprotein lipase

- activity. *J.Exp.Med.*, v. 154, p. 631-639, 1981.
- KAWATAMI,M., RUTIGLIANO,M., DeGROAT,W.C. Depolarization and muscarinic excitation induced in a sympathetic ganglion by vasoactive intestinal polypeptide. *Science*, v. 229, p.879-881, 1985.
- KAZIMIERCZAK,W., ADAMAS,B., MALINSKI,C.Z. Failure of acetylcholine to release histamine from rat mast cells. *Agents Actions*, v. 10, p. 1-3, 1980.
- KAZUO,M. Participation of the sympathetic nervous system in spontaneously hypertensive rats. *Jpn.Circ.J.*, v. 37, p. 609-618, 1973.
- KEAHEY,T.M., INDRISANO,J., LAVKER,R.M., KALINER,M.A. Delayed vibratory angioedema : Insights into pathophysiologic mechanisms. *J.Allergy Clin.Immunol.*, v.80, p. 831-838, 1987.
- KELLER,U. Pathophysiology of cancer cachexia. *Support Care Cancer*, v. 1, p.290-294, 1993.
- KELSALL,M.A. Aging on mast cells and plasmocytes in the brain of hamsters. *Anat.Record*, v. 154, p. 727-739, 1966.
- KELSO,S.R., GANONG,A.H., BROWN,T.H. Hebbian synapses in hippocampus. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, v. 83, p. 5326-5330, 1986.
- KENNINS,P. Identification of the unmyelinated sensory nerves which evoke plasma extravasation in the response to antidromic stimulation. *Neurosci.Lett.*, v. 25, p. 137-141, 1981.
- KIERNAN,J.A. Degranulation of mast cells following antidromic stimulation of cutaneous nerves. *J.Anat.*, v. 111, p. 349-350, 1971.
- _____. The involvement of mast cells in vasodilatation due to axon reflexes in injured skin. *Q.J.Exp. Physiol.*, v. 57, p. 311-317, 1972.
- _____. A study of chemically induced acute inflammation in the skin of the rat. *Q.J.Exp. Physiol.Cogn.Med.Sci.*, v. 62, p. 151-161, 1977.
- _____. Degranulation of mast cells in the trachea and bronchi of the rat following stimulation of the vagus nerve. *Int.Arch.Allergy Appl.Immunol.*, v. 91, p. 398-402, 1990.
- KING,A.J., PFEFFER,J.M., PFEFFER,M.A., BRENNER,B.M. Systemic hemodynamic effects of endothelin in rats. *Am.J.Physiol.*, v. 258, p. H787-H792, 1989.

- KINGSTON,W.P., GREAVES,M.W. Factors affecting prostaglandin synthesis by rat skin microsomes. *Prostaglandins*, v. 12, p. 51-69, 1976.
- KINNET,J-P. The high-affinity receptor for IgE. *Curr.Opin.Immunol.*, v. 2, p. 499-505, 1989.
- KINOSHITA,F., NAKAI,Y., KATAKAMI,H., IMURA,H., SHIMIZU,T., HAYAISHI,O.
Suppressive effect of prostaglandin (PG) D₂ on pulsative luteinizing hormone release in conscious castrated rats. *Endocrinology*, v. 110, p. 2207-2209, 1982.
- KIPS,J.C., TAVERNIER,J.H., JOOS,G.F., PELEMAN,R.A., PAUWELS,R.A. The potential role of the tumour necrosis factor alpha in asthma. *Clin.Exp.Allergy*, v. 23, p.247-250, 1993.
- KIRSHENBAUM,A.S.,OFF,J.P., DRESKIN,S.C., IRANI,A-M., SCHWARTZ,L.B., METCALFE,D.D. Il-3-dependent growth of basophil-like cells and mast-like cells from human bone marrow. *J.Immunol.*, v. 142, p. 2424-2429, 1989.
- KISPERKAR,S.M., PRAT,J.C., YAMAMOTO,H. Effects of metabolic inhibitors on norepinephrine release from the perfused spleen of the cat. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, v. 172, p. 342-350, 1970.
- KITAMURA,K., YUKAWA,T., MORITA,S., ICHIKI,Y., ETO,T., TANAKA,K. Distribution and molecular form of immunoreactive big endothelin-1 in porcine tissue. *Biochem.Biophys. Res. Commun.*, v. 170, p. 497-503, 1990.
- KITAMURA,Y. Heterogeneity of mast cells and phenotypic changes between subpopulations. *Ann.Rev.Immunol.*, v. 7, p. 59-76, 1989.
- KITAMURA,Y., GO,S., HATANAKA,S. Decrease of mast cells in W/W^v mice and their increase by bone marrow transplantation. *Blood*, v. 52, p. 447-452, 1978.
- KLEBANOFF,S.J., VADA,M.A., HARLAN,J.M., SPARKS,L.H., GAMBLE,J.R.,AGOSTI, J.M., WALTERSDORPH,A.M. Stimulation of neutrophils by tumor necrosis factor. *J. Immunol.*, v. 136, p. 4220-4236, 1986.
- KLEE,C.B., CROUCH,T.H., RICHMAN,P. Calmodulin. *A.Rev.Biochem.*, v. 49, p. 489-515, 1980.
- KLICKSTEIN,L.B., SHAPLEIGH,C., GOETZL,E.J. Lipoxygenation of arachidonic acid as a source of polymorphonuclear leukocyte chemotactic factors in synovial fluid and tissue in

- rheumatoid arthritis and spondyloarthritis. *J.Clin.Invest.*, v. 66, p. 1166-1170, 1980.
- KLOEZE,J. Influence of prostaglandins on platelet adhesiveness and platelet aggregation. In : BERGSTROM,S., SAMUELSSON,B. (Eds.). *Nobel Symposium 2, Prostaglandins*. New York : John Wiley, 1967. p. 241-252.
- KLOOG,Y., AMBAR,I., SOKOLVSKY,M., KOCHVA,E., WOLLBERG,Z., BDOLAH,A. Sarfotoin, a novel vasoconstrictor peptide : phosphoinositide hydrolysis in rat heart and brain. *Science*, v. 242, p. 268-270, 1988.
- KOBAYASHI,H., HASHIGUCHI,T., USHIYAMA,N.S. Postsynaptic modulation of excitatory process in sympathetic ganglia by cyclic AMP. *Nature*, v. 271, p. 268-270, 1978.
- KOCH-WESER,J. Beta receptor blockade and myocardial effects of cardiac glycosides. *Circ.Res.*, v. 29, p. 109-118, 1971.
- KOELLE,G.B., GILMAN,A. Anticholinesterase drugs. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, v. 95, p. 166-216, 1949.
- KOEPKE,J.P., JONES,S., DiBONA,G.F. Alpha-2-adrenoceptors in amygdala control renal sympathetic nerve activity and renal function in conscious spontaneously hypertensive rats. *Brain Res.*, v. 404, p. 80-88, 1987.
- KOHZUKI,M., JOHNSTON,C.I., CHAI,S.Y., CASLEY,D.J., MENDELSON, F.A.O. Localization of endothelin receptors in rat kidney. *Eur.J.Pharmacol.*, v. 160, p. 193-194, 1989.
- KOIZUMI,K., BROOKS,C.C. The autonomic nervous system and its role in controlling visceral activities. In:MOUNTCASTLE,V.B. (Ed.). *Medical physiology*. 3 ed. St. Louis : C.V. Mosby, 1974. p. 783-812.
- KOKETSU,K., NISHI,S. Characteristics of the slow inhibitory postsynaptic potential of bullfrog sympathetic ganglion cells. *Life Sci.*, v. 6, p. 1827-1836, 1967.
- KOMATSU,Y., TOYAMA,K., MAEDA,J., SAKAGUCHI,H. Long-term potentiation investigated in a slice preparation of striate cortex of young kittens. *Neurosci.Lett.*, v.26, p. 269-274, 1981.
- KOMURO,I., KURIHARA,K., SUGIYAMA,T., TAKAKU,F., YASAKI,Y. Endothelin stimulates c-fos and c-myc expression and proliferation of vascular smooth muscle cells.

- FEBS Lett*, v. 238, p. 249-252, 1988.
- KONZETT,H., ROTHLIN,E. Effect of cardioactive glycosides on a sympathetic ganglion. *Arch.Int. Pharmacodyn.*, v. 89, p. 343-352, 1952.
- KOPEYAN,C., MARTINEZ,G., ROCHAT,H. Primary structure of toxin IV of *Leiurus quinquestriatus* : Characterization of a new group of scorpion toxins. *FEBS Lett.*, v. 181, p. 211-217, 1985.
- KOPPANYI,T., KARCZMAR,A.G., KING,T.O. Effect of tetraethylpyrophosphate on sympathetic ganglionic activity. *Science*, v. 106, p. 492-493, 1947.
- KORNER,P.J. Integrative neural cardiovascular control. *Physiol.Rev.*, v. 51, p. 312-367, 1971.
- KOSEKI,C., IMAI,M., HIRATA,Y., YANAGISAWA,M., MASAKI,T. Autoradiographic distribution in rat tissues of binding sites for endothelin : a neuropeptide? *Am.J.Physiol.*, v. 256, p. R858-R866, 1989.
- KOWALSKI,M.L., KALINER,M.A. Neurogenic inflammation, vascular permeability, and mast cells. *J.Immunol.*, v. 140, p. 3905-3911, 1988.
- KOYANO,K., KUBA,K., MINOTA,S. Long-term potentiation of transmitter release induced by repetitive presynaptic activities in bullfrog sympathetic ganglia. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 359, p. 219-233, 1985.
- KRAFT,A.S., ANDERSON,W.B. Phorbol esters increase the amount of Ca^{2+} , phospholipid-dependent protein kinase associated with plasma membrane. *Nature*, v. 301, p. 621-623, 1993.
- KRAGBALLE,K., DESJARLAIS,L., VOORHESS,J.J. Leukotrienes B₄,C₄ and D₄ stimulate DNA synthesis in cultured human epidermal keratinocytes. *Br.J.Dermatol.*, v.113, p. 43-52, 1985.
- KRAYER,O. A difference in cardiodecelerator action between digitoxin and digitoxigenin. *Proc.Soc.Exp.Biol. Med.*, v. 57, p. 167-169, 1944.
- KRELL,R.D., TSAI,B.S., BERDOULAY,A., BARONE,M., GILES,R.E. Heterogeneity of leukotriene receptors in guinea-pig trachea. *Prostaglandins*, v. 25, p. 171-178, 1983.
- KROEGEL,C., KORTSIK,C., KROEGEL,N., MATTHYS,H. The pathophysiological role and

- therapeutic implications of platelet-activating factor in diseases of aging. *Drugs Aging*, v. 2, p. 345-355, 1992.
- KRUG,M., BRÖDEMANN,R., OTT,T. Blockade of long-term potentiation in the dentate gyrus of freely moving rats by the glutamic acid antagonist GDEE. *Brain Res.*, v. 249, p. 57-62, 1982.
- KRUG,M., CHEPKOVA,A.N., GEYER,C., OTT,T. Aminergic blockade modulates long-term potentiation in the dentate gyrus of freely moving rats. *Brain Res.Bull.*, v. 11, p. 1-6, 1983.
- KRUG,M., LÖSSNER,B., OTT,T. Anisomycin blocs the late phase of long-term potentiation in the dentate gyrus of freely moving rats. *Brain Res.Bull.*, v. 13, p. 39-42, 1984.
- KUBA,K., KOKETSU,K. Ionic mechanism of the slow excitatory postsynaptic potential in bullfrog sympathetic ganglion cell. *Brain Res.*, v. 81, p. 338-342, 1974.
- KUBA,K., KATO,E., KUMAMOTO,E., KOKETSU,K., HIRAI,K. Sustained potentiation of transmitter release by adrenaline and dibutyryl cyclic AMP in sympathetic ganglia. *Nature*, v. 291, p. 654-656, 1981.
- KUBA,K., KUMAMOTO,E. Long-term potentiation of transmitter release induced by adrenaline in bullfrog sympathetic ganglia. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 374, p. 515-530, 1986.
- KUBA,K., MINOTA,S. Presynaptic modulation : The mechanism and regulation of transmitter liberation in sympathetic ganglion. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and pharmacology. New York : Plenum Press, 1986. p. 225-251.
- KUBA,K., KUMAMOTO,E., MINOTA,S., KOYANO,K., TANAKA,K., TSUJI,S. An increased basal calcium hypothesis for long-term potentiation of transmitter release in bullfrog sympathetic ganglia. In : WOODY,,C.D., McGAUGH,D.L. (Eds.). Cellular Mechanism of Conditioning and Behavioral Plasticity. New York : Plenum Press, 1988. p. 11-20.
- KUFFLER,S.W. Transmitter mechanism at the nerve-muscle junction. *Arch.Sci.Physiol.*, v. 3, p. 585-601, 1949.
- KUFFLER,S.W., SEJNOWSKI,T.J. Peptidergic and muscarine excitation at amphibian

- sympathetic synapses. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 341, p. 257-278, 1983.
- KÜHNE,W.(1888) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum,1986. p. 3-26.
- KUHNT,U., MIHALY,A., JOO,F. Increased binding of calcium in the hippocampus during long-term potentiation. *Neurosci.Lett.*, v. 53, p. 149-154, 1985.
- KULKARNI,P.S., ROBERTS,R., NEEDLEMAN,P. Paradoxical endogenous synthesis of a coronary dilating substance from arachidonate. *Prostaglandins*, v. 12, p. 337-353, 1976.
- KULL,F.C.Jr., JACOBS,S., CUATRECASAS,P. Cellular receptor for ¹²⁵I-labelled tumor necrosis factor. Specific binding, affinity labelling, and relationship to sensitivity. *Proc. Natl.Acad.Sci. USA*, v. 82, p. 5756-5760, 1985.
- KULLMANN,D.M., NICOLL,R.A. Long-term potentiation is associated with increases in quantal content and quantal amplitude. *Nature*, v. 357, p. 240-244, 1992.
- KUMAMOTO,E., KUBA,K. Independence of presynaptic bimodal actions of adrenaline in sympathetic ganglia. *Brain Res.*, v. 265, p. 344-347, 1983a.
- _____. Sustained rise in ACh sensitivity of a sympathetic ganglion cell induced by postsynaptic electrical activities. *Nature*, v. 305, p. 145-146, 1983b.
- _____. Mechanism of long-term potentiation of transmitter release induced by adrenaline in bullfrog sympathetic ganglia. *J.Gen.Physiol.*, v. 87, p. 775-793, 1986.
- _____. Mechanism regulating the adrenaline-induced long-term potentiation in bullfrog sympathetic ganglia. *Pflügers Arch.*, v. 408, p. 573-577, 1987.
- KUMAR,R., YANKOPOULOS,N.A., ABELMAN,W.H. Ouabain-induced hypertension in a patient with decompensated hypertension heart disease. *Chest*, v. 63, p. 105-107, 1973.
- KUNTZ,A. Histological variations in autonomic ganglia cells associated with age and disease. *Am.J.Pathol.*, v. 14, p. 783-795, 1938.
- KUSHIKU,K., OHJIMI,H., YAMADA,H., TOKUNAGA,R., FURUKAWA,T. Endothelin-3 inhibits ganglionic transmission at preganglionic sites through activation of endogenous thromboxane A₂ production in dog cardiac sympathetic ganglia. *J.Cardiovasc.Pharmacol.*, v. 17, Suppl. 7, p. S197-S199, 1991.

- KUSHIKU,K., OHJIMI,H., YAMADA,H., KUWAHARA,T., FURUKAWA,T. Activation of endogenous thromboxane A2 biosynthesis mediates presynaptic inhibition by endothelin-3 of dog stellate ganglionic transmission. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, v. 272, p. 70-76, 1995.
- KVETNANSKY,R., MCCARTY,R., THOAN,B., LAKE,C.R., KOPIN,I.J. Sympathoadrenal responses of spontaneously hypertensive rats to immobilization stress. *Am.J.Physiol.*, v. 236, p. H457-H462, 1979.
- LaBELLA,F.S. Endogenous digitalis-like factors. Introductory remarks. *Fed.Proc.*, v. 44, p. 2780-2781, 1985.
- LAGENTE,V., CHABRIER,P.E., MENCIA-HUERTA,J.M., BRAQUET,P. Pharmacological modulation of the bronchopulmonary action of the vasoactive peptide, endothelin. *Biochem. Biophys.Res.Comm.*, v. 158, p. 625-632, 1989.
- LAGUNOFF,D., MARTIN,T.W., READ,G. Agents that release histamine from mast cells. *Ann.Rev.Pharmacol.Toxicol.*, v. 23, p. 331-351, 1983.
- LAM,S., CHAN,H., LeRICHE,J.C., CHANG-YEUNG,M., SALARI,H. Release of leukotrienes in patients with bronchial asthma. *J.Allergy Clin.Immunol.*, v. 81, p. 711- 717, 1988.
- LANDFIELD,P.W., DEADWYLER,S.A. Long-term potentiation : from biophysics to behavior. New York ; Allen Liss,1988.
- LANDIS,S.C., FREDIEU,J.R. Coexistence of calcitonin gene-related peptide and vasoactive intestinal peptide in cholinergic sympathetic innervation of rat sweat glands. *Brain Res.*, v. 377, p. 177-179, 1986.
- LANGLEY,J.N.(1876) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum,1986. p. 3-26.
- LANGLEY,J.N.(1878) apud KARCZMAR,A.G. History and bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum, 1986. p. 3-26.
- LANGLEY,J.N. Note on the connection with nerve-cells of the vasomotor nerves for the feet. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 12, p. 375-377, 1891.

- _____. On the origin from the spinal cord of the cervical and upper thoracic sympathetic fibres with some observations on white and grey rami communicantes. *Phil.Trans.R.Soc.*, v. B183, p. 85-124, 1892.
- _____. On the regeneration of preganglionic and postganglionic visceral nerve fibres. *J. Physiol. (Lond.)*, v. 23, p. 215-230, 1897.
- _____. Remarks on the results of degeneration of the upper thoracic white rami communicantes, chiefly in relation to commissural fibres in the sympathetic system. *J. Physiol. (Lond.)*, v. 25, p. 468-478, 1899.
- _____. On the question of commissural fibres between nerve cells having the same function and situated in the same sympathetic ganglion, and on the function of postganglionic nerve plexuses. *J. Physiol. (Lond.)*, v. 31, p. 244-259, 1904.
- _____. On the reaction of cells and of nerve endings to certain poisons, chiefly as regards the reaction of striated muscle of nicotine and the curare. *J. Physiol. (Lond.)*, v. 33, p. 374-413, 1905.
- LANGLEY, J.N. (1921) apud KARCZMAR, A.G. History and bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR, A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum, 1986. p. 3-26.
- LANGLEY, J.N. (1921) apud KARCZMAR, A.G. History and bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR, A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum, 1986. p. 3-26.
- LANGLEY, J.N., DICKINSON, W.L. (1889) apud KARCZMAR, A.G. History and bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR, A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum, 1986. p. 3-26.
- LANGLEY, J.N., SHERRINGTON, C.S. On pilo-motor nerves. *J. Physiol. (Lond.)*, v. 12, p. 278-291, 1891.
- LARKMAN, A., HANNAY, T., STRATFORD, K., JACK, J. Presynaptic release probability influences the locus of long-term potentiation. *Nature*, v. 360, p. 70-73, 1992.
- LARRABEE, M.G., BRONK, D.W. Prolonged facilitation of synaptic excitation in sympathetic ganglia. *J. Neurophysiol.*, v 10, p. 139-154, 1947

- LARRABEE,M.G., POSTERNAK,J.M. Selective action of anesthetics on synapses and axons in mammalian sympathetic ganglia. *J.Neurophysiol.*, v. 15, p. 91-114, 1952.
- LARSON,J.R., LYNCH,G. Long-term potentiation in lizard cerebral cortex. *Soc.Neurosci. Abstr.*, v. 2, p. A225.2, 1985.
- _____. Role of N-methyl-D-aspartate receptors in the induction of synaptic potentiation by burst stimulation patterned after the hippocampal tetra-rhythm. *Brain Res.*, v. 441, p.11-118, 1988.
- LAU,W.A., VENTURA,S., JIANG,Q., PENNEFATHER,J.N. Endothelin-induced facilitation of sympathetic neurotransmission to the rat vas deferens : effects of suramin. *Eur.J. Pharmacol.*, v. 272, p. 31-38, 1995.
- LAURITSEN,K., LAUREN,L.S., BUKHAVE,K., RASK-MADSEN,J. Effects of topical 5-aminosalicylic acid and prednisole on prostaglandin E₂ and leukotriene B₄ levels determined by equilibrium *in vivo* dialysis of rectum in relapsing ulcerative colitis. *Gastroenterology*, v. 91, p. 837-844, 1986.
- LAWRENCE,I.D., WARNER,J.A., COHAN,V.L., HUBBARD,W.C., KAGEY-SOBOTKA, A., LICHTENSTEIN,L.M. Purification and characterization of human skin mast cells. Evidence for human mast cell heterogeneity. *J.Immunol.*, v. 139, p. 3062-3069, 1987.
- LAWRENCE,I.D., WARNER,J.A., COHAN,V.L., LICHTENSTEIN,L.M., KAGEY-SOBOTKA,A., VAVREK,R.J., STEWART,J.M., PROUD,D. Induction of histamine release from human skin mast cells by bradykinin analogs. *Biochem.Pharmacol.*, v. 38, p. 227-233, 1989.
- LEAL-CARDOSO,J.H. Estudo das alterações induzidas imunologicamente e porautacóides sobre neurônios sensitivos isolados e neurônios em gânglios intactos do sistema nervoso autônomo. Tese apresentada para o Concurso de Professor Titular de Fisiologia. Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, 1993.
- LEE,K.S., SCHOTTLER,F., OLIVER,M., LYNCH,G. Brief bursts of high-frequency stimulation produce two types of structural change in rat hippocampus. *J.Neurophysiol.*, v. 44, p. 247-258, 1980.
- LEFFLER,C.W., HESSLER,J.R. Pulmonary and sistemic vascular effects of exogenous

- prostaglandin I₂ in fetal lambs. *Eur.J.Pharmacol.*, v. 54, p. 37-42, 1979.
- LEFORT,J., PRETOLANI,M., DESQUAND,S., VARGAFTIG,B.B. Is platelet-activating factor involved in bronchopulmonary hyperresponsiveness ? *J.Lipid Mediat.*, v. 5, p. 163-167, 1992.
- LEIBOVICH,S.J., POLVERINI,P.J., SHEPARD,H.M., WISEMAN,D. M. , SHIVELY, V., NUSEIR,N. Macrophage-induced angiogenesis is mediated by tumour necrosis factor-alpha. *Nature*, v. 329, p. 630-632, 1987.
- LEIKAUF,G.D., UEKI,I.F.;NADEL,J.A., WIDDICOMBE,J.H. Bradykinin stimulates Cl secretion and prostaglandin E₂ release by canine tracheal epithelium. *Am.J.Physiol.*, v. 248, p. F48-F55, 1985.
- LEITCH,A.G., AUSTEN,K.F., DRAZEN,J.M. Effects of indomethacin on the guinea pig pulmonary response to intravenous leukotriene C₄ and D₄. *Clin.Sci.*, v. 65, p. 281-287, 1983a.
- LEITCH,A.G., COREY,E.J., AUSTEN,K.F., DRAZEN,J.M. Indomethacin potentiates the pulmonary response to aerosol LTC₄ in the guinea pig. *Am.Rev.Respir.Dis.*, v. 128, p. 639-643, 1983b.
- LEITZ,F.H., STEFANO,F.J.E. Effect of ouabain and desimipramine on the uptake and storage of norepinephrine and metaraminol. *Eur.J.Pharmacol.*, v. 11, p. 278-285, 1970.
- LEMBECK,F.,HOLZER,P. Substance P as neurogenic mediator of antidromic vasodilatation and neurogenics plasma extravasion. *Naunyn Schmiederberg's Arch.Pharmacol.*, v. 310, p. 175-183, 1979.
- LEMBECK,F., DONNERER,J., BARTHO,L. Inhibition or neurogenic vasodilatation and plasma extravasion by substance P antagonists, somatostatin, and D-met²,Pro³-enkephalinamide. *Eur.J.Pharmacol.*, v. 85, p. 171-176, 1982.
- LEPPALUOTO,J., RUSKOAHO,H. endothelin peptides : biological activities, cellular signalling and clinical significance. *Ann.Med.*, v. 24, p. 153-161, 1992.
- LEVI,R.,ZAVEC,J.H. Acceleration of idioventricular rhythmus by histamine in guinea pig hearts. *Circ.Res.*, v. 44, p. 847-855, 1979.
- LEVINE,S. Nervous system interactions in the immune system. In : VITKOVIC,L., OSLOW

- , S.H. (Eds.). Neuro immunology & mental health : a report on neuroimmunology research. Maryland : DHHS Publication No.(NIH) 94-3774, 1994. p. 1-16.
- LEVI-SCHAFFER,F., SHALIT,M. Differential release of histamine and prostaglandin D₂ in rat peritoneal mast cells activated with peptides. *Int.Arch.Allergy Appl.Immunol.*, v. 90, p. 352-357, 1989.
- LEVITT,B., ROBERTS,J. Effect of quinidine and pronethalol on acetylcholinesterase-induced ventricular arrhythmia in cats treated with reserpine. *Circ.Res.*, v. 19, p. 622-631, 1966.
- LEVITT,B., RAINES,A., SOHN,Y.J., STANDAERT,F.G., HIRSHFELD,J.W. The nervous system as a site of action for digitalis and antiarrhythmic drugs. *J.Mt.Sinai Hosp.*, v. 37,p. 227-240, 1970.
- LEVY,J.V., RICHARDS,V. Inotropic effects of ouabain on rabbit left atria in presence of beta-adrenergic blocking drugs. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.*, v. 119, p. 278-281, 1965a.
- _____. The influence of reserpine pretreatment on the contractile and metabolic effects produced by ouabain on isolated rabbit left atria. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, v. 147, p. 205-211, 1965b.
- LEVY,S.V. Contractile responses to prostacyclin (PGI₂) of isolated human saphenous and rat venous tissue. *Prostaglandins*, v. 16, p. 93-97, 1978.
- LEVY,W.B., STEWARD,O. Synapses as associative memory elements in the hippocampal formation. *Brain Res.*, v. 175, p. 233-245, 1979.
- LEWIS,D., TEYLER,T.J. Long-term potentiation in the goldfish optic tectum. *Brain Res.*, v. 375, p. 246-250, 1986a.
- _____. Anti-S-100 serum blocks long-term potentiation in the hippocampal slice. *Brain Res.*, v. 383, p. 159-164, 1986b.
- LEWIS,G.P., WESTWICK,J., WILLIAMS,T.J. Microvascular responses produced by the prostaglandin endoperoxide PGG₂ *in vivo*. *Br.J.Pharmacol.*, v. 59, p. 442P, 1977.
- LEWIS,R.A., DRAZEN,J.M., AUSTEN,K.F., CLARK,D.A., COREY,E.J. Identification of the C(6)-S-conjugate of leukotriene A with cysteine as a naturally occurring slow reacting substance of anaphylaxis (SRS-A) : importance of the 11-cis-geometry for biological activity. *Biochem,Biophys.Res.Commun.*, v. 96, p. 271-277, 1980.

- LEWIS,R.A., SOTER,N.A., DIAMOND,P.T., AUSTEN,K.F., OATES,J.A., ROBERTS II,L.J. Prostaglandin D₂ generation after activation of rat and human mast cells with anti-IgE. *J.Immunol.*, v. 129, p. 1627-1631, 1982.
- LEWIS,R.A., AUSTEN,K.F., SOBERMAN,R.J. Leukotrienes and other products of the 5 lipoxygenase pathway. *N.Engl.J.Med.*, v. 323, p. 645-655, 1990.
- LEWIS,T. The blood vessels of the human skin and their responses. London: Shaw, 1927 p. 67.
- LEWIS,T., GRANT,R.T. Vascular reactions of the skin to injury. Part III : The liberation of a histamine-like substance in injured skin; the underlying cause of factitious urticaria and the wheals produced by burning; and the observations upon the nervous control of certais skin reactions. *Heart*, v. 11, p. 209-265, 1924.
- LIBBY,P., ORDOVAS,J.M., AUGER,K.R., ROBBINS,A.H., BIRINYI,L.K., DINARELLO, C.A. Endotoxin and tumor necrosis factor induce interleucin-1 gene expression in adult human vascular endothelial cells. *Am.J.Pathol.*, v. 124, p. 179-185, 1986.
- LIBET,B. Generation of slow inhibitory and excitatory postsynaptic potentials. *Fed.Proc.*, v. 29, p. 1945-1956, 1970.
- LIBET,B., KOBAYSHI,H. Adrenergic mediation of slow inhibitory postsynaptic potential in sympathetic ganglia of the frog. *J.Neurophysiol.*, v. 37, p. 805-814, 1974.
- LIBET,B., MOCHIDA,S. Long-term enhancement (LTE) of postsynaptic potentials following neural conditioning in mammalian sympathetic ganglia. *Brain Res.*, v. 473, p. 271-282, 1988.
- LIBET,B.,OWMAN,Ch. Concomitant changes in formaldehyde-induced fluorecence of dopamine interneurons and in slow inhibitory postsynaptic potentials of the rabbit superior cervical ganglion induced by stimulation of the preganglionic nerve or by a muscarinic agent. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 237, p. 635-662, 1974.
- LIBET,B., TOSAKA,T. Slow inhibitory and excitatory postsynaptic responses in single cells of mammalian sympathetic ganglia. *J.Neurophysiol.*, v. 32, p. 43-50, 1969.
- _____. Dopamine as a synaptic transmitter and modulator in sympathetic ganglia : a different mode of synaptic action. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, v.67, p. 667-673, 1970.

- LIBET,B., CHICHIBU,S., TOSAKA,T. Slow synaptic responses and excitability in sympathetic ganglia of the bullfrog. *J.Neurophysiol.*, p. 31:383-395. 1968.
- LIBET,B., KOBAYASHI,H., TANAKA,T. Synaptic coupling into the production and storage of neuronal memory trace. *Nature*, v. 258, p. 155-157, 1975.
- LIBET,B., TANAKA,T., TOSAKA,T. Different sensitivities of acetylcholine-induced "after-hyperpolarization" compared to dopamine-induced hyperpolarization to ouabain or to lithium replacement of sodium, in rabbit sympathetic ganglia. *Life Sci.*, v. 20, p.1863-1870, 1977.
- LICHTENSTEIN,L.M. Histamine-releasing factors and IgE heterogeneity. *J.Allergy Clin. Immunol.*, v. 81, p. 814-820, 1988.
- LILEY,A.W. An investigation of spontaneous activity at the neuromuscular junction of the rat. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 132, p. 650-666, 1956a.
- _____. The effects of presynaptic polarization on the spontaneous activity of the mammalian neuromuscular junction. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 134, p. 427-443, 1956b.
- LIM,R.K.S., WANG,S.C., YI,C.L. On the question of a myelencephalic sympathetic centre. VII. The depressor area : A sympatho-inhibitory center. *Clin.J.Physiol.*, v. 13, p. 61-78, 1938.
- LIN,H.Y., KAGI,E.H., WINKEL,G.K., IVES,H.E., LODISH,H.F. Cloning and functional expression of a vascular smooth muscle endothelin-1 receptor. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, v. 88, p. 3185-3189, 1991.
- LINDEL,T. Effects of histamine agonists and antagonists (H₁ and H₂) on ganglionic transmission and on the accumulation of cyclic nucleotides (cAMP and cGMP) in rat superior cervical ganglion. *Neuropharmacology*, v. 22, p. 203-211, 1983.
- LINDEL,T., BEHRENDT,H., HEINL-SAWAJA,M.C.B., TEUFEL,E., CRAMER, H. Effects of compound 48/80 on mast cells, histamine, and cyclic AMP in isolated superior cervical ganglia. *Naunyn Schmiedeb.Arch.Pharmacol.*, v. 286, p. 283-296, 1974.
- LINDEN,D.J., SHEU,F-S., MURAKAMI,K., ROUNTENBERG,A. Enhancement of long-term potentiation by cys-unsaturated fatty acid : relation to protein kinase C and phospholipase A₂. *J.Neurosci.*, v. 7, p. 3783-3792, 1987.

- LINDENMAYER,G.E. Mechanism of action of digitalis glycosides at the subcellular level. *Pharmacol. Ther.*, v. 2, p. 843-861, 1976.
- LIU,M.C., HUBBARD,W.C., PROUD,D., STEALEY,B., GALLI,S., KAGEY-SOBOTKA, A., BLEECKER,E.R., LICHTENSTEIN,L.M. Late inflammation following antigen challenge of the airways in allergic asthmatics. *J.Allergy Clin.Immunol.*, v. 85, p. 263, 1990.
- LIVINGSTON,R.B. Visceral control mechanism. In :WEST,J.B. (Ed.). *Best & Taylor's - Physiological basis of medical practica*.12 ed. Baltimore : Williams & Wilkins, 1991. p.1053-1067.
- LIVINGSTONE,D., LIVINGSTONE,C.(1865) apud BLAUSTEIN,M.P. Physiological effects of endogenous ouabain : control of intracellular Ca^{2+} stores and cell responsiveness. *Am.J.Physiol.*, v.264, p. C1367-C1387.
- LLOYD,D.P.C. Post-tetanic potentiation of response in monosynaptic reflex pathways of the spinal cord. *J.Gen.Physiol.*, v. 33, p. 147-170, 1949.
- LNEMICKA,G.A., ATWOOD,H.L. Long-term facilitation and long-term adaptation at synapses of a crayfish phasic motoneuron. *J.Neurobiol.*, v. 16, p. 97-110, 1985.
- LOEWI,A.D, SPYER,K.M. Central Regulation of Autonomic Functions. Oxford : Oxford University, 1990.
- LOEWI,O.(1921) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum,1986. p. 3-26.
- LOEWI,O., NAVRATIL,E.(1926) apud GOLDSTEIN,D.S., KOPIN,I.J. The autonomic nervous system and catecholamines in normal blood pressure control and hypertension. In : LARAGH,J.H., BRENNER,B.M. (Eds.). Hypertension :pathophysiology, diagnosis and management. New York : Raven Press, 1990. p. 711-747.
- LOMO,T. Frequency potentiation of excitatory synaptic activity in the dentate area of the hippocampal formation. *Acta Physiol.Scand.*, v. 68, Suppl. 277, p. 128, 1966.
- _____. Patterns of activation in a monosynaptic cortical pathway : the perforant path input to the dentate area of the hippocampal formation. *Exp.Brain Res.*, v. 12, p. 18-45, 1971.

- LOUIS,R.E.,RADERMECKER,M.F. Substance P-induced histamine release from human basophils, skin and lung fragments : effects of nedocromil sodium and teophylline. *Int. Arch. Allergy Appl.Immunol.*, v. 92, p. 329-333, 1990.
- _____. Cutaneous and basophilic sensitivity to substance P and gastrin in non-atopic versus atopic subjects. *Allergy*, v. 46, p. 30-34, 1991.
- LOUIS,W.J., TOBEL,R., SJOERDSMA,A., SPECTOR,S. Noradrenaline in the heart of the spontaneously hypertensive rat. *Lancet*, v. 1, p. 1013-1015, 1968.
- LOUIS,W.J., KRAUSS,K.R., KOPIN,I.J., SJOERDSMA,A. Catecholamine metabolism in hypertensive rats. *Circ.Res.*, v. 27, p. 589-594, 1970.
- LOVINGER,D.M., COLLEY,P.A., AKERS,R.F., NELSON,R.B., ROUTTENBERG,A. Direct relation of long-term potentiation to phosphorylation of membrane protein F₁, a substrate for membrane protein kinase C. *Brain Res.*, v. 399, p. 205-211, 1986.
- LOVINGER,D.M., WONG,K.L., MURAKAMI,K., ROUTTENBERG,A. Protein kinase C inhibitors eliminate hippocampal long-term potentiation. *Brain Res.*, v. 436, p. 177-183, 1987.
- LOVINGER,D.M., ROUTTENBERG,A. Synapse-specific protein kinase C activation enhances maintenance of long-term potentiation in rat hippocampus. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 400, p. 321-333, 1988.
- LOY,R., KOZIELL,D.A., LINDSEY,J.D., MOORE,R.Y. Noradrenergic innervation of the adult rat hippocampal formation. *J.Comp.Neurol.*, v. 189, p. 699-710, 1980.
- LUDENS,J.H., CLARK,M.A., ROBINSON,F.G., DuCHARME,D.W. Rat adrenal cortex is a source of circulating ouabain-like compound. *Hypertension*, v. 19, p. 721-724, 1992.
- LUDWIG (1866) apud BROOKS, McC.C., SELLER,H. Early and late contributions to our knowledge of autonomic nervous system and its control made by German scientists. *J. Auton. Nerv.System*, v. 3, p. 105-119, 1981.
- LUM-RAGAN,J.T., GRIBKOFF,V.K. The sensitivity of hippocampal long-term potentiation to nitric oxide synthase inhibitors is dependent upon the pattern of conditioning stimulation. *Neuroscience*, v. 57, p. 973-983, 1993.
- LUNDBLAD,L., LUNDBERG,J.M., ANGGARD,A., ZETTERSTROM,O. Capsaicin

-sensitive nerves and the cutaneous allergy reaction in man. Possible involvement of sensory neuropeptides in the flare reaction. *Allergy*, v. 42, p. 20-31, 1987.

LUNDIN,S., THOREN,P. Renal function and sympathetic activity during mental stress in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Acta Physiol.Scand.*, v. 115, p. 115-124, 1982.

LUTOLD,B.E., KAROUM,F., NEFF,N.H. Deficient dopamine metabolism in the celiac ganglion of spontaneously hypertensive rats. *Circ.Res.*, v. 44, p. 467-471, 1979.

LYNCH,M.A. Biochemical correlates of long-term potentiation. In :CHAN-PALAY,V., KÖHLER,C. (Eds.). The Hippocampus, new vistas. New York : Alan R. Liss, 1989. p. 363-378.

LYNCH,G.S., BAUDRY,M. The biochemistry of memory : A new and specific hypothesis. *Science*, v. 224, p. 1057-1063, 1984.

LYNCH,G.S., DUNWIDDIE,T., GRIBKOFF,V. Heterosynaptic depression : A postsynaptic correlate of long-term potentiation. *Nature*, v. 226, p. 736-737, 1977.

LYNCH,G.S., LARSON,J., KELSO,S., BARRIONUEVO,G., SCHOTTLER,F. Intracellular injections of EGTA block induction of hippocampal long-term potentiation. *Nature*, v. 305, p. 719-721, 1983.

LYNCH,M.A., CLEMENTS,M.P., ERRINGTON,M.L., BLISS,T.V.P. Increase in intrasynaptosomal calcium in hippocampal long-term potentiation. *Neurosci.Lett.*, v. 29, Suppl., p. S98, 1987.

LYNCH,M.A., CLEMENTS,M.P., VOSS,K.L., BRAMHAM,C.R., BLISS,T.V. P. Is arachidonic acid a retrograde messenger in long-term potentiation ? *Biochem.Soc. Trans.*, v. 19, p. 391-396 1991.

LYNCH,M.A., ERRINGTON.M.L., BLISS,T.V.P. Long-term potentiation and the sustained increase in glutamate release which follows tetanic stimulation of the perforant path are both blocked by D(-)-aminophosphonovaleric acid. *Soc.Neurosci.Abstr.*, v. 11, p. 245.2, 1985.

_____. Nordihydroguaiaretic acid blocks the synaptic component of long-term potentiation and the associated increases in release of glutamate and arachidonate : an *in vivo* study in

- the dentate gyrus of the rat. *Neuroscience*, v. 30, p. 693-701, 1989.
- MacCUMBER,M., ROSS,C., GLASER,B., SNYDER,S. Endothelin : visualization of mRNAs by *in situ* hybridization provides evidence for local action. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, v. 86, p. 7285-7289, 1989.
- MacDERMOTT,A.B., MAYER,M.L., WESTBROOK,G.L., SMITH,S.J., BARKER,J.L. NMDA- receptor activation increases cytoplasmic calcium concentration in cultured spinal cord neurones. *Nature*, v. 321, p. 519-522, 1986.
- MacINTOSH,F.C. Liberation of acetylcholine by the perfused superior cervical ganglion. *J. Physiol.(Lond.)*, v. 94, p. 155-169, 1938.
- MacQUEEN,G., MARSHALL,J., PERDUE,M., SIEGEL,S., BIENENSTOCK,J. Pavlovian conditioning of rat mucosal mast cells to secrete rat mast cell protease II. *Science*, v. 243, p 83-85, 1989.
- MacQUIN-MAVIER,I., LEVAME,M., ISTIN,N., HARF,A. Mechanisms of endothelin-mediated bronchoconstriction in the guinea pig. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, v. 205, p. 740-745, 1989.
- MADISON,D.V., NICOLL,R.A. Actions of noradrenaline recorded intracellularly in rat hippocampal CA1 pyramidal neurones, *in vitro*. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 372, p. 221-244, 1986.
- MAGEE,J.C., SCHOFIELD,G.G. Neurotransmission through sympathetic ganglia of spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*, v. 20, p. 367-373, 1992.
- _____. Alterations of synaptic transmission in sympathetic ganglia of spontaneously hypertensive rats. *Am.J.Physiol.*, v. 267, p. R1397-R1407, 1994.
- _____. Acetylcholine-induced currents in acutely dissociated sympathetic neurons from adult hypertensive and normotensive rats have similar properties. *Pflügers Arch.Eur. J.Physiol.*, v. 429, p. 772-780, 1995.
- MAGGI,C.A., PATACCHINI,R., GIULIANI,S., MELI,A. The activity of peptides of the endothelin family in various mammalian smooth muscle preparations. *Eur.J.Pharmacol.*, v. 160, p. 179-182, 1989.
- MAGLEBY,K.L., ZENGEL,J.E. A dual effect of repetitive stimulation on post-tetanic

potentiation of transmitter release at the frog neuromuscular junction. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 245, p. 163-182, 1975a.

_____. A quantitative description of tetanic and post-tetanic potentiation of transmitter release at the frog neuromuscular junction. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 245, p. 183-208, 1975b.

_____. Augmentation : a process that acts to increase transmitter release at the frog neuromuscular junction. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 257, p. 449-470, 1976a.

_____. Long-term changes in augmentation, potentiation, and depression of transmitter release as a function of repeated synaptic activity at the frog neuromuscular junction. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 257, p. 471-494, 1976b.

_____. A quantitative description of stimulation-induced changes in transmitter release at the frog neuromuscular junction. *J.Gen.Physiol.*, v. 80, p. 613-638, 1982.

MAHONEY,J.R.Jr., BEUTLER,B.A., Le TRANG,N., VINE,W., IKEDA,Y., KAWAKAMI, M., CERAMI,A. Lipopolysaccharide-treated RAW 264.7 cells produce a mediator that inhibits lipoprotein lipase in 3T3-L1 cells. *J.Immunol.*, v. 134, p. 1673-1675, 1985.

MAJNO,G., PALADE,G.E. Studies on inflammation. 1. The effect of histamine and serotonin on vascular permeability : An electron microscopic study. *J.Biophys.Biochem.Cytol.*, v. 11, p. 571-606, 1961.

MALENKA,R.C., AYOUB,G.S., NICOLL,R.A. Phorbol esters enhance transmitter release in rat hippocampal slices. *Brain Res.*, v. 403, p. 198-203, 1987.

MALENKA,R.C., MADISON,D.V., NICOLL,R.A. Potentiation of synaptic transmission in the hippocampus by phorbol esters. *Nature*, v. 321, p. 175-177, 1986.

MALENKA,R.C., KAUER,J.A., ZUCKER,R.S., NICOLL,R.A. Postsynaptic calcium is sufficient for potentiation of hippocampal transmission. *Science*, v. 242, p. 81-84, 1988.

MALGAROLI,A. LTP expression : hanging like a yo-yo ? *Semin.Cell Biol.*, v. 5, p. 231-241, 1994.

MALIK,S.T. Tumour necrosis factor : roles in cancer pathophysiology. *Semin.Cancer Biol.*, v. 3, p. 27-33, 1992.

MALINOW,R., MILLER,J.P. Postsynaptic hyperpolarization during conditioning reversibly blocks induction of long-term potentiation. *Nature*, v. 320, p. 529-530, 1986.

- MALINOW,R., SCHULMAN,H., TSIEN,R.W. Inhibition of postsynaptic PKC or CaMKII blocks induction but not expression of LTP. *Science*, v. 245, p. 862-866, 1989.
- _____. Postsynaptic inhibition of PKC and CaMK block induction but not expression of long-term potentiation. In : SQUIRE,L.R., LINDENLAUB,F.K. (Eds.). The biology of memory. Stuttgart : Spring Verlag, 1990. p. 255-261.
- MALINOW,R., MADISON,D.V., TSIEN,R.W. Persistent protein kinase activity underlying long-term potentiation. *Nature*, v. 335, p. 820-824, 1988.
- MALLART,A., MARTIN,A.R. An analysis of facilitation of transmitter release at the neuromuscular junction of the frog. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 193, p. 679-694, 1967.
- MALMEJAC,J. Activity of the adrenal medulla and its regulation. *Physiol.Rev.*, v. 44, p.186-218, 1964.
- MALMSTEN,C.L., PALMBLAD,J., UDÉN,M.M., RADMARK,O., ENGSTEDT, L., SAMUELSSON,B. Leukotriene B4 : a highly potent and stereospecific factor stimulating migration of polymorphonuclear leukocytes. *Acta Physiol.Scand.*, v. 110, p. 449-451, 1980.
- MANNAIONI,P.F., MORONI,F., FANTOZZI,R., MASINI,E. Studies on the ¹⁴C-histamine release induced by noradrenaline in mouse neoplastic mast cells. *Agents Actions*, v. 5, p. 17-423, 1975.
- MANUNTA,P., HAMILTON,B.P., ROGOWSKI,A.C., PRUCE,E., HAMLYN, J.M. Ouabain hypertensive rats (OHR) : a new model of chronic hypertension. *J.Hypertens.*, v. 10, Suppl. 4, ; Abstr. P67, p. S79, 1992a.
- MANUNTA,P., EVANS,G., HAMILTON,B.P., GANN,D., RESAU,J., HAMLYN, J.M. A new syndrome with elevated plasma ouabain and hypertension secondary to an adrenocortical tumour. *J.Hypertens.*, v. 10, Suppl. 4, Abstr. P36, p. S27, 1992b.
- MANUNTA,P., ASHEN,M.D., ROGOWSKI,A.C., PINNAPARPAGLIA,P., HAMILTON, B.P., HAMLYN,J.M. Tissue distribution of ouabain in ouabain-hypertensive rats. *J. Hypertens.*, v. 10, Suppl. 4, Abstr. P99, p. S128, 1992c.
- MANUNTA,P., ROGOWSKI,A.C., HAMILTON,B.P., HAMLYN,J.M. Ouabain-induced hypertension in the rat : relationships among plasma and tissue ouabain and blood pressure. *J.Hypertens.*, v. 12, p. 549-560, 1994.

- MAREY,E.J.(1863) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum, 1986. p. 3-26.
- MAREY,E.J.(1881) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum, 1986. p. 3-26.
- MARGO,A.M. Involvement of IgE in con-A induced histamine release from human basophils *in vitro.* *Nature*, v. 249, p. 572-574, 1974.
- MAROM,Z., SHELHAMER,J.H., BACH,M.K., MORTON,D.R., KALINER,M. Slow-reacting substances, leukotrienes C₄ and D₄, increase the release of mucus from human airways *in vitro.* *Am.Rev.Respir.Dis.*, v. 126, p. 449-451, 1982.
- MARRAZZI,A.S., LORENTE de NÓ Interaction of neighbouring fibres in myelinated nerve. *J.Neurophysiol.*, v. 7, p. 83-100, 1944.
- MARSDEN,P.A., DANTHULURI,N.R., BRENNER,B.M., BALLERMANN,B.J., BROCK, T.A. Endothelin action on vascular smooth muscle involves inositol triphosphate and calcium mobilization. *Biochem.Biophys.Res.Comm.*, v. 158, p. 86-93, 1989.
- MARSHALL,J.S., BIENENSTOCK,J., PERDUE,M.H., STANISZ,A.M., STEAD, R.H., ERNEST,P.B. Novel cellular interactions and networks involving the intestinal immune system and its microenvironment. *APMIS*, v. 97, p. 383-394, 1989.
- MARSHALL,L.M. Synaptic localization of α bungarotoxin binding which blocks nicotinic transmission of frog sympathetic neurones. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA.*, v. 78, p.1948-1952, 1981.
- MARTIN,T., LOSA,J.E., GARCIA-SALGADO,M.J., PEREZ-ARELLANO,J.L. The role of platelet-activating factor (PAF) in interstitial pulmonary disease. *Adv.Pharmacol.*, v. 32, p. 31-66, 1994.
- MASAKI,T., YANAGISAWA,M., GOTO,K. Physiology and Pharmacology of Endothelins. *Med.Res.Rev.*, v. 12, p. 391-421, 1992.
- MASON,D.T., BRAUNWALD,E. Studies on digitalis. X. Effects of ouabain on forearm vascular resistance and venous tone in normal subjects and in patients in heart failure. *J.*

- Clin. Invest.*, v.43, p. 532-543, 1964.
- MASSION,P.B., FRANS,A. Le role du PAF et ses antagonistes dans l'asthme bronchique. *Rev.Pneumol.Clin.*, v. 48, p. 49-57, 1992.
- MATEUCCI,C.(1840) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum, 1986. p. 3-26.
- MATHISON,R., DAVISON,J.S., BEFUS,A.D. Neuroendocrine regulation of inflammation and tissue repair by submandibular gland factors. *Immunol. Today*, v. 15, p. 527-532, 1994.
- MATSUMOTO,M. Morphological studies on the autonomic nervous system of hypertensive rats. I. Histometrical study on the superior cervical sympathetic ganglion of spontaneously hypertensive rats. *Jpn.Circ.J.*, v. 30, p. 743-753, 1966.
- MATTHEWS,B., ROBISON,P. The course of post-ganglionic sympathetic fibres distributed with the trigeminal nerve in the cat. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 303, p. 391-401, 1980.
- MATTHEWS,M.R. Evidence from degeneration experiment for the preganglionic origin of afferent fibres to the small granule-containing cell of the rat superior cervical ganglion. *J. Physiol.(Lond.)*, v. 218, p. 95P-96P, 1971.
- MATTHEWS,M.R., RAISMAN,G. The ultrastructure and somatic efferent synapses of small granule-containing cells in the superior cervical ganglion. *J.Anat.*, v. 105, p. 255-282, 1969.
- MATTHIES,H. In search of cellular mechanisms of memory. *Prog.Neurobiol.*, v. 32, p. 277-349, 1989.
- MAYER,M.L., WESTBROOK,G.L. The action of N-methyl-D-aspartic acid on mouse spinal neurones in culture. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 361, p. 65-90, 1985.
- McAFEE,D.A. Superior cervical ganglion : Physiological considerations. In : HANIN,I., GOLDBERG,A.M. (Eds.). Progress in cholinergic biology. New York : Raven Press, 1982. p. 191-211.
- McAFEE,D.A., GREENGARD,P. Adenosine 3'-5'-monophosphate : electrophysiological evidence for a role in sympathetic transmission. *Science*, v. 178, p. 310-312, 1972.
- McAFEE,D.A., HENON,B.K., WHITING,K., HORN,J.P., YAROWSKY.P.J., TURNER, D.K. The action of cAMP and catecholamines in mammalian sympathetic ganglia. *Fed.*

- Proc.*, v. 39, p. 2997-3002, 1980.
- McAFEE,D.A., SCHORDERET,M., GREENGARD,P. Adenosine 3',5'- monophosphate in nervous tissues : Increase associated with synaptic transmission. *Science*, v. 171, p. 1156-1158, 1971.
- McCAMAN,R.E., BRIGGS,C.A., McAFEE,D.A. Presynaptic long-term potentiation of nicotinic transmission in the rat superior cervical ganglion *Soc.Neurosci.Abst.*, v. 10, p. 195, 1984.
- McCANN,S.M. Immune interactions in the nervous system. In : VITKOVIC,L., KOSLOW, S.H. (Eds.). Neuro immunology & mental health : a report on neuroimmunology research. Maryland : DHHS Publication No.(NIH) 94-3774, 1994. p. 25-33.
- McCARTY,R., CHIUEH,C.C., KOPIN,I.J. Spontaneously hypertensive rats : adrenergic hyperresponsivity to anticipation of electric shock. *Behav.Biol.*, v. 23, p. 180-188, 1978.
- McINTYRE,T.M., ZIMMERMAN,G.A., SATOH,K., PRESCOTT,S.M. Cultured endothelial cells synthesize both platelet activating factor and prostacyclin in response to histamine, bradykinin and adenosine-triphosphate. *J.Clin.Invest.*, v. 76, p. 271-280, 1985.
- McKAY,K.O., BLACK,J.L., ARMOUR,C.L. The mechanism of action of endothelin in human lung. *Br.J.Pharmacol.*, v. 102, p. 422-428, 1991.
- McLAIN,P.L. Effects of cardiac glycosides on spontaneous efferent activity in vagus and sympathetic nerves of cats. *Int.J.Neuropharmacol.*, v. 8, p. 379-387, 1969.
- _____. Effects of ouabain on spontaneous afferent activity in the aortic and carotid sinus nerves of cat. *Neuropharmacol.*, v. 9, p. 399-402, 1970.
- McMANUS,L.M., HANAHAN,D.J., DEMOPOULOS,C.A., PINCKARD,R.N. Pathobiology of the intravenous infusion of acetyl glyceryl ether phosphorylcholine (AGEPC), a synthetic platelet-activating factor (PAF) in the rabbit. *J.Immunol.*, v. 124, p. 2919-2924, 1980.
- McNAUGHTON,B.L., DOUGLAS,R.M., GODDARD,G.V. Synaptic enhancement in fascia dentata : cooperativity among coactive afferents. *Brain Res.*, v. 157, p. 277-293, 1978.
- McNAUGHTON,N., MILLER,J.J. Medial septal projections to the dentate gyrus of the rat : Electrophysiological analysis of distributions and plasticity. *Exp.Brain Res.*, v. 56, p. 243-256, 1984.

- MECKEL,J.F.(1751) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum, 1986. p. 3-26.
- MEISSNER,G.(1857) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum, 1986. p. 3-26.
- MELCHERS,B.P.C., PENNARTZ,C.M.A., LOPES DA SILVA,F.H. Differential effects of elevated extracellular calcium concentrations on field potentials in dentate gyrus and CA₁ of the rat hippocampal slice preparation. *Neurosci.Lett.*, v. 77, p. 37-42, 1987.
- MELLANDER,S., JOHANSSON,B. Control of resistance, exchange and capacitance functions in the peripheral circulation. *Pharmacol.Rev.*, v. 20, p. 117-196, 1968.
- MÉNDEZ,C., ACEVES,J., MÉNDEZ,R. Inhibition of adrenergic cardiac acceleration by cardiac glycosides. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, v. 131, p. 191-198, 1961a.
- MÉNDEZ,C., ACEVES,J., MÉNDEZ,R.(1961b) apud GILLIS,R.A. Cardiac sympathetic nerve activity : changes induced by ouabain and propranolol. *Science*, v. 166, p. 508-510, 1969.
- METCALFE,D.D. Effector cell heterogeneity in immediate hypersensitivity reactions. *Clin.Rev.Allergy*, v. 1, p. 311-325, 1983.
- METCALFE,D.D., KALINER,M., DONLON,M.A. The Mast Cell. *CRC Critical Rev. Immunol.*, v. 3, p. 23-74, 1981.
- METHERATE,R., TREMBLAY,N., DYKES,R.W. Acetylcholine permits long-term enhancement of neuronal responsiveness in cat primary somatosensory cortex. *Neurosci.*, v. 22, p. 75-81, 1987.
- METZGER,H., ALCARAZ,G., HOHMAN,R.J., KINET,J.P., PRIBLUDA,V., QUARTO,R. The receptor with high affinity for immunoglobulin E. *Ann.Rev.Immunol.*, v. 4, p. 419-470, 1986.
- MILLER,H.R.P. The structure,origin and function of mucosal mast cells. A brief review. *Biol.Cellulaire*, v. 39, p. 229-232, 1980.
- MILLER,H.R.P., KING,S.J., GIBSON,S., HUNTLEY,J.F., NEWLANDS,G.F.J.,

- WOODBURY, R.G. Intestinal mucosal mast cells in normal and parasitized rats. In: BEFUS, A.D. et al. (Eds.). Mast cell differentiation and heterogeneity. New York, Raven Press, 1986. p. 239-265.
- MILLER, H.R.P., HUNTLEY, J.F., NEWLANDS, G.F.J., MACKELLAR, A., IRVINE, J., HAIG, D.M., MacDONALD, A., LAMMAS, A.D., WAKELIN, D., WOODBURY, R.G. Mast cell granule proteases in mouse and rat : a guide to mast cell heterogeneity and activation in the gastrointestinal tract. In : GALLI, S.J., AUSTEN, K.F. (Eds.). Mast cell and basophil differentiation and function in health and disease. New York : Raven Press, 1989. p. 81-91.
- MILLER, W.L., REDFIELD, M.M., BURNETT, J.C. Integrated cardiac, renal, and endocrine actions of endothelin. *J.Clin.Invest.*, v. 83, p. 317-320, 1989.
- MILLS, D.C.B., MacFARLANE, D.E. Stimulation of human platelet adenylate cyclase by prostaglandin D₂. *Thromb.Res.*, v. 5, p. 401-412, 1974.
- MINOTA, S., KUMAMOTO, E., KITAKOGA, O., KUBA, K. Long-term potentiation induced by a sustained rise in the intraterminal Ca⁺⁺ in bullfrog sympathetic ganglia. *J.Physiol. (Lond.)*, v. 435, p. 421-438, 1990.
- MIRGORODSKY, V.N., SKOK, V.I. Intracellular potentials recorded from tonically active mammalian sympathetic ganglion. *Brain Res.*, v. 15, p. 570-572, 1969.
- MISLER, S., HURLBUT, W.P. Post-tetanic potentiation of acetylcholine release at the frog neuromuscular junction develops after stimulation in Ca⁺²-free solutions. *Proc.Natl.Acad. Sci. USA*, v. 80, p. 315-319, 1983.
- MITCHELL, M.D., BIBBY, J.G., HICKS, B.R., REDMAN, C.W.G., ANDERSON, A.B.M., TURNBULL, A.C. Thromboxane B₂ and human parturition : Concentrations in the plasma and production in vitro. *J.Endocrinol.*, v. 78, p. 435-441, 1978.
- MITSUMA, T., NAGIMORI, T. Effects of substance P, angiotensin II, oxotremmoline and prostaglandin D₂ on thyrotropin secretion in rats. *Horm.Res.*, v. 19, p. 176-184, 1984.
- MIURA, M., INOUE, H., ICHINOSE, M., KIMURA, K., KATSUMATA, U., TAKISHIMA, T. Effect of noradrenergic non-cholinergic inhibitory nerve stimulation on the allergic reaction in cat airways. *Am.Rev.Respir.Dis.*, v. 141, p. 29-32, 1990.

- MIURA,K., YUKIMURA,T., YAMASHITA,Y., SHIMMEN,T., OKUMURA,M., YAMANAKA, S., IMANISHI,M., YAMAMOTO,K. Renal and femoral vascular responses to endothelin-1 in dogs : role of prostaglandins. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, v. 256, p. 11-17, 1991.
- MIYAUCHI,T., ISHIKAWA,T., TOMOBE,Y., YANAGISAWA,M., KIMURA,S., SUGISHITA,Y., ITO,I., GOTO,K., MASAKI,T. Characteristics of pressor response to endothelin in spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto rats. *Hypertension*, v. 14, p. 427-434, 1989.
- MIZUTANI,A., SAITO,H., ABE,K. Involvement of nitric oxide in long-term potentiation in the dentate gyrus *in vivo*. *Brain Res.*, v. 605, p. 309-311, 1993.
- MODY,I., BAIMBRIGDE,K.G., MILLER,J.J. Blockade of tetanic- and calcium-induced long-term potentiation in the hippocampal slice preparation by neuroleptics. *Neuropharmacology*, v. 23, p. 625-631, 1984.
- MOE,G.K., HAN,J.(1969) apud GILLIS,R.A., HELKE,C.J., KELLAR,K.J., QUEST,J.A. Autonomic nervous system action of cardiac glycosides. *Biochem.Pharmacol.*, v. 27, p. 849-856, 1978.
- MONAGHAN,D.T., COTMAN,C.W. Distribution of N-methyl-D-aspartate-sensitive 1-[³H] glutamate-binding sites in rat brain. *J.Neurosci.*, v. 5, p. 2909-2919, 1985.
- MONCADA,S., GRYGLEWSKI,R., BUNTING,S., VANE,J.R. An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature*, v. 263, p. 663-665, 1976.
- MONCADA,S., VANE,J.R. The discovery of prostacyclin - a fresh insight into arachidonic acid metabolite. In : KHARASCH,N., FRIED,J. (Eds.). Biochemical aspects of prostaglandins and thromboxanes. New York : Academic Press, 1977. p. 155-177.
- _____. Pharmacological and endogenous roles of prostaglandin endoperoxides, thromboxane A₂, and prostacyclin. *Pharmacol.Rev.*, v. 30, p. 293-331, 1979.
- MONCADA,S., HIGGS,E.A., VANE,R. Human arterial and venous tissues generate prostacyclin (prostagalndin X) a potent inhibitor of platelet aggregation. *Lancet*, v. 1, p. 216-218, 1977.

- MONCADA,S., FERREIRA,S.H., VANE,J.R. Biossay of prostaglandins and biologically active substances derived from arachidonic acid. In : FROLICH,J.C. (Ed.). Advances in prostaglandin and thromboxane research. New York : Raven Press, 1978. v. 5, p. 211-236.
- MONRO,A.(1783) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum,1986. p. 3-26.
- MOORE,B.W. A soluble protein characteristic of the nervous system. *Biochem.Biophys. Res. Commun.*, v. 19, p. 739-744, 1965.
- MORAVEC,C.S., REYNOLDS,E.E., STEWART,R.W., BOND,M. Endothelin is a positive inotropic agent in human and rat heart *in vitro*. *Biochem.Biophys.Res.Commun.*, v. 159, p. 14-18, 1989
- MORGANTI-KOSSMANN,M.C., KOSSMANN,T., WAHL,S.M. Cytokines and Neuropathology. *FASEB J.*, v. 5, p. 2391-2397, 1992.
- MORRIS,H.R., TAYLOR,G.W., PIPER,P.J., TIPPINS,J.R. Structure of slow-reacting substance of anaphylaxis from guinea pig lung. *Nature*, v. 285, p. 104-106, 1980.
- MORRIS,R.G.M., ANDERSON,E., LYNCH,G.S., BAUDRY,M. Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature*, v. 319, p. 774-776, 1986.
- MORRISON,D.C., HENSON,P.M. Release of mediators from mast cells and basophils induced by different stimuli. In: BACH,M.K. (Ed.). Immediate hypersensitivity - modern concepts and development. New York : Marcel Decker, 1978. p. 431-502.
- MORRISON,S.F., WHITEHORN,D. Enhanced preganglionic sympathetic nerve responses in spontaneously hypertensive rats. *Brain Res.*, v. 296, p. 152-155, 1984.
- MORROW,D.H., GAFNEY,T.E., BRAUNWALD,E. Studies on digitalis. VIII. Effects of autonomic innervation and myocardial catecholamine stores on the cardiac action of ouabain. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, v. 140, p. 236-242, 1963.
- MOSMANN,T.R., BOND,M.W., COFFMAN,R.L., OHARA,J, PAUL,W.E. T-cell and mast cell lines respond to B-cell stimulatory factor 1. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, v. 83, p. 5654-5658 1986.

- MOTA,I., BERALDO,W.T., JUNQUEIRA,L.C.U. Protamine-like property of Compound 48/80 and stillamidine and their action on mast cells. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.(N.Y.)*, v. 83, p. 455-457, 1953.
- MOTAVKIN,P.A., CHERTOK,V.M., SHULGA,S.D. Effect of acetylcholine on the mast cells of the dura mater. *Biull.Eksp.Biol.Med.*, v. 87, p. 489-491, 1979.
- MOVITT,E.R. Digitalis and other cardiotonic drugs. New York : Oxford Univ. Press, 1949.
- MULKEEN,D., ANWYL,R., ROWAN,M.J. Enhancement of long-term potentiation by the calcium channel agonist Bayer K8644 in CA₁ of the rat hippocampus *in vitro*. *Neurosci. Lett.*, v. 80, p. 351-355, 1987.
- MULLANE,K.M., DUSTING,G.J., SALMON,J.A., MONCADA,S., VANE,J.R. Biotransformation and cardiovascular effects of arachidonic acid in the dog. *Eur.J.Pharmacol.*, v. 54, p. 217-228, 1979.
- MULLER,D., BUCHS,P.A., STOPPINI,L., BODDEKE,H. Long-term potentiation, protein kinase C, and glutamate receptors. *Mol.Neurobiol.*, v. 5, p. 277-288, 1991.
- MULLER,S., WEIHE,E. Interrelation of peptidergic innervation with mast cells and ED₁-positive cells in rat thymus. *Brain Behav.Immunol.*, v. 5, p. 55-72, 1991.
- MURAKAMI,K., ROUTTENBERG,A. Direct activation of purified protein kinase C by unsaturated fatty acids (oleate and arachidonate) in the absence of phospholipids and Ca²⁺. *FEBS Lett.*, v. 192, p. 189-193., 1985
- MURPHY,R.C., HAMMARSTRÖM,S., SAMUELSSON,B. Leukotriene C : a slow-reacting substance from murine mastocytoma cells. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, v. 76, p. 4275-4279, 1979.
- MURRAY,J.G., THOMPSON,J.W. Regeneration by collateral sprouting in the partially denervated superior cervical ganglion of the cat. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 131, p. 32P-33P, 1956.
- _____. The occurrence and functions of collateral sprouting in the sympathetic nervous system of the cat. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 135, p. 133-162, 1957.
- MUSCH,M.W., KACHUR,J.F., MILLER,R.J., FIELD,M., STOFF,J.S. Bradykinin-stimulated electrolyte secretion in rabbit and guinea pig intestine. Involvement of

- arachidonic acid metabolites. *J.Clin.Invest.*, v. 71, p. 1073-1083, 1983.
- MYERS,A.C., UNDEM,B.J., WEINREICH,D. Influence of antigen on membrane properties of guinea pig bronchial ganglion neurons. *J.Appl.Physiol.*, v. 71, p. 970-976, 1991.
- NACLERIO,R.M., PROUD,D., TOGIAS,A.G., ADKINSON,N.F., MEYERS,D.A., KAGEY-SOBOTKA,A., PLAUT,M., NORMAN,P.S., LICHTENSTEIN,L.M. Inflammatory mediators in late antigen-induced rhinitis. *N.Eng.J.Med.*, v. 313, p. 65- 70, 1985.
- NACLERIO,R.M., BARTENFELDER,D., PROUD,D., TOGIAS,A.G., MEYERS,D.A., KAGEY-SOBOTKA,A., NORMAN,P.S., LICHTENSTEIN,L.M. Theophylline reduces histamine release during pollen-induced rhinitis. *J.Allergy Clin.Immunol.*, v. 78, p. 874-876, 1986.
- NACLERIO,R.M., KAGEY-SOBOTKA,A., LICHTENSTEIN,L.M., FREIDHOFF,L., PROUD, D. Terfenadine, an anti-histamine, inhibits histamine release in the human. *Am. Rev.Resp.Dis.*, v. 142, p. 167-171, 1990.
- NADEAU,R.A., JAMES,T.N. Antagonistic effects on the sinus node of acetylcholine and adrenergic stimulation. *Circ.Res.*, v. 13, p. 388-391, 1963.
- NADEAU,R.A., de CHAMPLAIN,J. Comparative effects of 6-hydroxy-dopamine and of reserpine on ouabain toxicity in the rat. *Life Sci.*, v. 13, p. 1753-1761, 1973.
- NAGAO,K., YOKORO,K., AARONSON,S.A. Continuous lines of basophil/mast cells derived from normal mouse bone marrow. *Science*, v. 212, p. 333-335, 1981.
- NAGAOKA,A., LOVENBERG,W. Plasma norepinephrine and dopamine-beta-hydroxylase in genetic hypertensive rats. *Life Sci.*, v. 19, p. 29-34, 1976.
- NAGATSU,I., NAGATSU,T., MIZUTANI,H., UMEZAWA,M., MATSUZAKI,M., TAKEUCHI, T. Adrenal tyrosine hydroxylase and dopamine beta-hydroxylase in spontaneously hypertensive rats. *Nature*, v. 230, p. 381-382, 1971.
- NAKAGAWA,S., MATSUI,N., SHINODA,T., FUKUDOME,Y., OZAWA,K., BABA,M., NAKANISHI,T., TAKEUCHI,J. Evaluation of prostaglandin D₂ (PGD₂) as an anti-coagulative agent for haemodialysis in comparison with prostaglandin E₁ (PGE₁). *Proc.EDTA*, v. 18, p. 117-121, 1981.
- NAKAMURA,K., GEROLD,K., THOENEN,H. Genetically hypertensive rats : relationship

- between the development of hypertension and changes in norepinephrine turnover of peripheral and central adrenergic neurons. *Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmacol.*, v. 271, p. 157-169, 1971.
- NAKAMUTA,M., TAKAYANAGI,R., SAKAI,Y., SAKAMOTO,S., HAGIWARA,H., MIZUNO,T., SAITO,T., HIROSE,S., YAMAMOTO,M., NAWATA,H. Cloning and sequence analysis of cDNA encoding human non-selective type of endothelin receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v. 177, p. 34-39, 1991.
- NAMIKI,A., HIRATA,Y., ISHIKAWA,M., MOORI,M., AIKAWA,J., MACHII, K. Endothelin-1 and endothelin-3-induced vasorelaxation via common generation of endothelium-derived nitric oxide. *Life Sci.*, v. 50, p. 677-682, 1992.
- NARUMIYA,S., TODA,N. Different responsiveness of prostaglandin D₂-sensitive systems to prostaglandin D₂ and its analogue. *Br.J.Pharmacol.*, v. 85, p. 367-375, 1985.
- NAWROTH,P.P., BANK,I., HANDLEY,D., CASSIMERIS,J., CHESS,L., STERN,D. Tumor necrosis factor/cachectin interacts with endothelial cell receptors to induce release of interleukin 1. *J.Exp.Med.*, v. 163, p. 1363-1375, 1986.
- NAYLER,W.G. Endothelin : isoforms, binding sites and possible implications in pathology. *Trends Pharmacol.Sci.*, v. 11, p. 96-99, 1990.
- NEEDLEMAN,P., MONCADA,S., BUNTING,S., VANE,J.R., HAMBERG,M., SAMUELSSON,B. Identification of an enzyme in platelet microsomes which generates thromboxane A₂ from prostaglandin endoperoxides. *Nature*, v. 261, p. 558-560, 1976.
- NEEDLEMAN,P., BRONSON,S.D., WYCHE,A., SIVAKOFF,M., NICOLAOU, K.C. Cardiac and renal prostaglandin I₂. *J.Clin.Invest.*, v. 61, p. 839-849, 1978.
- NEILD,T.O. Slowly-developing depolarization of neurones in the guinea pig inferior mesenteric ganglion following repetitive stimulation of the preganglionic nerves. *Brain Res.*, v. 140, p. 231-239, 1978.
- NEMETH,P.R., ORT,C.A., WOOD,J.D. Intracellular study of histamine on electrical behaviour of myenteric neurones in guinea pig small intestine. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 355, p. 411-425, 1984.
- NEUMAN,R.S., HARLEY,C.W. Long-lasting potentiation of the dentate gyrus population

- spike by norepinephrine. *Brain Res.*, v. 273, p. 162-165, 1983.
- NEUMANN, J. (1890) apud OLSSON, Y. Mast cells in the nervous system. *Int. Rev. Cytol.*, v. 24, p. 27-70, 1968.
- NEWBALL, H.H., KEISER, H.R., WEBSTER, M.E., PISANO, J.J. Effects of bradykinin on human airways. In: PISANO, J.J., AUSTEN, K.F. (Eds.). Chemistry and biology of the kallikrein-kinin system in health and disease. Washington, D.C., 1976. p. 505-511.
- NEWSON, B., DAHLSTROM, A., ENERBÄCK, L., AHLMAN, H. Suggestive evidence for a direct innervation of mucosal mast cells. *Neuroscience*, v. 10, p. 565-570, 1983.
- NICOLL, R.A., KAUER, J.A., MALENKA, R.C. The current excitement in long-term potentiation. *Neuron*, v. 1, p. 97-103, 1988.
- NICOSIA, S., GALLI, G. A mass fragmentographic method for the quantitative evaluation of brain prostaglandin biosynthesis. *Prostaglandins*, v. 9, p. 397-403, 1975.
- NIELSEN, K.C., OWMAN, C.H., SANTINI, M. Anastomosing adrenergic nerves from the sympathetic trunk to the vagus at the cervical level in the cat. *Brain Res.*, v. 12, p. 1-9, 1969.
- NIRASAWA, Y., TEMMA, K., FINK, G.D., AKERA, T. Inability of Na,K-ATPase inhibitor to cause hypertension in sodium-loaded or deoxycorticosterone-treated one kidney rats. *Life Sci.*, v. 37, p. 767-774, 1985.
- NISHI, S. Cholinergic and adrenergic receptors at sympathetic preganglionic nerve terminals. *Fed. Proc.*, v. 29, p. 1956-1957, 1970.
- _____. Ganglionic Transmission. In: HUBBARD, J.I. (Ed.). The peripheral nervous system. New York: Plenum Press, 1974. p. 225-255.
- NISHI, S., KOKETSU, K. Early and late after-discharges of amphibian sympathetic ganglion cells. *J. Neurophysiol.*, v. 31, p. 109-121, 1968a.
- _____. Analysis of slow inhibitory postsynaptic potential of bullfrog sympathetic ganglion. *J. Neurophysiol.*, v. 31, p. 717-728, 1968b.
- NISHI, S., KARCZMAR, A.G., DUN, N.J. Physiology and Pharmacology of the ganglionic synapses as model for central transmission. In: SIMON, P. (Ed.). Advances in pharmacology and therapeutics. Neurotransmitters. Oxford: Pergamon Press, 1978. v. 2, p.

69-85.

- NISHI,S., KATAYAMA,Y., NAKAMURA,J., USHIJIMA,H.A. A candidate substance for the chemical transmitter mediating the late slow EPSP in bullfrog sympathetic ganglia. *Biomed. Res.*, v. 1, Suppl., p. 144-148, 1980.
- NISHI,S., SOEDA,H., KOKETSU,K. Release of acetylcholine from sympathetic preganglionic nerve terminals. *J.Neurophysiol.*, v. 30, p. 114-134, 1967.
- NISHIMURA,T., AKASU,A., KRIER,J. Endothelin modulates calcium channel current in neurones of rabbit pelvic parasympathetic ganglia. *Br.J.Pharmacol.*, v. 103, p. 1242-1250, 1991a.
- NISHIMURA,T., KRIER,J., AKASU,T. Endothelin causes prolonged inhibition of nicotinic transmission in feline colonic parasympathetic ganglia. *Am.J.Physiol.*, v. 261, n. 4Pt1, p. G628-G633, 1991b.
- NISHIZAWA,E.E., MILLER,W.L., GORMAN,R.R., BUNDY,G.L. Prostaglandin D₂ as a potential antithrombotic agent. *Prostaglandins*, v. 9, p. 109-121, 1975.
- NISHIZUKA,Y. The role of protein kinase C in cell surface signal transduction and tumour promotion. *Nature*, v. 308, p. 693-698, 1984.
- NJA,A., PURVES,D. Specific innervation of guinea-pig superior cervical ganglion cells by preganglionic fibres arising from different levels of the spinal cord. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 264, p. 565-583, 1977.
- NORBERG,K.A. Transmitter histochemistry of the sympathetic adrenergic nervous system. *Brain Res.*, v. 5, p. 125-170, 1967.
- NORBERG,K.A., SJÖQVIST,F. New possibilities for adrenergic modulation of ganglionic transmission. *Pharmacol.Rev.*, v. 18, p. 743-751, 1966.
- NORBERG,K.A., RITZÉN,M., UNGERSTEDT,U. Histochemical studies on a special catecholamine-containing cell type in sympathetic ganglia. *Acta Physiol.Scand.*, v. 67, p. 260-270, 1966.
- NORRIS,H.T., ZAMCHECK,N., GOTTLIEB,L.S. The presence and distribution of mast cells in the human gastrointestinal tract. *Gastroenterology*, v. 44, p. 448-455, 1963.
- NORTH,R.A. Electrophysiology of the enteric nervous system. *Neuroscience*, v. 7, p. 315-

- 325, 1982.
- NORTHCUTT,R.G. Evolution of the telencephalon in nonmammals. *Ann.Rev.Neurosci.*, v. 4, p. 301-350, 1981.
- NORTON,S. Quantitative determination of mast cell fragmentation by compound 48/80. *Br. J.Pharmacol.*, v. 9, p. 494-497, 1954.
- NOSAKA,S. Features of efferent and afferent components of neural vascular control system in the spontaneously hypertensive rat. *Jpn.Cir.J.*, v. 37, p. 609-618, 1973.
- NOWAK,L., BREGESTOVSKI,P., ASCHER,P. Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurones. *Nature*, v. 307, p. 462-465, 1984.
- NUGTEREN,D.H., CHRIST-HAZELHOF,E. Isolation and properties of intermediates in prostaglandin biosynthesis. *Biochim.Biophys. Acta*, v. 326, p. 448-461, 1973.
- NUGTEREN,D.H., CHRIST-HAZELHOF,E. Chemical and enzyme conversions of the prostaglandin endoperoxide PGH₂. *Adv.Prostaglandin Thromboxane Res.*, v. 6, p. 129-137, 1980.
- NUMAO,Y., IRIUCHIJIMA,J. Effects of alpha and beta blockers on hemodynamics of SHR. *Jpn.Heart J.*, v. 15, p. 166-172, 1974.
- OBENAU,A., MODY,I., BAIMBRIDGE,K.G. Dantrolene-Na (Dantrium) blocks induction of long-term potentiation in hippocampal slices. *Neurosci.Lett.*, v. 98, p. 172-178, 1989.
- OBERG,B., THOREN,P. Studies on left ventricular receptors, signalling in non-medullated vagal afferents. *Acta Physiol.Scand.*, v. 85, p. 145-163, 1972.
- ODEH,M. The role of tumour necrosis factor-alpha in acquired immunodeficiency syndrome. *J.Intern.Med.*, v. 228, p. 549-556, 1990.
- O'DELL,T.J., HAWKINS,R.D., KANDEL,E.R., ARANCIO,O. Tests of the roles of two diffusible substances in long-term potentiation : evidence for nitric oxide as a possible early retrograde messenger. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, v. 88, p. 11285-11289, 1991.
- O'DONNELL,S.R., WANSTALL,J.C., ZENG,X. Pinacidil antagonism of endothelin-induced contractions of smooth muscle in the lungs : differences between tracheal and pulmonary artery preparations. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, v. 252, p. 1318-1323, 1990.
- OELZ,O., OELZ,R., KNAPP,H.R., SWEETMAN,B.J., OATES,J.A. Biosynthesis of

- prostaglandin D₂. I. Formation of prostaglandin D₂ by human platelet. *Prostaglandins*, v. 13, p. 225-234, 1977.
- O'GRADY, J., WARRINGTON, S.; MOTI, M. J., BUNTING, S., FLOWER, R. J., FOWLE, A. S. E., HIGGS, E. A., MONCADA, S. Effects of intravenous infusions of prostacyclin (PGI₂) in man. *Prostaglandins*, v. 19, p. 319-332, 1980.
- OHNO, I., TANNO, Y., YAMAUCHI, K., TAKISHIMA, T. Production of tumour necrosis factor by mastocytoma P815 cells. *Immunology*, v. 69, p. 312-315, 1990a.
- _____. Gene expression and production of tumour necrosis factor by a rat basophilic leukaemia cell line (RBL-2H3) with IgE receptor triggering. *Immunology*, v. 70, p. 88-93, 1990b.
- OKAMOTO, K., NOSAKA, S., YAMORI, Y., MATSUMOTO, M. Participation of neuralfactor in the pathogenesis of hypertension in the spontaneously hypertensive rat. *Jpn. Heart J.*, v. 8, p. 168-180, 1966a.
- OKAMOTO, K., HAZAMA, F., TAKEDA, T., TABELI, R., NOSAKA, S., FUKUSHIMA, M., YAMORI, Y., MATSUMOTO, M., HAEBARA, H., ICHIJIMA, K., SUSUKI, Y. Pharmacodynamic studies on the cardiovascular system of spontaneously hypertensive rats. *Jpn. Circ. J.*, v. 30, p. 987-1007, 1966b.
- OKANO, Y., ISHIZUKA, Y., NAKASHIMA, S., TOTMATSU, T., TAKAGI, H., NOZAWA, Y. Arachidonic acid release in rat peritoneal mast cells stimulated with antigen, ionophore A23187 and compound 48/80. *Biochem. Biophysic. Res. Commun.*, v. 127, p. 726-732, 1985.
- OKUBO, T., TAKAHASHI, H., SUMIMOTO, M., SHINDOH, K., SUZUKI, S. Plasma levels of leukotrienes C₄ and D₄ during wheezing attack in asthmatic patients. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, v. 84, p. 149-155, 1987.
- O'LAGUE, P. H., POTTER, D. D., FURSHPAN, E. J. Studies on rat sympathetic neurones developing in cell culture. I. Growth characteristics and eletrophysiological properties. *Dev. Biol.*, v. 67, p. 384-403, 1978.
- OLD, L. J. Tumor necrosis factor. *Science*, v. 230, p. 630-632, 1985.
- OLIFF, A., DEFEO-JONES, D., BOYER, M., MARTINEZ, D., KIEFER, D., VUOCOLO, G., WOLFE, A., SOCHER, S. H. Tumors secreting human TNF/cachectin induce cachexia in

- mice. *Cell*, v. 50, p. 555-563, 1987.
- OLSSON, Y. The effect of the histamine liberator compound 48/80 on mast cells in normal peripheral nerves. *Acta Path.Microbiol.Scand.*, v. 68, p. 563-574, 1966.
- _____. Degranulation of mast cells in peripheral nerve injuries. *Acta Neurol.Scand.*, v.43, p. 365-374, 1967.
- _____. Mast cells in the nervous system. *Int.Rev.Cytol.*, v. 24, p. 27-70, 1968.
- _____. Mast cells in human peripheral nerve. *Acta Neurol.Scand.*, v. 47, p. 357-368, 1971.
- O'MALEY, W.E., ACHINSTEIN, B., SHEAR, M.J. Action of bacterial polysaccharide on tumors. II. Damage of sarcoma 37 by serum of mice treated with *Serratia marcescens* polysaccharide and induced tolerance. *J.Natl.Cancer Inst.*, v. 29, p. 1169-1175, 1962.
- ONOZAKI, K., URAWA, H., TAMATANI, T., IWAMURA, Y., HASHIMOTO, T., BABA, T., SUZUKI, H., YAMADA, M., YAMAMOTO, S., OPPENHEIM, J.J., MATSUSHIMA, K. Synergistic interactions of interleukin 1, interferon-beta, and tumor necrosis factor in terminally differentiating a mouse myeloid leukemic cell line (M₁). Evidence that interferon-beta is an Autocrine Differentiating Factor. *J.Immunol.*, v. 140, p. 112-119, 1988.
- ORITA, Y., FUJIWARA, Y., OCHI, S., TAKAMA, T., FUKUNAGA, M., YOKOYAMA, K. Endothelin-1 receptors in rat renal glomeruli. *J.Cardiovasc.Pharmacol.*, v. 13, p. S159-S161, 1989.
- OTANI, S., MARSHALL, C.J., TATE, W.P., GODDARD, G.V., ABRAHAM, W.C. Maintenance of long-term potentiation in rat dentate gyrus requires protein synthesis but not messenger RNA synthesis immediately post-tetanzation. *Neuroscience*, v. 28, p. 519-526, 1989.
- OVERBECK, H.W. Elevated arterial pressure, vascular wall waterlogging and impaired cardiac growth in rats chronically receiving digoxin. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.*, v. 167, p. 506-513, 1981.
- OVERBECK, H.W., PAMNANI, M.B., KU, D.D. Arterial wall waterlogging accompanying chronic digoxin treatment in dogs. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.*, v. 164, p. 401-404, 1980.
- OWMAN, C., WEST, K.A. Effect of superior cervical sympathectomy on experimentally induced intracranial hypertension. *Brain Res.*, v. 18, p. 469-476, 1970.

- OWSJANNIKOV,P.(1869) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum,1986. p. 3-26.
- OZAWA,H., KATSURAGI,T. Potentiating effects of ouabain and amino guanidines on responses of smooth muscle organs induced by various agents and electrical stimulus. *Jpn.J.Pharmac.*, v. 22, p. 371-380,1972.
- _____.Ouabain-induced potentiation on the contractions of the guinea-pig vas deferens. *Eur. J.Pharmac.*, v. 25, p. 147-154,1974..
- PACE,D.G., GILLIS,R.A. Neuroexcitatory effects of digoxin in the cat. *J.Pharmac. Exp. Ther.*, v. 199, p. 583-600, 1976.
- PACE-ASCIAK, NASHAT,M. Catabolism of prostaglandin endoperoxidases into prostaglandin E₂ and F_{2α} by the rat brain. *J.Neurochem.*, v. 27, p. 551-556, 1976.
- PAGE,C.P. Platelet-activating factor. In : BARNES,P.J. et al. (Eds.). Asthma : basic mechanisms and clinical management. New York : Academic, 1988. p. 231-257.
- PALAY,S.L., PALADE,G.E. The fine structure of neurons. *J.Biophys.Biochem.Cytol.*, v. 1, p. 69-88, 1955.
- PALERMO,A., CONSTANTINI,C., MARA,G., LIBRETTI,A. Role of the sympathetic nervous system in spontaneous hypertension : changes in central adrenoceptors and plasma catecholamine levels. *Clin.Sci.*, v. 61, p. 195s-198s, 1981.
- PALLADINO,M.A.Jr., SHALABY,M.F., KRAMER,S.M., FERRIOLO,B.L., BAUGHMAN, R.A., DELEO,A.B., CRASE,D., MARAFINO,B., AGGARWALL,B.B.,FIGARI,I.S., LIGGITT,D., PATTON,J.S. Characterization of the antitumor activities of human tumor necrosis factor-alpha and the comparison with other cytokines : induction of tumor-specific immunity. *J.Immunol.*, v. 138, p. 4023-4032, 1987.
- PALMBLAD,J., MALMSTEN,C.L., UDÉN.M.M., RADMARK,O., ENGSTEDT,L., SAMUELSSON,B. Leukotriene B₄ is a potent and steospecific stimulator of neutrophil chemotaxis and adherence. *Blood*, v. 58, p. 658-661, 1981.
- PARDUCZ,A., TOLDI,J., JOO,F., SIKLOS,L., WOLFF,J.R. Transient increase of calcium in pre- and postsynaptic organelles of rat superior cervical ganglion after tetanizing

- stimulation. *Neuroscience*, v. 23, p. 1057-1061, 1987.
- PAREKH,A.C., GLICK,D. Studies in Histochemistry. LXV.Heparin and Hexosamine in isolated mast cell. : Determination, intracellular distribution, and effects of biological state. *J.Biol.Chem.*, v. 237, p. 280-286, 1962.
- PARKER-BOTELHO,L.H., CADE,C., PHILLIPS,P.E., RUBANYI,G.M. Tissue specificity of endothelin synthesis and binding. In : RUBANYI,G.M. (Ed.). *Endothelin*. New York : Oxford Univ. Press, 1991.
- PASINELLI,P., RAMAKERS,G.M., URBAN,I.J., HENS,J.J., OESTREICHER,A.B., de-GRAAN,P.N., GISPEN,W.H. Long-term potentiation and synaptis protein phosphorylation. *Behav.Brain Res.*, v. 66, p. 53-59, 1995.
- PATERSON,P. Leukemia inhibitory factor, a cytokine at the interface between neurology and immunology. *Proc.Natl.Acad.Sci.*, v. 91, p. 7833-7835, 1994.
- PATON,W.D.M., ZAIMIS,E.J. Paralysis of autonomic ganglia by methonium salts. *Br.J. Pharmac.Chemother.*, v. 6, p. 155-168, 1951.
- PATTERSON,R., HARRIS,K.E., GREENBERGER,P.A. Effect of prostaglandin D₂ and I₂ on the airways of rhesus monkeys. *J.Allergy Clin.Immunol.*, v. 65, p. 269-273, 1980.
- PAUSTIAN,P.W., CHAPNICK,B.M., FEIGEN,L.P., HYMAN,A.L., KADOWITZ,P.J. Effects of 13,14-dehydro prostacyclin methyl ester on the feline intestinal vascular bed. *Prostaglandins*, v. 14, p. 1141-1152, 1977.
- PAYAN,K., GOETZL,E.J. Substance P receptor-dependent responses of leukocytes in pulmonary inflammation. *Am.Rev.Res.Dis.*, v. 136, p. S39-S43, 1987.
- _____. Neuropeptide regulation of immediate and delayed hypersensitivity. *Int.J.Neurosci.*, v. 38, p. 211-221, 1988.
- PEARCE,C.A., GREAVES,W.M., PLUMMER,V.M., YAMAMOTO,E.S. Effect of disodium cromoglycate on antigen-evoked histamine release from human skin. *Clin.Exp.Immunol.*, v. 17, p. 437-440, 1974.
- PEARCE,F.L. Calcium and histamine secretion from mast cells. *Prog.Med.Chem.*, v. 19, p. 59-109, 1982a.
- _____. Functional heterogeneity of mast cells from different species and tissues. *Klin.*

- Wochenschr.*, v. 60, p. 954-957, 1982b.
- _____. On the heterogeneity of mast cells. *Pharmacology*, v. 32, p. 61-71, 1986.
- PEARCE,F.L., THOMPSON,H.C. Some characteristics of histamine secretion from rat peritoneal mast cells stimulated with nerve growth factor. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 372, p. 379-393, 1986.
- PEARLE,D.L., GILLIS,R.A.Effect of digitalis on response of the ventricular pacemaker to sympathetic neural stimulation and its isoproterenol. *Am.J.Cardiol.*, v. 34,p. 704-710,1974.
- PELIKAN,E.W.(1865) apud BLAUSTEIN,M.P. Physiological effects of endogenous ouabain : control of intracellular Ca^{2+} stores and cell responsiveness. *Am.J.Physiol.*, v.264, p. C1367-C1387.
- PELLMAR,T.C. Histamine decreases calcium-mediated potassium current in guinea pig hippocampal CA_1 pyramidal cells. *J.Neurophysiol.*, v.55, p. 727-738, 1986.
- PENNICA,D., NEDWIN,G.E., HAYFLICK,J.S., SEEBURG,P.H., DERYNCK,R., PALLADINO,M.A., KOHR,W.J., AGGARWAL,B.B., GOEDEL,D.V. Human tumour necrosis factor : precursor structure, expression and homology to lymphotoxin. *Nature*, v. 312, p. 724-729., 1984
- PENTREATH,V.W., REES,K., OWOLABI,O.A., PHILIP,K.A., DOUA,F. The somnogenic T lymphocyte suppressor prostaglandin D2 is selectively elevated in cerebrospinal fluid advanced sleeping sickness patients. *Trans. R. Soc. Trop.Med.Hyg.*, v. 84, p. 795-799, 1990.
- PERDUE,M.H., MASSON,S., WERSHILL,B.K., GALLI,S. Role of mast cells in ion transport abnormalities associated with intestinal anaphylaxis : correction of the diminished secretory response in genetically mast cell-deficient W/W^v mice by bone marrow transplantation. *J.Clin.Invest.*, v. 87, p. 687-693, 1991.
- PERKINS,A.T., TEYLER,T.J. A critical period for long-term potentiation in the developing rat visual cortex. *Brain Res.*, v. 439, p. 222-229, 1988.
- PERNOW,B. Pharmacology of substance P. *Ann.N.Y.Acad. Sci. USA*, v. 104, p. 393-402, 1963.
- PERRI,V., SACCHI,O., CASELLA,C. Electrical properties and synaptic connections of the

- sympathetic neurons in the rat and guinea-pig superior cervical ganglion. *Pflügers Arch.*, v. 314, p. 40-54, 1970a.
- _____. Synaptically mediated potentials elicited by the stimulation of post-ganglionic trunks in the guinea-pig superior cervical ganglion. *Pflügers Arch.*, v. 314, p. 55-67, 1970b.
- PERRY,W.L.M. Acetylcholine release in the cat's superior cervical ganglion. *J.Physiol. (Lond.)*, v. 119, p. 439-454, 1953
- PERRY,W.L.M., REINERT,H. The action of cardiac glycosides on autonomic ganglia. *Br.J. Pharmacol.*, v. 9, p. 324-328, 1954.
- PESKAR,B.M., DREYLING,K.W., PESKAR,B.A., MAY,B., GOEBELL,H. Enhanced formation of sulfidopeptide-leukotrienes in ulcerative colitis and Crohn's disease : inhibition by sulfasalazine and 5-aminosalicylic acid. *Agents Actions*, v. 18, p. 381-383, 1986.
- PETERS,S.P., KAGEY-SOBOTKA,A., ADKINSON,N.F.Jr., NACLERIO,R.M., MacGLASHAN,D.W., SCHLEIMER,R.P., SCHULMAN,E.S., LICHTENSTEIN, L.M. The role of prostaglandin D₂ (PGD) in human allergic reactions. *Clin.Res.*, v. 30, p. 545A, 1982.
- PETERS,S.P., KAGEY-SOBOTKA,A., MacGLASHAN,D.W.Jr., LICHTENSTEIN, L.M. Effect of prostaglandin D₂ in modulating histamine from human basophils. *J.Pharmacol. Exp.Ther.*, v. 228, p. 400-406, 1984.
- PETTIGREW,J.D., KASAMATSU,T. Local perfusion on noradrenaline maintains visual cortical plasticity. *Nature*, v. 371, p. 761-763, 1978.
- PETIT,F.P.de (1727) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum,1986. p. 3-26.
- PFLÜGER,E.F.W.(1857) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum,1986. p. 3-26.
- PICK,J. The Autonomic Nervous System. Philadelphia : Lippincott, 1970
- PIOMELLI,D., VOLTERRA,A., DALE,N., SIEGELBAUM,S.A., KANDEL,E.R., SCHWARTZ, J.H., BELARDETTI,F. Lipoxigenase metabolites of arachidonic acid as second messengers for presynaptic inhibition of of *Aplysia* sensory cells. *Nature*, v. 328, p.

38-43, 1987.

- PIOTROWSKI,W., FOREMAN,J.C. On the actions of substance P, somatostatin, and vasoactive intestinal polypeptide on rat peritoneal mast cells and in human skin. *Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmacol.*, v. 331, p. 364-368, 1985.
- PIOTROWSKI,W., FOREMAN,J.C. Some effects of calcitonin gene-related peptide in human skin and on histamine release. *Br.J.Dermatol.*, v. 114, p. 37-46, 1986.
- PIPER,P.J., VANE,J.R. Release of additional factors in anaphylaxis and its antagonism by anti-inflammatory drugs. *Nature*, v. 223, p. 29-35, 1969.
- _____. The release of prostaglandins from lung and other tissue. *Ann.N.Y.Acad.Sci. USA*, v. 180, p. 363-385, 1971.
- PIPKORN,U., PROUD,D., LICHTENSTEIN,L.M., KAGEY-SOBOTKA,A., NORMAN, P.S., NACLERIO,R.M. Inhibition of mediator release in allergic rhinitis by pretreatment with topical glucocorticosteroids. *N.Engl.J.Med.*, v. 316, p. 1506-1510, 1987a.
- PIPKORN,U., PROUD,D., LICHTENSTEIN,L.M., SCHLEIMER,R.P., PETERS,S.P., ADKINSON,N.F.Jr., KAGEY-SOBOTKA,A., NORMAN,P.S., NACLERIO ,R.M. Effect of short-term systemic glucocorticoid treatment on human nasal mediator release after antigen challenge.*J.Clin.Invest.*, v. 80, p. 957-961, 1987b.
- PLAUT,M., PIERCE,J.H., WATSON,C.J., HANLEY-HYDE,J., NORDAN,R.P., PAUL,W.E. Mast cell lines produce lymphokines in response to cross-linkage of FceRI or to calcium ionophores. *Nature*, v. 339, p. 64-67, 1989.
- PLUZNIK,D.H., TARE,N.S., ZATZ,M.M., GOLDSTEIN,A.L. A mast/basophil cell line dependent on colony stimulating factor. *Exp.Hematol.*, v. 10, Suppl., p. 211-218, 1982.
- POBER,J.S., GIMBRONE,M.A.Jr., LAPIERRE,L.A., MENDRICK,D.L., FIERS,W., ROTHLEIN,R., SPRIGER,T.A. Overlapping patterns of activation of human endothelial cells by interleukin 1, tumor necrosis factor, and immune interferon. *J.Immunol.*, v. 137, p. 1893-1896, 1986.
- POLJAK,S.(1922) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum,1986. p. 3-26.

- POWER,R.F., WHARTON,J., ZHAO,Y., BLOOM,S.R., POLAK,J.M. Autoradiographic localization of endothelin-1 binding sites in the cardiovascular and respiratory systems. *J.Cardiovasc.Pharmacol.*, v. 13, Suppl., p. S50-S56, 1989.
- PROUD,D., TOGIAS,A., NACLERIO,R.M., CRUSH,S.A., NORMAN,P.S., LICHTENSTEIN, L.M. Kinins are generated in vivo following nasal airway challenge of allergic individuals with allergen. *J.Clin.Invest.*, v. 72, p. 1678-1685, 1983.
- PROUD,D., KAPLAN,A.P. Kinin formation: mechanism and role in inflammatory disorders. *Ann.Rev.Immunol.*, v. 6, p. 49-83, 1988.
- PROUD,D., REYNOLDS,C.J., LaCAPRA,S., KAGEY-SOBOTKA,A., LICHTENSTEIN, L.M., NACLERIO,R.M. Nasal provocation with bradykinin induces symptoms of rhinitis and a sore throat. *Am.Rev.Res.Dis.*, v. 137, p. 613-616, 1988.
- PROUD,D., SWEET,J., STEIN,P., SETTIPANE,R.A., KAGEY-SOBOTKA,A., FRIEDLAENDER,M.H., LICHTENSTEIN,L.M. Inflammatory mediator release on conjuntival provocation of allergic subjects with allergen. *J.Allergy Clin.Immunol.*, v. 85, p. 896-905, 1990
- PROVOOST,A., DeJONG,W. Influence of neonatal chemical sympathectomy on the development of hypertension in spontaneously hypertensive rats and in rats with renal or corticosteroid hypertension. *Clin.Exp.Pharmacol.Physiol.*, v. 3, Suppl., p. 145- 149, 1976.
- PRYSTOWSKY,M.B. The brain and immunity. In : VITKOVIC,L., KOSLOW,S.H. (Eds.). Neuro immunology & mental health : a report on neuroimmunology research. Maryland : DHHS Publication No.(NIH) 94-3774, 1994. p. 17-24 .
- PURVES,D., RUBIN,E., SNIDER,W.D., LICHTMAN,J.D. Relation of animal size to convergence, divergence and neuronal number in peripheral sympathetic pathways. *J. Neurosci.*, v. 6, p. 158-163, 1986
- QUEST,J.A., GILLIS,R.A. Carotid sinus reflex changes produced by digitalis. *J.Pharmacol. Exp.Ther.*, v. 177, p. 650-661, 1971.
- _____. Effect of digitalis on carotid sinus baroreceptor activity. *Circ.Res.*, v. 35, p. 247-255, 1974.
- RACINE,R.J., GARTNER,J.G., BURNHAM,W.M. Epileptiform activity and neural plasticity

- in limbic structures. *Brain Res.*, v. 47, p. 262-268, 1972.
- RACINE,R.J., NEWBERRY,F., BURNHAM,W.M. Post-activation potentiation and the kindling phenomenon. *Electroencephalogr.Clin.Neurophysiol.*, v. 39, p. 261-271, 1975.
- RACINE,R.J., MILGRAM,N.W., HAFNER,S. Long-term potentiation phenomena in the rat limbic forebrain. *Brain Res.*, v. 260, p. 217-231, 1983.
- RACINE,R.J., WILSON,D.A., GINGELL,R., SUNDERLAND,D. Long-term potentiation in the interpositus and vestibular nuclei in the rat. *Exp.Brain Res.*, v. 63, p. 158-162, 1986.
- RACINE,R.J., deJONGE,M. Short-term and long-term potentiation in projection pathways and local circuits. In : LANDFIELD,P.W. et al. (Eds.). Long-term potentiation : from biophysics to behavior. New York, 1988. p. 167.
- RACKHAM,A., FORD-HUTCHINSON,A.W. Inflammation and pain sensitivity : effects of leukotrienes D₄,B₄ and prostaglandin e in the rat paw. *Prostaglandins*, v. 25, p. 193-203, 1983.
- RAE,S.A., DAVIDSON,E.M., SMITH,M.J.H. Leukotriene B₄, an inflammatory mediator in gout. *Lancet*, v. 2, p. 1122-1123, 1982.
- RAHAMINOFF,R., LEV-TOV,A., MEIRI,H. Primary and secondary regulation of quantal transmitter release : Calcium and sodium. *J.Exp.Biol.*, v. 89, p. 5-18, 1980.
- RAKUGI,H., NAKAMURA,M., TABUCHI,Y., NAGANO,M.;MIKAMI,H., OGIHARA, T. Endothelin stimulates the release of prostacyclin from rat mesenteric arteries. *Biochem. Biophys.Res.Commun.*, v. 160, p. 924-928, 1989.
- RALL,W. Theory of physiological properties of dendrites. *Ann.N.Y.Acad.Sci. USA*, v. 96, p. 1071-1092, 1962.
- RAMÓN,S.W. y CAJAL,S.(1881) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum,1986. p. 3-26.
- RAMÓN,S.W. y CAJAL,S.(1892) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum,1986. p. 3-26.
- RAMÓN,S.W. y CAJAL,S.(1911) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of

- ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR, A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum, 1986. p. 3-26.
- RAMPART, M., DESMET, W., FIERS, W., HERMAN, A.G. The inflammatory properties of recombinant tumor necrosis factor in rabbit skin *in vivo*. *J.Exp.Med.*, v. 169, p. 2227-2232, 1989.
- RAMWELL, P.W., SHAW, J. Spontaneous and evoked release of prostaglandins from cerebral cortex of anaesthetized cats. *Am.J.Physiol.*, v. 211, p. 125-134, 1966.
- RAMWELL, P.W., LEOVEY, E.M.K., SINTETOS, A.L. Regulation of the arachidonic acid cascade. *Biol.Reprod.*, v. 16, p. 70-87, 1977.
- RANDALL, M.D. Vascular activities of the endothelins. *Pharmacol.Ther.*, v. 50, p. 73-93, 1991.
- RANSON, S.W., BILLINGSLEY, P.R. Vasomotor reaction from stimulation of the floor of the fourth ventricle. *Am.J.Physiol.*, v. 41, p. 85-90, 1916.
- RANSON, S.W., CLARK, S.I. The anatomy of the nervous system. Its development and function. Philadelphia : W.B.Saunders, 1959.
- RAZIN, E., CORDON-CARDO, C., GOOD, R.A. Growth of a pure population of mouse mast cells *in vitro* with conditioned medium derived from concanavalin A-stimulated splenic cells. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, v. 78, p. 2559-2561, 1981.
- RAZIN, E., IHLE, J.N., SELDIN, D., MENCIA-HUERTA, J-M., KATZ, H.R., LEBLANC, P.A., HEIN, A., CAULFIELD, J.P., AUSTEN, K.F., STEVENS, R.L. Interleukin-3: A differentiation and growth factor for the mouse mast cell that contains chondroitin sulfate E proteoglycan. *J.Immunol.*, v. 132, p. 1479-1486, 1984.
- READER, T.A., FERRON, A., DESCARRIES, L., JASPER, H.H. Modulatory role of biogenic amines in the cerebral cortex: Microiontophoretic studies. *Brain Res.*, v. 160, p. 217-229, 1979.
- REID, A.(1634) apud KARCZMAR, A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR, A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum, 1986. p. 3-26.
- REIGHARD, J., JENNINGS, H.S. Anatomy of the cat. New York : Henry Holt, 1935.

- REIS,D.J., FUXE,K. Adrenergic innervation of the carotid sinus. *Am.J.Physiol.*, v. 215, p. 1054-1057, 1968.
- REMAK,R.(1838) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum,1986. p. 3-26.
- REMIK,D.G. Lung and gut injury induced by tumour necrosis factor. *Res.Immunol.*, v. 144, p. 326-331, 1993.
- RENAULD,J.C., GOETHALS,A., HOUSSIAU,F., MERZ,H., VAN ROOST,E., VAN-SNICK, J. Human P40/IL-9. Expression in activated CD4⁺ Tcells, genomic organization, and comparison with the mouse gene. *J.Immunol.*, v. 144, p. 4235-4241, 1990.
- RESINK,T.J., SCOTT-BURDEN,T., BÜHLER,F.R. Activation of phospholipase A₂ by endothelin in cultured vascular smooth muscle cells. *Biochem.Biophys.Res.Commun.*, v. 158, p. 279-286, 1989.
- REYMANN,K.G., MATTHIES,H.K., FREY,U., VOROBYEV,V.S., MATTHIES H. Calcium-induced long-term potentiation in the hippocampal slice : characterization of time-course and conditions. *Brain Res.Bull.*, v. 17, p. 291-296, 1986.
- RICHARDS,A.L., OKUNO,T., TAKAGAKI,Y., DJEU,J.Y. Natural cytotoxic cell-specific cytolytic factor produced by IL-3-dependent basophilic/mast cells. Relationship to TNF. *J.Immunol.*, v. 141, p. 3061-3066, 1988.
- RIKER,W.F. Excitatory and anti-curare properties of acetylcholine and related quaternary ammonium compounds at the neuromuscular junction. *Pharmacol.Rev.*, v. 5, p. 1-86, 1953.
- RILEY,J.F. The Mast cells. Edinburg : E & S Livingston, 1959. p. 5-17.
- RILEY,J.F., WEST,G.B. Presence of histamine in tissue mast cells. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 120, p. 528-537, 1953.
- _____. Tissue mast cells. Studies with histamine liberator of low toxicity (compound 48/80). *J.Path.Bacteriol.*, v. 69, p. 269-282, 1955.
- RIVERA,J. Structural Aspects of the High-Affinity Receptor for IgE. In: KALINER,M.A., METCALFE,D.D. (Eds.). Lung biology in health and disease. The mast cell in health and disease. New York : 1993, v.62. p. 91-107.

- ROBERTS,J., EHRREICH,S., LEVITT,B.(1965) apud GILLIS,R.A. Cardiac sympathetic nerve activity : changes induced by ouabain and propranolol. *Science*, v. 166, p. 508-510, 1969.
- ROBERTS,J. The action of ouabain on the chronotropic effects of sympathetic nerve stimulation and isoproterenol. *Eur.J.Pharmacol.*, v. 12, p. 1-9, 1970.
- ROBERTS II,L.J., LEWIS,R.A., OATES,J.A., AUSTEN,K.F. Prostaglandin,thromboxane and 12-hydroxy-5,8,10,14-eicosatetraenoic acid production by ionophore stimulated rat serosal mast cells. *Biochim.Biophys.Acta*, v.575, p. 185-192, 1979.
- ROBERTS II,L.J., SWEETMAN,B.J., LEWIS,R.A., AUSTEN,K.F., OATES,J.A. Increased production of prostaglandin D₂ in patients with systemic mastocytosis. *N.Engl.J.Med.*, v. 303, p. 1400-1404, 1980.
- ROBERTSON,R.M., LISTON,T., TANTENGCO,M.V., ROBERTS,L.J. Human coronary arteries are contracted by a novel prostaglandin. *Clin.Res.*, v. 33, p. 221-A, 1985.
- ROBINSON,C., HOULT,J.R.S., WADDELL,K.A., BLAIR,I.A., DOLLERY,C.T. Total profiling by GC/NICIMS of the major cyclooxygenase products from antigen and leukotriene-challenged guinea pig lung. *Biochem.Pharmacol.*, v. 33, p. 395-400, 1984.
- ROBINSON,G.B., RACINE,R.J. Long-term potentiation in the dentate gyrus : Effect of noradrenaline depletion in the awake rat. *Brain Res.*, v. 325, p. 71-78, 1985.
- ROCHA e SILVA,M., BERALDO,W.T., ROSENFELD,G. Bradykinin, a hypotensive and smooth muscle stimulating factor released from plasma globulin by snake venoms and by trypsin. *Am.J.Physiol.*, v. 156, p. 261-273, 1949.
- ROGAWSKI,M.A., AGHAJANIAN,G.K. Modulation of lateral geniculate neurone excitability by noradrenaline microiontophoresis or locus coeruleus stimulation. *Nature*, v. 287, p. 731-734, 1980.
- RÖHLICH,P., ANDERSON,P., UVNÄS,B. Electron microscope observations on compound 48/80-induced degranulation in rat mast cells. *J.Cell Biol.*, v. 51, p. 465-483, 1971.
- ROHMEISS,P., PHOTIADIS,J., ROHMEISS,S., UNGER,T. Hemodynamic actions of intravenous endothelin in rats : comparison with sodium nitroprusside and methoxamine. *Am.J.Physiol.*, v. 258, p. H337-H346, 1990.

- ROIZEN,M.F., WEISE,V., GROBECKER,H., KOPIN,I.J. Plasma catecholamines and dopamine-beta-hydroxylase activity in SHR. *Life Sci.*, v. 17, p. 283-288, 1975.
- ROMANES,G.J.(1885) apud RACINE,R.J., De JONGE,M. Short -term and long-term potentiation in projection pathways and local circuits. In : LANDFIELD,P.W., DEADWYLER,S.A (Eds.). Long-term potentiation : from biophysics to behavior. New York : Alan R.Liss, 1988. p. 167-197.
- ROSENBLUTH,J. Contrast between osmium-fixed and permanganate-fixed toad spinal ganglia. *J.Cell Biol.*, v.16, p. 143-157, 1963.
- ROSENGARD,B.R., MAHALIK,C., COCHRANE,D.E. Mast cell secretion : differences between immunologic and non-immunologic stimulation. *Agents Actions*, v. 19, p. 133-140, 1986.
- ROSENTHAL,J. Posttetanic potentiation at the neuromuscular junction of the frog. *J. Physiol. (Lond.)*, v. 203, p. 121-133, 1969.
- ROSSIE,S.S., MILLER,R.J. Regulation of mast cell histamine release by neurotensin. *Life Sci.*, v. 31, p. 509-516, 1982.
- ROUTTENBERG,A. Anatomical localixation of phosphoprotein and glycoprotein substrate of memory. *Prog.Neurobiol.*, v. 12, p. 85-113, 1979.
- _____. Brain phosphoproteins kinase C and protein F₁ : protagonists of plasticity in particular pathways. In : LYNCH,G. et al. (Eds.). Neurobiology of learning and memory. New York : Guilford Press,1984. p. 479-490.
- ROUTTENBERG,A., EHRLICH,Y. Endogenous phosphorylation of four cerebral cortical membrane proteins : role of cyclic nucleotides, ATP and divalent cations. *Brain Res.*, v. 92, p. 415-430, 1975.
- ROUTTENBERG,A., LOVINGER,D.M., STEWARD,O. Selective increase in phosphorylation of a 47-KDa protein (F₁) directly related to long-term potentiation. *Behav. Neurol.Biol.*, v. 43, p. 3-11, 1985.
- ROUZER,C.A., CERAMI,A. Hypertriglyceridemia associated with *Trypanosoma brucei* infection in rabbits : role of detective triglycerine removal. *Mol.Biochem. Parasitol.*, v. 2, p. 31-38, 1980.

- ROUZER,C.A., MATSUMOTO,T., SAMUELSSON,B. Single protein from human leucocytes possesses 5-lipoxygenase and leukotriene A₄ synthetase activities. *Proc.Natl. Acad.Sci. USA* , v. 83, p. 857-861, 1986.
- ROWLEY,D.A., BENDITT,E.P. 5hydroxytryptamine and histamine as mediators of the vascular injury produced by agents which damage mast cells in rat. *J.Exp.Med.*, v. 103, p. 399-412, 1956.
- RUCCI,L., MASINI,E., CIRRI-BORGHI,M.B., GIANNELLA,E., MANNAIONI ,P.F. Histamine release from nasal mucosal mast cells in patients with chronic hypertrophic non-allergic rhinitis, after parasympathetic nerve stimulation. *Agents Actions*, v. 25, p. 314- 320, 1988.
- SAAVEDRA,J.M., GRBECKER,H., AXELROD,J. Changes in central catecholaminergic neurons in the spontaneously (genetic) hypertensive rat. *Circ.Res.*, v. 42, p. 529-534, 1978.
- SAAVEDRA-DELGADO,A.M.P., METCALFE,D.D. The gastrointestinal mast cell in food allergy. *Ann.Allergy*, v. 51, p. 185-189, 1983.
- SAIDA,K., MITSUI,Y, ISHIDA,N. A novel peptide vasoactive intestinal constrictor, of a new (endothelin) peptide family. *J.Biol.Chem.* , v.264, p. 14613-14616, 1989.
- SAKURAI,M., YANAGISAWA,Y., TAKUWA,Y., MIYAZAKI,H., KIMURA,S., GOTO, K., MASAKI,T. Cloning of a cDNA encoding a non-isopeptide-selective subtype of the endothelin receptor. *Nature*, v. 348, p. 732-735, 1990.
- SALMON,J.A., SMITH,D.R., FLOWERS,R.J., MONCADA,S., VANE,J.R. Further studies on the enzymatic conversion of prostaglandin endoperoxide into prostacyclin porcine aorta microsomes. *Biochim.Biophys.Acta*, v. 523, p. 250-262, 1978.
- SALZMAN,E.W., LINDON,N.J., RODVIEN,R. Cyclic AMP in human blood platelet : Relation to platelet prostaglandin synthesis induced by centrifugation or surface contact. *J.Cyclic Nucleotide Res.*, v. 2, p. 25-37, 1976.
- SAMUELSSON,B. Identification of a smooth-stimulating factor in bovine brain, prostaglandins and related factors 25. *Biochem.Biophys.Acta*, v. 84, p. 218, 1964.
- _____. On the incorporation of oxygen in the conversion of 8,11,14-eicosatrienoic acid to prostaglandin E₁. *J.Amer.Chem.Soc.*, v. 87, p. 3011-3013, 1965.

- _____. Introduction : new trends in Prostaglandin research. *Adv.in Prostaglandin Thromboxane Res.*, v. 1, p. 1-6, 1976.
- _____. Leukotrienes : mediators of immediate hypersensitivity reactions and inflammation. *Science*, v. 220, p. 568-575, 1983.
- SANGER,G.J., JACKSON,A., BENNETT,A. A prostaglandin analogue which potently relaxes human uterus but not gut muscle. *Eur.J.Pharmacol.*, v. 81, p. 141-143, 1982.
- SAPER,C.B., LOEWY,A.D., SWANSON,L.W., COWAN,W.M. Direct hypothalamico-autonomic connections. *Brain Res.*, v. 117, p. 305-312, 1976.
- SARRIA,B., NALINE,E., MORCILLO,E., CORTIJO,J., ESPLUGUS,J., ADVENIER,C. Calcium dependence of the contraction produced by endothelin (ET-1) in isolated guinea-pig trachea. *Eur.J.Pharmacol.*, v. 187, p. 445-453, 1990.
- SATO,N., GOTO,T., HARANAKA,K., SATONI,N., NARIUCHI,H., MANO HIRANO, Y., SAWASAKI,Y. Actions of tumor necrosis factor on cultured vascular endothelial cells : morphologic modulation, growth inhibition and cytotoxicity. *J.Natl.Cancer Inst.*, v.76, p. 1113-1121,1986.
- SAXENA,P.R., BHARGAVA,K.P. The importance of a central adrenergic mechanism in the cardiovascular responses to ouabain. *Eur.J.Pharmacol.*, v. 31, p. 332-346, 1975.
- SAYER,R.J., REDMAN,S.J., ANDERSEN,P. Amplitude fluctuations in small EPSPs recorded from CA1 pyramidal cells in the guinea pig hippocampal slice. *J.Neurosci.*, v. 9, p. 840-850, 1989.
- SCHADEWALDT,H. Fruitful routes and blind alleys taken by digitalis therapy since its introduction by Withering. In : ERDMAN,E., GREEFF,K., SKOU,J.C. (Eds.). Cardiac glycosides 1785-1985. Biochemistry-pharmacology-clinical relevance. Darmstadt, Germany : Steinkopff Verlag, 1986. p. 11-16.
- SCHAFFER,E.A.(1900) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum,1986. p. 3-26.
- SCHECHTER,N.M., IRANI,A-M.A., SPROWS,J.L., ABERNETHY,J., WINTROUB,B., SCHWARTZ,L.B. Identification of a cathepsin G-like proteinase in the MC_{1c} type of human

- mast cell. *J.Immunol.*, v. 145, p. 2652-2661, 1990.
- SCHENKELAARS,E, BONTA,I.L. Effect of leukotriene C₄ on the release of secretory products by elicited populations of rat peritoneal macrophages. *Eur.J.Pharmacol.*, v. 86, p. 477-480, 1983.
- SCHILLER,S. Mucopolysaccharides of normal mast cells. *Ann.N.Y.Acad.Sci. USA*, v. 103, p. 199-208, 1963.
- SCHILLER,S., DORFMAN,A. The isolation of heparin from mast cells of the normal rats. *Biochim.Biophys. Acta*, v. 31, p. 278-280, 1959.
- SCHLAPFER,W.T., TREMBLAY,J.P., WOODSON,P.B.J., BARONDES,S.H. Frequency facilitation and post-tetanic potentiation of a unitary synaptic potential in *Aplysia californica* are limited by different processes. *Brain Res.*, v. 109, p. 1-20, 1976.
- SCHLESSINGER,J., METZGER,H., WEBB,W.W., ELSON,E.I. Lateral motion and valence of Fc receptors in rat peritoneal cells. *Nature*, v. 264, p. 550-552, 1976.
- SCHMIEDEBERG,O., KOPPE,R.(1869) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York: Plenum, 1986. p. 3-26.
- SCHNEIDER,M.W., DRAZEN,J.M. Comparative *in vitro* effects of arachidonic acid metabolites on trachea spirals and parenchymal strips. *Am.Rev.Respir.Dis.*, v. 121, p. 835-842, 1980.
- SCHRADER,J.W., LEWIS,S.J., CLARK-LEWIS,I., CULVENOR,J.G. The persisting (P) cell : histamine content, regulation by a T-cell-derived factor, origin from a bone marrow precursor, and relationship to mast cells. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, v. 78, p. 323-327, 1981.
- SCHRAMM,L.P., BARTON,G.N. Diminished sympathetic silent period in spontaneously hypertensive rats. *Am.J.Physiol.*, v. 236, p. R147-R152, 1979.
- SCHRAMM,L.P., CHRONOBY,E.S. Sympathetic activity in spontaneously hypertensive rats after spinal transection. *Am.J.Physiol.*, v. 243, p. R505-R511, 1982.
- SCHROR,K., MONCADA,S., UBATUBA,F.B., VANE,J.R. Transformation of arachidonic acid and prostaglandin endoperoxides by the guinea pig heart. Formation of RCS and

- prostacyclin. *Eur.J.Pharmacol.*, v. 47, p. 103-114, 1978.
- SCHULMAN,E.S., NEWBALL,H.H., DEMERS,L.M., FITZPATRICK,F.A., ADKINSON, JR.,N.F. Anaphylactic release of thromboxane A₂, prostaglandin D₂ and prostacyclin from human lung parenchyma. *Am.Rev.Respir.Dis.*, v. 124, p. 402-406, 1981.
- SCHUMAN,E.M., MADISON,D.V. A requirement for the intercellular messenger nitric oxide in long-term potentiation. *Science*, v. 254, p. 1503-1506, 1991.
- SCHWARTZ,J.C., ARRANG,J.M., GARBARG,M., POLLARD,H. A third histamine receptor subtype: Characterization, localization and functions of the H₃ receptor. *Agents Actions*, v. 30, p. 13-23, 1990.
- SCHWARTZ,J.H., GREENBERG,S.M. Molecular mechanisms for memory : second-messenger induced modifications of protein kinases in nerve cells. *Ann.Rev.Neurosci.*, v. 10:, p. 59-476, 1987.
- SCHWARTZ,L.B. Monoclonal antibodies against human mast cell tryptase demonstrate shared antigenic sites on subunits of tryptase and selective localization of the enzyme to mast cells. *J.Immunol.*, v. 134, p. 526-531, 1985.
- _____. Heterogeneity of mast cells in humans. In : GALLI,S.J., AUSTEN,K.F. (Eds.). Mast cell and basophil differentiation and function in health and disease. New York : Raven Press, 1989. p. 93-105.
- _____. Heterogeneity of Human Mast Cells. In : KALINER,M.C., METCALFE,D.D. (Eds.). Lung biology in health and disease. The mast cell in health and disease. New York : Marcel Dekker, 1993. v. 62, p. 219-236.
- SCHWARTZ,L.B., AUSTEN,K.F. Structure and function of the chemical mediators of mast cells. *Prog.Allergy*, v. 34, p. 271-321, 1984.
- SCHWARTZKROIN,P.A., WESTER,K. Long-lasting facilitation of a synaptic potential following tetanization in the *in vitro* hippocampal slice. *Brain Res.*, v. 89, p. 107-119, 1975.
- SECHENOV,I.(1863) apud RACINE,R.J., De JONGE,M. Short-term and long-term potentiation in projection pathways and local circuits. In : LANDFIELD,P.W. et al. (Eds.). Long-term potentiation : from biophysics to behavior. New York : Alan,R.Liss, 1988. p. 167-197.

- SEGAL,D.M., TAUROG,J.D., METZGER,H. Dimeric immunoglobulin E serves as a unit signal for mast cell degranulation. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, v. 74, p. 2993-2998, 1977.
- SEGAL,M. Histamine produces a Ca-sensitive depolarization of hippocampal pyramidal cells *in vitro*. *Neurosci.Lett.*, v. 19, p. 67-71, 1980.
- _____. Histamine modulates reactivity of hippocampal CA₃ neurons to afferent stimulation *in vitro*. *Brain Res.*, v. 213, p. 443-448, 1981.
- _____. Norepinephrine modulates reactivity of hippocampal cells to chemical stimulation *in vitro*. *Exp.Neurol.*, v. 77, p. 86-93, 1982.
- SEIFEN,E. Evidence for participation of catecholamines in cardiac action of ouabain : positive chronotropic effect. *Br.J.Pharmacol.*, v. 51, p. 481-490, 1974.
- SELYANKO,A.A., SKOK,V.I. Activation of acetylcholine receptors in mammalian sympathetic ganglion neurones. *Prog.Brain Res.*, v. 49, p. 241-252, 1979.
- SERHAN,C.N., RADIN,A., SMOLEN,J.E., KORCHAK,H., SAMUELSSON,B., WEISSMAN,G. Leukotriene B₄ is a complete secretagogue in human neutrophils : A kinetic analysis. *Biochem.Biophys.Res.Commun.*, v 107, p. 1006-1012, 1982.
- SERTL,K., KALINER,M. The influence of neurohormones and neuropeptides on mast cells. In: KALINER,M.A., BARNES,P. (Eds.). The airways : neural control in health and disease. New York : Marcel Dekker, 1987. p. 447-466.
- SERTL,K., WIEDERMAN,C., KOWALSKI,M.L., HURTADO,S., PLUTCHOL,J., LINNOILA,I., PERT,C.B., KALINER,M.A. The relationship between receptor distribution in rat lung and the capacity of substance P to stimulate vascular permeability. *Am.Rev.Res.Dis.*, v. 138, p. 151-159, 1988.
- SESTINI,P., BIENENSTOCK,J., CROWE,S.E., MARSHALL,J.S., STEAD,R.H., KAKUTA, Y., PERDUE,M.H. Ion transport in rat tracheal epithelium *in vitro*: role of capsaicin-sensitive nerves in allergic reactions. *Am.Rev.Resp.Dis.*, v. 141, p. 393-397, 1990.
- SEYLE,H. The mast cell. Washington,DC :Butterworth, 1965. 498pp.
- SHALABY,M.R., AGGARWAL,B.B., RINDERKNECHT,E., SVEDERSKY,L.P., FINKLE, B.S., PALLADINO,M.A.Jr. Activation of human polymorphonuclear neutrophil functions by interferon- γ and tumor necrosis factor. *J.Immunol.*, v. 135, p. 2069-2073, 1985.

- SHANAHAN,F., DENBURG,J.A., FOX,J., BIENENSTOCK,J., BEFUS,D. Mast cell heterogeneity : effects on neuroenteric peptides on histamine release. *J.Immunol.*, v. 135, p. 1331-1337, 1985.
- SHARON,P., STENSON,W.F. Enhanced synthesis of leukotriene B₄ by colonic mucosa in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, v. 86, p. 453-460, 1984.
- SHERRINGTON,C.S.(1897) apud HUBBARD,J.I., LLINÁS,R., QUASTEL,D.M.J. Electrophysiological analysis of synaptic transmission. Baltimore : Williams & Wilkins,1969.
- _____. "Integrative Action of the Nervous System".New Haven : Yale University Press, 1906.
- _____. Remarks on some aspects of reflex inhibition. *Proc.Roy.Soc.B.*, v. 80, p. 565-578,1925
- SHIMIZU,T., MIZUNO,N., AMANO,T., HAYAISHI,O. Prostaglandin D₂, a neuro modulator. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA.*, v. 76, p. 6231-6234, 1979.
- SIEGRIST,G., DOLIVO,M., DUNANT,Y., FOROGLON-KERAMEUS,C., RIBAUPIERRE, F., RONILLER,C. Ultrastructure and function of the chromafin cells in the superior cervical ganglion of the cat. *Ultrastruct.Res.*, v. 25, p. 381-407, 1968.
- SIMMET,T., JAFFE,B.M. Inhibition of B-16 melanoma growth *in vitro* by prostaglandin D₂. *Prostaglandins*, v. 25, p. 47-54, 1983.
- SIMONSON,M.S. Endothelins : multifunctional renal peptides. *Physiol.Rev.*, v. 73, p. 375-411, 1993.
- SIMONSSON,B.G., SKOOGH,B-E., BERGH,N.P., ANDERSON,R., SVEDMYR, N. *In vivo* and *in vitro* effects of bradykinin on bronchial motor tone in normal subjects and patients with airways obstruction. *Respiration*, v. 30, p. 378-388, 1973.
- SINGLETON,E.M., CLARCK,S.L. The response of mast cells to Compound 48/80 studied with the electron microscope. *Lab.Invest.*, v. 14, p. 1744-1763, 1965.
- SIRAGANIAN,R.P. An automed continous flow for the extraction and fluorometric analysis of histamine. *Anal.Biochem.*, v. 57, p. 383-394, 1974.
- SIROIS,P., ROY,S., BORGEAT,P. The lung parenchymal strip as a sensitive assay for leukotriene B₄. *Prostaglandins Leukotrienes Med.*, v. 6, p. 153-159, 1981.
- SJOBLOM-WIDFELDT,N Neuro-muscular transmission in blood vessels : phasic and tonic

- components. An in-vitro study of mesenteric arteries of rat. *Acta Physiol.Scand.Suppl.*, v. 587, p. 1-52, 1990.
- SJOERDSMA,A. Catecholamine metabolism in the spontaneously hypertensive rat. In : Spontaneous Hypertension : Its OKAMOTO,K. (Ed.). Pathogenesis and complications. Tokyo : Igaku Shoin, 1972. p. 27-30.
- SKELTON,R.W., MILLER,J.J., PHILLIPS,A.G. Low-frequency stimulation of the perforant path produces long-term potentiation in the dentate gyrus of unanesthetized rats. *Can.J. Physiol.Pharmacol.*,v. 61, p. 1156-1161, 1983.
- SKOFITSCH,G., SAVITT,J.M., JACOBOWITZ,D.M. Suggestive evidence for a functional unit between mast cells and substance P fibers in the rat diaphragm and mesentery. *Histochemistry*, v. 82, p. 5-8, 1985.
- SKOK,V.I. Physiology of autonomic ganglia. Tokio : Igaku Shoin, 1973.
- _____. On the physiological role of slow inhibitory postsynaptic potential in the neurons of sympathetic ganglia. In : REUBEN,J.P., PURPURA,D.P., BENNET,M.V.Z., KANDEL, E.R. (Eds.). Electrobiology of nerve, synapse, and muscle. New York : Raven Press, 1976. p. 123-128.
- SKOK,V.I. Ganglionic transmission, morphology and physiology. In : KHARKEVICH, D.A. (Ed.). Pharmacology of ganglionic transmission. Berlin : Springer Verlag, 1979. p. 9-39.
- SKOK,V.I., SELYANKO,A.A. The effect of local iontophoretic application of acetylcholine and serotonin on the neurons of the rabbit superior cervical ganglion. *Neurophysiology.*, v. 10, p. 519-524, 1978a.
- _____. Ionic mechanisms of excitatory action of the transmitter, the exogenous acetylcholine and serotonin on the neurons of rabbit superior cervical ganglion. *Neurophysiology.*, v. 10, p. 637-644, 1978b.
- SKOU,J.C. William Withering - The man and his work. In :ERDMANN,E., SKOU,J.C. (Eds.). Cardiac glycosides 1785-1985. Biochemistry-pharmacology-clinical relevance. Darmstadt, Germany : Steinkopff Verlag, 1986. p. 1-10.
- SKREDE,K.K., MALTHER-SORENSEN,D. Increased resting and evoked release of transmitter following repetitive tetanization in hippocampus : a biochemical correlate to

- long-lasting synaptic potentiation. *Brain Res.*, v. 208, p. 436-441, 1981.
- SMEDEGARD,G., HEDQVIST,P., DAHLÉN,S.E., REVENAS,B., HAMMARSTRÖM, S., SAMUELSSON,B. Leukotriene C4 affects pulmonary and cardiovascular dynamics in monkey. *Nature*, v. 295, p. 327-329, 1982.
- SMIRK,F.H. The neurogenically maintained component of hypertension. *Circ.Res.*, v. 26-27, Suppl. 11, p. 55-63, 1970.
- SMITH,C.A., RENNICK,D.M. Characterization of a murine lymphokine distinct from interleukin 2 and interleukin3 (IL-3) possessing a T-cell growth factor activity and a mast cell growth factor activity that synergizes with IL-3. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, v. 83, p. 1857-1861, 1986.
- SMITH,D.E. The tissue mast cell. *Int.Rev.Cytol.*, v. 14, p. 327-386, 1963.
- SMITH,M.J.H., FORD-HUTCHINSON,A.W., BRAY,M.A. Leukotriene B : a potential mediator of inflammation. *J.Pharm.Pharmacol.*, v. 32, p. 517-518, 1980.
- SMITH,N.T., GERSHWIN,M.E., HURLEY,E.G. Hemodynamic effects of ouabain on the surgically denervated, autotransplanted dog heart. *Arch.Int.Pharmacodyn.Thér.*, v. 173, p. 95-114, 1968.
- SMITH,P.L., KAGEY-SOBOTKA,A., BLEECKER,E.R., TRAYSTMAN,R., KAPLAN,A.P., GRALNICK,H., VALENTINE,M.D., LICHTENSTEIN,L.M. Physiologic manifestations of human anaphylaxis. *J.Clin.Invest.*, v. 66, p. 1072-1080, 1980.
- SMITH,P.L., CHIOSSONE,D.C., McCAFFERTY,G.P. Characterization of the LTC4 effects on rabbit ileal mucosa *in vitro*. *Arch. Pharmacol.*, v. 341, p. 94-100, 1990.
- SMITH,T.W., HABER,E. Digitalis [second of four parts]. *N.Engl.J.Med.*, v. 289, p. 1010-1015, 1973.
- SMITH,T.W. Digitalis : Mechanisms of action and clinical use. *N.Engl.J.Med.*, v. 318, p. 358-365, 1988.
- SNOW,R.W., WEINREICH,D. Presynaptic and postsynaptic effects of histamine and histamine agonists in the superior cervical ganglion of the rat. *Neuropharmacology.*, v. 26, p. 743-752, 1987.
- SNYDER,D.W., KRELL,R.D. Pharmacological evidence for a distinct leukotriene C₄ receptor

- in guinea-pig lung. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, v. 231, p. 616-622, 1984.
- SNYDER,F. Platelet-activating factor and related acetylated lipids as potent biologically active cellular mediators. *Am.J.Physiol.*, v. 259, p. C697-C708, 1990.
- SNYDER,S.H. Nitric oxide and neurons. *Curr.Opin.Neurobiol.*, v. 2, p. 323-327, 1992.
- SNYDER,S.H., BREDT,D.S. Nitric oxide as a neuronal messenger. *Trends Pharmacol. Sci.*, v. 12, p. 125-128, 1991.
- SOHN,Y.J.;RAINES,A., LEVITT,B. Respiratory actions of the cardiac glycoside, ouabain. *Eur.J.Pharmacol.*, v. 12, p. 19-23, 1970.
- SOTER,N.A., LEWIS,R.A., COREY,E.J., AUSTEN,K.F. Local effects of synthetic leukotrienes (LTC₄; LTD₄; LTE₄ and LTB₄) in human skin. *J.Invest.Dermatol.*, v. 80, p.115-119, 1983.
- SPANN Jr,J.F., SONNENBLICK,E.H., COOPER,T., CHIDSEY,C.A., WILLMAN,V.L., BRAUNWALD,E. Studies on digitalis. XIV. Influence of cardiac norepinephrine stores on the response of isolated heart muscle to digitalis. *Circ.Res.*, v. 19, p. 326-331, 1968.
- SPECTOR,N.A., WILLOUGHBY,P.A. Vasoactive amines in acute inflammation. *Ann.N.Y.Acad.Sci. USA*, v. 116, p. 839-846, 1964.
- SPECTOR,W.G., WILLOUGHBY,P.A. The inflammatory response. *Bacteriol.Rev.*, v. 27, p. 117-154, 1963.
- SPENCE,C.D., COGHLAN,J.P., WHITWORTH,J.A., SCOGGINS,B.A. Digoxin administration enhances the pressor response to aldosterone administration in conscious sheep. *Clin.Exp.Pharmacol.Physiol.*, v. 16, p. 211-222, 1989.
- SQUIRE,L.R. Mechanisms of memory. *Science*, v. 232, p. 1612-1619, 1986.
- STANISZ,A., SCICCHITANO,R., STEAD,R., MATSUDA,H., TOMIOKA,M., DENBURG,J., BIENESTOCK,J. Neuropeptides and immunity. *Am.Rev.Resp.Dis.*, v. 136, p. 48-51, 1987.
- STANTON,P.K., SARVEY,J.M. Blockade of long-term potentiation in rat hippocampal CA₁ region by inhibitors of protein synthesis. *J.Neurosci.*, v. 4, p. 3080-3088, 1984.
- _____. Depletion of norepinephrine but not serotonin, reduces long-term potentiation in the dentate of the rat hippocampal slices. *J.Neurosci.*, v. 5, p. 2169-2176, 1985a.

- _____. The effect of high-frequency electrical stimulation and norepinephrine on cyclic AMP levels in normal versus norepinephrine-depleted rat hippocampal slices. *Brain Res.*, v. 358, p. 343-348, 1985b.
- _____. Blockade of norepinephrine-induced long-lasting potentiation in the hippocampal dentate gyrus by an inhibitor of protein synthesis. *Brain Res.*, v. 361, p. 276-283, 1985c.
- STANTON,P.K., SARVEY,J.M., MOSKAL,J.R. Inhibition of the production and maintenance of long-term potentiation *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, v. 84, p. 1684-1688, 1987.
- STARKEY,J.R., CROWLE,P.K., TAUBENBERGER,S. Mast-cell- deficient W/W^v mice exhibit a decreased rate of tumor angiogenesis. *Int.J.Cancer*, v. 42, p. 48-52, 1988.
- STEAD,R.H., TOMIOKA,M., QUINONEZ,G., SIMON,G.T., FELTEN,S.Y., BIENNESTOCK, J. Intestinal mucosal mast cells in normal and nematode-infected rat intestines are in intimate contact with peptidergic nerves. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, v. 84, p. 2975-2979, 1987.
- STEAD,R.H., TOMIOKA,M., RIDDELL,R.H., BIENENSTOCK,J. Substance P and/or calcitonin gene-related peptide are present in sub-epithelial enteric nerves apposed to intestinal mucosal mast cells. In: MacDERMOTT,R.P. (Ed.). Inflammatory bowel disease : current status and future approach. Amsterdam : Elsevier, 1988. p. 43-48.
- STEAD,R.H., DIXON,M.F., BRAMWELL,N.H., RIDDELL,R.H., BIENENSTOCK,J. Mast cells are closely apposed to nerves in the human gastrointestinal mucosa. *Gastroenterology*, v. 97,p. 575-585, 1989.
- STEAD,R.H., PERDUE,M.H., BLENNERHASSETT,M.G., KAKUTA,Y., SESTINI,P., BIENENSTOCK,J. The innervation of mast cells. In: FREIR,S. (Ed.). The neuroendocrine-immune network. Boca Raton,Florida : CRC Press, 1990. p. 19-37.
- STEAD,R.H., BIENNENSTOCK,J. Cellular Interactions between the Immune and Peripheral Nervous Systems : A Normal Role for Mast Cells? In: BURGER,M.M. et al. (Eds.). Cell to cell interaction. Switzerland : Basel, Karger,1990. p. 170-187.
- STEFFEN,M., ABOUD,M., POTTER,G.K., YUNG,Y.P., MOORE,M.A.S. Presence of tumour necrosis factor or a related factor in human basophil/mast cells. *Immunology*, v. 66,

- p. 445-450, 1989.
- STEINACKER,A. Calcium-dependent presynaptic action of substance P at the frog neuromuscular junction. *Nature*, v. 267, p. 268-270, 1977.
- STELZER,A., TRAVERSE SLATER,N., TEN BRUGGENCATE,G. Activation of NMDA receptors blocks GABAergic inhibition in an *in vitro* model of epilepsy. *Nature*, v. 326, p. 698-701, 1987.
- STERN,D.M., NAWROTH,P.P. Modulation of endothelial cell hemostatic properties by tumour necrosis factor. *J.Exp.Med.*, v. 163, p. 740-745, 1986.
- STEVENS,R.L., AUSTEN,K.F. Recent advances in the cellular and molecular biology of mast cells. *Immunol.Today*, v. 10, p. 381-386, 1989.
- STICKNEY,J.L. Differential species sensitivity to the inhibitory effect of cardiac glycosides on 3-H-1-noradrenaline accumulation by tissue slices. *Arch.Int.Pharmacodyn.Ther.*, v. 224, p. 215-229, 1976.
- STICKNEY,J.L., LUCCHESI,B.R. The effect of sympatholytic agents on the cardiovascular responses produced by the injection of acetylstrophanthidin into the cerebral ventricles. *Eur.J.Pharmacol.*, v. 6, p. 1-7, 1969.
- STICKNEY,J.L., MEYERS,F.H. Digitalis toxicity : Development of cardiac arrhythmias in spontaneously breathing vs. artificially respired dogs. *Am.Heart J.*, v. 85, p. 501-505, 1973.
- STOJILKOVIC,S.S., MERELLI,F., IIDA,T., KRSMANOVIC,Z.L., CATT,K.J. Endothelin stimulation of cytosolic calcium and gonadotropin secretion in anterior pituitary cells. *Science*, v. 248, p. 1663-1666, 1990.
- STRICKER,S. Untersechung uber die Gefasswurzein des Ischiadieus. *Sitzung Kaiserlichen Akad.Wissenschaft Wien*, v. 3:, p. 73-185, 1976.
- STRIPLING,J.L., PATNEAU,D.K., GRANLICH,C.A. Long-term changes in the pyriform cortex evoked potential produced by stimulation of the olfactory bulb. *Soc.Neurosci. Abstr.*, v. 10, p. A26.6, 1984.
- STRIPLING,J.L., PATNEAU,D.K. Selective long-term potentiation in the pyriform cortex. *Soc.Neurosci.Abstr.*, v. 11, p. A225.10, 1985.
- STROBEL,S., MILLER,H.R., FERGUSON,A. Human intestinal mucosal mast cells:

- Evaluation of fixation and staining techniques. *J.Clin.Pathol.*, v. 34, p. 851-858, 1981.
- SUZUKI,T. Protein kinase involved in the expression of long-term potentiation. *Int.J. Biochem.*, v. 26,p. 735-744, 1994.
- SVENSSON,J., HAMBERG,M. Thromboxane A₂ and prostaglandin H₂. Potent Stimulators of the swine coronary artery. *Prostaglandins*, v. 12, p. 943-950, 1976.
- SVENSSON,J., FREDHOLM,B. Vasoconstrictor effect of thromboxane A₂. *Acta Physiol.Scand.*, v. 101, p. 366-368, 1977.
- SWAMY,V.C., HAMLIN.R.L., WOLF,H.H. Influence of myocardial catecholamines on the cardiac action of ouabain. *J.Pharm.Sci.*, v. 54, p. 1505-1507, 1965.
- SWANSON,L.W., HARTMAN,B.K. The central adrenergic system. An immuno fluorescence study of the localization of cells bodies and their afferent connections in the rat utilizing dopamine-beta-hydroxylase as a marker. *J.Comp.Neurol.*, v.163, p. 467-506,1975.
- SWANSON,L.W., TEYLER,T.J., THOMPSON,R.F. Hippocampal long-term potentiation : Mechanism and implications for memory. *Neurosci.Res.Prog.Bull.*, v. 20, p. 613-769, 1982.
- SYDBOM,A. Histamine release from isolated rat mast cell by neurotensin and other peptides. *Agents Actions*, v. 12, p. 91-93, 1982.
- _____. Effects of beta-endorphin on rat mast cells. *Agents and Actions*, v. 23, p. 204-206, 1988.
- SZCZEKLIK,A., GRYGLEWSKI,R.J., NIZANKOWSKI,E., NIZANKOWSKI,R., MUSIAL, J. Pulmonary and antiplatelet effects of intravenous and inhaled prostacyclin in man. *Prostaglandins*, v. 16, p. 654-660, 1978.
- SZENT-GYORGYI,A. Chemical Physiology of Contraction in Body and Heart Muscle. New York : Academic Press, 1953.
- SZURSZEWSKI,J.H., KING,B.F. Physiology of prevertebral ganglia in mammals with special reference to inferior mesenteric ganglion. In : SCHULTZ,S.G., WOOD,J.D. (Eds.). Handbook of physiology - The gastrointestinal system. Bethesda, Maryland, 1989. v.1, p. 519-592.
- TABELI,R. On histochemical studies of the various organs of spontaneously hypertensive rats. *Jpn.Circ.J.*, v. 30, p. 717, 1966.

- TABUCHI, Y., NAKAMURA, M., RAKUGI, H., NAGANO, M., MIKAMI, H., OGIHARA, T. Endothelin inhibits presynaptic adrenergic neurotransmission in rat mesenteric artery. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v. 161, p. 803-808, 1989a.
- TABUCHI, Y., NAKAMARU, M., RAKUGI, H., NAGANO, M., OGIHARA, T. Endothelin enhances adrenergic vasoconstriction in perfused rat mesenteric arteries. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v. 159, p. 1304-1308, 1989b.
- TAI, H.H., TAI, C.L., HOLLANDER, C.S. Biosynthesis of prostaglandins in rabbit kidney medulla. Properties of prostaglandin synthase. *Biochem. J.*, v. 154, p. 257-264, 1976.
- TAIWO, Y.O., LEVINE, D. Characterization of the arachidonic acid metabolites mediating bradykinin and noradrenaline hyperalgesia. *Brain Res.*, v. 458, p. 402-406, 1988.
- TAKAHASHI, K., JONES, P.M., KANSE, S.M., LAM, H.C., SPOKES, R.A., GHATEI, M.A., BLOOM, S.R. Endothelin in the gastrointestinal tract : presence of endothelin-like immunoreactivity, endothelin-1 messenger RNA, endothelin receptors, and pharmacological effect. *Gastroenterology*, v. 99, 1660-1667, 1990.
- TAKAGI, M., ZANUTTI, D., KHALIL, E., BELLET, S. Tolerance of reserpinized dogs to digitalis. *Am. J. Cardiol.*, v. 15, p. 203-205, 1965.
- TAKAGI, Y., FUKASE, M., TAKATA, S., YOSHIMI, H., TOKUNAGA, O., FUJITA, T. Autocrine effect of endothelin on DNA synthesis in human vascular endothelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v. 168, p. 537-543, 1990.
- TAKAI, Y., KISHIMOTO, A., INOUE, M., NISHIZUKA, Y. Studies on a cyclic nucleotide-independent protein kinase and its proenzyme in mammalian tissues. *J. Biol. Chem.*, v. 252, p. 7603-7609, 1977.
- TAKAI, Y., KISHIMOTO, A., IWASA, Y., KAWAHARA, Y., MORI, T., NISHIZUKA, Y. Calcium-dependent activation of a multifunctional protein kinase by membrane phospholipids. *J. Biol. Chem.*, v. 254, p. 3692-3695, 1979.
- TAKASAKI, C., TAMIYA, N., BDOLAH, A., WOLLBERG, Z., KOCHVA, E. Sarafotoxins S6 : several isotoxins from *Atractaspis engaddensis* (burrowing asp) venom that affect the heart. *Toxicon*, v. 26, p. 543-548, 1988.
- TAKASHI, H., NISHIMURA, M., MATSUSAWA, M., IKEGAKI, I., SAKAMOTO, M.,

- YOSHIMURA,M. Centrally induced cardiovascular effects of endothelin in conscious rats. In : SCIENTIFIC MEETING OF THE INTERNATIONAL SOCIETY OF HYPERTENSION, 13, 1990. Montreal. Abstract.
- TAKAYASU,M., KONDO,K., TERA0,S. Endothelin-induced mobilization of Ca^{+2} and the possible involvement of platelet activating factor and thromboxane A_2 . *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v. 160, p. 751-757, 1989.
- TAKEDA,K., BUÑAG,R.D. Sympathetic hyperactivity during hypothalamic stimulation in spontaneously hypertensive rats. *J.Clin.Invest.*, v. 62, p. 642-648, 1978.
- TAKUWA,N., TAKUWA,Y., YANAGISAWA,M., YAMASHITA,K., MASAKI,T. A novel vasoactive peptide endothelin stimulates mitogenesis through inositol lipid turnover in Swiss 3T3 fibroblasts. *J.Biol.Chem.*, v. 264, p. 7856-7861, 1989.
- TAKUWA,Y., OHUE,Y., TAKUWA,N., YAMASHITA,K. Endothelin-1 activates phospholipase C and mobilizes Ca^{2+} from extra- and intracellular pools in osteoblastic cell. *Am.J.Physiol.*, v. 257, p. E797-E803, 1989.
- TANZ,R.D. The action of ouabain on cardiac muscle treatment with reserpine and dichloro isoproterenol. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, v. 144, p. 205-213, 1964.
- TANZ,T.D., CORAM,W.M., BRINING,C., CAVALIERE,T. The inotropic action of ouabain in relation to ventricular norepinephrine content. *Arch.Int.Pharmacodyn. Ther.*, v. 173, p. 294-305, 1968.
- TASAKA,K., MIYAKE,A., SAKUMOTO,T., AONO,T., KURACHI,K. Prostaglandin D_2 induces release of luteinising hormone from the rat pituitary gland without the modulation of hypothalamic luteinising hormone releasing hormone. *J.Endocrinol.*, v. 99, p. 289-292, 1983.
- TATESON,,J.B., MONCADA,S., VANE,J.R. Effect of prostacyclin (PGX) on cyclic AMP concentrations in human platelets. *Prostaglandins*, v. 13, p. 389-396, 1977.
- TAXI,J. Observations on the structure of the ganglionic neurons and synapses of the frog *Rana esculenta l*. In : HYDÉN,H. (Ed.). The neuron. Amsterdam : Elsevier, 1967. p. 221-254.
- TEN EICK,R.E., HOFFMAN,B.F. The effect of digitalis on the excitability of autonomic

- nerves. *J.Pharmacol.Exp. Ther.*, v. 169, p. 95-108, 1969.
- TEO,T.S., WANG,J.H. Mechanism of activation of a cyclic adenosine 3':5'- monophospho diesterase from bovine heart by calcium ions. *J.Biol.Chem.*, v. 248, p. 5950-5955, 1973.
- TERASHITA,Z-I., IMURA,Y., NISHIKAWA,K., SUMIDA,S. Is platelet activating factor (PAF) a mediator of endotoxin shock ? *Eur.J.Pharmacol.*, v. 109, p. 257-261, 1985.
- TERTIAN,G., YUNG,Y-P., GUY-GRAND,D., MOORE,M.A.S. Long-term *in vitro* culture of murine mast cells. I.Description of a growth factor-dependent culture technique. *J. Immunol.*, v. 127, p. 788-799, 1981.
- TEYLER,T.J., DISCENNA,P. Long-term potentiation as a candidate mnemonic device. *Brain Res.Rev.*, v. 7, p. 15-28, 1984.
- _____. The role of hippocampus in memory : A hypothesis. *Neurosci.Behav.Rev.*, v. 9, p. 377-389, 1985.
- THEOHARIDES,T.C. Histamine₂-receptor antagonist in the treatment of urticaria. *Drugs*, v. 37, p. 345-355, 1989.
- THEOHARIDES,T.C, DOUGLAS,W.W.. Somatostatin induces histamine secretion from rat peritoneal mast cells. *Endocrinology*, v. 102, p. 1143-1145, 1978.
- THOMAS,R., GRAY,P., ANDREWS,J. Digitalis : its mode of action, receptor, and structure-activity relationship. *Adv.Drug Res.*, v. 19, p. 311-562, 1990.
- THOMPSON,R.F. Cellular processes of learning and memory in the mammalian CNS. *Ann. Rev.Neurosci.*, v. 6, p. 447-491, 1983.
- THOMPSON-SNIPES,L, DHAR,V., O'GARRA,A., MOORE,K.;BOND,M., RENNICK, D. Cytokine synthesis inhibitory factor is a potent co-factor for mast cell growth. *FASEB J.*, v. 4, Abstr., p. A1705, 1990.
- THOMSON,A.M. A magnesium-sensitive post-synaptic potential in rat cerebral cortex resembles neuronal responses to N-methylaspartate. *J.Physiol.(Lond.)*, v. 370, p. 531-549, 1986.
- THOMSON,A.M., WEST,D.C., LODGE,D. An N-methylaspartate receptor-mediated synapse in rat cerebral cortex : a site of action of ketamine? *Nature*, v. 313, p. 479-481, 1985.

- THOMSON,A.M., WALKER,V.E., FLYNN,D.M. Glycine enhances NMDA-receptor mediated synaptic potentials in neocortical slices. *Nature*, v. 338, p. 422-424, 1989.
- THOREN,P., RICKSTEN,S-E. Recordings of renal and splanchnic sympathetic nervous activity in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Clin.Sci.*, v. 57, p.1975-1995, 1979.
- TING,S., ZWEIMAN,B., LAVKER,R.M. Cromolyn does not modulate human allergic skin reactions *in vivo*. *J.Allergy Clin.Immunol.*, v. 71, p. 12-17, 1983.
- TODA,N. Actions of bradykinin on isolated cerebral and peripheral arteries. *Am.J.Physiol.*, v. 232, p. H267-H274, 1977.
- _____. Different responsiveness of a variety of isolated dog arteries to prostaglandin D₂. *Prostaglandins*, v. 23, p. 99-112., 1982.
- TODA,N., WEST,T.C. The influence of ouabain on cholinergic responses in the sinoatrial node. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*,v . 153, p. 104-113, 1966.
- TOGIAS,A.G., NACLERIO,R.M., PROUD,D., FISH,J.E., ADKINSON,N.F.Jr; KAGEY SOBOTKA,A., NORMAN,P.S., LICHTENSTEIN,L.M. Nasal challenge with cold dry air results in release of inflammatory mediators: Possible mast cell involvement. *J.Clin.Invest.*, v. 76, p. 1375-1381, 1985.
- TOGIAS,A.G., NACLERIO,R.M., WARNER,J.A., PROUD,D., NIMMAGADDA,I., NORMAN, P.S., LICHTENSTEIN,L.MM. Demonstration of inhibition of mediator release from human mast cells by azatadine base : *in vivo* and *in vitro* evaluation. *JAMA*, v. 255, p. 225-229, 1986.
- TOREBJORK,H.E., HALLIN,R.G. Identification of afferent C units in intact human skin. *Brain Res.*, v. 120, p. 387-403, 1974.
- TORP,A. Histamine and mast cells in nerves. *Med.Exptl.*, v. 41, p. 180-182 1961.
- TORTI,F.M., DIECKMANN,B., BEUTLER,B., CERAMI,A., RINGOLD,G.M. A macrophage factor inhibits adipocyte gene expression : an *in vitro* model of cachexia. *Science*, v. 229, p. 867-869, 1985.
- TOSAKA,T., CHICHIBU,S., LIBET,B. Intracellular analysis of slow inhibitory and excitatory postsynaptic potentials in sympathetic ganglia of the frog. *J.Neurophysiol.*, v. 31, p. 396-

- 409, 1968.
- TOTH-KASA,I., JANCZO,G., OBAL,F., HUSZ,S., SIMON,N. Involvement of sensory nerve endings in the cold and heat urticaria. *J.Invest.Dermatol.*, v. 80, p. 34-36, 1983.
- TOUW,K.B., HAYWOOD,J.R., SHAFFER,R.A., BRODY,M.J. Contribution of the sympathetic nervous system to vascular resistance in concious young and adult spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*, v. 4, p. 408-418, 1980.
- TRACEY,K.J., FONG,Y., HESSE,D.G., MANOGUE,K.R., LEE,A.T., KUO,G.C., LOWRY, S.F., CERAMI,A. Anti-cachectin/TNF monoclonal antibodies prevent septic shock during lethal bacteraemia. *Nature*, v. 330, p. 662-664, 1987.
- TRACEY,K.J., WEI,H., MANOGUE,K.R., FONG,Y., HESSE,D.G., NGUYEN,H.T., KUO, G.C., BEUTLER,B., COTRAN,R.S., CERAMI,A. Cachectin/tumor necrosis factor induces cachexia, anemia, and infalmmation. *J.Exp.Med.*, v. 167, p. 1211-1227, 1988.
- TRAVIS,S.P., JEWELL,D.P. The role of platelet-activating factor in the pathogenesis of gastrointestinal disease. *Prostaglandins Leukot.Essent.Fatty Acid*, v. 50, p. 105-113, 1994.
- TRIGGIANI,M., FONTEH,A.N., CHILTON,F.H. Factors that influence the proportions of platelet-activating factor and 1-acyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine synthesized by the mast cell. *Biochem.J.*, v. 286, Pt. 2, p. 497-503, 1992.
- TSUDA,K., TSUDA,S., SHIMA,H., MASUYAMA,Y. Facilitatory effects of ouabain and digitalis-like substance on adrenergic transmission in hypertension. *Am.J.Hyperten.*, v. 2, p. 465-467, 1989.
- TSUKAHARA,N. Synaptic plasticity in the mammalian central nervous system. *Ann. Rev. Neurosci.*, v. 4, p. 351-379, 1981.
- TSUMOTO,T. Long-term potentiation and depression in the cerebral neocortex. *Jpn.J. Physiol.*, v. 40, p. 573-593, 1990.
- TSUMOTO,T., SUDA,K. Cross-depression : an electrophysiological manifestation of binocular competition in the developing visual cortex. *Brain Res.*, v. 168, p. 190-194, 1979.
- TUNG,R., KAGEY-SOBOTKA,A., PLAUT,M., LICHTENSTEIN,L.M. H₂ anti-histamine saugment antigen-induced histamine release from human basophils *in vitro*. *J.Immunol.*, v. 129, p. 2113-2115, 1982.

- TURNER,R.W.,BAIMBRIDGE,K.G., MILLER,J.J. Calcium-induced long-term potentiation in the hippocampus. *Neuroscience*, v. 7, p. 1411-1416, 1982.
- TUVEMO,T., STRANDBERG,K., HAMBERG,M., SAMUELSSON,B. Maintenance of the tone of the human umbilical artery by prostaglandin and thromboxane formation. In : SAMUELSSON,B., PAOLETTI,R. (Ed.). Advances in prostaglandin and thromboxane research. New York : Raven Press,1976, v.2. p. 425-428.
- UBATUBA,F.B., MONCAD,S., VANE,J.R. The effect of prostacyclin (PGI₂) on platelet behaviour, thrombus formation *in vivo* and bleeding time. *Thromb.Diath.Haemorrh.*, v. 41, p. 425-434, 1979.
- UCHIDA,Y., NINOMIYA,H., SAATOME,M., NOMURA,A., OHTSUKA,M., YANAGISAWA,M., GOTO,K., MASAKI,T., HASEGAWA,S. Endothelin, a novel vasoconstrictor peptide, as potent bronchoconstrictor. *Eur.J.Pharmacol.*, v. 154, p. 227-228, 1988.
- UENO,R., NARUMIYA,S., OGOROCHI,T., NAKAYAMA,T., ISHIKAWA,Y., HAYAISHI, O. Role of prostaglandin D₂ in the hypothermia of rats caused by bacterial lipopolysaccharide. *Proc. Natl. Acad.Sci. USA*, v. 79, p. 6093-6097, 1982.
- UNDEM,B.J., BUCKNER,C.K., HARLEY,P.; GRAZIANO,F.M. Smooth muscle contraction and release of histamine and slow-reacting substance of anaphylaxis in pulmonary tissues isolated from guineapig passively sensitized with IgG1 or IgE antibody. *Am.Rev.Respir.Dis.*, v. 131, p. 26-266,1985.
- UNDEM,B.J.,HUBBARD,W.C., CHRISTIAN,E.P., WEINREICH,D. Mast cells in the guinea pig superior cervical ganglion : a functional and histological assessment. *J.Auton.Nerv.Syst.*, v. 30, p. 75-88, 1990.
- UNDEM,B.J., MYERS,A.C., WEINREICH,D. Antigen-induced modulation of autonomic and sensory neurons *in vitro*. *Int.Arch.Allergy Appl.Immunol.*, v. 94, p. 319-324, 1991.
- USKI,T., ANDERSSON,K. Effects of prostanoids on isolated feline cerebral arteries. *Acta Physiol.Scand.*, v. 120, p. 131-136, 1984.
- USUBIAGA,J.E., WIKINSKI,J.A., BESTAL,B., MOYA,F. The effect of lidocaine pretreatment of digitalis intoxication. *Anesth.Analg.*, v. 47, p. 192-198, 1968.

- VANE, J.R. Prostaglandins as mediators of inflammation. In : SAMUELSSON, B., PAOLETTI, R. (Eds.). Advances in prostaglandin and thromboxane research. New York : Raven Press, 1976, v.2. p. 791-801.
- VAN HARREVELD, A., FIFKOVÁ, E. Swelling of dendritic spines in the fascia dentata after stimulation of the perforant fibers as a mechanism of post-tetanic potentiation. *Exp. Neurol.*, v.49, p. 736-749, 1975.
- VANHOUTTE, P.M. The endothelium-modulator of vascular smooth-muscle tone. *N.Engl.J.Med.*, v. 319, p. 512-513, 1988.
- VANHOUTTE, P.M., RUBANYI, G.M., MILLER, V.M., HOUSTON, D.S. Modulation of vascular smooth muscle contraction by the endothelium. *Annu.Rev.Physiol.*, v. 48, p. 307 - 320, 1986.
- VAN RENTERGHEM, C., ROMEY, G., LAZDUNSKI, M. Vasopressin modulates spontaneous electrical activity in aortic cells (A7r5) by acting on three different types of ionic channels. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, v.85, p. 9365-9369, 1989.
- VAPAATALO, H., HACKMAN, R., ANTILLA, P., VAINIONPPA, V., NEUVONEN, P. Effects of 6-hydroxydopamine on spontaneously hypertensive rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch.Pharmacol.*, v. 284, p. 1-13, 1974.
- VARONIER, H.S., PANZANI, R. The effect of inhalation of bradykinin on healthy and atopic (asthmatic) children. *Int.Arch.Allergy*, v. 34, p. 293-296, 1968.
- VESALIUS (1543) apud KARCZMAR, A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR, A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum, 1986. p. 3-26.
- VIANA, A.P. Role of adrenergic mechanisms in cardiac and respiratory effects of digoxin. *Pharmacology*, v. 15, p. 436-444, 1977.
- VIGNE, P., LAZDUNSKI, M., FRELIN, C. The inotropic effect of endothelin-1 on rat atria involves hydrolysis of phosphatidylinositol. *FEBS Lett.*, v. 249, p. 143-146, 1989.
- VIGNE, P., MARSAULT, R., BREITTMAYER, J.P., FRELIN, C. Endothelin stimulates phosphatidylinositol hydrolysis and DNA synthesis in brain capillary endothelial cells. *Biochem.J.*, v. 266, p. 415-420, 1990.

- VIJAYARAGHAVAN,J., SCICLI,A.G., CARRETERS,O.A., SLAUGHTER,C., MOOMAW ,C., HERSH,L.B. The hydrolysis of endothelins y neutral endopeptidase 24.11(enkephalinase). *J.Biol.Chem.*, v. 265, p. 14150-14155, 1990.
- VILLENA,F., MONTOYA,G.A., ROA,J., JOFRE,A., GOSET,C. Mast cells and synaptic transmission in sympathetic ganglia. *Cell Mol.Biol.*, v. 32, p. 253-256, 1986.
- VOLLE,R.L. Muscarinic and nicotinic stimulating actions of autonomic ganglia. In : KARCZMAR, A.G. (Ed.). Ganglionic blocking and stimulating agents. Oxford : Perganon Press, 1966. v. 1 : International Encyclop. Pharmacol.Therap.Internatl.. p. 1-106.
- _____. Cellular pharmacology of autonomic ganglia. In :NARASHASHI,T. Cellular pharmacology of excitable tissue. Springfield : Charles C.Thomas, 1975. p. 89-104.
- VOLLE,R.L., PATTERSON,B.A. cAMP in guinea pig superior cervical ganglia during preganglionic nerve stimulation. *Experientia*, v. 39, p. 1345-1346, 1983.
- VON EULER,U.S. Zur Kenntnis der pharmakologischen Wirkungen von Nativsekreten und Extrakten mannlicher accessorischer Geschlechtsdrusen. *Arch.Exp.Pathol.Pharmakol. (Naunyn-Schmeidebergs)*, v. 175, p. 78-84, 1934.
- VON HALLER,A. (1755) apub KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum, 1986. p.3-26.
- VONKEMAN,H., VAN DORP,D.A. The action of prostaglandin synthetase on 2-arachidonyl lecithin. *Biochim.Biophys.Acta*, v. 164, p. 430-432, 1968.
- VON SMIRNOW,A.E.(1890) apub KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum, 1986. p.3-26.
- VORONIN,L.L. Changes in the excitability of individual neurones after electrical stimulation of the cortical surface. *Dokl.Akad.Nauk. SSRR*, v. 186, p. 474-477, 1969.
- _____. Long-term potentiation in the hippocampus. *Neuroscience*, v. 10, p. 1051-1069, 1983.
- _____. Synaptic plasticity at archicortical and neocortical levels. *Neurofiziologija*, v. 16, p. 651-665, 1985.
- WAAGE,A., HALSTENSEN,A., ESPEVIK,T. Association between tumour necrosis factor in

- serum and fatal outcome in patients with meningococcal disease. *Lancet*, v. 1, p. 355-357, 1987.
- WADA,H.;INAGAKI,N., YAMATODANI,A., WATANABE,T. Is the histaminergic neuron system a regulatory center for whole brain activity? *Trends Neurosci*, v. 14, p. 415-418, 1991.
- WAKEFIELD,D., LLOYD,A. The role of cytokines in the pathogenesis of inflammatory eye disease. *Cytokines*, v. 4, p. 1-5, 1992.
- WALDHERR,R., ;NORONHA,I.L., NIEMIR,Z., KRUGER,C., STEIN,H., STUMM,G. Expression of cytokines and growth factors in human glomerulonephritides. *Pediatr. Nephrol.*, v. 7, p. 471-478, 1993.
- WALLIS,D.I. The apparent multiplicity of ganglionic receptors. In : KALSNER,S. (Ed.). Trends in autonomic pharmacology. Baltimore : Urban and Schwarzenberg, 1979. v.1 p. 21-57.
- WALLIS,D.I., NORTH,R.A. Synaptic input to cells of the rabbit superior cervical ganglion. *Pflügers.Arch.*, v. 374, p. 145-152, 1978.
- WALSH,L.J. Ultraviolet B irradiation of skin induces mast cell degranulation and release of tumour necrosis factor-alpha. *Immunol.Cell Biol.*, v.73, p. 226-233, 1995.
- WALTERS,E.T., BYRNE,J.H. Long-term enhancement produced by activity-dependent modulation of Aplysia sensory neurons. *J.Neurosci.*, v. 5, p. 662-672, 1985.
- WANG,S.C., BORISON,H.L. A new concept of organization of the central emetic mechanism : recent studies on the sites of action of apomorphine, copper sulfate and cardiac glycosides. *Gastroenterology*, v. 22, p. 1-12, 1952.
- WANIEWSKI,R.A., SURIA,A. Alterations in gamma-aminobutyric acid content in the rat superior cervical ganglion and pineal gland. *Life Sci.*, v. 21, p. 1129-1141, 1977.
- WARDLAW,A.J., HAY,H., CROMWELL,O., COLLINS,J.V., KAY,A.B. Leukotrienes, LTC₄ and LTB₄ in bronchoalveolar lavage in bronchial asthma and other respiratory diseases. *J.Allergy Clin.Immunol.*, v. 84, p. 19-26, 1989.
- WARNER,T.D., MITCHELL,J.A., De NUCCI,G., VANE,J.R. Endothelin-1 and endothelin-3 release EDRF from isolated perfused arterial vessels of the rat and rabbit. *J.Cardiovasc.*

- Pharmacol.*, v. 13, Suppl. 5, p. S85-S88, 1989.
- WASSERMAN, M.A., DUCHARME, D.W., GRIFFIN, R.L., DeGRAAF, G.L., ROBINSON, F.G. Brochopulmonary and cardiovascular effects of prostaglandin D₂ in the dog. *Prostaglandins*, v. 13, p. 255-269, 1977.
- WASSERMAN, S.I. Mediators of immediate hypersensitivity. *Allergy Clin. Immunol.*, v. 72, p. 101-115, 1984.
- WEAVER, L.C., AKERA, T., BRODY, T.M. Primary sites of drug action on the sympathetic nervous system. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, v. 197, p. 1-9, 1976.
- WEBER, E., WEBER, E.H. (1845) apud KARCZMAR, A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR, A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum, 1986. p.3-26.
- WEDMORE, C.V., WILLIAMS, T.J. The control of vascular permeability by polymorphonuclear leucocytes in inflammation. *Nature*, v. 284, p. 646-650, 1980.
- WEIGHT, F.F., VOTAVA, J. Slow synaptic excitation in sympathetic ganglion cells : evidence for synaptic inactivation of potassium conductance. *Science*, v. 170, p. 755-757, 1970.
- WEIGHT, F.F., PADJEN, A. Slow synaptic inhibition : evidence for synaptic inactivation of sodium conductance in sympathetic ganglion cells. *Brain Res.*, v. 55, p. 219-224, 1973a.
- _____. Acetylcholine and slow synaptic inhibition in frog sympathetic ganglion cells. *Brain Res.*, v. 55, p. 225-228, 1973b.
- WEIHE, E., MUELLER, S., FINK, T., ZENTEL, H.J. Tachykinins, calcitonin gene-related peptide and neuropeptide Y in nerves of the mammalian thymus : Interactions with mast cells in autonomic and sensory neuroimmunomodulation? *Neurosci. Lett.*, v. 100, p. 77-82, 1989.
- WEINBERG, S.J., HALEY, T.J. Centrally mediated effects of cardiac drugs : Strophanthin-k, quinidine, and procainamide. *Cir. Res.*, v. 3, p. 103-109, 1955.
- WEINREICH, D. Ionic mechanism of post-tetanic potentiation at the neuromuscular junction of the frog. *J. Physiol. (Lond.)*, v. 212, p. 431-446, 1971.
- _____. Multiple sites of histamine storage in superior cervical ganglia. *Exp. Neurol.*, v. 90, p. 36-43, 1985.

- WEINREICH,D., UNDEM,B.J. Immunological regulation of synaptic transmission in isolated guinea pig autonomic ganglia. *J.Clin.Invest.*, v. 79, p. 1529-1532, 1987.
- WEINREICH,D., UNDEM,B.J., LEAL-CARDOSO,J.H. Functional effects of mast cell activation in sympathetic ganglia. *Ann.N.Y.Acad.Sci. USA*, v. 664, p. 293-308, 1992.
- WEINREICH,D., UNDEM,B.J., TAYLOR,G., BARRY,M.F. Antigen-induced long-term potentiation of nicotinic synaptic transmission in the superior cervical ganglion of guinea pig. *J.Neurophysiol.*, v. 73, p. 2004-2016, 1995.
- WEISS,J.M., DRAZEN,J.H., COREY,E.J., McFADDEN,E.R.Jr., WELLER,P.W., LEWIS, R.A., AUSTEN,K.F. Bronchoconstrictor effects of leukotriene C in humans. *Science*, v. 216, p. 196-198, 1982.
- WEISS,J.M., DRAZEN,J.H., McFADDEN,E.R.Jr., WELLER,P., COREY,E.J., LEWIS, R.A., AUSTEN,K.F. Airway constriction in normal humans produced by inhalation of leukotriene D. Potency, time, cause, and effect of aspirin therapy. *J.Am.Med.Assoc.*, v. 249, p. 2814-2817, 1983.
- WEISS,S. The effects of the digitalis bodies on the nervous system : An analysis of the mechanism of cardiac slowing, nausea, and vomiting, psychosis and visual disturbances following digitalis therapy. *Med.Clin.North Am.*, v. 15, p. 963-982, 1932.
- WELLS,J.A., DRAGSTEDT,C.A., RALL,J.E., RUGE,D.A. Inhibition of the cardio-inhibitory action of acetylcholine by digitalis. *Fed.Proc.*, v. 2, p. 3-94, 1943.
- WERLE,E., SCHAUER,A. Histamin in Nerven IV. *Z.Ges.Exp.Med.*, v. 127, p. 16-21, 1956.
- WERSHIL,B.K., GALLI,S.J. Gastrointestinal Mast Cells : New Approaches for Analyzing their Function *in vivo*. *Gastroenterol.Clin. North Am.*, v. 20, p. 613-627, 1991.
- WEST,G.B. Thoughts on mast cells histamine release and immunoglobulin E. *Int.Arch. Allergy Appl.Immunol.*, v. 78, p. 221-223, 1985.
- WESTFALL,T.C., MELDRUM,M.J. Alterations in the release of norepinefrine at the vascular neuroeffector junction in hypertension. *Annu.Rev.Pharmacol.Toxicol.*, v. 25, p. 621-641, 1985.
- WHITE,D.M., HELME,R.D. Release of substance P from peripheral nerve terminals following electrical stimulation of the sciatic nerve. *Brain Res.*, v. 336, p. 27-31, 1985.

- WHITE,M.V. Mast Cells Secretagogues : Histamine-releasing factors and neuropeptides. In : KALINER,M.C., METCALFE,D.D. (Eds.). Lung biology in health and disease. The mast cell in health and disease. New York : Marcel Dekker, 1993. v. 62, p. 109-128.
- WHITE,M.V., KALINER,M.A. Histamine. In : GALLIN,J.I. et al. (Eds.). Inflammation : basic principles and clinical correlates. New York : Raven Press, 1988a. p. 169-193.
- _____. Histamine. In : BARNES,P.J. et al. (Eds.). Asthma : basic mechanisms and clinical management. New York : Academic, 1988b. p. 231-257.
- WHITTLE,B.J.R., MONCADA,S., VANE,J.R. Comparison of the effects of prostacyclin (PGI₂), prostaglandin E₁ and D₂ on platelet aggregation in different species. *Prostaglandins*, v. 16, p. 373-388, 1978.
- WHITTLE,B.J.R., MONCADA,S., MULLANE,K., VANE,J.R. Platelet and cardiovascular activity of the hydantoin BW245C, a potent prostaglandin analogue. *Prostaglandins*, v. 25,p. 205-223, 1983.
- WHITTLE,B.J.R., ESPLUGUES,J.V. Induction of rat gastric damage by the endothelium-derived peptide endothelin. *Br.J.Pharmacol.*, v. 95, p. 1011-1013, 1988.
- WHYTT,R.(1751) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum, 1986. p.3-26.
- WHYTT,R.(1765) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum, 1986. p.3-26.
- WIDDICOMBE,J.H., COLEMAN,D.L., FINKBEINER,W.E., TUET,I.K. Electrical properties of monolayers cultured from cells of human tracheal mucosa. *J.Appl.Physiol.*, v. 58, p. 1729-1735, 1985.
- WIERASZKO,A., LI,G., KOMECKI,E., HOGAN,M.V., EHRLICH,Y.H. Long-term potentiation in the hippocampus induced by platelet-activating factor. *Neuron*, v. 10, p. 553-557, 1993
- WIESNER-MENZEL,L., SCHULZ,B., VAKILZADEH,F., CZARNETZKI,B.M. Electron microscopical evidence for a direct contact between nerve fibres and mast cells. *Acta Derm.*

- Venereol. (Stockh)*, v. 61, p. 465-469, 1981.
- WIGSTRÖM, H., SWANN, J.W., ANDERSEN, P. Calcium dependency of synaptic long-lasting potentiation in the hippocampal slice. *Acta Physiol.Scand.*, v. 105, p. 126-128, 1979.
- WIKLUND, M.P., OHLEN, A., CEDERQVIST, B. Inhibition of adrenergic neuroeffector transmission by endothelin in the guinea-pig femoral artery. *Acta Physiol.Scand.*, v. 134, p. 311-312, 1988.
- WIKLUND, N.P., WIKLUND, C.U., CEDERQVIST, B., OHLEN, A., HEDQVIST, P., GUSTAFSSON, L.E. Endothelin modulation of neuroeffector transmission in smooth muscle. *J.Cardiovasc.Pharmacol.*, v. 17, Suppl. 7, p. S335-S339, 1991.
- WILHITE, B.L., TEYLER, T.J., HENDRICKS, C. Functional relations of the rodent claustral-entorhinal-hippocampal system. *Brain Res.*, v. 365, p. 54-60, 1986.
- WILLIAMS, J.H., BLISS, T.V.P. Induction but not maintenance of calcium-induced long-term potentiation in dentate gyrus and area CA1 of the hippocampal slice is blocked by nordihydroguaiaretic acid. *Neurosci.Lett.*, v. 88, p. 81-85, 1988.
- WILLIAMS, J.H., ERRINGTON, M.D., LYNCH, M.A., BLISS, T.V.P. Arachidonic acid induces a long-term activity-dependent enhancement of synaptic transmission in the hippocampus. *Nature*, v.341, p. 739-742, 1989.
- WILLIAMS, J.M., FELTEN, D.L. Sympathetic innervation of murine thymus and spleen : A comparative histofluorescence study. *Anat.Rec.*, v. 199, p. 531-542, 1981.
- WILLIAMS, S., JOHNSTON, D. Muscarinic depression of long-term potentiation in CA3 hippocampal neurons. *Science*, v. 242, p. 84-87, 1988.
- WILLIAMS, T., CHIBA, T., BLACK, A.C., BHALLA, R.C., JEW, J. The SIF cells as a functional dopamine-releasing interneuron, in the rabbit superior cervical ganglion. In :ERÄNKÖ, O. (Ed.). *SIF cells*. Washington, D.C. : Government Printing Office, 1976. p. 143-162.
- WILLIAMS, T.H., PALAY, S.L. Ultrastructure of the small neurons in the superior cervical ganglion. *Brain Res.*, v. 15, p. 17-34, 1969.
- WILLIAMS, T.H., BLACK Jr., A.C, CHIBA, T., BHALLA, R.C. Morphology and biochemistry of small intensely fluorescent cells of sympathetic ganglia. *Nature*, v. 256, p. 315-317, 1975.

- WILLIS,T.(1664) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum, 1986. p.3-26.
- WILLMAN,V.L., COOPER,T., KAISER,G.C., HANLON,C.R. Cardiovascular response after cardiac autotransplant in primate. *Arch.Surg.*, v. 91, p. 805-806, 1965.
- WILSON,D.A. A comparison of the postnatal development of post-activation potentiation in the neocortex and dentate gyrus of the rat. *Dev.Brain Res.*, v. 16, p. 61-68, 1984.
- WILSON,R.C., LEVY,W.B., STEWARD,O. Functional effects of lesion-induced plasticity : Long-term potentiation in the normal and lesion-induced tempordentate connections. *BrainRes.*, v. 176, p. 65-78, 1979.
- WINKLER,J.D., SARAU,H.M., FOLEY,J.J., CROOKE,S.T. Leukotriene D₄-induced homologous desensitization in basal and differentiated U-937 cell : characterization with the partial agonist leukotriene E₄ and assessment of receptor reserve. *J.Pharmacol. Exp.Ther.*, v. 247, p. 54-62, 1988.
- WINSLOW,J.B.(1732) apud KARCZMAR,A.G. History and anatomical bases of ganglionic and enteric transmission. In : KARCZMAR,A.G. et al. (Eds.). Autonomic and enteric ganglia. Transmission and its pharmacology. New York : Plenum, 1986. p.3-26.
- WINSON,J., DAHL,D. Action of norepinephrine in the dentate gyrus. II. Iontophoretic studies. *Exp.Brain Res.*, v. 59, p. 497-506, 1985.
- WITHERING,W.(1785) An Account of the Foxglove and Some of its Medical Uses : With practical remarks on dropsy and other diseases. In : KELLY,E.M. (Ed.). Medical classics. Baltimore: The Williams & Wilkins,1937. v.2, p.305-443.
- WLODAWER,P., SAMUELSSON,B. On the organization and mechanism of prostaglandin synthetase. *J.Biol.Chemistry*, v. 248, p. 5673, 1973.
- WODNAR-FILIPOWICZ,A, ;HEUSSER,C.H., MORONI,C. Production of the haemopoietic growth factors GM-CSF and interleukin-3 by mast cells in response to IgE receptor-mediated activation. *Nature*, v. 339, p. 150-152, 1989.
- WOJTOWICZ,J.M., ATWOOD,H.L. Long-term facilitation alters transmitter releasing properties at the crayfish neuromuscular junction. *J.Neurophysiol.*, v. 55, p. 484-494, 1986.

- WOLFE,L.S., ROSTWOROWSKI,K., PAPPUS,H.M. The endogenous biosynthesis of prostaglandins by brain tissue *in vitro*. *Can.J.Biochem.*, v. 54, p. 629-640, 1976a.
- WOLFE,L.S., ROSTWOROWSKI,K., MARION,J. Endogenous formation of the prostaglandin endoperoxide metabolite, thromboxane A₂, by brain tissue. *Biochem.Biophys. Res.Comm.*, v. 70, p. 907-913, 1976b.
- WOLLBERG,Z., SHABO-SHINA,R., INTRATOR,N., BDOLAH,A., KOCHVA,E., SHAVIT,G., ORON,Y., VIDNE,B.A., GITTER,S. A novel cardiotoxic polypeptide from de venom of *Atractaspis engaddensis* (burrowing asp) : cardiac effects in mice and isolated rat and human heart preparations. *Toxicon*, v. 26, p. 525-534, 1988.
- WONG,R.K.S., PRINCE,D.A. Participation of calcium spikes during intrinsic burst firing in hippocampal neurons. *Brain Res.*, v. 159, p. 385-390, 1978.
- WOOD,J.D. Histamine signals in enteric neuroimmune interactions. *Ann.N.Y.Acad.Sci. USA*, v. 664, p. 275-283, 1992.
- WRIGHT,C.E., FOZARD,J.R. Regional vasodilatation is a prominent feature of the haemodynamic response to endothelin in anaesthetized, spontaneously hypertensive rats. *Eur.J.Pharmacol.*, v. 155, p. 201-203, 1988.
- YAMAGUCHI,I., KOPIN,I.J. Blood pressure plasma catecholamines, and sympathetic outflow in pithed SHR and WKY rats. *Am.J.Physiol.*, v. 283, p. H365-H372, 1980.
- YAMAMOTO,C., CHUGO,T. Long-term potentiation in thin hippocampal sections studied by intracellular and extracellular recordings. *Expl.Neurol.*, v. 58, p. 242-250, 1978.
- YAMAMOTO,C., SAWADA,S. Important factors in induction of long-term potentiation in thin hippocampal sections. *Exp.Neurol.*, v.74, p. 122-130, 1981.
- YAMAMOTO,C., SAWADA,S., KAMIYA,H. Quantal analysis of synaptic plasticity in the hippocampus. *Biomed.Res.*, v. 10, Suppl. 2, p. 109-110, 1989.
- YAMATODANI,A., MAEYAMA,K, ;WATANABE,T., WADA,H., KITAMURA,Y. Tissue distribution of histamine in a mutant mouse deficient in mast cells : clear evidence for the presence of non-mast cell histamine. *Biochem.Pharmacol.*, v. 31, p. 305-309, 1982.
- YAMORI,Y., LOVENBERG,W., SJOERDSMA,A. Norepinephrine metabolism in brainstem of spontaneously hypertensive rats. *Science*, v. 170, p. 544-546, 1970.

- YAMORI, Y., YANABE, H., DeJONG, W., LOVENBERG, W., SJOERDSMA, A. Effect of tissue norepinephrine depletion by beta-hydroxydopamine on blood pressure in spontaneously hypertensive rat. *Eur.J.Pharmacol.*, v. 17, p. 135-140, 1972.
- YANAGISAWA, M., MURIHARA, H., KIMURA, S., TOMOBE, Y., KOBAYASHI, M., MITSUI, Y., YAZAKE, Y., GOTO, K., MASAKI, T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*, v. 332, p. 411-415, 1988a.
- YANAGISAWA, M., INOUE, A., ISHIKAWA, T., KASUYA, Y., KIMURA, S., KUMAGAYE, S.I., NAKAJIMA, K., WATANABE, T.X., SAKAKIBARA, S., GOTO, K., MASAKI, T. Primary structure, synthesis, and biological activity of rat endothelin, an endothelium-derived vasoconstrictor peptide. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, v. 85, p. 6964-6967, 1988b.
- YANAGISAWA, M., INOUE, A., ISHIKAWA, T., KASUYA, Y., KIMURA, S., MUMAGAYA, S., NAKAJIMA, K., WATANABE, T.X., SAKAKIBARA, S., GOTO, K., MASAKI, T. Primary structure, synthesis, and biological activity of rat endothelin, an endothelium-derived vasoconstrictor peptide. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, v. 85, p. 6964-967, 1989.
- YANG, B.C., NICHOLS, W.W., LAWSON, D.L., MEHTA, J.L. 5-hydroxytryptamine potentiates vasoconstrictor effect of endothelin-1. *Am.J.Physiol.*, v. 262, p. H931-H936, 1992.
- YAROWSKI, P., WEINREICH, D., SNOW, R. Abnormal biophysical properties of autonomic neurons in spontaneously hypertensive rats. *Soc.Neurosci.*, v. 7., Abstr., p. 215, 1981.
- YAROWSKI, P., WEINREICH, D. Loss of accommodation in sympathetic neurons from spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*, v. 7, p. 268-276, 1985.
- YAWASAKI, Y., SHIMAMURA, O., KIZU, A., NAKAGAWA, M., IJICHI, H. IgE-mediated ¹⁴C-serotonin release from rat mast cells modulated by morphine and endorphins. *Life Sci.*, v. 31, p. 471-478, 1982.
- YOKOKAWA, K., TAHARA, H., KOHNO, M., MURAKAMI, K., YASUNARI, K., NAKAGAWA, K., HAMADA, T., OTANI, S., YANAGISAWA, M., TAKEDA, T. Hypertension associated with endothelin-secreting malignant hemangioendothelioma. *Ann. Int.Med.*, v. 114, p. 213-215, 1991.

- YONEHARA,N., SHIBUTANI,T., INOKI,R. Contribution of substance P to heat-induced edema in rat paw. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, v. 242, p. 1071-1076, 1987.
- YONEI,Y., ODA,M., NAKAMURA,M., WATANABE,N.H., TSUKADA,N., KOMATSU, H.K., AKAIWA,Y., ICHIKAWA,E., KANEKO,K., ASAKURA,H., FUJIWARA,T., TSUCHIYA,M. Evidence for direct interaction between the cholinergic nerve and mast cells in rat colonic mucosa. An electron microscope cytochemical and autoradiographic study. *J.Clin.Electron Microsc.* v. 18, p. 560-561, 1985.
- YOSHIKAWA,T., SHINMI,O., GIAID,A., YANAGISAWA,M., GIBSON,S., KIMURA, S., UCHIGAMA,Y., POLAK,J.M., MASAKI,T., KANAZAWA,I. Endothelin : a novel peptide in the posterior pituitary system. *Science*, v. 247, p. 462- 464, 1990.
- YOSHIKAWA,M., YASUYOSHI,O., SOUZA,A., SUGIYAMA,T. Pressor effect of endothelin in conscious rats. *Circulation (Abstr.)*, v. 78, p. II-266, 1988.
- YOUMANS,W.B. Innervation of the gastrointestinal tract. In : HANDBOOK of Physiology, Sect.6 : Alimentary Canal. Washington : Amer.Physiol.Society, 1968. p. 1655-1664.
- YOUNG,J.D.E., LIU,C.C., BUTLER,G., COHN,Z.A., GALLI,S.J. Identification, purification, and characterization of a mast cell-associated cytolytic factor related to tumor necrosis factor. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, v. 84, p. 9175-9179, 1987.
- YUAN,C.M., MANUNTA,P., HAMLIN,J.M., CHEN,S., BOHEN,E., YEUN,J., HADDY,F. J., PAMNANI,M.B. Long-term ouabain administration produces hypertension in rats. *Hypertension*, v. 22, p. 178-187, 1993.
- ZENGEL,J.E., MAGLEBY,K.L., HORN,J.P., McAFEE,D.A., YAROWSKY,P.J. Facilitation, augmentation and potentiation of synaptic transmission at the superior cervical ganglion of the rabbit. *J.Gen.Physiol.*, v. 76, p. 213-231, 1980.
- ZENGEL,J.E., MAGLEBY,K.L. Changes in miniature endplate potential frequency during repetitive nerve stimulation in the presence of Ca^{2+} , Ba^{2+} , and Sr^{2+} at the frog neuromuscular junction. *J.Gen.Physiol.*, v. 77, p. 503-529, 1981.
- ZHUO,M., SMALL,S.A., KANDEL,E.R., HAWKINS,R.D. Nitric oxide and carbon monoxide produce activity-dependent long-term synaptic enhancement in hippocampus. *Science*, v 260, p. 1946-1950, 1993.

- ZIPSER,R.D., NAST,C.C., LEE,M., KAO,H.W., DUKE,R. *In vivo* production of leukotriene B₄ and leukotriene C₄ in rabbit colitis. *Gastroenterology*, v. 92, p. 33-39, 1987.
- ZSEBO,K.M., WYPYCH,J., McNIECE,I.K., LU,H.S., SMITH,K.A., KARKARE,S.B., SACHDEV,R.K., YUSCHENKOFF,V.N., BIRKETT,N.C., WILLIAMS,L.R., SATYAGAI,V.N., TUNG,W., BOSSELMAN,R.A., MUNDIAZ,E.A., LANGLEY, K.E. Identification, purification, and biological characterization of hematopoietic stem cell factor from buffalo rat liver-conditioned medium. *Cell*, v. 63, 195-201, 1990.
- ZUCALLI,J.R., ELFENBEIN,G.J., BARTH,K.C., DINARELLI,C.A. Effects of human IL-2 and human TNF on human T lymphocyte colony formation. *J.Clin.Invest.*, v. 80, p. 772-777, 1987.
- ZUCKER,R.S. Short-term synaptic plasticity. *Ann.Rev.Neurosci.*, v. 12, p. 13-31, 1989.