

# Farmacologia Cardiovascular e Renal

## 01.001

**A VIA L-ARGININA-ÓXIDO NÍTRICO EM UM MODELO ANIMAL DE HIPERTENSÃO.** L.F.A. Silva, M.A. Antunes, T.M.C. Brunini, P.F. Reis, M.B. Moss, M. Lemos Neto, R. Soares de Moura, A.C. Mendes Ribeiro. Laboratório de Transporte de Membrana, Departamento de Farmacologia e Psicobiologia, UERJ, Rio de Janeiro.

**Introdução:** A liberação basal de óxido nítrico (NO) pelas células endoteliais modula o tonus vascular sistêmico, e a administração de inibidores da síntese de NO resulta num aumento da pressão arterial em ratos normotensos. A evidência experimental sugere que uma redução na atividade biológica de NO está envolvida na fisiopatologia da hipertensão. Nosso grupo demonstrou anteriormente que, em eritrócitos de pacientes hipertensos, a redução no transporte de L-arginina, precursor da síntese de NO, está reduzida.

**Métodos:** No presente estudo, investigamos o transporte de L-arginina em eritrócitos e as concentrações plasmáticas dos análogos de L-arginina (ADMA e L-NMMA), através de cromatografia reversa de alta performance, em 6 ratos espontaneamente hipertensos (SHR) e 6 ratos Wistar-Kyoto (WKY) normotensos, ambos com 20 semanas de idade.

**Resultados:** A concentração plasmática de ADMA (média  $\pm$  DP), foi similar em ratos WKY normotensos ( $10 \pm 0.7 \mu\text{M}$ ) e SHR ( $8 \pm 0.7 \mu\text{M}$ ,  $p > 0.05$ , teste Mann-Whitney). Os níveis plasmáticos de L-NMMA não diferiram entre SHR ( $15 \pm 2 \mu\text{M}$ ) e controles ( $17 \pm 1 \mu\text{M}$ ). Em eritrócitos, a capacidade máxima de transporte ( $V_{\text{max}}$ ) de L-arginina,  $\mu\text{moles/Lcells/h}$ , através do sistema  $y^+L$ , estava significativamente reduzida em SHR ( $20 \pm 8$ ) comparado com controles ( $124 \pm 33$ ),  $p = 0.02$ . A afinidade ( $K_m$ ), do sistema  $y^+L$ , estava aumentada em hipertensão comparado com controles ( $13 \pm 4$  V.S.  $117 \pm 27 \mu\text{M}$ ),  $p = 0.01$ . Tanto o  $V_{\text{max}}$  como o  $K_m$  do sistema de transporte  $y^+$  não foram afetados pela hipertensão.

**Discussão:** Nossos resultados demonstram que, a redução no aporte de L-arginina, através do sistema  $y^+L$ , pode ser o mecanismo comum explicando a disfunção endotelial, dependente de NO, observada tanto em modelos animais como humanos de hipertensão. Apoio financeiro: CNPq.

## 01.002

**PARTICIPAÇÃO DO ENDOTÉLIO NA RESPOSTA RELAXANTE DO ISOPROTERENOL E FORSCOLINA.** Rascado, R.R. & Bendhack, L.M. Laboratório de Farmacologia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP. 14040-903 Ribeirão Preto, SP.

**Introdução:** A formação de AMPc via adenilato-ciclase pode ser ativada com agonistas beta-adrenérgicos como o isoproterenol ou pela ativação direta da enzima com forskolina, nas células endoteliais e do músculo liso vascular. **Objetivo:** Analisar a participação do endotélio na produção do AMPc via agonista beta adrenérgico ou pela ativação direta da adenilato-ciclase. **Métodos e Resultados:** Anéis de aortas de ratos com ou sem endotélio, foram contraídos com nora-

drenalina  $100 \text{ nM}$  ( $EC_{50}$ ) e curvas concentração-efeito cumulativas de relaxamento foram feitas para forskolina ou isoproterenol ( $0.1 \text{ nM}$  a  $10 \mu\text{M}$ ). Os experimentos com isoproterenol foram feitos também após a incubação por 20 min com o beta-bloqueador, propranolol  $10 \mu\text{M}$ . Foram analisados os valores de efeito máximo (EM) e  $pD_2$ . As aortas com endotélio foram totalmente relaxadas com forskolina ( $102.1 \pm 1.06\%$ ,  $pD_2$ :  $4.67 \pm 0.06$ ;  $n = 6$ ) e sem endotélio ( $101.1 \pm 0.45\%$ ,  $pD_2$ :  $4.69 \pm 0.01$ ;  $n = 6$ ). Com isoproterenol, em aortas com endotélio, o EM: foi de  $93.39 \pm 2.38\%$  e  $pD_2$ :  $7.56 \pm 0.11$  ( $n = 7$ ) e sem endotélio (EM:  $90.57 \pm 2.60\%$ ,  $pD_2$ :  $6.51 \pm 0.07$ ;  $n = 10$ ). O propranolol reduziu o valor de  $pD_2$  para  $5.44 \pm 0.12$ ; sem alterar o efeito máximo (EM:  $90.19 \pm 1.34\%$ ,  $n = 8$ ). A remoção do endotélio potencializou o efeito inibitório do propranolol (EM:  $41.26 \pm 10.40\%$ ;  $n = 8$ ). **Conclusões:** O efeito relaxante da forskolina é independente do endotélio e o relaxamento induzido pelo isoproterenol apresenta um componente dependente e um componente independente do endotélio. Apoio Financeiro: CAPES e PRONEX.

## 01.003

**SUPERSENSIBILIDADE AO S-NITROSO GLUTATIONA E AO NITROPRUSSIATO DE SÓDIO NA AORTA DE RATOS TRATADOS COM L-NAME.** Grifoni, S.C. & Bendhack, L.M. Laboratório de Farmacologia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto -USP. 14040-903, Ribeirão Preto, SP.

**Introdução:** Análogos da L-arginina, como o L-NAME, são inibidores competitivos da enzima NOS, e quando administrados oralmente produzem hipertensão, demonstrando que o endotélio vascular têm importante função na regulação da pressão arterial. O óxido nítrico (NO) promove redução da  $[\text{Ca}^{2+}]$  intracelular da célula do músculo liso vascular favorecendo assim o relaxamento vascular. O efeito relaxante do NO endógeno pode ser mimetizado por drogas nitrovasodilatadoras. **Objetivos:** Estudar os efeitos dos doadores de NO, S-nitroso glutationa (GSNO) e nitroprussiato de sódio (NPS), sobre a liberação de  $\text{Ca}^{2+}$  do retículo sarcoplasmático (RS) via receptores de  $\text{IP}_3$  e de rianodina na aorta de ratos tratados cronicamente com L-NAME. **Métodos e Resultados:** Ratos Wistar (200g) foram tratados durante 3 sem com L-NAME ( $50 \text{ mg/Kg/dia}$ , T) na água de beber ou somente com água (C). Só foram utilizados os ratos T que apresentaram pressão caudal superior a  $150 \text{ mmHg}$ . Anéis de aorta de ratos C e T foram montados para registro da tensão isométrica. As preparações foram contraídas com fenilefrina ( $\text{Phe-1} \mu\text{M}$ ) ou cafeína ( $30 \text{ mM}$ ) em meio zero-  $\text{Ca}^{2+}$ , em presença ou ausência de NPS ( $100 \text{ nM}$ ) ou GSNO ( $10 \mu\text{M}$ ). O tratamento crônico com L-NAME promoveu um aumento da contração fásica para Phe em aorta de ratos ( $C = 0.35 \pm 0.05 \text{ g}$ ,  $n = 5$  e  $T = 0.57 \pm 0.06 \text{ g}$ ,  $n = 6$ ). A pré-incubação com NPS ou GSNO promoveu inibição maior da contração fásica para a Phe em T (NPS =  $64.01 \pm 2.87 \%$ ,  $n = 6$  e GSNO =  $52.81 \pm 7.37 \%$ ,  $n = 6$ ) do que em C (NPS =  $52 \pm 2.62 \%$ ,  $n = 5$  e GSNO =  $44.29 \pm 13.04 \%$ ,  $n = 5$ ). Por outro lado, o tratamento crônico com L-NAME não alterou a contração

fásica para cafeína ( $C = 0.42 \pm 0.04 \text{ g}$ ,  $n = 12$  e  $T = 0.46 \pm 0.05 \text{ g}$ ,  $n = 13$ ), e a pré-incubação com NPS promoveu inibição de forma semelhante sobre a contração fásica estimulada com cafeína em C ( $58.13 \pm 7.14 \%$ ,  $n = 5$ ) e em T ( $51.05 \pm 5.54 \%$ ,  $n = 6$ ). Resultados semelhantes foram obtidos quando as preparações foram pré-incubadas com GSNO ( $C = 66.19 \pm 6.03 \%$ ,  $n = 5$  e  $T = 52.57 \pm 11.60 \%$ ,  $n = 4$ ). **Conclusão:** Nas aortas de ratos tratados cronicamente com L-NAME ocorre aumento da liberação de do RS via  $\text{IP}_3$  e supersensibilidade ao NPS e GSNO sobre esta liberação.

Apoio Financeiro: FAPESP e PRONEX.

## 01.004

**AUMENTO DA REATIVIDADE AO KCl DA ARTERIA CONTRALATERAL À ESTENOSE TOTAL CAROTÍDEA.** de ANDRADE, C.R.<sup>1</sup>, CORRÊA, F.M.A.<sup>1</sup> & de OLIVEIRA<sup>2</sup>, A.M. <sup>1</sup>Depto de Farmacologia, FMRP. <sup>2</sup>Lab. de Farmacologia, FCFRP, USP, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

**INTRODUÇÃO:** A estenose arterial acarreta em uma redistribuição do fluxo sanguíneo para manter a irrigação sanguínea cerebral, levando a alterações de reatividade vascular. O objetivo do presente estudo é investigar as conseqüências temporais da estenose total carotídea na reatividade das artérias carótidas, estenosada e contralateral, de cobaio. **MÉTODOS:** O estudo foi desenvolvido em cobaias machos adultos divididos em controle, SHAM e estenose total. Foram determinadas curvas concentração-efeito para KCl ( $10\text{-}120 \text{ mM}$ ) em anéis de carótida, contralateral (intacta) e estenosada. **RESULTADOS:** A estenose acarreta em aumento temporal do efeito máximo (Emáx) do KCl na carótida contralateral e uma redução desse parâmetro na artéria estenosada.

	Tempos de Estenose			
	Efeito máximo (Emáx)			
	7 dias	15 dias	30 dias	90 dias
Controle	3.02±0.03	2.99±0.04	2.10±0.03	1.60±0.02
Contralateral SHAM	3.01±0.04	2.97±0.04	2.12±0.04*	1.62±0.02*
SHAM	2.95±0.04	2.98±0.02	2.10±0.05	1.58±0.02
Contralateral Estenose total	2.98±0.02	2.95±0.03	3.12±0.03	3.33±0.04**
Estenose total	2.96±0.04	2.21±0.03**	1.20±0.01**	0

Os valores representam a média  $\pm$  EPM ( $n = 7$ ). \* indica diferença significativa ( $P < 0.001$ ) em relação ao grupo controle. # indica diferença significativa ( $P < 0.01$ ) em relação ao grupo SHAM. O teste estatístico utilizado foi one-way ANOVA seguido de teste de Bonferroni.

**CONCLUSÕES:** A estenose reduz o Emáx do KCl nas carótidas estenosadas e aumenta temporalmente os valores desse parâmetro nas contralaterais. Não foram observadas alterações nos valores de  $pD_2$ .

APOIO FINANCEIRO: CNPq.

## 01.005

**EFEITO RELAXANTE DA FORSCOLINA E ISOPRENALINA NA AORTA DE RATOS TRATADOS COM L-NAME.** Galache, D.P. e Bendhack, L.M. Laboratório de Farmacologia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, USP. 14040-903 Ribeirão Preto, SP.

**Introdução:** O aumento da formação de adenosina-monofosfato cíclico (AMPc) ocorre pela ativação da enzima adenilato ciclase com forskolina, ou pela ativação de receptores beta-adrenérgicos com isoprenalina. O aumento do AMPc promove relaxamento das células do músculo liso vascular, que pode ser dependente ou independente do endotélio vascular. **Objetivo:** estudar o efeito da forskolina e da isoprenalina sobre o relaxamento da aorta de ratos tratados cronicamente com o inibidor da NO- sintase, L-NAME. **Métodos e Resultados:** Ratos Wistar (180-200g) receberam L-NAME (50-60mg/Kg/d) na água de beber, ou somente água (controle) por 3 semanas. Foram utilizados os ratos tratados (T) com pressão sistólica superior a 150 mmHg. Após a remoção do endotélio vascular, anéis de aorta de ratos T e C, foram montados para registro de tensão isométrica. Sobre a pré-contracção com fenilefrina ( $EC_{50}$ ), foram realizadas curvas concentração-efeito de relaxamento para forskolina ou isoprenalina. Foram analisados os valores de efeito máximo (EM) e  $pD_2$ . A forskolina promoveu o EM de  $56,63 \pm 3,28\%$  e  $pD_2$  de  $7,26 \pm 0,22$  em aortas de ratos C ( $n=9$ ) e  $43,55 \pm 4,79\%$  e  $pD_2$  de  $7,83 \pm 0,42$  em aortas de ratos T ( $n=6$ ). Com isoprenalina o EM foi de  $55,39 \pm 3,50\%$  e o  $pD_2$  foi de  $7,89 \pm 0,62$  em aortas de ratos C ( $n=9$ ) e EM de  $47,91 \pm 2,48\%$  e  $pD_2$  de  $7,44 \pm 0,28$  em aortas de ratos T ( $n=6$ ). Estes resultados mostram que não há diferenças estatisticamente significantes entre os dois grupos de ratos normotensos e hipertensos nas respostas aos dois agentes vasodilatadores, na ausência de endotélio. **Conclusão:** O relaxamento ativado pela forskolina e isoprenalina não foi alterado na aorta de ratos hipertensos L-NAME, sem endotélio vascular.

**Apoio Financeiro:** FAPESP e PRONEX.

### 01.006

#### MICROTUBULE DISRUPTION ATTENUATES HISTAMINE INDUCED VASORELAXATION IN MESENTERIC VESSELS FROM NORMOTENSIVE, BUT NOT FROM HYPERTENSIVE RATS.

C.A. Brum, C.J. Aguiar, M. A. Cruz, D. Penna e Souza, R. C. Webb\* and R. Leite. \*Medical College of Georgia, Augusta, GA-USA; Dept. of Pharmacology – ICB/UFMG, Belo Horizonte, MG-Brazil.

Microtubule network participates in several cell signaling events such as the regulation of vascular reactivity. We have previously shown that disruption of microtubules potentiated the pressor response induced by phenylephrine in resistance vessels. In this study we assess the role of the microtubule network on vasodilatory responses. Dose–response curves to histamine (0.5-130 nmol), acetylcholine (5-1200 pmol) and sodium nitroprusside (SNP, 38-3400 pmol) were performed in isolated mesenteric arterial bed ( $n>6$ ), before and after 60 min incubation with 10  $\mu$ M nocodazole, 30  $\mu$ M colchicine or vehicle. Disruption of microtubules with nocodazole or colchicine did not change the dilation response induced by SNP or acetylcholine in vessels from normotensive rats. In Sham-operated and normotensive rats, colchicine or nocodazole treatment significantly attenuates histamine-induced dilation (one-way ANOVA, followed by Bonferroni test,  $p<0.01$ ). This effect was not observed in vessels from DOCA-salt, 1K1C and L-NAME hypertensive

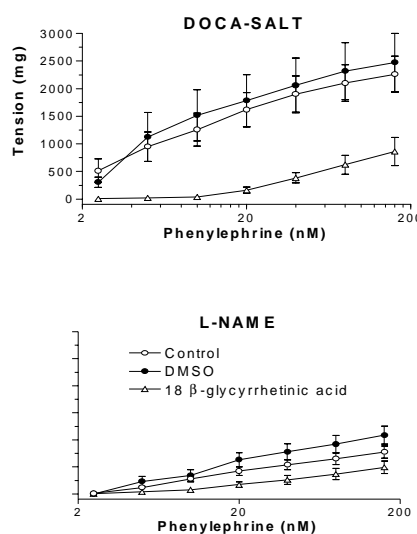
rats. The intact microtubule network plays a modulatory role in endothelium-dependent dilation induced by histamine in vessels from normotensive but not from hypertensive rats, suggesting that vascular microtubule network is disorganized in those three distinct experimental models of hypertension that might contribute to the decreased endothelium-dependent dilation. **Financial support:** FAPEMIG, CNPq and CAPES.

### 01.007

#### DIFFERENT ROLE FOR GAP JUNCTIONS IN AORTIC RINGS FROM DOCA-SALT AND L-NAME HYPERTENSIVE RATS.

C. J. Aguiar, C. A. Brum, M. A. Cruz, D. Penna e Souza, R. C. Webb\* and R. Leite. \*Medical College of Georgia, Augusta, GA-USA; Dept. of Pharmacology – ICB/UFMG, Belo Horizonte, MG-Brazil.

We previously observed in our lab an increased dilator response to heptanol and octanol (non-specific inhibitors of gap junctional activity) in aortic strips from DOCA-salt hypertensive rats. In this study we tested the hypothesis of an increased gap junctional activity in DOCA and L-NAME hypertension using a specific inhibitor, 18  $\beta$ -glycyrrhetic acid, which causes isoform-specific dephosphorylation of the connexin 43. Endothelium-denuded aortic rings from DOCA-salt and L-NAME hypertensive ( $n = 6$  and 10, respectively), and Sham-operated and control rats ( $n = 7$  and 13, respectively), were submitted to concentration-response curves to phenylephrine (2.5-160 nM), before and after 1h incubation with 18  $\beta$ -glycyrrhetic acid (50  $\mu$ M) or vehicle (DMSO). No difference was observed after treatment with vehicle. Incubation with 18  $\beta$ -glycyrrhetic acid significantly right shifted the concentration-response curve induced by phenylephrine in aorta from DOCA-salt, but not in L-NAME hypertensive rats (one-way ANOVA, followed by Bonferroni test,  $p<0.05$ ), as shown in the figure below. These data suggest a different regulation of gap junctional activity in distinct experimental models of hypertension.



**Financial support:** FAPEMIG, CAPES and CNPq

### 01.008

#### EFEITO DO ÁCIDO CICLOPIAZÔNICO (CPA) SOBRE O RELAXAMENTO ESTIMULADO COM ACETILCOLINA E NITROPRUSSÍATO DE SÓDIO.

Molin, J.C. e Bendhack, L.M. Laboratório de Farmacologia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto -USP. 14040-903 Ribeirão Preto, SP.

**Introdução:** Uma das hipóteses para explicar o relaxamento ativado via óxido nítrico (NO) é a de que a redução de  $Ca^{2+}$  ocorre pelo armazenamento de  $Ca^{2+}$  no estoque intracelular sensível à fenilefrina (FE) e cafeína, o retículo sarcoplasmático (RS). Estas drogas ativam a liberação do  $Ca^{2+}$  armazenado e o inibidor da enzima Ca-ATPase reticular CPA inibe a estocagem do  $Ca^{2+}$ , sendo capaz de depletar este estoque. **Objetivo:** Estudar os efeitos dos agentes relaxantes acetilcolina (ACh) (dependente de endotélio) e nitroprussíato de sódio (NPS) (independente de endotélio) em presença de drogas que comprometem o armazenamento de  $Ca^{2+}$  no RS. **Métodos e Resultados:** Curvas concentração-efeito para ACh e NPS (0,1 nM a 100  $\mu$ M) foram realizadas em aortas de ratos contraídas com FE 100 nM ( $EC_{50}$ ) em solução de Krebs contendo  $Ca^{2+}$  1,6 mM, após incubação com CPA 10  $\mu$ M por 30 min ou sem CPA. Analisamos os valores de efeito máximo (EM) e  $pD_2$ . A contração foi estimulada com cafeína 20 mM e em seguida, as preparações foram estimuladas com FE 100 nM. A contração estimulada com FE foi inibida com CPA. A contração estimulada com cafeína foi de  $0,26 \pm 0,9$ g ( $n=8$ ) e após a cafeína, a resposta contrátil estimulada com a  $EC_{50}$  da FE foi abolida. O EM da ACh foi de  $96,71 \pm 2,12$  e  $pD_2$  de  $7,35 \pm 0,13$  ( $n=6$ ) e após CPA, o EM foi reduzido para  $46,25 \pm 7,16$ , sem alteração do  $pD_2$  ( $6,95 \pm 0,09$ ;  $n=4$ ). Por outro lado, sobre a resposta estimulada com o NPS, o CPA não alterou EM ( $99,39 \pm 0,61$  e  $94,44 \pm 3,52$ ) e reduziu  $pD_2$  ( $8,95 \pm 0,19$  e  $7,71 \pm 0,13$ ;  $n=5$ ). **Conclusões:** A resposta contrátil estimulada com FE depende da liberação de  $Ca^{2+}$  do RS, que também é o estoque intracelular sensível à cafeína. A inibição da Ca-ATPase reticular tem efeitos distintos sobre os dois agentes que promovem formação ou liberação de NO. Age sobre a ACh, reduzindo sua eficácia sem alterar a sensibilidade e sobre NPS não altera a eficácia, mas reduz a sensibilidade. **Auxílio Financeiro:** Pronex.

### 01.009

#### A VASODILATAÇÃO INDUZIDA PELA ACETILCOLINA, EM CARÓTIDAS DE RATOS HIPERTENSOS RENAIIS (2R-1C), DEPENDE DA ATIVAÇÃO DE CANAIS PARA $K^+$ .

Sendão, A.P., Bendhack, L.M. Lab. de Farmacologia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto-USP.14040-903, Ribeirão Preto-SP.

**Introdução:** As células do endotélio vascular sintetizam e liberam fatores de relaxamento como óxido nítrico (NO), fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF) e prostaciclina ( $PGI_2$ ), que podem ativar canais para  $K^+$  nas células do músculo liso vascular, dos subtipos: sensíveis ao ATP ( $K_{ATP}$ ), ativados por  $Ca^{2+}$  ( $K_{Ca}$ ) e ativados por voltagem ( $K_v$ ). **Objetivos:** Avaliar a participação e identificar os canais para  $K^+$  envolvidos no relaxamento estimulado com acetilcolina (ACh) em

carótidas de ratos normotensos (2R) e 2R-1C. Métodos e Resultados: Em anéis de artéria carótida de ratos 2R e 2R-1C pré-contraídos com fenilefrina ( $EC_{50}$ ) ou KCl 90 mM, foram realizadas curvas concentração-efeito para acetilcolina (ACh). Analisamos os valores de efeito máximo (EM) e  $pD_2$ . O EM da ACh foi maior em 2R ( $103.7 \pm 2.88\%$ ) do que em 2R-1C ( $78.23 \pm 5.65\%$ ), mas os valores de  $pD_2$  foram semelhantes ( $6.6 \pm 0.7$  e  $6.6 \pm 0.2$ ) em 2R e 2R-1C, respectivamente. Glibenclâmida, bloqueador de canais  $K_{ATP}$ , não alterou a resposta à ACh nos dois grupos. Porém, a associação de apamina e caribdotoxina, bloqueadores de canais  $K_{Ca}$  e 4-aminopiridina, bloqueador de canais  $K_v$ , reduziram em ambos os grupos, tanto o EM da ACh em 2R ( $60.3 \pm 15.95\%$ ) e 2R-1C ( $52.4 \pm 8.23\%$ ), 2R ( $24.16 \pm 6.59\%$ ); 2R-1C ( $39.05 \pm 2.33\%$ ), como a sensibilidade (2R:  $5.59 \pm 0.33$ ), (2R-1C:  $1.3 \pm 0.24$ ) e (2R:  $3.90 \pm 0.13$ ) 2R-1C ( $5.5 \pm 0.48$ ), respectivamente para os bloqueadores. Quando as artérias foram pré-contraídas com KCl, o relaxamento à ACh foi reduzido em relação aos valores obtidos com fenilefrina, em 2R ( $33.74 \pm 11.89\%$ ) e abolido em 2R-1C ( $4.73 \pm 0.77\%$ ). Conclusões: A ativação de canais para  $K^+$  parece ser fundamental para o efeito relaxante da ACh em carótidas de 2R-1C e os canais dos subtipos  $K_{Ca}$  e  $K_v$  envolvidos no relaxamento estimulado com ACh tanto em carótidas de ratos 2R como 2R-1C. Apoio Financeiro: FAPESP, PRONEX.

## 01.010

**CARDIAC MAP KINASE EXPRESSION AND PHOSPHORYLATION IN RATS TREATED CHRONICALLY WITH L-NAME.** Molina, P.L.G. and Hyslop, S., Departamento de Farmacologia, FCM, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), 13083-970, Campinas, SP, Brasil.

Introduction: Chronic inhibition of nitric oxide biosynthesis with L-NAME produces cardiac hypertrophy, fibrosis and necrosis. In this study, we examined the effect of L-NAME on MAP kinase (ERK1 and ERK2) expression. Methods: Male Wistar rats received L-NAME (20 mg/rat/day) in drinking water for 4 weeks. Changes in blood pressure were measured by a tail cuff method. After treatment, the rats were anesthetized and the heart was excised and perfused in vitro. Phosphorylation was examined after stimulation with bradykinin. The hearts were then homogenized and centrifuged and the supernatant was used for immunoblotting with antibodies to ERK1, ERK2 and phosphorylated ERK (p-ERK). Results: Blood pressure after L-NAME was  $173 \pm 5.6$  mmHg vs.  $134 \pm 8.5$  mmHg for controls ( $P < 0.05$ ). ERK1 and ERK2 levels were  $8663 \pm 176$  and  $8111 \pm 726$  before L-NAME and  $10288 \pm 593$  and  $9793 \pm 605$  after L-NAME ( $P < 0.05$ ; arbitrary densitometric units; mean  $\pm$  S.E.M.;  $n = 5$  each), respectively. The levels of phosphorylation were: Treatment p-ERK1 p-ERK2 -L-NAME +L-NAME -L-NAME +L-NAME Basal  $9021 \pm 762$   $10179 \pm 784$   $9598 \pm 734$   $10647 \pm 864$  BK  $12101 \pm 531^*$   $11699 \pm 615$   $12121 \pm 638^*$   $11312 \pm 532$   $n = 5$ . \* $P < 0.05$  compared to basal (-)L-NAME group. Discussion: Treatment with L-NAME enhanced ERK1 and ERK2 expression but did not alter basal p-ERK1 or p-ERK2. The increase in phosphorylation with BK in (-)L-NAME rats was absent after L-NAME. Financial support: FAPESP

## 01.011

**EFEITOS DO ÁCIDO NIFLÚMICO SOBRE A ENTRADA CAPACITATIVA DE CÁLCIO EM AORTA DE RATO.** <sup>1</sup>Santos, G.C.M., <sup>2</sup>Scarpato, H.C., <sup>1</sup>Souza, E.P., <sup>1</sup>Cruz, A.M. & <sup>1</sup>Criddle, D.N. <sup>1</sup>Laboratório de Farmacologia dos Canais Iônicos (LAFACI), UECE, & <sup>2</sup>Depto de Clínica Odontológica, UFC, CE.

Introdução: Mostramos o envolvimento dos canais de cloreto ativados pelo cálcio ( $Cl_{Ca}$ ) na contração induzida pela noradrenalina (NA) em aorta de rato (Criddle; Br. J. Pharmacol. 118, 1065, 1996). A depleção dos estoques intracelulares de cálcio (DEIC) leva à entrada de cálcio extracelular por mecanismos ainda indefinidos. Objetivos: Decidimos avaliar a possível influência dos  $Cl_{Ca}$ , utilizando ácido niflúmico (NFA), um inibidor seletivo desses canais, e dos canais de cálcio dependente de voltagem (VDCCs) na entrada capacitativa de cálcio. Materiais e Métodos: Utilizamos anéis de aorta de ratos machos Wistar (200-250g), montadas em solução de Tyrode normal (TN), medindo a contratilidade pelo método convencional. A DEIC foi induzida pela aplicação de NA ( $10^{-6}$ M) em solução zero cálcio (0Ca) e depois foi adicionado TN, na presença e ausência de inibidores, avaliando o aumento do tônus basal (ATB) associado. Após o retorno à linha basal, reaplicamos a NA em 0Ca para avaliar a recaptação do cálcio para os estoques. Resultados: O diltiazem (DIL,  $10^{-6}$ M) bloqueou completamente a contração induzida por KCl (60mM), confirmando seu efeito sobre os VDCCs. O NFA ( $1-30 \mu$ M) não relaxou a contração induzida pelo KCl, mas  $100 \mu$ M reduziu-a em  $73.3 \pm 4.5\%$  ( $n = 4$ ). Após a DEIC pela NA, o ATB na presença de DIL ( $10^{-6}$  M) foi totalmente inibido em relação ao controle ( $0.62 \pm 0.05$ ,  $n = 13$ ). Entretanto, a contração induzida pela reaplicação da NA não foi afetada ( $n = 13$ ). O NFA ( $10-30 \mu$ M) não afetou estes parâmetros, enquanto na contração de  $100 \mu$ M, reduziu o ATB para  $31.9 \pm 9.9\%$  sem afetar a resposta da NA ( $n = 8$ ). Conclusão: Nossos resultados sugerem que o NFA inibe a entrada de cálcio associada a depleção dos estoques intracelulares sensíveis a NA apenas na concentração de  $100 \mu$ M, provavelmente, pela inibição de VDCC, sem a participação dos  $Cl_{Ca}$  no processo capacitativo. Apoio Financeiro: FUNCAP e CNPQ.

## 01.012

**ESTUDO DOS EFEITOS DA OUABAÍNA E DE ALTAS CONCENTRAÇÕES DE KCl SOBRE O POTENCIAL DE MEMBRANA EM ARTÉRIAS DE RATOS HIPERTENSOS RENAIS POR MICROSCOPIA CONFOCAL.** Sguilla, F.S.; Tedesco, A.C. e Bendhack, L.M. Laboratório de Farmacologia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Depto. de Química, FFCLRP- USP. 14040-903 Ribeirão Preto, SP.

Introdução: Mudanças dinâmicas no potencial de membrana por medidas óticas podem ser monitoradas com a sonda bis-oxonol (DiBAC<sub>2</sub>(3)). A ouabaína, inibidor da enzima Na-K-ATPase, promove a despolarização da membrana das células do músculo liso vascular, assim como altas concentrações de KCl no meio extracelular, causando a ativação de canais de cálcio dependen-

tes de voltagem. Objetivo: Determinar alterações no potencial de membrana com ouabaína e KCl a partir da fluorescência do bis-oxonol utilizando microscopia confocal. Métodos e Resultados: As células do músculo liso vascular foram isoladas da aorta de ratos hipertensos renais (2R-1C) e normotensos (2R), cultivadas em laminulas por 7 dias e carregadas com a sonda DiBAC<sub>2</sub>(3)  $0.25 \mu$ M para detectar alterações no potencial de membrana ( $\phi_m$ ) por microscopia confocal. Após a estabilização do carregamento, foram adicionadas concentrações crescentes de KCl (5 a 60 mM). Em outro grupo de experimentos, às células carregadas foi adicionada ouabaína ( $20 \mu$ M) e medida a variação da fluorescência em função do tempo. O carregamento para as células de 2R apresentou uma intensidade de fluorescência maior do que de 2R-1C. A despolarização da membrana das células de 2R-1C ocorreu com KCl  $10$  mM (80%) enquanto que em 2R foi necessário utilizar KCl acima de  $40$  mM para obter resposta semelhante à de 2R-1C. A ouabaína promoveu pequena redução (20%) da fluorescência caracterizando a despolarização da membrana tanto em células de 2R como 2R-1C. Após a ouabaína, a adição de KCl  $15$  e  $30$  mM promoveu total despolarização da membrana nos dois grupos de células. Além disso, houve redução da área das células de 2R-1C de  $249 \mu$ m<sup>2</sup> para  $216 \mu$ m<sup>2</sup> com KCl  $15$  mM, caracterizando a contração destas células. Conclusão: As células de 2R-1C apresentam potencial de membrana mais despolarizado do que de 2R. A ouabaína  $20 \mu$ M despolariza de forma semelhante os dois grupos de células e o KCl tem efeito adicional ao efeito despolarizante da ouabaína promovendo total despolarização e contração celular nas células de 2R-1C.

Apoio Financeiro: FAPESP E PRONEX

## 01.013

**CORRELATION BETWEEN MEMBRANE POTENTIAL AND NEOINTIMA PROLIFERATION SEVERAL DAYS AFTER ANGIOPLASTY IN SHR.** Dina, J.P., Feres, T., Fauaz, G., Farias, N.C., Paiva, T.B., Department of Biophysics - Escola Paulista de Medicina UNIFESP, São Paulo-SP.

Introduction: Previous study showed an abnormal cell proliferation in carotid arteries from spontaneously hypertensive rats (SHR) after balloon injury (Dalle Lucca et. al., 2000), which was not observed in normotensive rats (NWR). This occurrence was attributed to the lower resting membrane potential (RMP) observed in SHR carotid arteries. The aim of this study is to try correlating the RMP with neointima formation after balloon injury procedure. Methods: RMP was measured with intracellular microelectrodes in carotid artery rings from NWR and SHR 2, 5, 7, 15, 30 and 45 days after angioplasty and neointima formation was determined by morphometric analysis of cross-sectional carotid rings. Results and Conclusion: RMP of SHR carotid arteries was  $-31.9 \pm 0.6$  mV, which is significantly more depolarized than NWR arteries ( $-71.6 \pm 0.8$  mV). After angioplasty the RMP values became more negative, being  $-17.6 \pm 1.2$  mV in the second day and  $-21.9 \pm 0.1$  mV in the seventh day. At 15 days the RMP returned to values ( $30.0 \pm 0.2$  mV) not significantly different from those found before treatment, and this value was maintained

after 45 days. The histological analysis showed a pronounced neointima proliferation starting on the fifth day and increasing up to day 15, with total occlusion. The neointima formation correlated very well with the RMP measurements. Supported by FAPESP, CNPq and CAPES

## 01.014

**KINETIC ANALYSIS OF THE ROLES OF K+ CHANNEL OPENING AND Na+/K+ PUMP ACTIVATION IN THE RELAXATION OF AORTIC SMOOTH MUSCLE OF SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS (SHR).** Fauaz, G.\*; Feres, T.; Farias, N.C.; Dina, J.P.; Paiva, A.C.M.; Paiva, T.B., Dept. Biophysics, UNIFESP, SP

**Introduction** High-conductance K<sub>Ca</sub> channels were shown to be impaired in SHR vascular smooth muscles causing an alteration in the relaxant responses (RR) to several agonists that use these channels as effectors. The SHR present decreased contractile and hyperpolarizing responses to K<sup>+</sup> in comparison to Wistar Kyoto (WKY) controls, and the latter are less reactive than normotensive Wistar rats (NWR). To better understand these findings, we explored the relationship between K<sup>+</sup> channel (K<sub>ch</sub>) and Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> pump (Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>) activity in isolated aortic smooth muscle preparations of the 3 strains. Methods Denuded aortic rings, after 20 min in K<sup>+</sup>-free medium, were submitted to normal [K<sup>+</sup>] to activate the Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> and the isometric tension changes were recorded. Results/Conclusion Kinetic analysis of the RR to K<sup>+</sup> allowed identification of 2 or 3 components with 1st order rate constants (k<sub>1</sub>) that were significantly different in the 3 strains. The faster component from SHR (k<sub>1</sub>=0.81min<sup>-1</sup>) was faster than those of NWR (0.73min<sup>-1</sup>) or WKY (0.64min<sup>-1</sup>). Addition of K<sub>ch</sub> inhibitors blocked the faster component of the response in the 3 strains, indicating that this component is due to K<sub>ch</sub> opening. Analysis of the slow component of the relaxation allowed us to determine the Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> kinetics in the SHR (k<sub>1</sub>=0.30min<sup>-1</sup>), WKY (0.20min<sup>-1</sup>) and NWR (0.14min<sup>-1</sup>). The higher K<sub>ch</sub> and Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> activities in SHR cause the increased cell membrane polarization and the decreased response to K<sup>+</sup> and to agonists when compared to NWR and WKY. Supported: FAPESP, CNPq, CAPES.

## 01.015

**EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DE 1nM OUABAÍNA (OUA) NA REATIVIDADE VASCULAR À FENILEFRINA (FE) NO LEITO VASCULAR CAUDAL DE RATOS NORMOTENSOS (WKY) E ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS (SHR).** Padilha, A. S.; Rossoni, L. V.; Vassallo, D. V. - Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, ES.

**Objetivos:** Avaliar o efeito da administração aguda de 1nM de ouabaína (OUA) sobre a reatividade vascular à FE no leito vascular caudal (LVC) de ratos WKY e SHR. **Métodos e Resultados:** Os animais foram divididos em 2 grupos: WKY (n=34, PAM: 104 mmHg) e SHR (n=47, PAM: 179 mmHg). A preparação de perfusão do LVC foi utilizada para a realização dos protocolos experi-

mentais. A reatividade vascular à FE (0,001-100µg, *in bolus*) foi avaliada antes e após infusão por 1 hora com OUA (1nM), na presença (E+) e ausência (E-) do endotélio. A OUA, em SHR/E+, elevou a sensibilidade (pD<sub>2</sub>) à FE (antes: 2,14±0,06 vs. após: 2,46±0,06; p<0,01) sem alterar a resposta máxima (Emax). Em WKY/E+, a OUA não alterou nem o pD<sub>2</sub> nem o Emax. A Elevou o pD<sub>2</sub> sem alterar o Emax à FE nos WKY e SHR, e a OUA, não foi capaz de alterar estes parâmetros. A participação de prostanóides vasoconstritores sobre o efeito da OUA na reatividade à FE em SHR/E+, foi avaliada através da co-infusão de OUA + indometacina (Indo, 10 µg). A Indo não modificou o efeito da OUA sobre a pD<sub>2</sub> à FE nos SHR/E+ (antes: 2,29±0,07 vs. após: 2,62±0,09mmHg; p<0,01). **Conclusão:** O tratamento com 1nM de OUA aumenta a reatividade vascular à FE no LVC de SHR, porém não modificou a mesma nos WKY. Este aumento, nos SHR, envolve a liberação de um fator vasoconstritor derivado do endotélio, que é independente da via do ácido araquidônico-ciclooxigenase. **Apoio Financeiro:** CNPq

## 01.016

**EFEITO DA VITAMINA C AGUDA NA REATIVIDADE VASCULAR ARTERIAL E VENOSA EM TABAGISTAS.** M.G. Sousa, D. Barbieri, J.C. Yugar-Toledo, José Eduardo Tanus-Santos & H. Moreno Jr Laboratório de Farmacologia Cardiovascular - FCM - UNICAMP - SP

**Objetivos:** O tabagismo está associado à disfunção endotelial. Tem sido sugerido que a disfunção endotelial pode ser consequência do aumento da degradação do óxido nítrico secundária a formação de radicais livres derivados do oxigênio. **Objetivos** avaliar os efeitos da vitamina C (um potente antioxidante) sobre a reatividade vascular em tabagistas através da dilatação mediada pelo fluxo (FMD) e da técnica da veia dorsal da mão, antes e após infusão aguda de vitamina C (25 mg/min). **Material e Métodos:** Grupos: controle (n=6) e tabagista (n=7). Foram submetidos a estudo da reatividade vascular pós-hiperemia reativa e pós-estímulo nitroglicerina e da técnica da veia dorsal da mão (curva dose-resposta à bradicinina). **Resultados:** Variação % do diâmetro da artéria braquial através da dilatação mediada pelo fluxo antes e após a infusão de vitamina C em não tabagistas e tabagistas (média±DP). Cont Pré Cont Pós Tab Pré Tab Pós Hiperemia 16,2±2,7 14,4±4,1 8,5±3,7\* 17,7±7,7# NTG 25,9±5,7 27,1±6,4 21,7±4,3 28,9±8,6 ED50 e máxima resposta (Emax) à bradicinina e nitroprussiato de sódio obtidos da curva dose-resposta em não tabagistas e tabagistas (média±DP). Cont Pré Cont Pós Tab Pré Tab Pós Emax(bk) 95,7±21,2 82,7±4,1 71,2±17,2\* 88,3±7,0# ED50(bk) 40,0±39,8 17,2±5,1 15,0±8,4 15,0±3,9 Emax(nt) 104,8±9,1 98,5±11,6 111,2±13,0 103,4±5,2 ED50(nt) 0,5±0,3 0,4±0,2 4,4±9,9 0,6±0,4 \*p<0,05 vs controle #p<0,05 vs pré-Vita C **Conclusão:** A reatividade vascular dependente do endotélio está reduzida em tabagistas em ambos leitos vasculares (venoso e arterial). A infusão aguda de vitamina C restaura a reatividade vascular dependente do endotélio. **Apoio:** FAPESP

## 01.017

**ENVOLVIMENTO DO ÓXIDO NÍTRICO PERIFÉRICO NO EDEMA PULMONAR.** Oliveira, E.B.; Busnardo, C.; Martins-Pinge, M.C.; Blanco, E.E.A.; Departamento de Ciências Fisiológicas, UEL - Londrina, PR.

**Introdução:** A vagotomia causa edema pulmonar agudo, por mecanismo que ainda não se encontra esclarecido. Foi proposto que o óxido nítrico, no sistema nervoso central, inibe o edema neurogênico. O objetivo deste trabalho foi de avaliar a interferência do óxido nítrico periférico durante o desenvolvimento do edema por vagotomia.

**Métodos e Resultados:** Foram utilizados ratos wistar divididos em 4 grupos de 14 animais: controles (C), vagotomizados (V) e vagotomizados e tratados com L-Arginina (VL-A) ou com L-NAME (VL-N), 10 minutos antes de cirurgia. Os controles e os vagotomizados receberam o mesmo volume de salina. O tempo máximo de sobrevivência foi de 120 minutos, sendo os sobreviventes sacrificados. Os pulmões foram pesados para a determinação do índice de edema (peso pulmonar/peso corporal X 100), e o edema graduado de 0-2, de acordo com o aparecimento de fluido traqueal.

	N	PESO PULMONAR	ÍNDICE EDEMA	TEMPO SOBREVIVIDA	GRAU EDEMA		
					0	1	2
C	10	1,69±0,04	0,59±0,02	120,00±0,00	10	0	0
V	14	2,60±0,32*	0,93±0,11*	106,43±6,43	7	2	5
VL-A	14	2,04±0,21	0,74±0,07	111,43±4,58	11	1	2
VL-N	14	2,97±0,29*	1,00±0,10*	86,29±9,59**	5	3	6

\* diferença com relação ao controle  
+ diferença com relação ao vagotomizado.

**Conclusões:** A tendência ao agravamento com L-NAME e de inibição do edema com L-ARG sugere o envolvimento do óxido nítrico periférico no edema por vagotomia.

## 01.018

**ENVOLVIMENTO DA VIA INDUTIVA DA FORMAÇÃO DO ÓXIDO NÍTRICO (iNOS) NO EDEMA PULMONAR.** Busnardo, C.; Oliveira, E.B.; Martins-Pinge, M.C.; Blanco, E.E.A.; Departamento de Ciências Fisiológicas, UEL - Londrina, PR.

**Introdução:** A vagotomia causa edema pulmonar agudo. Durante o desenvolvimento de processos inflamatórios ocorre liberação de óxido nítrico (NO) pela via indutiva. O NO endógeno desempenha importante papel na homeostase vascular. Há fortes evidências de que a liberação basal de NO participa na manutenção do balanço fluido vascular, enquanto que a liberação que ocorre durante a inflamação ou lesões, aumenta a permeabilidade. O objetivo deste trabalho foi de avaliar a interferência da iNOS no desenvolvimento do edema por vagotomia.

**Métodos e Resultados:** Foram utilizados ratos wistar divididos em 5 grupos: controles (C), vagotomizados (V) e vagotomizados e tratados com diferentes doses de aminoguanidina (V-A), 10 minutos antes de cirurgia. Os controles e os vagotomizados receberam igual volume de salina. O tempo máximo de sobrevivência foi de 120 minutos, sendo os sobreviventes sacrificados. Os pulmões foram pesados para a determinação do índice de edema (peso pulmonar/peso corporal X 100), e o edema graduado de 0-2, de acordo com o aparecimento de fluido traqueal.

	N	PESO PULMONAR	ÍNDICE EDEMA	TEMPO SOBREVIVIDA	GRAU EDEMA		
					0	1	2
C - salina	10	1.69±0.04	0.59±0.02	120.00±00.00	10	0	0
V - salina	14	2.60±0.32*	0.93±0.11*	106.43±06.43	6	3	5
V-A20mg/kg	10	1.83±0.13	0.60±0.04*	99.50±12.21	9	0	1
V-A10mg/kg	11	1.88±0.12	0.63±0.04*	103.10±11.40	10	1	0
V-A 5mg/kg	12	1.82±0.12*	0.65±0.04*	112.90±05.24	11	1	0

\* diferença com relação ao controle  
+ diferença com relação ao vagotomizado.

Conclusões: A inibição do edema observada com as diferentes doses de aminoguanidina sugere a ativação da iNOS e a liberação de NO, durante o desenvolvimento do edema por vagotomia.

## 01.019

**SINVASTATINA DIMINUI A PRODUÇÃO DE ÓXIDO NÍTRICO INDUZIDA POR LIPOPOLISACARÍDEO *IN VIVO*.** Alexandre Giusti-Paiva, Maria Regina Martinez, Jorge VC Felix, José Antunes-Rodrigues. Departamento de Fisiologia – FMRP-USP.

**INTRODUÇÃO:** O lipopolissacarídeo (LPS) é utilizado para induzir o choque séptico experimental, caracterizado pela acentuada queda de pressão arterial e hiporesponsividade a vasoconstritores. O LPS provoca também o aumento da enzima hepática 3-hidroxi-3-metilglutaril Coenzima A (HMG-CoA) redutase, importante para a produção de colesterol. Estudos *in vitro* demonstram que um inibidor da HMG-CoA redutase poderia inibir a produção de citocinas e NO.

**OBJETIVO:** Avaliar o efeito da sinvastatina (inibidor da HMG-CoA redutase) na produção de NO induzida por LPS *in vivo*.

**MÉTODOS:** O LPS (1,5 mg/kg, ev) foi administrado em ratos Wistar machos pré-tratados com Sinvastatina (80 mg/kg, ip) ou veículo. Foram determinadas a pressão arterial média (PAM) e a concentração plasmática de nitrato ( $\mu\text{M}$ ) em intervalos de 60 min durante um período de 6 horas. Ao final do experimento foi avaliada a resposta pressora a fenilefrina (5 $\mu\text{g/kg}$ ).

**RESULTADOS:** O LPS provocou queda de 19,3±1,9 mmHg na PAM, e um aumento no nitrato plasmático (de 14,1±1,2 para 312,7±22,5  $\mu\text{M}$ , p<0,001). A sinvastatina (80 mg/kg) diminuiu o aumento da concentração plasmática de nitrato para 164,3±14,9  $\mu\text{M}$  (p<0,001 comparado com o grupo LPS). Também foi observado que o LPS diminuiu a resposta pressora da fenilefrina (de 50,1±1,3 para 35,9±2,9 mmHg, p<0,001) e a sinvastatina foi capaz de reverter essa hiporesponsividade (49,7±2,7mmHg, p<0,05).

**DISCUSSÃO:** A sinvastatina diminuiu a concentração plasmática de nitrato e reverte a hiporesponsividade vascular durante o choque séptico experimental.

**APOIO:** CNPq, PRONEX e FAPESP

## 01.020

**ÓXIDO NÍTRICO (NO) NEURONAL NÃO MODIFICA A RESPOSTA VASOCONSTRITORA SIMPÁTICA EM VASOS ISOLADOS DE RATOS DIABÉTICOS.** Andréia Fernanda Carvalho Leone, Eduardo Barbosa Coelho. - Lab. Hipertensão Experimental, Depto Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP

**Introdução e Objetivos:** O NO pode modular a resposta vasoconstritora simpática através da ativação das sintases de óxido nítrico neuronal

(NOSn) e/ou endotelial (NOSe). Em ratos com Diabete Melito (DM) experimental há alteração da biodisponibilidade do NO de origem endotelial. Assim o objetivo deste trabalho foi o de estudar a influência do DM sobre a modulação do NO na resposta vasoconstritora simpática em leito vascular mesentérico isolado de ratos com DM (D).

**Métodos:** A D foi induzida através de estreptozotocina (45mg/Kg, e.v.). A glicemia dos D foi significativamente maior que em ratos controles (C) (390 vs 120mg/dL, p<0.01). O leito arterial mesentérico (LAM) foi isolado de C (200±5 g, n=10) e de D (180±10 g, n=9, ns) e perfundido (Krebs, 37°C, 4 ml/min) com registro contínuo da pressão de perfusão. Após equilíbrio, estimulou-se a preparação através de eletrodo periarterial (EEP, 34V, 3ms, 20s) com frequência variável de 7-32 Hz na presença ou ausência de nitroarginina (NNA 50 $\mu\text{M}$ ) e com e sem endotélio, removido com deoxicolato de sódio (1mg/ml; 2,5 ml "em bolus"). Construí-se curvas frequência-efeito, calculou-se o efeito vasoconstritor máximo (Emáx) e frequência que produziu 50% do Emáx (Fe50).

**Resultados:** A EEP produziu respostas vasoconstritoras frequência-dependente semelhantes entre D e C. A perfusão de NNA potencializou essa resposta em C (10.3 [7.8-12.6] vs 13.8 [11.6-16.0] Hz) e em D (10.1 [8.7-11.5] vs 13.5 [11.2-15.7], Fe50, [IC 95%], com NNA vs sem NNA, P<0.05). Em contraste, a remoção do endotélio a NNA potencializou a resposta simpática apenas em C (10.4 [8.5-12.2] vs 12.5 [10.4-14.5] Hz, p<0.05).

**Conclusão:** O efeito da NNA em LVM sem endotélio sugere participação da NOSn em C. Em D o NO parece originar-se exclusivamente do endotélio.

## 01.021

**II INVESTIGAÇÃO DOS EFEITOS DE CONCENTRAÇÕES ELEVADAS DE GLICOSE NA REATIVIDADE VASCULAR DE RIM ISOLADO DE COELHO NÃO DIABÉTICO.** Affonso, F. de S.; Cailleaux, S.; Pinto, L.F.C.; Gomes, M.B.; Tibiriça, E. - UERJ/ FIOCRUZ.

**Introdução.** A disfunção endotelial decorrente do DM talvez seja o evento chave responsável pela sua morbimortalidade. Objetivo: avaliar os efeitos agudos de concentrações elevadas de glicose na reatividade vascular.

**Metodologia:** Rins isolados de coelhos New Zealand foram perfundidos com solução de Krebs-Henselleit com registro da pressão de perfusão. Após três horas de perfusão com várias concentrações de glicose (5 - 25mM) o tônus vascular foi restabelecido com noradrenalina 10 $\mu\text{M}$  e a reatividade vascular avaliada com curvas dose-resposta de vasodilatadores dependentes (acetilcolina) e independentes (nitroprussiato de sódio) do endotélio. À influência da hiperosmolaridade foi analisada com soluções de manitol 15 e 25 mM.

**Resultados:** Nos grupos com glicose 5,5 (controle) e 8mM não observamos diferenças significativas nas respostas da Ach. Nas concentrações de glicose 12, 15 e 25mM houve redução significativa nas respostas induzidas pela Ach em relação ao controle, atingindo uma redução máxima de 50%. Não houve diferenças significativas na va-

sodilatação independente do endotélio entre os grupos. Após a perfusão com solução de manitol 15 e 25 mM, encontramos uma redução de no máximo 25% na vasodilatação mediada pelo endotélio.

**Discussão:** Concentrações elevadas de glicose são capazes de provocar de forma aguda alterações na vasodilatação dependente de endotélio. Parte destas alterações é devida à elevação na osmolaridade do meio. Estes resultados sugerem que as concentrações de glicose encontradas rotineiramente em pacientes diabéticos já são suficientes para modificar a reatividade vascular. Apoio financeiro: FIOCRUZ/ FAPERJ.

## 01.022

**INFLUÊNCIA DA TENSÃO PASSIVA INICIAL NA REATIVIDADE DE AORTA DE RATAS GRÁVIDAS.** M.R. Martinez, G. Ballejo, M.C.O. Salgado, Dep. Farmacologia, FMRP-USP

**INTRODUÇÃO:** A reatividade a agonistas vasoconstritores, assim como a produção "basal" de EDRFs, são determinadas, em parte, pela tensão passiva (TP) inicial do segmento vascular. Considerando que ao final da gestação se observa uma hiporreatividade a agentes constritores que tem sido atribuída a uma maior produção "basal" de NO, neste estudo determinamos a influência da TP sobre a resposta a fenilefrina (FE) em anéis de aorta de ratas virgens em estro (NG) e ao final da gestação (G, 19-20º dia).

**MÉTODOS:** Após período de estabilização a 0,5 g de TP, os anéis de aorta com ou sem endotélio (n=7-9) eram estimulados com uma única concentração de FE (10<sup>-7</sup> M) e, após lavagem, a TP era aumentada. Após nova estabilização, novamente estimulada com FE, Este procedimento foi repetido a tensões crescentes de 0,5, 0,75, 1 e 2 g. A remoção do endotélio era confirmada pela ausência de resposta a 10<sup>-7</sup> M de acetilcolina.

**RESULTADOS:** Em anéis de NG com endotélio, a tensão ativa induzida por FE aumentou progressivamente com o aumento da tensão passiva (TP de 0,5 e 2 g induziram efeitos de 0,63±0,08 e 0,94±0,10g, respectivamente, P<0,05). Em G, as respostas a FE foram menores que em NG, porém não foram influenciadas pela TP (0,41±0,09 e 0,48±0,08g a 0,5 e 2 g de TP). Na ausência de endotélio as respostas a FE foram maiores que na presença de endotélio e não diferiram em NG e G (1,15±0,09 e 0,94±0,19 g a 2 g de TP), mas não foram afetadas pela TP. **DISCUSSÃO:** A gravidez se associa com um produção aumentada de EDRFs, possivelmente NO, que abolem a influência da TP inicial sobre as respostas contráteis induzidas por FE.

**Apoio financeiro:** Capes e FAPESP

## 01.023

**PHARMACOLOGICAL CHARACTERIZATION OF THE B1 AGONIST DES-ARG9-BRADYKININ-INDUCED CONTRACTION IN RAT PORTAL VEIN.** Medeiros, R; Cabrini, D.A. and Calixto, J.B. Dept. of Pharmacology, UFSC, Florianópolis, SC, Brazil.

**Objective:** This study investigates some mechanisms responsible for the induction of B1 agonist-mediated contraction in rat portal vein (RPV)

in vitro. Results: The incubation of the cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitor, NS398 (1uM), resulted in a significant inhibition (37 ± 5%) in the des-Arg9-bradykinin (DABK)-induced contraction. The same effect was obtained with tyrosine kinase (TK) inhibitor, genistein (30uM, 57 ± 6%) or with the protein kinase C (PKC) inhibitor, GF109203X (30nM, 50 ± 2%). The p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) inhibitor, SB203580 (1uM) and the MAPK extra cellular signal-regulated kinase 1 inhibitor, PD98059 (10uM) also significantly inhibited DABK-mediated contraction in RPV (50 ± 5%; 47 ± 6%, respectively). Pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC, 10uM), an inhibitor of nuclear factor kappa B, was also capable of inhibiting contraction induced by DABK (54 ± 6%). Rings obtained from animals treated with LPS (5mg/kg, iv, 12h prior), developed a further increased when exposed to DABK (~76%). The previous in vivo treatment (12h before) of animals with PDTC (100mg/kg, ip) or with genistein (2.5mg/kg, sc), or with dexamethasone (Dexa, 0.5mg/kg, sc, 24 and 12h) or with an association of sublimial doses of Dexa (0.05mg/kg, sc, 24 and 12h) plus PDTC (10mg/kg, ip, 12h), which alone had no effect, all caused significant inhibition of the time-dependent increase in DABK-induced contraction in RPV pretreated with LPS (65 ± 7; 45 ± 8; 50 ± 5 and 60 ± 8%, respectively). Discussion: The current results show that activation of PKC and TK, co-ordinated with the activation of COX-2, MAPK and nuclear factor kappa B pathways, play a critical role in modulating the time-dependent contraction induced by B1 agonist DABK in the RPV in vitro. Research supported from CNPq, FINEP and PRONEX

## 01.024

**INTERAÇÃO ANGIOTENSINA-(1-7) E BRADICININA NO DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL.** Oliveira, M.A.; Carvalho, M.H.C.; Nigro, D.; Tostes, R.A.; Fortes, Z.B. Depto. Farmacologia, ICB-USP, SP.

Objetivo: Estudar mecanismos envolvidos na interação Ang-(1-7) e BK no diabetes mellitus (DM). Métodos: O diâmetro de arteríolas mesentéricas de ratos diabéticos foi determinado utilizando microscopia intravital, antes e após aplicação tópica de BK (1 pmol) e Ang-(1-7) (100 pmol) + BK (1 pmol) em diabéticos não tratados e tratados com insulina aguda (Ia, 4UI/4 horas antes) ou crônica (Ic, 2UI/12 dias), tetraetilamônio (TEA 90 pmol/tópico), L-NAME (10 nmol, tópico), enalapril (10 mg/kg/21 dias), SOD (0.94 unidades, tópico) e MnTMPyP (mimético da SOD, 1 nmol, tópico). Pressão de perfusão (mmHg) em leito arteriolar mesentérico perfundido *in vitro* com Krebs Henseleit normal (KN) ou com excesso de glicose (KH) foi determinada após adição de BK (18 pmol) e BK associada à Ang-(1-7) (2,2 nmol). Perfusatos de KN e KH foram colhidos após adição de BK, Ang-(1-7) e Ang-(1-7)+BK para dosagem de TXB<sub>2</sub> e 6-Keto PGF<sub>1α</sub> por enzima-immunoensaio. Resultados: Reduzida vasodilatação de BK foi corrigida pelos tratamentos Ia, Ic e enalapril; efeito de Ang-(1-7) sobre BK, ausente no DM, foi restaurado por Ic, SOD e MnTMPyP. TEA bloqueou efeito de Ang-(1-7) sobre BK em Ic (Tab). Ang-(1-7) potencializou o relaxamento promovido por BK em C e D perfundidos com KN mas não em C e D perfundidos com KH. Ocor-

reu diminuição da liberação de 6-Keto PGF<sub>1α</sub> por Ang-(1-7)+BK em comparação com BK em D perfundidos com KH (1717 ± 235 vs. 3491 ± 66,8 pg/mL\*). Conclusões: Formação de ânion superóxido pode estar relacionada com perda de potencialização no DM. Insulina recupera ação potencializadora de Ang-(1-7) sobre BK no DM por hiperpolarização de membrana. Perda de potencialização em D perfundidos com excesso de glicose parece estar relacionada com a diminuição da liberação de PGI<sub>2</sub> nesses animais. Tab: Aumento do diâmetro arteriolar (%).

GRUPO	BK	Ang-(1-7) + BK
D (n=7)	2,5 ± 0,8	3,4 ± 1,0
D + Ia (n=7)	5,6 ± 0,8†	6,0 ± 0,8
D + Ic (n=11)	4,3 ± 0,2†	8,3 ± 0,5*
D + Ic + TEA (n=7)	5,0 ± 0,5†	5,5 ± 0,7†
D + enalapril (n=7)	5,3 ± 0,3†	6,2 ± 0,2
D + SOD (n=6)	4,0 ± 0,3	6,5 ± 0,6*
D + MnTMPyP (n=5)	5,3 ± 9,1	9,1 ± 1,2*

\*p<0,05 vs. BK; †p<0,001 vs. BK em D;  
†p<0,01 vs. Ang-(1-7) + BK em D+Ic.

Apoio financeiro: FAPESP e PRONEX.

## 01.025

**INCREASE IN VASCULAR PERMEABILITY AFTER TOPICAL APPLICATION OF TRYPOMASTIGOTES (*Trypanosoma cruzi*) IN THE HAMSTER CHEEK POUCH.** Erik Svensjö and Julio Scharfstein, Instituto Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ.

Introduction: We have previously shown that trypomastigotes can invade cardiovascular cells in vitro by activating bradykinin receptors (B2 and B1) through the activity of cruzipain, a kinin-releasing cysteine protease (Scharfstein et al. J Exp Med 2000; Lima et al. JBC, 2002). Studies in mice revealed that the trypomastigotes induced inflammatory edema through B2( constitutive) early in the infection, while the upregulated B1 receptor subtype was mobilized as the infection progressed (Todorov et al. submitted). Intravital microscopy (IVM) of the hamster cheek pouch was used to investigate the molecular mechanisms underlying activation of the kinin cascade by T. cruzi. Methods: Hamster cheek pouches (HCPs) were prepared for IVM with FITC-dextran as a tracer of plasma extravasation at postcapillary venules. Tissue-culture trypomastigotes (TCT, Dm28 strain) were washed and the suspension was applied onto HCPs which were superfused with inhibitors of kinin-degrading peptidases (eg. ACE) and/or with selective kinin-receptor-antagonists (eg. HOE 140). Results: In most HCPs there was an increase in plasma extravasation at 5 min reaching a maximum of 106 ± 25 (SEM)leaks/cm<sup>2</sup> at 15 min after application in 10 hamsters treated with captopril. The vascular permeability increase was reversible and the HCPs were without leaks at 30 min. In another group of hamsters (n=6) HOE 140 was added to superfusion together with captopril which resulted in almost complete inhibition of leak formation or 8+3 leaks/cm<sup>2</sup> at 10 min. Discussion: Our studies indicate that intravital microscopy of the HCP may prove a valuable tool to characterize how cruzipain and other pro-inflammatory parasite molecules may contribute to the kinin cascade activation by T. cruzi. Financial support: WHO-TDR, Pronex, FAPERJ

## 01.026

**AVLIAÇÃO FARMACOLÓGICA DO EFEITO VASODILATADOR DA ANGIOTENSINA II NO LEITO VASCULAR MESENTÉRICO (LVM) DO RATO.** Carvalho LCRM, Emiliano AF, Tano T, Resende AC e Soares de Moura R. Departamento de Farmacologia-UERJ-Rio de Janeiro.

Introdução e Objetivo: Estudos anteriores em nosso laboratório mostraram um efeito vasodilatador induzido pela [Ileu5]-Ang II no LVM do rato, efeito este endotélio-dependente e modulado pela liberação de NO e/ou EDHF, sem envolver a ativação dos receptores AT1 e AT2. Sendo assim, resolvemos ampliar nossos estudos avaliando a participação de receptores da Ang 1-7 e Ang IV, como também a participação do GMPc e a possível interferência hormonal (ratos machos, ratas grávidas e não grávidas) na resposta vasodilatadora da Ang II. Métodos: Ratos (machos e fêmeas/ 250-350g) foram sacrificados em câmara de CO<sub>2</sub> e o LVM foi perfundido segundo McGregor (J. Physiol, 1965) e précontraído com norepinefrina (6-30 μM). O efeito vasodilatador da Ang.II, Ang 1-7 (10-100 nmol), e Ang IV (10 - 300nmol) foi estudado antes e após o tratamento com A779 (1 μM), Divalinal-AngIV (300 nmol) e ODQ (10 μM). Resultados: O efeito vasodilatador da Ang II e Ang 1-7 não foi inibido pelo A779. O efeito da Ang II não foi inibido pelo Divalinal-AngIV, mas foi significativamente inibido pelo ODQ (P<0,05). O efeito da Ang II foi semelhante em ratos machos e ratas grávidas e significativamente maior do que em ratas não grávidas. Conclusão: O efeito vasodilatador da Ang II não envolve a participação de receptores da Ang 1-7 e da Ang IV, mas é modulado pelo GMPc e pelos hormônios sexuais. Possivelmente este efeito vasodilatador da Ang II participe do mecanismo dos efeitos benéficos dos bloqueadores dos receptores AT1. Apoio Financeiro: CNPQ e FAPERJ

## 01.027

**AN ALTERNATIVE PATHWAY OF ANGIOTENSIN II GENERATION IN THE RAT MESENTERIC ARTERIAL BED (MAB).** MAV Caprio, CF Santos, EB Oliveira, MCO Salgado, School of Medicine, University of São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brazil

We have previously characterised an Ang II-forming enzyme from MAB perfusate as elastase-2. In the present study we examined whether [Pro<sup>11</sup>-D-Ala<sup>12</sup>]-Ang I, a synthetic peptide that has been reported as a selective substrate for chymases, is also cleaved by rat elastase-2 and whether this peptide is able to generate Ang II in the rat isolated and perfused MAB. Elastase-2 was obtained from MAB perfusate in a highly purified form by a combination of gel filtration and affinity chromatographies. When Ang I or [Pro<sup>11</sup>-D-Ala<sup>12</sup>]-Ang I were used as substrates, the enzyme cleaved specifically the Phe<sup>8</sup>-His<sup>9</sup> bond, generating Ang II. The Ang I to Ang II conversion reaction catalyzed by elastase-2 was inhibited in a concentration-dependent fashion by acetyl-Ala-Ala-Pro-Leu chloromethylketone, an elastase-2 inhibitor, and chymostatin. [Pro<sup>11</sup>-D-Ala<sup>12</sup>]-Ang I (140-2400 pmol), Ang I (20-280 pmol), and Ang II (2-100 pmol) evoked dose-dependent vasoconstrictor effects in the isolated MAB with similar efficacy

that were completely abolished by the Ang II receptor antagonist saralasin (50  $\mu\text{M}$ ). Captopril (36  $\mu\text{M}$ ) reduced the responses to Ang I but not to [Pro<sup>11</sup>-D-Ala<sup>12</sup>]-Ang I. In the presence of both inhibitors captopril and chymostatin (100  $\mu\text{M}$ ), the responses elicited by Ang I and [Pro<sup>11</sup>-D-Ala<sup>12</sup>]-Ang I were abolished. These findings indicate that [Pro<sup>11</sup>-D-Ala<sup>12</sup>]-Ang I evokes vasoconstrictor effects in isolated rat MAB due to generation of Ang II by an ACE-independent mechanism and that MAB elastase-2 may play an important role in generating Ang II in these resistance blood vessels.

## 01.028

**VIA ALTERNATIVA DE GERAÇÃO DE ANGIOTENSINA II EM AORTA E CARÓTIDA DE RATO.** C. Becari, D.O. Sivieri Jr, C.F. Santos, E.B. Oliveira, M.C.O. Salgado, Dep. Farmacologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP

**INTRODUÇÃO:** Tem sido atribuído à elastase 2, uma serino-protease, um importante papel na geração de angiotensina (Ang) II em vasos de resistência de ratos. Investigamos a existência de vias alternativas à enzima conversora de Ang (ECA) em vasos de grande calibre de ratos.

**MÉTODOS:** Curvas concentração-resposta à Ang II e aos substratos Ang I e [Pro<sup>11</sup>-D-Ala<sup>12</sup>]-Ang I (PDA, não é clivado por ECA), que liberam Ang II, foram obtidas na ausência e na presença do inibidor da ECA captopril (10  $\mu\text{M}$ ) ou do antagonista de receptores AT1 losartan (1  $\mu\text{M}$ ) em anéis de aorta e de carótida isoladas de ratos.

**RESULTADOS:** Em anéis de carótidas foram obtidas curvas concentração-resposta completas ( $n=5-7$ ) a Ang II ( $10^{-10}$  a  $3 \cdot 10^{-8}$  M), Ang I ( $3 \cdot 10^{-10}$  a  $10^{-7}$  M) e PDA ( $3 \cdot 10^{-8}$  a  $10^{-6}$  M). Na presença de captopril, Ang I induziu respostas contráteis somente em altas concentrações ( $3 \cdot 10^{-8}$  a  $10^{-6}$  M) embora as repostas a PDA não tenham sido afetadas. Preparações de anéis de aorta ( $n=4-5$ ) apresentaram resultados similares à carótida. Losartan aboliu as respostas induzidas por Ang II, Ang I e PDA em anéis de aorta e de carótida.

**DISCUSSÃO:** As respostas vasoconstritoras induzidas por PDA, substrato insensível a ECA, e por Ang I na presença de captopril, indicam a presença de via independente da ECA para formação de Ang II, possivelmente a elastase-2. Nestas condições, no entanto, estes peptídeos foram cerca de 300 vezes menos potentes que a Ang II, sugerindo que esta via de geração de Ang II teria um papel pouco importante em vasos de condução como aorta e carótida.

Apoio financeiro: Capes e Pronex.

## 01.029

**ANGIOTENSINA (1-7) POTENCIA A RESPOSTA HIPOTENSORA DA BRADICININA.** Bem, M.A.M.; Moreira, D.M.; Frassetto, L.F.; Silva, R.K.; Casaletti, S.; Häckl, L.P.N.; Nicolau, M.; Campagnoli-Santos, M.J.\*; Couto, A.S. \*Depto de Fisiologia e Biofísica, ICB, UFMG, Belo Horizonte, MG. Depto de Ciências Fisiológicas, CCB, UFSC, Florianópolis, SC.

**Objetivo:** Avaliar o efeito da Angiotensina (1-7) [Ang(1-7)] sobre a resposta hipotensora da bradicinina (BK) e a ação do captopril (Cap) no efei-

to da [Ang(1-7)] na resposta hipotensora induzida pela BK. **Métodos e Resultados:** Utilizaram-se ratos machos Wistar (200-300g). Após a anestesia com uretana (1,5g/ Kg, i.p.), foram canuladas as artérias carótida e femoral para injeção de drogas e registro da pressão arterial (PA), respectivamente. A injeção intra-arterial in bolus das drogas foram feitas na seguinte seqüência: 1- BK (1 nmol/ kg), 2- BK e Ang(1-7) [0,1 pmol/ kg], mantendo um intervalo de 5 minutos entre as injeções. Foram utilizados os mesmos métodos do protocolo anterior para ratos tratados com Cap, via oral, na dose de 100 nmol/Kg. A injeção de BK produziu queda significativa da PAM ( $-11 \pm 1$  mmHg,  $n=10$ ) enquanto que administração simultânea de BK e Ang(1-7) [0,1 pmol/ kg] produziu uma queda significativamente maior da PAM ( $-16,5 \pm 1$  mmHg,  $n=10$ ). Em ratos tratados com Cap a injeção de BK produziu queda da PAM ( $-15 \pm 1,5$  mmHg,  $n=4$ ), significante em relação ao controle, entretanto a injeção simultânea de BK e Ang(1-7) [0,1 pmol/ kg] produziu uma queda da PAM ( $-20 \pm 2,4$  mmHg,  $n=4$ ). **Conclusão:** A administração de Ang(1-7) associada a BK potencializou a resposta hipotensora da BK em ratos controle. O tratamento com Cap aumentou a resposta hipotensora da BK mas a associação da Ang(1-7) à BK não aumentou significativamente este efeito. Apoio Financeiro: CAPES e CNPq/PIBIC

## 01.030

**ENHANCED HYPOTENSIVE EFFECTS OF BRADYKININ IN SEPTIC RATS: A NITRIC OXIDE-RELATED ABNORMAL FUNCTION OF POTASSIUM CHANNELS.** Santos, J.E. da S., Prim, R.L., Assreury, J., Dept. of Pharmacology, UFSC

**Introduction:** Excessive production of nitric oxide (NO) has been implicated in the hyporesponsiveness to vasoconstrictors present in septic shock. However, the changes in vasodilator responses have been less studied. Thus, the response to bradykinin during sepsis, and its relation to NO production was addressed in this report.

**Methods and Results:** Wistar rats (180-250g) were submitted to cecal ligation and puncture (CLP), a well-accepted model of polymicrobial sepsis. After 18-48 hours the hypotensive response to bradykinin(BK), acetylcholine, sodium nitroprusside, histamine and iloprost was measured. CLP animals had the length of the BK-induced vasodilation, but not by other vasodilators, substantially increased. For instance, 18 h after CLP, effects of BK (30 nmol/kg) lasted for  $163.1 \pm 11.8$  sec, compared to  $76 \pm 3.6$  sec in control animals ( $n=12$ ;  $p<0.01$ ). Des-arg9-BK (1-100nmol/kg) had no effects on BP. BK response remained potentiated after treatment with des-arg9-leu8-BK (100nmol/kg), but it was abolished by HOE-140 (100nmol/kg). Potassium channel blockers, tetraethylammonium (360  $\mu\text{mol/kg}$ ), 4-aminopyridine (1  $\mu\text{mol/kg}$ ) and glibenclamide (40  $\mu\text{mol/kg}$ ) had no effects on BK response in control animals but brought CLP-potentiated BK response back to control levels. The increase BK response was fully prevented by aminoguanidine (244  $\mu\text{mol/kg}$ ), given every 3 h since CLP induction.

**Conclusion:** Responsiveness to BK is greater in septic animals. This enhancement is mediated by

B2, but not by B1, receptors. In addition, the transduction signaling activated by BK B2 receptors appears to shift, in a NO-dependent fashion, from a potassium channel-independent pathway in control animals to a pathway involving potassium channels in CLP animals.

Financial support: CNPq and PRONEX.

## 01.031

**CHRONIC EFFECTS OF ANGIOTENSIN-1 CONVERTING ENZYME INHIBITORS (ACEI) AND ANGIOTENSIN II AT1 RECEPTOR ANTAGONIST ON KININ RECEPTOR BINDING SITES IN THE SPINAL CORD OF SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS (SHR).** H.S. Buck<sup>1,2</sup>, B. Ongali<sup>2</sup>, F. Cloutier<sup>2</sup>, F. Legault<sup>3</sup>, D. Regoli<sup>4</sup>, C. Lambert<sup>3</sup>, G. Thibault<sup>5</sup>, R. Couture<sup>2</sup>. Dept. of Physiological Sciences<sup>1</sup>, Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo; Depts. of Physiology<sup>2</sup>, Pharmacology<sup>3</sup> and Clinical Research Institute<sup>5</sup>, Université de Montréal, Montréal; Dept. of Pharmacology<sup>4</sup>, Université de Sherbrooke, Québec, Canada.

**Introduction:** Part of the therapeutic effects of ACEI in the treatment of hypertension and cardiovascular diseases is due to the inhibition of kinin metabolism. The aim of this study was to test the hypothesis that ACEI can also regulate the expression of kinin receptors in the thoracic spinal cord of SHR, an important site of autonomic control of blood pressure. **Methods:** This was achieved by quantitative in vitro autoradiography of B1 and B2 receptor binding sites, using [125I]HPP-desArg10-Hoe 140 (B1 antagonist) and [125I]HPP-Hoe 140 (B2 antagonist). SHR received from the age of 4 weeks, one of the two ACEI (lisinopril or zofenopril, 10 mg/kg/day) or as control for the reduction of blood pressure, the selective AT1 antagonist (losartan, 20 mg/kg/day) in their drinking water for a period of 4, 12 and 20 weeks. Untreated Age-matched SHR and Wistar Kyoto rats (WKY) were used as controls. **Results:** B2 receptor binding sites were higher in SHR than in WKY between 8 and 24 weeks in most laminae while B1 receptor binding sites were higher only in lamina I (LI) at 8 weeks. A marked decrease of B1 receptors was seen at 16 and 24 weeks in SHR and WKY. The highest densities of specific binding sites in SHR were measured in LI for B1 (2.00; 0.51; 0.60 fmol/mg tissue) and B2 (20.14; 47.12; 24.20 fmol/mg tissue) receptors at the age of 8, 16 and 24 weeks. Moderate to low densities of specific binding sites were measured in other laminae. When compared to untreated SHR, ACEI (16 and 24 weeks) and AT1 antagonist (24 weeks) enhanced the number of B2 but not B1 receptor binding sites throughout the spinal cord. At 8 weeks, the three treatments significantly increased B1 receptors (LI) and decreased B2 receptors (LI to LIV and LX). **Conclusions:** Data suggest that chronic treatment with ACEI may potentiate the spinal effects of kinins, increasing the number of B2 receptors. The mechanism of this up-regulation is not related to the anti-hypertensive effects of ACEI. Ageing and ACEI also appear to cause reciprocal regulation of B1 and B2 receptors in the spinal cord of SHR. Financial support: FAPESP, Canadian Institutes of Health Research and Republic of Gabon (B. Ongali).

## 01.032

**ALTERAÇÃO NA REATIVIDADE À PHE EM CARÓTIDA DE RATOS APÓS TRATAMENTO CRÔNICO COM TRANDOLAPRIL.** D. Accorsi-Mendonça<sup>1</sup>, F.M.A. Corrêa<sup>1</sup>, A.M. de Oliveira<sup>2</sup>. <sup>1</sup> Departamento de Farmacologia, FMRP-USP, <sup>2</sup> Laboratório de Farmacologia, FCFRP-USP.

**Objetivos :** o objetivo do presente trabalho foi verificar as conseqüências do tratamento do inibidor de ECA, trandolapril, sobre a reatividade para Phe na artéria carótida de ratos.

**Materiais e Métodos :** Ratos adultos Wistar (400-450g) foram tratados com trandolapril via ip (0,3 mg/kg/dia) ou com veículo (controle) durante 6 dias. Os animais foram sacrificados e as artérias carótidas comuns foram isoladas e colocadas em banho para órgão isolado. Curvas concentração-efeito foram feitas para a Phe ( $10^{-10}$ - $10^{-4}$ M), na presença ou ausência de indometacina ( $10^{-5}$ M), L-NAME ( $10^{-4}$ M) ou endotélio, e as contrações isométricas foram registradas. Os resultados representam a média  $\pm$  EPM de 6-8 animais independentes.

**Resultados e Discussão:** O tratamento com trandolapril deslocou para a direita a curva da Phe ( $pD_2$ :  $6,44 \pm 0,17$ ) em relação a valores de animais controle ( $pD_2$ :  $8,64 \pm 0,19$ ), sem alteração de efeito máximo. A indometacina não alterou a curva da Phe. L-NAME ou a retirada do endotélio deslocou a curva da Phe para a esquerda com aumento de potência ( $pD_2$ :  $7,17 \pm 0,12$  e  $6,81 \pm 0,17$ , respectivamente) e eficácia ( $Emax$ :  $0,45 \pm 0,03$  e  $0,56 \pm 0,04$ ), mas sem retornar aos valores do grupo controle. Os resultados demonstram que o inibidor de ECA diminui o valor de  $pD_2$  da Phe em carótidas de ratos tratados com trandolapril quando comparada ao valor do grupo controle e o efeito de redução na potência do agonista é parcialmente mediado por NO e independente de prostanóides.

Apoio financeiro : FAPESP

## 01.033

**ESTRÓGENO MODULA NEGATIVAMENTE A EXPRESSÃO DE RECEPTORES AT<sub>1</sub> DA ANGIOTENSINA II EM RINS DE RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS.** Silva-Antonialli, M.M.; Fortes, Z.B; Carvalho, M.H.C.; Tostes, R.C.A.; Nigro, D. Depto. Farmacologia, ICB-USP-SP.

**INTRODUÇÃO:** Considerando que a angiotensina II (Ang II) exerce a maioria de suas ações na pressão arterial (PA) pela interação com receptores AT<sub>1</sub> e que existe dimorfismo sexual na hipertensão, investigamos a influência do estrógeno sobre a expressão de receptores AT<sub>1</sub> de Ang II.

**MÉTODOS:** Para tanto foram usados ratos SHR de 16 a 18 semanas, divididos nos grupos: machos, fêmeas em estro fisiológico (EF), fêmeas ovariectomizadas (OVX) e fêmeas OVX tratadas com estrógeno (pellets de 50 µg de 17 β estradiol) por 15 dias (OVXE). A PA foi medida por plethismografia de cauda e para avaliar a expressão do RNAm do receptor AT<sub>1</sub> em rins de ratos foi usada a técnica de RT-PCR.

**RESULTADOS:** A PA de EF ( $138,6 \pm 1$  mmHg) foi menor que a PA de machos ( $154,26 \pm 4$  mmHg). A ovariectomia aumentou a PA de fêmeas ( $164,2 \pm 2,3$  mmHg) e o tratamento com estrógeno não normalizou a PA de ratos OVX

( $157,6 \pm 3,9$  mmHg). A expressão de RNAm de receptores AT<sub>1</sub> em machos foi maior que a observada em fêmeas ( $0,42 \pm 0,12$  vs  $0,09 \pm 0,02$ ). A ovariectomia aumentou a expressão destes receptores ( $0,28 \pm 0,06$ ) enquanto que o tratamento com estrógeno nas ratas OVX reduziu a expressão ( $0,11 \pm 0,05$ ).

**CONCLUSÃO:** Existe dimorfismo sexual na expressão de receptores AT<sub>1</sub> da Ang II em rins de SHR e o estrógeno modula negativamente a expressão destes receptores. Esta diferença na expressão dos receptores AT<sub>1</sub> da Ang II pode contribuir para os menores níveis pressóricos observados em fêmeas.

Apoio Financeiro: FAPESP, PRONEX

## 01.034

**DIFERENÇA SEXUAL NA RESPOSTA À ANGIOTENSINA II EM MICROVASOS MESENTÉRICOS DE RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS (SHR).** Silva-Antonialli, M.M.; Akamine, E.H.; Fortes, Z.B; Carvalho, M.H.C.; Tostes, R.C.A.; Nigro, D. Depto. Farmacologia, ICB-USP-SP.

**INTRODUÇÃO:** Tem sido observado diferença na pressão arterial entre machos e fêmeas SHR. A Ang II tem importante papel na regulação da PA e exerce suas funções principalmente pela ativação de receptores AT<sub>1</sub>. O objetivo deste trabalho foi estudar se existe diferença sexual na resposta à Ang II em microvasos mesentéricos e avaliar a expressão de receptores AT<sub>1</sub> da Ang II.

**MÉTODOS:** Foram usados machos, fêmeas em estro fisiológico (EF) e fêmeas ovariectomizadas (OVX). O diâmetro de arteríolas mesentéricas foi determinado utilizando microscopia intravital, antes e após aplicação tópica de angiotensina II (Ang II). Para avaliar a expressão de RNAm de receptores AT<sub>1</sub> foi usada técnica de RT-PCR.

**RESULTADOS:** Machos apresentaram PA maior que fêmeas EF ( $154,26$  vs  $138,6 \pm 1$  mmHg) e as ratas OVX apresentaram PA ( $164,2 \pm 2,3$  mmHg) semelhante a PA de machos. Arteríolas mesentéricas de machos foram mais sensíveis à Ang II na dose de  $10^{-8}$  M que EF ( $99,78 \pm 0,17$  vs  $13,8 \pm 1,67$ ). A ovariectomia aumentou a sensibilidade das artérias mesentéricas à Ang II observada nas ratas OVX aumentou a sensibilidade à Ang II ( $62,07 \pm 17,89$ ) a qual não diferiu significativamente da resposta observada em machos. A expressão de RNAm de receptores AT<sub>1</sub> em mesentérios de machos foi maior que EF ( $0,53 \pm 0,42$  vs  $0,16 \pm 0,05$ ).

**CONCLUSÕES:** Os hormônios ovarianos modulam a reatividade mesentérica à Ang II. A maior expressão de receptores AT<sub>1</sub> pode contribuir para maior resposta à Ang II e maiores níveis de PA observados em machos.

Apoio Financeiro: FAPESP, PRONEX

## 01.035

**EFEITO DO AUMENTO NA CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE HOMOCISTEINA SOBRE A REATIVIDADE À BRADICININA EM CARÓTIDAS DE RATOS.** <sup>1</sup>Bonaventura D, <sup>1</sup>Tirapelli CR, <sup>3</sup>Haddad R, <sup>3</sup>Höehr NF, <sup>4</sup>Eberlin MN, <sup>2</sup>De Oliveira AM. - <sup>1</sup>Dep. Farmacologia, FMRP-USP. <sup>2</sup>Lab. Farmacologia, FCFRP-USP. <sup>3</sup>Fac. Ciências Médicas., UNICAMP. <sup>4</sup>Ins. Química, UNICAMP.

**Introdução :** O aumento na concentração plasmática de homocisteína promove alteração vascular. O objetivo do presente trabalho é estudar os efeitos do aumento na concentração de homocisteína plasmática sobre a reatividade à bradicinina (Bk), em carótida de ratos.

**Métodos e Resultados:** Ratos Wistar foram tratados com DL-metionina (2g/Kg/dia) por 8 semanas. Após tratamento fez-se o estudo da reatividade e dosagem de homocisteína plasmática. Foram realizadas curvas, após pré-contracção com fenilefrina ( $10^{-7}$  M), para acetilcolina (Ach) ( $10^{-10}$  a  $10^{-5}$  M), Bk ( $10^{-10}$  a  $10^{-5}$  M) e Bk ( $10^{-10}$  a  $10^{-5}$  M) após incubação com indometacina ( $10^{-5}$  M). As curvas concentração-efeito acima citadas foram obtidas de registros de tensão isométrica em cubas para órgão isolado.

O tratamento aumentou a concentração plasmática de homocisteína ( $12,54 \pm 0,27$ ), em relação ao controle ( $7,49 \pm 0,32$ ). Não ocorreu alteração de efeito máximo ( $Emax$ : % relaxamento) e  $pD_2$  ( $-\log EC_{50}$ ) para a Ach em carótidas isoladas de ratos tratados, quando comparado ao controle. O  $Emax$  da Bk foi menor significativamente em carótidas de animais tratados ( $41,72 \pm 1,30$ ) quando comparadas com o controle ( $53,51 \pm 2,99$ ). Após incubação com indometacina não houve diferença nos valores de  $Emax$  e  $pD_2$  da Bk em carótida de ratos tratados ( $74,00 \pm 3,85$ ), com relação ao controle ( $74,33 \pm 2,92$ ).

**Conclusão:** a homocisteína reduz o relaxamento máximo da Bk por aumentar a síntese de produtos do ácido araquidônico.

Apoio financeiro: FAPESP.

## 01.036

**EFEITO DO AUMENTO NA CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE HOMOCISTEINA SOBRE A REATIVIDADE VASCULAR À ANGIOTENSINA II EM RATOS.** <sup>1</sup>Bonaventura D, <sup>1</sup>Tirapelli CR, <sup>3</sup>Haddad R, <sup>3</sup>Höehr NF, <sup>4</sup>Eberlin MN, <sup>2</sup>De Oliveira AM.

<sup>1</sup>Dep. Farmacologia, FMRP-USP. <sup>2</sup>Lab. Farmacologia, FCFRP-USP. <sup>3</sup>Fac. Ciências Médicas., UNICAMP. <sup>4</sup>Inst. Química, UNICAMP.

**Introdução:** O aumento na concentração plasmática de homocisteína promove alteração vascular. O objetivo do presente trabalho é estudar os efeitos do aumento na concentração de homocisteína plasmática sobre a reatividade à angiotensina II (Ang II).

**Métodos e Resultados:** Ratos Wistar foram tratados com DL-metionina (2g/Kg/dia) por 8 semanas e realizou-se então curvas para cloreto de potássio (KCl) ( $10$ – $90$  mM), Ang II ( $10^{-12}$  a  $10^{-7,5}$  M) antes e após incubação com indometacina ( $10^{-5}$  M) e Ang I ( $10^{-12}$  a  $10^{-7}$  M). As curvas concentração-efeito foram obtidas de registros de tensão isométrica.

Após o tratamento com DL-metionina a concentração plasmática de homocisteína foi de  $7,49 \pm 0,32$  para  $12,54 \pm 0,27$  µM. O tratamento não alterou o efeito máximo ( $Emax$ : g/mg) e  $pD_2$  ( $-\log EC_{50}$ ) do KCl em artérias de ratos tratados comparado ao controle. O  $Emax$  da Ang II em carótidas de ratos tratados foi  $0,75 \pm 0,05$  e controle  $0,41 \pm 0,04$ . O  $Emax$  da Ang II, após incubação com indometacina, não foi diferente em carótida de ratos tratado e controle. O  $Emax$  da Ang I em carótida de ratos tratados foi  $0,50 \pm 0,05$  e controle  $0,71 \pm 0,05$ . Em aorta de animais tra-



tados o Emax da Ang II foi 6,55±0,47 e controle 4,30±0,40, enquanto o Emax da Ang I foi 1,45±0,11 e 3,58±0,25 respectivamente. Conclusão: a homocisteína aumenta o Emax da Ang II por reduzir a atividade da ECA e aumentar a síntese dos produtos do ácido araquidônico. Esta alteração independe do leito arterial estudado. Apoio financeiro: FAPESP.

### 01.037

**ENHANCED OXIDATIVE STRESS AS A POTENTIAL MECHANISM UNDERLYING THE PROGRAMMING OF HYPERTENSION IN UTERO.** Franco MCP; Dantas APV; Akamine EH; Oliveira MA; Kawamoto EM; Fortes ZB; Scavone C; Tostes RCA; Carvalho MHC; Nigro D. Department of Pharmacology, Institute of Biomedical Science, University of São Paulo.

Intrauterine undernutrition can contribute to the development of cardiovascular disorders, including coronary heart disease, hypertension and stroke. In almost all of these disorders, there is a loss of endothelial production and/or bioavailability of NO. Increased oxidative stress, in rats submitted to intrauterine undernutrition, provides a potential explanation for the endothelial dysfunction development. The aim of this study was to determine the oxidative stress and its consequence on mesenteric arteriolar responses to vasoactive agents in offspring submitted to intrauterine undernutrition. For this, female pregnant Wistar rats were fed either normal or 50% of normal intake diets, during the whole gestational period. In male offspring, arterial blood pressure was determined before and after antioxidant treatments by the tail cuff method. Arteriolar diameter was measured *in vivo* by intravital microscopy before and after application of bradykinin (BK), acetylcholine (ACh) or sodium nitroprusside (SNP) in the absence or presence of superoxide dismutase (SOD), SOD mimetic, oxypurinol (xanthine-oxidase inhibitor) or apocynin (NADPH-oxidase inhibitor). BK and ACh responses were also evaluated after treatments with ascorbic acid (150 mg/Kg/day for 15 days, by gastric gavage) or alpha-tocopherol (350 mg/Kg/day for 15 days, by gastric gavage). Vascular SOD activity was determined spectrophotometrically. Superoxide anion generation was studied by hydroethididine microfluorography method. Intrauterine undernutrition induced hypertension, decreased vasodilation to ACh (4.53 ± 0.4 vs. 10.3 ± 0.4%, P<0.05) and BK (5.87 ± 0.6 vs. 10.85 ± 0.9%, P<0.05) but did not alter the responses to SNP. Topical application of SOD, SOD mimetic and apocynin significantly improved the altered arteriolar responses to ACh and BK, whereas oxypurinol did not modify the responses to these agents. A decreased superoxide dismutase activity (0.15 ± 0.02 vs. 0.27 ± 0.04 U/mL, P<0.05) and an increased superoxide anion concentration (22.35 ± 5.6 vs. 2.51 ± 1.4%, P<0.05) were observed in the offspring of diet-restricted dams. Antioxidant treatments reduced blood pressure levels, improved vascular function and decreased superoxide anion generation in offspring submitted to intrauterine undernutrition. This study shows for the first time that intrauterine undernutrition enhanced oxidative stress, and this is associated with increased activation of NADPH-oxidase and decreased SOD activity. Financial Support: FAPESP

### 01.038

**ESTUDO DA FUNÇÃO GLOMERULAR E TUBULAR DE RATOS INDUZIDOS AO DIABETES MELLITUS - EFEITO DO D-α-TOCÓFEROL.** Radaeli, R.F.; Barbosa, F.T.; Zaladek Gil, F; Gomes, G.N., Departamento de Fisiologia, UNIFESP.

Objetivos: Estudar em animais diabéticos o efeito do D-α-tocoferol sobre a função glomerular, função tubular e excreção renal total de ácidos, visto que nos animais diabéticos estes parâmetros encontram-se alterados, e a possível normalização destes com o uso de D-α-tocoferol seria de extrema importância. Métodos/Resultados: Ratos Wistar foram divididos em 4 grupos experimentais: controle (C), controle tratado com D-α-tocoferol (C+T), diabético (D), diabético com D-α-tocoferol (D+T). Os animais dos grupos (C+T) e (D+T) receberam D-α-tocoferol (10mg/300g) em dias alternados por 30 dias. No 31º dia, os animais foram preparados para o experimento. Foram avaliados o ritmo de filtração glomerular (RFG), fluxo plasmático renal (FPR), fração de filtração (FF%) excreção fracional de sódio (FENa+) e potássio (FEK+) e excreção de ácidos (EA). Valores expressos como médias±EP, n° de amostras entre parênteses, significância: p<0,05 \* vs C; # vs D.

	RFG ml/min/kg	FPR ml/min/kg	FENa+ %	FEK+ %	EA uEq/min/kg
C (24)	7.17±0.42	19.97±1.87	1.65±0.59	20.78±1.38	4.52±0.20
C+T (22)	4.20±0.42*	12.98±0.98*	0.59±0.09*	68.70±9.69*	3.94±0.28
D(25)	7.74±0.45	16.53±1.59	0.38±0.07*	23.68±1.41	6.79±0.63*
D+T (38)	3.94±0.20#	12.13±0.75*	0.58±0.05*	69.31±4.49*	4.03±0.24#

Conclusões: O tratamento com D-α-tocoferol ocasionou queda no RFG e no FPR tanto nos animais C como nos D; provocou aumento na excreção de K+ e causou uma normalização na excreção de ácidos em D+T. Outros parâmetros devem ser avaliados para a verificação dos possíveis efeitos benéficos do tratamento com D-α-tocoferol nos animais diabéticos. Apoio Financeiro: FAPESP.

### 01.039

**REPERCUSSÃO DO DIABETES MELLITUS GESTACIONAL SOBRE A MORFOLOGIA RENAL DA PROLE-ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS.** Rocha, S.O.; Barreto, V.; Zaladek Gil, F; Gomes, G.N., Departamento de Fisiologia, UNIFESP

O objetivo deste trabalho é averiguar em animais a influência de Diabetes Mellitus (DM) durante a gestação sobre morfologia renal e o desenvolvimento da prole. Ratos Wistar fêmeas adultas, pesando entre 180-240g, controles ou induzidas ao DM, com injeção única de streptozotocina (60 mg/kg), foram colocadas para cruzar. Após o nascimento dos filhotes foram feitos os seguintes grupos experimentais: **CR**-controle recém nascido (RN); **DR**-filhos de mães diabéticas RN; **C3**- controle com 3 meses de idade; **D3**-filhos de mães diabéticas com 3 meses de idade. Na análise morfológica foram avaliados: área glomerular, diâmetro glomerular e número de glomérulos por campo. O crescimento foi avaliado pelo peso corporal. Os dados estão apresentados como média ± erro padrão, estando o número de medidas entre parênteses; dados submetidos à análise de variância. Nível de significância: p<0.05; \* vs CR; • vs DR; # vs C3

	Área glomerular μ²	Diâmetro médio μ	Nº de glomérulos/ campo	Peso corporal
CR	3303±51.6 (388)	62,4±3,16 (388)	7,78±0,287 (50)	6,66 ± 0,22 (20)
DR	3345±58,5 (398)	62,7±0,58 (398)	7,96±0,182 (50)	5,94±0,10 (28)
C3	7450±109* (297)	94±0,80* (297)	6,74±0,281 (20)	287,94 ± 5,30* (17)
D3	9394±132 • # (272)	106,4±0,84*# (272)	5,52±0,225 (50)	271,66 ±3,11 • (9)

Com relação à morfologia renal, não observamos alterações significantes ao nascimento; entretanto houve uma hipertrofia glomerular aos 3 meses de idade, processo este que pode resultar em esclerose glomerular numa fase mais tardia. A presença de hiperglicemia durante a gestação pode possivelmente alterar o desenvolvimento renal neste período.

### 01.040

**THE ROLE OF GONADAL HORMONES ON THE VASCULAR ADAPTIVE RESPONSE TO STRESS IN MALE RATS.** Lanza, J.R.U.\*\*; Cordellini, S. Depto. Farmacologia-IB-UNESP-Botucatu-SP-Brasil

Introduction: The literature reports a decrease to noradrenaline (NA) and an increase to acetylcholine in the response of aorta from stressed male rats. Objective: To investigate the role of gonadal hormones in the vascular adaptive response to stress (2-h immobilization). Methods: Curves to NA were obtained in aorta, with (+E) and without (-E) endothelium from castrated (OQX) or not (control) male rats, submitted or not to stress. Acetylcholine (ACh, 10<sup>-6</sup> M) and sodium nitroprusside (NP, 10<sup>-4</sup> M) were added at the end of the curves to NA. Results: The results are expressed by mean ± SEM. Number of animals 5-12. Comparison tests: ANOVA and Tukey-Kramer. P < 0,05 was considered statistically significant.

Rats	E	Noradrenaline Maximum Response (g tension)		Acetylcholine % Relaxation		Sodium Nitroprusside % Relaxation	
		Normal	Stressed	Normal	Stressed	Normal	Stressed
Control	+	3.8 ± 0.2*	2.8 ± 0.1*	24.5 ± 2.8*	32.5 ± 1.4*	95.0 ± 2.4*	98.0 ± 1.4*
	-	5.7 ± 0.3*	4.6 ± 0.5*			93.0 ± 3.2*	88.0 ± 4.1*
OQX	+	5.9 ± 0.3*	4.8 ± 0.2*	10.0 ± 1.4*	30.0 ± 2.2*	75.0 ± 6.0*	86.0 ± 8.0*
	-	5.8 ± 0.4*	5.6 ± 0.2*			77.0 ± 6.1*	82.0 ± 5.1*

\*Means values sharing a common superscript were not statistically different (p > 0.05).

Conclusions: 1) the vascular adaptive response to stress is independent of gonadal hormones. Supported by FAPESP

### 01.041

**VASCULAR ADAPTIVE RESPONSE TO STRESS IN FEMALE RATS: ROLE OF GONADAL HORMONES.** Lanza, J.R.U.\*\*; Cordellini, S. Depto. Farmacologia-IB-UNESP-Botucatu-SP-Brasil

Introduction: The literature reports a decrease to noradrenaline (NA) and an increase to acetylcholine in the response of aorta from stressed male rats. Objectives: To investigate 1) the vascular response to vasoactive agents in female rats submitted to stress (2-h immobilization) and 2) the role of gonadal hormones in the vascular adaptive response to stress. Methods: Curves to NA were obtained in aorta, with (+E) and without (-E) endothelium from castrated (OVX) or not (control) female rats, submitted or not to stress. Acetylcholine (ACh, 10<sup>-6</sup> M) and sodium nitroprusside

(NP, 10<sup>-4</sup> M) were added at the end of the curves to NA. Results: The responses to NP were not altered by both stress and OVX. The results are expressed by mean ± SEM. Number of animals 6-14. Comparison tests: ANOVA and Tukey-Kramer. P < 0,05 was considered statistically significant.

Rats	Endothelium	Noradrenaline Maximum Response (g tension)		Acetylcholine % Relaxation	
		Normal	Stressed	Normal	Stressed
Control	with	3.18 ± 0.26 <sup>a</sup>	2.39 ± 0.41 <sup>a</sup>	16.42 ± 2.74 <sup>a</sup>	32.8 ± 3.94 <sup>a</sup>
	without	5.60 ± 0.77 <sup>a</sup>	4.61 ± 0.14 <sup>a</sup>		
OVX	with	4.92 ± 0.22 <sup>b</sup>	3.28 ± 0.27 <sup>a</sup>	11.12 ± 3.68 <sup>a</sup>	31.27 ± 5.0 <sup>b</sup>
	without	5.76 ± 0.41 <sup>b</sup>	4.73 ± 0.59 <sup>a</sup>		

Mearns values sharing a common superscript were not statistically different (p > 0.05). Endothelium removal abolished the ACh response.

Conclusions: 1) there is no sexual diergism on the vascular adaptive response to stress in rats and 2) the vascular adaptive response to stress in female rats is independent of gonadal hormones. Supported by FAPESP

### 01.042

**EFEITO DO 17-β ESTRADIOL ANTES E APÓS LESÃO POR COLAR DE SILICONE, SOBRE A REATIVIDADE À ENDOTELINA-1 EM CARÓTI-DAS.** <sup>1</sup>Fukada, SY; <sup>2</sup>de Oliveira, AM. <sup>1</sup>Depto de Farmacologia. FMRP-USP. <sup>2</sup>Lab. de Farmacologia. FCFRP-USP.

Introdução: a lesão vascular por colar de silicone promove alterações morfológicas que alteram a reatividade. O 17-β estradiol, atua por diferentes mecanismos. O objetivo foi estudar o efeito do 17-β estradiol administrado antes e após a instalação da lesão sobre a reatividade à endotelina-1 (ET-1).

Métodos e resultados: Ratas Wistar fêmeas ovariectomizadas foram divididas em 4 grupos. Um grupo recebeu cápsula com veículo ou 17-β estradiol (subcutâneo) 7 dias antes da lesão por colar de silicone. Outro, recebeu a cápsula, 7 dias após lesão. Foi realizado cirurgia fictícia e implante de cápsula contendo veículo ou 17-β estradiol antes ou após cirurgia (grupos controles). Estudamos a reatividade das carótidas em todos os grupos por meio de curvas concentração-efeito para ET -1 (10<sup>-12</sup>-10<sup>-7</sup>) obtidas de registros de tensão isométrica.

Quando administrado veículo antes da cirurgia, o Emax (gramas) da ET-1 foi menor em carótidas lesada (0,30 ± 0,05) que na contralateral (0,62 ± 0,05). Após pré-tratamento com estradiol o Emax da ET-1 em carótida lesada foi de (0,45 ± 0,04) e na contralateral (0,76 ± 0,05). Houve redução do Emax da ET-1 nas carótidas lesadas (0,25 ± 0,03) comparada à contralateral (0,58 ± 0,05) tratadas com veículo após lesão. Após tratamento com 17-β estradiol o Emax da ET-1 foi de 0,50 ± 0,06 na artéria lesada e 0,64 ± 0,05 na contralateral. Não houve diferença nos valores de pD<sub>2</sub> da ET-1 nas artérias dos demais grupos. Conclusão: o estrógeno antes ou após lesão melhora a reatividade à ET-1, por um mecanismo ainda não elucidado.

Apoio financeiro: FAPESP.

### 01.043

**DIFERENÇAS SEXUAIS E EFEITO DOS HORMÔNIOS OVÁRIOS NAS ALTERAÇÕES ESTRUTURAIS EM ARTÉRIAS DE RATOS DOCA-SAL.** Montezano ACI<sup>1</sup>, Mota AL<sup>2</sup>, Fortes ZB, Carvalho MHC, Zorn TMT<sup>2</sup>, Tostes RCA. Deptos de Farmacologia<sup>1</sup> e de Histologia<sup>2</sup>, ICB-USP, SP, Brasil.

INTRODUÇÃO: Ratos DOCA-sal apresentam alterações vasculares estruturais (AVE), como hipertrofia e remodelamento. As fêmeas (F) apresentam hipertensão menos severa que os machos (M), o que pode estar relacionado aos efeitos cardioprotetores dos hormônios ovarianos. OBJETIVOS: Avaliar 1) possíveis diferenças nas AVE em M e F DOCA-sal, 2) a influência dos hormônios ovarianos sobre as AVE. MÉTODOS: Ratos Wistar M e F uninefrectomizados controles (C) e DOCA-sal foram utilizados. As F foram ovariectomizadas (OVX) e tratadas ou não cronicamente com estrógeno (E, 0,1 mg/pellet). A pressão arterial (PA) foi avaliada por método indireto. Seções das artérias aorta (A) e mesentérica (Me) foram utilizadas para análise morfológica. RESULTADOS: Na hipertensão DOCA-sal, M apresentam PA mais elevada (189±5 mmHg) e hipertrofia vascular mais severa (espessura da camada média ECM (µm) = A: 135±7, Me: 85±3 DOCA vs. A: 74±3, Me: 50±5 C p<0,05) que F (170±4 mmHg e ECM = A: 95±4, Me: 70±8 DOCA vs. A: 79±3, Me: 62±2) C). A diminuição crônica da PA em M (154±10 mmHg) não atenuou as AVE (ECM = A: 112±5, Me: 96±4). A OVX aumentou a PA nas F DOCA-sal (186±5 mmHg) e as AVE (ECM = A: 104±5; Me: 80±3 p<0,05), mas não nas F controle (120±2 mmHg e ECM = A: 76±2; Me: 59±2). O E restabeleceu os valores de PA nas F DOCA-sal (172±4 mmHg), porém não normalizou as AVE (A: 117±3 µm, Me: 89±3 µm). CONCLUSÃO: 1) M DOCA-sal apresentam AVE mais severas que não estão relacionadas aos valores de PA, 2) Em F o E modula a PA, mas não as AVE. Suporte financeiro: CNPQ, FAPESP

### 01.044

**LESÕES RENAIIS EM RATOS DOCA-SAL: DIMORFISMO SEXUAL E CONTRIBUIÇÃO DOS HORMÔNIOS OVARIANOS.** Montezano ACI<sup>1</sup>, Leite SM, Mota AL<sup>2</sup>, Fortes ZB, Nigro D, Carvalho MHC, Zorn TMT<sup>2</sup>, Tostes RCA. Deptos de Farmacologia<sup>1</sup> e de Histologia<sup>2</sup>, ICB-USP, SP, Brasil.

INTRODUÇÃO: Ratos DOCA-sal apresentam alterações renais funcionais e estruturais caracterizadas por glomeruloesclerose, crescimento celular anormal, alterações vasculares e fibrose. OBJETIVOS: Avaliar 1) a presença de dimorfismo sexual nas lesões renais em ratos DOCA-sal, 2) o efeito da ovariectomia (OVX) e reposição hormonal com estrógeno (E) sobre as lesões renais. MÉTODOS: Ratos Wistar M e F uninefrectomizados controles e DOCA-sal foram utilizados. As F foram ovariectomizadas (OVX) e tratadas ou não cronicamente com E (0,1 mg/pellet). A pressão arterial (PA) foi avaliada por método indireto. Cortes histológicos de rim foram utilizados para análise morfológica qualitativa. RESULTADOS: 1) M DOCA-sal apresentam lesões renais mais severas que F (Tabela 1). 2) O tratamento crônico

com hidralazina (H) não atenuou as lesões renais. 3) A OVX aumentou as lesões renais em DOCA-sal, mas não em controle. 4) O E não normalizou as lesões renais. CONCLUSÃO: 1) Lesões renais mais severas ocorrem em M DOCA-sal, 2) A OVX agrava as lesões renais, mas o E não foi capaz de normalizá-las. Suporte financeiro: CNPQ Tabela 1: Lesões renais em ratos DOCA-sal.

Parâmetros analisados	Ratos DOCA-sal				
	F	OVX	E	M	H
alteração tubular	*	*	*	*	*
glomeruloesclerose	*	**	***	****	**
perda de cápsula	*	**	**	****	**
colóides	*	**	***	****	**
alteração vascular	*	**	***	****	***

O número de \* é diretamente proporcional à intensidade das alterações vs respectivos controles

### 01.045

**EFEITO DO HALOTANO SOBRE A SENSIBILIDADE DA AORTA TORÁCICA DE RATOS À FENILEFRINA.** Hipólito MD\*1, Pafaro R\*1, Marcondes FK2, Moura, MJCS1. 1 Lab Fisiologia, Fac Biologia / PUC-Campinas - SP. 2Depto Ciências Fisiológicas, FOP/UNICAMP, Piracicaba - SP.

Introdução: O sacrifício de animais com halotano é um método eticamente correto e apresenta vantagens metodológicas em relação a métodos físicos. Avaliamos o efeito da inalação de halotano sobre a sensibilidade à fenilefrina (FE) em aorta torácica de ratos, comparando-o ao método de sacrifício por concussão cerebral. Métodos: Ratos Wistar, 3 meses de idade, foram divididos em dois grupos segundo o método de sacrifício: concussão cerebral. (n=5) e inalação de halotano por 40-50 s (n=6). Após o sacrifício, foram retirados dois anéis da aorta torácica, um dos quais teve sua superfície interna massageada para retirada do tecido endotelial. Após estabilização, a integridade funcional do endotélio foi avaliada farmacologicamente (ACh após pré-contracção com FE) e uma curva concentração-efeito à FE foi obtida. Os dados foram analisados por teste t de Student não pareado (concussão vs halotano) ou pareado (endotélio íntegro vs endotélio ausente). Resultados: Não houve diferenças significativas na resposta máxima à FE entre os grupos analisados. Também não houve diferença em anéis com (concussão pD<sub>2</sub>=7,21 ± 0,05 vs halotano=7,17 ± 0,14; p>0,05) ou sem endotélio (concussão=7,74 ± 0,12 vs halotano = 7,98 ± 0,17, p>0,05). Nos dois grupos, na ausência do endotélio o tecido apresentou maior sensibilidade à FE, em relação ao tecido com endotélio íntegro (p<0,05). Discussão: O halotano não alterou a resposta contrátil da aorta torácica de ratos. Foi relatado que este anestésico altera a sensibilidade vascular a agentes vasoativos, in vitro, quando o mesmo é adicionado ao líquido de incubação do tecido em estudo. Porém nossos dados indicam que os efeitos desta substância dependem do tempo e forma de exposição do tecido vascular. FAPESP, FAEP/UNICAMP.

## 01.046

**EFFECTS OF THE DIETHYLPROPION TREATMENT ON THE VASODILATION INDUCED BY ENDOTHELIUM-DEPENDENT AND INDEPENDENT AGENTS.** Bispo da Silva, L.B., Cordellini, S., Department of Pharmacology, IB, UNESP-Botucatu-SP.

Introduction: Diethylpropion (DEP) determines cardiovascular alterations with severe side effects, similar to those produced by other amphetamines. Data from our laboratory showed that DEP treatment induces a hyporeactivity to noradrenaline (NA), dependent on both endothelium and nitric oxide-system. The objective was to investigate if the vascular adaptive response to DEP treatment is a specific phenomenon to vasoconstrictor agents. Methods and Results: Wistar rats were treated with DEP (15 mg/kg/day, i.p.) or saline (SAL), for 14 days. Cumulative concentration-effect curves (CCEs) to sodium nitroprusside (NP) and acetylcholine (ACh) were obtained in aorta with (+E) and without (-E) endothelium (n=5-9). The maximum relaxation (MR, %) and the EC50 values to NP and ACh were evaluated. The DEP treatment did not altered either the MR of aorta to NP (100% of relaxation, in aorta +E and -E) or the MR to ACh (SAL +E: 85.81 ± 2.81; DEP +E: 89.32 ± 4.32; p>0.05). The endothelium removal abolished the relaxation response to ACh. The EC50 values to NP and ACh were not altered (data not show). Discussion: The vascular adaptive response induced by DEP treatment seems to be a specific phenomenon to vasoconstrictor agents, and probably involves alterations on drug-receptor interaction and/or signal transduction in the endothelial cells.

Supported by: FAPESP

## 01.047

**PROSTAGLANDINS DO NOT PARTICIPATE IN THE VASCULAR ADAPTIVE RESPONSE INDUCED BY DIETHYLPROPION TREATMENT IN RAT: A REVERSIBLE PHENOMENON.** Bispo da Silva, L.B., Cordellini, S., Department of Pharmacology, IB, UNESP-Botucatu-SP.

Introduction: Diethylpropion (DEP) determines cardiovascular alterations with severe side effects, similar to those produced by other amphetamines. Data from our laboratory showed that DEP treatment induces a hyporeactivity to noradrenaline (NA), dependent of the endothelium and nitric oxide. However, the participation of prostaglandins and the reversibility of the phenomenon stay to be determined and were investigated in this study. Methods and Results: Wistar rats were treated with DEP (15 mg/kg/day, i.p.) or saline (SAL), for 14 days. Cumulative concentration-effect curves (CCEs) to NA were obtained in aorta with (+E) and without (-E) endothelium, in the presence or absence of indomethacin (Indo, 10<sup>-5</sup> M; n=5-15). CCEs were also obtained in the 2<sup>nd</sup> and 7<sup>th</sup> days of withdrawal (n=5-10). The maximal responses, tension (g), to NA were evaluated. The DEP treatment induced a hyporeactivity to NA that was abolished by the endothelium removal (SAL +E: 4.10 ± 0.23; DEP +E: 2.95 ± 0.18; p<0.05; SAL-E: 6.23 ± 0.47; DEP-E: 5.92 ± 0.29; p>0.05) but not by the presence of Indo (SAL +E: 4.19 ± 0.47; DEP +E: 2.87 ± 0.22;

p<0.05; SAL-E: 5.62 ± 0.33; DEP-E: 5.82 ± 0.38; p>0.05). The hyporeactivity to NA was reversible from the 2<sup>nd</sup> day of DEP withdrawal (date not show). Discussion: DEP treatment determines a reversible vascular adaptive response to NA dependent on the endothelial function alterations that do not involve changes in the synthesis and/or release of prostaglandins.

Supported by: FAPESP

## 01.048

**REST BRADYCARDIA INDUCED BY TREADMILL TRAINING DOES NOT INVOLVE ALTERATIONS IN ADENOSINE RECEPTORS IN RAT RIGHT ATRIA.** Priviero, FBM; de Nucci, G; Antunes, E; Zanesco, A. Dept Physical Education, Paulista State University, Rio Claro; Dept Pharmacology, University of Campinas, Campinas, Brazil.

Objective: Endogenous adenosine is known to produce negative chronotropic responses. Endurance training induces a rest bradycardia and the underlying mechanisms are not completely understood yet. The aim of this work is to evaluate the potency of CPA, NECA and IB-MECA in isolated right atrium from treadmill trained rats (TR). Methods: Wistar male rats were submitted to run training for 4 and 8 weeks, five days a week, during 60 minutes. The right atria were isolated and concentration-response curves to CPA, NECA and IB-MECA, an A1, A2 and A3 adenosine receptor agonists, respectively, were obtained. Blood pressure and heart rate were also evaluated. Results: After 8 weeks of run training whereas a significant reduction in the rate heart was seen (CTL: 386 + 19 vs TR: 294 + 18 bpm). Neither blood pressure nor potency of CPA, NECA and IB-MECA were affected by run training program. Otherwise, the maximal responses to CPA were increased after 4 weeks of run training (CTL: -166 + 9 vs TR: -207 + 15 bpm) and reduced after 8 weeks of training (CTL: -153 + 12 vs TR: -130 + 9 bpm). Conclusion: Our findings show that treadmill run training for 8 weeks induces a decrease in the rest heart rate without changing on the negative chronotropic responses mediated by adenosine receptors in rat isolated right atria. Financial Support: FAPESP

## 01.049

**SUPERSENSIBILIDADE AO EFEITO CRONOTRÓPICO DA ADRENALINA EM RATAS SUBMETIDAS A ESTRESSE POR NATAÇÃO NO METAESTRO.** Tanno, AP\*, Bianchi, FJ, Marcondes, FK. Depto Ciências Fisiológicas, FOP/UNICAMP.

Introdução: A natação induziu supersensibilidade à noradrenalina em átrios direitos (AD) de ratas na fase de proestro, sem alteração nas demais fases do ciclo. Os sistemas de metabolização parecem estar envolvidos neste efeito. O objetivo deste estudo foi avaliar a sensibilidade à adrenalina (ADR) de AD de ratas submetidas ao estresse agudo. Métodos: Ratas Wistar, 3 meses de idade, nas fases de proestro, estro, metaestro e diestro foram submetidas a uma sessão de 50 min de natação, após a qual foram sacrificadas. No AD

destes animais (n=6), e de ratas controles (n=5), foram obtidas de curvas concentração-efeito (CCE) à adrenalina, antes e após o bloqueio in vitro dos sistemas de metabolização das catecolaminas (fenoxibenzamina + estradiol). Os dados foram analisados por ANOVA bifatorial. Resultados: Não houve alteração de sensibilidade entre o grupo submetido à natação e o respectivo controle. Após inibição dos processos de metabolização das catecolaminas, foi observada supersensibilidade à ADR em átrios isolados de ratas em metaestro estressadas (pD2: 7,64 ± 0,05, p<0,05), em relação aos respectivos controle (pD2: 7,31 ± 0,03), sem alteração nas demais fases do ciclo estral. Discussão: Durante o metaestro, a supersensibilidade à ADR induzida por natação parece envolver alterações pós receptor ou no adrenoceptor. O ciclo estral influencia as alterações de sensibilidade adrenérgica, assim como nos mecanismos que as determinam. FAPESP, FAEP/UNICAMP.

## 01.050

**EFFECTS OF STRESS ON MACRO AND MICROVESSEL REACTIVITY AND BASAL ARTERIAL PRESSURE OF RATS: ROLE OF NITRIC OXIDE.** Vinha DS<sup>1</sup>; Cordellini S<sup>2</sup>. <sup>1</sup> Depto. Farmacologia - UNOESTE - Pres. Prudente. <sup>2</sup> Depto. Farmacologia-IB-UNESP-Botucatu. SP-Brasil

Introduction and goal: The basal arterial pressure (BAP) and vascular reactivity to noradrenaline (NA) and acetylcholine (ACh) were investigated in normal (NR) and stressed (SR; 2 hours-immobilization) rats. Methods: Concentration-effect curves to NA were obtained in mesenteric vascular bed (MVB) and thoracic aorta with (+E) and without (-E) endothelium, isolated from NR and SR rats. The experiments with aorta were performed in presence or absence of indomethacin and L-NAME. BAP was obtained in anaesthetized rats, in the absence or presence of either (IND) or IND + L-NAME. Results: The reactivity of both aorta (-E) and MVB did not show any alteration after the different procedures. In aorta (+E), the stress induced a hyporeactivity to NA (maximal responses- NR: 3.64 ± 0.08; SR: 2.50 ± 0.10\*, n=10, \*p < 0.05), reversed by the endothelium removal and by the presence of L-NAME in association with IND or not. The BAP values are presented in table.

Table 1. Changes in the basal arterial pressure of anaesthetized normal and stressed rats, in absence or presence of indomethacin and L-NAME.

Groups	BASIL ARTERIAL PRESSURE (mmHg)		
		Indomethacin	Indomethacin + L-NAME
Normal	81.94 ± 3.77 <sup>a</sup> (n=18)	82.004 ± 3.65 <sup>a</sup> (n=17)	99.09 ± 5.50 <sup>b</sup> (n=13)
Stress	108.45 ± 6.10 <sup>bc</sup> (n=20)	104.75 ± 6.01 <sup>bc</sup> (n=16)	118.75 ± 4.17 <sup>c</sup> (n=10)

<sup>a</sup> = value represent mean ± SEM;  
n= number of animals; means values sharing a common superscript (a, b or c) were not statistically different (P > 0,05).

Conclusions: 1. The adaptive response to stress is not a generalized phenomenon among different vascular beds; 2. This vascular adaptive response is a consequence of an increased NO-system activity; 3. The basal release of NO participates in the control of BAP just in normal condition. Supported by CAPES.

## 01.051

**MICROCIRCULATORY CHANGES IN SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS (SHR) INDUCED BY CENTRAL ADMINISTRATION OF SYMPATHO-MODULATORY AGENTS.** 1V. Estato, 1C.V. Araújo, 2P. Bousquet & 1E. Tibiriçá. 1Lab. de Farmacol. Neuro-Cardiovascular, IOC/FIOCRUZ, Rio de Janeiro. 2Lab. de Neurobiologie et Pharmacologie Cardiovasculaire, ULP, Strasbourg, France.

**Introdução:** The sympathetic nervous system is one of the primary factors involved in the control of vascular resistance and also in the development of hypertension. Although the microcirculation plays a pivotal role in the development of certain forms of hypertension, it can also constitute a preferential target of the disease. In the present study, a new experimental model was designed to evaluate the effects of centrally acting anti-hypertensive drugs on the microcirculation. **Métodos:** SHR male rats (200-250g) were anesthetized and artificially ventilated. Mean arterial pressure (MAP), heart rate (HR), cardiac output (CO) and mesenteric blood flow (MBF, by laser Doppler flowmetry) were monitored. The mesenteric circulation was observed through an intravital video microscope and the images of the arterioles (<30 mm) were recorded and analyzed off-line. **Resultados:** Intracisternal (10 ml) clonidine (1 mg) and rilmenidine (7 mg) decreased MAP by  $55 \pm 4\%$  and  $54 \pm 7.5\%$  ( $n=6$ ,  $P<0.05$ ); CO by  $49 \pm 17\%$  and  $39 \pm 2\%$  ( $n=6$ ,  $P<0.05$ ), and MBF by  $14 \pm 8\%$  ( $n=6$ , n.s.) and  $28 \pm 9\%$  ( $n=6$ ,  $P<0.05$ ), respectively. In the microcirculation, clonidine and rilmenidine induced increases in arteriolar diameter of  $11 \pm 3\%$  and  $25 \pm 9\%$ , respectively ( $P<0.05$ ). **Conclusões:** The present study suggests that the acute effects induced by central clonidine and rilmenidine induced not only a decrease in CO but also a vasodilation of the microcirculation. **Apoio:** CNPq

## 01.052

**ENVOLVIMENTO DAS VIAS INDUTIVA E CONSTITUTIVA DA FORMAÇÃO DE ÓXIDO NÍTRICO (NO) NO CONTROLE CENTRAL DA PRESSÃO ARTERIAL EM RATOS ACORDADOS.** Zoccal, D.B.; Garcia, M. R. L.; Pinge Filho, P.; Martins-Pinge, M.C. - Depto. Ciências Fisiol. - Universidade Estadual de Londrina (UEL) - PR - Brasil.

**Objetivos:** É sabido que a produção aumentada de óxido nítrico (NO) durante o choque séptico leva a uma diminuição da resistência periférica resultando em hipotensão. Essa produção de NO se deve à ativação da NO-sintase da via indutiva (iNOS). Por outro lado a via constitutiva de produção de NO participa dos mecanismos fisiológicos de controle da pressão arterial. O objetivo deste trabalho foi analisar o efeito do bloqueio da iNOS, pela aminoguanidina e eNOS, pelo L-NAME na resposta cardiovascular à microinjeção de L-glutamato no bulbo ventrolateral rostral (BVLr) em ratos acordados.

**Métodos e Resultados:** Foram utilizados ratos machos Wistar pesando de 250 a 300 g. Os animais foram submetidos à estereotaxia para implantar cânulas-guia direcionadas ao BVLr. Após 3 dias de recuperação os animais foram submetidos à canulação da artéria e veia femurais, destinadas ao registro da pressão arterial média (PAM), e administração de drogas, respectivamente. A injeção periférica de aminoguanidina (20 mg/ml/kg) produziu um aumento máximo na PAM de  $18 \pm 3$  mmHg ( $n=5$ ,  $p<0.05$ ) ao longo de 30 minutos. A mesma concentração de L-NAME levou a um aumento de  $44 \pm 7$  mmHg ( $n=6$ ,  $p<0.05$ ). A microinjeção de L-glutamato (5 nmol/100 nl) produziu um aumento na PAM de  $43 \pm 6$  mmHg ( $n=7$ ,  $p<0.001$ ), e após o L-NAME e aminoguanidina a resposta foi bloqueada ( $\Delta PAM = 7 \pm 3$  mmHg,  $n=5$ ). A microinjeção de aminoguanidina no BVLr produziu um aumento de  $17 \pm 6$  mmHg ( $n=5$ ,  $p<0.05$ ) na PAM. A microinjeção de L-NAME também aumentou a PAM ( $\Delta PAM = 10 \pm 3$  mmHg;  $n=7$ ;  $p<0.05$ ). Na presença de aminoguanidina ou L-NAME a resposta do L-glutamato também foi bloqueada.

**Discussão:** Os resultados do presente trabalho mostram que é provável que a via indutiva da formação de NO assim como a constitutiva, tenham uma participação na neurotransmissão glutamatérgica no BVLr em animais acordados e participem da regulação central da pressão arterial.

**Apoio financeiro:** CPG/ UEL

## 01.053

**NITRIC OXIDE OF THE LATERAL HYPOTHALAMIC AREA (LHA) ON THE SALIVARY FLOW, ARTERIAL PRESSURE (MAP) AND HEART RATE (HR) INDUCED BY INJECTION OF Pilocarpine INTO LHA AND INTRAPERITONEALLY (ip).** Saad, W. A.; Camargo, L. AA, Simões S, Santos T A F B, Guarda IMFS, Guarda RS and Ferreira AC. Departamento de Odontologia: Fisiologia, Farmacologia e Anatomia - UNITAU - Taubaté SP, Departamento de Fisiologia e Patologia Odontologia - UNESP - Araraquara SP.

**Objetivo:** We study the effect of injection of L-NAME and sodium nitroprussiate (SNP) on the salivary secretion, arterial blood pressure and heart rate induced by pilocarpine injected into the LHA and i.p.

**Methods:** Holtzman rats (male 250-300g) implanted with cannulae into LHA were used.

**Results:** The saliva secretion was studied over a five-minute period after injection of pilocarpine into LHA or i.p. Injection of pilocarpine into LHA (10, 20, 40, 80, 160  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) produced a dose-dependent increase in salivary secretion. Ip injection of pilocarpine (1, 2, 4, 8, 16 mg/kg b. wt.) also produced a dose-dependent increase in salivary secretion. L-NAME (40  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ), injected into LHA prior to the injection of pilocarpine into LHA produced an increase in salivary secretion due to the effect of pilocarpine. Also L-NAME prior to pilocarpine i. p. increases salivary secretion. SNP produced a decreased in salivary flow induce by pilocarpine injected into LHA or i.p. Pilocarpine injected into LHA increased MAP and a decrease HR. Ip injection of pilocarpine with a

dose of 4 mg/kg b. wt. induced a decrease in MAP and increase in HR). MAP increased after the injections of L-NAME (40  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) into LHA prior the injection of pilocarpine (4 mg/kg b. wt.) i.p and a decrease in HR L-NAME injected into LHA increased MAP induced by pilocarpine injected into LHA with a decrease in HR. SNP produce inverse results of the L-NAME.

**Conclusions:** The LHA is an important region for the central effects of pilocarpine on salivary secretion in rats. The nitric oxide interferes with the systemic and central effect of pilocarpine. Also the median preoptic nucleus of the hypothalamus (MnPO) is implicated in this mechanism. Therefore such results implied that the activation of central pathways by pilocarpine interferes with blood pressure and heart rate (side effects of pilocarpine).

**Supported by:** FAPESP, CNPq, FUNDUNESP, PRONEX

## 01.054

**ANGIOTENSINA II E ARGININA VASOPRESSINA DA ÁREA SEPTAL (ASM) NO CONTROLE DA PRESSÃO ARTERIAL.** W.A. Saad<sup>1,2</sup>, L. A. A. Camargo<sup>1</sup>, S. Simões<sup>2</sup>, I.M.F.S. Guarda<sup>3</sup>, R.S. Guarda<sup>3</sup>, T.A.F.B. Santos<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Fisiologia e Patologia, Faculdade de Odontologia, UNESP, Araraquara, SP. <sup>2</sup>Departamento de Odontologia, UNITAU, Taubaté, SP.

<sup>3</sup>Departamento de Anestesiologia, Hospital do Servidor Público, São Paulo, SP.

**Objetivos:** A angiotensina II (ANG II) e a arginina-vasopressina (AVP) estão implicadas na regulação cardiovascular do organismo. O sistema nervoso central joga com importante papel na regulação da pressão arterial. Neste estudo investigamos a influência do antagonista  $d(\text{CH}_2)_5$ -Tyr (Met)-AVP (AAVP) um antagonista dos receptores V1 da arginina<sup>8</sup>-vasopressina e os efeitos do losartan e do CGP 42112A (antagonistas seletivos dos receptores AT<sub>1</sub> e AT<sub>2</sub> da ANG II, respectivamente) injetados na da área septal medial (ASM) sobre o efeito pressor da AVP injetada na mesma área.

**Métodos:** Foram utilizados ratos machos Holtzman de 250-300 g. Os mesmos foram implantados com cânulas de demora na ASM. A pressão arterial média (PAM) foi registrada através de cânulas implantadas na artéria femoral de ratos acordados.

**Resultados:** A injeção de AVP na ASM aumentou a PAM de maneira dose-dependente. AAVP injetado na ASM produziu uma redução dose-dependente na PAM induzida pela AVP injetada na ASM. Ambos receptores AT<sub>1</sub> e AT<sub>2</sub>, produziram uma inibição na concentração dose-dependente na resposta pressora da AVP. O losartan foi mais efetivo em bloquear esta resposta.

**Conclusão:** Estes resultados indicam que o aumento da PAM induzida pela AVP é mediado primeiramente pelos receptores AT<sub>1</sub> da ASM contudo, as doses de losartan foram mais efetivas quando combinadas com o CGP 42112A. O efeito pressor da AVP aplicada na ASM pode ativar múltiplos subtipos de receptores da ANG II.

**Apoio financeiro:** FAPESP, CNPq, FUNDUNESP, PRONEX.

## 01.055

**MEDIAÇÃO DO BAROREFLEXO PELO NÚCLEO PARATRIGEMINAL (Pa5): INIBIÇÃO DA RESPOSTA CRONOTRÓPICA REFLEXA A ALTERAÇÕES DE PRESSÃO ARTERIAL.** Estelha\*, P.R. & Lindsey, C. J. - Departamento de Biofísica, UNIFESP, São Paulo, Brasil

Introdução: Evidências sugerem que o Pa5, estrutura do bulbo dorsolateral esteja envolvido na modulação dos reflexos cardiovasculares. Como o núcleo do trato solitário (NTS), recebe aferências de ramos do nervo vago e glossofaríngeo, tendo projeções para o RVL, NTS e ambíguo. A atividade de 74% dos neurônios do Pa5 foi alterada após aumento de pressão arterial por fenilefrina (PHE) i.v. O estudo propõe avaliar o papel do Pa5 na função baroreflexa. Métodos: PHE foi administrada i.v. em doses de 50, 100, 200, 300 e 400 µl/ml/h e nitroprussiato de sódio (NPS, 90, 180, 360, 640, 820 µl/ml/h) a grupos de ratos Wistar submetidos a lesão bilateral (Pa5X) ou não (Sham), por microinjeção de 0,15 µl de ácido ibotênico. Resultados: Nos Pa5X houve atenuação significativa dos índices de baroreflexo (IB) para médios aumentos de pressão arterial (IB = -0,5 ± 1,1 à 1,1 ± 0,3) comparados aos Sham (IB = 2,7 ± 0,4 à 1,6 ± 0,3). A atenuação do IB para a resposta depressora ao NPS nos Pa5X foi uniforme para todas as doses (IB = 2,8 ± 0,8 à 2,3 ± 0,5 e IB = 4,7 ± 0,4 à 5,7 ± 1,5 para Pa5X e Sham, respectivamente). A análise das regressões lineares mostrou um IB de 1,2 ± 0,1 para o grupo Pa5X e de 2,1 ± 0,2 para os animais Sham (p < 0,05). Os achados mostram significativa inibição da função baroreflexa nos Pa5X comparado ao grupo de Pa5 intacto. Discussão: Sugere-se que o Pa5 atue diante de acréscimos de pressão arterial de pequena e de média magnitude, de forma rápida enquanto o NTS atuaria em grandes alterações de pressão arterial. Isto foi evidenciado na pouca diferença existente entre os IBs de animais intactos e Pa5X com as doses mais altas de PHE. Portanto, a integridade do núcleo é essencial para as respostas baroreflexas evidenciando um participante do arco baroreflexo bulbar até então desconhecido. Apoio: FAPESP e CNPq.

## 01.056

**THE LATERAL SEPTAL AREA (LSA) IS INVOLVED IN THE PRESSOR RESPONSE TO NORADRENALINE (NA) INJECTION INTO THE CINGULATE CORTEX (CC) OF THE RAT.** Fernandes, K.B.P. ; Tavares, R.F.; Corrêa, F.M.A. Depto de Farmacologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

INTRODUCTION AND GOALS: The cingulate cortex (CC) plays a role in central cardiovascular control. NA injection into the CC evokes pressor responses in unanesthetized rats without a sympathetic involvement. The lateral septal area (LSA) also participates in central cardiovascular regulation. Electrical or chemical stimulation of the LSA evokes pressor responses mediated by vasopressin release. In the present work, we attempt to confirm if the pressor response to NA injection into the CC was mediated by a vasopressin release and a possible involvement of the LSA in this pathway. METHODS: Male Wistar rats were used.

Stainless steel guide cannulas were implanted into the CC and the LSA, using a stereotaxic apparatus. A catheter was implanted into the left femoral artery for blood pressure recording. Vasopressin dosage was performed by radioimmunoassay. RESULTS: Vasopressin levels was markedly increased after NA injection (6,01 ± 1,51 pg/ml, n=8) when compared to saline injection into the CC (2,26 ± 0,31, n=8). The pressor response to NA injection (4nmols/0,2ml) into the CC was not modified by saline injection into the LSA (pressor response to NA before: +36,2 ± 3,1 mmHg and after saline: +35,75 ± 4,1 mmHg, n=4). On the other hand, lidocaine injection (500nl) into the LSA blocked the pressor response to NA injection into the CC (pressor response to NA before: +34,8 ± 2,7 mmHg and after lidocaine: +6 ± 0,85 mmHg, n=6). CONCLUSIONS: The results suggest that the pressor response to NA injection into the CC is mediated by vasopressin release and the lateral septal area is involved in this response. FINANCIAL SUPPORT: Grant from FAPESP 01/00897-4; K.B.P. Fernandes - fellowship from FAPESP 01/03163-0; R.F.Tavares - fellowship from FAPESP 00/00326-3.

## 01.057

**CHOLINERGIC NEUROTRANSMISSION IN THE LATERAL SEPTAL AREA (LSA) IS INVOLVED IN THE PRESSOR RESPONSE TO NORADRENALINE (NA) INJECTION INTO THE CINGULATE CORTEX (CC) OF THE RAT.** Fernandes, K.B.P. ; Tavares, R.F.; Corrêa, F.M.A. Depto de Farmacologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

INTRODUCTION AND GOALS: The lateral septal area (LSA) is involved in the pathway activated after noradrenaline (NA) injection into the cingulate cortex (CC). Acetylcholine injection into the LSA evokes pressor responses mediated by vasopressin release. In the present work, we attempt to verify if cholinergic neurotransmission in the LSA is involved in the pathway activated after NA into the CC. METHODS: Male Wistar rats were used. Stainless steel guide cannulas were implanted into the CC and the LSA, using a stereotaxic apparatus. A catheter was implanted into the left femoral artery for blood pressure recording. RESULTS: The pressor response to NA injection (4nmols/0,2ml) into the CC was abolished after atropine injection (3nmol/500nl) into the LSA (pressor response to NA before: +33,3 ± 1,9 mmHg and after atropine: +4 ± 0,58 mmHg, n=6). On the other hand, physostigmine injection (1nmol/500nl) into the LSA potentiated the pressor response to NA injection into the CC (pressor response to NA before: +29 ± 1,6 mmHg and after physostigmine: +42,2 ± 1,4 mmHg, n=5). Moreover, the pressor response to NA injection into the CC was also blocked by pretreatment with hemicholinium (3nmols/500nl) into the LSA (pressor response to NA before: 33,6 ± 3,7 and after hemicholinium: 6,4 ± 1,7 mmHg, n=5). CONCLUSIONS: The results suggest that cholinergic neurotransmission into the lateral septal area is involved in the pressor response to NA injection into the CC. FINANCIAL SUPPORT: Grant from FAPESP 01/00897-4; K.B.P. Fernandes - fellowship from FAPESP 01/03163-0; R.F.Tavares - fellowship from FAPESP 00/00326-3.

## 01.058

**CARDIOVASCULAR EFFECTS DOPAMINE AND SEROTONIN (5-HT) INJECTION INTO THE MEDIAL PREFRONTAL CORTEX (MPFC) OF THE RATS.** Pelosi, G.G.; Moreira, K.B.; Corrêa, F.M.A. Depto de Farmacologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

INTRODUCTION AND GOALS: There are many neurotransmitters in the MPFC, such as acetylcholine, noradrenaline, dopamine and 5-HT. Acetylcholine and noradrenaline injections into the MPFC of the rats evoked cardiovascular responses. We studied the effect of dopamine and 5-HT injections into the MPFC of the unanesthetized rats. METHODS: Male Wistar rats were used. Guide cannulas were implanted into the MPFC, using a stereotaxic apparatus. A catheter was introduced into the left femoral artery for blood pressure recording. RESULTS: Basal mean arterial pressure was not modified by dopamine injection (100nmols/0,5ml) into the MPFC (Pab = 94 ± 12 mmHg; n=4). Moreover, 5-HT injection into the MPFC did not change the basal mean arterial pressure (Pab = 99 ± 10 mmHg; n=3 after 30nmols/0,5ml and Pab = 94 ± 0,6 mmHg; n=4 after 50nmols/0,2ml 5-HT injection). CONCLUSION: The results suggest that dopamine and 5-HT injections into the MPFC caused no changes in the cardiovascular system. FINANCIAL SUPPORT: G.G. Pelosi - fellowship from CAPES; K.B.P. Fernandes - fellowship from FAPESP 01/03163-0.

## 01.059

**POSSÍVEL PARTICIPAÇÃO DE RECEPTORES NMDA NAS RESPOSTAS CARDIOVASCULARES AO L-GLUTAMATO INJETADO NO HIPOTÁLAMO LATERAL (HL) DE RATOS NÃO ANESTESIADOS.** Pajolla G.P., Corrêa F.M.A., Depto de Farmacologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

INTRODUÇÃO: Estimulação elétrica ou química do HL de ratos anestesiados resulta em alterações cardiovasculares. Estudamos os efeitos cardiovasculares da estimulação química com L-glutamato do HL de ratos anestesiados e não anestesiados. Além disso, investigamos o possível receptor envolvido nestas respostas. MÉTODOS: Ratos Wistar (220-280g) foram submetidos à estereotaxia para o implante de cânula guia no HL, onde foi microinjetado o L-glutamato. A artéria femoral esquerda foi canulada para registro da pressão arterial e frequência cardíaca. RESULTADOS: Injeções de diferentes volumes (50nl, 100nl, 500nl) de L-glutamato (0,1M) no HL anterior, tuberal ou posterior promoveram respostas hipotensoras volume-dependentes, tanto em animais anestesiados quanto em não anestesiados. A resposta bradicárdica foi observada somente nos animais anestesiados. Nos animais não anestesiados não houve correlação entre as respostas hipotensora e bradicárdica. Além disso, nos animais não anestesiados, estudamos qual o tipo de receptor envolvido nesta resposta utilizando previamente à injeção de L-glutamato no HL, um antagonista do receptor NMDA, o AP-7 e observamos uma significativa redução na resposta hipotensora. DISCUSSÃO: Os resultados sugerem

que o grupo de neurônios sensíveis ao L-glutamato, responsável pelo controle cardiovascular, está disperso ao longo do HL; que todas as regiões do HL estão envolvidas neste controle e que há uma possível participação de receptores NMDA nestas respostas cardiovasculares. APOIO FINANCEIRO: G.P. Pajolla - bolsista da FAPESP (processo 00/00341-5).

## 01.060

### BRADICININA (BK) E NÚCLEO PARATRIGEMINAL (Pa5) NA FREQUÊNCIA RESPIRATÓRIA.

Sato, L.T. & Lindsey, C.J. - Departamento de Biofísica, UNIFESP

Introdução: O Pa5 é a única estrutura bulbar extra-solitária a receber aferências dos nervos vago e glossofaríngeo. Possui projeções eferentes para o trato solitário, núcleo reticular lateral, reticular rostroventrolateral e parabraquiais, que contêm importantes segmentos dos substratos neuroanatômicos dos mecanismos respiratórios. A administração de BK ao Pa5 induz importantes efeitos cardiovasculares e respiratórios. O estudo visa avaliar a participação do Pa5 no controle respiratório, pela aplicação de BK ou lesão bilateral do núcleo. Métodos e resultados: O monitoramento da frequência respiratória, foi realizado por termopares implantados na traquéia dos ratos. BK 1,2 pmol/0,1 µl ou 6 pmol/0,1 µl injetada no Pa5, aumentou a frequência respiratória de 45,6±15 para 63,2±16 respirações por minuto (rpm) ou 36±12 para 96±18 rpm, respectivamente. A lesão unilateral do Pa5 (0,15 µg/1,5 µl de ácido ibotênico, n=8) causou uma ligeira e curta queda da frequência respiratória (de 74,5 para 64,3 rpm, p<0,05). A lesão bilateral do Pa5 levou a uma diminuição acentuada da frequência respiratória (de 71,3 para 47,8 rpm, p<0,0033), paradas respiratórias e morte. 50% dos animais morreram por parada respiratória, antes dos 5 min e 62% morreram antes dos 10 min após a lesão bilateral do Pa5. Discussão: Os resultados evidenciam um papel importante do Pa5 na manutenção da respiração e sugerem que a BK neste núcleo estimule o ritmo respiratório. Apoio: FAPESP e CNPq.

## 01.061

### NEUROKININ RECEPTORS MEDIATING THE CARDIOVASCULAR EFFECTS THE RAT PARATRIGEMINAL NUCLEUS.

De Brito, H., Yu, Y.G. §Couture, R., Lindsey, C.J. Department of Biophysics, UNIFESP-EPM, 04023-062, São Paulo, SP, Brazil and §Department of Physiology, Université de Montréal, Canada.

Introduction: Neurokinins (NK) act as endogenous mediators on three receptor types, NK1, NK2 and NK3. Substance-P (SP), a non-selective NK1 agonist (NK1>NK2) was microinjected in the rat paratrigeminal nucleus (Pa5) has a distinct profile of cardiovascular effects. The aim of the present investigation was to identify the types of NK receptors mediating different aspects of the cardiovascular actions of SP. Methods and Results: SP (0.01-500pmol) microinjections of in the Pa5

of unanesthetized rats produced biphasic pressor responses characterized by a transient decrease followed by an increase of arterial pressure (AP). Significant dose-dependent increases in AP and heart rate (HR) was observed with 0.01-10pmol of SP and the ranges of average effects were 4.1±2.7mmHg/50±13bpm to 15±1mmHg/147±8bpm (ED50 0.2±0.04mmHg/0.6±2.5bpm). Higher doses configured a typical bell-shaped dose-response curve. The selective NK1 receptor agonist [Sar9Met(O2)11]SP (10-100pmol) also produced pressor responses (4±7.8/18±6mmHg, ED50 2.0±1mmHg) and tachycardia (70±31bpm). The NK3 agonist (1-100pmol) was devoid of any cardiovascular effects when injected in the Pa5. The NK2 antagonist blocked the pressor response to 100pmol of SP. Conclusion: The present findings convey evidence for two functionally active neurokinin receptor types in the Pa5 associated with the mediation of cardiovascular function. Financial support: FAPESP, CNPq.

## 01.062

### CHOLINERGIC NEUROTRANSMISSION INVOLVEMENT IN THE MEDIAL PREFRONTAL CORTEX ON THE BAROREFLEX ACTIVITY OF THE RAT.

Moraes, L.R.B.; Pajolla, G.P.; Corrêa, F.M.A. Depto de Farmacologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

INTRODUCTION AND GOALS: The medial prefrontal cortex (MPFC) is involved in central cardiovascular control. MPFC lesions evoke a reduction in baroreflex activity. Acetylcholine is a neurotransmitter present in the MPFC and cholinergic agonists administration into this area modulates cardiovascular function. In this work, we attempted to verify if the MPFC cholinergic system also modulates baroreflex sensitivity. METHODS: Male Wistar rats were used (260 g). Stainless steel guide cannulas were implanted bilaterally into the MPFC, using a stereotaxic apparatus. A catheter was implanted into the left femoral artery for blood pressure recording and infusion of a vasoconstrictor agent was performed through the femoral vein. RESULTS: Lidocaine(2%) injection(500 nl) into the MPFC caused a reversible decrease in baroreflex sensitivity. CoCl2 (1mM) microinjection produced a similar response to that of lidocaine into the MPFC. Atropine (9nM) injection (500nl) into the MPFC caused no changes in baroreflex sensitivity. No changes were observed in baroreflex gain. Data on baroreflex sensitivity after an 30 mmHg increase on blood pressure. Group n D HR Control 07 -57.1 ± 1.7 bpm Lidocayne 06 -31.3 ± 3.5 bpm \*\* CoCl2 06 -34.3 ± 5.1 bpm \*\* Atropine 06 -57.0 ± 5.3 bpm \*\* Anova followed by Dunnett's Multiple Comparison Test p< 0.01 CONCLUSIONS: The results suggest that MPFC neuronal cell bodies modulates baroreflex sensitivity but cholinergic muscarinic receptors in this area doesn't seem to be involved in this response. FINANCIAL SUPPORT: L.R.B. Moraes - Fellowship from CAPES; G.P. Pajolla - fellowship from FAPESP (processo 00/00341-5).

## 01.063

### BAROSENSITIVE NEURONS IN THE RAT TRACTUS SOLITARIUS AND PARATRIGEMINAL NUCLEUS: A NEW MODEL FOR MEDULLARY CARDIOVASCULAR REFLEX REGULATION.

Yu, Y.G. Buck, S.H., and Lindsey, C.J.. Department of Biophysics, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, 04023-062 São Paulo, SP, Brazil

Introduction: The nucleus of solitary tract (NTS) contains neurons that respond to turbulences of arterial blood pressure (AP). Many of these neurons have a pattern of pulsatile activity synchronized with cardiac cycle (CC). The paratrigeminal nucleus (Pa5), a collection of neurons in the dorsal lateral medulla, has efferent connections to the rostroventrolateral reticular nucleus (RVL) and NTS. Similarly to NTS, the Pa5 receives primary afferent of glossopharyngeal and vagus nerves, which suggests that the Pa5 may also play a role in the baroreceptor reflex. Methods: Simultaneous recording from multiple single neurons in behaving rats was used for acquisition of neuronal spikes. Results: The study shows that 30% of NTS neurons were barosensitive while 74% Pa5 neurons responded to increases of AP caused by phenylephrine (Phe, iv) injection. Whereas most of the barosensitive NTS neurons (97%) increased firing rate (FR) during an increase of AP, 64% of Pa5 baroreceptor sensitive neurons decreased FR while 26% increased activity to the same type of AP alteration. The Pa5 neurons that decreased FRs did so during the ascending phase of the pressor response, denoting sensitivity to rapid changes of AP. The majority of Pa5 and NTS neurons that increased activity did so during the peak pressor response to Phe. CCA showed that 40% of Pa5 and 20% of NTS baroreceptor stimulated neurons possessed phasic discharge patterns locked to the CC. Periodical discharge activity not related to CC was also found in both pressure sensitive and non-pressure sensitive Pa5 and NTS neurons. These findings suggest that the Pa5, alike the NTS, acts as a relay nucleus in the medullary baroreflex pathway. Differently from the NTS, a large percentage of neurons decrease FR during AP increases.

## 01.064

### PARATRIGEMINAL NUCLEUS IN HUMAN AND RAT: MORPHOLOGICAL COMPARISON STUDY.

R. R. Ferraz da Silva, Y. G. Yu, K. B. Pereira, J. B. C. Villares, C. J. Lindsey and R. L. Smith. Dept. of Biophysics & Dept. Anatomy, Universidade Federal de São Paulo, Brazil.

Introduction: Animals studies describes that the paratrigeminal nucleus (Pa5) receives sensory inputs of the V, IX and X cranial nerves and projects to medullary, bulbopontine and thalamic structures associated with cardiovascular, respiratory, body temperature control and nociception. However, few studies provide detailed morphologic information of the nucleus in humans medulla. The present investigation is to detail the morphologic characteristics of the human Pa5 and to compare it in rat. Methods: Four postmortem

adult human medullae and six rat brains followed the same fixative protocol using 4% paraformaldehyde. Coronal sections (30 $\mu$ m) were mounted in slides and stained according to Klüver Barrera's stain. Light microscopy images were digitally analyzed on an integrated image acquisition system with morphometric analyses software (MetaMorph). Results: The Pa5 in the both species shows a highly conserved character of anatomical position, morphological shape, neurons type and its distribution. The nucleus is located in the dorsolateral portion of the trigeminal tract extending rostrocaudally in an average length of 8 $\pm$ 3 and 1.3 $\pm$ 0.4mm in human and rat, respectively. The Pa5 in both showed an extensive ramification that the main portion is composed of posterior, medial, anteromedial branches and small variable portions. Three clusters of multipolar neurons accounting of approximately 1200 in human and 200 in rat are rostrocaudally distributed and interlaced with extensive neuropil. The study presents that the morphologic similarities of Pa5 in both human and rats shows to represent a highly conserved nucleus, which may suggest it is a component of fundamental phylogenetic structure involving basic homeostatic processes. Financial support: FAPESP.

## 01.065

**HUMAN AND RAT PARATRIGEMINAL NUCLEUS (Pa5).** R. R. Ferraz da Silva, Y. G. Yu, K. deBrito, J. B. Villares, R. Smith & C. Lindsey. Dept. of Biophysics & Dept. Anatomy, Universidade Federal de São Paulo, Brazil.

Introduction: The Pa5, a medullary structure, receives sensory inputs from the trigeminal, vagus and glossopharyngeal cranial nerves and projects to medullary, bulbopontine and thalamic nuclei related to cardiovascular functions, respiration, thermoregulation and nociception. However, little information on morphology of the human Pa5 exists. The present investigation details the morphologic and morphometric characteristics of the human Pa5 in comparison to that of the rat. Methods and Results: Four postmortem adult human medullae and six Wistar rat brains followed equal fixation and staining procedures. Light microscopy images of 30 $\mu$ m coronal sections were digitally acquired and morphometrically analyzed. In both species the Pa5 showed a highly conserved structure regarding anatomical position, shape, cell type and distribution. The nucleus is located in the dorsolateral portion of the trigeminal tract extending in an average length of 8 $\pm$ 3 and 1.3 $\pm$ 0.4mm in humans and rats, respectively. The Pa5 of both species showed extensive ventral-medial oriented ramifications in the rostral and interpolar portions of the nucleus. Multipolar neurons (1200 $\pm$ 5 in humans and 200 $\pm$ 0.2 in rats), interlaced with extensive neuropil, are grouped in three clusters showing a unique tri-modal distribution. Conclusions: The study reports a highly conserved structure in two phylogenetically non-related mammal species. This feature, and its connectivity suggests that the Pa5 may be a fundamental component of the medullary circuitry involved in basic homeostatic processes. FAPESP, CNPq.

## 01.066

**EFFECTS OF ISOPROTERENOL CHRONIC TREATMENT ON THE VASCULAR REACTIVITY OF RAT AORTA.** Davel, A.P.C., Xavier, F.E., Vassallo, D.V., Rossoni L.V. Department of Physiological Sciences, Biomedical Center, Federal University of Espírito Santo, Vitória, Espírito Santo, Brazil.

We evaluated the effects of 7 day isoproterenol (ISO) treatment on the vascular reactivity of rat thoracic aortic rings. Male Wistar rats were divided in 2 groups: Control (CT, n=40) and ISO (0.3 mg/Kg/day, 7 days, sc, n=38). ISO did not change blood pressure, heart rate and induced ventricular hypertrophy. In aortic rings with endothelium (E+), ISO treatment increased the maximal response induced by phenylephrine (PHE, 0.1nM-0.1mM) compared to CT (Emax: CT: 56.7 $\pm$ 6.6 vs. ISO: 86.7 $\pm$ 4.8% of contraction induced by 75mM KCl; P<0.01), without changes in sensitivity (pD2). However, in E- no differences was detected. Indomethacin (10  $\mu$ M) administration, in E+, did not change the PHE response in both groups. L-NAME (100  $\mu$ M), in E+, enhanced pD2 and Emax in both groups. In CT, this response was similar to CT E-. However, in ISO rings with L-NAME, pD2 and Emax were increased compared to CT E+ with L-NAME (Emax: CT/E+/L-NAME: 133.2 $\pm$ 13.1 vs. ISO/E+/L-NAME: 176.1 $\pm$ 11.9%; P<0.01). The PHE response in CT E- with L-NAME was similar to CT E- and to CT E+ with L-NAME. However in ISO E-, L-NAME enhanced the pD2 compared to CT E- with L-NAME (pD2: CT/E-/L-NAME: 7.7 $\pm$ 0.2 vs. ISO/E-/L-NAME: 8.4 $\pm$ 0.4; p<0.05), but Emax was similar. To evaluate calcium mobilization the contraction induced by PHE was made in Krebs solution without and with 2.5mM CaCl2 and no differences was observed between ISO and CT. Results suggested that ISO treated aortas shows an increased contraction to PHE associated to a reduced endothelium modulation and no changes in calcium mobilization when compared to CT aortas. The endothelium seems to release a non-prostanoid vasoconstrictor factor in response to PHE. However, at the same time this vessel releases nitric oxide, derived from endothelium and vascular smooth muscle.

## 01.067

**EFEITOS DO ÓXIDO NÍTRICO (NO) INALATÓRIO SOBRE OS NÍVEIS PLASMÁTICOS ARTERIAIS DE NITROSOTIÓIS.** Jose E. Tanus-Santos\*, Christopher D. Reiter, Alan N. Schechter, Mark T. Gladwin National Institutes of Health – NIDDK – Bethesda – MD – USA e FMRP-USP – Depto. Farmacologia

Introdução: Nitrosotióis são compostos capazes de liberar NO originados a partir da nitrosilação de grupamentos "tióis" (-SH). Embora nitrosotióis sintéticos tenham evidente potencial farmacológico, ainda não foram determinadas com relativa precisão as concentrações fisiológicas de nitrosotióis endógenos no plasma, nem os efeitos do NO inalatório sobre as mesmas. Métodos: Amostras de sangue arterial foram coletadas de voluntários saudáveis em jejum, antes e após a inalação de NO (40 ppm e 80 ppm em ar – 21% O2) por 30 min com máscara facial de anestesia.

As amostras foram processadas imediatamente após coleta. Amostras (400  $\mu$ L) de plasma foram tratadas com cloreto de mercúrio (3mM) (ou veículo), visando eliminar os nitrosotióis do plasma, o que permite quantificação subtrativa dos mesmos. As amostras foram tratadas com sulfanilamida ácida (0.5%, para eliminar nitritos) e injetadas numa solução redutora de ácido acético glacial, KI, e I2, a qual libera NO a partir dos nitrosotióis. O NO liberado foi quantificado com um analisador de NO por quimioluminescência (Sievers 280). Resultados e Discussão: As concentrações arteriais de nitrosotióis em condições basais foram de 1,9  $\pm$  0,2 nM (média  $\pm$  E.P.M.). Não houve alterações significativas após inalação de NO 40 ppm ou 80 ppm. Estes resultados indicam que as concentrações plasmáticas de nitrosotióis endógenos são pelo menos 3 ordens de magnitude menores do que as inicialmente relatadas (7  $\mu$ M) por Stamler et al(1). A inalação de NO parece não afetar as concentrações destes compostos. Referência: (1) Stamler JS, et al. Nitric oxide circulates in mammalian plasma primarily as an S-nitroso adduct of serum albumin. Proc Natl Acad Sci U S A. 1992;89:7674-7677.

## 01.068

**HIPORRESPONSIVIDADE À VASOCONSTRITORES INDUZIDA POR ÓXIDO NÍTRICO: DEPENDÊNCIA DE SULFIDRILAS DE MEMBRANA.** Terluk, M.R.; Cunha da Silva, E. R.; Assreuy, J. Dep. de Farmacologia, CCB/UFSC

Introdução: Óxido nítrico (NO) causa uma profunda e duradoura hiporesponsividade à vasoconstritores, como a que se observa no choque séptico. Como o NO reage com avidéz com grupamentos sulfidríla (-SH), neste trabalho investigamos se a hiporesponsividade à vasoconstritores causada por ele estaria relacionada à estes grupamentos. Métodos e Resultados: Em anéis de aorta de ratos Wistar preparados para registro de contração isométrica, foram feitas curvas concentração-resposta (CCRF) para fenilefrina (1 nM a 100  $\mu$ M). Os vasos foram então incubados com SNAP (doador de NO; 200  $\mu$ M; 30 min, seguido de várias trocas de líquido). Em anéis com e sem endotélio, o SNAP reduziu a resposta máxima (Rmáx) das preparações para 0,61  $\pm$  0,08 g e 0,26  $\pm$  0,07 g, respectivamente. A pré-incubação de anéis com endotélio com DTNB [(ácido 5,5-ditio-bis(2-nitrobenzóico), um agente oxidante de grupamentos -SH e não-permeante de membranas biológicas] por 15 min, preveniu a queda do Rmáx (0,89  $\pm$  0,15 g e 0,99  $\pm$  0,12 g para DTNB 10 e 100  $\mu$ M, respectivamente). Em anéis sem endotélio, o Rmáx das CCRF foi de 0,99  $\pm$  0,25 e 0,85  $\pm$  0,17 g. Em vasos com endotélio incubados por 8 horas com endotoxina bacteriana (LPS; 10  $\mu$ g/ml), o DTNB reverteu a hiporesponsividade à fenilefrina (LPS 0,38  $\pm$  0,07 e LPS+DTNB 0,74  $\pm$  0,14 g para DTNB 10  $\mu$ M). Na pressão arterial de rato, a hiporesponsividade à fenilefrina (3, 10 e 30 nmol/kg) induzida pela infusão de SNAP (250 nmol/kg/min; 30 min) também foi revertida pela injeção de DTNB (50 mg/kg, i.v.). Conclusões: Os resultados indicam que sulfidrílas de proteínas de membrana de células endoteliais e musculares lisas sejam críticas para a indução da hiporesponsividade à fenilefrina causada pelo NO. Apoio financeiro: CNPq, CAPES e PRONEX.

## 01.069

**INIBIÇÃO DO TRANSPORTE DE L-ARGININA EM PLAQUETAS DE PACIENTES HIPERTENSOS: IMPLICAÇÕES PARA ATEROTROMBOSE.** T.M.C. Brunini, M.B. Moss, R. Soares de Moura, M. Lemos Neto, A.C. Mendes Ribeiro. Laboratório de Transporte de Membrana, Departamento de Farmacologia e Psicobiologia, UERJ, Rio de Janeiro.

**Introdução:** O óxido nítrico (NO), produzido pelas plaquetas e endotélio, aumenta os níveis citoplasmáticos de GMPcíclico, inibindo a agregação e a adesão plaquetária e reduzindo a ocorrência de eventos trombóticos. Nosso grupo demonstrou previamente que a produção de NO nas plaquetas é dependente do transporte de L-arginina extracelular (Mendes Ribeiro, *Cardiovasc. Res.* 49:697, 2001). Em hipertensão, a ativação plaquetária está associada a um aumento de distúrbios trombóticos, por mecanismos ainda não completamente esclarecidos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o papel da via L-arginina-óxido nítrico em plaquetas de pacientes com hipertensão arterial sistêmica.

**Métodos:** Foram incluídos neste estudo 6 pacientes com hipertensão arterial sistêmica e 7 controles normotensos. Após isolamento das plaquetas por centrifugação, investigamos nestas células o transporte de concentrações crescentes de L-arginina tritiada (5-50  $\mu$ M).

**Resultados:** A capacidade máxima de transporte total ( $V_{max}$ ) de L-arginina em plaquetas foi de  $263 \pm 53$  pmol/ $10^9$  cels/min em pacientes hipertensos comparado com  $74 \pm 24$  pmol/ $10^9$  cels/min em controles (média  $\pm$  DP,  $p < 0.01$ , teste Mann-Whitney). Após inibição competitiva por L-leucina, o transporte de L-arginina através do sistema  $y^+L$  foi isolado. O  $V_{max}$  de L-arginina via sistema  $y^+L$  foi reduzido de  $106 \pm 19$  para  $49 \pm 12$  pmol/ $10^9$  cels/min em pacientes hipertensos ( $p < 0.03$ ). A afinidade ( $K_m$ ) do sistema  $y^+L$  estava reduzida em hipertensão, comparada com controles ( $44 \pm 8$  v.s.  $13 \pm 8$   $\mu$ M),  $p < 0.01$ .

**Discussão:** Nossos presentes achados mostram pela primeira vez uma redução na biodisponibilidade de L-arginina, através do sistema  $y^+L$ , em plaquetas de indivíduos hipertensos, com potenciais implicações na ocorrência de complicações cardiovasculares nestes pacientes. Apoio financeiro: CNPq.

## 01.070

**AValiação DA ATIVIDADE ANTIAGREGANTE PLAQUETÁRIA DA ONCOCALIXONA A (ONCOA) E VASOCONSTRITORA DA FRAÇÃO QUINONA DA AUXEMMA ONCOCALYX.** Sousa, C.M1 ; Nascimento, N.R.F2; Lemos, T.L.G.3; Pessoa, O.D.L.3. Ferreira, M.A.D.1. 1-Faculdade de Farmácia, UFC; 2-IBIMED,UFC e 3-Departamento de Química Orgânica e Inorgânica,UFC

Auxemma onocalyx Taub. (família Boraginaceae) conhecida pela denominação popular de pau branco é uma árvore frequentemente encontrada na região Nordeste do Brasil. Estudos farmacológicos anteriores mostraram que a fração hidrossolúvel obtida a partir do extrato metanólico do cerne do caule de A. onocalyx (FQ), constituída em cerca de 80% pela OncoA, apresenta atividade antiagregante plaquetária e vasoconstritora em vasos de condutância. O objetivo do

presente trabalho é avaliar se a OncoA é o constituinte responsável por estas atividades da FQ. A atividade antiagregante plaquetária da OncoA foi determinada em plasma rico em plaquetas (PRP) obtido de sangue humano, utilizando o ADP (6,7 mcM) como agonista. O leito vascular mesentérico (LVM) foi perfundido sob fluxo contínuo de 4 ml/min e a pressão de perfusão registrada em polígrafo. A oncoA inibiu de maneira dose-dependente a agregação plaquetária nas concentrações de 4,4, 8,8, 17,6 e 35,2 mcg/ml com valores de inibição de 10, 32, 52 e 70 %, respectivamente com IC50 de  $17.12 \pm 4.73$  mcg/ml comparado com  $53.43 \pm 7.29$  mcg/ml obtido com a FQ. A inibição em relação ao controle foi significativa ( $p < 0.001$ , ANOVA para medidas repetidas seguida de teste de Turkey-Kramer) para todas as doses exceto a de 4,4 mcg/ml. A FQ, infundida em bolus até 3mg não alterou a pressão de perfusão do LVM. A OncoA é responsável pelo efeito antiagregante da FQ, devida a sua maior potência (3 vezes mais potente que FQ) e parece não ter efeito vasoconstritor sob vasos de resistência, uma vez que FQ (que contém 80%) não altera a resistência do LVM. Este achado é importante devido ao seu potencial antitrombótico. Apoio: CNPQ

## 01.071

**EFEITO DA RUTINA NA RESPOSTA ENDOTELIAL E NITRÉRGICA DE CORPOS CAVERNOSOS (RbCC) DE COELHOS DIABÉTICOS.** Lessa, L.M.A.; Nascimento, N.R.F.; Fonteles, M.C., Instituto de Biomedicina, Fortaleza, CE, UFC

**Introdução:** A diabetes causa disfunção endotelial e neuropatia diminuindo o relaxamento do corpo cavernoso aos estímulos fisiológicos e levando a impotência. Antioxidantes de origem vegetal tem sido postulados como uma alternativa de tratamento adjuvante da disfunção endotelial e neuropatia diabética. **Objetivo:** Investigar a potencialidade da rutina, uma biflavona, na reversão aguda da disfunção endotelial e da neuropatia nitrgica associada à diabetes. **Material e Métodos:** Os corpos cavernosos foram isolados após retirada do pênis de coelhos Califórnia após 6 semanas da indução de diabetes com aloxana (150 mg/kg; i.p). Resposta à acetilcolina (10-6 M), SNP (10-6 M) e a estimulação por choque (EFS; 2-16 HZ), que estimulavam relaxamento do corpo cavernoso de natureza endotelial, muscular e neuronal, respectivamente, foram comparadas antes e após 30 minutos de incubação com rutina (1 mM). A significância estatística entre os grupos tratados e não-tratados foi estabelecida através da análise de variância com  $p < 0,05$  usando o programa de computador GraphPad Prism. **Resultados:** A resposta relaxante à Ach foi de  $87 \pm 8$  % nos RbCC de normoglicêmicos e  $27.8 \pm 3.8$  % nos diabéticos e  $74 \pm 7.0$  % nos diabéticos tratados com rutina. O relaxamento induzido pelo óxido nítrico (NO 100 mM) foi de  $86.2 \pm 12.2$  % nos normoglicêmicos, de  $48 \pm 11$  % nos diabéticos e  $77 \pm 4.1$  % nos diabéticos tratados e a resposta a EFS (16 Hz) foi de  $72 \pm 4$  %,  $37 \pm 4$  % e  $73 \pm 4$  %, respectivamente. **Conclusões:** A rutina reverteu agudamente a disfunção endotelial e a resposta relaxante nitrgica observada no corpo cavernoso de coelhos diabéticos e pode se tornar um adjuvante no tratamento desta síndrome. Agência financiadora : FUNCAP

## 01.072

**ANTI-DIABETIC ACTIVITY AND RESTORATION OF ENDOTHELIAL-DEPENDENT RELAXANT RESPONSE IN STREPTOZOTOCIN-DIABETIC RATS BY AQUEOUS EXTRACTS OF BAUHINIA UNGULATA (AEBU) TAUB.** Kerntopf, M.R\*.; Nascimento, N.R.F.; Queiroz, M.G.R.; Fonteles, M.C. Instituto de Biomedicina, Universidade Federal do Ceará.

Aqueous extracts of Bauhinia unguolata, known in Brazil as "Pata de Vaca", is used in the Brazilian folk medicine for its reputed antidiabetic activity. Nevertheless, only anecdotal reports of its efficacy are available and scientific validation of its usefulness is needed. In this work we tested its potential as antidiabetic and in the reversion of endothelial dysfunction (ED) in an animal model of diabetes. Streptozotocin-diabetic rats (65 mg/Kg; i.p) were treated with saline or AEBU for three-weeks and plasmatic glucose and lipid profile were measured and compared between groups. The endothelial-dependent response to acetylcholine (Ach) and the endothelial-independent response to sodium nitroprusside (SNP) was assayed in aortic rings and mesenteric vascular beds (MVB) perfused at constant flow (4ml/min) and expressed as percentage of the previous contraction. AEBU decreased glucose plasma concentration of streptozotocin-diabetic rats from  $385.6 \pm 10$  mg/dL to  $116.7 \pm 9.9$ , tryglicerides from  $683 \pm 68.3$  to  $53.7 \pm 9.1$  and VLDL values from  $80.7 \pm 18.3$  to  $10.7 \pm 1.8$ . The total cholesterol levels (mg/dL) were not altered, being  $73.8 \pm 5.3$  in control and  $64.1 \pm 8$  after treatment. The maximal relaxant response induced by Ach in aortic rings was  $67.9 \pm 3\%$  versus  $16 \pm 4.5\%$  in tissues from diabetic rats treated with saline and  $65.5 \pm 4.8\%$  in AEBU treated diabetic rats. The maximal decrease in perfusion pressure induced by Ach in MVB obtained from normoglycemic rats was  $61 \pm 3.7\%$  compared to  $28.6 \pm 2.3$  in diabetic treated with saline and  $48.9 \pm 8.2$  in tissues gathered from diabetic rats treated with AEBU. The relaxant response evoked by SNP was unaltered in all groups. AEBU has antidiabetic activity, has hypolipemiant effect and prevents endothelial dysfunction. Apoio: FUNCAP

## 01.073

**EFEITO DA RUTINA NA DISFUNÇÃO ENDOTELIAL DO LEITO ARTERIOLAR MESENTÉRICO E AORTA EM RATOS SENESCENTES, DIABÉTICOS E HIPERTENSOS E COELHOS DIABÉTICOS.** Lessa, L.M.A.

O endotélio regula o tônus vascular, a trombogênese, angiogênese, aterogênese, migração celular, entre outros, funcionando como um órgão endócrino e sujeito a desregulação, disfunção e falência. Fatores de risco cardiovasculares, como senescência, diabetes e hipertensão causam DE. No entanto, o diagnóstico e tratamento da DE ainda são alvo de intensa investigação. Os flavanóides tem sido postulados como uma alternativa de tratamento. Investigamos a potencialidade da rutina, uma biflavona, na reversão aguda da DE associada a senescência, diabetes e hipertensão. O leito vascular mesentérico (LVM) de ratos jovens (3-6 semanas), idosos (>2 anos), diabéticos por aloxana e espontaneamente



te hipertensos foi isolado e perfundido a fluxo constante (4 ml/min) e após estabelecido um platô a resposta da fenilefrina (1-5 mM) curvas dose-resposta a Ach e SNP foram realizadas em leitões normais e em leitões com endotélio removido. As curvas foram realizadas antes e depois da infusão de rutina (1 mM) por 30 min e comparados com catequina e d-quirositol. Os dados foram submetidos a testes paramétricos. A resposta máxima relaxante à Ach no LVM de animais jovens foi de  $48,2 \pm 4,5\%$ , nos idosos  $20,1 \pm 2,3\%$ , nos diabéticos  $28,6 \pm 3,4\%$  e nos hipertensos  $15 \pm 5,3\%$ . Após a infusão de rutina a resposta máxima a Ach nos jovens foi de  $53,6 \pm 5,2\%$ , nos idosos  $37,7 \pm 2,5\%$ , nos diabéticos  $38,8 \pm 2,6\%$  e nos hipertensos  $23,6 \pm 2,2\%$  (\*  $p < 0,05$ , comparado com não-tratados). A resposta ao nitroprussiato e nos leitões nos quais o endotélio foi removido quimicamente não variaram significativamente. A rutina reverteu agudamente a disfunção endotelial observada no LVM de animais idosos, diabéticos e hipertensos e pode se tornar um adjuvante no tratamento desta síndrome. Agência financiadora : FUNCAP

## 01.074

**ATIVIDADE CARDIOVASCULAR DA FRAÇÃO ACETATO DE ETILA DO EXTRATO ETANÓLICO (FAESA) DE SPIGELIA ANTHELMIA.** N. R. F. do Nascimento<sup>1</sup>; L. M. Melo<sup>2</sup>; A. L. F. Camurça-Vasconcelos<sup>2</sup>; C. M. L. Bevilacqua<sup>2</sup>; S. M. de Moraes<sup>3</sup>, IBIMED, UFC1 Laboratório de Parasitologia, UECE2 e Laboratório de Química, UECE3.

A *Spigelia anthelmia* é uma planta da família das loganiáceas conhecida popularmente como "erva lombrigueira" e usada como vermífida. Em estudos recentes, demonstrou-se que a FAESA inibiu 100% da eclosão de ovos e 81,2% do desenvolvimento larvar de *H. contortus*, in vitro. Testes pré-clínicos de atividade cardiovascular são necessários devido à existência de relatos de atividade cardiopressora de alguns dos componentes desta planta. Para tanto, estudou-se o efeito da FAESA na pressão arterial média (PAM) de ratos normotensos por medida direta, no coração perfundido a fluxo constante (10 ml/min), na frequência do átrio direito e na força de contração de átrios esquerdos eletricamente estimulados. A PAM variou em  $-56,6 \pm 9,7$  mmHg após 1 mg/Kg de acetilcolina e  $-20,4 \pm 10,5$  mmHg com 3 mg/Kg de FAESA retornando rapidamente a valores basais. A frequência de contração do coração isolado e do átrio direito não variou com a administração de FAESA nas doses de 100 mg/ml a 3 mg em bolus no coração ou 1 a 100 mg/ml no átrio. Similarmente a pressão de perfusão cardíaca não foi afetada pela FAESA em nenhuma das doses utilizadas. A força de contração cardíaca decaiu de  $91 \pm 3\%$  do controle em tecidos tratados com veículo para  $89 \pm 8$ ;  $77 \pm 6$ ;  $67 \pm 7$ ;  $36 \pm 11$  em corações isolados tratados com 0,1, 0,3, 1 e 3 mg de FAESA em bolus e de  $93,4 \pm 4,1\%$  (veículo) para  $92,3 \pm 5,8\%$ ;  $85,4 \pm 8,5\%$ ;  $69,3 \pm 11,9\%$  e  $44,6 \pm 12,7\%$  em átrios esquerdos tratados com FAESA nas doses de 1 a 100 mg/ml. A FAESA na maior dose utilizada provocou uma hipotensão leve e de rápida recuperação, não alterou a frequência de contração cardíaca ou a pressão de perfusão, não tendo portanto efeito vasodilatador coronariano. No entanto apresentou efeito inotrópico negativo de natureza a ser estudada. Apoio: CAPES

## 01.075

**D-CHIROINOSITOL REVERSES ENDOTHELIAL DYSFUNCTION (ED) ON ALLOXAN-DIABETIC RATS.** Nascimento, N.R.F<sup>1</sup>, Fonteles, M.C.1, Lamer, J.2, Goretti, M3 1Veterinary College, State University of Ceará, Brazil; 2Department of Pharmacology, University of Virginia School of Medicine, USA and 3Department of Clinical and Toxicological Analysis, Pharmacy College, Federal University of Ceará

Dysfunction of the endothelium is present when its properties have been altered in a way that are ineffective with regard to the preservation of organ function. The most usual method to access endothelial function is to test the response of vasorelaxants that act only in intact endothelium. Diabetes induces endothelial dysfunction (ED). D-chiro-inositol has been identified in putative insulin mediator fractions and appears to act downstream in the insulin-signaling pathway to mimic the effects of insulin. In the present work, we tested the hypothesis that D-chiro-inositol, could block the development of ED, in an animal model of diabetes. Diabetes was induced in rats by i.v injection of 45 mg/Kg alloxan. Diabetes was confirmed 72 hs later and rats were treated with saline (1 ml/Kg; p.o) or d-chiroinositol (20 mg/Kg/12h; p.o) for 4 weeks before experiments. Aortic rings were mounted in isometric baths and mesenteric vascular beds (MVB) were perfused with constant flow (4ml/min) and vasodilatation to acetylcholine (Ach-10-21 to 10-5 M) or sodium nitroprusside (SNP-10-9 to 10-3 M) were assessed in tissues pre-contracted with phenylephrine. The maximal relaxant to Ach in aortic rings of normoglycemic rats was 100% with a PD2 of 13.6 [14.3-10.1],  $56 \pm 5\%$  (PD2=9.9[12-5.5]) in tissues from diabetic rats treated with saline and 100 % (PD2=12.3[14.5-9.5]) in diabetic treated with D-chiroinositol. The decrease in LVM perfusion pressure induced by Ach was  $61 \pm 3,7\%$  (PD2=7.9[10.8-4.9]) in normoglycemic rats and  $23 \pm 5\%$  (5.2[5.8-3.5]) and  $52 \pm 6\%$  (PD2= 7.4 [10.4-5.7]). The endothelial-independent response to SNP was not altered in any group. D-chiroinositol can restore endothelial response to Ach in conductance and resistance vessels of diabetic rats. Apoio:FUNCAP

## 01.076

**EFFECTS OF CHRONIC ETHANOL CONSUMPTION ON RAT AORTA RESPONSES TO PHENYLEPHRINE AND ACETYLCHOLINE.** <sup>1</sup>Tirapeli CR, <sup>1</sup>Bonaventura D and <sup>2</sup>De Oliveira AM. <sup>1</sup>Department of Pharmacology (FMRP-USP); <sup>2</sup>Laboratory of Pharmacology (FCFRP-USP).

Introduction: There are many conflicting studies showing alterations in vascular responses after chronic ethanol ingestion. Reports in the literature describe increases, decreases and no change in vascular reactivity to constrictor and relaxing agents. The aim of this work was to investigate the effects of chronic ethanol consumption upon vascular responses induced by phenylephrine (Phe) and acetylcholine (ACh). Methods: Male Wistar rats were divided into 3 groups: Control (C; received water), Alcoholic (A; received a solution of ethanol 20%) and Isocaloric (I; received isocaloric amount of sucrose instead ethanol). The

rats were sacrificed at the end of the 2<sup>nd</sup>, 6<sup>th</sup> and 10<sup>th</sup> week. The thoracic aorta was removed and placed in an organ chamber. Concentration-response curves for Phe ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$ M) and ACh ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$ M) were obtained. Results: Treatment with ethanol for 2 weeks enhanced the maximal effect ( $E_{max}$ : gram of developed tension) induced by Phe (C:  $1.61 \pm 0.08$ ; I:  $1.77 \pm 0.11$ ; A:  $2.25 \pm 0.14$ \*). Similar results were found after 6 (C:  $1.71 \pm 0.11$ ; I:  $1.71 \pm 0.16$ ; A:  $2.26 \pm 0.19$ \*) and 10 weeks (C:  $1.51 \pm 0.11$ ; I:  $1.51 \pm 0.12$ ; A:  $2.28 \pm 0.19$ \*). No differences in the  $pD_2$  ( $-\log EC_{50}$ ) values for Phe were observed after treatment with ethanol. The  $E_{max}$  values for ACh (% relaxation) were not altered after treatment with ethanol for 2 (C:  $99.50 \pm 0.84$ ; I:  $98.19 \pm 1.89$ ; A:  $95.97 \pm 1.62$ ), 6 (C:  $96.75 \pm 3.31$ ; I:  $99.59 \pm 2.01$ ; A:  $100.45 \pm 0.50$ ) or 10 weeks (C:  $94.19 \pm 2.48$ ; I:  $94.80 \pm 2.28$ ; A:  $92.36 \pm 2.21$ ). Similarly, treatment with ethanol did not alter the  $pD_2$  values for ACh. \*Significant difference from groups C and I (ANOVA followed by Bonferroni). Conclusion: Chronic ethanol consumption enhances Phe-induced contractions in rat aortic rings, which is probably not related to a reduced production and/or release of nitric oxide. Supported by: FAPESP

## 01.077

**EFEITOS DO L-NAME, TEA, ODQ, INDOMETACINA NA RESPOSTA VASODILATADORA (ENDOTÉLIO DEPENDENTE) DO VINHO CABERNET SAUVIGNON PRODUZIDO NO BRASIL.** Bártholo TP, Rangel BM, Medeiros TM, Ribeiro FM, Miranda DZ, Sica RF, Silveira DBL, Pinto ACA, Carvalho LCRM, Soares de Moura R. Departamento de Farmacologia-UERJ-Rio de Janeiro.

Introdução: Dados experimentais na literatura internacional, mostram um efeito vasodilatador de vinhos europeus e americanos. Desta forma resolvemos estudar a ocorrência ou não deste efeito em vinho brasileiro. Metodologia: Estudamos o vinho brasileiro Cabernet Sauvignon (CS), fabricado pela Vinícola Miolo. Todo o álcool foi retirado em evaporador rotatório à baixa pressão (50°C) e posteriormente liofilizado. O efeito vasodilatador do resíduo seco do CS foi estudado em leito vascular mesentérico de ratos Wistar perfundido com sol de Krebs e precontraído com noradrenalina 1-30  $\mu$ M. A pressão de perfusão foi continuamente registrada em polígrafo. O efeito vasodilatador do CS foi testado em preparações controle, após a retirada química do endotélio com ácido deoxicólico, em vasos pré-tratados com L-NAME (inibidor da NO-sintase), TEA (bloqueador dos canais de potássio cálcio dependentes), Indometacina (inibidor da ciclooxigenase) e ODQ (inibidor da guanilato ciclase). Os resultados foram avaliados por meio do teste T-Student não pareado. Resultados: Nossos resultados mostram um efeito vasodilatador significativo do vinho CS no LVM com D150 de  $349 \pm 49$  mcg. Este efeito é endotélio dependente, sendo independente da liberação de prostaglandinas vasodilatadoras ou de EDHF, mas dependente da liberação de NO, pois este efeito foi significativamente reduzido pelo L-NAME e pelo ODQ. Conclusões: Em termos de nossos resultados, podemos concluir que o efeito vasodilatador do vinho CS produzido no Brasil é endotélio dependente e parece envolver a liberação de NO. Possivelmente, à semelhança com os vinhos eu-

ropeos, esse efeito vasodilatador deva participar do efeito cardioprotetor da ingestão diária de pequenas quantidades de vinho tinto.

### 01.078

**EFEITO VASODILATADOR DE PRODUTOS OBTIDOS DE UVA VINÍFERA, VINHOS BRASILEIROS E EUROPEUS. ESTUDO COMPARATIVO.** Miranda DZ, Rangel BM, Bártholo TP, Medeiros TM, Ribeiro FM, Sica RF, Pinto ACA, Silveira DBL, Carvalho LCRM, Soares de Moura R. Departamento de Farmacologia-UERJ-Rio de Janeiro

Introdução: Dados da literatura mostram que o efeito vasodilatador dos vinhos difere de acordo com o método de produção, procedência e variedade das uvas viníferas. Desta forma resolvemos verificar se essa atividade vasodilatadora ocorre em vinhos brasileiros e em produtos obtidos de uvas cultivadas no Brasil. Paralelamente, fizemos um estudo comparativo com vinhos europeus. Metodologia: Os vinhos e os produtos (suco de uva Maguary e extrato de cascas de uva *Vitis labrusca*) foram concentrados em evaporador rotatório e liofilizados. A atividade vasodilatadora foi estudada em leito vascular mesentérico (LVM) de ratos Wistar, (McGregor) e precontraidos com infusão de noradrenalina e durante a resposta pressora, injetamos doses crescentes dos diversos vinhos (Chateaufeuf du Pape; Valpolicella, Cabernet Sauvignon-Vinicola Miolo, Sangue de Boi-Vinicola Aurora) e produtos obtidos de uvas viníferas. A resposta vasodilatadora foi medida em % de redução da resposta vasoconstritora da noradrenalina e expressa pela ID50. Resultados: Todos os vinhos e produtos testados mostraram uma atividade vasodilatadora significativa com os seguintes ID50 (em µg): extrato 44; Cabernet Sauvignon-Miolo 346; Chateaufeuf du Pape 827; Valpolicella 942; Sangue de Boi, 3927 e suco de uva 4683. Conclusões: Em termos de nossos resultados podemos concluir que os vinhos brasileiros, à semelhança com europeus apresentam atividade vasodilatadora, sendo o vinho Cabernet Sauvignon o mais ativo. Por outro lado o extrato de cascas de uva foi mais ativo que os vinhos sugerindo que o processo de obtenção do extrato é mais eficiente que o processo de vinificação no que concerne à capacidade de extração de princípios ativos responsáveis pelo efeito vasodilatador.

### 01.079

**AUSÊNCIA DE CORRELAÇÃO ENTRE NÍVEIS PLASMÁTICOS DE NICOTINA E PRESSÃO ARTERIAL EM TABAGISTAS DE GRAU IMPORTANTE.** Barbieri D, Sousa MG, Yugar-Toledo JC, Mello SM, Moreno Jr H. Farmacologia Cardiovascular, FCM-UNICAMP.

A nicotina eleva a pressão arterial (PA) e a frequência cardíaca (FC) em não tabagistas e tabagistas de grau leve. Esses efeitos são controversos em tabagistas de grau importante. Objetivo: Investigar a correlação entre os níveis plasmáticos de nicotina (NIC) e alterações no ritmo circadiano da PA nestes tabagistas sob uso de nicotina transdérmica (NT). Método: Tabagistas (n=10) em 60 h de abstinência de tabaco receberam NT (21mg/24h) e, após 7 dias, adesivo placebo (AP)

24h). Amostras de plasma (basal, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 18 e 24h) foram coletadas e analisadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência e medidas de PA (mmHg) e FC (bpm) foram feitas por MAPA. Resultados: Valores (média ± desvio padrão) de NIC, pressões sistólica, diastólica, média, e de pulso (PAS, PAD, PAM e PP) e FC nos tabagistas sob uso de NT nos diferentes tempos (t) são mostrados na tabela abaixo. Não foi detectada nicotina em amostras de tabagistas em uso de AP. Não houve diferença estatística na PA entre NT e AP. O descenso noturno foi normal nas 2 condições.

t	NIC	PAS	PAD	PAM	FC	PP
0	14,5±1,7	110±13	70±10	82±10	62±12	40±9
1	20,0±8,5	118±12	79±11	92±11	75±11	39±9
3	26,6±9,2	116±9	75±9	89±8	75±8	41±9
5	32,0±13,9	117±10	78±8	91±8	75±9	39±8
7	33,3±6,3*	116±11	76±11	90±10	78±10*	40±7
9	32,3±11,2	118±8	79±8	91±8	73±9	39±8
11	29,8±6,2	116±11	74±9	87±8	69±7	42±8
18	26,9±7,5	108±9	69±8	82±9	65±11	39±6
24	21,8±2,2	107±14	66±10	80±10	73±17	41±6

\* p < 0,05 vs tempo 0

Conclusões: O pico plasmático de nicotina ocorreu em 7 horas e foi associado a um aumento na FC. Não houve correlação entre NIC e alterações no ritmo circadiano da PA em tabagistas de grau importante. Apoio: FAPESP e CAPES.

### 01.080

**MECANISMO DO EFEITO VASODILATADOR DO EXTRATO HIDRO-ALCOÓLICO(EHA) DA ALPÍNIA ZERUMBET (COLÔNIA) NO LEITO VASCULAR MESENTÉRICO(LVM).** Emiliano AF, Carvalho LCRM, Tano T, Resende AC, Souza MAV e Soares de Moura, R. Departamento de Farmacologia e Psicobiologia - UERJ - Rio de Janeiro/RJ

Introdução e Objetivo: Experiências realizadas em nosso laboratório mostraram que o efeito vasodilatador da colônia é endotélio dependente e depende da participação do NO. Dando continuidade ao nosso trabalho, resolvemos estudar os demais mecanismos que podem estar envolvidos na resposta vasodilatadora da colônia. Material e Métodos: O LAM foi isolado de ratos Wistar, machos, 220-320g, e perfundido segundo a técnica de McGregor (1965). A pressão de perfusão foi monitorada continuamente, por um polígrafo. O EHA foi obtido de folhas secas de colônia trituradas, extraído por uma mistura etanol/água, filtrado, concentrado e liofilizado. O LAM foi contraído com norepinefrina (6 a 10 µM), e o efeito vasodilatador da colônia foi estudado antes e durante a administração com, TEA (1 mM), potássio elevado (25 mM), 4-aminopiridina (1 mM), glibenclâmida (1 µM), ODQ (1 µM) indometacina (0,3 µM). Resultados: O efeito vasodilatador da colônia (5,3 ± 0,5 µg) foi significativamente inibido pelo TEA, potássio elevado e pelo ODQ, sendo porém parcialmente inibido em preparações tratadas com indometacina e glibenclâmida. O efeito da colônia não foi inibido pela 4-aminopiridina. Conclusão: Nossos trabalhos sugerem que o NO, EDHF e GMPc parecem contribuir significativamente para o efeito vasodilatador da colônia, o qual envolve parcialmente a liberação de prostaglandinas dilatadoras e ativação de canais de K ATP dependente. Possivelmente os canais de potássio voltagem dependente não participam do efeito vasodilatador da colônia. Apoio Financeiro: CNPq, FAPERJ

### 01.081

**EFEITOS RENAIIS INDUZIDOS PELA LECTINA DE SEMENTES DE CRATYLIA FLORIBUNDA.** HAVT, A., Barbosa, P.S.F., Nobre, A.C.L., Martins, A.M.C., Teixeira, E.H., Facó, P.E.G., Oliveira, A.M.M., Sousa, T.M., Soares, T.F.C., Rocha, A.M.S., Fonteles, M.C., Cavada, B.S., Monteiro, H.S.A. Depto Fisiologia e Farmacologia e Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Ceará.

Introdução: As lectinas apresentam-se como proteínas que exercem suas funções através da ligação às moléculas de carboidrato. O objetivo deste trabalho é identificar os efeitos renais promovidos pela lectina de semente de *Cratylia floribunda* (Cfl) no modelo de rim isolado de rato. Métodos: Utilizamos ratos Wistar (250-300 g) anestesiados com pentobarbital sódico (50mg/kg). Os rins foram retirados seguindo a técnica cirúrgica descrita por Fonteles MC et al, Am. J. physiol. 244, p. 235, 1983. Os rins (n=6) foram. Os 30 primeiros minutos foram usados como controle interno (CI), e analisados por teste t de Student com \*p < 0,05. Resultados: A lectina da semente de *Cratylia floribunda* alterou a função renal com efeito máximo no período de 120 minutos. Houve aumento da pressão de perfusão (CI120 = 101,0 ± 1,9; Cfl120 = 118,9 ± 4,2 mmHg, \*p < 0,0006) da resistência vascular renal (CI120 = 4,41 ± 0,19; Cfl120 = 5,22 ± 0,31 mmHg/mL/g/min, \*p < 0,034) e da excreção de potássio (CI120 = 1,05 ± 0,064; Cfl120 = 1,26 ± 0,11 mEq/g/min, \*p = 0,07). O transporte tubular total de potássio, (CI120 = 71,64 ± 1,62; Cfl120 = 58,62 ± 5,44 %, \*p < 0,03) transporte tubular proximal de potássio (CI120 = 66,71 ± 2,16; Cfl120 = 53,86 ± 5,41 %, \*p = 0,04) e transporte distal de potássio (CI120 = 14,66 ± 1,44; Cfl120 = 10,65 ± 0,66 mL/g/min, \*p = 0,017) apresentaram redução após a administração da lectina em questão. Os transportes tubulares de sódio e cloro assim como o ritmo de filtração glomerular e o fluxo urinário não foram alterados. Conclusões: Os resultados sugerem um efeito no aumento da pressão de perfusão associado a uma alteração no transporte de potássio ao longo de todo o túbulo renal, sugerindo um aumento da permeabilidade do potássio. Apoio: CAPES/CNPq

### 01.082

**ALTERAÇÕES FUNCIONAIS RENAIIS PROMOVIDAS PELA LECTINA DE SEMENTE DE CANAVIA ENSIFORMIS (CONA).** HAVT, A., Barbosa, P.S.F., Nobre, A.C.L., Teixeira, E.H., Martins, A.M.C., Facó, P.E.G., Monteiro, A.M.O., Soares, T.F.C., Bezerra, I.S.A.M., Angelim, E.V., Ramos, L.M.A., Fonteles, M.C., Cavada, B.S., Monteiro, H.S.A. Departamento de Fisiologia e Farmacologia e Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Ceará.

Introdução: A literatura descreve que as lectinas podem se ligar diferentemente às diversas células do néfron dependendo da especificidade às moléculas de carboidrato. O Objetivo deste trabalho é avaliar os efeitos da lectina de sementes de *Canavalia ensiformis* sobre a fisiologia renal utilizando o método de rim isolado de rato. MÉ-

todos: Ratos Wistar foram anestesiados com pentobarbital sódico (50 mg/kg) e os rins foram retirados seguindo a técnica descrita por Fonteles et al., Am. J. physiol. 244, p. 235, 1983. Os rins (n=6) foram perfundidos por 120 minutos e a lectina foi adicionada ao sistema sempre aos 30 minutos de cada experimento. Os efeitos máximos foram observados sempre nos últimos 30 minutos dos experimentos (120 minutos). Os dados foram avaliados por teste t de Student com \*p<0,05. Resultados: A lectina de ConA causou um aumento da pressão de perfusão (CI120 = 104,5 ± 1,4; ConA120 113,3 ± 0,67 mmHg, p = 0,0052), e da resistência vascular renal (CI120 = 4,48 ± 0,06; ConA120 4,86 ± 0,029 mmHg/mL/g/min p = 0,0053). Observamos queda nos parâmetros de percentual de transporte tubular de sódio, potássio e cloro apenas no período de 60 minutos. Contudo, a excreção destes três íons, assim como o fluxo urinário e o ritmo de filtração glomerular não foram afetados. Conclusões: Esses resultados sugerem que a lectina da semente de *Canavalia ensiformis* causou uma leve disfunção na fisiologia renal afetando principalmente os parâmetros vasculares.

### 01.083

**ENVOLVIMENTO DO ENDOTÉLIO NO EFEITO VASODILADOR DO EUGENOL NO LEITO MÉSENTERICO VASCULAR DE RATO.** <sup>1</sup>Madeira, S.V.F. <sup>2</sup>Soares de Moura, R. & <sup>1</sup>Cridle, D.N. <sup>1</sup>LA-FACI, Depart<sup>o</sup> de Ciências Fisiológicas, UECE, CE. <sup>2</sup>Departamento de Farmacologia, UERJ, RJ.

Introdução e objetivos: O eugenol é encontrado em plantas aromáticas, sendo utilizado para tratamento dental. Apresenta efeito vasorelaxador por um mecanismo ainda não elucidado. Avaliamos a ação do eugenol no leito mesentérico vascular (LMV) de rato, procurando uma possível influência do endotélio. Métodos e Resultados: O LMV de ratos machos Wistar (250-350g) foi montado para medida de pressão de perfusão (PP) com fluxo constante de 4ml.min<sup>-1</sup>. Injeções bôlus de eugenol (0,2, 2 e 20µmol), acetilcolina (ACh) (10, 30 e 100µmol) e nitroglicerina (GTN) (1µmol) elicitaram vasodilatação dependente da dose sobre o aumento estável da PP induzida por NOR (10<sup>-5</sup> M) (89,0±8,6mmHg; n=8). Uma redução na PP foi obtida pelo eugenol de 50,6±4,0% (n=8) na dose de 20 µmol, semelhante ao efeito vasodilatador da ACh e GTN, nas concentrações de 30 µmol (52,0±6,6%; n=8) e 1µmol (45,5±4,9%; n=8), respectivamente. Os efeitos vasodilatadores do eugenol e ACh, foram reduzidos pelo deoxicolato em 17% e 73%, respectivamente, na dose de 20µmol e 100µmol (p<0,05). Entretanto, o efeito vasodilatador do eugenol não foi inibido por L-NAME (300µM; n=6), TEA (1mM; n=6), sendo que a ACh teve seu efeito inibido parcialmente por ambas. A indometacina (3µM; n=6) não modificou a ação do eugenol. Conclusão: Nossos resultados mostraram que o eugenol exerceu um efeito vasodilatador no LMV, que foi parcialmente dependente do endotélio mas, provavelmente independente de óxido nítrico, prostaciclina e fator hiperpolarizante. Apoio Financeiro: CNPq e CAPES.

### 01.084

**EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO DA *Bauhinia unguolata* (EABU) NA PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA (PAM) DE RATOS NORMOTENSOS.** Kerntopf, M.R.; Nascimento, N.R.F; Vale, D.S.; Fonteles, M.C. Machado, M.I.L. IBIMED, UFC/UECE, Fortaleza, Ceará.

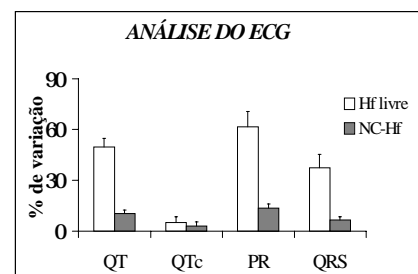
Introdução e objetivos: A *Bauhinia unguolata* é uma Ceasalpinaeae popularmente conhecida como "pata de vaca" cujas folhas são usadas como decocto no tratamento da diabetes mellitus. No presente estudo, como parte de estudos de validação e caracterização farmacológica, foram analisados o efeito do EABU na pressão arterial média (PAM) de ratos normotensos. Métodos: Ratos Wistar machos foram anestesiados com pentobarbital sódico (50 mg/kg; i.p) e PAM foi registrada diretamente por meio de transdutor de pressão. O efeito do EABU (10, 30 e 100 mg/kg) na PAM e em animais pré-tratados com bloqueadores em doses suficientes para bloquear agonistas específicos, a saber, atropina (Atr; 1 mg/kg), fentolamina (PHE; 0,1 mg/kg), kentaserina (20 mg/Kg), indometacina (40 mg/Kg), prometazina (1mg/Kg) e propranolol (2 mg/Kg) hexametônio (Hex; 5 mg/kg) foram estudados. Os dados foram analisados pela ANOVA seguida de Bonferroni com significância de 5%. Resultados: EABU provocou queda dose-dependente na PAM (mmHg) na ordem de 29,7 ± 2,9; 31,9 ± 2,6 e 59 ± 3,6, respectivamente. O efeito hipotensor do EABU na dose de 100 mg/Kg foi de 49,8 ± 5,0 antes e 44,3 ± 5,4 após pré-tratamento com Atr, de 38,2 ± 4,5 antes e 27,6 ± 2,5 após tratamento com PHE, de 53,6 ± 9,0 antes e 39,3 ± 9,8 após tratamento com kentaserina, de 33,8 ± 4,2 antes e 33,8 ± 3,3 após tratamento com indometacina, de 38,9 ± 8,9 antes e 40,0 ± 6,0 após tratamento com prometazina e de 54,5 ± 1,9 antes e 43,1 ± 4,3 após tratamento com propranolol e de 57,0 ± 10,6 antes e 0,7 ± 0,7 após pré-tratamento com Hex, p< 0,05. Conclusões: O extrato etanólico da *Bauhinia unguolata* teve efeito hipotensor relacionado, provavelmente, ao bloqueio ganglionar. Apoio: FUNCAP e CNPq

### 01.085

**EFEITOS DA NANOENCAPSULAÇÃO DO HALOFANTRINO SOBRE AS ALTERAÇÕES DO ECG.** Leite EA<sup>1</sup>, Grabe-Guimarães A<sup>1</sup>, Guimarães HN<sup>2</sup>, Mosqueira VCF<sup>1</sup>, <sup>1</sup>Depto. de Farmácia, UFOP, MG; <sup>2</sup>Depto. de Engenharia Elétrica, UFMG, MG

O halofantrino (Hf) é um antimalárico com potencial efeito arritmogênico, induzindo ao prolongamento do intervalo QT do eletrocardiograma (ECG). Formulações de nanocápsulas de Hf (NC-Hf), desenvolvidas em trabalhos anteriores, mostraram melhor biodistribuição quando comparadas a uma solução de Hf em DMA/PEG/glicose injetados por via intravenosa (i.v.). OBJETIVO: Esse trabalho teve por objetivo comparar os efeitos de diferentes formulações de Hf sobre os parâmetros cardiovasculares para confirmar a redução da cardiotoxicidade do fármaco após a nanoencapsulação, possibilitando sua potencial

utilização no tratamento da malária por via i.v. MÉTODOS E RESULTADOS: Ratos Wistar machos (250-300g) foram anestesiados e traqueostomizados, tiveram veia e artéria femorais cateterizadas para injeção do fármaco e registro de pressão arterial (PA), respectivamente, e eletrodos foram colocados no tecido subcutâneo para aquisição do sinal do ECG na derivação DII. Esses animais, divididos em quatro grupos experimentais, receberam: Hf livre diluído em DMA/PEG/glicose (150mg/kg); NC-Hf (150mg/kg); solução de DMA/PEG/glicose e NC branca (sem o fármaco). As NC foram preparadas pelo método de nanoprecipitação, apresentando tamanho inferior a 200nm.



Os registros da PA e do ECG foram obtidos digitalmente, numa frequência de amostragem de 600Hz, por 10min antes e 30min após a injeção das diferentes formulações. As variações percentuais dos parâmetros analisados: intervalos QT, PR, QRS e índice de Bazett (QTc) estão apresentadas na figura ao lado. CONCLUSÃO: Os resultados sugerem que a encapsulação do halofantrino leva à proteção da atividade cardíaca, provavelmente pela capacidade das nanocápsulas em alterar a biodistribuição do Hf, retendo-o por maior tempo no compartimento plasmático. Apoio financeiro: CNPq, UFOP, FAPEMIG-MG, WHO.

### 01.086

**A SIMPATECTOMIA FARMACOLÓGICA INDUZIDA COM RESERPINA NO RATO, PROVOCA LESÃO NO MIOCÁRDIO E INVIABILIZA O ESTUDO ESTRUTURAL E ELÉTRICO NESTE MODELO EXPERIMENTAL.** Barbosa, Publio P.P.; Santos, Bruna F.D.L.E.; Ramos, Agnes, F.J.; Vieira, Arthur D.; Houly, Ricardo S. Laboratórios de Farmacologia e Toxicologia-Setor de Produtos Naturais, Depto. FSO, CCBI, e Anatomia Patológica do Hospital Universitário, Universidade Federal de Alagoas, pppb@fapeal.br.

Introdução. A reserpina é um alcalóide da *Rauwolfia serpentina* L., utilizada para obtenção de simpatetomia experimental na dose de 2-3 mg/kg (i.p.) por 3 dias. Esta, provoca depleção de catecolaminas das fibras pré-ganglionares simpáticas e da medula das glândulas adrenais com conseqüente efeito antihipertensivo. Objetivo. Visou estudar a influência do tratamento agudo e subcrônico com reserpina no rato, sobre a integridade estrutural e elétrica do miocárdio. Metodologias. Ratos Wistar adultos (Biotério do CCBi - UFAL) foram divididos em 7 grupos: controle (salina - 10 mL/kg i.p.); reserpina (0,5, 1 e 2,5 mg/



nal, perfil lipídico, pressão arterial e glicemia, pH, pCO<sub>2</sub>, bicarbonatos sanguíneo e urinário. Resultados: Os ratos que ingeriram dietas com lipídeos mostraram ganhar mais peso ao longo do experimento. A suplementação alimentar crônica com diferentes ácidos graxos não alterou a glicemia, bem como a pressão arterial dos grupos estudados. Os resultados do Ritmo de Filtração Glomerular para os grupos controle, canola, peixe e manteiga de 6 meses foram, respectivamente, 6.40 ± 0.45, 4.45 ± 0.18, 4.35 ± 0.25 e 4.42 ± 0.28 mL.min<sup>-1</sup>.kg<sup>-1</sup>. Discussão: Os dados obtidos até aqui falam contra uma possível portação de injúria renal obtida pela administração de dietas com ácidos graxos insaturados neste tipo de modelo estudado com animais idosos. Auxílio: FAPESP e CNPq.

## 01.091

**EFEITO BENÉFICO DO MINALRESTAT, UM INIBIDOR DA ALDOSE REDUTASE, SOBRE AS RESPOSTAS DIMINUÍDAS DE MICROVASOS NO DIABETES EXPERIMENTAL.** Akamine, E.H.<sup>1</sup>; Hohman, T.C.<sup>2</sup>; Nigro, D.<sup>1</sup>; Carvalho, M.H.C.<sup>1</sup>; Tostes, R.C.<sup>1</sup>; Fortes, Z.B.<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Departamento de Farmacologia – ICB – USP; <sup>2</sup>Pharmacia & Upjohn

Introdução: Alterações funcionais dos vasos da microcirculação são observadas no diabetes mellitus. A via dos poliois (aldose redutase e poliol desidrogenase) está envolvida nas complicações do diabetes podendo ter papel importante nos distúrbios vasculares dessa doença. Sendo assim, o objetivo do trabalho foi verificar os mecanismos pelos quais o minalrestat, inibidor da aldose redutase, corrige as respostas diminuídas de arteríolas aos mediadores inflamatórios em ratos diabéticos.

Métodos: Ratos Wistar machos tornados diabéticos por injeção de aloxana (40 mg/kg, i.v.) foram tratados (Mi) ou não com minalrestat (10 mg/kg/d/30d). Utilizando microscopia intravital, foi verificada a variação do diâmetro (em %) das arteríolas mesentéricas em resposta à bradicinina (30 pmol), histamina (2,7 nmol) e PAF (39 pmol) antes e após aplicação tópica de N<sup>G</sup>-nitro-L-arginina metil ester (L-NAME) e tetraetilamônio (TEA) ou tratamento agudo com diclofenaco.

Resultados: As respostas de arteríolas à bradicinina, histamina e PAF, reduzidas em ratos diabéticos, foram corrigidas pelo minalrestat (tabela). O bloqueio da síntese do óxido nítrico e a inibição da hiperpolarização, mas não da cicloxigenase, inibiram as respostas aos mediadores inflamatórios em ratos tratados com minalrestat (tabela). Discussão: Estes dados sugerem que o tratamento com inibidor da aldose redutase corrige as respostas reduzidas em ratos diabéticos facilitando a hiperpolarização e restabelecendo os níveis de NO.

	Controle	Diabético	Mi	Diclofenaco	L-NAME	TEA
Bradicinina	12.0 ± 0.5 (8)	6.4 ± 0.6* (8)	10.2 ± 0.8 (8)	11.1 ± 0.4 (8)	5.2 ± 0.3* (9)	5.4 ± 0.5* (10)
Histamina	9.9 ± 0.4 (8)	5.1 ± 0.3* (8)	10.7 ± 0.8 (9)	9.3 ± 0.8 (8)	5.2 ± 0.5* (9)	5.5 ± 0.5* (10)
PAF	10.5 ± 0.6 (8)	5.7 ± 0.7* (8)	12.7 ± 0.8 (8)	10.7 ± 0.5 (8)	4.3 ± 0.3* (9)	5.0 ± 0.5* (10)

\* P < 0.05 em relação a controle, DM e diclofenaco.

Apoio financeiro: FAPESP

## 01.092

**BRADYKININ B1 RECEPTOR ANTAGONIST IN PARATRIGEMINAL NUCLEUS ATTENUATES PRESSOR RESPONSE TO SCIATIC NERVE STIMULATION.** \*Koeppe J.; Caous, C.A.; Balan, A.C.; Yu, Y.G.; Lindsey, C.J.; \*Rae G.A. Departments of \*Pharmacology, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis and Department of Biophysics, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, Brasil.

Introduction: The paratrigeminal nucleus (Pa5), a small structure of the dorso-lateral medulla, is an important neural pathway for the cardiovascular component of the somatosensory reflex (SSR), since contralateral or bilateral Pa5 lesions reduce pressor responses to sciatic nerve stimulation (SNS). Bradykinin (BK), a peptide with important roles in peripheral and central cardiovascular and pain mechanisms, evokes pressor responses when microinjected into the Pa5. We now examine whether microinjections of Des-Arg10 Hoe-140 (B1 receptor antagonist) influence pressor response to SNS. Methods and Results: Mean arterial pressure (MAP) changes induced by SNS (square 1 ms and 0.6 mA pulses at 20 Hz for 10 s) were monitored before and after ipsi-, contra- or bilateral Pa5 microinjections of Des-Arg10HOE-140 (20 pmol/0.2 ul) in isoflurane-anesthetized, paralyzed and artificially-ventilated adult Wistar rats. SNS increased MAP from 87 ± 3 to 106 ± 3 mmHg (i.e. +19 ± 3 mmHg) in sham rats. Bilateral and contralateral Pa5 injection of Des-Arg10HOE-140 reduced the pressor response to SNS from 20 ± 2 to 11 ± 1 mmHg (43% inhibition) and 17 ± 1 to 10 ± 2 mmHg (40% inhibition) respectively. Ipsilateral injection failed to alter the pressor response significantly (29.3 % inhibition). Conclusion: The results suggest that endogenous BK in the Pa5 plays an important role in mediating, via B1 receptors, the SSR evoked by SNS. Support: Fapesp and CNPq

## 01.093

**THE EFFECTS OF PARATRIGEMINAL NUCLEUS LESION ON CARDIOVASCULAR RESPONSES TO HIGH AND LOW FREQUENCIES OF SCIATIC NERVE STIMULATION.** Caous, C. A.; Balan, A. C.; †Koeppe, J.; Yu, Y. G.; †Rae, G. A. and Lindsey, C. J. - Departamento de Biofísica, UNIFESP, SP, †Departamento de Farmacologia, UFSC, SC, Brazil

Introduction: Paratrigeminal nucleus (Pa5), a cell collection at dorsal lateral medulla, may act as a primary site of somatosensory and other afferents from V, IX and X cranial nerves and project to nucleus of solitary tract, rostroventrolateral reticular and parabrachial nuclei. Nociceptive stimulation of sciatic nerve (SNS) could be attenuated by contralateral or bilateral Pa5 lesion. The present work aims at differential study of high and low frequencies of nociceptive stimuli. Methods: The sciatic nerve of anaesthetized, paralyzed and artificially-ventilated male adult rats were respectively stimulated with 2, 10 and 20Hz, 0.6mA before and after Pa5 lesion with ibotenic acid. The changes in arterial pressure (AP) and heart rate (HR) responding to the SNS were monitored before, during and after Pa5 lesion(s). Re-

sults: The AP responses to high-frequency (20Hz) SNS were attenuated by bi- or contralateral Pa5 lesion by 50% (from 14 ± 1.8 to 7 ± 1.1 mmHg) or 90% (from 27.8 ± 7.8 to 7 ± 7 mmHg), respectively. Low-frequency (2Hz) in bilateral lesion enhanced the responses of SNS by 10% (from 8.5 ± 1 to 9.2 ± 1.7 mmHg) but in contralateral reduced about 5% (from 13.8 ± 4 to 10 ± 4 mmHg). Ipsilateral Pa5 lesion followed by 2, 10, 20 Hz stimulations did not significantly alter the pressor response. Intermediate frequency (10Hz), in contra- or bilateral lesion(s) attenuated AP response by 30% (from 20.5 ± 4 to 14.8 ± 4 mmHg) and 14% (from 13.2 ± 2 to 11 ± 1 mmHg), respectively. Discussion: The Pa5, as many other relay nuclei, receives complex inputs from widespread afferents containing frequency-differentiated fibers. Based on the present study, high and low frequencies may activate the somatosensory reflex via different paths. Pa5 may play an important role in the process of SSR by differentiated pathway.

## 01.094

**EFEITO DO INIBIÇÃO DA HEME-OGIGENSE PELO ZNDPBG SOB AS RESPOSTAS INDUZIDAS PELO L-GLUTAMATO NOS NÚCLEOS DO TRATO SOLITÁRIO DE RATOS ANESTESIADOS.** Almeida, V.A. de, Abdala, A.P.L., Sato, M.A., Colombari, E. Dept. Fisiologia- UNIFESP-EPM, São Paulo- SP

Objetivos: Em trabalhos anteriores mostramos que a inibição da produção endógena de monóxido de carbono (CO) com Zinco Deuterporfirina 2,4bis glicol (ZnDPBG) atenua as respostas produzidas pela microinjeção de 1-glutamato (hipertensão e bradicardia) no NTS de ratos acordados, o que suscita a hipótese de uma possível interação entre o CO e a neurotransmissão neste núcleo no controle cardiovascular. Portanto nosso objetivo é avaliar o papel da inibição do CO pela microinjeção de ZnDPBG no NTS de ratos anestesiados. Métodos e Resultados: Os ratos foram anestesiados com cloralose e uretana 500mg/ml e 33mg/ml, utilizando 0,8 ml, kg dessa mistura EV, traqueostomizados e submetidos à craniotomia parcial para a exposição do tronco cerebral. As microinjeções no NTS intermediário foram feitas utilizando-se as seguintes coordenadas em relação ao calamus scriptorius: 0,5 mm rostral; ± 0,5mm lateral; 0,5 mm abaixo da superfície ventral. Inicialmente era feita a microinjeção controle de 1-glutamato (5nmol/100nl) que produzia hipotensão (-40 ± 4 mmHg) e bradicardia (-67 ± 16 bpm). Dez minutos depois era realizada a microinjeção de ZnDPBG que promoveu redução significativa da pressão arterial média basal (de 104 ± 9 para 76 ± 9 mmHg), sem promover alterações significantes da frequência cardíaca (370 ± 25 bpm vs 338 ± 32 bpm). Cinco minutos após a microinjeção de ZnDPBG era feita nova microinjeção de 1-glutamato que apresentou redução da resposta hipotensora (-12 ± 10 mmHg) e bradicardia (-11 ± 28 bpm) comparada à resposta controle (antes de ZnDPBG). Conclusão: Os resultados sugerem que o CO dependente da heme-oxigenase participa dos mecanismos hipotensores e bradicárdicos ativados pelo 1-Glu no NTS em ratos anestesiados. Apoio Financeiro: FAPESP, CNPq (PRONEX).

## 01.095

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM L-ARGININA SOBRE A FUNÇÃO RENAL DE RATOS PARATIROIDECTOMIZADOS.** Carla Coelho Lopes Gonzales, Maria Etsuco M. Oshiro, Frida Zaladek Gil. Departamento de Fisiologia, Departamento de Biofísica, UNIFESP - EPM

Introdução: Alguns estudos tem abordado a interação de hormônios vasoativos na função renal. Objetivos: Neste trabalho, o efeito da administração de L-Arginina na função renal de ratos tiroparatiroidectomizados (TPTX) foi observado, com o intuito de se avaliar a interação entre os

sistemas parato-hormônio (PTH) e L-Arginina-Óxido Nítrico. Material e métodos: Foram avaliados função renal, pressão arterial e resistência vascular do leito mesentérico em animais TPTX com (grupo TPTX+Larg) ou sem suplementação de L-Argina, 2% (grupo TPTX). Resultados: o ritmo de filtração glomerular, diminuído em TPTX não sofreu alteração após suplementação com L-Arg (controle:  $6.87 \pm 0.33$ , TPTX,  $4.88 \pm 0.26$  e TPTX+L-Arg,  $4.88 \pm 0.28$ ). Os animais TPTX tiveram uma pressão arterial aumentada, que se reduziu com a administração de L-Arg. O leito vascular mesentérico dos animais TPTX mostrou uma hipossensibilidade ao relaxamento induzido

por ACTh. No grupo TPTX+L-Arg o relaxamento não foi diferente daquele obtido no grupo controle. Sumário e conclusões: nossos dados mostram que a administração de L-Arg não reverteu os efeitos vasoconstritores na vasculatura renal observados nos animais TPTX. No leito mesentérico, os efeitos vasoconstritores causados pela ausência do PTH foram revertidos pela L-Arg. Nossos dados falam a favor de efeitos diferenciados em relação ao sítio vascular estudado quando a interação PTH-L-Arg\_NO é abordada, apontando para possíveis receptores específicos e seletivos conforme o local estudado. Apoio: FAPESP e CNPq