

The background features a series of concentric, slightly rotated squares that create a tunnel-like effect towards the center. Additionally, there are several triangles of varying sizes scattered across the page, some pointing towards the center and others pointing outwards. The lines are thin and light gray.

***Resumos***  
***Setor 02***  
***Neurofarmacologia***



## 02.001

**CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DOS ANESTÉSICOS LOCAIS (AL) PROCAÍNA E LIDOCAÍNA SOBRE A JUNÇÃO NEUROMUSCULAR**

Loyola, Y.; Simioni, L. R.; Fontana, M. D. Unicamp Farmacologia

**Introdução:** Muito se tem estudado sobre o mecanismo de ação dos anestésicos locais (AL) na junção neuromuscular. Este trabalho teve como objetivo estudar a ação dos AL: procaína e lidocaína nos sítios pré, pós-juncionais e sobre a musculatura, e investigar o mecanismo da potencialização do bloqueio neuromuscular (NM) após a adição de d-tubocurarina. **Métodos e resultados:** Foram utilizadas as preparações nervo frênico diafragma de rato (NFD) e preparação músculo biventer cervicis de pintainho (BC). Nas preparações NFD, a adição de procaína (40µg/ml) e lidocaína (20µg/ml) isoladamente foram incapazes de alterar a amplitude das respostas musculares ou causar bloqueio NM. Associando-se na mesma preparação a procaína ou a lidocaína com dTc (0,3µg/ml) observou-se um bloqueio NM. Com a procaína a média do bloqueio foi de 75% EP ± 3.09 (n=5) e com a lidocaína (X=63% EP ± 2.05 n=5). O bloqueio causado pela lidocaína + dTc foi antagonizado pela 4-aminopiridina (20µg/ml). Na preparação (BC) a acetilcolina (5µg/ml) adicionada 30 minutos após a adição de procaína sofreu uma diminuição significativa (p<0,01) na amplitude da contratura induzida por este agonista nicotínico. Com a lidocaína (20µg/ml) não houve diminuição significativa na amplitude da contratura. A procaína e a lidocaína não alteram o potencial de membrana. A procaína incubada com a preparação NFD causou diminuição da amplitude dos potenciais de placa terminal em miniatura. A lidocaína ao contrário causou aumento na frequência e não interferiu na amplitude dos potenciais. **Conclusões:** Os resultados mostram que a procaína e a lidocaína potencializam o efeito bloqueador neuromuscular da dTc e que a procaína age na região subsináptica enquanto a lidocaína exibe uma ação pré-juncional.

## 02.002

**ALTERAÇÕES MITOCONDRIAS E DA HOMEOSTASE DE Ca<sup>2+</sup> EM UM MODELO ANIMAL DA DOENÇA NEURODEGENERATIVA DE HUNTINGTON**Rosenstock, T. R.<sup>1</sup>; Bertocini, C. R. A.<sup>2</sup>; Frussa-Filho, R.<sup>1</sup>; Smaili, S. S.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>UNIFESP - Farmacologia; <sup>2</sup>UNIFESP CEDEME

**Introdução:** Durante o processo de excitotoxicidade ocorre um aumento do Ca<sup>2+</sup> citosólico (Ca<sup>2+</sup><sub>c</sub>) que pode ser tamponado pela captação de Ca<sup>2+</sup> mitocondrial (Ca<sup>2+</sup><sub>m</sub>). O aumento do Ca<sup>2+</sup><sub>m</sub> pode levar à abertura do poro de transição de permeabilidade (PTP) e liberação do Ca<sup>2+</sup><sub>m</sub> estocado. É provável que estes mecanismos estejam presentes em processos neurodegenerativos como o da Doença de Huntington (DH), onde se observa também uma inibição da succinato desidrogenase (SDH). O objetivo desse trabalho é investigar alterações da homeostase de Ca<sup>2+</sup> e da SDH mitocondrial na DH. **Métodos:** A homeostase de Ca<sup>2+</sup> foi estudada por Microscopia de Fluorescência em fatias cerebrais de camundongos transgênicos e controles da linhagem R6/1, que foram incubadas com Fura-2-AM e estimuladas com KCl (200 mM) e Glutamato (Glu) (1 mM). Os níveis de SDH foram analisados por densidade óptica após a histoquímica, em animais da mesma linhagem. **Resultados:** As fatias cerebrais de animais transgênicos estimuladas com Glu apresentaram um aumento significativo do Ca<sup>2+</sup><sub>c</sub> (1.07 ± 0.18) em relação aos controles (0.57 ± 0.23). Esse aumento ocorre em forma de onda, sendo a magnitude da resposta dependente da região cerebral. A atividade da SDH, entretanto, não apresentou diferença significativa entre os dois grupos. **Discussão:** Esses resultados sugerem que as alterações na homeostase de Ca<sup>2+</sup>, ao contrário das alterações enzimáticas, podem estar relacionadas com o processo de degeneração celular que ocorre na DH, pelo menos nessa fase da doença. **Apoio Financeiro:** FAPESP e CNPq.

## 02.003

**INVOLVEMENT OF VOLTAGE-DEPENDENT CALCIUM CHANNELS ON THE HYPERACTIVITY OF NICOTINIC CHOLINOCEPTORS IN SYMPATHETIC NEURONS OF GENETICALLY HYPERTENSIVE RATS**

Ferreira, R. M.; D'Angelo, L. C. A.; Caricati-Neto, A. C.; Jurkiewicz, A. UNIFESP - Farmacologia

**Introduction:** Presynaptic nicotinic cholinergic receptors (nAChR) increases noradrenaline (NA) and ATP release from postganglionic sympathetic axons (PSA) by activation of voltage-dependent calcium channels (VDCC) (Bohem & Huck, Prog. Neurobiol, 51: 225: 1997). Because the role of nAChR and VDCC in sympathetic dysfunction in genetic hypertension is unclear, we studied the involvement of L- and N-type VDCC on nAChR activity in PSA from vas deferens (VD) of genetically hypertensive rats (SHR). **Methods:** VD from male normotensive (NWR) and SHR (16-20 weeks) were used to evaluate electrically-induced twitch contractions (due to ATP release) and to make electrochemical detection of NA released. Effects of agonist (DMPP) and antagonists (Hexamethonium and Mecamylamine) of nAChR, on twitches and on NA released, were studied. Effects of L- (nifedipine) and N-type (ω-conotoxin GVIA) VDCC blockers on NA release were also studied. **Results:** Twitches and NA release were dose-dependently increased by DMPP with similar potency in NWR and SHR but maximum effect (Emax) of DMPP on twitch potentiation was higher in SHR (65 ± 5%) than NWR (25 ± 2%). Emax of DMPP on NA release was also higher in SHR (4.6 ± 0.03 nmoles/mL) than NWR (2.6 ± 0.02 nmoles/mL). DMPP effects on NA release was reduced by nifedipine (10<sup>-7</sup>M) and ω-conotoxin GVIA (10<sup>-8</sup>M), but these effects were lower in SHR (46% and 56%, respectively) than in NWR (76% and 78%, respectively). In addition, the antagonists of nAChR blocked the twitch potentiation and NA release. **Discussion:** The results show that L- and N-type VDCC appear to be involved in hyperactivity of neuronal nAChR of SHR. **Supported by:** FAPESP, CAPES and CNPq

## 02.004

### REGULATION BY VOLTAGE-DEPENDENT CALCIUM CHANNELS OF NORADRENALINE RELEASED IN SYMPATHETIC NEURONS FROM VAS DEFERENS OF GENETICALLY HYPERTENSIVE RATS

Ferreira, R. M.; Jurkiewicz, A.; Caricati-Neto, A. C. UNIFESP Farmacologia

**Introduction:** Voltage-dependent calcium channels (VDCCs) are coupled to presynaptic receptors that modulate noradrenaline (NA) and ATP release in sympathetic neurons (Bohem & Huck, Prog. Neurobiol, 51: 225: 1997). Because the role of the VDCCs in sympathetic dysfunction related to genetic hypertension is unclear, we decided to study modulation by VDCC of NA release by sympathetic neurons from vas deferens (VD) of spontaneously hypertensive rats (SHR). **Methods:** VD (Prostatic portion) isolated from male normotensive (NWR) and SHR (16-20 weeks old) were cut in fragments and mounted under continuous perfusion (0.5 mL/min) with Tyrode at 37°C. NA released by sympathetic nerves under stimulation with dimethylphenylpiperazinium (DMPP)  $10^{-4}$ M was measured by means of an electrochemical detector. Effects of selective blockers of L-type (nifedipine, NIF), N-type ( $\omega$ -conotoxin GVIA, CTx-GVIA) and P/Q-type ( $\omega$ -agatoxin IVA, AgTx-IVA) VDCC, on DMPP-stimulated NA release were studied. **Results:** DMPP-stimulated NA release was significantly reduced by NIF ( $10^{-7}$ M), AgTx-IVA ( $10^{-7}$ M) and CTx-GVIA ( $10^{-8}$ M) in VD of NWR and SHR, but these inhibitory effects were lower in SHR (46%, 25% and 56%, respectively) than in NWR (76%, 60% and 78%, respectively). When the three VDCC blockers were combined, DMPP-stimulated NA release was almost totally inhibited in NWR (94%) and SHR (92%). **Discussion:** These results obtained in VD suggest that functional properties of VDCC in sympathetic neurons are altered in genetic hypertension. **Supported by:** FAPESP, CNPq and CAPES.

## 02.005

### EFEITO DOS ANTI-COLINESTÉ-RÁNICOS (Anti-ChE) NAS JUNCTÕES NEUROMUSCULARES SIMPÁTICAS (JNMS) DE ANIMAIS NORMOTENSOS E HIPERTENSOS

D'Angelo, L. C. A.<sup>1</sup>; Nascimento, F.<sup>1</sup>; Tersariol, I.<sup>2</sup>; Jurkiewicz, A.<sup>1</sup>; Caricati-Neto, A. C.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>UNIFESP - Farmacologia; <sup>2</sup>UMC - Núcleo Pesquisas Tecnológicas

**Introdução:** Visto que a acetilcolina (ACh) facilita a transmissão nas JNMS pelo aumento da liberação de NA e ATP, inclusive no ducto deferente (DD) (Bohem, Prog Neurobiol 51:225,1997) e disfunções simpáticas estão envolvidas na hipertensão arterial (de Champalin, *Can J Cardiol* 15:8A,1999), decidimos estudar o efeito dos anti-ChE (Fisostigmina, FS; Tacrina, TC; Rivastigmina, RV) sobre a liberação de ATP e NA em DD de ratos normotensos (NWR) e hipertensos (SHR) adultos (16-20 semanas). **Métodos:** A magnitude das contrações purinérgicas (twitches) induzidas eletricamente (0,2Hz, 1ms, 60-80V) foi avaliada como medida indireta da liberação de ATP e a liberação de NA foi medida diretamente por detecção eletroquímica. Estudou-se os efeitos dos anti-ChE sobre: (a) os twitches, (b) a facilitação dos twitches pela ACh e (c) a detecção de NA. Além disso, determinou-se a atividade enzimática da acetilcolinesterase (AChE) no DD. **Resultados:** Os twitches foram aumentados pela FS com similar potência ( $EC_{50}$ ) em NWR e SHR (3mM), mas com maior efeito máximo ( $E_{max}$ ) em SHR (213±33%) do que em NWR (67±25%). Os efeitos da TC e RV sobre os twitches foram discretos e similares em NWR e SHR. A ACh aumentou os twitches com  $EC_{50}$  similar em NWR e SHR (10mM), mas com maior  $E_{max}$  em SHR (133±22%) do que em NWR (89±10%). Os efeitos da ACh foram potencializados pela FS, mas não pela TC e RV, em NWR e SHR. Este efeito da FS foi maior em SHR. A atividade da AChE foi similar em NWR. (4,35±0,36 n moles/min/mg prot) e SHR (4,30±0,32 n moles/min/mg prot). **Discussão:** Os resultados sugerem que a FS facilita a transmissão nas JNMS de NWR e SHR por meio do aumento da liberação de NA e ATP. Este efeito da FS encontra-se aumentado em SHR e não estaria

diretamente relacionado à inibição da AChE. **Apoio Financeiro:** FAPESP e CNPq

## 02.006

### THE PARATRIGEMINAL NUCLEUS MODULATES NOCIFENSIVE BEHAVIOUR INDUCED BY OROFACIAL FORMALIN IN THE RAT.

Koepp, J.<sup>1</sup>; Lindsey, C. J.<sup>2</sup>; Rae, G. A.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>UFSC - Farmacologia; <sup>2</sup>Escola Paulista de Medicina Biofísica

**Objective:** Anatomical and immunohistochemical data have suggested that the paratrigeminal (Pa5) nucleus may play a role in orofacial nociceptive processing, since primary sensory fibers innervating the oral cavity reach the Pa5 to synapse with second-order neurons (Carstens et al., Neuroscience, 69:939, 1995). Thus, the current study examines the influence of unilateral Pa5 lesion on nociceptive responsiveness to formalin, injected into the ipsi- or contralateral upper lip. **Methods and Results:** Lesion of the Pa5 was performed in anesthetized adult Wistar rats. Three days later, rats received a 50 ml s.c. injection of 1% formalin into the ipsilateral or contralateral upper lip, and the time expended at facial rubbing was recorded up to 30 min, as an index of nociception. The first phase (0-3 min) of the nociceptive response to formalin was unaffected by Pa5 lesion, but the second-phase (12-30 min) of nociception triggered by ipsi- and contralateral formalin was increased from  $77 \pm 12$  to  $273 \pm 35$  s and from  $142 \pm 17$  to  $303 \pm 35$  s, respectively. Responses elicited in the upper lip of sham-operated rats were similar to those seen in control animals. **Conclusion:** The current results suggest that the Pa5 plays an important modulatory role in the processing of orofacial nociceptive information stimulated by formalin in the upper lip of rats, especially those regarding the second (i.e. inflammatory) phase. The underlying mechanisms involved remain to be elucidated. **Support:** FAPESP and CNPq.

02.007

**MICROINJEÇÃO DE AP5 NA SUBSTÂNCIA CINZENTA PERIAQUEDUTAL DORSAL AUMENTA A EXPLORAÇÃO AOS BRAÇOS ABERTOS NO RETESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO**

Kincheski, G. C.; Carobrez, A. P. UFSC Farmacologia

**Introdução:** Ratos submetidos ao labirinto em cruz elevado (LCE) durante cinco minutos demonstram atividade exploratória nos braços abertos decrescente ao longo do tempo. Durante uma segunda exploração (reteste), os animais deixam de explorar os braços abertos por exibirem um comportamento de esquiava. Estudos anteriores demonstraram que a inibição da substância cinzenta periaquedutal dorsal (SCPd) com antagonistas do receptor NMDA provoca efeito ansiolítico em ratos submetidos ao teste no LCE. **Objetivo:** Baseado nestes dados, o presente estudo procurou verificar a participação da SCPd na redução da atividade exploratória aos braços abertos (TA=tempo de permanência; EA=entradas) durante o reteste, através da inibição dos receptores NMDA. **Métodos:** Ratos Wistar machos, previamente implantados com cânulas dirigidas à SCPd, foram submetidos ao reteste (LCE2; 24h após o teste) no LCE, 10 min após a microinjeção de líquor artificial (LA) ou AP5 (6 nmol) na SCPd. **Resultados:** O teste de Kruskal-Wallis, mostrou um aumento ( $p < 0.05$ ) na % TA (mediana=7,7; interquartil inferior, IQI=3,7; superior, IQS=31,3) e na %EA (33; IQI=18-IQS=50) nos ratos que receberam AP5, comparado ao grupo que recebeu LA no reteste (0; IQI=0-IQS=0). Esses resultados foram observados na ausência de alterações da atividade exploratória geral. **Discussão e Conclusão:** A inibição dos receptores NMDA na SCPd com AP5 restabelece a atividade exploratória aos braços abertos durante o reteste no LCE, sugerindo a influência dessa área cerebral na expressão da resposta de esquiava aos braços abertos, exibida no reteste. **Apoio Financeiro:** CNPq, CAPES, FAPESP.

02.008

**EFEITO DO BLOQUEIO GANGLIONAR NA RESPOSTA PRESSORA A MICROINJEÇÃO DE NORADRENALINA NA SUBSTÂNCIA CINZENTA PERIAQUEDUTAL DORSAL DE RATOS.**Garcia Pelosi, G.; Correa, F. M. A. - <sup>1</sup>FMRP - USP - Farmacologia

**Introdução e Objetivos:** Alterações cardiovasculares foram evidenciadas após estímulo químico com noradrenalina (NA) na substância cinzenta periaquedutal (SCP) de ratos não anestesiados. Há evidências na literatura de que a SCP possui eferências para regiões bulbares, inclusive a área rostroventolateral. Dessa forma, a resposta pressora evidenciada após microinjeção de NA nessa região mesencefálica poderia estar sendo efetuada via ativação do sistema nervoso simpático. Assim, no presente trabalho estudamos o efeito da administração (i.v.) de um bloqueador ganglionar sobre essa resposta em ratos não anestesiados. **Métodos:** Ratos Wistar (220-270g) receberam implante de cânula-guia na região dorsal da SCP (SCPd). Um catéter foi introduzido na artéria e veia femorais para registro da pressão arterial e administração de drogas, respectivamente. **Resultados:** A microinjeção de NA (15 nmoles/50 nL) na SCPd, após a administração endovenosa do pentolinio (bloqueador ganglionar; 5 mg/kg), desencadeou um efeito pressor de maior magnitude ( $\Delta$  PAM= 65,1  $\pm$  7,5 mmHg; n=6; teste *t* pareado,  $p < 0,05$ ) quando comparado àquele observado anteriormente ao pré-tratamento com pentolinio ( $\Delta$ PAM= 37,1  $\pm$  2,9 mmHg; n=6). **Conclusão:** Os resultados sugerem a existência de um mecanismo noradrenérgico pressor na SCPd de ratos não-anestesiados, evidenciado pelo estímulo químico por NA, o qual não é dependente da ativação do sistema nervoso simpático. **Apoio Financeiro:** CAPES e FAPESP (02/4147-9)

02.009

**BETA - AMYLOID PEPTIDE ACTIVATES NUCLEAR FACTOR NF- $\kappa$ B IN C6 GLIOMA CELLS**Kawamoto, E.<sup>1</sup>; Demarchi Munhoz, C.<sup>1</sup>; Avellar, M. C. W.<sup>2</sup>; Scavone, C.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>ICB-USP - Farmacologia; <sup>2</sup>UNIFESP-EPM Farmacologia

**Introduction:** Beta-amyloid peptide (bA) has been shown to cause synaptic dysfunction and can render neurons vulnerable to excitotoxicity. NF- $\kappa$ B is a transcription factor which has been linked to both survival and apoptosis. bA can activate NF- $\kappa$ B in neurons, astrocytes and microglia, but little is known about the mechanism by which this occurs. Our aim was to evaluate if bA can modulate NF- $\kappa$ B in C6 glioma cells. **Materials and Methods:** bA fragments 1-40 and 1-42 were combined and incubated for 7 days at 37°C. C6 glioma cells which was cultured in dishes were treated with bA (1-40+1-42 aged) in different concentrations (10nM, 100nM, 300nM, 1mM, 2mM) and time of incubation (12, 24 and 48 h). Nuclear extracts were isolated and gel mobility shift assay used to measure changes in NF- $\kappa$ B activity. Competition studies with specific and non-specific unlabeled double-strand oligonucleotide and super-shift assays with specific antibodies against NF- $\kappa$ B subunits p50 and p65 were also performed. **Results:** bA induced a dose-dependent activation of NF- $\kappa$ B in C6 cells. The peak of this effect occurred at 24 h and decreased at 48 h after bA incubation. Super-shift assays indicated that the major DNA-protein complex altered by bA corresponded to p50/p65 heterodimer. **Discussion:** Our results suggest that bA induces a dose-dependent activation of p50/p65 NF- $\kappa$ B in C6 glioma cells. **Financial support:** FAPESP, CNPq and Bunka grant/Sumitomo Bank

02.010

**NITRIC OXIDE (NO) REDUCES EVOKED [<sup>3</sup>H]-ACETYLCHOLINE OUTPUT FROM MOTOR NERVE TERMINALS**

Campesatto-Mella, E.<sup>1</sup>; Oliveira, L. J.<sup>2</sup>; Gomes, M. F.<sup>1</sup>; Furlan, A. D.<sup>1</sup>; Alves-do-Prado, W.<sup>3</sup>; Correia-de-Sá, P.<sup>2</sup> - <sup>1</sup>CESUMAR, and Dept. Farm. e Farmacol. UEM, Paraná; <sup>2</sup>Univ. do Porto, Portugal - Lab. Farmacol, UMIB, ICBAS; <sup>3</sup>UEM, Paraná - Farm. e Farmacol

**Introduction:** Miographic records show that NO synthesized in muscle acts at presynaptic level increasing the acetylcholine output when the nerve is stimulated at 0.2 Hz. However, NO induces tetanic fade when the muscle is indirectly stimulated at 50 Hz. This work aimed to determine whether endogenous NO is involved in the regulation of [<sup>3</sup>H]-ACh release from motor nerve terminals. **Methods:** The experiments were performed at 37°C on rat phrenic nerve-hemidiaphragm preparations loaded with [<sup>3</sup>H]-choline (2.5 mCi/mL). **Results:** L-arginine (47µM) decreased [<sup>3</sup>H]-ACh release by 26±6% (n=11) and by 43±2%(n=5), when the phrenic nerve was stimulated at 5 and 50 Hz, respectively. L-arginine (47µM) inhibition was prevented by the NO synthase inhibitor, N<sup>w</sup>-nitro-L-arginine (L-NOARG, 50-100 µM), but not by the NO scavenger, haemoglobin (10 µM). L-NOARG (100µM) alone facilitated [<sup>3</sup>H]-ACh release. Blockade of muscarinic M<sub>2</sub> autoreceptors with AF-DX 116 (10nM) transformed L-arginine (47 µM) inhibition into a small facilitatory action (27±6%, n=6) at 50-Hz. **Conclusions:** NO is an important neuromodulator at the rat neuromuscular junction. The inhibitory action of NO depends on the pattern of nerve stimulation and seems to be determined by the indirect activation of presynaptic muscarinic M<sub>2</sub> cholinceptors. **Supported by:** FCT, Cesumar and Capes/Cnpq.

02.011

**CROSSTALK BETWEEN NEURONAL NITRIC OXIDE (NO), ADENOSINE AND ACETYLCHOLINE TO CONTROL TRANSMITTER RELEASE AT THE RAT ENDPLATE**

Campesatto-Mella, E.<sup>1</sup>; Oliveira, L. J.<sup>2</sup>; Alves-do-Prado, W.<sup>3</sup>; Correia-de-Sá, P.<sup>2</sup> - <sup>1</sup>CESUMAR e UEM - Farmácia, Paraná; <sup>2</sup>Univ. do Porto, Portugal - Lab. Farmacol, UMIB, ICBAS; <sup>3</sup>UEM - Farm. e Farmacol, Paraná

**Introduction:** NO stimulates adenosine production at motor endplates. Adenosine, which activates inhibitory A<sub>1</sub> receptors under resting conditions, enhances muscarinic M<sub>2</sub> autoinhibition during high frequency nerve stimulation by activating A<sub>2A</sub> receptors. This work aimed to investigate the NO interaction with presynaptic adenosine and muscarinic receptors. **Methods:** Experiments were performed at 37°C on rat phrenic nerve-hemidiaphragm preparations loaded with [<sup>3</sup>H]-choline (2.5 mCi/mL). **Results:** The NO synthase substrate, L-arginine (47 µM), decreased [<sup>3</sup>H]-ACh release by 26±6% (n=11) and by 43±2%(n=5) at 5 and 50-Hz, respectively. Blockade of muscarinic M<sub>2</sub> receptors, with AF-DX 116 (10 nM), transformed L-arginine (47 µM) inhibition into a small facilitatory action (27 ±6%, n=6) at 50-Hz frequency. In these conditions, the adenosine A<sub>2A</sub> receptor antagonist, ZM 241385 (10 nM), attenuated inhibition by L-arginine (47 µM, 17 ±6%, n=6). In contrast, blockade of adenosine A<sub>1</sub> receptors, with 1,3-dipropyl-8-cyclopentylxanthine (2.5 nM, 9±5%, n=11), prevented the NO-mediated inhibition only during 5-Hz trains. **Conclusions:** Release depression induced by NO followed the inhibitory control switch of neuromuscular transmission, from an adenosine A<sub>1</sub>-mediated tonus to a predominant muscarinic M<sub>2</sub> autoinhibitory action, upon increasing the frequency of nerve stimulation. **Supported by:** FCT, Cesumar and Capes/Cnpq.

02.012

**NITRIC OXIDE (NO)-INDUCED FADE IS DETERMINED BY BLOCKAGE OF K<sup>+</sup><sub>Ca++</sub> CHANNELS ON MOTOR NERVE**

Ramos, E. R. P.; Santos, I. L.; Alves-do-Prado, W. Universidade Estadual de Maringá - Farmácia e Farmacologia

**Introduction:** Fade is a poorly sustained contraction that follows fast muscular contraction of high amplitude when the motor nerve terminal (MNT) receives high rate stimulation. NO-induced fade (from L-arginine, L-ARG) depends on action of gas blocking K<sup>+</sup> channels on MNT. However, it has not been investigated whether NO-induced fade depends on blockage by gas of an specific subtype of K<sup>+</sup> channel on MNT. The literature shows that NO effects in several biological systems are produced by selective blockage of K<sup>+</sup><sub>Ca++</sub> channels (K<sup>+</sup><sub>Ca++</sub>). Current research was performed with a selective blocker of K<sup>+</sup><sub>Ca++</sub> (apamine, AP) to verify whether the NO-induced fade might depend on interaction of gas with K<sup>+</sup><sub>Ca++</sub> on MNT. **Methods:** Phrenic nerve-diaphragm muscle preparations of rats were indirectly stimulated at 100 Hz (10s, 10min interval). Tension at end (B) of 100 Hz was taken as ratio (R) of that at the beginning (A) (R=B/A). R value obtained 50 min after drug addition was taken as percentage of that recorded in drug-free Krebs buffer. Data were submitted to ANOVA, followed by Bonferroni, p<0.05. **Results:** R was reduced (10.44±1.40% to 23.74±4.52%, n=5) by AP (25 to 100nM). Reduction on R values produced by L-ARG (9.4mM) plus AP (25 nM) (16.5±1.26 %, n=5) was similar to that (16.27±2.47 %, n=5) induced by 50 nM AP. Reduction on R values induced by 9.4mM L-ARG plus 100 nM AP (23.53±2.78%, n=5) was similar to that recorded with 100nM AP. **Conclusion:** NO-induced fade seems to depend on selective blockage of K<sup>+</sup><sub>Ca++</sub> on MNT, since AP failed to change the fade in directly stimulated preparations. **Supported by:** CNPq

## 02.013

**ATROPINE ANTAGONIZES DEXAMETHASONE-INDUCED FADE IN NEUROMUSCULAR PREPARATIONS *IN VIVO* OF RATS**

Ambiel, C. R.<sup>1</sup>; Bolonheis, S. M.<sup>2</sup>; Santos, I. L.<sup>2</sup>; Alves-do-Prado, W.<sup>2</sup> - <sup>1</sup>Universidade Estadual de Maringá - Ciências Morfofisiológicas; <sup>2</sup>Universidade Estadual de Maringá - Farmácia e Farmacologia

**Introduction:** Corticoids are used for the treatment of several inflammatory pathologies that afflict different regions of the body, including skeletal muscle. Dexamethasone increases the muscular contraction amplitude (MCA) and induces tetanic fade acting at presynaptic level in phrenic nerve-diaphragm muscle (*in vitro*) preparations of rats. The fade induced by corticoid is antagonized by previous treatment of preparations with atropine (SBFTE 2003, page 95). Current research was undertaken to verify the effects of dexamethasone in sciatic nerve-anterior tibial muscle of rats (*in vivo*) indirectly stimulated at 0.2 and 80 Hz. **Methods:** Drugs were administered through jugular vein. Data were compared with ANOVA, followed by Bonferroni ( $P < 0.05$ ). **Results:** Dexamethasone (1.5 mg/kg) increased the MCA (15.5±3.8%; n=5) at 0.2 Hz, but atropine (5.0 mg/kg) antagonized the fade induced by dexamethasone (3.0 mg/kg) (14,8±2,0%; n=6). **Discussion:** Data are similar to those recorded with *in vitro* preparations and suggest that dexamethasone-induced fade is determined by a presynaptic action of the drug increasing the acetylcholine output, thereby activating inhibitory presynaptic muscarinic receptors. Therefore, dexamethasone should be used with caution, as it might modify the feedback control of motor nerve terminal and/or of others cholinergic transmissions. **Supported by:** CNPq

## 02.014

**ESTUDO DA ATIVIDADE DO TIPO ANTIDEPRESSIVA DO FENTÔNIO [N-(4-FENIL)FENACIL-L-HIOSCIAMINA]**

Duarte, F. S.<sup>1</sup>; Rocha, F.<sup>2</sup>; Lima-Landman, M. T. R.<sup>2</sup>; Souccar, C.<sup>2</sup>; Lapa, A. J.<sup>2</sup>; de Lima, T. C. M.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>UFSC - Farmacologia; <sup>2</sup>UNIFESP/EPM Farmacologia

**Introdução:** Apesar da depressão ser uma psicopatologia prevalente, os antidepressivos clássicos, além de ação retardada, induzem efeitos indesejáveis que limitam seu uso. Não sem razão, o mercado farmacêutico tem estimulado a busca de novos medicamentos com esta ação. Este trabalho descreve os efeitos do fentônio (FENT) em modelos experimentais de depressão. **Métodos:** Camundongos Swiss fêmeas (25-35g) foram tratados com (1) PBS, (2) FENT ( $10^{-7}$  -  $10^{-3}$  M), i.c.v. (3) com as drogas antidepressivas clássicas imipramina (15 mg/Kg, i.p) e fluoxetina (32 mg/kg, i.p.). Todos os grupos foram submetidos aos testes de natação forçada (NF) e da suspensão pela cauda (SC), sendo registrado o tempo total de imobilidade. Os animais também foram avaliados no labirinto em cruz elevado (LCE), no campo-aberto (CA) e no rota-rod (RR), para avaliar outras possíveis atividades centrais. **Resultados:** O FENT ( $10^{-7}$  -  $10^{-4}$  e  $10^{-5}$  -  $10^{-3}$  M) reduziu o tempo de imobilidade na NF (C= 199,00 ± 4,5; FENT  $10^{-5}$  = 164,50±3,0; IMI = 75.10 ±10,2s, n=8-10) e na SC (C= 202,30 ± 5,9; FENT  $10^{-3}$  = 136,75±14,7; IMI = 74.6 ±11,2s, n=8-10). O pré-tratamento com PCPA (100 mg/kg i.p., 4 dias), depletor de serotonina, ou com a mecamilamina (15 mmol/kg i.p.), antagonista de receptores nicotínicos do tipo  $\alpha 2\beta 4$ , ou com a metilicaconitina (30 nmol i.c.v.), antagonista nicotínico  $\alpha 7$ , impediu a ação do tipo antidepressiva do FENT, sem induzir nos animais efeito ansiolítico, alterações da motilidade e da coordenação motora nos testes do LCE, CA e RR, respectivamente. **Conclusão:** Os resultados indicam que a atividade do tipo antidepressiva do FENT é semelhante a de outras drogas clássicas na NF e na SC. No entanto, como a ação do FENT foi impedida não só com PCPA, mas também com antagonistas nicotínicos, os dados sugerem um mecanismo de ação suplementar para o FENT. **Apoio Financeiro:** FAPESP, CNPq

## 02.015

**EFEITOS CARDIOVASCULARES OBSERVADOS APÓS A MICROINJEÇÃO DE NORADRENALINA NA ÁREA SEPTAL LATERAL (ASL) DE RATOS**

Scopinho Augusto, A.; Correa, F. M. A. FMRP - USP - Farmacologia

Há evidências de que a estimulação elétrica da ASL de ratos causa respostas cardiovasculares, que podem variar em função da anestesia. A noradrenalina (NA) administrada na porção ventral da ASL de ratos anestesiados produz tanto aumento, quanto redução da PA. Não há evidências dos efeitos NA administrada na ASL de ratos não anestesiados. Nosso objetivo foi investigar os efeitos cardiovasculares da NA administrada na ASL de ratos não anestesiados e os mecanismos periféricos envolvidos. **Métodos:** Foram utilizados ratos Wistar (220-270g). Cânulas-guia foram implantadas na ASL para microinjeção de NA. Um catéter foi introduzido na artéria femoral para registro da pressão arterial. **Resultados:** A microinjeção de diferentes doses de NA (9, 15, 21, 27, 45 nmoles/0,2ml, n=5 para cada dose) na ASL de ratos normotensos (PAM= 100,4 ±2,1 mmHg, n= 25) desencadeou respostas pressoras dose-dependente. A resposta pressora à microinjeção de NA ( $ED_{50}$ ) na ASL foi potencializada pelo pentolinium (DPAM= 53,8±1,8 mmHg) quando comparada com a resposta controle (DPAM= 18,8±3,4 mmHg, t= 6,8,  $p < 0,01$ ). **Conclusão:** Os resultados sugerem que o aumento da pressão arterial desencadeado pela NA na ASL não é dependente da ativação do sistema simpático, e que há participação de mecanismos humorais na mediação dessa resposta. **Apoio Financeiro:** CNPq

## 02.016

**EFEITO DA SUBSTÂNCIA PURA, ISOLADA DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE CAULE DE *Kielmeyera coriacea*, ADMINISTRADA NO NÚCLEO DORSAL DA RAFÉ DE RATOS SUBMETIDOS A TESTES COMPORTAMENTAIS.**

Martins, J. V. C.; Otobone, F.; Moreira, L. Y.; Cortez, D. A. G.; Audi, E. A. UEM - Farmácia e Farmacologia (DFF)

**Introdução:** Resultados anteriores obtidos em nosso laboratório

mostraram perfil de droga antidepressiva para o extrato hidroalcoólico de caule de *Kielmeyera coriacea* (Kc) com envolvimento da neurotransmissão serotoninérgica (5HT) (Goulart *et al.*, nº12035, p.66 2003). **Objetivo:** Investigar o efeito da substância pura (SP) administrada no núcleo dorsal da rafe (NDR) e a influência da neurotransmissão (serotoninérgica) 5HT através da associação com pindolol em ratos submetidos ao teste do nado forçado (TNF) e teste do campo aberto (TCA). **Métodos:** Ratos Wistar machos (n=8-16) receberam microinjeção de controle (salina+tween 80 a 2%), SP ou pindolol no NDR. **Resultados:** Observamos que a SP (0,5 µl/30s) produziu aumento significativo no tempo de imobilidade (Dunnet, p<0,05) na dose de 0,3pmol no TNF e aumento no número de cruzamentos (Dunnet, p<0,05) na dose de 0,1pmol no TCA, comparados aos controles (F (3,50)=3,839), (F (3,50)=3,064). Pindolol (0,2; 0,4 e 0,8nmol, 0,25 µl/30s) não produziu efeitos por si só. A associação do pindolol (0,4nmol) com SP (0,3pmol), mostrou uma redução significativa do tempo de imobilidade (Dunnet, p<0,05,) em relação ao controle (F (3,41)=7,841), enquanto o aumento desse parâmetro por SP (0,3pmol/0,25µl) não foi reproduzido. **Conclusão:** Estes resultados mostram que SP possui ação no sistema nervoso central (SNC) e sugerem que este efeito sofre influência da neurotransmissão 5HT. **Apoio Financeiro:** CNPq/UEM.

### 02.017

#### VERIFICAÇÃO DO ENVOLVIMENTO SEROTONINÉRGICO NO EFEITO ANTIIMOBILIDADE DA FRAÇÃO DICLOROMETANO EM RATOS SUBMETIDOS AO TESTE DO NADO FORÇADO

Otobone, F.; Martins, J. V. C.; Obici, S.; Moreira, L. Y.; Cortez, D. A. G.; Audi, E. A. UEM - Farmácia e Farmacologia (DFF)

**Introdução:** Estudos realizados em nosso laboratório mostraram perfil de droga antidepressiva para a fração diclorometano (F3) obtida do extrato hidroalcoólico de caule de *Kielmeyera coriacea* (Obici, nº 07035, p. 198, 2002). **Objetivo:** Avaliar o envolvimento da serotonina (5HT), no efeito anti-imobilidade da F3. Para tanto,

utilizamos tratamento combinado da F3 (gavage) com o agonista seletivo 5HT<sub>1A</sub>, 8-OHDPAT, administrado no núcleo dorsal da rafe (NDR) de ratos submetidos ao teste do nado forçado (TNF). **Métodos:** Ratos Wistar machos (n=7-12) tratados com F3 (5,0mg/kg) ou controle (C, água+dimetilsulfóxido 5%) durante 45 dias, receberam implantação de cânulas no NDR (39° dia) e foram submetidos aos TNF e teste do campo aberto (TCA) no 45° dia. **Resultados:** Enquanto F3+veículo produziu o efeito antiimobilidade (145,4±18,95, n=7) (p<0,01), a associação ao 8-OHDPAT 0,6nmol ou 1nmol aumentou o tempo de imobilidade respectivamente (241,3±31,28, n=8) (238,5± 22,34, n=10) (p<0,05) em relação ao C (206,3 ±21,31,n=8). O 8-OHDPAT (1.0 nmol) produziu por si só aumento no tempo de imobilidade (251,4±36,59, n=12) quando comparado ao C (206,3 ±21,31,n=8) (Dunnet, p<0.01). Nenhum dos tratamentos alteraram significativamente a atividade locomotora em relação ao C. **Resultados:** Demonstram que F3 reproduziu o efeito antiimobilidade observado anteriormente mostrando envolvimento da neurotransmissão serotoninérgica. **Apoio Financeiro:** CNPq e UEM

### 02.018

#### ANÁLISE TOXICOLÓGICA DA FRAÇÃO DICLOROMETANO ADMINISTRADA AGUDAMENTE EM CAMUNDONGOS.

Otobone, F.; Martins, J. V. C.; Gonzales, D. P.; Sela, V. R.; Marques, L. C.; Cortez, D. A. G.; Audi, E. A. UEM - Farmácia e Farmacologia (DFF)

**Introdução:** As plantas são utilizadas como fonte de medicamentos no tratamento das enfermidades que acometem o homem desde a antiguidade. Segundo a OMS cerca 65 a 80% da população mundial, ainda recorre às plantas medicinais como única fonte de medicamento para o alívio de doenças. É nesse contexto social que as plantas medicinais e fitoterápicos adquirem importância como agentes terapêuticos e por isso devem ser analisados prioritariamente. **Objetivo:** Avaliar a toxicidade aguda da fração diclorometano (F3) obtida do extrato hidroalcoólico de caule de *Kielmeyera coriacea* adotando-se o protocolo da Portaria SVS nº116.

**Métodos:** Camundongos Swiss (n=6-12) tratados com F3 (50,0, 200,0 e 400,0 mg/kg, gavage ou i.p.) ou controle (água + DMSO, gavage ou i.p.) foram observados durante 14 dias. Nesse período, foi avaliada a evolução ponderal e a mortalidade e ao final dos 14 dias os animais foram sacrificados sendo seus órgãos vitais retirados para a pesagem e avaliação macroscópica. **Resultados:** Não foi observada qualquer alteração na evolução ponderal com as diferentes doses de F3. Pela via i.p. observamos aumento (2,61±0,326, n =11), (Dunnet, p<0,01) no peso do fígado (200,0mg/kg) e pulmões (400mg/kg), (0,48±0,967 n =11), (p<0,05) quando comparado ao C. O peso dos órgãos dos animais tratados por gavage não foi alterado significativamente quando comparado ao C. **Conclusão:** Estes resultados mostram que a F3 apresenta um possível efeito tóxico quando administrado agudamente em camundongos. **Apoio Financeiro:** CNPq/UEM

### 02.019

#### PROTECTIVE EFFECTS OF ATENOLOL ON THE AUTONOMIC DYSFUNCTION IN RAT SMALL BOWEL SUBMITTED TO COLD ISCHEMIC PRESERVATION

Caricati-Neto, A. C.<sup>1</sup>; Fraga, M. M.<sup>1</sup>; Taha, M. O.<sup>2</sup>; Jurkiewicz, A.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>UNIFESP/EPM - Farmacologia; <sup>2</sup>UNIFESP/EPM Cirurgia

**Introduction:** We previously showed that autonomic transmission is reduced in rat small bowel submitted to cold ischemic preservation (CIP) prior to transplantation, due probably to ischemic-induced neuronal damage (Taha et al., Transpl. Proc. 34, 22, 1021, 2002). In this work, we investigated if the preservation for long time with atenolol, a probable antioxidant agent, could attenuate the autonomic dysfunction of the rat small bowel submitted to CIP. **Methods:** Jejune segments (2cm) isolated of Wistar rats (12-16 weeks-old) were preserved at 4°C in Ringer-Lactate solution without (-) or with (+) 10<sup>-6</sup> mol/mL atenolol (AT). After preservation for 12 hours, AT+ and AT- preparations were mounted in parallel in isolated organ bath contained 10 mL Tyrode solution at 37°C for the study of neurogenic contractions induced by electrical field stimulation (EFS; 10-30 Hz, 1ms duration, 60V) or by activation



of nicotinic (Nicotine, NIC) and muscarinic (Carbachol, CCh) cholinergic agonists. On these contractions, the effects of nicotine (Hexamethonium, HEX) and muscarinic (Atropine, ATR) antagonists were studied. **Results:** Contractions induced by EFS (30Hz) were 46% higher in AT+ (0.38±0.02g) than in AT- (0.26±0.01g). Contractions by NIC (10<sup>3</sup> M) were 84% higher in H+ (0.46±0.03g) than in H- (0.25±0.02g) and by CCh (10<sup>3</sup> M) were 34% bigger in H+ (0.87±0.06g) than in H- (0.65±0.08g). The incubation of isolated tissues with HEX or ATR (10<sup>6</sup>M) for 30min similarly antagonized contractions by EFS, NIC and CCh, in AT+ and AT-. **Discussion:** These results suggest that addition of atenolol in the preservation solution attenuated functional lesions of cholinergic nerves of the rat small bowel submitted to CIP for long time. **Supported by:** FAPESP, CNPq

## 02.020

### ATTENUATION BY HEPARIN OF THE AUTONOMIC DYSFUNCTION IN RAT SMALL BOWEL SUBMITTED TO COLD ISCHEMIC PRESERVATION

Caricati-Neto, A. C.<sup>1</sup>; Fraga, M. M.<sup>1</sup>; Taha, M. O.<sup>2</sup>; Jurkiewicz, A.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>UNIFESP/EPM - Farmacologia; <sup>2</sup>UNIFESP/EPM Cirurgia

**Introduction:** We previously showed that autonomic transmission is reduced in rat small bowel submitted to cold ischemic preservation (CIP) prior to transplantation, due probably to ischemic-induced neuronal damage (Taha et al., *Transpl. Proc.* 34, 22, 1021, 2002). In this work, we investigated if the preservation for long time with heparin, a probable antioxidant agent, could attenuate the autonomic dysfunction of the rat small bowel submitted to CIP. **Methods:** Jejunum segments (2cm) isolated of Wistar rats (12-16 weeks-old) were preserved at 4°C in Ringer-Lactate solution without (-) or with (+) 100 UI/mL heparin (H). After preservation for 12 hours, H+ and H- preparations were mounted in parallel in isolated organ bath contained 10 mL Tyrode solution at 37°C for the study of neurogenic contractions induced by electrical field stimulation (EFS; 10-30 Hz, 1ms duration, 60V) or by activation of nicotinic (Nicotine, NIC) and muscarinic (Carbachol, CCh)

cholinergic agonists. On these contractions, the effects of nicotine (Hexamethonium, HEX) and muscarinic (Atropine, ATR) antagonists were studied. **Results:** Contractions induced by EFS (30Hz) were 4 times higher in H+ (1.02±0.12g) than in H- (0.26±0.07g). Contractions by NIC (10<sup>3</sup> M) were also 4 times higher in H+ (1.07±0.10g) than in H- (0.25±0.09g), while contractions by CCh (10<sup>3</sup> M) were 2 times higher in H+ (1.21±0.13g) than in H- (0.65±0.10g). The pre-incubation of isolated tissues with HEX or ATR (10<sup>6</sup>M) for 30min similarly antagonized contractions by EFS, NIC and CCh in H+ and H-. **Discussion:** These results suggest that addition of heparin in preservation solution attenuated functional lesions of cholinergic nerves of the rat small bowel submitted to CIP for long time. **Supported by:** FAPESP, CNPq

## 02.021

### EFEITO DO ALCALÓIDE UMBELATINA SOBRE A MEMÓRIA DE LONGA DURAÇÃO E O SISTEMA COLINÉRGICO

Both, F. L.<sup>1</sup>; Meneghini, L.<sup>2</sup>; Kerber, V. A.<sup>3</sup>; Henriques, A. T.<sup>4</sup>; Elisabetsky, E.<sup>2</sup> - <sup>1</sup>UFRGS - Farmácia; <sup>2</sup>UFRGS - Farmacologia; <sup>3</sup>UFPR - Farmacognosia; <sup>4</sup>UFRGS Farmacognosia

**Introdução:** Umbelatina (UMB) é o principal alcalóide de *Psychotria umbellata*, e apresenta atividade analgésica e ansiolítica. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de UMB sobre a memória e o tremor induzido por oxotremorina. **Método:** Cds receberam (ip) salina (SAL), PPG 10%, diazepam (DZP) (0,85 mg/kg), MK-801 (0,15 mg/kg) e UMB (3-100 mg/kg), 30 min antes do (aquisição) ou logo após o treino (consolidação), ou 30 min antes do teste (evocação) em tarefa de esquiava inibitória (24h treino-teste). Para o tremor, cds receberam SAL, escopolamina 3 mg/kg e UMB (3-100 mg/kg) 30 min antes de oxotremorina (0,5 mg/kg); o tremor foi observado em intervalos de 5min por 30min em uma escala de 0-2. **Resultado:** UMB não interferiu na evocação, mas prejudicou (P<0.01) a aquisição [SAL 33,2s (13-114,6), DZP 4,75s (3-16,32), MK 6s (2,42-9,95), UMB 7,5mg/kg 13,4s (5,12-25,72) e UMB 100mg/kg 5s (2,3-17,57)] e a consolidação [SAL 50,3seg (18,20-156,3), DZP 5,4seg (3,0-9,10),

MK 6,2seg (3,1-12,70), UMB 7,5mg/kg 13,1seg (3,025-90,325), e 100 mg/kg 9,50seg (3,225-100,175)]. Quanto ao tremor, UMB reverteu (P<0.01) os tremores por oxotremorina [SAL 10seg (9-11,5), escopolamina 0seg (0-0), UMB 10mg/kg 6,5seg (2-9,25) e 30mg/kg 5,5seg (3,75-7)]. **Conclusão:** A ação amnésica de UMB é compatível com as propriedades analgésicas e ansiolíticas já identificadas, relacionadas respectivamente a receptores NMDA e 5-HT, e com o sistema colinérgico visto que umbelatina reverteu o tremor induzido por um agonista colinérgico. **Apoio Financeiro:** CNPq.

## 02.022

### EFEITOS DO EXTRATO ETANÓLICO DE *PTYCHOPETALUM OLACOIDES* BENTHAN (MARAPUAMA) NO TREMOR INDUZIDO POR OXOTREMORINA EM CAMUNDONGOS

Piato, A. L. S.<sup>1</sup>; da Silva, A. L. <sup>2</sup>; Dannenhauer, E.<sup>3</sup>; Nunes, D. S.<sup>4</sup>; Elisabetsky, E.<sup>3</sup> - <sup>1</sup>UFRGS - Ciências Farmacêuticas; <sup>2</sup>UFRGS - Bioquímica; <sup>3</sup>UFRGS - Farmacologia; <sup>4</sup>UEPG Química

**Introdução:** Marapuama é usada tradicionalmente por idosos na Amazônia para uma variedade de condições relacionadas ao sistema nervoso central. Demonstramos que extrato etanólico de *Ptychopetalum olacoides* (EEPO) facilita a evocação da memória em animais adultos e senis, e que possui atividade anticolinérgica e antioxidante. Como o déficit da transmissão colinérgica está associado com quadros de demência e déficit cognitivo, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito de EEPO no tremor induzido por oxotremorina (OXO). **Método:** Usou-se a metodologia de Shuto *et al.* (1998). Os animais receberam salina-salina, salina-oxo (0,35mg/kg), DMSO 20%-oxo, EEPO (100mg/kg)-oxo ou escopolamina (3mg/kg)-oxo. O tremor foi observado em intervalos de 5min por 30min, iniciando-se imediatamente após a injeção de OXO. A intensidade do tremor foi analisada em uma escala de 0 a 2 (0, sem tremor; 1, tremor moderado; 2, tremor intenso). **Resultados:** EEPO potencializou significativamente (P<0,01, Kruskal-Wallis/Mann-Whitney) o tremor (mediana e intervalo interquartil) induzido por oxotremorina [Salina 0(0-0); salina-oxo 4(2,75-6);

DMSO-oxo 5,5(3,75-7); EEPO-oxo 10(10-11) e escopolamina-oxo 0(0-0)].

**Conclusão:** EEPO potencializa o tremor induzido por oxotremorina. Esse resultado é coerente com a atividade anticolinesterásica e a facilitação da memória previamente verificadas e sugere potencial terapêutico em disfunções colinérgicas e déficits de memória. **Apoio Financeiro:** CNPq

## 02.023

### EFEITO DE ANTAGONISTAS DOPAMINÉRGICOS NA FACILITAÇÃO DA EVOCÇÃO DA MEMÓRIA INDUZIDA PELO EXTRATO ETANÓLICO DE *Ptychopetalum olacoides* (MARAPUAMA)

da Silva, A. L.<sup>1</sup>; Ferreira, J. G.<sup>2</sup>; Dannenhauer, E.<sup>2</sup>; Nunes, D. S.<sup>3</sup>; Elisabetsky, E.<sup>2</sup> - <sup>1</sup>UFRGS - Bioquímica; <sup>2</sup>UFRGS - Farmacologia; <sup>3</sup>UEPG Química

**Introdução:** Preparações com Marapuama são usadas tradicional e principalmente por idosos na Amazônia. Demonstramos anteriormente que o extrato etanólico de raízes de *Ptychopetalum olacoides* (EEPO) facilita a evocção da memória em camundongos adultos e idosos. Verificamos ainda inibição da AchE e efeitos antioxidantes, em ensaios *in vitro* e *ex-vivo*. Neste estudo analisamos a participação do sistema dopaminérgico na facilitação da evocção de memória de longa duração (MLD) produzida pelo EEPO. **Método:** Usou-se o paradigma da esQUIVA inibitória com intervalo entre o treino e teste de 24 h. No teste os camundongos receberam o antagonista dopaminérgico D<sub>1</sub>, SCH 23390 (0,10 mg/kg, ip) 30 minutos e o antagonista D<sub>2</sub>, Sulpirida (10 mg/kg, ip) 60 minutos antes de EEPO (100mg/kg, ip), salina ou DMSO 20%. **Resultado:** O grupo que recebeu SCH 233390+EEPO teve menor latência de descida da plataforma 33,1 [14,12-69,12] quando comparado ao grupo que recebeu SALINA+EEPO 58,2 [35,25-224,45], P=0,025, indicando menor evocção. Não houve diferença de latências do dia de teste entre os grupos SULPIRIDA+EEPO 50,25 [20,4-300] ou SALINA+EEPO 58,2 [35,25-224,45], P=0,939. **Discussão:** Os resultados sugerem que o efeito facilitador de EEPO sobre a memória pode ser

mediado por receptores tipo D<sub>1</sub>. Este resultado está de acordo com estudos anteriores que sugeriram interação do extrato com este sistema, e coerente com o conhecido papel de receptores dopaminérgicos D<sub>1</sub> na modulação da evocção da MLD. **Apoio Financeiro:** CNPq

## 02.024

### EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE L-GLUTAMATO NO vCPFM SOBRE A PRESSÃO ARTERIAL E FREQUÊNCIA CARDÍACA DE RATOS NÃO ANESTESIADOS

Resstel, L. B. M.; Correa, F. M. A. FMRP-USP

**Introdução:** Em ratos anestesiados a administração de L-glutamato (Glu) na porção ventral do córtex pré-frontal medial (vCPFM) promove respostas depressoras e bradicárdicas. Fatores como anestesia e o sítio de estimulação no CPFM, podem influenciar nas respostas cardiovasculares. Nosso objetivo foi investigar se ocorre resposta cardiovascular mediante a administração de Glu no vCPFM.

**Métodos:** Ratos Wistar, 250 g. Cânulas guia foram implantadas no vCPFM, para administração do Glu. A pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC) foram registradas por um sistema de aquisição de dados conectado ao rato através da artéria femoral. **Resultados e Discussão:** O Glu nas diferentes doses no vCPFM aumentou a PA e FC de forma dose-dependente, e similar nas três subregiões que o compõem (doses de 9, 27, 81, 150 e 300 nmoles/0,2 µl, p>0,05, ANOVA). O Glu (81 nmoles/0,2 µl) no vCPFM de ratos normotensos (PAM= 98,7±4,3 mmHg, n= 20) causou aumento na PAM (Δ= 18,4±1,2 mmHg) e na FC (Δ= 28,2±4,2 bpm), significativamente diferente da administração salina (ΔPAM= 2,2±1,8 mmHg e ΔFC= 3,2±3,2 bpm, n=9, p<0,01, test t, para ambas). A latência do efeito do Glu foi de 50 ± 15 s, com duração de 186 ± 33 s, havendo efeito do tratamento (PAM e FC, p<0,01), do tempo (PAM e FC, p<0,01), e interação entre esses fatores (PAM e FC, p<0,01) em relação à salina (ANOVA). Não foram observadas alterações na PA e FC após a administração de Glu em áreas adjacentes ao vCPFM. O Glu nas subregiões do vCPFM promove aumento de PA e FC similares, sem que ocorra a participação de regiões adjacentes, em ratos não anestesiados.

**Apoio Financeiro:** CAPES e FAPESP (03/00545-5).

## 02.025

### EFEITOS DO TRATAMENTO CRÔNICO COM ETANOL SOBRE A PRESSÃO ARTERIAL E FREQUÊNCIA CARDÍACA DE RATOS NORMOTENSOS

Resstel, L. B. M.<sup>1</sup>; Tirapelli, C. R.<sup>1</sup>; Oliveira, A. M. de<sup>2</sup>; Correa, F. M. A.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>FMRP-USP; <sup>2</sup>FCFRP-USP

**Introdução:** Trabalhos da literatura mostram que o etanol altera fatores cardiovasculares em humanos e animais. Dentre essas alterações podemos citar o desenvolvimento de hipertensão e redução da atividade do barorreflexo. Em estudos com vasos isolados, notou-se que o consumo do etanol por ratos, por diferentes períodos de tempo, não causa diferenças na reatividade desses vasos. Assim nosso objetivo foi avaliar se o consumo de etanol por diferentes períodos promoveria alterações cardiovasculares em ratos normotensos. **Métodos:** Foram utilizados ratos Wistar (peso inicial de 300g) que consumiram uma solução de etanol a 20% por 2, 6 ou 10 semanas. Para cada grupo existia um grupo controle que consumia uma solução isocalórica ou apenas água. A pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) foram registradas por um sistema de aquisição de dados conectado ao animal através de um cateter implantado na artéria femoral direita. **Resultados e Discussão:** Os animais tratados com etanol desenvolveram aumento significativo PAM em todos tempos de tratamento de forma similar (2= 118,6±3,2, 6= 119±4,5 e 10= 116±3,2 mmHg, F= 0,9, p>0,05, ANOVA) quando comparados aos outros dois grupos (2= 99±,7 e 103±4,1 mmHg, F= 15,4, p<0,01; 6= 98±3,4 e 101±3,1 mmHg, F= 38,6, p<0,01; 10= 101±2,5 e 103±3,7 mmHg, F= 34,6, p<0,01, controle e isocalórico respectivamente para cada tempo, ANOVA pós-teste de Bonferroni). Não foram encontradas alterações na FC dos animais. Podemos observar com esses resultados que o consumo de etanol promoveu um aumento da PAM em relação aos outros dois grupos e que o tempo de consumo do etanol não influenciou esse aumento da PAM. **Apoio Financeiro:** FAPESP (003/0545-5) (01/00878-9).

02.026

**EFFECT OF MK-801 ON THE MOTILITY OF *Schistosoma mansoni*: EVIDENCE FOR INTERACTION WITH NICOTINIC RECEPTORS**

Pessôa, R. F.; Noel, F. G.; Castro, N. - UFRJ - Farmacologia Básica e Clínica;

**Introduction:** Recently, we detected the presence of low-affinity binding sites for [3H]-kainic acid in *S.mansoni* suggesting the presence of glutamatergic receptors in this parasite. We also detected binding sites for [3H]-MK-801, a classical marker of NMDA receptors, but the pharmacological modulation of this binding did not match with a classical NMDA receptor. As MK-801 blocks nicotinic effects in central nervous system and binds with low affinity to the muscular nicotinic receptor in mammals, we investigated a putative effect of MK-801 on nicotinic receptors in *S. mansoni*. **Methods:** Adult male worms were placed in a glass dish with two wells containing 250 µl of a buffered saline solution. In each well, three worms were preincubated for 10 min at 37°C. After that, the bath medium was exchanged with saline buffer containing the drugs. The motility of *S. mansoni* was quantified based on the localization of the worm extremities in a cartesian plan.

**Results:** Worms in saline solution exhibited a variety of body movements. In the presence of 10 mM nicotine or 50 mM choline (n=12, p<0, 05), we observed an immediate flaccid paralysis that was inhibited by 1 mM MK-801. **Discussion:** We suggest that [3H]-MK-801 is labeling nicotinic receptors containing an alpha7-like subunit, and not NMDA receptors, in *S. mansoni*. This could explain the particular pharmacological modulation observed in binding assays and the inhibition of nicotine effect on worm motility. This hypothesis is supported by the recent identification in this worm of two subunits with homology to the mammalian alpha 7 subunit.

**Supported by:** CNPq

02.027

**AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DOS EFEITOS CENTRAIS DO ÁCIDO URSÓLICO**Souza, M. M. de<sup>1</sup>; Malheiros, A.<sup>1</sup>; Oliveira-Jr, J. J.<sup>1</sup>; Wilain-Filho, A.<sup>1</sup>; Sborgs, D.<sup>1</sup>; Stefanello Bastos, E.<sup>1</sup>; Maccagnan, P. B. C.<sup>1</sup>; Quiareli, L.<sup>2</sup>; Yunes, R.<sup>2</sup> - <sup>1</sup>UNIVALI - NIQFAR/FAQFAR; <sup>2</sup>UFSC Química

**Introdução:** O ácido ursólico é um triterpeno constituinte de muitas plantas que exibe várias propriedades farmacológicas dentre as quais a inibição da acetilcolinesterase, com possíveis efeitos sobre o Mal de Alzheimer. Desta forma o presente estudo se propôs a investigar os efeitos centrais do composto através de vários ensaios farmacológicos. **Métodos:** foram utilizados camundongos machos (25 a 30 g, N= 8-10) de 3 meses de idade. Os animais foram pré-tratados com ácido ursólico AU (10-60 mg/Kg, i.p.) num volume de 0.1 ml/ 10g peso e, 60 minutos após submetidos aos seguintes modelos: teste do nado forçado (NF), teste do Open Field (OF) teste de convulsão induzida por PTZ (TPTZ) e estriquina (STRIC), teste de indução do sono por pentobarbital (ISP) e teste do labirinto em cruz elevado (LCE). Grupos controles receberam o veículo (DMSO 2.0% e salina) no qual foi diluído o AU. **Resultados:** No teste do NF o composto produziu diminuição do tempo de imobilidade dos animais (VEIC= 87,22±6,52/ AU= 30,5±8,02). No OF, não foram encontradas diferenças significativas nos animais tratados com AU e controle nos parâmetros N de rearings e cruzamentos respectivamente. Igual perfil farmacológico foi observado no LCE. No teste de ISP, o composto promoveu não só a diminuição da latência para o sono (VEIC= 384,5±31,6/ AU= 327,3±12,7) como também aumentou o tempo total de sono (VEIC= 314,36±23,0/ AU= 397,11±27,18). **Conclusões:** Os resultados apresentados nos permitem sugerir que o AU possui como propriedades centrais: efeito hipnótico, anticonvulsivante e antidepressivo quando avaliado através de testes farmacológicos em animais. **Apoio Financeiro:** ProPec/PIBIC - UNIVALI

02.028

**CLONING AND NEURONAL EXPRESSION OF THE ADAPTER PROTEIN CED-6**Martins-Silva, C.<sup>1</sup>; Ferreira, L. T.<sup>1</sup>; Chaves-Orlotequi, C.<sup>2</sup>; Cyr, M.<sup>3</sup>; Caron, M. G.<sup>3</sup>; Prado, M. A. M.<sup>1</sup>; Prado, V. F.<sup>2</sup> - <sup>1</sup>UFMG - Farmacologia; <sup>2</sup>UFMG - Bioquímica-Imunologia; <sup>3</sup>Duke Univ. - Cell Biology

**Introduction:** We screened a rat brain cDNA library using the yeast two hybrid methodology to search for possible partners involved with trafficking of the vesicular acetylcholine transporter. We identified CED-6 as a putative partner of the C-terminal region of this transporter. CED-6 has a phosphotyrosine binding domain (PTB) and has previously been suggested to function as an adapter protein in engulfment of apoptotic cells in *C. elegans*. The amino acid sequence of rat CED-6 is 93% and 89% identical to mouse and human CED-6 respectively. **Methods and Results:** We generated antibodies against CED-6 and found by immunoblotting analysis that the anti-serum recognized CED-6 specifically. Immunoreactivity for CED-6 was observed in different tissues. In the brain, the anti-CED-6 serum recognized a doublet of 33 and 34 kDa in cortex, hippocampus and cerebellum. Subcellular fractionation demonstrated that CED-6 immunoreactivity did not concentrate with a glial marker or with a synaptic vesicle marker. Immunofluorescence experiments indicated that CED-6 was present in distinct groups of neurons and colocalized with a neuronal marker, but not with a glial marker. We analyzed immunoreactivity for CED-6 during brain development and found that the protein is expressed in all ages and there is no correlation with the critical period of neuronal death.

**Conclusion:** The presence of CED-6 in neurons suggests that this protein could play distinct roles in protein trafficking and sorting. **Supported by:** CAPES, CNPq

02.029

**EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DE ÁLCOOL ETÍLICO SOBRE A ATIVIDADE DA ENZIMA ACETILCOLINESTERASE EM CÉREBROS DE RATOS**

Dias, G. R. M.; Spanevello, R.; Weis, S. N.; Melazzo, C.; Obregon, A. D. C.; Schetinger, M. R. C.; Morsch, V. M. - UFSM Química

**Introdução:** A acetilcolinesterase (EC 3.1.1.7; AchE) exerce ação catalítica ao degradar a acetilcolina, importante neurotransmissor e neuromodulador, além de atuar no desenvolvimento do sistema nervoso central<sup>1</sup>. Existe em diferentes formas moleculares que podem ser assimétricas ou globulares com variada distribuição nos neurônios<sup>2</sup>. Os efeitos centrais do álcool etílico sobre o sistema colinérgico podem ser investigados através da determinação da atividade da AchE, responsável pelos níveis de acetilcolina na fenda sináptica. Assim, buscou-se avaliar os efeitos agudos da administração de álcool etílico sobre a atividade da AchE em diferentes regiões cerebrais de ratos. **Métodos:** Ratos machos adultos Wistar foram tratados com 2,0; 4,0; 6,0 e 8,0 gramas de álcool etílico/kg de peso corporal, através de sonda orogástrica. Após 1 hora e 30 minutos realizou-se o sacrifício e o tecido cerebral foi dissecado nas seguintes regiões: córtex, hipotálamo, hipocampo, cerebelo e estriado, utilizadas para a realização do ensaio da AchE, através do Método de Ellman<sup>3</sup>. **Resultados:** Tabela 1: Atividades enzimáticas expressas em  $\mu$  mol AcSch/ hora/mg de proteína

Grupo	Córtex	Hipotálamo	Hipocampo	Cerebelo	Estriado
Controle	3,749 ± 0,3492	4,430 ± 0,1187	6,014 ± 1,289	1,938 ± 0,2235	16,673 ± 0,9558
Dose de 2,0 g/kg	4,324 ± 0,4107	4,069 ± 0,5237	5,899 ± 1,267	1,761 ± 0,1367	16,142 ± 2,666
Dose de 4,0 g/kg	3,978 ± 0,4656	4,092 ± 0,2681	5,849 ± 0,7324	1,967 ± 0,1837	15,622 ± 1,433
Dose de 6,0 g/kg	2,494 ± 0,2637*	2,242 ± 0,1803*	1,320 ± 0,2335*	1,394 ± 0,0571*	6,725 ± 0,7834*
Dose de 8,0 g/kg	2,610 ± 0,3080*	2,475 ± 0,2948*	1,783 ± 0,2455*	1,287 ± 0,1498*	6,987 ± 0,4289*

\*p < 0,0001, ANOVA, Teste de Tukey-Kramer, média ± desvio-padrão, n=5-6

**Discussão:** O álcool etílico nas doses de 6,0 g/kg e 8,0 g/kg inibiu a atividade da AchE em todas as regiões cerebrais estudadas, provocando o acúmulo de acetilcolina na fenda sináptica.

**Referências Bibliográficas:** 1- Day & Greenfield. *Neurosci*, v. 111, p.649-656, 2002. 2-Krejci et al. *Neuron*, v. 33, p. 275-285, 2002. 3- Ellman et al. *Biochem Pharmacol*, v. 7, p.88-95, 1961. **Apoio Financeiro:** CNPq, FIPE-UFSM

02.030

**EFEITO DO TRATAMENTO CRÔNICO COM ÁLCOOL ETÍLICO SOBRE A ATIVIDADE DA ENZIMA ACETILCOLINESTERASE EM CÉREBROS DE RATOS**

Dias, G. R. M.; Spanevello, R.; Weis, S. N.; Melazzo, C.; Obregon, A. D. C.; Schetinger, M. R. C.; Morsch, V. M. - UFSM Química

**Introdução:** A neurotransmissão colinérgica envolve a liberação de acetilcolina e sua ligação a receptores colinérgicos muscarínicos e/ou nicotínicos, causando a despolarização e propagação do potencial de ação. A hidrólise da acetilcolina ocorre pela ação da enzima acetilcolinesterase (EC 3.1.1.7; AchE) que, conseqüentemente controla os níveis de acetilcolina na fenda sináptica. Logo, a avaliação da atividade da AchE pode elucidar os efeitos causados pelo tratamento crônico com álcool etílico no sistema colinérgico de diferentes áreas cerebrais de ratos. **Métodos:** Ratos machos adultos Wistar foram tratados durante 31 semanas com solução alcóolica 20% ad libitum, realizando-se avaliação diária do consumo sólido e líquido, além de avaliação semanal do peso dos animais. Após 48 horas de abstinência, os animais foram sacrificados por punção cardíaca e o tecido cerebral foi dissecado nas seguintes regiões: córtex, hipotálamo, hipocampo, cerebelo e estriado, utilizadas para a realização do ensaio da AchE, através do Método de Ellman<sup>1</sup>. **Resultados:** Tabela 1: Atividades enzimáticas expressas em  $\mu$  mol AcSch/ hora/mg de proteína

Grupo	Córtex	Hipotálamo	Hipocampo	Cerebelo	Estriado
Controle	1,3865 ± 0,4089	± 2,0218 0,4178	± 1,4258 0,2464	± 1,1710 ± 0,1197	7,3525 ± 0,5904
Solução Alcólica 20%	1,3662 ± 0,2462	± 2,4586 0,4801*	± 2,2053 0,3423*	± 0,9489 0,9978*	± 9,9048 ± 1,0592*

\*p < 0,05; ANOVA, Teste de Duncan, média ± desvio-padrão, n= 10.

**Conclusão:** O tratamento crônico com álcool etílico e sua interrupção por 48 horas demonstraram ativar a AchE no hipotálamo, hipocampo, cerebelo e estriado, enquanto que não houve alteração no córtex. Postula-se que a ativação da AchE em tratamentos crônicos ocorra para compensar os efeitos inibitórios iniciais do álcool etílico<sup>2,3</sup>. **Referências bibliográficas:** 1. Ellman et al. *Biochem Pharmacol* v.7, p.88-95, 1961. 2. Guerri & Grisolia. *Pharmacol Biochem Behavior* v.18, p.45-50, 1983. 3. Uzbay et al. *Alcohol*

*Alcoholism* v.38, p.316-320, 2003. **Apoio Financeiro:** CNPq, FIPE-UFSM

02.031

**INJURED RAT SPINAL CORD CANAL NARROWING MAY BENEFIT FROM NITRIC OXIDE INHIBITION**

Nascimento, L; Souza, AS; Del Bel, EA FORP-USP

The aim of this study was to examine if Nitric Oxide Synthase (NOS) inhibition affects the degree of neurologic recovery after progressive spinal cord canal narrowing. **Methods:** Male Wistar rats (250-300g) were divided into three experimental groups: control (C, n=20), spacer size needed to produce a precise degree of narrowing of 35% (n=22) and 50% (n=22) of the spinal canal diameter (T9 level). Subsequently, each group was divided in two groups, each one receiving saline or NOS inhibitor L-NOARG (50mg/kg), trough gavage, -1-7 days after injury. Neurologic recovery was monitored by Basso, Beattie, Bresnahan (BBB) Locomotor Rating Scale, Inclined Plane motor scores, and Open Field test (distance [m] and mean velocity [m/s]), at day -1, 1 and 7. **Results:** Spacer placement resulted in neurologic impairment, in all tests and times analyzed after injury (Day 1, BBB: C=21±0; 35%=1±2; 50%=0±0; distance: C=14±3; 35%=8±4; 50%=9±3; mean velocity: C=5±1; 35%=3±1; 50%=3±1; Day 7, BBB: C=21±0; 35%=7±3; 50%=4±3; distance: C=16±3; 35%=11±3; 50%=13±2; mean velocity: C=5±1; 35%=4±1; 50%=4±1; p<0.05). There was no statistical difference between 35% and 50% groups (Duncan test, p>0.05). L-NOARG treatment significantly improved motor scores after 7 days surgery for group 35% narrowing (Day 7, BBB=10±3; distance=16±5; mean velocity=5±2; p<0.05). **Conclusion:** i. prognosis of neurologic recovery is adversely affected by a higher percentage of canal narrowing; ii. it appears that NO synthesis inhibition may benefit medium gravity injured spinal cord. **Financial Support:** FAPESP, CNPq.

## 02.032

**UPTAKE BLOCKADE PREVENTS THE INCREASING EFFECT OF  $K_{ATP}$  CHANNEL ANTAGONISTS ON ELECTRICALLY EVOKED  $[^3H]$ -5-HT RELEASE IN RAT NEOCORTICAL SLICES**

Mantovani, M.; Bubl, B.; Feuerstein, T. J. University Hospital of Freiburg - Clinical Neuropharmacology

**Introduction:** Why does acute uptake blockade of monoamines by antidepressants not explain their delayed clinical effects? To explore if prolonged uptake-blockade can lead to changes in the function of  $K_{ATP}$ -channels, we investigated the effects of  $K_{ATP}$ -channels blockers on electrically evoked  $[^3H]$ -5-HT release after short- and long-term exposure to 5-HT uptake blocker. **Methods:** Neocortical slices from rats and mice were stimulated electrically 2 times after short- (45 min) or long-term (210 min) superfusion. **Results:** The  $K_{ATP}$  channel blocker glibenclamide (glib) enhanced the electrically-evoked  $[^3H]$ -5-HT release in rats (to 178% [114%, 243%], n=9) and in mice (to 141% [115%, 168%], n=13). Both short- and long-term inhibition of 5-HT reuptake prevented the facilitatory effect of  $K_{ATP}$  channel blockers in rats (reduction to 124% [109%, 139%], n=6 and to 115% [103%, 126%], n=12, respectively) and in mice (reduction to 108% [94%, 123%], n=11 and 105% [93%, 116%], n=12, respectively). In addition, the  $Na^+/K^+$ -ATPase inhibitor ouabain diminished the glib-induced increase in  $[^3H]$ -5-HT release in rats (to 86% [71%, 101%], n=13) and in mice (to 89% [53%, 126%], n=7). **Discussion:** The results suggest that the blockade of 5-HT transporters increases intracellular ATP levels and closes  $K_{ATP}$  channels. Similar increases in  $[^3H]$ -5-HT release after short- and long-term uptake blockade indicate that  $K_{ATP}$  channels closure is not differentially affected by time, in contrast to  $[^3H]$ -NA release (Eckhardt et al. Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 367:168, 2003). In summary, 5-HT uptake blockade appears to close  $K_{ATP}$  channels through increased intracellular ATP. Slight depolarisation may follow which facilitates 5-HT release in addition to the enhanced 5-HT neurotransmission due to uptake inhibition. **Supported by:** DAAD and DFG (SFB505)

## 02.033

**EFEITOS DA APLICAÇÃO DE UM ESTRESSE PRÉ-NATAL (EPN) E/OU DE NALOXONE (NAL) SOBRE O BURST OXIDATIVO DE LEUCÓCITOS SANGUÍNEOS DE UMA PROLE DE CAMUNDONGOS AOS 30 DIAS DE IDADE**

Fonseca, E. S. M.; Sakai, M.; Palermo-Neto, J. FMVZ-USP

**Introdução:** Perturbações pré-natais podem alterar o desenvolvimento somático e visceral da prole. O objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos de um EPN e da aplicação de NAL sobre a atividade de leucócitos sanguíneos de uma prole de camundongos aos 30 dias de vida (PND30). **Métodos e resultados:** O tratamento consistiu na aplicação de 1 injeção de NAL (1 mg/kg) às mães, do 15º ao 19º dia de gestação (grupo NAL+EPN) 30 minutos antes do EPN. O EPN (grupo EPN) consistiu em um choque inescapável nas patas (0,2mA, 5 seg de choque intercalados por intervalos randômicos de 5 a 25 seg), no mesmo período da gestação. As mães do grupo NaCl foram tratadas com solução salina, enquanto as fêmeas do grupo branco não foram perturbadas durante a gestação. Os experimentos foram realizados na prole de machos, no 30º dia de vida. O *burst oxidativo* foi mensurado por citometria de fluxo, através do uso do DCFH-DA, composto que reage com radicais livres de oxigênio produzidos pelas células e emite uma fluorescência verde. As células foram estimuladas *in vitro* com PMA. **Resultados:** A aplicação de NAL antes do EPN reverteu a diminuição do *burst oxidativo* de neutrófilos (Bco-58,1±5,2; Sal-47,8±3,6; EPN-39,8±2,6\*; EPN+Nal-48,9±4,9; *burst espontâneo*. Bco-258,3±35,4; Sal-267,9±27,6; EPN-202,3±27,4; EPN+Nal-153,2±17,4\*; *burst após PMA*, n = 6) e monócitos sanguíneos (Bco-59,5±5,1; Sal-57,8±5,1; EPN-45,6±5,0; EPN+Nal-51,4±4,2; *burst espontâneo*; Bco-68,7±5,1; Sal-73,9±5,4, EPN-57,2±3,02\*; 60,4±3,07, *burst após PMA*, n=6) observados após a aplicação do EPN. **Conclusão:** Estes dados sugerem que o EPN escolhido foi capaz de alterar o *burst* dos leucócitos sanguíneos. Sugere-se também que o sistema opioidérgico está envolvido com as alterações imunes observadas após o EPN. **Apoio:** FAPESP 99/04228-7 e 01/11363-0

## 02.034

**NITRIC OXIDE SYNTHASE INHIBITION ELEVATE APOMORPHINE INDUCED CONTRAVERSIVE ROTATION IN 6-HYDROXYDOPAMINE-LESIONED RATS**

Padovan, F. E. N.; Tumas, V.; Gomes, M. Z.; Del Bel, E. A. FORP - MEF

Acute challenge with dopamine-replacing drugs elicits a rotational response in 6-hydroxydopamine (6-OHDA)-lesioned rat model of Parkinson disease. This rotation is contraversive to the lesion and is considered to represent an antiparkinsonian effect.

**Objective:** The aim of the present study was to assess effect of nitric oxide (NO) synthesis inhibition in rotational response of animals with 6-OHDA-induced Parkinsonism. We analyzed rotation induced by Dopamine precursor L-3,4-dihydroxyphenilalanine (L-DOPA, 100mg/kg, oral) and Dopamine receptor agonist Apomorphine (0.5mg/kg, s.c.). **Methods:** Male Wistar rats (180-200gr, n=14) received a unilateral stereotaxic injection of 6-OHDA in the right medial forebrain bundle. After 21 days animals were tested for rotational asymmetry induced by Apomorphine to assess the extent of 6-OHDA-lesion. NG-nitro-L-arginine (L-NOARG 50mg/kg, i.p.), an inhibitor of Nitric Oxide Synthase (NOS) or saline were injected 30 minutes before Apomorphine or L-DOPA rotational tests. **Results:** Rotation contraversive to the 6-OHDA-lesion were observed following a single injection of Apomorphine (157.5±33.6/45minuts) or L-DOPA (740.0± 105.4/2h). Application of L-NOARG induced an increase of Apomorphine (224.57±35.7;  $t_{(13)}=-2,23$ ;  $p=0,044$ ), and no alterations of L-DOPA (741.0±154.42;  $t_{(13)}=-0,01$ ;  $p=0,993$ ) induced contraversive rotation. **Conclusions:** It appears that NO synthesis inhibition may benefit 6-OHDA-lesioned rats. **Supported by:** FAPESP, CNPq

02.035

**AGE-RELATED CHANGES IN THE MODULATORY ACTION OF OKADAIC ACID ON CEREBELLAR  $\alpha_{2/3}$ Na,K-ATPase ACTIVITY.**

Lepsch, L. B.<sup>1</sup>; Demarchi Munhoz, C.<sup>1</sup>; Kawamoto, E. M.<sup>1</sup>; Pimentel, M. G. A.<sup>1</sup>; Roschel, M. C. M.<sup>1</sup>; Markus, R. P.<sup>2</sup>; Scavone, C.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>ICB-USP - farmacologia; <sup>2</sup>IB-USP - Fisiologia

**Introduction:** Recent data from our laboratory suggest that the modulatory effect of glutamate on the cerebellar Na,K-ATPase activity is modified by aging at the level of cyclic GMP production, and cyclic GMP-dependent protein kinase (PKG). The aim of this work was to investigate the effect of aging (4(Y), 12(A) and 24(O) months) in the modulatory action of protein phosphatase on Na,K-ATPase activity.

**Methods:** Cerebellum slices were incubated (15min at 34°C) with okadaic acid (OA) (1 mM), an inhibitor of protein phosphatase 1 and 2-A, and Na,K-ATPase was determined by assaying Pi released by ATP hydrolyzed by forming a complex with molybdate.

**Results:** The data represents the means  $\pm$ SE (n=5). ATPase activity is expressed as nmol Pi/mg protein/min. OA activates total ATPase over basal levels, in an age-related manner, without changing Mg-ATPase activity. The activity of the three Na,K-ATPase subunits were increased by inhibiting phosphates, however only the activity related to  $\alpha_{2/3}$ -Na,K-ATPase varied with age. OA potentiation of  $\alpha_{2/3}$ -Na,K-ATPase activity was inversely correlated with animal age (Y: 0,159 $\pm$ 0,004; A: 0,135 $\pm$ 0,008; O: 0,112 $\pm$ 0,005) when compared with basal levels (Y: 0,089 $\pm$ 0,0005; A: 0,079 $\pm$ 0,010; O: 0,072 $\pm$ 0,006). Thus, the percentage of increase in  $\alpha_{2/3}$ -Na,K-ATPase activity induced by OA was progressively smaller. **Discussion:** The results suggest that the effect of glutamate on the cerebellar Na,K-ATPase activity is modified by aging at the level of protein phosphatase activity. **Supported by:** FAPESP and CNPq.

02.036

**GLUTAMATE MODULATES SODIUM, POTASSIUM-ATPase THROUGH CYCLIC GMP AND CYCLIC GMP DEPENDENT PROTEIN KINASE IN RAT STRIATUM**

Lepsch, L. B.<sup>1</sup>; Demarchi Munhoz, C.<sup>1</sup>; Kawamoto, E. M.<sup>1</sup>; Marcourakis, T.<sup>2</sup>; Sá Lima, L.<sup>1</sup>; Scavone, C.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>ICB-USP - Farmacologia; <sup>2</sup>USP Neurologia

**Introduction:** An excessive excitatory action of glutamate and nitric oxide (NO) has been implicated in the striatal neurons degeneration. Evidences indicates that Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase might be involved in this process. In the present work we investigated the possibility that NO might regulate the activity of striatal Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase through cyclic GMP and PKG, and if glutamate-modulatory action on Na pump is linked to NO production. **Methods:** Male Wistar rats were decapitated. Striatum slices were pre-incubated with Kt5720, Kt5823, MK801 or L-NAME followed by incubation with saline, glutamate, SNP (Sodium Nitropusside) or 8-bromo-cyclic GMP (8-Br-cGMP). The effects of the different treatments on Na,K-ATPase was determined by assaying Pi released by ATP hydrolyzed by forming a complex with molybdate. The cyclic GMP content was determined by radioimmunoassay (RIA). **Results:** The data represents the mean  $\pm$ SE (n=6). ATPase activity is expressed as nmol Pi/mg protein/min. SNP caused an increase in the  $\alpha_{2,3}$ -Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase (cont: 34 $\pm$ 1,5; SNP: 88,6 $\pm$ 0,8) that was associated with the synthesis of cGMP and was mimicked by glutamate and 8-Br-cGMP. The stimulation of 8-Br-cGMP (109,3 $\pm$ 1,4) could be blocked by KT5823 (41,9 $\pm$ 2,1), but not by KT5720 (103,7 $\pm$ 2,1). MK-801 (83,3 $\pm$ 3,5) and L-NAME (79,9 $\pm$ 4,2) induced a partially reduction in glutamate (102,9 $\pm$ 3,8) induced activation of the enzyme. **Discussion:** Glutamate and NO can modulate cellular excitability, cell energy metabolism and transmitter reuptake, regulating several physiological functions in the nervous system. **Supported by:** FAPESP, CNPq

02.037

**MELATONIN TREATMENT IMPROVE RECUPERATION AFTER SPINAL CORD INJURY IN RATS**

Schiaveto de Souza, A.<sup>1</sup>; Defino, H. L. A.<sup>2</sup>; Nascimento, L.<sup>3</sup>; Aparecida da Silva, C.<sup>3</sup>; Del Bel, E. A.<sup>3</sup> - <sup>1</sup>FMRP-USP - Fisiologia; <sup>2</sup>FMRP-USP - Ortopedia; <sup>3</sup>FORP-USP Morfologia, Estomatologia, Fisiologia

The objectives from this study were: to produce a spinal cord injury model (SCI) of progressive canal narrowing, analyzing NOS neuronal density on Rexed layers and, determining melatonin effect. **Methods:** Male adult Wistar rats divided into *control* (C, n=21) and *experimental groups* with 35% (n=20) and 50% (n=21) spacers implanted on spinal canal at T9. Half from each group (n=10-11) received saline or melatonin treatment (2.5 mg/kg, i.p.), 5 min, 1, 2, 3, and 4 hours after injury. Recovery was monitored weekly, 1-5 weeks, by BBB Scale and inclined plane. NOS was measured 7 and 35 days after lesion. Statistical tests: Two/One way ANOVA and Duncan post-hoc. **Results:** Spacer induced progressive neurological impairment (Day 1, BBB: C=21 $\pm$ 0; 35%=2 $\pm$ 2; 50%=0.1 $\pm$ 0; Inclined Plane: C=86 $\pm$ 6; 35%=33 $\pm$ 4; 50%=29 $\pm$ 4; Day 35, BBB: C=21 $\pm$ 0; 35%=17 $\pm$ 3; 50%=11 $\pm$ 4; Inclined Plane: C=84 $\pm$ 5; 35%=71 $\pm$ 9; 50%=48 $\pm$ 8, p<0.05). Melatonin treatment improved recuperation (Day 35, BBB: C=21 $\pm$ 0; 35%=20 $\pm$ 2; 50%=12 $\pm$ 3; Inclined Plane: C=87 $\pm$ 3; 35%=83 $\pm$ 8; 50%=61 $\pm$ 10, p<0.05). NOS neuronal density decreased with inversely to spacer size (NOS/laminae I-II/35d, C=38 $\pm$ 9; 35%=17 $\pm$ 11; 50%=1 $\pm$ 2, p<0.001). **Conclusions:** BBB and Inclined Plane distinguished differences between narrowing grade; Melatonin improved animal recovery, being more evident with 35% narrowing; NOS neuron density decreased most in sensorial layers, around the lesion epicenter. Therefore, spinal cord narrowing as a model of SCI presented prognosis for neurological recovery inversely proportional to narrowing. **Supported by:** FAPESP, CNPq.

## 02.038

**EFEITO ANTICONVULSIVANTE DA FOSFOETANOLAMINA**

Almeida, M. V.<sup>1</sup>; de Paula, H. M. G.<sup>2</sup>; Costa, M.<sup>3</sup>; Galhiane, M. S.<sup>4</sup> - <sup>1</sup>UNESP - Ciências Biológicas; <sup>2</sup>UNESP - DCB/FC; <sup>3</sup>UNESP - Botucatu; <sup>4</sup>UNESP - Química/FC

**Introdução:** a Fosfoetanolamina sintética (FS), produzida pelo Depto. de Química Analítica da USP/São Carlos, vem sendo utilizada com sucesso no controle de convulsões em pacientes com Leucodistrofia. **Objetivos:** o objetivo do trabalho é testar o efeito anticonvulsivante da FS frente a convulsões geradas pela aplicação de Pentilenotetrazol (PTZ) em ratos. Ratos *Wistar* machos adultos foram separados em três grupos de 15 indivíduos cada, sendo: grupo controle tratado com solução salina (SL); grupo tratado com solução de FS, dose 22 mg/kg; e grupo tratado com Clordiazepóxido (CDZ), dose 10 mg/kg, para efeito de comparação com anticonvulsivante conhecido. Todas as soluções foram administradas cronicamente por gavagem durante 7 dias. No sétimo dia, todos os grupos receberam PTZ, via ip, na dose de 60mg/kg. **Resultados:** os grupos FS e CDZ apresentaram redução significativa na intensidade das convulsões medida pela escala de Racine (2,2±1,2; n=15 e 1,4±1,5; n=15, respectivamente) em relação ao grupo SL (4,6±0,6; n=15). O tratamento com CDZ resultou em aumento da latência (9,3min. ±8,4) e redução na incidência (73%) de convulsões em relação ao grupo SL (4,2min.±4,3, 100%), mas não houve diferença entre SL e FS. Houve redução significativa (teste de X<sup>2</sup> p<0,05) na incidência de óbitos com tratamento de FS (0%) em relação ao de SL (33%). **Conclusão:** o composto FS mostrou-se eficiente como redutor da intensidade da convulsão, mas não impediu a ocorrência de crises. Destaca-se o efeito de redução do índice de óbitos, o que justifica a necessidade de futuros estudos com o composto testado.

## 02.039

**NITRIC OXIDE INFLUENCE ON POST-LESION RECOVERY OF THE R A T S C I A T I C N E R V E COMPRESSION.**

Garcez, V. F.<sup>1</sup>; Silva, C. A.<sup>2</sup>; Ferreira, R.<sup>2</sup>; Del Bel, E. A.<sup>2</sup> - <sup>1</sup>FMRP-USP - Fisiologia; <sup>2</sup>FORP-USP Morfologia, Estomatologia e Fisiologia

**Introduction:** Previous studies showed that Nitric Oxide was involved on nervous system response to peripheral nerve lesion. The objective was to investigate the participation of nitric oxide on functional and histological response after crush lesion of the sciatic nerve in rats. **Methods:** The recovery was followed through the Sciatic Functional Index (SFI). Morphological changes were observed on Spinal Cord (SC) through the NADPH-d staining. Male *Wistar* rats (n=5-10/group) were divided in *Control*: nerve placed between surfaces of the crushing device (10min.); *Crush*: crushing load of 15Kgf (10min.). Behavior was evaluated preoperatively and 1, 5, 10, 15, 20, 25 and 30 days after procedures. Each group was divided in 3 subgroups, which received i.p. injections of: 1) Nitric Oxide Synthase (NOS) inhibitor, N<sup>w</sup>-nitro-L-arginine (LN), 4mg/Kg; 2) LN 40mg/Kg; and 3) vehicle. Injections were given for 7 days, starting on the lesion day. **Results:** NOS inhibition does not affect (ANOVA, p=0.78) animal's motor recovery (*Crush-vehicle* [-33,7±15,7; n=8]; *Crush-LN4mg/Kg* [-45,4±11,7; n=6]; *Crush-LN40mg/Kg* [-43,3±13; n=8]). Sciatic nerve lesion or manipulation followed by NOS inhibition (LN40mg/Kg) reduced (ANOVA, p=0.001) NADPH-d positive neurons density on SC Dorsal Horn after 30 days (80,9±9,5; n=11) compared to the first day (100,7±7,2; n=11). Similar reduction (ANOVA, p=0.017; Duncan, p<0.05) were found on SC Ventral Horn along the recovery time, both with LN4mg/Kg (day 1 [38,1±2; n=11]; day 30 [32,7±1,5; n=11]) and with LN40mg/Kg (day 1 [36,5±1,9; n=11]; day 30 [25,5±3; n=11]). **Discussion:** These results suggest participation of the nitric oxide system in the processes post-lesion or manipulation of sciatic nerve in spinal neurons. **Supported by:** CNPq and FAPESP

## 02.040

**ESTABELECIMENTO DO PADRÃO DE MEDIDA ESTEREOTÁXICA ÂNTERO-POSTERIOR PARA INTRODUÇÃO CRÔNICA DE CÂNULAS NO NÚCLEO DORSAL DA RAFE**

Moreira, L. Y.; Martins, J. V. C.; Otobone, F.; Audi, E. A. UEM DFF

A cirurgia estereotáxica possibilita alcançar regiões encefálicas específicas através de parâmetros pré-estabelecidos (PAXINOS e WATSON, 1997) com menor lesão possível de estruturas adjacentes. O objetivo deste estudo foi estabelecer padrões de medidas estereotáxicas ântero-posteriores (AP) para implantação crônica de cânula-guia (0,6 x 15 mm) no Núcleo Dorsal da Rafe (NDR) e que sejam compatíveis com ratos *Wistar* machos de diferentes pesos. Foram realizadas cirurgias em 202 ratos pesando entre 240-320g (grupo leve, GL) e entre 320-400g (grupo pesado, GP). No GL, as coordenadas AP analisadas foram 1,7; 1,8 e 1,9 mm e no GP foram 1,8 e 1,9 mm. A identificação do local atingido pela agulha foi feita com a análise histológica de cortes coronais (50 µm) de cérebros corados com vermelho neutro. No GL, a medida 1,7 mm resultou no posicionamento de 12,5% em planos coronais mais cefálicos do NDR (plano 49). Em 37,5% atingiram a porção intermediária e mais caudal do NDR (plano 51) e em 50% atingiram o plano 50. Ao percorrer 1,8 mm, a frequência foi maior no plano 49 (38,82%), seguido do 50 (31,77%), do 51 (16,47%), do 48 (9,41%) e do 52 (3,53%). Na medida 1,9 mm, as frequências foram: 55,55% (50); 38,9% (49) e 5,55% (51). Os resultados no GP foram: 1,8 mm = 49 (42,86%); 50 (35,71%) e 51 (21,43%); e 1,9 mm = 50 (45,45%); 49 (41,56%); 48 (7,79%) e 51 (5,2%). Os planos ideais para atingir o NDR são os planos intermediários (50 e 51) onde o núcleo é maior, como já foi observado em outro estudo no laboratório. Portanto, as medidas AP ideais são 1,7 mm no GL e 1,8 mm no GP. **Apoio Financeiro:** CNPq/UEM

02.041

**ATTENUATION OF ANALGESIA AFTER ACUTE STRESS IN RATS EXPOSED TO CAFFEINE**

Tonial, E. M.<sup>1</sup>; da Silva, R. S.<sup>2</sup>; Torres, I. L.<sup>2</sup>; Dalmaz, C.<sup>2</sup>; Sarkis, J.<sup>2</sup>; Lara, D. R.<sup>1</sup>; Bonan, C. D.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>PUC-RS - Ciências Fisiológicas; <sup>2</sup>UFRGS Bioquímica

**Introduction:** Caffeine acts through blockade of adenosine receptors. Adenosine modulates the pain transmission at peripheral and central nervous sites. This modulation depends on type and localization of adenosine A<sub>1</sub> and A<sub>2</sub> receptors. Here we verify the effect of caffeine neonatal exposure on the analgesia induced by acute stress.

**Methods:** Dam rats received caffeine (1g/L) in their drinking water during the gestation and lactation. Male pups received caffeine up to the adulthood. Caffeine-treated, caffeine-withdrawal and control animals were immobilized for 60 min and the nociception was checked before and after the stress. The pain threshold was analyzed by the reflex retreat of the tail in an apparatus with luminous intensity of 0,4-0,6mA.

**Results:** Control animals developed the normal analgesia (9.1 ± 0.3s; n: 8) after immobilization. However, caffeine-treated (7.6 ± 0.7s; n: 7) and caffeine-withdrawal (7.8 ± 0.8s; n: 12) animals presented shorter latency time than the control animals. **Discussion:** The slight nociception developed by the animals exposed to caffeine confirmed the participation of adenosine receptors on the analgesia. Additionally, the lack of analgesia cannot be only related to the blockade exerted by caffeine since animals presented a similar response to caffeine-withdrawal group. Alteration in adenosine receptor expression during the nervous system development can be involved, which is persistent in absence of caffeine.

**Support:** BPA/PUCRS, FAPERGS, CNPq.

02.042

**ENVOLVIMENTO DO SISTEMA SEROTONINÉRGICO NO EFEITO ANTIDEPRESSIVO DO GMP EM CAMUNDONGOS**

Kaster, M. P.<sup>1</sup>; Santos, A. R. S.<sup>2</sup>; Rodrigues, A. L. S.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>UFSC Bioquímica; <sup>2</sup>UFSC - Ciências Fisiológicas - CFS

**Introdução:** O GMP é um nucleotídeo que está presente em altas concentrações no SNC. Foi demonstrado que o tratamento agudo com GMP produz efeito antidepressivo no teste do nado forçado (TNF) e no teste da suspensão da cauda (TSC) em camundongos (Eckeli et al., *Neuroreport* 1:839, 2000). Este estudo investigou o envolvimento do sistema serotoninérgico no efeito antidepressivo do GMP no TNF. **Materiais e métodos:** Foram utilizados camundongos Swiss (3035 g), com livre acesso à comida e água, em ciclo claro/escuro de 12 horas. Os animais foram forçados a nadar em um cilindro de 10 cm de diâmetro com 25 cm de altura, contendo aproximadamente 19 cm de água (25 ± 1° C). O tempo de imobilidade foi registrado durante 6 minutos.

**Resultados:** O pré-tratamento com GMP (0,5 mg/kg, i.p., dose sub ativa) não causou alteração significativa no tempo de imobilidade dos animais quando comparado ao grupo controle tratado com salina (262,0 ± 6,1, n=12). O tratamento com pindolol (32 mg/kg, i.p., antagonista de receptores 5-HT<sub>1A/1B</sub>), NAN-190 (0,5 mg/kg, i.p., antagonista de receptores 5-HT<sub>2A</sub>) e com 8-OH-DPAT (1 mg/kg, i.p., agonista de receptores 5-HT<sub>1A</sub>) potencializou o efeito do GMP reduzindo o tempo de imobilidade dos animais em 21,53% ± 3,77%; 21,34% ± 6,14% e 50,49% ± 12,02% respectivamente (n= 6-9). Um efeito sinérgico também foi observado com o tratamento dos animais com cetanserina (5 mg/kg, i.p., antagonista de receptores 5-HT<sub>2A</sub>) e fluoxetina (10 mg/kg, i.p., inibidor seletivo da recaptção de serotonina), reduzindo em 21,28% ± 7,17%; 25,39% ± 5,91% o tempo de imobilidade em relação ao controle, respectivamente (n=6-8). A administração de DOI (1 mg/kg, i.p., agonista de receptores 5-HT<sub>2A</sub>) ou imipramina (3 mg/kg, i.p., antidepressivo tricíclico) não causou alteração significativa no tempo de imobilidade dos animais em relação ao

grupo controle. **Discussão:** Estes resultados sugerem que o efeito antidepressivo do GMP no TNF parece ser mediado, pelo menos em parte, por uma interação com o sistema serotoninérgico (via receptores 5-HT<sub>1A</sub> e 5-HT<sub>2A</sub>). **Apoio Financeiro:** PIBIC/CNPQ/BIP/UFSC, CNPq

02.043

**ENVOLVIMENTO DO SISTEMA SEROTONÉRGICO NA POTENCIALIZAÇÃO DA AÇÃO ANTIDEPRESSIVA DO CLORETO DE MAGNÉSIO**

Ferreira, P. K.<sup>1</sup>; Binfaré, R. W.<sup>1</sup>; Santos, A. R. S.<sup>2</sup>; Rodrigues, A. L. S.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Universidade Federal de Santa Catarina - Bioquímica; <sup>2</sup>Universidade Federal de Santa Catarina - Ciências Fisiológicas CFS

**Introdução:** O magnésio participa de importantes funções celulares que podem estar envolvidas com distúrbios comportamentais (George., *Psych. Research* 51:139,1993). Ele reduz a imobilidade no teste do nado forçado (TNF) em animais (Decollogne., *Pharmacol Bichem Behav* 58:261,1997). Este trabalho avalia a participação do sistema serotoninérgico na ação antidepressiva do magnésio (MgCl<sub>2</sub>). **Métodos:** Foram utilizados camundongos Swiss de ambos os sexos (30-40g, n= 6/grupo). Os animais foram pré-tratados via i.p. com veículo, e com doses sub-ativas de 8-OH-DPAT (1 mg/kg, agonista 5HT<sub>1A</sub>), pindolol (32 mg/kg, antagonista 5HT<sub>1A/1B</sub>), NAN-190 (0,5 mg/kg, antagonista 5HT<sub>1A</sub>), DOI (1 mg/kg, agonista 5HT<sub>2</sub>), ritanserina (5 mg/kg, antagonista 5HT<sub>2A/2C</sub>), cetanserina (4 mg/kg, antagonista 5HT<sub>2A</sub>) ou fluoxetina (10 mg/kg, inibidora seletiva da recaptção de serotonina). Decorridos 20 minutos os animais foram tratados com veículo ou MgCl<sub>2</sub> (10 mg/kg, i.p., sub-ativo) e após 30 minutos, foram submetidos ao TNF.

**Resultados:** O pré-tratamento dos animais com fluoxetina (77,8 ± 1,5%), 8-OH-DPAT (87,8 ± 1,5%), ritanserina (89,5 ± 1,6%) ou DOI (80,6 ± 1,6%), mas não com pindolol (99,1 ± 3,6%), NAN190 (92,4 ± 3,6%) e cetanserina (101,5 ± 1,5%), potencializou a ação antidepressiva do MgCl<sub>2</sub> (100,1 ± 2,2%), em relação ao controle (100%).

**Discussão:** Os resultados indicam o envolvimento do sistema serotoninérgico, através dos receptores 5HT<sub>1A</sub> e 5HT<sub>2A/2C</sub>



na atividade antidepressiva do  $MgCl_2$  no TNF. **Apoio Financeiro:** CNPq

#### 02.044

#### PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA SEROTONÉRGICO NA AÇÃO ANTIDEPRESSIVA DA MELATONINA EM CAMUNDONGOS

Binfarê, R. W.<sup>1</sup>; Ferreira, P. K.<sup>1</sup>; Mantovani, M.<sup>1</sup>; Pertile, R.<sup>1</sup>; Santos, A. R. S.<sup>2</sup>; Rodrigues, A. L. S.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>Universidade Federal de Santa Catarina - Bioquímica; <sup>2</sup>Universidade Federal de Santa Catarina - Ciências Fisiológicas CFS

**Objetivos:** A melatonina é um neurohormônio produzido na glândula pineal. Esta diminuiu o tempo de imobilidade no teste da suspensão da cauda (TSC) em camundongos, sugerindo sua ação antidepressiva (Mantovani., *Neurosci Letters* 343:1, 2003). Este trabalho objetiva verificar a participação dos receptores serotoninérgicos na ação antidepressiva da melatonina. **Métodos:** Foram utilizados camundongos Swiss machos (n=5-8/grupo). Os animais foram pré-tratados com dose sub-ativa de melatonina (0,01 mg/kg, i.p.) ou salina 20 minutos antes da administração via i.p. de 8-OH-DPAT (1 mg/kg, agonista 5-HT<sub>1A</sub>), pindolol (32 mg/kg, antagonista 5-HT<sub>1A/1B</sub>), NAN-190 (0,5 mg/kg, antagonista 5-HT<sub>1A</sub>), isamoltane (0,1 mg/kg, antagonista 5-HT<sub>1B</sub>), cetanserina (5 mg/kg, antagonista 5-HT<sub>2A</sub>), ritanserina (4 mg/kg, antagonista 5-HT<sub>2A/2C</sub>) e DOI (1 mg/kg, agonista 5-HT<sub>2A</sub>). Após 30 minutos foi realizado o TSC. **Resultados:** Houve um efeito antidepressivo sinérgico (observado pela redução do tempo de imobilidade em relação ao controle=100%) da melatonina com 8-OH-DPAT (38.9% ± 3.6%), pindolol (28.6% ± 6.6%), NAN-190 (28.5% ± 1.2%), isamoltane (40.0% ± 4.9%), cetanserina (25,3 ± 2,3%) e DOI (23,9 ± 5, 9%), mas não com ritanserina (110,6 ± 5, 4%). **Discussão:** Os resultados indicam o envolvimento do sistema serotoninérgico, através dos receptores 5HT<sub>1A/B</sub> e 5HT<sub>2/A</sub> na atividade antidepressiva da melatonina no TSC. **Apoio Financeiro:** CNPq

#### 02.045

#### PREFRONTAL D<sub>1</sub> MODULATION IN DISRUPTIVE EFFECTS OF Δ<sup>9</sup>-THC ON SPATIAL WORKING MEMORY.

Melo, L.; Azevedo, K.; Nakamura-Palacios, E. M. Universidade Federal do Espírito Santo - Ciências Fisiológicas

**Introduction:** This study examined the involvement of medial prefrontal cortex (mPFC) D<sub>1</sub> receptors in the impairment of long-termed (1-h delayed task) spatial working memory produced by intracortical (IC) administration of Δ<sup>9</sup>-THC. **Methods:** Male Wistar rats (250-300 g), well trained in an 8-arm radial maze and with bilateral cannulae implanted in the mPFC (B: + 2,5 mm AP; ± 1 mm L; - 2,7 mm V) received IC administration of 1 μg of SCH 23390 (D<sub>1</sub> antagonist) (n = 10), or 0.56 μg of SKF 38393 (partial D<sub>1</sub> agonist) (n = 10) or saline (SAL) followed, 10 min later, by Δ<sup>9</sup>-THC IC [VEH (30% emulphor in DMSO), 32, 100 or 180 μg]. After 5-min interval, animals were tested in 1-h delayed task in the radial maze. **Results:** Δ<sup>9</sup>-THC impaired, in a dose-dependent manner, the 1-h post-delay performance in both dose-effect curves. Δ<sup>9</sup>-THC IC at dose of 100 μg (2.3 ± 0.6, P < 0.01) (first dose-effect curve) or 32 (2 ± 0.6, P < 0.05) and 180 μg (2.7 ± 0.6, P < 0.01) (second dose-effect curve) produced larger number of errors as compared to VEH (0.8 ± 0.1, 0.6 ± 0.2, respectively). Previous IC administration of SCH 23390 not only blocked completely (P < 0,01) the disruptive effect of Δ<sup>9</sup>-THC (SCH 23390 + Δ<sup>9</sup>-THC/SAL + Δ<sup>9</sup>-THC; 32 μg = 0,3 ± 0,1/1,8 ± 0,3; 100 μg = 0,2 ± 0,1/2,3 ± 0,6; 180 μg = 0,2 ± 0,1/1,5 ± 0,5) but also produced a significantly decreasing (P < 0.05) (Δ<sup>9</sup>-THC 100 μg = 0,2 ± 0,1, or 180 μg = 0,2 ± 0,1) in the number of errors as compared to control (SCH 23390 IC and VEH IC) (0,8 ± 0,1). Previous administration of SKF 38393 had no substantial action on Δ<sup>9</sup>-THC effects. **Discussion:** mPFC D<sub>1</sub> receptors seem to be involved in the disruptive effects of Δ<sup>9</sup>-THC on long-termed spatial working memory. Their blockage even allows an expression of an opposite effect of Δ<sup>9</sup>-THC, that is, a facilitating effect on long-termed spatial working memory. **Supported by:** CAPES, FACITEC

#### 02.046

#### INFLUENCIA DAS XANTINAS NAS NUCLEOTIDAES EM GLÂNDULAS DIGESTIVAS E SUA AÇÃO NA MORTALIDADE DE *HELIX ASPERSA*

Rückert, C.<sup>1</sup>; Tonial, E. M.<sup>1</sup>; Vuaden, F.<sup>2</sup>; da Silva, R. S.<sup>3</sup>; Lara, D. R.<sup>1</sup>; Bonan, C. D.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>PUC-RS - Ciências Fisiológicas; <sup>2</sup>UFRGS - Ciências Fisiológicas; <sup>3</sup>UFRGS - Bioquímica

**Introdução:** Xantinas são efetivas em matar ou repelir caracóis. Entretanto, não se conhece o mecanismo deste efeito tóxico, o qual pode estar relacionado ao bloqueio dos receptores de adenosina. Nós investigamos a mortalidade de *H.aspersa* na presença de cafeína e de seu metabólito teofilina, bem como o efeito dessas xantinas na hidrólise de ATP e AMP em glândula digestiva nessa espécie. **Métodos:** Os espécimes foram submetidos a aplicações em spray de 1 mL de soluções de cafeína 1% ou teofilina 1% ou água destilada (controle). A mortalidade dos caracóis foi avaliada 24, 48 e 72 horas após a aplicação. Para avaliar o efeito das xantinas sobre a hidrólise de ATP e AMP, a glândula digestiva foi submetida a diferentes centrifugações, sendo realizados os ensaios enzimáticos. **Resultados:** Não houve mortalidade de *H.aspersa* após exposição à cafeína e teofilina. Não foram observadas alterações na hidrólise de ATP e AMP na presença de cafeína. Teofilina (1mM) reduziu a hidrólise de AMP 33%(15,33±1,94 n=3), mas para ATP não. **Conclusões:** Nosso laboratório demonstrou que xantinas induzem a mortalidade em *P. soleiformis*, mas não alteram a hidrólise dos nucleotídeos. Entretanto, estes resultados sugerem que a espécie *H.aspersa* é resistente a ação pesticida das xantinas, mas teofilina exerceu uma modulação nas nucleotidases. Isto sugere que xantinas podem ser usadas como pesticidas para algumas espécies de lesmas e que a via de produção extracelular de adenosina parece não estar envolvida neste mecanismo tóxico. **Apoio Financeiro:** BPA/PUCRS, FAPERGS, CNPq.

02.047

## MODULAÇÃO DA TRANSMISSÃO NAS SINAPSES NEURO-MUSCULARES SIMPÁTICAS PELOS RECEPTORES DE ADENOSINA A<sub>1</sub> e A<sub>2</sub> EM ANIMAIS GENETICAMENTE HIPERTENSOS (SHR)

Aldrovandi, E. P.; Jurkiewicz, A.; Caricati-Neto, A. C. UNIFESP/EPM Farmacologia

**Introdução:** O ATP liberado com a noradrenalina dos neurônios simpáticos regula a transmissão nas sinapses neuro-musculares simpáticas via receptores de adenosina A<sub>1</sub> e A<sub>2</sub> pré e pós-sinápticos (Queiroz, E.J.P. 448:45, 2002). Visto que disfunções simpáticas pré e pós-sinápticas estariam envolvidas na fisiopatologia da hipertensão genética, decidimos adotar o ducto deferente (DD) de SHR como modelo de estudo do papel dos receptores A<sub>1</sub> e A<sub>2</sub> na modulação da transmissão simpática na hipertensão genética. **Métodos:** Os DD (prostática) de ratos normotensos (NWR) e SHR (16-20 semanas) foram montados em banho de órgãos isolados contendo Tyrode a 30°C e estimulados eletricamente (0,2Hz, 1ms, 60V) para indução das contrações neurogênicas purinérgicas (twitches). Sobre estas foram estudados os efeitos de agonistas de receptores A<sub>1</sub> e A<sub>2</sub> (adenosina, CPA e NECA), na ausência ou presença do antagonista A<sub>1</sub>-seletivo DPCPX. **Resultados:** Os twitches foram aumentados por doses baixas (10<sup>-10</sup>-10<sup>-8,5</sup>M) e reduzidos por doses altas (>10<sup>-8,5</sup>M) de CPA e adenosina. O NECA (10<sup>-8</sup>-10<sup>-5</sup>M) somente reduziu os twitches. Os efeitos facilitatórios foram similares em NWR e SHR, mas os inibitórios foram menores em SHR. Na presença de DPCPX (10<sup>-7</sup>M, 30 min), observou-se um aumento da facilitação e uma redução da inibição pelo CPA e adenosina. Além disso, surgiu um efeito facilitatório do NECA. Estes efeitos com DPCPX foram menores em SHR. **Discussão:** Estes resultados sugerem uma disfunção dos receptores A<sub>1</sub> e A<sub>2</sub> modulatórios da neurotransmissão simpática em SHR. **Apoio Financeiro:** FAPESP, CAPES

02.048

## EFEITO DA ISATINA E SEUS ANÁLOGOS NA HIPNOSE INDUZIDA PELO PENTOBARBITAL EM CAMUNDONGOS

Gabriel, D. G.<sup>1</sup>; Braga Pontes, L.<sup>1</sup>; Sudo, R. T.<sup>1</sup>; Ribeiro, N.<sup>2</sup>; Lima, J.<sup>2</sup>; Pinto, A. C.<sup>2</sup>; Zapata-Sudo, G.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>UFRJ - Farmacologia Básica e Clínica; <sup>2</sup>UFRJ - Instituto de Química

**Introdução:** A isatina (*indole-2,3 dione*) é um composto endógeno, que provoca efeitos farmacológicos tais como: antibactericida, antineoplásico, antiinflamatório, analgésico, anticonvulsivante, hipnótico e/ou sedativo. Este trabalho visa a avaliação de derivados da isatina na duração da hipnose induzida pelo pentobarbital. **Métodos:** Pentobarbital sódico foi administrado na dose 25 mg/kg por via venosa na cauda de camundongos suíços machos (18-25 g) para se determinar a duração da hipnose. Vários grupos experimentais foram formados com 15 camundongos cada para injeção intraperitoneal prévia (30 min) do veículo (DMSO) ou dos diferentes derivados de isatina. A duração de hipnose induzida pelo pentobarbital foi comparada entre os diferentes grupos. **Resultados:** A substituição da carbonila na posição 2 por diferentes radicais na estrutura da isatina resultou na síntese de derivados com a propriedade de prolongar a duração da hipnose induzida pelo pentobarbital. A isatina não interferiu no tempo de hipnose controle (19,3 ± 0,1 min). No entanto, 5 derivados em ordem crescente de potência CEG57B < CEG5B < CEG7C < CEG46B < CEG5C prolongaram o efeito do pentobarbital. O pré-tratamento com estes derivados (20 mg/kg) proporcionou uma duração de hipnose de 92 ± 14,5; 96,3 ± 5,9; 102,0 ± 14,7; 123,8 ± 16,3; 134,0 ± 14,9 min, respectivamente. **Conclusões:** Alguns análogos da isatina potencializaram o efeito hipnótico do pentobarbital em até 6 vezes a duração controle. **Apoio Financeiro:** FAPERJ, FUJB

02.049

## EFEITOS DO ESTRESSE AGUDO E CRÔNICO NA RESPOSTA NOCICEPTIVA EM CAMUNDONGOS

Machado, D. G.; Soethe, D. N.; Santos, A. R. S.; Pereira, A. M.; Gasparotto, O. C. UFSC - Ciências Fisiológicas

**Introdução:** Embora controversa a literatura aponta que a sensibilidade nociceptiva é alterada pelo estresse, induzindo uma analgesia com a exposição ao estresse agudo e uma hiperalgesia com a exposição ao estresse crônico. O presente estudo tem como objetivo analisar os efeitos que o estresse psicossocial agudo e crônico exercem sobre a sensibilidade nociceptiva de camundongos no teste de nocicepção induzido pela formalina, bem como investigar o possível envolvimento do sistema serotoninérgico e opióide neste processo. **Métodos:** Camundongos suíços (n=10/grupo) foram submetidos a uma sessão de interação social (estresse agudo - EA) ou a oito sessões de interação social (estresse crônico - EC), sendo a sensibilidade nociceptiva avaliada pelo tempo que o animal permaneceu lambendo ou mordendo (TLM) a pata injetada pela via intraplantar com formalina (20 µl, 2,5%), 10 minutos ou 24 horas após a última sessão de estresse. Os animais foram observados durante os trinta minutos seguintes da última sessão de estresse, sendo que os primeiros 5 minutos correspondem à dor neurogênica (RN) e os 15 minutos finais à dor inflamatória (RI) induzida pela formalina. Para investigar o envolvimento do sistema serotoninérgico e opióide na antinocicepção produzida pela interação social, os animais foram pré-tratados intra-peritonealmente (i.p.) com naloxona (5 mg/kg i.p., antagonista opióide), cetanserina (1mg/Kg i.p., antagonista 5-HT<sub>2A</sub>), ondansentron (0,5mg/Kg i.p., antagonista 5-HT<sub>3</sub>) e pindolol (1 mg/Kg i.p., antagonista 5HT<sub>1A/B</sub>), 15 minutos antes da interação social. Os animais controles receberam solução salina ou os antagonistas 30 minutos antes do teste de formalina. **Resultados:** O EA promoveu significativo efeito antinociceptivo, tanto da RN quanto da RI, principalmente em animais submissos (p < 0,01) e o estresse crônico não alterou de forma significativa a nocicepção. O pré-tratamento com naloxona, cetanserina e pindolol não reverteram a analgesia

causada pelo EA. Todavia, o pré-tratamento com ondansetron acentuou a antinocicepção frente ao EA. **Conclusão:** Os dados demonstram que o EA exerceu uma analgesia significativa nos animais submetidos, tanto da RN como na RI. Os receptores serotoninérgicos 5HT<sub>3</sub> participam da antinocicepção induzida pelo estresse na RI, não havendo participação do mecanismo opióide neste processo.

## 02.050

### EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO CENTRAL DE L-NAME EM RATOS AVALIADOS NO LABIRINTO EM T-ELEVADO

Calixto, A. V.; Duzzioni, M.; de Lima, T. C. M. - UFSC Farmacologia

**Objetivo:** O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da administração intracerebroventricular e no septo lateral de L-N $\omega$ -nitro-L-arginina-metil-ester (L-NAME), um inibidor da síntese de óxido nítrico (NO) no comportamento de ratos submetidos ao teste do labirinto em T-elevado (LTE).

**Métodos:** Ratos Wistar machos adultos foram anestesiados com pentobarbital sódico (2 mg/Kg) e hidrato de cloral (30 mg/Kg) i.p. para a implantação de cânulas guias no ventrículo lateral ou no septo lateral. Após uma semana, cada animal foi administrado centralmente com L-NAME (50 ou 200 nmol, doses retiradas de uma curva dose resposta previamente realizada no ventrículo lateral), sendo que o grupo controle recebeu PBS em volume equivalente e pela mesma via. Trinta segundos após cada tratamento, os animais foram submetidos ao teste comportamental no LTE. Cada animal foi colocado no final do braço fechado e o tempo requerido para sair com as quatro patas foi registrado e avaliado em três exposições com intervalo de 30s (latência de base = LB; esquiva 1 = Esq 1; esquiva 2 = Esq 2, respectivamente). Em seguida, cada animal foi colocado no final do braço aberto e o tempo para entrar no braço fechado, com as quatro patas, foi registrado e denominado "fuga". **Resultados:** Os grupos tratados com L-NAME 50 e 200 nmol, no ventrículo ou septo lateral, apresentaram uma curva de aprendizagem da esquiva inibitória, assim como os animais-controle (L-NAME 50, ventrículo, Esq 2 = 274,20±19,31 vs LB=22,9±4,00; L-NAME 50, septo lateral, Esq

2=222,00±78,00 vs LB=11,67±3,84; L-NAME 200, ventrículo, Esq 2 = 113,33±46,94 vs LB=10,88±1,89; L-NAME 200, septo lateral, Esq 2=41,33±15,38 vs LB=6,67±2,73; PBS, ventrículo, Esq 2=245,44±31,75 vs LB=21,33±3,83; PBS, septo lateral, Esq 2=283,00±17,00 vs LB=10,33±3,38). Os animais tratados com L-NAME 200 nmol no septo lateral apresentaram uma latência de escape menor que os animais controle na Esq 2. Entretanto, nenhuma das doses foi eficaz em alterar o comportamento de fuga.

**Conclusão:** O L-NAME, nas doses e vias utilizadas, não alterou a aprendizagem da esquiva inibitória. O L-NAME 200 nmol no septo lateral apresentou um perfil do tipo ansiolítico, sugerindo que esta região tem um papel importante no comportamento de medo de ratos quando avaliados no LTE. **Apoio Financeiro:** CNPq

## 02.051

### INVOLVEMENT OF AGMATINE INFUSED IN THE DORSAL PERIAQUEDUCTAL GRAY MATTER AND ENTORHINAL CORTEX IN BEHAVIORAL RESPONSES OF RATS EXPOSED TO PLUS MAZE

Machado, C.<sup>1</sup>; Mazambani, L.<sup>2</sup>; Furlan, A.<sup>2</sup>; Vinadé, E. R.<sup>3</sup>; Barros, D. M.<sup>3</sup>; Izquierdo, L.<sup>3</sup>; Oliveira, C. L. de<sup>2</sup>; Carobrez, A. P.<sup>4</sup>; Izquierdo, I. A.<sup>2</sup>; Souza, M. M. de<sup>2</sup> - <sup>1</sup>UNIVALI - Centro Superior de Educação e Ciências da Saúde; <sup>2</sup>UNIVALI - Farmacologia; <sup>3</sup>UFRGS - Centro de Memória; <sup>4</sup>UFSC - Farmacologia

**Introduction:** It has recently been demonstrated that agmatine induces anxiolysis in the elevated plus-maze task in adult rats when systemically administered. In view of the fact that the presence of agmatine in brain systems is known to be involved in modulating memory and anxiety, and that these two functions are related, we decided to investigate the role of agmatine in modulating anxiety in rats when administered in specific regions such as the periaqueductal gray matter (PAG), entorhinal cortex (EC), amygdala (AMY) and CA1 hippocampal region (CA1). **Methods:** Adult male Wistar rats were implanted with indwelling cannulae in the hippocampus, entorhinal cortex, amygdala and dorsal periaqueductal gray matter. After recovery, the animals

received 0.5-ml infusion of vehicle (phosphate buffer saline, pH 7.4), agmatine and agmatine (20 or 40 mg/site). The animals were tested 20 min after treatment, in order to examine the effects of agmatine on behavioral responses when exposed to the plusmaze test. All open arm entries (OAE) or closed arm entries (CAE) were scored for 5 min, and the total time spent in each arm was recorded (TO.TC). The animals were also treated systematically and tested. **Results:** The treatment of agmatine promoted anxiolytic effects ( $p < .05$ ) when infused into the dorsal periaqueductal gray matter (OAE<sub>AG</sub> = 75.32±5.46%, OAE<sub>VEIC</sub> = 33.5±8.4 %; TO<sub>AG</sub> = 75%, TO<sub>AG</sub> = 65.92±12.06 %) and entorhinal cortex respectively (OAE<sub>AG</sub> = 65.11±10.7%, OAE<sub>VEIC</sub> = 52.08±13.17 %; TO<sub>AG</sub> = 66.28±13.7, TO<sub>VEIC</sub> = 49.29±7.50%), but was not effective when infused into the amygdala and hippocampal regions. **Conclusions:** These results confirm the anxiolytic effect of agmatine and suggest the involvement of the dorsal periaqueductal gray matter and entorhinal cortex in this effect. **Supported by:** CNPq

## 02.052

### HOW TO EXPLAIN FULL AND PARTIAL AGONIST PROPERTIES OF $\alpha_2$ -ADRENOCEPTOR LIGANDS?

Olayioye, A.<sup>1</sup>; Steffens, M.<sup>1</sup>; Huber, B.<sup>1</sup>; Allgaier, C.<sup>2</sup>; Feuerstein, T. J.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>University Hospital of Freiburg - Section of Clinical Neuropharmacology; <sup>2</sup>University of Leipzig - Pharmacological Institute

**Introduction** The present study explains the mechanism of partial agonism by investigating the affinity and activity of a full (UK14304) and a partial (clonidine) agonist at a  $\alpha_2$ -adrenoceptors ( $\alpha_2$ -R) in rat cortex at different temperatures. **Methods** The effects of different temperatures were evaluated in studies on electrically evoked [<sup>3</sup>H]-noradrenaline ([<sup>3</sup>H]-NA) release and in binding experiments at a  $\alpha_2$ -R sites, using rat neocortex and hippocampus slices and synaptosomes. The  $\alpha_2$ -R-mediated modulation of [<sup>3</sup>H]-NA release by UK14304 and clonidine and by the  $\alpha_2$ -R-antagonists idazoxan and rauwolscine were analysed. Additionally, binding of [<sup>3</sup>H]-NA to  $\alpha_2$ -R sites and its inhibition by UK14304

and clonidine were examined. **Results** Concentration-response curves of the agonists on [<sup>3</sup>H]-NA release yielded IC<sub>50</sub> and I<sub>max</sub> values. In case of UK14304, IC<sub>50</sub> and I<sub>max</sub> were not temperature-dependent (37° C: IC<sub>50</sub>=10.7 nM; I<sub>max</sub>=85.1 %). IC<sub>50</sub> of clonidine was higher at 17° C (24.5 nM) compared to 37° C (7.1 nM). The corresponding I<sub>max</sub> was lower at 17° C (54.3 %) than at 37° C (74.1 %). Saturation and competition binding studies showed that K<sub>i</sub> of UK14304, respectively K<sub>d</sub> of [<sup>3</sup>H]-NA, were independent of the temperature (4.7 nM), whereas the K<sub>i</sub> of clonidine increased with lower temperature (17° C: 4.5 nM; 37° C: 1.4 nM). The disinhibitory effects of the pure α<sub>2</sub>-R-antagonists idazoxan and rauwolscine were the same at 22° and 37° C (data not shown). **Discussion** In contrast to full agonism, partial agonism may be due to a binding interval longer than necessary for receptor activation. The partial agonist thus acts as a full agonist during the activation interval and thereafter as a full antagonist. **Supported by:** Pfizer Inc. and DFG (SFB505)

## 02.053 BINDING AFFINITY AND AGONIST ACTIVITY OF PUTATIVE ENDOCANNABINOIDS AT THE HUMAN NEOCORTICAL CANNABINOID CB<sub>1</sub> RECEPTOR.

Steffens, M.<sup>1</sup>; Zentner, J.<sup>2</sup>; Feuerstein, T. J.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>University Hospital of Freiburg - Section of Clinical Neuropharmacology; <sup>2</sup>University Hospital of Freiburg Neuropharmacology

**Introduction:** The present study investigated the affinity of putative endocannabinoids (anandamide, AEA; 2-arachidonylglycerol, 2-AG; noladin ether, NE and virodhamine, VE) for the inhibitory human neocortical CB<sub>1</sub> receptor (CB<sub>1</sub>-R). Effects on basal and forskolin (Fk)-stimulated cAMP formation were also examined. **Methods:** Assays were performed with synaptosomes, prepared from fresh human neocortical tissue. CB<sub>1</sub>-R affinity was assessed from competition binding experiments with the synthetic compound [<sup>3</sup>H]-CP55.940 in absence or presence of the protease inhibitor PMSF. cAMP formation was determined using a radioreceptor assay kit. **Results:** NE, AEA and VE inhibited

[<sup>3</sup>H]-CP55.940 binding (K<sub>i</sub>: 98, 209, 1740 nM). Presence of PMSF decreased K<sub>i</sub> values of AEA and VE, but left the K<sub>i</sub> of NE unchanged. 2-AG almost lacked affinity (K<sub>i</sub> > 10 μM). Basal cAMP formation was unaffected by AEA and NE, but strongly enhanced by 2-AG and VE. Fk-stimulated cAMP formation was inhibited by AEA and NE (IC<sub>50</sub>: 69, 427 nM; I<sub>max</sub> ~ 30%). Inhibition was blocked by the CB<sub>1</sub>-R-antagonist AM251. VE increased cAMP formation, also in presence of AM251, by ~ 20%. 2-AG had no effect, however, in presence of AM251, 10 μM 2-AG stimulated cAMP formation by ~ 15%. **Discussion:** AEA and NE are full agonists at the human neocortical CB<sub>1</sub>-R, whereas VE may act as an endogenous CB<sub>1</sub>-R antagonist. Further studies should examine the presence of 2-AG, NE and VE in human brain tissue, helping to assess their possible physiological relevance as endogenous CB<sub>1</sub>-R ligands. **Support:** DFG (SFB505)

## 02.054 BINDING AFFINITY AND AGONIST ACTIVITY OF PUTATIVE ENDOCANNABINOIDS AT THE HUMAN NEOCORTICAL CANNABINOID CB<sub>1</sub> RECEPTOR

Steffens, M.<sup>1</sup>; Zentner, J.<sup>2</sup>; Feuerstein, T. J.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>University Hospital of Freiburg - Section of Clinical Neuropharmacology; <sup>2</sup>University Hospital of Freiburg Neuropharmacology

**Introduction:** The present study investigated the affinity of putative endocannabinoids (anandamide, AEA; 2-arachidonylglycerol, 2-AG; noladin ether, NE and virodhamine, VE) for the inhibitory human neocortical CB<sub>1</sub> receptor (CB<sub>1</sub>-R). Effects on basal and forskolin (Fk)-stimulated cAMP formation were also examined.

**Methods:** Assays were performed with synaptosomes, prepared from fresh human neocortical tissue. CB<sub>1</sub>-R affinity was assessed from competition binding experiments with the synthetic compound [<sup>3</sup>H]-CP55.940 in absence or presence of the protease inhibitor PMSF. cAMP formation was determined using a radioreceptor assay kit.

**Results:** NE, AEA and VE inhibited [<sup>3</sup>H]-CP55.940 binding (K<sub>i</sub>: 98, 209, 1740 nM). Presence of PMSF decreased K<sub>i</sub> values of AEA and VE, but left the K<sub>i</sub> of NE unchanged. 2-AG almost lacked affinity (K<sub>i</sub> > 10 μM). Basal cAMP

formation was unaffected by AEA and NE, but strongly enhanced by 2-AG and VE. Fk-stimulated cAMP formation was inhibited by AEA and NE (IC<sub>50</sub>: 69, 427 nM; I<sub>max</sub> ~ 30%). Inhibition was blocked by the CB<sub>1</sub>-R-antagonist AM251. VE increased cAMP formation, also in presence of AM251, by ~ 20%. 2-AG had no effect, however, in presence of AM251, 10 μM 2-AG stimulated cAMP formation by ~ 15%. **Discussion:** AEA and NE are full agonists at the human neocortical CB<sub>1</sub>-R, whereas VE may act as an endogenous CB<sub>1</sub>-R antagonist. Further studies should examine the presence of 2-AG, NE and VE in human brain tissue, helping to assess their possible physiological relevance as endogenous CB<sub>1</sub>-R ligands. **Supported by:** DFG (SFB505)

## 02.055 NICOTINIC RECEPTORS INDUCE DOPAMINE RELEASE IN HUMAN NEOCORTICAL SLICES

Löffler, M.; Jackisch, R.; Huppertz, H. J.; Feuerstein, T. J. University Hospital of Freiburg - Section of Clinical Neuropharmacology

**Introduction:** This study investigated presynaptic facilitatory nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs) on dopaminergic axon terminals in the human neocortex. nAChRs are widely distributed in the central nervous system (CNS). Their activation has been shown to improve cognitive function in the course of aging or dementia.

**Methods.** Slices of fresh human neocortex were incubated with [<sup>3</sup>H]dopamine (DA) in the presence of the noradrenaline uptake blocker (+)-oxaprotiline and the serotonin uptake blocker fluvoxamine, in order to prevent false labelling of noradrenergic and serotonergic nerve terminals, respectively, with [<sup>3</sup>H]-DA. After incubation, slices were superfused continuously in the absence of these uptake blockers and stimulated once with nicotinic agonists for 2 min.

**Results and Discussion.** Both Ca<sup>2+</sup>-withdrawal and presence of tetrodotoxin strongly reduced the nAChR-evoked [<sup>3</sup>H]-overflow (to 30% [21%, 40%], n = 8, and 30% [8%, 51%], n = 6, respectively). Thus, exocytotic and action potential-mediated [<sup>3</sup>H]-DA release was assumed. [<sup>3</sup>H]-DA release was evoked by nicotine (100 μM) (normalized to 100% [75%, 125%], n = 7)

and the  $\alpha_4\beta_2$  nicotinic agonist ABT-418 (100  $\mu\text{M}$ ) (107% [67%, 147%],  $n = 8$ ) and abolished by the unselective nAChR antagonist mecamylamine (10  $\mu\text{M}$ ) (-7% [-30%, 16%],  $n = 4$ ), indicating a nAChR-mediated mechanism. The results show that, at least partially,  $\alpha_4\beta_2$  containing nAChRs are responsible for presynaptic cholinergic facilitation of dopaminergic transmission in human neocortex. Furthermore, glutamate receptors (GluR) were linked to dopaminergic terminals, since GluR-antagonists depressed nAChR-evoked [ $^3\text{H}$ ]-DA release (data not shown).  
**Supported by:** DFG (SFB505)

