



Resumos
Setor 06
Farmacologia da Inflamação e da Dor

06.001

AÇÃO DOS COMPOSTOS MV08 E MV12 ISOLADOS DA *Mandevilla velutina* SOBRE A RESPOSTA EDEMATOGÊNICA MEDIADA POR RECEPTORES B₁ E B₂ PARA AS CININAS EM RATOS.

Mattos, W. M.¹; Yunes, R.²; Campos, M. M.¹; Calixto, J. B.¹ ¹UFSC Farmacologia; ²UFSC QMC CFM;

Introdução: Foi demonstrado anteriormente que os compostos isolados da *Mandevilla velutina*, MV08 e MV12, parecem apresentar efeitos seletivos sobre as respostas mediadas pelos receptores para as cininas. O objetivo do presente trabalho foi analisar as ações destes compostos no edema de pata de rato mediado pelos receptores B₁ e B₂ para as cininas. **Métodos:** Ratos machos Wistar (140-170 g; N=5) foram usados. O edema foi induzido pela injeção intraplantar de bradicinina (BK, 3 nmol/pata) ou pelo agonista seletivo dos receptores B₁, a des-Arg⁹-BK (DABK, 100 nmol/pata). A indução do receptor B₁ foi realizada pelo tratamento dos animais com PAF (10 nmol/pata, 6h antes). **Resultados:** O MV12 (100 nmol/pata) inibiu significativamente o edema da BK (55±5%), sem no entanto interferir com o edema causado pela DABK. Por outro lado, o MV08 (100 nmol/pata) não foi capaz de interferir com o edema induzido pela BK, mas reduziu de forma marcante o edema da DABK (48±6%). Ambos os compostos falharam em interferir com o processo de indução dos receptores B₁ quando administrados em conjunto com o PAF. **Conclusão:** Em conjunto, esses resultados indicam que o MV08 inibe as respostas mediadas pelo receptor B₁, mas não as por B₂. Ao contrário, o MV12 inibe as respostas edematogênicas mediadas pelo B₂ mas não por B₁. Este compostos podem representar ferramentas importantes para o entendimento dos mecanismos envolvidos nas respostas inflamatórias mediadas pelas cininas. **Apoio Financeiro:** CNPq, PRONEX e CAPES.

06.002

IL-15 INDUCES NEUTROPHIL MIGRATION: ROLE FOR TNF- α (VIA TNFR1) AND LEUKOTRIENES

Verri Jr., W. A.¹; Cunha, T. M.¹; Schivo, I. R. S.¹; Rosa, S. R.¹; Liew, F. Y.²; Ferreira, S. H.¹; Cunha, F. de Q.¹ ¹FMRP-USP Farmacologia; ²University of Glasgow Division of Immunology

Introduction: IL-15 is a pro-inflammatory cytokine with significant role in collagen-induced arthritis (CIA), in which neutrophils are thought to be crucial for cartilage destruction. In addition, IL-15 receptor protein is expressed in human neutrophils. Therefore, it was evaluated whether IL-15 induces neutrophil migration and its mechanisms. **Methods:** After intraperitoneal stimulus with IL-15 or PBS, cells from the peritoneal cavity (cav) were harvested by injection of 3 mL PBS/EDTA and total cell counts were determined using diluting fluid in Neubauer chamber. Differential counts were performed using Rosenfeld-stained cytospin preparations. **RESULTS:** IL-15 induced dose- (6.7-60 ng/cav) and time- (0.5-48 h) dependent neutrophil migration, which peaked 4 h after the stimulus and decreased to control levels after 48 h. Moreover, the treatment with dexamethasone (corticosteroid, 2 mg/kg, sc, 1 h) or MK 886 (FLAP inhibitor, 3 mg/kg, po, 1 h) inhibited IL-15- (20 ng/cav) induced neutrophil migration (55 and 56%, respectively). Furthermore, IL-15 effects were nearly absent (96% inhibition) in TNFR1 deficient mice. **Discussion:** These results indicate a role for TNF (via TNFR1) and leukotrienes on IL-15-induced neutrophil migration. Moreover, suggest a probable role for IL-15 on leukotriene-dependent lesions on CIA. Therefore, TNF and/or leukotrienes targeting therapies could represent a useful tool on controlling diseases in which IL-15-induced neutrophil migration have an essential role. **Supported by:** FAPESP, FAEPA, CAPES and CNPq

06.003

ENVOLVIMENTO DA PROTEÍNA G_{i/o} E DE RECEPTORES IMIDAZÓLICOS E SEROTONÉRGICOS NA ANTINOCICEPÇÃO CAUSADA PELA AGMATINA EM CAMUNDONGOS

Gadotti, V. M.¹; Tibola, D.¹; Paszcuk, A. F.¹; Rodrigues, A. L. S.²; Calixto, J. B.³; Santos, A. R. S.¹ ¹UFSC Ciências Fisiológicas CFS; ²UFSC Bioquímica; ³UFSC Farmacologia

Introdução: Recentemente demonstrou-se que a agmatina, uma poliamina sintetizada a partir da L-arginina, apresenta significativo efeito antinociceptivo quando analisada em diversos modelos de nocicepção em camundongos, sendo que sua atividade antinociceptiva depende, em parte, da participação dos sistemas glutamatergico, opióide, α_2 -adrenérgico e da via da L-arginina-óxido nítrico. Neste trabalho, avaliou-se a possível influência da proteína G_{i/o} sensível à toxina pertussis e das fibras aferentes primárias do tipo C sensíveis à capsaicina, bem como o envolvimento dos receptores serotoninérgicos e imidazólicos na atividade antinociceptiva da agmatina no modelo das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético em camundongos. **Métodos:** Foram utilizados camundongos Swiss (25-35 g) de ambos os sexos. A possível participação da proteína G_{i/o}, do sistema serotoninérgico (5-HT) e imidazólico (I), bem como das fibras aferentes do tipo C na antinocicepção causada pela agmatina, foi analisada no modelo das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético (0,6%, i.p.). **Resultados:** A antinocicepção causada pela agmatina (30 mg/kg, i.p., 0,5 h antes) no modelo do ácido acético, foi significativamente revertida pelo pré-tratamento dos animais via i.p., 20 min. antes, com cetanserina (0,3 mg/kg, antagonista seletivo 5-HT_{2A}), ondansetron (0,5 mg/kg, antagonista seletivo 5-HT₃), efaroxano (1 mg/kg, antagonista I₁), e pelo pré-tratamento 7 dias antes com toxina pertussis (0,5 mg/sítio, i.t., inibidora da proteína G_{i/o}). No entanto, o efeito antinociceptivo da agmatina, no teste do ácido acético, não foi afetado pelo pré-tratamento via i.p., 20 min. antes, com pindolol (1 mg/kg, antagonista seletivo 5-HT_{1A/1B}) ou idazoxano (3 mg/kg, antagonista I₂) e pelo tratamento neonatal com

Farmacologia da Inflamação e da Dor

capsaicina (50 mg/kg, s.c.).

Discussão: Estes resultados estendem os dados anteriores e demonstram que a atividade antinociceptiva da agmatina também envolve uma interação com a proteína $G_{i/o}$, ativação dos receptores 5-HT₂ e 5-HT₃ serotoninérgicos e dos receptores imidazólicos I₁. **Apoio Financeiro:** CNPq, UFSC.

06.004

PARTICIPAÇÃO DA PROTEÍNA $G_{i/o}$ NO EFEITO ANTINOCICEPTIVO CAUSADO PELA FLUNARIZINA E DOTARIZINA EM CAMUNDONGOS

Rodrigues, A. H.¹; Gadotti, V. M.¹; Soethe, D. N.¹; Gabilan, N. H.²; Rodrigues, A. L. S.²; Santos, A. R. S.¹
¹UFSC Ciências Fisiológicas; ²UFSC Bioquímica

Introdução: A flunarizina (FLU) e seu análogo dotarizina (DOT) possuem a propriedade de bloquear canais de cálcio voltagem-dependentes dos tipos L, N, P e Q de maneira não seletiva, apresentando atividades antinociceptiva, anticolvulsivante, citoprotetora e anti-nausea. Neste trabalho analisou-se a possível participação da proteína $G_{i/o}$ e dos sistemas serotoninérgico e opióide e da via L-arginina-óxido nítrico na antinocicepção causada pela FLU e da DOT no modelo das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético (AA) em camundongos.

Métodos: Foram utilizados camundongos Swiss (30-40 g n=8-12 por grupo) de ambos os sexos. A participação dos receptores serotoninérgico, opióide, a via L-arginina-óxido nítrico e a proteína $G_{i/o}$ na antinocicepção da FLU e da DOT (3 mg/kg, i.p.), foi verificado pelo pré-tratados dos animais com pindolol (1 mg/kg, i.p., antagonista 5-HT_{1A/1B}), ondansetron (0,5 mg/kg, i.p. antagonista 5HT₃), cetanserina (0,3 mg/kg, i.p., antagonista 5HT_{2A}), naloxona (1 mg/kg, i.p. antagonista opióide não seletivo), L-arginina (600 mg/kg, i.p. precursor do óxido nítrico) e toxina pertussis (0,5 µg/i.t., inibidora da proteína $G_{i/o}$) na nocicepção induzida pelo AA. Resultados: A FLU e a DOT (1-30 mg/kg, i.p., 0,5 h antes) reduziram de forma significativa e dose dependente o número das contorções abdominais induzidas pelo de AA com DI₅₀s de 4,9 (3,6-6,5) e 3,7 (2,2-6,0)

mg/kg e inibições de 100 e 89±5%, respectivamente. A antinocicepção causada pela administração i.p. de FLU e DOT (3 mg/kg, 0,5 h antes) no modelo do AA, foi significativamente revertida pelo pré-tratamento intratecal (i.t.) dos animais, 7 dias antes, com toxina pertussis. Contudo, o pré-tratamento dos animais com pindolol, cetanserina, ondansetron, naloxona ou L-arginina não alteraram de forma significativa a antinocicepção produzida pela FLU e pela DOT. **Conclusão:** Estes resultados mostram que a FLU e a DOT apresentam importante efeito antinociceptivo. Além disso, indica que a proteína $G_{i/o}$ -sensível à toxina pertussis esta envolvida na antinocicepção produzida pelos bloqueadores de canais de cálcio FLU e DOT. **Apoio Financeiro:** CNPq, UFSC.

06.005

ENSAIO SIMPLES, RÁPIDO E SENSÍVEL PARA DETECÇÃO DE INIBIDORES DE ATIVAÇÃO DE MASTÓCITOS COM POTENCIAL AÇÃO ANTI-ALÉRGICA.

Carvalho, V.¹; Ribeiro, T.¹; Farias-Filho, F. A.¹; Costa, J.¹; Silva, P.¹; Martins, M.²
¹FIOCRUZ Fisiologia e Farmacodinâmica; ²FIOCRUZ Inflamação

Neste trabalho desenvolvemos um novo bioensaio para screening de substâncias com propriedade estabilizadora de mastócitos em condições de anafilaxia. Fragmentos obtidos da hipoderme dorsal de ratos Wistar previamente sensibilizados, com uma mistura de Al (OH)₃ e ovoalbumina, foram estimulados in vitro com ovoalbumina (30-1000 µg/ml) a 37°C, em tempos variando de 15 a 60 min de incubação. Mais de 50 fragmentos puderam ser facilmente obtidos de um único animal. O sobrenadante foi recolhido e o conteúdo liberado de histamina quantificado fluorimetricamente. Verificamos que a estimulação antigênica induziu a liberação de histamina de forma dose-resposta dependente, atingindo resposta máxima (73,56±4,49 ng/ml) (média ± EPM, n=8) na concentração de 300 µg/ml. A ativação pode ser notada aos 15 min de incubação atingindo valores de pico aos 60 min. Houve excelente reprodutibilidade quando comparou-se a média de teor liberado de diferentes fragmentos de um mesmo

animal com aquela proveniente de fragmentos obtidos de vários animais. Coincubação com drogas como o agente estabilizador de mastócitos cromoglicato de sódio ou com o anestésico local lidocaina foi capaz de inibir a ativação mastocitária de maneira dose-dependente com valores de IC₅₀ de 1,1 µM e 4,5 µM, respectivamente. Concluímos que o sistema de ativação de fragmentos do subcutâneo dorsal de ratos é um ensaio eficiente, sensível e de baixo custo, podendo ser de grande utilidade na triagem de substância estabilizadoras de mátocto. **Apoio Financeiro:** CNPq, FAPERJ, CAPE

06.006

AÇÃO DE FOSFOLIPASES A₂ SECRETÓRIAS (sFLA_{2s}) NA EXPRESSÃO DE CICLOOXIGENASES.

Moreira, V.¹; Teixeira, C. de F. P.¹; Zamuner, S.²; Gutiérrez, J. M.³
¹Instituto Butantan - Farmacologia; ²Universidade de Calgary Farmacologia; ³Univ. Costa Rica Inst. Clodomiro Picado

Introdução: As sFLA_{2s} são enzimas importantes em processos fisiopatológicos inflamatórios, liberando ácido araquidônico e eicosanóides. A partir do veneno de *Bothrops asper* (VBa) isolou-se a miotoxina-II (MTX-II; Lis-49) sem atividade enzimática e a miotoxina-III (MTX-III; Asp-49) com atividade catalítica, ambas com estrutura de sFLA_{2s}. Este trabalho visa avaliar o efeito *in vivo* da MTX-II e III e da VBa, sobre a expressão da ciclooxigenase-1 (COX-1) e ciclooxigenase-2 (COX2) em leucócitos peritoneais de camundongos. **Métodos:** As miotoxinas e o VBa, em doses de 20 e 5 µg/animal, respectivamente, foram injetados via i.p., em camundongos Swiss machos. Após 1, 3, 6 e 12 h da administração, efetuou-se o lavado peritoneal para a obtenção de leucócitos e determinação da expressão das COXs por *Western blot*. **Resultados:** O VBa induziu a expressão de COX-2 nas 3, 6 e 12h e não aumentou a expressão isoenzima COX-1. As MTX-II e III induziram a expressão da COX-2 de 1 h a 12 h. Essas toxinas, porém, não modificaram a expressão da isoforma COX-1. **Discussão:** As sFLA_{2s} e o VBa não afetam a expressão de COX-1, porém

induzem a expressão de COX-2. O efeito das miotoxinas sobre a COX-2 é mais precoce e prolongado que o do VBa, sugerindo que as sFLA₂s sejam relevantes para o efeito causado pelo veneno. Os resultados sugerem ainda que a atividade catalítica das sFLA₂s não deve ser importante para induzir a COX-2, pois a MTX-II causou esse efeito. Os dados podem ampliar o entendimento das ações de sFLA₂s.

Apoio Financeiro: FAPESP

06.007

Crotalus durissus terrificus VENOM INDUCES ANTINOCICEPTION IN A RAT MODEL OF CANCER PAIN. INHIBITION OF TUMOR GROWTH BY CROTOXIN

Brigatte, P.¹; Sampaio, S. C.¹; Gutierrez, V.¹; Curi, R.²; Rangel-Santos, A. C.³; Guerra, J. L.⁴; Cury, Y.¹ ¹Instituto Butantan Laboratório de Fisiopatologia; ²ICB-USP Fisiologia e Biofísica; ³Instituto Butantan Imunopatologia; ⁴FMVZ Patologia

Crotalus durissus terrificus venom (Cdtv) induces central and peripheral antinociceptive effect. Despite these evidences, the action of Cdtv or crotoxin (Ctx), the main venom toxin, on experimental cancer pain has not been characterised yet. The present study determined: a) whether carcinosarcoma inoculation would induce hyperalgesia (paw pressure test) and allodynia (von Frey filaments) in rats; b) the antinociceptive effect of CdtV on cancer pain; c) the involvement of opioid receptors in the antinociceptive effect; d) the action of Ctx on tumor cell growth (determined by plethysmography) and hypernociception. For induction of tumor, 1x10⁶ Walker 256 carcinoma cells were injected by intraplantar (i.pl., 100µl) route into one of the hindpaws of Wistar rats. Hyperalgesia was observed at day 5 and allodynia at day 2 after tumor cells implantation. CdtV (800-1600 µg/kg, p.o) administered at day 5 produced antinociception. Naloxone (5 µg/i.pl.) blocked venom-induced antinociception. Prolonged treatment (5 days) with Ctx (18 µg/kg once a day) inhibited tumor growth (30%) and hypernociception. Naloxone, given at day 5, did not interfere with toxin-induced antinociception. These results demonstrate that CdtV induces antinociception on cancer pain mediated by opioid receptors. In addition, Ctx alleviate the cancer pain

by suppression of the tumor growth.

Apoio Financeiro: CAPES

06.008

ANTINOCICEPTIVE EFFECT OF Crotalus durissus terrificus VENOM ON NEUROPATHIC PAIN

Gutierrez, V.; Chacur, M.; Picolo, G.; Sampaio, S. C.; Cury, Y. Instituto Butantan Laboratório de Fisiopatologia

Crotalus durissus terrificus venom (CdtV) induces central and peripheral antinociception. The aim of the present work was to characterize the effect of CdtV on neuropathic pain induced by sciatic nerve constriction in rats (Bennet *et al*; *Pain*, 50:355-63, 1988) and to determinate the participation of opioid receptors, NO-cGMP pathway and K⁺ channels on this effect. The rat paw pressure test and von Frey hairs were used for hyperalgesia and allodynia evaluation, respectively. Both phenomena persisted during the 14 postoperative days. CdtV administered p.o. inhibited both phenomena at day 14 after surgery. This effect was long-lasting, since it persisted for 3 days after venom administration. The venom effect was blocked by intraplantar injection of ICI 174,864, antagonist of d opioid receptors and partially inhibited by nor-BNI, antagonist of k opioid receptors. The antinociception was not altered by CTOP, antagonist of m opioid receptors. The antinociception was also blocked by 7-nitroindazol, a selective inhibitor of the neuronal nitric oxide synthase, ODQ, inhibitor of the activation of guanylate cyclase, glibenclamida, ATP-sensitive potassium channel blocker and partially inhibited by Rp-GMPc, inhibitor of GMPc-dependent kinase protein. These data suggest that CdtV induces a long-lasting analgesic effect on neuropathic pain. This effect is mediated by peripheral k and d opioid receptors, by the NO-cGMP pathway, by PKG and by ATP-sensitive potassium channel. **Supported by:** FAPESP

06.009

CASCADE OF CYTOKINES MEDIATES INFLAMMATORY HYPERNOCEPTION IN MICE

Cunha, T. M.; Verri Jr., W. A.; Cunha, F. de Q.; Ferreira, S. H. FMRP-USP Farmacologia

Introduction: It was demonstrated in rats that a cascade of cytokine is a link between the stimulus and the release of primary mediators (prostanoids (PGs) and sympathomimetic amines), which sensitize the nociceptors. However, in writhing response in mice (zymosan or acetic acid), cytokines seems to act synergistically. Thus, the aim of present study was to investigate the role of TNFα, KC and IL-1b in Carrageenin (Cg)-induces hypernociception in mice. **Methods:** Mechanical hypernociception was evaluated using electronic pressure-meter paw test, in wild type and TNFR1 knockout mice (TNFR1-/-). **Results:** TNFα-induced hypernociception was abolished in TNFR1-/-, inhibited by IL-1ra (60%) or indomethacin (indo, 62%) but not by antibody against KC (AbKC) or guanethidine (gua). The KC-hypernociception was inhibited by AbKC (91%), IL-1ra (56%), indo (64%), gua (60%) and it was not altered in TNFR1-/. Moreover IL-1b-hypernociception was inhibited by IL-1ra (94%) and indo (75%) but not by AbKC, gua or in TNFR1-/. The Cg-induced hypernociception was abolished by indo plus gua, partially blocked in TNFR1-/- (60%) and in wild type mice by AbKC (41%), IL-1ra (48%), indo (63%) or gua (43%). The levels of TNFα and KC increased before IL-1b in Cg-inflamed paws measured by ELISA. **Discussion:** Thus, Cg-hypernociception depends on cytokines release following the primary mediators: Cg-TNFα-IL-1b-PGs and Cg-KC-sympathomimetic amines or Cg-KC-IL-1b-PGs. These results extend to mice the concept earlier described for rats, that a cascade of cytokines and primary mediators intermediates tissue injury and hypernociception. **Supported by:** FAPESP, CNPq.

06.010

IL-18 IS NOT INVOLVED IN HOST DEFENSE AGAINST SEPSIS INDUCED BY POLIMICROBIAL INFECTION

Moreno, S. E.¹; Alfaya, T.¹; Alves Filho, J. C.¹; Silva, J. S.²; Cunha, F. de Q.¹ - ¹FMRP-USP Farmacologia; ²FMRP-USP Imunologia

Introduction: Sepsis is a systemic inflammatory response commonly caused by bacterial infection, in which the neutrophil (nf) migration to infectious focus is essential for control and resolution of this process. Recently we demonstrated that failure of nf migration towards infectious focus is observed in sepsis induced by CLP and the outcome of this syndrome correlates with the levels of failure. Pro-inflammatory cytokines present in the infection site play an important role in the recruitment and activation of leukocytes, whereas their presence in the circulation mediates deleterious effects, such as the impairment of nf migration. IL18 is produced by macrophages in response to infections. Among several activities, this cytokine stimulates the production of IFN γ and is an important chemotactic factor and activator of neutrophils. **Methods:** The goal of this work was evaluate the role of IL18 on the nf migration into the infection site and survival of mice in sepsis induced by cecal ligation and puncture (CLP) and peritoneal bacteria inoculation (BI). **Results:** The IL18ko mice submitted to sub lethal and lethal sepsis induced by CLP showed no difference in survival rate, nf migration into peritoneal cavity and bacterial count in serum and exudates than compared with WT mice. The systemic inflammation, determinate by cytokine levels and sequestration of nf into the lung, was similar in WT and IL-18ko mice. Also there was no difference in survival rate in IL18ko and WT mice submitted to bacterial inoculation sepsis. Concluding, we suggested that IL18 does not seem to participate in the mechanism involved in the nf migration to infectious focus and its activation.

Supported by: CAPES/FAPESP/FAEPA

06.011

ICAM-1 DEFICIENT MICE ARE RESISTANT TO LETHAL EFFECT OF SEPSIS INDUCED BY CECAL LIGATION AND PUNCTURE (CLP)

Moreno, S. E.; Alves Filho, J. C.; Alfaya, T.; Cunha, F. de Q. FMRP-USP Farmacologia

Introduction: Sepsis is a systemic inflammatory response commonly caused by bacterial infection. Recently we demonstrated that failure of neutrophil (NE) migration towards infectious focus is observed in severe sepsis induced by CLP. However, despite this failure, it is observed a significant sequestration of the NE in remote organs, such as lung and heart, which contribute to the dysfunction of these organs, a frequent complication of sepsis. The accumulation of NE in these organs seems to be mediated by adhesion molecules, which expression is increased by cytokines. **Objectives:** The goal of present study was to investigate the role of ICAM-1 on NE migration into the infectious focus and on sequestration of NE in the lung and heart, as well as in survival rate of CLP-induced sepsis in mice. **Methodology:** It was used ICAM-1 knock-out (ICAM-1^{-/-}) and control (ICAM-1^{+/+}) mice subjected to sub lethal and lethal CLP. **Results:** The ICAM-1^{-/-} mice subjected to sub-lethal (SL)-CLP present NE migration to the infectious focus similarly to that observed in ICAM-1^{+/+}. Moreover, the ICAM-1^{-/-} mice submitted to lethal (L)-sepsis present failure of NE migration to infectious focus similar to that observed in ICAM-1^{+/+}. However, L-CLP ICAM-1^{-/-} mice displayed an important reduction in NE sequestration in lung (40%) and heart (95%) compared with ICAM-1^{+/+}. Furthermore, the L-CLP ICAM-1^{-/-} mice exhibiting a higher survival rate (50%) compared with ICAM-1^{+/+} mice, which presented 100% of mortality. **Conclusions:** These results suggest that ICAM-1 is not important for NE migration to infectious focus, but is essential for NE sequestration in remote organs in severe sepsis and, consequently to development of organ dysfunction syndrome. **Supported by:** CAPES, FAPESP, FAEPA

06.012

NITRIC OXIDE SYNTHASE ACTIVITY AND ENDOGENOUS INHIBITORS IN RATS RECOVERED FROM ALLERGIC ENCEPHALOMYELITIS

Teixeira, S. A.; Varriano, A. A.; Dias, A. A.; Martins Porto, R.; Muscará, M. N. USP Farmacologia

Experimental allergic encephalomyelitis (EAE) is an animal model of human multiple sclerosis. We have previously shown that the thermolabile endogenous inhibitory activity (EIA) of Ca²⁺-dependent nitric oxide synthase (cNOS) present in brain homogenates and sera from Lewis rats with EAE (stage III) was significantly lower than that observed in the control group, with no differences for iNOS EIA. In this work, we evaluated the EIA of NOS in animals which recovered from the clinical signs of EAE. EAE was induced by a subcutaneous injection of an emulsion containing guinea pig myelin basic protein (GP-MBP, 50 ug/rat), complete Freund's adjuvant (CFA) and *M. tuberculosis*. The animals were daily evaluated and scored for clinical symptoms, and 28 days after the immunization, those showing complete reversal of the clinical signs (EAE-r) were anesthetized and sacrificed. Brains were removed for subsequent analysis of NOS activity and nitrotyrosine (NT) expression by Western blot. No significant differences between control and EAE-r rats were found in brain cNOS and iNOS activities (12.6 \pm 3.7 vs 12.3 \pm 0.4, and 0.5 \pm 0.2 vs 0.4 \pm 0.1 pmol L-cit/min/mg prot, respectively). Both thermolabile and thermostable EIAs of either c- or iNOS present in brains or sera, as well as brain NT expression were not different between the animal groups. These results suggest that parallel to the reversal of the clinical signs of EAE, a normalization of the production of NO and related species occurs. The relation between these two phenomena still remains to be defined. **Supported by:** FAPESP, CNPq

06.013

EFEITOS DE METALOPROTEINASES DE VENENOS (MPVs) E SEUS DOMÍNIOS ESTRUTURAIS NA INTEGRIDADE DE MONOCAMADAS E VIABILIDADE DE CÉLULAS ENDOTELIAIS HUMANAS (CE) *IN VITRO*

Zamuner, S. F.¹; Olivo, R.¹; Assakura, M. T.²; Serrano, S. M. T.³; Silva, C. A.²; Teixeira, C. de F. P.¹ Instituto Butantan Farmacologia; ²Instituto Butantan Biofísica e Bioquímica; ³Instituto Butantan Experimental de Toxinologia

Introdução: As metaloproteinases são importantes componentes de venenos viperídicos e são classificadas em 4 grupos, de acordo com seus domínios estruturais. Neste estudo avaliou-se o efeito de MPVs e seus principais domínios estruturais sobre a integridade de monocamadas e a viabilidade de CE. **Métodos:** As CE (ECV-304) foram cultivadas em meio F12-SFB 10% em placas de 96 poços. A integridade das monocamadas e a viabilidade foram avaliadas de 30 a 120 min após a incubação com a MPA (domínio catalítico), isolada do veneno de *B. moojeni*, e com os recombinantes D-Bothrostatina (Bt) (domínio disintegrina) e DC-HF3 (domínio disintegrina-rico em cisteína) ou F12-SFB (controle). A integridade foi avaliada pelo número de CE aderidas às placas, coradas com cristal violeta, analisadas pela DO a 620 nm; e a viabilidade pela atividade da LDH, por espectrofotometria. **Resultados:** A MPA, a Bt ou o DC-HF3 não afetaram a viabilidade celular nas concentrações e tempos estudados. Contudo, a MPA, mas não o Bt ou DC-HF3, afetou a integridade do endotélio, na concentração de 25 µg/mL, a partir dos 30 min (22-80%). Em menores concentrações esse efeito ocorreu apenas aos 120 min. **Discussão:** A MPA altera a integridade de monocamadas sem causar morte celular. Desde que os domínios disintegrina e disintegrina-rico em cisteína não modificaram a integridade, sugere-se que o domínio catalítico das MPVs seja primordial para esse efeito. **Apoio Financeiro:** FAPESP, CAT/CEPID, Capes, CNPq

06.014

EFFECT OF NITRIC OXIDE BIOSYNTHESIS BLOCKAGE ON THE MICROVASCULAR REACTIVITY AND HEMATOPOESIS

Farsky, S.¹; Borelli, P.¹; Fock, R. A.¹; Ferreira Jr, M.²; Mello, S. B. V. de³ - ¹USP Análises Clínicas e Toxicológicas; ²Instituto Butantan Laboratório de Imunoquímica; ³USP Clínica Médica

Introduction: Animals chronically treated with L-NAME present reduction on leukocyte influx to inflammatory sites and *in vivo* impairment on leukocyte-endothelial interaction and on L-selectin expression on circulating leukocytes. Now, the role of L-NAME oral treatment (20 mg/kg/day/14days) on the microvascular reactivity and hematopoiesis was assessed. **Methods:** Male Wistar rats were treated with L-NAME, D-NAME or saline. Vascular reactivity to topical application of norepinephrine (NOR), histamine (H) and acetylcholine (Ach) as well as number and degranulation of mast cells (48/80 compound) were assessed by intravital microscopic. Bone marrow or blood were collected to determine number of cells and expression of adhesion molecules by flow cytometer. **Results:** The treatment did not alter vascular reactivity. Only the time required to Ach reverse the constriction elicited by NOR was delayed in L-NAME treated rats (200%). Peripheral PMN were increased by L-NAME treatment (100%). L-selectin expression on bone marrow cells was increased under stimulation only in cells obtained from control rats (100%). **Conclusions:** Data suggest that L-NAME treatment alter L-selectin expression in circulating and bone marrow granulocytes. This effect may promote the standstill of leukocytes in the blood compartment and should be responsible for the deficient leukocyte-endothelium interactions with subsequent impairment of leukocyte migration to the inflammatory sites. **Supported by:** FAPESP 02/02659-5

06.015

INIBIÇÃO PROFILÁTICA DA SÍNTESE DE ÓXIDO NÍTRICO É ANALGÉSICA NA OSTEoarTRITE (OA) EXPERIMENTAL EM RATOS.

Castro, R. R.¹; Menezes, M. G. C.²; Rocha, F. A.² ¹UFC Fisiologia e Farmacologia; ²UFC Medicina Clínica

Introdução: Evidências prévias têm mostrado a participação do NO na OA. Avaliamos o papel do NO na HA, utilizando o modelo de OA por Transecção do Ligamento Cruzado Anterior (TLCA) em ratos. **Métodos:** Ratos Wistar machos foram submetidos à secção cirúrgica do LCA (grupo OA). Um grupo SHAM foi submetido a todos procedimentos cirúrgicos, à exceção da TLCA. Controles NAIVE foram usados para comparação. A HA foi avaliada diariamente, até 4 semanas, pelo Tempo de Suspensão da Pata (TSP), no teste de Incapacitação Articular (IA) (Tonussi & Ferreira, 1992). O influxo celular e a concentração de nitrito foram medidas no exsudato articular, aos 7 dias de OA. Grupos OA receberam L-NAME (30 mg/kg i.p., 12/12 h), 1400W (0,5 mg/kg s.c./d) ou salina dados 30min antes ou 4 dias após TLCA, até 7 d de OA. **Resultados:** O Grupo OA apresentou IA maior, máxima durante a 1ª semana, comparado a SHAM (TSP:196,4±6,8 s; 143,9±8,1 s, respectivamente) (p<0,001). O influxo celular foi semelhante entre os grupos, enquanto que os níveis de nitrito foram 8,2±1,4*, 4,8±1,0, e 1,1±0,4 µM, para os grupos OA, SHAM e NAIVE (*p<0,05 em relação a NAIVE). A IA foi inibida (p<0,01) por L-NAME e 1400W dados profilaticamente (TSP: 149,6±2,9 s e 156,8±13,2 s, respectivamente), mas não de forma terapêutica (TSP: 237,7±28,1 s e 240,9±24,1 s, respectivamente), comparados a OA. **Conclusão:** Esta é a primeira demonstração que a inibição profilática da NO sintase reduz a HA em um modelo de OA. **Apoio Financeiro:** CAPES, FUNCAP.

06.016

EFEITO DE UM POLISSACARÍDEO DE GOMA GUAR (GG) NA HIPERALGESIA ARTICULAR EM UM MODELO EXPERIMENTAL DE OSTEOARTRITE (OA) EM RATOS.

Castro, R. R.¹; Menezes, M. G. C.²; Cunha, P. L. R.³; Feitosa, J. P. A.³; Rocha, F. A.² ¹UFC Fisiologia e Farmacologia; ²UFC Medicina Clínica; ³UFC Química Orgânica e Inorgânica

Introdução: A viscosuplementação é um tratamento intra-articular (i.art.) com derivados do ácido hialurônico (hilanos) de elevada viscosidade, que alivia a dor articular na Osteoartrite (OA). Nesse estudo, avaliamos um derivado de goma guar (GG) de alta viscosidade alternativo na viscosuplementação. Usamos GG em solução ou seu derivado reticulado (gel) na hiperalgesia articular (HA) em um modelo experimental de OA. **Métodos:** Ratos Wistar machos foram submetidos à Transecção cirúrgica do Ligamento Cruzado Anterior (TLCA)(grupo OA). Um grupo SHAM foi submetido à cirurgia, sem a TLCA. Controles NAIVE foram usados para comparação. A HA foi avaliada diariamente pelo Tempo de Suspensão da Pata (TSP), usando o teste de Incapacitação Articular (IA) para ratos. O influxo celular foi medido no exsudato articular aspirado aos 7 dias de OA. GG (100 µg i.art.) em solução ou gel, Hilano G-F 20 (100 µg i.art.) ou salina foram administrados 4 dias após TLCA, em grupos OA. **Resultados:** O grupo OA apresentou IA maior ($p < 0,001$) em relação a SHAM e NAIVE (TSP: 196,4±6,8 s; 143,9±8,1 s e 120,8±5,1 s, respectivamente). GG em solução, gel de GG ou Hilano G-F 20 reduziram a IA ($p < 0,001$) (TSP: 134,6±9,4 s; 123,8±10,9s; 133,4±13,9 s, respectivamente), comparados a OA. O influxo celular foi semelhante entre os grupos. **Conclusão:** Esta é a primeira demonstração de que GG reduz a HA na OA experimental, independente do estado físico, abrindo a perspectiva do uso desses compostos na viscosuplementação. **Apoio Financeiro:** CAPES, FUNCAP.

06.017

PAPEL DE ICAM-1 E DA MIGRAÇÃO DE NEUTRÓFILOS NA CARDIOMIOPATIA INDUZIDA POR DOXORRUBICINA (DXR) EM CAMUNDONGOS

Sousa, R. B.¹; Freire, R. S.¹; Capaz, R. A. C.¹; Silva, J. S.²; Brito, G. A. C.³; Souza, M. H. L. P.¹; Cunha, F. de Q.²; Ribeiro, R. A.¹ ¹UFC Fisiologia e Farmacologia; ²FMRP-USP; ³UFC Morfologia

Introdução: Apesar de em inúmeros modelos de disfunção cardíaca o papel da Molécula de Adesão Intercelular-1 (ICAM-1) estar bem estabelecido, não há dados na literatura que a correlacionem com a cardiotoxicidade induzida por DXR. O objetivo desse trabalho foi investigar o papel da ICAM-1 e a ocorrência de migração de neutrófilos na cardiomiopatia induzida por DXR. **Métodos:** Camundongos C57BL6 “selvagens” ou deficiente do gene de ICAM-1 receberam DXR (25 mg/kg IP) ou PBS; após 4 dias avaliou-se a função cardíaca pelo eletrocardiograma (ECG). A sobrevivência foi avaliada por 7 dias. Outro grupo de camundongos Swiss tratados do mesmo modo foram sacrificados após diferentes tempos: 6, 12, 24, 48, 72 e 96h para dosagem da atividade de mieloperoxidase (MPO) e análise histopatológica (AHP) do coração. Antes do sacrifício realizou-se leucograma. **Resultados:** Comparando com o controle, o tratamento com DXR causou aumento do segmento QTc e diminuição da voltagem do complexo QRS. A deleção de ICAM-1 preveniu as alterações do ECG e retardou o dia do óbito. Entre 24-48 h houve intensa neutrofilia. Entretanto, não se detectou atividade de MPO e a AHP confirmou a ausência de neutrófilos no coração. Porém, já a partir da 6ª h, observa-se a existência de progressivo infiltrado de mononucleares. **Discussão:** ICAM-1 parece ser fundamental na patogênese da cardiomiopatia induzida pela DXR;entretanto seu mecanismo de ação parece não depender de neutrófilos. **Apoio Financeiro:** CNPq

06.018

CYCLOOXYGENASE-INDEPENDENT MECHANISM OF IBUPROFEN-INDUCED ANTIPYRESIS: A ROLE FOR CENTRAL VASOPRESSIN V₁-RECEPTORS

Cristofolletti, R.; Fabricio, A. S. C.; de Melo Soares, D.; Veiga-Souza, F. H.; Souza, G. E. P. FCFRP-USP Lab. Pharmacology

Aim: We showed before that ibuprofen (IBU), but not indomethacin (INDO), abolished the fever induced by MIP-1α, ET-1 and PFPF. In this regard, the present investigation was designed to identify possible mechanisms of action of IBU other than those related to cyclooxygenase inhibition. To this end, the antipyretic actions of IBU and INDO were compared regarding the role of central V₁ AVP receptors on the mechanism of action of these two NSAIDs. **Results:** At 4,5 h after, fever induced by LPS was reduced by IBU (from 1,24±0,10°C to 0,34±0,17 °C, n=5) and INDO 8 and 2 mg/kg (from 1,33±0,14°C to 0,27±0,08°C and 0,66±0,05°C, respectively, n=5). Half a microgram of the vasopressin V₁-receptor antagonist, d (CH₂)₅Tyr (Me)AVP, applied bilaterally to the ventral septal area immediately before NSAIDs, abolished the antipyretic effect of INDO 8 (from 0,27±0,08°C to 1,30±0,03°C, n=5) and IBU (from 0,34±0,17°C to 1,24±0,10°C, n=5). Nevertheless, the antipyretic effect of INDO 2 was not reduced by the d (CH₂)₅Tyr (Me)AVP (from 0,66±0,05°C to 0,71±0,10°C, n=5). **Conclusion:** The present investigation supports the view that cyclooxygenase inhibition alone is not sufficient to explain the antipyretic activity of IBU and that stimulation of central vasopressinergic mechanisms is also a factor contributing to the production of antipyresis. **Supported by:** FAPESP Proc 02/02059-8.

06.019

A ROLE FOR INDUCIBLE NITRIC OXIDE SYNTHASE AND CYCLOOXYGENASE-2 ENZYMES IN ENDOTHELIN (ET)-1-INDUCED FEVER IN RATS

Cristofolletti, R.¹; Longhi, D. T.¹; Fabricio, A. S. C.²; Souza, G. E. P.¹
¹FCFRP-USP Lab. Pharmacology; ²Catholic University School of Medicine, Rome, Italy Institute of Pharmacology

Introduction: We showed before that central injection of ET-1 caused fever insensitive to indomethacin (2 mg/kg⁻¹)^[1]. However, i.c.v. injection of ET-1 increased the levels of prostaglandins (PG)E₂/PGF_{2α} in the cerebrospinal fluid (CSF). Celecoxib (selective COX-2 inhibitor) reduced (5 and 2.5 mg kg⁻¹) or did not alter (1 mg/kg⁻¹) the fever induced by endothelin-1 but, like indomethacin, abolished at all doses the increase of both PGs in the CSF^[2]. By using a more selective COX-2 inhibitor, lumiracoxib, and the selective iNOS inhibitor, aminoguanidine, here we investigated the involvement of COX-2 and iNOS in fever induced by ET-1. **Methods and Results:** Rectal temperature (Tr) was recorded in male Wistar rats for 6 h by telethermometry after i.c.v. ET-1 (1 pmol) or i.v. LPS (5 mg/kg) injections. Thirty minutes before administration of pyrogenic stimuli, rats received either aminoguanidine (50 mg/kg, i.p.) or lumiracoxib (5 mg/kg, by oral gavage). Lumiracoxib markedly reduced LPS- (3h: from 1,4±0,08°C to 0,14±0,06°C) and abolished ET-1-induced fever (3h: from 0,97±0,12°C to 0,03±0,06°C) as did aminoguanidine (3 h: from 0,73 ± 0,10°C to 0,11 ± 0,08 °C). **Conclusion:** Somehow the inducible enzymes COX-2 and iNOS, seem to be involved in fever triggered by ET-1. [1] Fabricio *et al.*, *Br J Pharmacol*, 125, p.542, 1998. [2] Fabricio A.S.C., Tese de Doutorado, FMRP, 2003. **Supported by:** FAPESP (grant 02/02059-8).

06.020

NOCICEPTIVE AND PRURITIC EFFECTS OF FORMALIN, COMPOUND 48/80 AND ENDOTHELIN-1 IN MICE.

Trentin, P. G.; Frighetto, M.; Rae, G. A. CCB-UFSC Pharmacology

Objective: Pain and pruritus in humans are distinct nociceptive sensory modalities, but animal models used to study both processes usually rely on behaviours evoked by noxious or pruritic stimuli as indices of nociception and pruritis, respectively. This study compares the capacities of formalin, endothelin-1 (ET-1) and compound 48/80 (48/80; a mast cell degranulator) to cause licking/biting (noxious nociception) of the hind paw or scratching bouts (pruritic behaviour) directed to the dorsum. **Methods and Results:** Intraplantar formalin (30 ul, 1%), ET-1 (10 pmol) and 48/80 (0.3 ug) caused marked licking/biting of the paw. Intradermal formalin and ET-1 (same doses) into the dorsum also evoked scratching bouts, but 48/80 was only effective at 10 ug. Both responses to formalin showed two phases (0-5 and 10-30 min). Those to other stimuli were monophasic. Dexamethasone (0.5 mg/kg, i.p.) markedly blocked paw licking/biting evoked by all 3 stimuli, while pyrilamine (histamine H1 receptor blocker; 10 mg/kg, i.p.) inhibited paw licking/biting caused by ET-1 or 48/80, but not formalin. Both treatments were ineffective against scratching evoked by all 3 stimuli. **Conclusion:** The mechanisms underlying hind paw licking/biting and dorsal scratching induced by these stimuli are different, possibly due to distinct characteristics of the body regions challenged. More importantly, they reveal the caveats of using animal models which rely heavily on behavioural responses to understand the cellular mechanisms involved in noxious and pruritic nociception. **Support:** CNPq and Capes.

06.021

KININ B₁ AND B₂ RECEPTORS ANTAGONISTS DID NOT ALTER THE NEUTROPHILIA INDUCED BY LPS IN DIABETIC RATS.

Cardoso, O. de O.¹; Melo, M. C. C.²; de Melo Soares, D.¹; Figueiredo, M. J.¹; Longhi, D. T.¹; Lindsey, C. J.³; Souza, G. E. P.² ¹FMRP-USP Farmacologia; ²FCFRP-USP Física e Química; ³UNIFESP-EPM Biofísica

Aim: Neutrophilia are a multimediated event of the acute phase response (APR) and depends on the integrity of the neural sympathetic system¹. Streptozotocin (SZT) promotes destruction of β pancreatic cells then mimicking diabetes type I, as well as, metabolic diseases. peripheral neuropathy and induction of B₁ receptor expression. In this study, we evaluated the involvement of the kinin B₁ and B₂ receptors in the neutrophilia in streptozotocin diabetic rats. **Methods and results:** Male Wistar rats (~200 g) were treated with streptozotocin (60 mg/kg, ip) 28 days before the experiment. Control animals received saline (S) or saline + LPS. The glycem levels were evaluated by the conductance method and rats showing plasmatic levels above 250 mg/dl were considered diabetic (D). The neutrophilia was evaluated 6 hours after the injection of LPS (50 mg/kg, ip) and the pre-treatment with B₁ (DALBK) and B₂ (HOE-140) receptor antagonists was given 30 minutes before the stimuli. The neutrophilia was 47% reduced in diabetic rats but the antagonists did not change this response (S = 1,15±0,37; S+LPS = 7,28±1,25; D+LPS = 3,21±0,45). **Conclusion:** These results suggests that B₁ and B₂ receptors to kinins are not involved in the reduced neutrophilia observed in diabetic animals. Since sympathetic nerves control the neutrophilia¹, is possible that are a sympathetic nerve failure in these animals like a diabetic neuropathy. 1. Altenburg, S., *J. Leukoc. Biol.* 61:689, 1997. **Supported by:** FAPESP, CNPq, FAEPA

06.022

PARTICIPAÇÃO DO RECEPTOR B₁ PARA CININAS NA DOR NEUROPÁTICA INDUZIDA PELA AVULSÃO DO PLEXO BRAQUIAL EM CAMUNDONGOS.

Quintão, N. L. M.¹; Pesquero, J. B.²; Campos, M. M.¹; Calixto, J. B.¹ - ¹UFSC Farmacologia; ²UNIFESP-EPM Biofísica

Introdução: As cininas são importantes mediadores envolvidos em diversos processos patológicos incluindo inflamação e dor. Como observado em diferentes modelos de lesão nervosa, a avulsão do plexo braquial (APB) é capaz de promover dor neuropática persistente envolvendo regiões distantes do local da lesão. O presente trabalho tem como objetivo avaliar o papel dos receptores B₁ para cininas (B₁R) na hipernocicepção mecânica e térmica induzida pela APB em animais nocaute para o receptor B₁ (B₁RKO). **Métodos e Resultados:** Foram utilizados camundongos fêmeas (20-30 g, N=4-6, fundo genético J129) selvagens ou B₁RKO. A hipernocicepção mecânica foi avaliada através da aplicação do filamento de von Frey 0,4 g e a hipernocicepção térmica através do teste de retirada da cauda. Os animais foram avaliados por 80 dias após a cirurgia. A APB induziu dor neuropática nos animais selvagens, que persistiu durante os 80 dias de observação em relação aos animais selvagens falso-operados. Os animais B₁RKO apresentaram uma redução significativa da hipernocicepção mecânica durante todo o período de observação, bem como da hipernocicepção térmica, até 14 dias após a cirurgia, com inibições de 80±7% e 58±6%, respectivamente. **Conclusão:** Estes resultados demonstram o envolvimento dos B₁R para as cininas neste modelo de dor neuropática. Desta forma, antagonistas seletivos dos receptores B₁ poderiam ser importantes alvos farmacológicos para o tratamento destas patologias. **Apoio Financeiro:** CNPq, PRONEX e CAPES.

06.023

EFFECT OF NITRIC OXIDE (NO) RELEASING GLUCOCORTICOIDS FOR THERAPY OF ALLERGIC INFLAMMATORY RESPONSES

Oliveira, M. dos S. S.¹; Barreto, E.¹; Pires, A. L. de A.¹; Carvalho, V.¹; Paiva, R.¹; Rocha, V.¹; Fráguas, M.¹; Cordeiro, R. S. B.¹; Johnson, M.²; Lagente, V.³; Wallace, J. L.⁴; Martins, M. A.¹; Silva, P. M. R. E.¹ ¹FIOCRUZ Fisiologia e Farmacodinâmica; ²GlaxoSmithKline; ³Université des Rennes; ⁴University of Calgary

Although glucocorticoids exhibit a wide range of undesired effects, they still constitute an important approach to treat allergic inflammatory diseases. Given the potential role for using drug association to get a more effective inhibition, with less side effects, this study evaluated the local effect of steroids coupled with nitric oxide (NO)-releasing moiety on the allergic pleurisy in rats. Wistar rats were actively sensitized with aluminium hydroxide and ovalbumin, followed by intrapleural challenge with antigen, 14 days later. We noted a marked eosinophil infiltration at 24 h (from 1.2±0.2, n=6 in to 14.4±2.5, n=6), preceded by eotaxin generation at 6 h. Local administration of prednisolone or NO-prednisolone (0.8-8.0 µmol/kg) effectively inhibited inflammatory parameters at 6 h post-challenge, under conditions which the doses required for the latter to produce maximal reduction were about one-third the dose of the former. In addition, we observed that the co-administration of prednisolone (2.8 µmol/kg) (from 14.8±1.4 to 8.7±1.2, n=6) and the NO donor DETA-NONOate (1.4 µmol/kg) (from 14.8±1.4 to 6.9±0.6, n=6) locally produced greater reduction of the eosinophil recruitment than either drug alone. Since inflammation is critically involved in the context of allergic processes, our findings clearly suggest that strategies such as association of steroids with a NO releasing moiety may constitute promising therapeutic approaches for the treatment of pulmonary allergic diseases. **Financial support** CNPq/BRAZIL

06.024

INCREASED EXPRESSION OF BCL-2 PROAPOPTOTIC PROTEINS CONTRIBUTES TO THE REFRACTORINESS OF MAST CELLS FROM DIABETIC RATS

Oliveira, M. dos S. S.¹; Barreto, E.¹; Carvalho, V.¹; Bertho, A.¹; Diaz, B.²; Cordeiro, R. S. B.¹; Martins, M. A.¹; Silva, P. M. R. E.¹ ¹FIOCRUZ Fisiologia e Farmacodinâmica; ²INCa Biologia Celular DPQ

Mast cells from alloxan-diabetic rats were shown to be refractory to immunological and non-immunological stimulation in vitro, by a mechanism associated with a marked increase in the actin polymerization (Barreto *et al.*, ALF 2000). Since cytoskeleton can actively regulate several cellular processes, here we examined its potential contribution to the hyporesponsiveness of diabetic mast cells. Alloxan (40 mg/kg) was injected intravenously into male Wistar rats and mast cells were isolated by means of continuous Percoll gradient. Apoptosis was analyzed with propidium iodide staining in the FACS and annexin V expression by Western blotting. We noted that mast cells from diabetic rats exhibited a marked augmentation in the apoptosis rate as compared to that of normal cells as attested by either FACS analysis (65% compared to 5%, respectively) and annexin V expression (98%). In addition, increased expression of Bax (17%) but not Bcl-2 was noted in the case of diabetic mast cells. Similar response was noted following dexamethasone treatment of naive rats. Thus, our findings suggest that apoptosis seems to account for the refractoriness of diabetic mast cells by a mechanism related to an over expression of the proapoptotic Bax protein. **Financial support** PAPES 3/FIOCRUZ, CNPq, FAPERJ

06.025

SUPEROXIDE ANION (O₂⁻) RELEASE IS ALTERED IN INTRAUTERINE UNDERNOURISHED RATS

Landgraf, M. A. V.; Franco, M. C.; Nigro, D.; Tostes, R. C. A.; Carvalho, M. H. C.; Teixeira, S. A.; Muscara, M. N.; Fortes, Z. B. USP

Introduction: We demonstrated that leukocyte migration, that represents a pivotal role in the defense mechanisms, is reduced in the intrauterine

undernourished rats (UR). Reduction of endothelial P-selectin and ICAM-1 expressions and no basal L-selectin expression might contribute to alter leukocyte behavior (Landgraf *et al.*, *J. Hypertension*, 22:45S, 2004).

Methods: To investigate other mechanisms involved in the decreased leukocyte migration in UR, release of O_2 induced by zymosan-activated plasma (ZAP), that mediates Fc receptor-phagocytosis, and by phorbol myristate acetate (PMA), that activates protein kinase C, was assessed in neutrophils of nourished rats (NR) and UR by a cytochrome c reduction assay. **Results:** Whereas ZAP-induced release of O_2 was increased (42.6%), PMA-induced release was decreased (31%) in UR compared to NR. **Conclusion:** Although UR presented increased ZAP-induced release of O_2 , an important chemotactic agent, they presented reduction in leukocyte migration. This can be due to the decreased release of O_2 by other mechanisms, such as the PKC pathway, that is stimulated by PMA. **Supported by:** FAPESP/PRONEX

06.026

ESTUDOS FARMACOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DOS MECANISMOS ENVOLVIDOS NA INDUÇÃO DOS RECEPTORES B_1 NA ÍRIS DE PORCO *IN VITRO*

El Sayah, M.; Medeiros, R.; Calixto, J. B. UFSC Farmacologia

Objetivos: O objetivo do presente estudo foi analisar através de técnicas farmacológicas e bioquímicas, alguns dos mecanismos envolvidos na indução do receptor B_1 (RB1) após a incubação com lipopolisacarídeo (LPS) de *E. coli* na íris isolada de porco (IIP). **Métodos e**

Resultados: A íris foi cuidadosamente isolada de olhos de porco obtidos de abatedores locais. Preparações com cerca de 2 cm de comprimento por 2 mm de largura foram montadas em cubas de vidro contendo solução de Krebs Henseleit à 37°C sob tensão basal de 100 mg. Após o período de equilíbrio de 90 min e na 6ª h após a montagem das preparações foram feitas CCR ao agonista seletivo do RB1 a des-Arg⁹-BK (DARG) e nenhuma resposta foi observada. A partir desses dados, passou-se a adicionar nas preparações o LPS (1 µg/mL) em vários intervalos de tempo (2, 4, 6, 12 e 24 h) e

os resultados mostraram um aumento marcante da resposta contrátil (RC) à DARG. A melhor RC foi obtida na 4ª h, passando-se a analisar a indução do RB1 neste período. Outro agonista B1 estudado nesta preparação foi a Lys-des-Arg⁹-BK que não mostrou diferença significativa em relação a CCR da DARG. No entanto, na IIP a RC da BK na presença do LPS foi reduzida quando comparada sem LPS. Além disso, a cicloheximida, actinomicina e dexametasona, inibiram totalmente a RC da DARG na IIP, já o PDTC (300 µM) causou inibição de 48,76% sendo este resultado também confirmado pela técnica de ensaio de deslocamento em gel. Ainda, os inibidores da MAPK, fosfatidilinositol-3 quinase (LY294002, 1 µM), p38 (SB20358, 10 µM) e da MEK-1 (PD98059, 10 µM), também causaram significativa inibição de 49±3, 84±5 e 64±2 %, respectivamente das CCR induzidas pela DARG na IIP. **Conclusão:** Analisados em conjunto, esses resultados mostraram que os RB1 não são constitutivos na IIP, no entanto 4 h após a incubação das preparações com LPS ocorre a indução tempo-dependente do RB1, através de mecanismos dependentes da síntese proteica e de fatores de transcrição como o NF-κ B e das MAPK (fosfatidilinositol-3 quinase, p38 e MEK-1). **Apoio Financeiro:** CNPq, FINEP e PRONEX.

06.027

CHANGE IN BODY TEMPERATURE INDUCED BY CRF AND UCN: A COMPARATIVE STUDY II

Figueiredo, M. J.¹; Fabricio, A. S. C.¹; Melo, M. C. C.²; Vercesi, J. A.²; Souza, G. E. P.² ¹FMRP-USP; ²FCFRP-USP Física e Química

Aim: UCN, a neuropeptide closely related to corticotrophin-releasing factor (CRF) appears to have higher affinity than does CRF for CRF₂ receptors¹, the subtype widely distributed in brain areas including the hypothalamus². This study compared the effect CRF receptors antagonists (CRF₁ and CRF₂) on fever to CRF and hyperthermia to UCN. **Method and Results:** rT was measured by telemetry in male Wistar rats (200 g), each 30 min, by 6 h, after icv injection of CRF or UCN (1 nmol each). The rats received prior treatment with astressin (CRF₁/CRF₂ antagonist, 7 nmol, 15 min

before) and antalarmin (CRF₁ antagonist, 20 mg/kg, 2 h before). Astressin blocked UCN-induced hyperthermia (from 0,62±0,11 to 0,06±0,15°C, 4th h, *p*< 0.05) and CRF-induced fever (from 0,79±0,11 to 0,27±0,11°C, 4th h, *p*<0.05). Antalarmin did not modify the hyperthermia to UCN, but reduced the fever evoked by CRF (from 1.53±0.17 to 0.80±0.17°C, 3th h, *p*<0.05). **Conclusion:** These data suggest that the fever induced by CRF is mediated by CRF₁ and CRF₂ receptors while the hyperthermic response induced by UCN depends on CRF₂ receptors.¹ Vaughan, *Nature*, 378:287, 1995.² Heinrichs, *Reg Pept*, 71:15, 1997. **Supported by:** FAPESP, CAPES.

06.028

CHANGE IN BODY TEMPERATURE INDUCED BY CRF AND UCN: A COMPARATIVE STUDY I

Figueiredo, M. J.¹; Fabricio, A. S. C.¹; Souza, G. E. P.² - ¹FMRP-USP; ²FCFRP Física e Química

Aim: CRF and UCN are considered component of the CRF family peptides¹ and central injection of CRF increase body temperature of rats². This study compared the ability of CRF and UCN in inducing thermoregulatory response. The effect of antipyretic drugs on the rectal temperature (rT) changes induced by these peptides was also investigated. **Method and Results:** Rectal temperature (rT) and tail skin temperature (sT) were measured by telemetry in male Wistar rats (200 g), each 30 min, by 6 h, after icv injection of CRF or UCN (1 nmol each). Rats received indomethacin (2 mg/kg); celecoxib (5 mg/kg) 30 min before and dexamethasone (0,5 mg/kg/ml, 1 h before). CRF and UCN increased (rT) that was insensible to indomethacin and celecoxib. Dexamethasone did not modify UCN but attenuated the increase in rectal temperature to CRF (0.85±0.14 to 0.48±0.10°C, 5th h, *p*<0.05). The increase in body temperature induced by CRF was accompanied by a reduction in sT (-0.04±0.18 to -0.68±0,25°C, 1th h, *P*<0.05). On contrary, UCN promoted an elevation in sT (-0.11±0.25 to 1,03±0.14°C, 2th h, *P*<0.05). **Conclusion:** The increase in body temperature induced by CRF seems to depend on mediators not related to prostaglandins. CRF-induced increase

in rT is a characteristic fever since it increased rectal temperature parallel to a heat conservation (cutaneous vasoconstriction). The increase in rectal temperature to UCN is indicative of hyperthermic response since it induced a termoregulatory mechanism for heat loss (cutaneous vasodilatation) and is insensitive to antipyretic drugs.¹ Vaughan, *Nature*, 378:287, 1995.² Zamprônio, *Inflam. Res*, 49:1, 2000.
Supported by: FAPESP, CAPES

06.029 HYPERNOCEPTION INDUCED BY SPINAL NERVE LIGATION IN RATS: TIME COURSE AND EFFECTS OF MORPHINE

Werner, M. F. P.¹; Zamprônio, A. R.²; Rae, G. A.¹ ¹UFSC Farmacologia; ²UFPR Farmacologia

Objectives: Evaluate the time course of nocifensive responses to hindpaw mechanical and thermal stimuli following spinal nerve ligation (SNL) injury. **Methods and Results:** Male Wistar rats were anaesthetised and tight 6-0 silk thread sutures were placed unilaterally around L5 and L6 spinal nerves (Kim & Chung, *Pain*, 50:355, 1992). Spinal nerves were not tied in sham-operated rats. Mechanical hypernociception was assessed using von Frey hairs (up-down method); heat hypernociception by the paw-withdrawal latency (PWL) to radiant heat (Hargreaves method); cold hypernociception by the number of the nocifensive shaking/licking responses induced by acetone spray. SNL injury did not cause autotomy or affect body weight gain. Mechanical hypernociception was evident from day (D) 3 until D93 after SNL injury (peak on D12; Sham: 16.0±1.9, SNL: 2.15±0.62 g), restricted to the ipsilateral paw. SNL injury also reduced ipsilateral PWL response to heat from D9 until D27 (peak on D12; Sham: 12.6±0.7, SNL: 8.6±0.5 s). Cold hypernociception was observed between D3 and D40 after SNL injury (ipsilateral peak on D6; Sham: 0.8±0.5, SNL: 14.3±1.7), and was bilateral. Morphine (3 mg/kg, s.c.) markedly inhibited hypernociception to all 3 stimuli at the peak effects of SNL injury. **Conclusion:** SNL injury causes sustained morphine-sensitive hindpaw hypernociception to mechanical, heat and cold stimuli, but the changes in nocifensive responses to these stimuli show distinct time courses and

characteristics. **Supported by:** Capes, CNPq.

06.030 KININ B1 AND B2 RECEPTORS ARE INVOLVED IN NEUROPATHIC PAIN INDUCED BY SPINAL NERVE LIGATION IN RATS

Werner, M. F. P.¹; Ferreira, J.¹; Calixto, J. B.¹; Zamprônio, A. R.²; Rae, G. A.¹ ¹UFSC Farmacologia; ²UFPR Farmacologia

Objective: To assess the roles of kinin B1 and B2 receptors in peripheral nerve injury induced by spinal nerve ligation (SNL). **Methods and Results:** Male Wistar rats were anaesthetised and 6-0 silk thread sutures were placed around L5 and L6 spinal nerves (Kim & Chung, *Pain*, 50:355, 1992). No ties were placed in sham-operated rats. Thermal and mechanical stimulation was applied to the ipsilateral hindpaw. Thermal hypernociception was evaluated by measuring paw-withdrawal latency to radiant heat (Hargreaves method), or by spraying acetone (cold) and counting paw shaking/licking responses. Mechanical hypernociception was assessed using von Frey hairs (up-down method). The effect of B2 (Hoe-140; HOE) or B1 (des-Arg⁹-[Leu⁸]BK; DALBK) receptor antagonists (1 µmol/kg, i.p.; controls received PBS) on responses to mechanical and heat stimuli was tested on day 12, cold stimuli on day 6, after SNL. SNL-induced heat hypernociception was reduced by HOE and DALBK (at 120 min after treatment; Sham: 11.4±0.4 s; SNL-PBS: 6.0±0.4 s; SNL-HOE: 8.7±0.4 s; SNL-DALBK: 8.6±0.6 s). Cold hypernociception in SNL rats was reduced 90-150 and 150-210 min after HOE and DALBK, respectively (at 150 min; Sham: 0.5±0.2; SNL-PBS: 14.7±2.0; SNL-HOE: 8.3±0.9; SNL-DALBK: 9.4±1.1). Small effects were seen against mechanical hypernociception. **Discussion:** Kinin B2 and B1 receptors are involved in the mechanisms underlying cold and heat hypernociception induced in this neuropathic pain model. **Supported by:** CAPES, CNPq and PRONEX.

06.031

EFEITO DE DROGAS QUE INTERFEREM COM O GABA, HISTAMINA E SEROTONINA NO TESTE DE INCAPACITAÇÃO ARTICULAR INDUZIDA POR FORMALINA.

Martins, M. A.; Tonussi, C. R. UFSC Farmacologia

Introdução: Anti-histamínicos e anti-serotonérgicos diminuem a nociceção causada pela formalina no tecido subcutâneo, mas o midazolam produz hiperalgesia. Nosso objetivo foi avaliar o efeito desses fármacos em modelo de nociceção em tecido profundo. **Métodos:** Em ratos Wistar machos loratadina (5 mg/kg -60 min, i.p.; antagonista H₁), metisergida (5 mg/kg -60 min, i.p.; antagonista 5-HT_{1,2,5,7}), midazolam (0,25 e 1 mg/kg -30 min, i.p.; agonista benzodiazepínico), pentilenotetrazol (30 mg/kg -30 min, i.p.; antagonista GABA_A), diclofenaco (5 mg/kg -60 min, i.p.), morfina (4 mg/kg -60 min., s.c.) ou os respectivos veículos foram aplicados antes da injeção de formalina (5%, 0,05 ml) no joelho direito dos animais. Avaliou-se o tempo de elevação da pata (TEP, s) durante marcha de 60 s. **Resultados:** Formalina induziu aumento do TEP em duas fases (0-5 e 10-30 min). Loratadina, metisergida, ou a combinação das duas, causaram aumento do TEP na 2ª fase (P=0.0001, P=0.0179, P=0.0023, respectivamente). Midazolam (0,25) causou acentuada diminuição do TEP na 2ª fase (P<0.0006), porém o pentilenotetrazol ou a dose maior de midazolam não causaram efeito sobre o TEP. Morfina diminuiu o TEP tanto na 1ª, quanto na 2ª fase (P<0.01) e diclofenaco diminuiu o TEP na 2ª fase (P<0.001). **Discussão:** As diferenças de resultados entre os testes de formalina articular e o subcutâneo, podem ser devido a diferenças anatômicas e/ou no processamento nociceptivo, portanto os estudos de nociceção cutânea devem ser complementados com modelos de dor em tecido profundo. **Apoio Financeiro:** CAPES, CNPq.

06.032

ROLE OF ENDOGENOUS ENDOTHELIN IN THE PERIPHERAL INFLAMMATORY NOCICEPTION

Pochapski, M. T.; Zampronio, A. R. UFPR - Farmacologia

Introduction: Endothelins (ET) are peptides released by inflammatory stimuli, including Gram-negative bacterial lipopolysaccharide (LPS) and cytokines. These peptides may act in inflammatory nociception through ET_A and ET_B receptors which can be selectively blocked by antagonists such as the peptide BQ 123 and BQ 788, respectively. The aims were to assess the influence of ET-1 on nociceptive response induced by formalin and on the LPS-induced hyperalgesia.

Methods: Male Wistar rats (180g) were given an intraplantar (i.pl.) injection of ET-1 (10 pmol/50 µl) in the hindpaw, 30 min before formalin 0,63% and observed during 40min (0-5 min-phase I; 20-40 min-phase II). Also, ET_A and ET_B antagonists (BQ 123 and BQ 788-10 nmol/50 µl-i.pl.) were given 30 min before formalin 2,5%. For hyperalgesia, we assessed the increment caused by a previous injection of LPS in the formalin-induced nociception. Animals received LPS (10 µg/50µl) 72h before formalin 0,63%. BQ 123 or 788 was administered before LPS or before formalin. Control animals were given saline and formalin in all tests. **Results:** ET-1 increased in 87% the phase I and 69% the phase II of the nociceptive response evoked by formalin 0,63%. None ET antagonists affected the nociception induced by formalin 2,5%. However, BQ 123 decreased the phase II of the LPS-induced hyperalgesia when given before LPS or before formalin (27 and 19%, respectively).

Discussion: These data suggest that endogenous ET-1 may participate in the LPS-induced hyperalgesia since BQ 123 decreased the phase II this response but was ineffective in the nociception induced only by formalin.

Supported by: CAPES

06.033

AVALIAÇÃO DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE LECTINAS DE ALGAS MARINHAS EM RATOS COMO MODELOS DE RESPOSTA INFLAMATÓRIA

Albuquerque-Pinto, L. C.¹; Alencar, N. M. N. de²; Cavada, B. S.³; Ribeiro, R.A.² - ¹FM-UFC; ²UFC Fisiologia e Farmacologia; ³UFC Bioquímica e Biologia Molecular

Introdução: Há muitas evidências que apontam o envolvimento de proteínas ligantes de carboidratos, entre as quais as lectinas, na intermediação do reconhecimento entre células em vários sistemas biológicos conhecidos. Desde a década passada, diversos estudos já foram realizados com o objetivo de investigar a importância da interação proteína-carboidrato no processo de aderência de leucócitos a células endoteliais durante a resposta inflamatória. Desta forma, várias lectinas vegetais e animais já têm sido utilizadas como ferramentas para estudo dos possíveis mecanismos envolvidos numa resposta inflamatória, tanto em células de ratos e camundongos, como em humanas. Devido a ausência na literatura de dados concretos relacionados ao comportamento de lectinas de algas marinhas no processo inflamatório em animais superiores, resolvemos estudá-las em modelos de resposta inflamatória em ratos, procurando avaliar seu comportamento anti ou pró-inflamatório. **Métodos:** Foram utilizados ratos Wistar machos (180 a 250 g) para os ensaios de Peritonite (medida da migração de neutrófilos p/ a cavidade peritoneal, segundo Cunha, F. Q. & Ferreira, S. H., *Eur. J. Pharmacol.*, 129:65, 1986), divididos em grupos de 5 a 6 animais. O grupo Sal recebeu apenas salina via i.p. (1 ml); o grupo Cg, carragenina 500 microg/ml/rato via i.p. e os grupos Lec receberam as lectinas testadas: *Bryothamnion seaforthii* [BS], *Bryothamnion triquetrum* [BT] e *Hypnea musciformis* [HM] (0,25 a 1,5 mg/kg via i.v.) 30 a 60 minutos antes do estímulo Cg (ensaio de atividade anti-inflamatória), ou sem o estímulo (ensaio de atividade pró-inflamatória). As diferenças estatísticas entre os grupos foram avaliadas pelo teste de Análise de Variância (ANOVA), considerando p<5%. **Resultados:** Nos ensaios de atividade pró-inflamatória,

as três lectinas apresentaram contagens médias de neutrófilos maiores que a do grupo Sal na dose de 1,0 mg/kg, porém, com significância estatística apenas para BS e HM. Nos ensaios de atividade antiinflamatória, as lectinas BS e HM apresentaram melhor efeito antiinflamatório (menor n° médio de neutrófilos) nas doses de 1,0 e 1,5 mg/kg e a lectina BT na dose de 0,25 mg/kg, em relação ao grupo Cg. **Conclusões:** Os resultados obtidos até o momento em nosso trabalho, utilizando o modelo de Peritonite, apontam para uma atividade dúbia das lectinas BS e HM, ocorrendo tanto efeito pró quanto antiinflamatório, fato esse que não ocorreu até o momento com a lectina BT que apresentou apenas efeito antiinflamatório e com a menor dose testada (0,25 mg/kg). Estamos buscando confirmar estes achados em outros modelos experimentais de resposta inflamatória em ratos, que permitam elucidar os prováveis mecanismos envolvidos na ação anti e pró-inflamatória destas lectinas.

06.034

ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DE DERIVADOS DO TRITERPENO AMIRINA

Miotto, L. A.¹; Meotti, F. C.²; Soldi, C.³; Pizzolatti, M. G.³; Santos, A. R. S.¹ - ¹UFSC Ciências Fisiológicas; ²UFSC Química; ³UFSC Química

Introdução: Recentemente demonstrou-se que o triterpeno amirina foi efetivo em reduzir de forma dose dependente a nocicepção induzida pela injeção intraperitoneal de ácido acético (AA, 0,6%), com DI₅₀ de 0,79 (0,63-1,01) mg/kg e inibição de 84±3%. Neste sentido, o presente estudo tem por objetivo avaliar a possível atividade antinociceptiva de sete derivados estruturais da amirina na nocicepção induzida pelo AA em camundongos.

Métodos e resultados: Foram utilizados Camundongos Swiss (30-40 g n=6-8/grupo) de ambos os sexos. A administração intraperitoneal dos novos derivados da amirina (3-10 mg/kg), identificados como acetato de amirina (C1), benzoilato de amirina (C2), palmitato de amirina (C3), formiato de amirina (C4), 11'oxiamirina (C5), acetato de 11'oxiamirina (C6) e amirenona (C7), e da aspirina (100 mg/kg), causou redução de forma dose dependente e significativa das

Farmacologia da Inflamação e da Dor

contorções abdominais induzidas pelo AA. Os derivados analisados foram de 7 a 13 vezes mais potente que a aspirina. As DI_{50} calculadas foram: 2,45(2,12-2,82); 2,79(2,07-3,75); 1,78(1,48-2,14); 2,01(1,71-2,36); 2,74(2,11-3,56); 2,02(1,60-2,55); 3,45(2,07-5,75) e 24,0(13,1-43,8) mg/kg e inibição de 80±5%; 94±3%; 80±6%; 84±7%; 86±6%; 81±9%; 89±4% 83±2% para o C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7 e aspirina, respectivamente. **Conclusão:** Os resultados obtidos no presente estudo demonstram que os derivados analisados são dotados de atividade antinociceptiva no modelo utilizado, sendo mais potente que a aspirina. Além disso, as modificações estruturais realizadas na molécula de amirina não alteram significativamente a atividade antinociceptiva quando comparada ao composto original. Os estudos estão em andamento visando caracterizar o mecanismo de ação bem como verificar a relação entre a estrutura química e a atividade antinociceptiva **Apoio Financeiro:** CNPq, CAPES, UFSC

06.035 NOCIFENSIVE RESPONSES TO MECHANICAL, THERMAL AND CHEMICAL STIMULI IN CHRONIC INFRAORBITAL NERVE INJURY IN THE RAT.

Chichorro, J.G.¹; Zampronio, A. R.²; Rae, G. A.¹ ¹UFSC Farmacologia; ²UFPR Farmacologia

Objective: Evaluate the time courses of changes induced by constriction of the infraorbital nerve (ION) in responses to mechanical, thermal (heat and cold) and chemical stimuli. **Methods:** Two loose silk 4-0 ligatures were tied around the ION of male Wistar rats (180-200 g). Rats were tested repeatedly for responsiveness to: mechanical stimuli (escape/attack reactions and/or face grooming evoked by Von Frey filaments); cold stimuli (facial grooming behaviour induced by applying tetrafluoroethane spray to snout); heat stimuli (latency for flicking snout and/or vibrissae or head withdrawal induced by radiant heat applied to snout); chemical stimuli (time spent rubbing snout after 50 μ l s.c. 1% formalin injection into upper lip). **Results:** ION constriction injury caused bilateral mechanical hypernociception, starting on day (D) 9, reaching a stable plateau on D12 (from

>10 g to 1.0±0.3 and 1.5±0.6 g) throughout D120. Ipsilateral cold and heat thermal hypernociception appeared on D2 and lasted until D12. Formalin evoked a biphasic nociceptive behaviour (first phase: 0-3 min and second phase: 12-30 min) in sham-operated rats. Ipsilateral first-phase nociception was abolished in ION injured rats from D4 until D40, but second-phase responses were increased by 58-82%. **Discussion:** ION injury, a model of neuropathic trigeminal pain, causes marked changes in nociceptive responses. Hypernociception to mechanical stimuli is bilateral and long-lasting, but that to thermal stimuli and formalin (second-phase) are unilateral and shorter-lived. **Supported by:** CNPq and CAPES

06.036 ROLES OF ENDOTHELINS IN COLD HYPERALGESIA INDUCED BY CHRONIC INFRAORBITAL NERVE CONSTRICTION IN RATS.

Chichorro, J.G.¹; Zampronio, A. R.²; Souza, G. E. P.³; Orléans-Juste, P. D.⁴; Rae, G. A.¹ ¹UFSC Farmacologia; ²UFPR Farmacologia; ³FCFRP Física e Química; ⁴University of Sherbrooke Pharmacology

Objective: To characterise the effects of endothelin receptor antagonists bosentan (mixed ET_A/ET_B), ABT-627 (ET_A) and A-192621 (ET_B) to reduce cold hyperalgesia in a rat model of trigeminal neuropathic pain. **Methods:** Infraorbital nerve (ION) constriction injury was slightly different from that proposed by Vos *et al.* (*J. Neurosci.*, 14:2708, 1994). The rostral end of the ION of male Wistar rats (180-200 g) was exposed and two silk 4-0 ligatures were then tied loosely around it. Cold stimulation (tetrafluoroethane spray) was applied to the centre of the vibrissal pad, on the nerve-injured side, and duration of facial grooming behaviour was recorded over the next 2 min. **Results:** ION injury caused pronounced cold hyperalgesia, which started 2 days after surgery and lasted up to day 12. Given on day 4, bosentan (10 mg/kg, i.v.) completely suppressed cold hyperalgesia 1 to 6 h after injection. ABT-627 (10 mg/kg, i.v.) and A-192621 (20 mg/kg, i.v.) showed shorter-lasting antihyperalgesic effects (lasting 150 and 90 min; maximal

inhibitions of ~50%). Morphine (2.5 mg/kg, s.c.) fully inhibited the nociceptive response at 30 min and caused significant reductions over the next 60 min. **Conclusion:** Cold hyperalgesia due to ION constriction injury depends on ongoing ET_A and ET_B receptor-operated mechanisms. **Supported by:** CNPq, CAPES, FAPESP, FUNCITEC and CIHR.

06.037 EFFECT OF BAY 41-2272 ON HUMAN EOSINOPHIL *IN VITRO*

Moreira, J.; Thomazzi, S. M.; De Nucci, G. de; Antunes, E. UNICAMP Farmacologia

Introduction: Nitric oxide (NO) donors such as sodium nitroprusside, SIN-1 and SNAP inhibit human eosinophil (EO) chemotaxis *in vitro* and elevate the cyclic GMP levels (Thomazzi *et al.*, *Br J Pharmacol*, 141:653, 2004). The compound BAY 41-2272 has been described as a novel activator of the soluble guanylyl cyclase by mechanisms independent of NO (Stasch *et al.*, *Nature*, 410:212, 2001; Straub *et al.*, *Bioorg Med Chem Lett*, 11:781, 2001). This study was designed to investigate the effects of the BAY 41-2272 on fMLP (1×10^{-7} M)-induced human EO chemotaxis, cGMP levels and cytotoxicity. **Methods:** Human EO were purified using a Percoll gradient and an immunomagnetic cell separator. Human EO were exposed to BAY 41-2272 (0.01-10.0 μ M) for either short (10 min) or prolonged (90 min) time periods. **Results:** Exposition of EO with BAY 41-2272 for either 10 or 90 min significantly inhibited the EO chemotaxis that was evaluated. No cell toxicity was observed in any experimental condition using the MTT assay. Exposition of EO for 90 min with BAY 41-2272 resulted in higher cGMP levels (5.8±0.9 nM/ 1.5×10^6 cells) compared with the 10-min protocols (2.7±0.2 nM/ 1.5×10^6 cells), that was measured using an enzyme immunoassay kit. **Discussion:** Our findings show that inhibitory effects of fMLP-induced human EO chemotaxis by BAY 41-2272 at short or prolonged exposition time were accompanied by significant elevations of cGMP above basal levels. However, no direct correlation between elevations of cGMP levels and the chemotaxis inhibition was observed. **Supported by:** FAPESP/CAPES

06.038

SIGNAL TRANSDUCTION INVOLVED IN PHAGOCYTOSIS INDUCED BY A SECRETORY PLA₂

Zuliani, J.¹; Gutiérrez, J. M.²; Teixeira, C. de F. P.¹ ¹Instituto Butantan Farmacologia; ²Universidade da Costa Rica Instituto Clodomiro Picado

Introduction: Phagocytosis constitutes a complex sequence of events resulting in internalization and degradation of pathogens, and involves signaling lipids, proteins, and cytoskeleton. Cytosolic PLA₂ has been shown to be a relevant signaling component of phagocytosis. However, the role of the secretory PLA₂ in the phagocytosis signaling pathways is unknown. MT-III, an Asp49 active PLA₂, was isolated from *Bothrops asper* venom. This secretory enzyme has the ability to activate phagocytosis in macrophages. In this study the signaling pathways mediating MT-III-induced phagocytosis focusing lipidic second messengers were investigated.

Methods: Elicited macrophages were obtained from Swiss mice peritoneal cavity 96 hours after i.p. injection of thioglycollate. Phagocytosis was evaluated *in vitro* with non-opsonized zymosan in the presence or absence of specific inhibitors. **Results:** Data showed that phagocytic index in control cells was 15%. MT-III caused a 189% increase in this control index ($p < 0.01$; MT-III phagocytic index = 43%). Zileuton (1 μ M) and Etoricoxib (1 μ M), 5-LO and COX-2 inhibitors, and WEB2170 (50 μ M), a PAF receptor antagonist, reduced MT-III-induced phagocytosis around 90%, 82% and 65% ($p < 0.01$), respectively, whereas Indomethacin (1 μ M) and AACOCF₃ (20 μ M), COX-1/COX-2 and cPLA₂ inhibitors, as well as Montelukast (1 μ M), a cysteinyl leukotriene receptor antagonist, did not affect the MT-III-induced process. PACOCF₃ (4 μ M), an iPLA₂ inhibitor, reduced MT-III-induced phagocytosis around 64% ($p < 0.05$). **Discussion:** These findings suggest that COX-2 and 5-LO-derived metabolites and PAF but neither COX-1-derived metabolites nor cysteinyl leukotrienes have a role in the signaling events required for MT-III-induced zymosan phagocytosis. Moreover, cytosolic PLA₂ and calcium-independent PLA₂ are involved in the

signaling pathway of MT-III-induced phagocytosis. **Support:** FAPESP (02/01009-7), CNPq

06.039

EFFECT OF HUMAN INTERLEUKIN-11 ON IFOSFAMIDE-INDUCED HEMORRHAGIC CYSTITIS IN MICE.

Mota, J. M. S. C.¹; Teixeira Loiola, R.¹; Menezes, A. A. J.¹; Brito, G. A. C.¹; Cunha, F. de Q.²; Ribeiro, R A.¹ ¹UFC Fisiologia e Farmacologia; ²FMRP-USP

Introduction: Hemorrhagic Cystitis (HC) is a complication that limits the clinical use of Ifosfamide (IFS), an antineoplastic-alkylating agent. Previously, we demonstrated the involvement of nitric oxide (NO) and cytokines TNF- α and IL-1 β in the pathogenesis of HC. (Ribeiro *et al*, *J Urol*, 167:2229, 2002). Recombinant human interleukin-11 (rhIL-11) is a pleiotropic cytokine used for thrombocytopenia prevention in high risk patients. rhIL-11 also reduced pro-inflammatory cytokines expression in radiation- and chemotherapy-induced mucositis. In the present study we investigated the possible protective effect of rhIL-11 on IFS-induced HC.

Materials and Methods: Male Swiss mice (20-30 g) were pretreated with rhIL-11 (25-625 μ g) via s.c. 30 min before i.p. injection of IFS (400 mg/kg). Twelve hours thereafter, HC was determined by bladder wet weight (BWW), edema, hemorrhage and histological Gray scores. We also quantified vascular permeability by Evans blue extravasation in the bladder tissue. **Results:** rhIL-11 (125 and 625 μ g) inhibited the increase of BWW ($p < 0,05$) (39,8% and 47,9%), edema, hemorrhage and histopathological Gray scores ($p < 0,05$). The vascular permeability was attenuated of 60% and 55,9% ($p < 0,05$).

Conclusion: Our results suggest a new protective effect of rhIL-11 on IFS-induced HC inflammatory events. Further studies are being done to investigate the uroprotector mechanism. **Supported by:** CNPq/FUNCAP/MCT/Brazil

06.040

ROLE OF TOLL-LIKE RECEPTOR 4 ON FAILURE OF NEUTROPHIL MIGRATION IN POLYMICROBIAL INFECTION SEPSIS

Alves Filho, J. C.¹; Moreno, S. E.¹; Alfaya, T.¹; Russo, M.²; Cunha, F. de Q.¹ ¹FMRP-USP Farmacologia; ²ICB-USP Imunologia

Introduction: Sepsis is a systemic inflammatory response commonly caused by bacterial infection. Recently, we demonstrated that failure of neutrophil migration towards infectious focus is observed in severe sepsis induced by endotoxemia, *Staphylococcus aureus* inoculation and cecal ligation and puncture (CLP) and the outcome of disease correlated with the level of neutrophil failure. The neutrophil migration impairment seems to be mediated by circulating inflammatory cytokines released by the host cells stimulated by bacteria or by their byproducts. Toll-like receptor 4 (TLR4) is a receptor that plays important role in innate immune recognition of LPS, the main component of the cell wall of gram-negative bacteria. **Methods:** The present study investigated the potential role of TLR4 in the failure of neutrophil migration in mice subjected to polymicrobial sepsis induced by CLP or intraperitoneal inoculation of bacteria obtained from cultured of cecum content. **Results:** It was observed that differently from control (C3H/HePas), TLR4-deficient (C3H/HeJ) mice underwent lethal sepsis induced by CLP or bacterial inoculation did not present failure of neutrophil migration or deficiency on the phagocytic activity. As consequence they exhibited efficient bacterial clearance and controlled the infection locally, presenting elevated survival rate. Furthermore, TLR4-deficient mice displayed reduced systemic inflammation, demonstrated by low systemic cytokines levels and reduced neutrophil sequestration into the lung. Altogether, these results show for the first time, the critical role of TLR4 in the impairment of neutrophil migration towards infectious focus in polymicrobial sepsis.

06.041

THE CRITICAL ROLE OF PAF ON NEUTROPHIL MIGRATION IMPAIRMENT IN POLYMICROBIAL INFECTION SEPSIS

Alves Filho, J. C.¹; Moreno, S. E.¹; Alfaya, T.¹; Rios-Santos, F.²; Teixeira, M.M.³; Silva, J. S.⁴; Cunha, F. de Q.¹
¹FMRP-USP Farmacologia; ²UESC Farmacologia; ³UFMG Bioquímica e Imunologia; ⁴FMRP-USP Imunologia

Introduction: Sepsis is a systemic inflammatory response commonly caused by bacterial infection. We demonstrated that failure of neutrophil migration towards infectious focus is observed in lethal sepsis induced by cecal ligation and puncture (CLP) and the outcome of this syndrome correlates with the level of failure. Platelet-activating factor (PAF) plays an important role in the orchestration of different inflammatory reactions. It exerts several immunomodulatory actions, including stimulation of migration and degranulation of leukocytes and the release of cytokines and toxic oxygen metabolites.

Methods: Using a PAF receptor antagonist PCA and PAF receptor knock-out mice (PAFR^{-/-}), we have investigated the role of PAF on the failure of neutrophil migration into the infectious site observed in lethal sepsis in mice subjected CLP. **Results:** It was observed that differently from control mice, the mice pretreated with PCA (5mg.kg⁻¹) subjected to lethal sepsis (L-CLP) did not present failure of neutrophil migration and consequently exhibiting efficient bacterial clearance, control of the infection and a high survival rate. As consequences, they displayed reduced systemic inflammation, determined by cytokines levels and by neutrophil sequestration into the lung. In order to support a role for the PAF on the outcome in severe sepsis, experiments were also carried out in PAFR^{-/-} mice. We found that similar to pretreatment with PCA, the PAFR^{-/-} mice subjected to L-CLP also presents increase of survival rate. The present studies using genetically modified mice and a receptor antagonist firmly establish a role of PAFR on the impairment of neutrophil migration towards infectious focus in severe sepsis. **Supported by:** CAPES/FAPESP/FAEPA

06.042

INVOLVEMENT OF NITRIC OXIDE AND CYTOKINES IN THE NEUTROPHILIC PULMONARY RECRUITMENT INDUCED BY STAPHYLOCOCCAL ENTEROTOXINS TYPES A (SEA) AND B (SEB) IN RAT

Desouza, I.¹; Franco-Penteado, C.¹; Camargo, E.¹; Muscara, M. N.²; Teixeira, S. A.²; De Nucci, G.²; Antunes, E.¹
¹UNICAMP Farmacologia; ²USP Farmacologia

Introduction: SEA and SEB induce pulmonary neutrophil infiltration by a complex mechanism involving release of substance P, LTB₄, PGE₂, histamine and PAF. The aim of this study was to quantify the levels of TNF α , IL-6 and IL-10 in BAL fluid from rat intratracheally injected with SEA or SEB. The iNOs and CINC-3 mRNA were also investigated by RT-PCR in the lung homogenate.

Methods and Results: Wistar rats were submitted to intratracheal injection of SEA (3.0 ng) or SEB (750 ng). After 4 h, the BAL was collected and the lung was removed to perform the expression of iNOS and CINC-3 mRNA by RT-PCR. The TNF- α and IL-6 levels were increased in BAL (SEA: 400% and 70%; SEB: 170% and 55%, respectively). In SEA-treated rats, the IL-10 levels were unchanged, but in SEB-treated rats these levels were increased by 200%. No significant changes in CINC-3 mRNA were observed in SEB-treated lungs, but this expression was reduced by SEA treatment. The iNOS expression was significantly upregulated in SEA or SEB-treated lungs when compared with the lung tissue of PBS-treated rats.

Conclusions: Our results suggest that neutrophilic pulmonary recruitment induced by SEA or SEB involves the production of pro-inflammatory cytokines such as TNF- α and IL-6, but not CINC-3. The IL-10 seems to modulate only the pulmonary inflammatory response induced by SEB. Moreover, iNOS-derived NO also plays an important role in lung neutrophilic inflammatory response induced by these enterotoxins.

Supported by: FAPESP

06.043

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DO DERIVADO 1-ACETILISATINA

de Melo de Reis, G.¹; Santos, E. M. Dos¹; Pires, P. A.¹; Malvar, D. do C.¹; Cantisani, I. G.²; Netto-Ferreira, J. C.²; Vanderlinde, F. A.¹; da Silva Cortes, W.¹
¹UFRRJ Ciências Fisiológicas; ²UFRRJ Química

Este trabalho avaliou a atividade antinociceptiva da 1-acetilisatina (AI). Utilizamos os métodos das contorções abdominais (Hendershot e Forsaith, 1959) e placa quente (Morley e cols., 1996), nos quais foram usados camundongos machos (n=10) com peso entre 20 e 30 g. A AI foi solubilizada em DMSO 10% em salina sendo administrada pela via oral nas doses de 40 e 80 mg/kg. Nas contorções abdominais (c.a), a AI nas doses de 40 e 80 mg/kg inibiu as contorções em 37,21% (27,6 \pm 1,37 c.a) e 48,14% (22,3 \pm 0,65 c.a), respectivamente, se comparadas ao grupo DMSO 10% (43,0 \pm 1,49 c.a). A indometacina 10mg/kg (controle positivo), inibiu as contorções em 47,21% (22,7 \pm 0,7 c.a). Na placa quente, a AI na dose de 40 mg/kg ampliou o tempo de permanência dos animais na placa em 14,57% (12,5 \pm 0,63 s) aos 30 e em 21,53% (12,87 \pm 0,54 s) aos 60 minutos pós-tratamento. Na dose de 80 mg/kg, a AI ampliou tal parâmetro em 38,7%(15,13 \pm 0,45 s) aos 30 e em 89,05% (20,02 \pm 0,28 s) aos 60 minutos. Comparadas ao grupo DMSO 10% aos 30 (10,91 \pm 0,40 s) e 60 minutos (10,59 \pm 0,43 s) pós-tratamento, as doses de AI mostraram diferença estatística significativa (p<0,05). O fentanil 0,3 mg/kg (controle positivo) aumentou em 165,35% (28,95 \pm 0,33 s) e 156,66% (27,18 \pm 0,79 s) aos 30 e 60 minutos, respectivamente, se comparado ao seu controle negativo salina (10,23 \pm 0,62 s) e (9,78 \pm 0,56 s). A AI apresentou atividade antinociceptiva com possível participação de mecanismos centrais em sua antinocicepção. **Apoio Financeiro:** FAPERJ

06.044

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA E ANTIEDEMATOGÊNICA DOS EXTRATOS ETANÓLICO DAS FOLHAS E HEXÂNICO DOS FRUTOS DA *Copernicia cerifera*

de Melo de Reis, G.¹; Rodrigues, V. P.²; Menezes, F. S.²; Fernandes, P. D.¹; Matheus, M. E.¹ ¹UFRJ Farmacologia Básica e Clínica; ²UFRJ Farmácia

O trabalho avaliou a atividade antinociceptiva e antiedematogênica dos extratos etanólico das folhas (Ee-f) e hexânico dos frutos (Eh-fr) da *Copernicia cerifera*. Utilizando o teste de placa quente (Woolfe e cols, *J. Pharm. Exp. Ther* 80:300, 1944) e edema de orelha induzido pelo óleo de crôton (Schiantarelli e cols., *Arzneim.-Forsch. Drug. Res.* 32:230, 1982), foram usados camundongos machos, pesando entre 20 e 25 g, n=5. Os extratos foram solubilizados em DMSO 20% em PBS como veículo e administrado pela via oral nas doses de 50 e 100 mg/kg. No teste da placa quente, o Ee-f (100 mg/kg) ampliou em 27,23% (15,09±0,63 s) e 32,52% (16,75±0,41 s) aos 30 e 60 minutos pós-tratamento, e o Eh-fr (100 mg/kg) ampliou em 38,78% (16,46±0,48 s) e 18,91% (15,03±0,38 s) nesse mesmo intervalo, o tempo de reação dos animais, em comparação ao controle negativo DMSO 20% (11,86±0,59 s) e (12,64±0,51 s). O fentanil ampliou em 140,57% (29,35±0,38 s) e 121,11% (27,86±1,3 s) em comparação ao seu veículo PBS (12,2±0,68 s) e (12,6±0,99 s). No edema de orelha, o Ee-f (100 mg/kg) reduziu a diferença de peso (mg) entre as orelhas em 37,21% (2,21±0,063) e o Eh-fr (100 mg/kg) reduziu em 15,62% (2,97±0,026) comparados ao PBS (3,52±0,09). Na dose de 50 mg/kg, os extratos não mostraram diferenças significativas em comparação ao DMSO 20%, nos testes realizados. Cs resultados sugerem que ambos os extratos, na dose de 100 mg/kg, possuem uma ação antinociceptiva e antiedematogênica. **Apoio Financeiro:** CNPq, FAPERJ, FUJB, PRONEX

06.045

EVIDÊNCIAS ADICIONAIS SOBRE OS MECANISMOS ENVOLVIDOS NA ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA TÓPICA DO TRITERPENO PENTACÍCLICO ÁCIDO 24-HIDROXITORMÊNTICO

Scarante Cezarotto, G.¹; Otuki, M.¹; Hess, S. C.²; Delle Monache, F.³; Yunes, R.⁴; Calixto, J. B.¹ ¹UFSC Farmacologia; ²UFMG - Morfofisiologia; ³UCSC Química; ⁴QMC-CFM-UFSC

Introdução: O ácido tormêntico (AT) é um triterpeno pentacíclico pertencente a série dos Ursanos presente em uma grande quantidade de vegetais superiores como a *Volchisia divergens*, de onde foi isolado o composto. Estudos anteriores realizados por nosso grupo demonstraram que o ácido tormêntico apresenta atividade antiedematogênica em modelos de inflamação cutânea. Este trabalho analisa o efeito antiinflamatório tópico do AT no modelo de edema de orelha mediado pelo tetradecanoil forbol acetato (TPA). **Métodos:** Foram utilizados camundongos suíços machos (30-35 g; N=6). O TPA (2,5 mg/orelha), foi diluído em 30 ml de acetona e aplicado na face interna da orelha direita e o edema avaliado após 6 h. O AT (0,1-1,0 mg/orelha) foi diluído em 30 ml de acetona e aplicado 30 min. antes do TPA na face interna da orelha direita. 6 ou 24 h após a aplicação do TPA os animais foram sacrificados para avaliação dos níveis de IL-1 β ou da enzima COX-2 e da atividade da enzima mieloperoxidase MPO (indicativo da migração de neutrófilos). **Resultados:** O AT foi capaz de reduzir os níveis de IL-1 β com Imax de 77% e DI₅₀ de 0,4 mg/orelha. Assim como foi capaz de inibir a expressão da enzima COX-2 e a migração de neutrófilos com Imax de 75% e 49%, respectivamente. Os resultados demonstram que parte da inibição do edema e da migração de células causada pela aplicação do AT, pode ser explicado pela diminuição dos níveis de IL-1 β e da expressão da enzima COX-2. Experimentos estão sendo conduzidos a fim de revelar outros mecanismos envolvidos na ação antiinflamatória causada pelo AT. **Apoio Financeiro:** CNPq, PRONEX e CAPES

06.046

PAPEL DO ÓXIDO NÍTRICO NAS RESPOSTAS MEDIADAS PELOS RECEPTORES B₁ PARA AS CININAS NA PATA DE RATOS PRÉ-TRATADOS COM LPS

Passos, G. F.; Fernandes, E. S.; Medeiros, R.; Campos, M. M.; Calixto, J. B. UFSC Farmacologia

Introdução: Recentemente demonstramos que o tratamento tópico com LPS é capaz de induzir aumento da resposta edematogênica mediada pelos receptores B₁ para as cininas, um processo dependente da síntese de novas proteínas, de citocinas pró-inflamatórias e ativação do NF- κ B (Passos, G.F., *J. Immunol.*, 172: 1839, 2004). O objetivo do presente trabalho foi demonstrar a participação do óxido nítrico (NO) no edema de pata de rato induzido pela des-Arg³-BK (DABK) em animais pré-tratados topicamente com LPS. **Métodos e Resultados:** Foram utilizados ratos machos Wistar (150-180 g). A injeção intraplantar (i.pl.) de DABK (100 nmol/pata) causou pequena alteração de volume (0,13 ± 0,2 ml) em animais controle, mas o pré-tratamento com LPS (1 μ g, i.pl., 12 h) aumentou significativamente o edema à DABK (0,41±0,03 ml). O inibidor não seletivo da NOS, L-NOARG (10 mg/kg, i.p., 30 min antes do LPS) reduziu significativamente o edema da DABK (39±8%). Da mesma forma, os inibidores seletivos da iNOS, 1400W (1 mg/kg, s.c., 30 min antes do LPS) ou a aminoguanidina (30 mg/kg, i.p., 4/ 4 h) inibiram significativamente o edema da DABK, em ratos pré-tratados com LPS (45±7% e 50±4%, respectivamente). Por outro lado, a administração de inibidores de NOS em conjunto com a DABK não foi capaz de interferir no edema da DABK. **Discussão:** Esses resultados permitem sugerir que o NO exerce um importante papel modulatório no processo de indução dos receptores B₁ para as cininas na pata de ratos tratados com LPS. **Apoio Financeiro:** CNPq, PRONEX e CAPES

06.047

ENDOTHELIN-1 CAUSES PROLONGED HYPERNOCEPTION TO THERMIC, CHEMICAL AND MECHANICAL STIMULI IN THE MOUSE HINDPAW.

Frighetto, M.; Rae, G. A. CCB-UFSC Pharmacology

Introduction: Endothelin-1 (ET-1) causes ET_A receptor-mediated overt nociception and hypernociception to capsaicin in the mouse hindpaw (Piovezan *et al.*, *Br. J. Pharmac.*, 129: 961-968, 2000). As the duration of these hypernociceptive effects is unknown, the current study assesses their time courses. **Methods:** Male Swiss mice received intraplantar (i.pl.) injection of ET-1 (10 pmol) or PBS and were tested at various moments after treatment for nocifensive responses evoked by 20 W radiant heat (i.e. paw withdrawal latency), capsaicin (0.3 ug; paw licking time) or mechanical stimulation (Von Frey hairs, up and down method). **Results:** Unlike PBS, ET-1 evoked long-lasting increases in nocifensive responsiveness to all three stimuli, starting 1 to 3 h after injection and lasting at least up to 8 h, for heat (peak reduction in paw withdrawal latency, relative to baseline 4.1±0.6 s, at 8 h) and mechanical stimulation (reduction of 50% mechanical threshold from 1.48±0.21 to 0.38±0.08 g, at 8 h), or 12 h for capsaicin (peak increase in licking time from 23.4±3.5 to 69.7±7.8 s, at 6 h) after injection. No hypernociception to these stimuli was evident at 24 h after ET-1 injection.

Conclusions: Hypernociception triggered in the hindpaw by i.pl. ET-1 to radiant heat, mechanostimulation or capsaicin outlasts by far the overt nociceptive effects of the peptide. The identity of the receptors and specific mechanisms involved in ET-1-induced hypernociception to each stimulus remains to be determined. **Support:** CNPq and CAPES.

06.048

PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA LINFÁTICO (SL) NA LESÃO PULMONAR CAUSADA PELA ISQUEMIA/REPERFUSÃO-INTestinal (I/R-i)

Cavriani, G.; Vanni Domingos, H.; Lucia da Silva, Z.; Oliveira-Filho, R. M.; Sudo-Hayashi, L. S.; Tavares de Lima, W. USP Farmacologia

Introdução: Os mecanismos reguladores da inflamação pulmonar (IP) causada pela I/R-i não estão totalmente esclarecidos. Mediadores inflamatórios gerados sistemicamente contribuem para o desencadeamento da IP. Neste contexto, o SL é potencial candidato para modular os eventos inflamatórios pulmonares decorrentes da IP. Neste estudo, investigamos o envolvimento do SL na regulação da IP causada pela I/R-i. **Métodos:** Após terem o ducto linfático ligado, ratos Wistar foram expostos a I/R-i (45 min/2 h). A inflamação pulmonar foi avaliada pela atividade pulmonar de mieloperoxidase (MPO). Em outro experimento, os ratos tiveram o ducto linfático canulado, e a seguir expostos a I/R-i. A linfa foi coletada e utilizada para quantificar TNF. Em outra série de experimentos, linfonodos mesentéricos coletados após I/R-i foram colocados em cultura e estimulados ou não com LPS ou CON A para dosagem de TNF. **Resultados:** A I/R-i causou aumento de MPO em relação ao grupo controle. Entretanto, ratos expostos a I/R-i, com o ducto ligado, apresentaram redução de MPO em relação ao grupo controle. Os níveis de TNF na linfa mostraram aumento significativo em relação ao grupo controle assim como, em sobrenadante de cultura de linfonodo quando comparado ao respectivo grupo controle. **Conclusão:** Podemos inferir que mediadores inflamatórios, como o TNF, gerados no trato gastrointestinal podem ser drenados pelo sistema linfático e contribuir para a IP causada pela I/R-i. **Apoio Financeiro:** FAPESP: 02/06607-0, 02/06606-3 e CNPq

06.049

PARTICIPAÇÃO DOS CANAIS DE CÁLCIO E DE CLORETO NA HIPERREATIVIDADE INDUZIDA PELO DESAFIO ANTIGÊNICO EM TRAQUÉIAS ISOLADAS DE RATOS.

Martins Moura, C. T.; Amarante, M. P. F.; Pinheiro, A. S.; Capaz, F. R. UFC Fisiologia e Farmacologia

Objetivo: Avaliar a participação dos canais de cálcio voltagem-dependentes (VOC) e dos canais de cloreto (Cl) na resposta contrátil induzida pela serotonina (5HT) e acetilcolina (Ach) em traquéias isoladas de animais desafiados à ovoalbumina (OVA). **Métodos e Resultados:** Ratos Wistar (200250 g) foram apenas sensibilizados (OVA/Al (OH)₃ 1 mg e 1 mg/ml; 0,66 ml/i.p.), grupo controle (CONT) ou também desafiados 14-21 dias após, (OVA; 1 e 5 mg/ml 15/15 min.) 24 hs antes dos experimentos, grupo desafiado (DF). As traquéias foram isoladas mantidas em solução de Krebs-Henseleit (95% O₂, 5% CO₂, 36,5°C, Ti=1,0 gF) e 50 min após foram confeccionadas curvas concentração-efeito (CCE) para 5HT e Ach na ausência e na presença de nifedipina (NF) 10⁻⁶M ou ácido niflúmico (AN) 10⁻¹M. As CCE na presença de NF visavam avaliar a participação dos canais de Ca²⁺ VOC e aquelas, na presença de NA, dos canais de Cl. As CCE com o grupo DF apresentaram hiperreatividade expressa por aumento da Resposta Máxima (RM) (p<0,01) tanto para a 5HT (CONT=0,60±0,03; DF=1,48±0,09; N=6) como para a Ach (CONT = 2,11±0,10; DF = 3,53±0,03; n=6). Apenas a hiperreatividade para a 5HT foi abolida na presença de NF (CONT = 1,05±0,03; DF = 0,54±0,07; N=5 p<0,01), ou do AN (CONT = 1,28±0,09; DF = 1,01±0,15; N=5). **Conclusões:** Estes resultados sugerem a participação dos canais de Ca²⁺ VOC e dos canais de Cl na hiperreatividade à 5HT, mas não à Ach, induzida pelo desafio antigênico. **Apoio Financeiro:** CAPES.

06.050

PRENATAL ENDOTOXIN EXPOSURE DEPRESSES THE PULMONAR INFLAMMATION IN ADULTS OFF SPRINGS

Datti, F.; Datti, M.; Nucci, G. de; Antunes, E. UNICAMP Farmacologia

Introduction: The ability of the early environment to program the hypothalamo-pituitary-adrenal axis (HPA) promoting neuroendocrinological and immune alterations in adult life has been documented in several species. Here, we investigate if the prenatal administration of lipopolysaccharide (LPS) affects the allergen-induced airway leukocyte migration and HPA activity in adult offsprings. **Methods:** Pregnant Wistar rats were divided in 3 groups: 1)Control (C); 2)Saline (SAL); 3)LPS 7 µg/kg (administred ip in 17th day of gestation). In adult life (60-75 days), the female offsprings were sensitized with ovalbumin (OVA; 200µg, sc, in AIOH₃). Six subgroups were obtained (n=4-9): C-NS (non-sensitized), C-S (sensitized), SAL-NS, SAL-S, LPS-NS and LPS-S. Fourteen days after OVA sensitization, animals were challenged intratracheally with OVA (0.4 ml, 0.25%), and 48h thereafter the bronchoalveolar lavage (BAL) fluid was examined regarding the leukocyte counts. Plasma corticosterone levels were measured as an index of HPA activity. **Results:** In LPS-S group, the eosinophil counts in BAL fluid was 63.6 and 72.7% lower (P<0.05) in comparison with C-S and SAL-S, respectively. No significant differences were observed in other cellular types. The levels of plasma corticosterone were 54.5 and 64.1% lower in LPS-S group compared with C-S and SAL-S, respectively. **Discussion:** Prenatal inflammatory stress triggered by LPS decreases the organism capacity to respond properly a pulmonary allergic stimulus in adult life. Whether the eosinophil reduction is related to low corticosterone levels in LPS-S group is under current investigation. **Supported by:** CAPES

06.051

BLOQUEIO DA NOSi REDUZ ACOMETIMENTO HEPÁTICO DURANTE SEPSE SEVERA EXPERIMENTAL

Santana, V. C.¹; Souto, F. O.²; Melo, P. R. S.³; Cunha, F. de Q.⁴; Rios-Santos, F.¹ - ¹UESC Saúde; ²UESC Biologia; ³LPBM-FIOCRUZ; ⁴FMRP-USP

Objetivo: O óxido nítrico (NO) apresenta papel dual na disfunção hepatobiliar durante a sepse. Apesar da sua importância para perfusão tissular, o NO também está associado a fatores deletérios, como a falência da migração de neutrófilos (FMN) para o foco infeccioso, e formação de reativos tóxicos do nitrogênio. Nesse estudo, investigou-se os principais parâmetros indicativos de acometimento hepático, e o impacto do bloqueio da síntese de NO induzida (NOSi) sobre os testes de lesão hepática durante a sepse severa. **Métodos e Resultados:** A sepse foi induzida em camundongos isogênicos C57/Bl6, machos (18-22 g, N=10-15/grupo), pelo modelo de ligadura e perfuração do ceco (CLP). Após 18 horas da cirurgia, animais do grupo Sub-Letal (SL, 90% de sobrevida) e Letal (L, 10% de sobrevida) apresentaram elevação sérica (SL e L, a seguir) de ALT (40%, 220%), AST (18%, 254%), BT (33%, 260%), PA (13%, 72%), mas não de GGT e eletrólitos, quando comparados a animais controles (Sham). Em adição, observou-se redução da glicemia de 37% e 78% nos grupos subletal e letal, respectivamente. O pré-tratamento com L-canavanina (50 mg/kg) e aminoguanidina (30 mg/kg) reduziu nos grupos Letais os valores séricos de ALT (39%, 41%), AST (36%, 46%), BT (68%, 73%), PA (68%, 73%), assim como restaurou parcialmente a glicemia (82%, 72%), quando comparados ao grupo Letal sem pré-tratamento. **Conclusão:** O choque hepático é um dos principais fatores envolvidos na Falência de Múltiplos Órgãos (FMN) observados na sepse. Os marcadores de lesão hepática aqui demonstrados, constituem importante ferramenta de acompanhamento do prognóstico da sobrevida durante a septicemia. A prevenção da FMN para o foco de infecção, com a subsequente redução da carga bacteriana, reflete os achados de menor risco de choque hepático durante a sepse, sendo esse um dos possíveis fatores que

contribuem para maior sobrevida de animais pré-tratados com inibidores seletivos da NOSi. **Apoio:** Fundação de Amparo à Pesquisa da Bahia (FAPESB)

06.052

PARTIAL PURIFICATION OF PRE-FORMED PYROGENIC FACTOR (PFPF) DERIVED FROM LIPOPOLYSACCHARIDE (LPS) STIMULATED RAT MACROPHAGES

Veiga-Souza, F. H.¹; Laure, H. J.²; Melo, M. C. C.³; Greene, L. J.⁴; Souza, G. E. P.³ ¹FMRP-USP - Farmacologia; ²Centro de Química de Proteínas Centro Regional de Hemoterapia; ³FCFRP-USP Física e Química; ⁴Centro de Química de Proteínas Centro Regional de Hemoterapia e FMRP-USP Biologia Celular, Molecular e Bioagentes Patogênicos

Aim: To isolate a pre-formed pyrogenic factor (PFPF) released from LPS-stimulated rat peritoneal macrophages which produces an indomethacin-resistant fever in rats. **Methods and Results:** The supernatant of LPS-stimulated macrophage monolayers was submitted to C18 reverse phase high performance liquid chromatography eluted with trifluoroacetic acid and acetonitrile. On intracerebroventricular injection 3 chromatographic peaks had pyrogenic activity (4.5 h, in C, peak 2: 0.7±0.1; peak 3: 0.5±0.1; peak 4: 0.4±0.1). Peak 2 (27 ng/rat) was the only one to retain activity in indomethacin treated rats (4.5 h, in° C, vehicle + peak 2: 0.7±0.1; indomethacin+peak 2: 0.6±0.1). When fraction 2 was reduced and submitted to sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, two protein bands with masses of approximately 14 and 67 kDa were detected with colloidal Coomassie blue. **Conclusions:** Although we do not yet know which band is associated with the biological activity, 14 or 67 kDa, previously studies have shown PFPF pyrogenic activity was associated with a fraction containing proteins of masses 64 to 71KDa (1). Thus, it is reasonable to suggest that the active component is related to a 67 kDa protein. 1. Zampronio *et al.*, *Eur Cytokine Netw.* 11:589, 2000. **Supported by:** FAPESP proc. 00/12573-5; PRONEX (CNPq)

06.053

EXTRACELLULAR PLA₂S INDUCE ACUTE PANCREATITIS NO CORRELATED WITH CATALYTIC ACTIVITY

Camargo, E.¹; Esquisatto, L. C. M.²; Esquisatto, M. A.²; Ribela, M. T. P.³; De Nucci, G.¹; Antunes, E.¹; Landucci, E. C. T.¹ UNICAMP Farmacologia; ²University Center Herminio Ometto - Histology and Embryology; ³IPEN-USP

Introduction: Phospholipases A₂ (PLA₂s) have been implicated in acute pancreatitis, but the role of these enzymes and their dependence on the catalytic activity to evoke acute pancreatitis are unknown. This study was designed to ascertain if catalytic activity of PLA₂s is crucial to trigger acute pancreatitis. To achieve this, snake venom PLA₂ fully devoid of enzymatic (piratoxin-I) and with residual enzymatic activity (bothropstoxin-II) were used. **Methods and results:** Bothropstoxin-II and piratoxin-I were injected into the pancreatobiliary duct of anaesthetized rats in a steady manual pressure over a period of 60 sec. Four h thereafter, the animals were sacrificed, and blood samples and pancreatic tissue were collected. The pancreatic plasma extravasation, pancreatic mieloperoxidase (MPO) activity, serum amylase levels and histological analysis were investigated. Both bothropstoxin-II and piratoxin-I (300 µg/kg, each) significantly increased the pancreatic plasma extravasation (58% and 64%), pancreatic MPO activity (360 and 155%) and serum amylase (22 and 28%), respectively, when compared with saline group. The histopathological analysis revealed in piratoxin-I-injected rats pancreatic areas of acinar cell necrosis, neutrophil infiltration and interstitial oedema, as well as lung interstitial oedema with decreased alveolar space and haemorrhagic focus. **Conclusion:** Our data suggest that catalytic activity of extracellular PLA₂s may not be required to induce acute pancreatitis. **Supported by:** FAPESP

06.054

ENDOTHELINS IMPLICATED IN FORMALIN-INDUCED HINDPAW NOCICEPTION IN THE RAT.

Marcelo Motta, E.¹; Orléans-Juste, P. D.²; Souza, G. E. P.³; Rae, G. A.¹ ¹UFSC Farmacologia; ²University of Sherbrooke - Pharmacology; ³FCFRP Física e Química

Objectives: Intraplantar (i.pl.) endothelin-1 (ET-1) causes overt nociception and hypernociception to chemical, thermal and mechanical stimuli in rats. (Motta *et al.*, 35^o Cong. Bras. Farm. Ter. Exp., p. 169, 2003). This study identifies the receptors mediating overt nociception by ET-1 and their role in formalin-induced nociception. **Methods and Results:** Male Wistar rats (~250 g) received i.pl. ET-1 (dual ETA/ETB receptor agonist), IRL-1620 (selective ETB receptor agonist; each at 10 pmol, i.pl., right hindpaw), or PBS, and were observed for overt nociceptive responses (number of paw flinching episodes) for 1 h. Rats then received ipsilateral i.pl. formalin (0.5%) to assess influences on responses to this allogen over next 1 h. ET-1 and IRL-1620 caused overt nociception over first 10 min (ET-1 65±5, IRL-1620 67±4, PBS 9±1), and enhanced both phases of formalin-induced flinches (1st phase 179 and 55%, 2nd phase 87 and 58%, respectively). BQ-123 (ETA receptor antagonist) or BQ-788 (ETB receptor antagonist; each at 10 nmol, i.pl.) reduced ET-1-induced overt responses and hypernociception to 0.5% formalin by ~50%. BQ-123 inhibited both phases of nociception induced by 1.5% formalin (68 and 65%), but BQ-788 reduced only the second phase (56%). **Conclusions:** ET^A and ETB receptor-mediated mechanisms play a role in formalin-induced nociception in the rat hindpaw. Both receptors mediate exogenous ET-1-induced overt nociception and hypernociception to formalin.

Supported by: CNPq, CAPES, FAPESP and CIHR.

06.055

AValiação DA ATIVIDADE ANTINOCEPTIVA DO EXTRATO HIDROACOÓLICO DO CHAPEÚ-DE-COURO *Echinodorus macrophyllus* MICHELL (ALIMASTACEA)

Tanus Rangel, E.; Santos, S. R.; Lima, J. C. da S.; Martins, D. T. de O. UFMT Farmacologia

Introdução: O *E. macrophyllus* é popularmente usado para o tratamento de reumatismo, dores e como diurético.

Método: O extrato hidroacoólico 75% foi obtido por maceração a partir do pó das folhas do *E. macrophyllus*. Para a avaliação da atividade antinoceptiva foram utilizados os modelos de dor induzida por ácido acético 0,6% i.p., injeção intraplantar de capsaicina (1,6mg/pata), placa quente e injeção intraplantar de formalina 2,5%. Foram utilizados camundogos Swiss-Webster.

Resultados: No grupo veículo o número de contorções abdominais atingiu 45,3±4,8 e as doses de 5 e 100mg/Kg reduziram as contorções em 56% (p<0,001) e 68%, (p<0,001). O grupo veículo neste teste atingiu o tempo de lambadura de 45,5±4,8s e as maiores doses do extrato reduziram para 27,5±2,5s (p<0,01) e 14,9±2,4s (p<0,001) e a meperidina 25mg/Kg s.c. para 4±2 (p<0,001). O tempo de reação ao estímulo térmico no grupo veículo na 3^ah foi de 2,5±0,3s e as doses de 1, 5 e 100mg/Kg elevaram para 5,5±0,4s (p<0,01), 5,9±0,7s (p<0,01) e 7,5±0,74s (p<0,001) respectivamente. Na 4^ah o grupo veículo apresentou 2,6±0,6s e as doses 1, 5 e 100 mg/Kg aumentaram para 5,5±0,5s (p<0,01), 5,9±0,7s (p<0,01) e 7,5±0,5s (p<0,001) respectivamente. O grupo veículo no teste da formalina obteve 67±7s de tempo de lambadura na 1^afase e a maior dose do extrato reduziu para 52±2,8s (p<0,01). Na 2^afase o grupo veículo atingiu 63,5±10s e as doses de 5 e 100mg/Kg reduziram para 32,8±0,7 (p<0,05) e 20,±7 (p<0,01). **Conclusão:** Os resultados confirmam o uso popular do *E. macrophyllus* para dor. **Apoio Financeiro:** Capes, Instituto Plantarum

06.056

TRIAGEM DE EXTRATOS DE CHAPÉU-DE-COURO *Echinodorus macrophyllus* MICHELL (ALIMASTACEA) EM TESTE DE CONTORÇÕES ABDOMINAIS POR ÁCIDO ACÉTICO

Tanus Rangel, E.; Santos, S. R.; Lima, J. C. da S.; Martins, D. T. de O. UFMT Farmacologia

Introdução: O *E. macrophyllus* é popularmente usado no Mato Grosso em forma de infusões e garrafadas para o tratamento de reumatismo e dor. O estudo partiu da triagem antinociceptiva dos vários extratos do *E. macrophyllus* no modelo de analgesia por ácido acético. **Método:** O *E. macrophyllus* foi coletado na cidade de Poxoreo-MT. As partes da planta (peciolo, rizoma e folhas) foram limpas, secas a 25°C e triturada em moinho elétrico. O pó de cada parte da planta foi macerado seqüencialmente com hexano, diclorometano, acetato de etila e etanol/água 75% (1:3 p/v) por 7 dias a 25°C, filtrado e concentrado em rotaevaporador. Os extratos obtidos foram testados em camundongos Swiss-Webster, adultos, machos de 25-30 g. Os animais em jejum de 18 h foram tratados v.o. com veículo, extratos hexânicos, diclorometânicos, de acetato de etila e extratos etanólicos 75%, de peciolo, folha e rizoma, em doses de 5 e 100 mg/kg ou ainda com indometacina a 5 mg/kg. Após 1 h foi injetado em cada animal 0,1 mL/10 g i.p. de ácido acético 0,6% e as contorções abdominais foram contadas durante 30 min. **Resultados:** A média do número de contorções abdominais do grupo veículo foi de 40±1 e os extratos que apresentaram inibição maior que 50% foram o etanólico da folha nas doses de 100mg/Kg (13,5±1, 68%, p< 0,001) e 5 mg/kg (18,6±7, 56%, p<0,001), do rizoma 5 mg/kg (20,4±1, 51,8%; p<0,001) e 100 mg/kg (16±0,7 62,5%; p<0,001) e o hexânico do peciolo 100 mg/g (20,6±1, 51,2%; p<0,001). O teste com a indometacina 5 mg/kg mostrou média de contorções de 8,3±1 e 70,3% de inibição do número de contorções (p<0,001). **Conclusão:** As preparações etanólicas foram mais ativas no modelo de nocicepção por ácido acético. **Apoio Financeiro:** Capes, Instituto Plantarum

06.057

PAPEL DAS MAPK E DA PKC NA REGULAÇÃO DO RECEPTOR B₁ PARA AS CININAS INDUZIDO PELO TRATAMENTO COM PAF OU C5a NA PATA DE RATO.

Fernandes, E. S.; Medeiros, R.; Passos, G. F.; Campos, M. M.; Calixto, J. B. UFSC Farmacologia

Introdução: Estudos anteriores demonstraram que o fator de agregação plaquetária (PAF) e a anafilotoxina C5a são capazes de aumentar expressivamente a resposta edematogênica mediada pelos receptores B₁ para as cininas na pata de rato (Fernandes ES, *BJP*, 139:973, 2003; *XXXV SBFTE*, Res. 07.024, p. 176). O presente trabalho avaliou o envolvimento das MAPK e da PKC no aumento do edema de pata induzido pela des-Arg⁹-BK (DABK) após tratamento com PAF ou C5a. **Métodos:** Ratos machos (140-160 g) foram tratados com PAF (10 nmol/pata, 6 h) ou C5a (50 ng/pata, 1 h) e o edema de pata foi induzido pela injeção de DABK (100 nmol/pata). **Resultados:** A injeção de DABK produz pequena alteração de volume (0,11±0,021 ml) na pata de animais normais. O tratamento com o PAF ou o C5a aumentou significativamente a resposta edematogênica à DABK (0,39±0,03 e 0,41±0,02 ml, respectivamente). Ambas as respostas foram reduzidas significativamente pelo inibidor seletivo da p38, o SB203580 (100 nmol/pata) (24±7 e 32±6%, respectivamente). Resultado similar foi obtido quando os animais foram tratados com o bloqueador da p42/p44 MAPK, o PD98059 (30 nmol/pata) (68±8 e 35±1%, respectivamente). O inibidor seletivo de JNK, o SP600125 (30 nmol/pata) também foi capaz de diminuir ambas as respostas (44±5 e 52±3%, respectivamente). Por sua vez, o inibidor seletivo de PKC, o GF109203X (30 nmol/pata) interferiu apenas na resposta evocada pelo C5a (51±2%) sem afetar contudo, a resposta edematogênica induzida após tratamento com PAF. **Discussão:** A participação de quinases na indução de receptores B₁ vem sendo estudada em diversos modelos. Os resultados do presente estudo confirmam e estendem essa hipótese e sugerem um novo mecanismo pelo qual os fatores quimiotáticos podem regular as respostas mediadas pelos receptores

B₁. **Apoio Financeiro:** CAPES/CNPq/PRONEX

06.058

COMPARAÇÃO ENTRE A ANTINOCICEPÇÃO PRODUZIDA POR INDOMETACINA E DICLOFENACO E A CINÉTICA DE MIGRAÇÃO CELULAR

Bressan, E.; Tonussi, C. R. UFSC Farmacologia

Introdução: Na artrite induzida por LPS, diclofenaco produz maior antinocicepção do que a indometacina. Nosso objetivo foi avaliar se esta característica pode estar relacionada à inibição da migração celular. **Métodos:** LPS (30 ng) foi injetado no joelho direito de ratos Wistar machos 3 ou 15 dias após injeção de carragenina (300 µg). Indometacina (IND), diclofenaco (DIC) ou veículo (C) foram administrados 1 h após o LPS (0,5 ou 2,5 mg/kg; i.p.). A incapacitação foi avaliada pelo tempo de elevação da pata (TEP; s) durante marcha de 1 min; o edema, pela variação do diâmetro articular (DA; cm) e, a migração celular, pela contagem total (CT; cel/mm³) e diferencial de leucócitos (mono e polimorfonucleares, MON; PMN; cel/mm³) do fluido sinovial coletado 6 h após. **Resultados:** Comparado ao LPS 3 dias, LPS 15 dias produziu menor TEP (P<0,001), DA similar (P>0,05) e maior CT (P<0,001), com acentuado predomínio de PMN (P<0,001). No LPS 3 dias, IND e DIC inibiram o TEP (P<0,001; C: 40,4±4,8 s), o DA (P<0,001; C: 0,17±0,01 cm) e CT (IND: p<0,05; C: 3412±379 e DIC: P<0,001; C: 2733±338). DIC inibiu mais MON (P<0,001; C: 2490±302). No LPS 15 dias, IND e DIC inibiram o TEP (IND: P<0,05; DIC: P<0,01; C: 31,6±2,2 s), o DA (P<0,01; C: 0,19±0,008 cm) e CT (IND: P<0,001; C: 23275±2197 e DIC: P<0,01; C: 15833±1969). DIC inibiu relativamente mais MON e menos PMN (IND: P<0,01; C: 8561±1224 e DIC: P<0,001; C: 6214±975) e PMN (IND: P<0,01; C: 14713±2093 e DIC: P<0,05; C: 9618±1023). **Discussão:** Estes dados sugerem que o maior efeito antinociceptivo do diclofenaco pode estar associado à maior inibição da migração de mononucleares. **Apoio Financeiro:** CNPq

06.059

CRF MEDIATES THE FEVER INDUCED BY MIP-1ALPHA IN RATS

de Melo Soares, D.¹; Veiga-Souza, F. H.¹; Cardoso, O. de O.¹; Vercesi, J. A.²; Melo, M. C. C.²; Souza, G. E. P.² ¹USP Farmacologia; ²FCFRP-USP Física e Química

Aim: MIP-1a (macrophage inflammatory protein), ET-1 (endothelin-1) and CRF (corticotrophin releasing factor) cause fever insensible to indomethacin^{1,2,3} a non selective inhibitor of cyclooxygenases. Furthermore, ET-1 mediates the fever induced by CRF and LPS. We now investigated the participation of endothelins and CRF in the fever induced by MIP-1a. **Methods and Results:** Fifteen minutes before MIP-1a rats (male Wistar, 200 g) were given saline, bosentan (10 mg/kg, i.v.) a non-selective endothelin receptor ET_A/ET_B antagonists, or a-helical CRF₉₋₄₁ (25mg i.c.v.) a non-selective CRF₁/CRF₂ receptors antagonist. Control animals received i.c.v. injection of CRF (3mg) or i.v. injection of LPS (5 mg) fifteen minutes after bosentan or a helical, respectively. After i.c.v. injections body temperature (bT) was measured by telethermometry. I.c.v. injection of MIP-1a (500 pg) induced a long lasting fever response (0.82±0.16°C, 4.5 h). Bosentan reduced fever to LPS (4.5h, LPS: 1.1±0.1 °C; LPS+bosentan: 0.56±0.12°C), but did not modify fever induced by MIP-1a (4.5h, MIP-1a: 0.72±0.18°C; MIP-1a+bosentan: 0.69±0.11°C). On the other hand, a-helical inhibited either MIP-1a (4.5h, MIP-1a: 0.82±0.16°C; MIP-1a+a-helical: 0.28±0.08°C) or CRF (4.5h, CRF: 1.1±0.18 °C; CRF+a-helical: 0.49±0.15°C) fever responses. Bosentan or a-helical did not alter body temperature of control animals. **Conclusions:** Fever induced by MIP-1a depends on CRF but not on ETs. 1) 04-095, *SBFTE 2002* 2) *Br J Pharmacol.* 1998; 125(3):542-8 3) *Horm Metab Res.* 1990; 22(12):616-8 **Supported by:** FAPESP proc. 01/11014

06.060

THE ROLE OF NITRIC OXIDE ON THE INITIATION OF THE INFLAMMATORY REACTION

Duma, D.; Assreuy, J. UFSC Farmacologia

Introduction: Previous results from our laboratory indicated that nitric oxide synthase (NOS) inhibitors injected 1 h before bacterial endotoxin, decreased the induction of iNOS and increase in myeloperoxidase (MPO) activity in the lung of the rat. In the present report, we studied the role of NO released at the very beginning of the inflammatory reaction on the development of the CLP (cecal ligation and puncture) model, assessed 36 h after the surgery. **Results:** The treatment of rats with only one injection of aminoguanidine (AG; 10 mg/kg, s.c., 1 h before CLP) prevented NOS induction in the lung (0.8±0.46; 2.63±0.11 and 0.78±0.23 pmol/min/mg protein, n=4), decreased lung MPO activity (56.6±5.1; 172.8±28.9 e 58.5±13.5 OD 450 nm/mg protein, n=4) and reduced plasma NOx (nitrate + nitrite) levels (2.3±1.4; 67±10 e 16±3.5 µM, sham-operated, CLP and AMG + CLP animals, respectively, n=4). In addition, it increased survival (100%; 50% and 100% survival; sham-operated, CLP and AMG + CLP animals, respectively, n=6). Similar patterns were observed for other parameters, such as leukocyte count and weight loss. In addition, similar findings were obtained with another NOS inhibitor, L-NAME. **Conclusion:** It seems that NO released soon after the onset of an systemic inflammatory reaction (such as CLP) has a crucial role as a signaling agent. Once this initial NO signal is blunted, the ensuing inflammatory reaction is dampened. A better understanding of this signaling role of NO may lead to new ways to interfere with the inflammatory reaction. **Supported by:** CNPq, CAPES and PRONEX

06.061

PAPEL DOS GLICOCORTICÓIDES ENDÓGENOS (GE) SOBRE A ADERÊNCIA DE POLIMORFONUCLEARES (PMN) À CELULA ENDOTELIAL (CE) *IN VITRO*

Cavalcanti, D. M. H.¹; Lotufo, C. M. da C.²; Markus, R. P.²; Farsky, S.¹ ¹USP Análises Clínicas e Toxicológicas; ²IB-USP Fisiologia

Introdução: Mostramos que os GE modulam a interação leucócito-endotélio *in vivo* através da interação com seu receptor citosólico e indução de síntese protéica. Ainda, foi mostrado que GE interferem com a expressão de CD62 e CD18 em PMN circulantes. Visando esclarecer o mecanismo da modulação dos GE sobre a interação leucócito-endotélio, foi proposto avaliar esta interação *in vitro* através da capacidade de PMN aderirem à CE em cultura. **Métodos:** PMN de sangue periférico (Percoll) e CE de microvasos do músculo cremaster foram obtidos de ratos Wistar adrenalectomizados (ADR), falso-operados (FO) ou Normais (N). As CE foram mantidas em cultura (DMEN + soro albumina fetal + gentamicina) durante 10 dias. Em seguida, os PMN foram adicionados e mantidos sobre a cultura por 30 min (37°C, 5%CO₂). A quantificação da adesão foi determinada pela atividade da mieloperoxidase (Leitor de Elisa, 450 nm). **Resultados:** PMN de ADR aderiram menos (50%) nas três culturas de CE que PMN de FO ou N. Por outro lado, a aderência de PMN de animal N ou FO foi maior em CE de ADR que em CE de N e FO (50%). **Conclusão:** Os dados obtidos indicam que a ausência dos GE promove diminuição e aumento na capacidade de aderência de PMN e CE, respectivamente. Estes dados corroboram os ensaios prévios em PMN e indicam o papel do GE sobre a CE. A expressão das moléculas de adesão na CE será investigada por imunohistoquímica. **Apoio Financeiro:** FAPESP (03/09410-5), CNPq.

06.062

ÓXIDO NÍTRICO (NO) MODULA NEGATIVAMENTE A MIGRAÇÃO DE NEUTRÓFILOS (NÆ) INDEPENDENTEMENTE DA SÍNTESE E/OU LIBERAÇÃO DE TNF-a

Dal Secco, D.; Ramos, C. D. L.; Cunha, F. de Q. FMRP-USP Farmacologia

Introdução: Na maioria dos processos inflamatórios a migração de NÆ é essencial para a defesa do organismo. Para tanto é necessário o rolamento e adesão dos leucócitos ao endotélio venular. Estudos sugerem que mediadores como o TNF-a e KC aumentam a adesividade entre NÆ e endotélio. Demonstramos que o NO por interferir no rolamento e adesão modula negativamente a migração de NÆ. Assim, investigamos se a síntese e/ou liberação de TNF-a e KC induzida por carragenina (Cg) é regulada pelo NO. **Métodos:** Utilizamos inibidores da NO sintase (NOS), nitro-L-arginina (nitro) ou aminoguanidina (amino) na dose de 50 mg/kg; sc, 30 min, em camundongos (C57Bl/6) selvagens ou deficientes para o receptor de TNF-a ($p55^{-/-}$) e da NOS induzida ($iNOS^{-/-}$) para avaliar a migração de NÆ induzida por Cg (250-1000 µg/cav; ip) 6-48 hs após (n=6). Analisamos as concentrações de TNF-a e KC (ELISA) no lavado peritoneal 3 h após o estímulo (n=6). **Resultados:** A Cg induziu migração de NÆ dose e tempo-dependente com pico na dose de 500 mg/cav e tempo de 6h ($4.3 \pm 0.1 \times 10^6$ NÆ/cav), esta migração foi potencializada em $iNOS^{-/-}$ (105%). Além disso, verificamos que o pré-tratamento com os inibidores da NOS potencializa a migração de NÆ tanto em animais selvagens (nitro 98%; amino 88%) como em $p55^{-/-}$ (nitro 79%; amino 89%). Também demonstramos que não houve diferenças entre as concentrações de TNF-a e KC em animais tratados com nitro (450 e 2700 pg/mL) ou amino (420 e 2600 pg/mL) e em animais $iNOS^{-/-}$ (350 e 2500 pg/mL) quando comparados ao grupo controle (440 e 2300 pg/mL). **Conclusão:** Esses resultados indicam que o NO não interfere com a síntese e/ou liberação de TNF-a e KC durante a migração de NÆ induzida por Cg. **Apoio Financeiro:** CAPES, FAPESP e PRONEX.

06.063

DADOS ADICIONAIS DA PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA GLUTAMATÉRGICO NA ANTINOCICEPÇÃO INDUZIDA PELA AGMATINA EM CAMUNDONGOS.

Tibola, D.¹; Gadotti, V. M.¹; Paszcuk, A. F.¹; Rodrigues, A. L.²; Santos, A. R. S.¹; Calixto, J. B.³ ¹UFSC Ciências Fisiológicas; ²UFSC Bioquímica; ³UFSC Farmacologia

Introdução: A agmatina (AGM), é um provável neurotransmissor e/ou neuromodulador, sintetizada a partir da descarboxilação da L-arginina pela arginina descarboxilase. Recentemente demonstrou-se que a AGM apresenta importante efeito antinociceptivo em vários modelos de nocicepção em camundongos, em parte por bloquear a ação do glutamato e interagir com o sistema opióide e adrenérgico e a via da L-arginina-óxido nítrico. O presente estudo analisa a participação dos receptores glutamatérgicos na antinocicepção causada pela AGM, bem como a ação do MK-801 e da L-^onitro-L-arginina (L-NOARG) na nocicepção produzida por agonistas glutamatérgicos. **Métodos e Resultados:** Foram utilizados camundongos Swiss (25-35 g N= 7-10 por grupo) de ambos os sexos. A resposta nociceptiva foi caracterizada pelo tempo que o animal permaneceu lambendo ou mordendo (TLM) os membros posteriores (patas posteriores, cauda e abdômen) após injeção intratecal (i.t.) de glutamato (GLU, 175 nmol/sítio), N-metil-D-aspartato (NMDA, 450 pmol/sítio), cainato (CA, 110 pmol/sítio), AMPA (135 pmol/sítio) ou trans-ACPD (50 nmol/sítio). A AGM (30 mg/kg, i.p. 0,5 h antes) reduziu de forma significativa o TLM induzido pela injeção i.t. de GLU, NMDA e trans-ACPD, mas não aquela causada pelo AMPA e CA, com inibição de 69±8, 70±8 e 55±4%, respectivamente. O MK-801 (0,5 mg/kg, i.p. 0,5 h antes) reduziu o TLM induzido pelo GLU, AMPA, NMDA, CA e trans-ACPD com inibição de 47±7, 68±13, 78±3, 73±7 e 91±2, respectivamente. Além disso, a L-NOARG (75 mg/kg, i.p. 0,5 h antes) também reduziu o TLM causado pelo GLU, NMDA e trans-ACPD, mas não aquele causado pelo AMPA e CA, com inibição de 50±12, 98±2 e 80±6%, respectivamente. A AGM (30 mg/kg), o MK-801 (0,5 mg/kg) e a L-NOARG (75 mg/kg) também foram efetivos em

reduzir o TLM causado pela injeção i.t. de substância P (0,1 nmol/sítio) com inibição de 70±9, 97±3 e 99±1%, respectivamente. **Conclusões:** Estes resultados estendem os dados anteriores e mostram claramente que a antinocicepção causada pela agmatina parece ocorrer em nível central. Além disso, foi obtido avanço significativo à cerca do seu mecanismo de ação o que permite sugerir que agmatina interage com receptores glutamatérgicos do tipo NMDA e metabotrópico. **Apoio Financeiro:** CNPq, PRONEX, UFSC.

06.064

EFEITO DE ANÁLOGOS DO ROLIPRAM NO ACÚMULO DE EOSINÓFILOS INDUZIDO POR LPS E POR DESAFIO ANTIGÊNICO

Montalvão, C. A.¹; Molina, C. T.²; Chagas, M. S. S.¹; Henriques, M. G. M. O.¹; Aguiar, A. P.²; Sampaio, A. L. F.¹ ¹Farmaquinhos - FIOCRUZ Farmacologia Aplicada; ²IME Química

Introdução: As fosfodiesterases (PDE) são enzimas que hidrolisam AMPc e a PDE-4 é um dos principais alvos para novos medicamentos anti-asmáticos. O desenvolvimento de novos inibidores é importante para obtenção de medicamentos mais eficazes. Neste estudo, foram desenvolvidas cinco isoxazolininas dissubstituídas isósteras ao Rolipram (ROL), um inibidor específico de PDE-4. **Métodos:** A pleurisia (24 h) foi induzida em camundongos Swiss, pela estimulação intratorácica com LPS (250 ng/sítio) ou com ovoalbumina (12,5 µg/sítio) em animais sensibilizados. **Resultados:** O tratamento com ROL (5 a 0,005 mg/kg; i.p., 1 h antes) inibiu de forma significativa a eosinofilia na pleurisia alérgica e a induzida por LPS. Na pleurisia alérgica, o tratamento (0,005 mg/kg) com os análogos FA02/146 e FA02/147 inibiu o acúmulo de eosinófilos de forma similar ao tratamento com o ROL, enquanto que FA02/143, 144 e 145 não apresentaram efeito inibitório. Na pleurisia induzida por LPS, os análogos FA02/143, 145, 146 e 147 inibiram a eosinofilia de forma similar ao ROL (0,05 mg/kg), entretanto FA02/145, 146, 147 mostraram também uma tendência à inibição da neutrofilia ao contrário do Rolipram que não interferiu com a neutrofilia. **Discussão:** Nossos resultados demonstram que os

Farmacologia da Inflamação e da Dor

análogos FA02/146 e 147 apresentam uma boa atividade inibitória nos dois modelos de eosinofilia estudados. Entretanto, novos estudos devem ser conduzidos para elucidar o efeito destes análogos na neutrofilia induzida por LPS. **Apoio Financeiro:** CNPq, CAPES, FAPERJ

06.065

EFEITO DE DIFERENTES DENSIDADES ENERGÉTICAS DE LASER SOBRE A HIPERALGESIA TÉRMICA INDUZIDA EM RATOS

Hortencio Neto, H.; Gonçalves, I. D.; Paulino, C. A. UNIBAN Reabilitação Neuromotora

Introdução: O *laser* foi adaptado à prática terapêutica em 1965 e, desde então, têm sido revelados seus benefícios clínicos. Mas, como há controvérsias em relação à densidade mais adequada de *laser* para aplicação clínico-terapêutica, o presente estudo procurou avaliar os efeitos de 3 densidades energéticas sobre a hiperalgisia térmica. **Métodos:** Foram utilizados ratos Wistar machos, adultos, divididos em 4 grupos: um controle (n=9), que não recebeu o *laser* (G1), e 3 experimentais (n=9 em cada grupo), que receberam 3 faixas de densidades energéticas, a saber: 2 joules/cm² (G2), 3 joules/cm² (G3) e 4 joules/cm² (G4); a aplicação do *laser* foi realizada no tempo "0" do experimento. O limiar de dor foi medido através do Teste Plantar (Ugo Basile), nos seguintes momentos: 0 - 1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 6 e 8 horas. Os resultados foram obtidos avaliando-se a latência para retirada da pata (em segundos), antes e após o tratamento (ou não) com o *laser*. **Resultados:** O tempo de latência (em segundos) para retirada das patas não revelou diferença estatisticamente significativa (P>0,05) entre o controle e as 3 densidades de *laser* nos diferentes momentos avaliados. Porém, dentro do grupo G2 observou-se um aumento significativo (P<0,05) no tempo de latência (média±desvio-padrão) nos momentos 1 hora (9,9±3,4) e 2 horas (8,4±2,8), respectivamente em relação aos momentos: 3 (6,4±1,5); 4 (6,9±1,4); 5 (7,1±2,0); 6 (5,4±1,0) e 8 horas (6,1±1,2). No momento "0", os valores controle foram, respectivamente: G1 (9,5±3,4); G2 (8,8±1,9); G3 (8,3±2,3) e G4 (9,1±2,4). **Conclusão:** A densidade energética de 2 joules/cm² é a mais efetiva no controle da hiperalgisia

térmica, e este efeito terapêutico mantém-se até 2 horas após a aplicação do *laser*. **Apoio Financeiro:** Fundação UNIBAN

06.066

PARTICIPAÇÃO DOS RECEPTORES PROSTANÓIDES (EP) E DE PROTEÍNAS QUINASES NA NOCICEPÇÃO INDUZIDA PELA PROSTAGLANDINA E₂ EM CAMUNDONGOS

Kassuya, C. A. L.; Ferreira, J.; Calixto, J. B. UFSC Farmacologia

Introdução: Apesar da prostaglandina E₂ (PGE₂) ser um importante agente hiperalgésico, pouco é conhecido da capacidade em produzir dor espontânea e sobre as vias de sinalização envolvidas. O objetivo deste estudo foi investigar os subtipos de receptores EPs, e o papel de proteínas quinases (PK) na nocicepção espontânea e na alodínia induzidas pela PGE₂. **Métodos e Resultados:** Foram usados camundongos Suíços (25-35g, N= 6). A nocicepção espontânea (tempo de lambida da pata) e a alodínia mecânica (filamentos de von Frey) foram observadas após a injeção i.pl. de PGE₂ (0,03-10 nmol/pata). A ativação da PKC e PK ativadas por mitógeno (MAPK) foram avaliadas por imunodeteção. A injeção i.pl. de PGE₂ causou nocicepção espontânea e alodínia mecânica, dependente da dose, DE50 de 3,8 (0,79-18,32) e 1,18 (0,03-41,64) nmol/pata, respectivamente. A co-injeção de antagonistas de receptor EP3 (L-826,266), com inibição máxima (IM) de 49±6% ou EP4 (L-161,982) (1-10 nmol/pata) 58±5%, mas não dos receptores de EP1 e EP2 (AH-6809), reduziram a nocicepção induzida pela PGE₂ (3 nmol/pata). Somente o L-826,266 inibiu a alodínia causada pela PGE₂ (0,1 nmol/pata). Os inibidores de PKC (GF109203X) ou PKA (KT5720) (1-10 nmol/pata) reduziram a alodínia. Porém, somente pelo KT5720 inibiu a nocicepção (IM: 72±5%). Além disto, a injeção i.pl. de PGE₂ foi capaz de ativar a PKC (5-30 min) na pata. Apesar da injeção i.pl. da PGE₂ ativar as ERK, p38 e JNK, os inibidores destas MAPK (PD98059, SB203589 ou SP600125) não alteraram as respostas. **Conclusão:** Os resultados demonstram que a PGE₂ é capaz de induzir nocicepção, envolvendo receptores

EP3, EP4 e PKA, além de produzir alodínia mecânica via receptor EP3, PKA e PKC. **Apoio Financeiro:** CNPq, FINEP e PRONEX

06.067

PERIPHERAL EFFECTS OF PERIODONTITIS IN RATS: ROLE OF NITRIC OXIDE (NO)

Herrera, B. S.¹; Martins Porto, R.¹; Campi, P.¹; Holzhausen, M.²; Teixeira, S. A.¹; Spolidório, L. C.²; Muscara, M. N.¹ ¹USP Farmacologia; ²UNESP Patologia

In this study we evaluated the extent of oxidative damage in peripheral organs from rats with periodontitis (P) and under chronic NO synthesis inhibition. P was induced in male Wistar rats by placing a cotton ligature around the first lower molar tooth; sham animals (S) had the ligature immediately removed. Two weeks prior to P induction, and until the end of the experiments, half of the animals received L-NAME (LN; 200 mg/L in the drinking water). At days 3 and 7 after the implant procedure, samples of spleen, heart, liver, lung and kidney were collected from all the groups (S, P, S+LN and P+LN) for evaluation of lipid peroxidation (TBARs), protein tyrosine nitration (NT) and granulocyte content (MPO). Rats with P (day 7) showed significant increases of heart NT and renal MPO, but lower lung MPO activity in comparison to the S group (p<0.05 for all). L-NAME treatment significantly increased liver NT expression in P rats on day 3 (p<0.05), but decreased heart NT on day 7 (p<0.01). In comparison with the P group, P-LN rats showed significantly increased liver, heart and kidney MPO content on day 3 (p<0.05), but lower lung MPO (day 7) and spleen TBARs (day 3) content (p<0.05). We conclude that periodontitis can lead to the oxidative modification of biomolecules in peripheral tissues which, depending on the organ nature and/or the severity of the periodontal disease, can be either prevented or exacerbated by inhibiting endogenous NO production. The clinical implications of these findings still remain to be investigated. **Supported by:** CNPq e FAPESP

06.068

ROLE OF SNAKE VENOM METALLO-PROTEINASES AND MAST CELLS IN THE HYPERALGESIC RESPONSE CAUSED BY BOTHROPS JARARACA VENOM IN THE RAT PAW.

Calvano Bonavita, A. G.; Costa, A.; Ferreira, A.; Perales, J.; Cordeiro, R. S. B.; Martins, M. A.; Silva, P. M. R. E F I O C R U Z F i s i o l o g i a e Farmacodinâmica

Bothrops jararaca venom (Bjv) is known to induce local inflammatory response consisting of severe pain, which is sensitive to the snake venom metalloproteinase inhibitor DM43. Since mast cells are able to produce several algescic mediators, in this study we examined the input of these cells to the hyperalgesia triggered by Bjv in the rat paw. Treatment with mast cell stabilizer sodium cromoglicate (30 mg/kg) as well as with histamine and serotonin receptor antagonists meclizine (30 mg/kg) and methysergide (4 mg/kg), respectively, inhibited the Bjv-induced hyperalgesia. Stimulation of isolated rat peritoneal mast cells with Bjv *in vitro* resulted in the secretion of stored and neo-generated inflammatory mediators such as histamine and leukotriene C₄, respectively. Histamine release was clearly inhibited by treatment with sodium cromoglicate (47 %) and sodium nedocromil (45 %). The Bjv activity on mast cells was inactivated under conditions of heating at 60 - 100°C. Also, the metalloproteinase inhibitor DM43 (2.5-5 mg/ml) dose-dependently inhibited mast cell degranulation *in vitro*, under conditions where inhibitors of phospholipase A₂ as well as of serine- and cysteine-proteases were inactive. These findings indicate that mast cells seem to highly contribute to the hyperalgesic process caused by Bjv in the rat paw, and also that such phenomenon appears to be dependent on the metalloproteinase component of the snake venom. **Supported by:** CNPq/Brazil

06.069

INFLUÊNCIA DOS HORMÔNIOS SEXUAIS FEMININOS (HSF) NA MODULAÇÃO DA INFLAMAÇÃO PULMONAR CAUSADA PELA ISQUEMIA / REPERFUSÃO INTESTINAL (I/R-i).

Ligeiro de Oliveira, A. P.; Cavriani, G.; Vanni Domingos, H.; Lucia da Silva, Z.; Oliveira-Filho, R. M.; Tavares de Lima, W. USP Farmacologia

Introdução: A magnitude da inflamação alérgica pulmonar depende dos HSF (Ligeiro de Oliveira *et al.* 2004). A I/R-i causa disfunção pulmonar caracterizada por intenso infiltrado neutrofílico. O papel dos HSF na modulação da inflamação pulmonar (IP) causada pela I/R-i ainda não está totalmente esclarecido. Neste estudo, avaliamos a IP em ratas ovariectomizadas e submetidas a I/R-i. **Métodos:** Ratas Wistar foram ovariectomizadas (OVx), decorridos 14, 21 ou 28 dias de OVx foram submetidas a isquemia intestinal (45 min) seguida sua reperfusão (2 h). A IP foi avaliada pela atividade de MPO. O grupo controle consistiu de ratas falso-operadas seguida de I/R-i (sham). **Resultados:** O grupo submetido a 14 dias de OVx + I/R-i apresentou redução da atividade de MPO (0.16±0.01) em relação ao respectivo grupo sham (0.26±0.01). O mesmo perfil foi observado com 21 dias de OVx + I/R-i (0.25±0.02) quando comparado ao respectivo grupo controle (0.31±0.02). Por outro lado, o grupo submetido a 28 dias de OVx + I/R-i aumentou a atividade de MPO (0.41±0.02) em relação ao respectivo grupo sham (0.18±0.03). **Conclusão:** Nossos dados sugerem que os HSF parecem modular a IP induzida pela I/R-i. A magnitude da IP parece depender do período de tempo existente entre a remoção dos ovários e a indução da I/R-i, podendo inibir (14 e 21 dias de OVx) ou exacerbar (28 dias de OVx) a mobilização celular desencadeada pela I/R-i. **Apoio Financeiro:** FAPESP (01/13384-4; 02/06607-0; 02/06606-3) e CNPq.

06.070

ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DA AGMATINA EM MODELOS DE NOCICEPÇÃO CRÔNICA EM CAMUNDONGOS.

Paszczuk, A. F.¹; Tibola, D.¹; Gadotti, V. M.¹; Rodrigues, A. L. S.²; Calixto, J. B.³; Santos, A. R. S.¹ ¹UFSC Ciências Fisiológicas; ²UFSC Bioquímica; ³UFSC Farmacologia

Introdução: Agmatina (AGM), é uma amina policatiônica sintetizada pela descarboxilação da L-arginina pela enzima arginina descarboxilase. Acredita-se que a AGM possa ser um possível neurotransmissor e/ou neuromodulador no sistema nervoso central e periférico (Raasch W. *et al.*, *Br. J. Pharmacol.* 133:755; 2001). Recentemente demonstrou-se que a AGM causou significativo efeito antinociceptivo em vários modelos de nocicepção aguda em camundongos. O presente estudo analisa o possível efeito da AGM na alodinia induzida pelo adjuvante completo de Freund (CFA) e pela constrição parcial do nervo ciático (CPNC), dois modelos de nocicepção (dor) crônica. **Métodos e Resultados:** Foram utilizados camundongos Swiss fêmeas (25-35 g, N = 4-6 por grupo). A alodinia mecânica induzida pelo CFA e pela CPNC foi avaliada através da aplicação do filamento de Von Frey (0,6 g), considerando resposta positiva o levantamento da pata (frequência de eventos em 10 repetições/animal). A AGM (30 mg/kg, i.p.) reduziu de forma significativa e tempo dependente (2 até 8 h) a alodinia induzida pela injeção intraplantar de CFA (20 µl/pata), sendo que a inibição máxima (52±7%) foi observado 4 h após sua administração. A AGM (30 mg/kg, i.p.) administrada cronicamente (duas vezes ao dia) por 10 dias consecutivos também reverteu de forma significativa a alodinia induzida pelo CFA com inibições de 43±6 a 67±5%. Além disso, a AGM (30 mg/kg, i.p.) administrada 30 min antes, também reduziu a alodinia mecânica causada pelo CPNC com inibição de 81±8%, sendo que este efeito prolongou-se por 6 horas. **Conclusão:** Estes resultados estendem os dados obtidos anteriormente e mostram claramente que a AGM também foi efetiva em reduzir a alodinia mecânica presente na dor crônica de origem inflamatória induzida pelo CFA ou neuropática causada pela CPNC. **Apoio Financeiro:** CNPq, PRONEX, UFSC.

06.071

AÇÃO ANTINOCICEPTIVA DE BLOQUEADORES DE CANAL DE Ca^{2+} (FLUNARIZINA E DOTARIZINA) EM CAMUNDONGOS

Rodrigues, A. H.¹; Gadotti, V. M.¹; Soethe, D. N.¹; Gabilan, N. H.²; Rodrigues, A. L. S.¹; Santos, A. R. S.²
¹UFSC Ciências Fisiológicas; ²UFSC Bioquímica

Introdução: A flunarizina (FLU) e seu análogo dotarizina (DOT) são antagonistas não seletivos dos canais de cálcio dependentes de voltagem dos tipos L, N, P e Q, com propriedades anticonvulsivante, citoprotetora e antienxaqueca. O presente estudo tem como objetivo analisar a atividade antinociceptiva da FLU e da DOT em diversos modelos de nocicepção em camundongos. **Métodos:** Foram utilizados camundongos Swiss (30-40g n=8-12 por grupo) de ambos os sexos. A resposta nociceptiva foi caracterizada pelo número de contorções abdominais induzidas pela administração intraperitoneal (i.p.) de ácido acético (AA, 0,6%) e pelo tempo que o animal permaneceu lambendo e/ou mordendo (TLM) a pata injetada pela via intraplantar (i.pl.) com glutamato (GLU, 10 μ mol/pata), capsaicina (CAP, 1,6 μ g/pata) ou formalina (FOR, 2,5%). Além disso, a nocicepção também foi induzida por agonistas seletivos de receptores glutamatérgicos, sendo avaliado o TLM nos membros posteriores (patas posteriores, cauda e abdômen) após a injeção intratecal (i.t.) de NMDA (450 pmol/sítio), AMPA (135 pmol/sítio), cainato (110 pmol/sítio) ou trans-ACPD (50 nmol/sítio). **Resultados:** A FLU e a DOT (1-30 mg/kg, i.p., 0,5 h antes) reduziram de forma significativa e dose dependente o número das contorções abdominais induzidas pelo de AA com DI_{50} s de 4,9 (3,6-6,5) e 3,7 (2,2-6,0) mg/kg e inibições de 100 e 89 \pm 5%, respectivamente. Além disso, a FLU e a DOT (3-60 mg/kg, i.p.) reduziram o TLM na dor causada pela injeção i.pl. de CAP e GLU, com DI_{50} s de 12,2 (9,0-16,5), 19,7 (16,8-23,0), 34,5 (27,5-43,2) e 26,5 (20,3-34,6) mg/kg e inibições de 85 \pm 3, 69 \pm 4, 71 \pm 3 e 78 \pm 6%, respectivamente. A FLU e a DOT também reduziram o TLM induzido pela FOR, sendo mais potente e eficaz em relação à segunda fase deste modelo, com DI_{50} s de 11,6 (7,6-17,6) e 26,0 (20,3-33,5) mg/kg e inibições de 80 \pm 4 e 76 \pm 5% respectivamente. A FLU

(3 mg/kg, i.p., 0,5h antes) ainda inibiu o TLM induzido pela injeção i.t. de NMDA e AMPA com inibições de 65 e 41% respectivamente, enquanto a DOT (3 mg/kg, i.p. 0,5 h antes) foi capaz de reduzir o TLM induzido pela injeção i.t. de NMDA, AMPA e trans-ACPD com inibições de 41, 48 e 80%. **Conclusão:** Estes resultados estendem os dados da literatura e mostram que a FLU e a DOT apresentam significativo efeito antinociceptivo em diversos modelos comportamentais de nocicepção. O mecanismo de ação antinociceptivo ainda não está elucidado, contudo, o bloqueio dos canais de cálcio pela FLU e DOT pode explicar, em parte, este efeito. **Apoio Financeiro:** CNPq, UFSC.

06.072

ESTUDO CINTILOGRÁFICO DA REGENERAÇÃO LINFÁTICA: EFEITO DA INFLAMAÇÃO E DE FÁRMACOS

Greco, K. V.; Oliveira-Filho, R. M.; Lara, P. L.; Sudo-Hayashi, L. S. ICB-USP

Objetivos: Estudar a modulação da regeneração linfática por processo inflamatório e fármacos. **Métodos:** Bloqueios cirúrgicos (BL) de vias linfáticas em ratos foram feitos a) na região dorsal da coxa posterior direita e b) no hipocôndrio esquerdo. A cinética da regeneração dos vasos da coxa foi avaliada por (1) avaliação da captação de ^{99m}Tc-dextrana injetada (100 μ Ci) na região subplantar das patas posteriores e (2) quantificação do azul de Evans (AE, 250 μ g) nos linfonodos poplíteo direito (PopD) e axilar esquerdo (AxE). **Resultados:** Estudo cintilográfico revelou regeneração linfática cerca do 14^o dia pós-cirurgia. Sob inflamação induzida (INF) por 50 μ L de adjuvante completo de Freund, ocorreu regeneração já no 7^o d. Com dexametasona (DX) não foi possível visualizar os linfonodos até o 21^o d. Esses dados foram corroborados pelos dados de quantificação do corante AE (μ g, n=6): BL vs Controle (C) regeneração após 14^o d (PopD: 1,63 \pm 0,3 vs 1,83 \pm 0,1 e AxE: 1,1 \pm 0,05 vs 1,19 \pm 0,1). INF vs C, já no 7^o d (PopD: 4,2 \pm 0,4 vs 1,74 \pm 0,1 e AxE: 1,93 \pm 0,3 vs 1,59 \pm 0,1). Com DX vs C houve inibição da regeneração até 21^o d (PopD: 0,26 \pm 0,04 vs 1,32 \pm 0,1 e AxE: 0,1 \pm 0,02 vs 1,22 \pm 0,2). Tratamento com ácido acetil-salicílico vs C retardou regeneração: 14^o d (PopD: 0,6 \pm 0,2 vs 1,83 \pm 0,1 e AxE: 0,7 \pm 0,1 vs 1,19 \pm 0,1) e

Daflon® 500 (DA) vs C, estimulou: 7^o d (PopD: 2,4 \pm 0,4 vs 1,74 \pm 0,1 e AxE: 1,6 \pm 0,2 vs 1,59 \pm 0,1). **Conclusão:** A regeneração linfática pode ser estimulada por inflamação ou DA, por outro lado, pode ser diminuída por fármacos antiinflamatórios. Tais fatos têm relevância em patologias decorrentes da insuficiência linfática ou disseminação de neoplasias através da rede linfática. **Apoio Financeiro:** CAPES

06.073

THE ROLE OF SENSORY FIBERS ON MICROVASCULAR CHANGES EVOKED BY DIESEL EXHAUST PARTICLES, AN ENVIRONMENTAL POLLUTANT

Rodrigues Coelho, F.¹; Tavares de Lima, W.¹; Muscara, M. N.¹; Brain, S.²; Costa, S. K. P.¹ ¹ICB-USP Farmacologia; ²King's College Center for Cardiovascular Biology and Medicine

Introduction: Links exist between air pollutants and oxidative stress in skin diseases, heart disorders, asthma and bronchitis. To our knowledge, little is known on the relationship between DEP and the sensory neuro-inflammatory components (eg. Substance P). We aimed to determine the relationship between DEP (1,2-naphthoquinone; 1,2-NQ)-induced microvascular changes and neuropeptides. Oedema formation was assessed by the extravascular accumulation of ¹²⁵I-albumin in mice skin. Trachea reactivity was measured by applying the agents test into the organ bath. Data are mean \pm s.e.mean. Statistical analysis was by ANOVA + Bonferroni's modified t-test. **Results:** Fig. 1 shows the ability of i.d. injected DEP and 1,2-NQ to induce a potent oedema formation as compared to Tyode in mouse skin. The response was markedly reduced into the skin of mice treated with the NK₁ receptor antagonist (SR140333) or lacking the NK₁ receptor. The *in vitro* data shows that airway response in mice (measured by tracheal tension) to ACh (10 mM) was increased by 50%. DEP (1 mg/ml) added to the bathing solution accounted to further increase (30%) the ACh-induced airway reactivity. Applied alone DEP failed to produce a contractive effect but evoked a discrete relaxation. **Conclusion:** This is the first evidence that i.d. injection of DEP and

mainly quinone (1,2-NQ) (absorbed by DEP particles) induce increased microvascular permeability in dorsal skin. This may correlate with neurogenic mechanisms, in part, via activation of NK₁ receptors. Our *in vitro* data showed that cholinergic receptors in murine trachea are modulating DEP-induced airway response. Whether NK₁ receptors play a role is under investigation. **Acknowledgement:** Prof. Yoshito Kumagai (Japan) for providing DEP and 1,2-NQ. Fig.1 Effect of DEP and 1,2-NQ in mouse skin. **Supported by:** FAPESP and British Heart Foundation

06.074

LYS-[LEU⁸DES-ARG⁹]-BRADYKININ BLOCKS LIPOPOLYSACCHARIDE-INDUCED SHR AORTA HYPERPOLARIZATION BY INHIBITION OF CA²⁺- AND ATP-DEPENDENT K⁺ CHANNELS

Farias Junior, N. C.; Feres, T.; Paiva, A. C. de M.; Paiva, T. B. UNIFESP-EPM Biofísica

Introduction: Bradykinin (BK) and [des-Arg⁹]-BK (DABK) exert their effects by activation of receptors B₁R and B₂R, respectively. It has been shown that B₁R are upregulated in endotoxemia and that smooth muscles from lipopolysaccharide (LPS)-treated animals are hyperpolarized by DABK. Also, B₁R antagonists reverted the late phase of endotoxin-induced hypotension. We have investigated the mediators involved in the hyperpolarizing effects of LPS and of DABK on aortic rings of spontaneously hypertensive (SHR) and normotensive Wistar rats (NWR). **Methods:** Aortic rings from male NWR and SHR were used for electrophysiological measurements of smooth muscle cell membrane potentials. **Results:** Endothelized (E+) rings from SHR were hyperpolarized by DABK and LPS, whereas de-endothelized (E-) rings responded to LPS but not to DABK. The responses of (E+) rings to DABK were inhibited by N^w-nitro-L-arginine (L-NNA) and iberiotoxin (IBTX). The responses of (E-) rings to LPS were inhibited by IBTX, glibenclamide and B₁R antagonist Lys-[Leu⁸,des-Arg⁹]-BK (KLDABK). This antagonist also inhibited hyperpolarization by DABK and by the α₂-adrenoceptor agonist brimonidine (UK 14,304). **Discussion:**

Our results indicate that Ca²⁺-sensitive K⁺ channels are the final mediators of the responses to DABK, whereas both Ca²⁺- and ATP-sensitive K⁺ channels mediate the responses to LPS. The inhibitory effect of KLDABK is due to a direct action on Ca²⁺- and ATP-sensitive potassium channels. **Supported by:** FAPESP, CNPq, CAPES.

06.075

ANALYSIS OF ANNEXIN 1 GENE EXPRESSION DURING ENDOTOXEMIA IN MICE

Damazo, A. S.¹; Yona, S.²; Perretti, M.²; Oliani, S. M.³ ¹UNIFESP Morfologia; ²The William Harvey Research Institute Centre of Biochemical Pharmacology; ³IBILCE-UNESP Biologia

Introduction: Annexin 1 (Anx-A1) is a protein endowed with anti-inflammatory properties. Using the new line of mice lacking the Anx-A1 gene and constructed with the reporter gene LacZ, we tested the potential expression of the Anx-A1 gene during an endotoxic systemic inflammation model.

Methods: Male wild type (WT) and Anx-A1^{-/-} mice (n=20; 25-30 g body weight) were treated with 10 mg/Kg LPS (i.p.). The survival rate was determined. The mesentery, trachea and the liver were collected 4h and 24h later and were analysed for Anx-A1 gene expression by the LacZ stain. The samples were fixed (4% parafor-maldehyde) and embedded in LR Gold resin. Data were analysed by ANOVA followed by the Bonferroni test.

Results: Whereas WT developed mild peritonitis, none of the Anx-A1^{-/-} group survived. For instance, there was a time-dependent staining in the tracheal epithelium, more at 24h than at 4h post-LPS injection. Whereas mild Anx-A1 gene expression was detected in endothelial cells in absence of inflammation (4.5±0.3 density units) increases were quantified in endothelial cells as well as neutrophils after LPS. Finally, hepatocytes from untreated mice were negative for Anx-A1 gene expression, whereas approximately 70% and 40% of cells stained blue 4 h and 24 h post-LPS.

Discussion: These data indicate a novel interaction in inflammation centred at the level of the Anx-A1 gene with potential impact for identify the physiopathological role of this protein in systemic endotoxemia. **Supported by:** CAPES (BEX0223/03-4); FAPESP (02/09920-0)

06.076

PAPEL DAS ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO E NITROGÊNIO NA MIGRAÇÃO DE NEUTRÓFILOS PARA O FOCO INFECCIOSO E NA DISFUNÇÃO CARDIOVASCULAR DURANTE A SEPSE

Torres, D.; Ferreira, S. H.; Cunha, F. de Q. FMRP-USP Farmacologia

Introdução: Em modelos de sepse grave por CLP observou-se falência da migração de neutrófilos e alta mortalidade. O pré-tratamento com aminoguanidina (AG), preveniu a falência (Benjamim *et al.*, 2000). Existe evidência na literatura demonstrando que radicais livres de oxigênio contribuem para adesão de leucócitos ao endotélio em presença de inibidores da NOS (Kubes, 1993). Contudo não se tem realizado estudos relacionando o possível papel do peroxinitrito (PON) com a falência de neutrófilos e nas alterações cardiovasculares no modelo de sepse induzida por CLP. **Métodos:** Realizou-se CLP em camundongos, estabelecendo-se 2 grupos: estímulo séptico moderado (ESM) e severo (ESS). Um terceiro grupo falso operado, foi utilizado como controle. A migração de neutrófilos foi avaliada 6 horas após a CLP. Realizou-se contagem total e diferencial das células. A pressão arterial foi determinada 6, 12 e 24h após CLP e a sobrevida foi avaliada por 5 dias. O papel do NO e PON foi avaliado através do uso de AG e ácido úrico (AU) respectivamente. **Resultados:** A mortalidade teve uma relação direta com o grau de estímulo séptico (ESS 95% e ESM 65%). O grupo ESS apresentou falência de migração dos neutrófilos para o foco infeccioso (0.49±0.24; x10⁶ neutrófilos/cavidade, média ± EPM n=10) 6h após CLP comparado ao grupo ESM (16.04±1.98). Os animais pré-tratados com AG (ESS+AG, 9.6±2.23) e AU (ESS+AU, 9.57±3.45) apresentaram proteção significativa da falência da migração de neutrófilos. Os animais pré-tratados com AU (ESS+AU) apresentaram melhora significativa da sobrevida (40%) comparada com os animais ESS não tratados (5%). **Conclusões:** PON provavelmente está implicado na falência de migração celular e nas alterações cardiovasculares presentes na sepse. **Apoio Financeiro:** CNPq, FAPESP

06.077

MELATONIN HAS PROTECTIVE EFFECTS IN SEPSIS INDUCED BY CECAL LIGATION AND PUNCTURE (CLP)

Lotufo, C. M. da C.¹; Moreno, S. E.¹; Alves Filho, J. C.¹; Markus, R. P.²; Cunha, F. de Q.¹ ¹FMRP-USP Farmacologia; ⁴IB-USP Farmacologia

Introduction: Sepsis is a systemic inflammatory response commonly caused by bacterial infection. Recently we demonstrated that an excessive production of NO, mainly produced by iNOS, induces a failure of neutrophil migration towards infectious focus in sepsis induced by CLP. Melatonin is a hormone produced by pineal gland at night. Melatonin in high doses is known to have antiinflammatory effects through inhibition of NFkB and iNOS activation (Gilad *et al.*, 1998, *FASEB J*, 12:685). The aim of this study was to evaluate melatonin effect on neutrophil migration and survival rate in murine sepsis induced by CLP. **Methods:** Melatonin (10-20 mg/kg, subcutaneous) was administered 30 minutes before CLP surgery in Balb/C mice. A second melatonin injection, using same dose, was given 6 h after CLP in survival experiments. **Results:** Melatonin (20 mg/kg) completely reverts the failure of neutrophil migration in CLP. A 50% increase in survival rate was also observed in mice treated with melatonin (10 mg/kg). **Discussion:** These results indicate that melatonin has protective effects on sepsis induced by CLP. Such effects are possibly due to melatonin induced reduction of iNOS activation. **Supported by:** FAPESP, CNPq e FAEPA.

06.078

LIPOXYGENASE-DERIVED MEDIATORS MODULATE THE INHIBITORY EFFECT OF CROTOXIN ON MACROPHAGE PHAGOCYTOSIS: INHIBITION OF TYROSINE PHOSPHORYLATION

Sampaio, S. C.¹; Santos, M. F.²; Brigatte, P.¹; Curi, R.³; Cury, Y.¹ - ¹Instituto Butantan Laboratório de Fisiopatologia; ²ICB-USP Histologia e Embriologia; ³ICB-USP Fisiologia e Biofísica

Macrophage phagocytosis comprises alterations of cytoskeleton and the

activity of intracellular signalling proteins. Previous work showed that crotoxin (CTX), the main toxin of the *Crotalus durissus terrificus* venom, inhibits phagocytosis by macrophages. CTX is composed by a non-toxic component, crotapotin, and by a toxic phospholipase A₂ (PLA₂), responsible for the inhibitory action of CTX. The aim of this work was to characterize the effect of CTX or PLA₂ on macrophage actin polymerization (F-actin) and tyrosine phosphorylation (Ptry) during phagocytosis. Incubation of rat resident peritoneal macrophages with CTX (0.3 µg/ml) or PLA₂ (0.17 µg/ml) caused a significant inhibition (34%) of phagocytosis of opsonized zymosan. Transmission electron micrographs of macrophages indicated cytoplasmic expansion and an increase in cytoplasmic granules. Immunocytochemical studies showed that cells incubated with toxins present increased F-actin polymerization, but a drastic inhibition of PTry. Zileuton (50 µM/ml), a 5-lipoxygenase inhibitor, but not Indomethacin (1 µM/ml), a cyclooxygenase inhibitor, blocked the effect of the toxins. These data suggest that CTX or its PLA₂ component has a dual effect on macrophage, inducing alterations of cell surface and of cytoskeleton that are compatible with high engulfment activity, but inhibiting signal transduction pathways involved in cell function. These effects of the toxins are mediated by lipoxygenase-derived lipid mediators. **Supported by:** FAPESP, CNPq

06.079

INHIBITORY EFFECT OF CROTOXIN ON CIRCULATING LYMPHOCYTES AND LYMPHOID ORGANS

Zambelli, V. O.¹; Sampaio, S. C.¹; Franco, M. I.²; Garcia, L. P. F.¹; Spadacci-Morena, D. D.¹; Cury, Y.¹ ¹Instituto Butantan Laboratório de Fisiopatologia; ³FO-USP

Introduction: Crotoxin (CTX), the main toxin of *Crotalus durissus terrificus* venom (CdtV) is composed by a non-toxic component, crotapotin and by a toxic fosfolipase A₂ (PLA₂), which seems to be responsible for the toxic action of CTX. Data have shown that CTX causes marked alterations on peripheral leukocyte distribution, characterized by a drop in the number of lymphocytes and monocytes. **Aims:**

The aim of this study was to characterize the mechanisms involved with these phenomena, investigating the effect of CdtV, CTX and PLA₂ on the morphology of lymphoid organ and haematopoietic tissue. **Methods:** The number of circulating leukocytes was determined in male Wistar rats before and at different times after subcutaneous injection (s.c.) of CTX (18 µg/animal) or PLA₂ (10,4 µg/animal). CdtV (30 µg/animal) was used as control. Stained smears of blood were used for the differential leukocytes counts. **Results:** The CdtV, CTX and PLA₂ decreased (38%, 50%, and 44%, respectively, 2h after injection) the number of circulating leukocytes. The differential analysis showed that this reduction was due to decrease lymphocytes (47%; 42% and 51%, respectively). Histological analysis demonstrated that mesenteric lymph nodes and the spleen germinative centers were hyperplasic with the presence of mitotic cells. The haematopoietic tissue was not altered by the venom/toxins. **Conclusion:** These results indicated that CdtV or toxins are able to reduce circulating lymphocytes in rats. In addition this venom is able to interfere with the morphology of lymphoid organs. **Supported by:** FAPESP, Fundação Butantan.

06.080

EFEITO ANALGÉSICO DA SESELINA EM MODELOS EXPERIMENTAIS DE DOR INFLAMATÓRIA.

Lima, V. ; Silva, C. B.; Mafezoli, J. UNIFor-CCS

Introdução: a seselina é um agente cumarínico de ocorrência natural o qual exhibe importantes atividades biológicas. Compreende uma grande classe de substâncias fenólicas encontradas em plantas. Atualmente, pelo menos 1300 tipos já foram identificados. Os derivados cumarínicos possuem atividades biológicas diversas, dentre as quais, destacam-se seus efeitos anticancerígeno, citotóxico e antifúngico. No presente estudo avaliou-se a possível atividade analgésica da seselina em modelos experimentais de nocicepção. **Métodos:** foi utilizado o modelo de contorções abdominais em camundongos Swiss machos (±25 g) induzido por ácido acético a 0,6% (ip) e o teste da

placa quente. **Resultados:** observou-se que o pré-tratamento, 30 minutos antes com seselina, nas doses de 0,5; 4,5 e 40,5 mg/kg (sc), foi capaz de reduzir, de forma significativa e dose-dependente ($p < 0,05$), as contorções abdominais nos camundongos induzidas por ácido acético em 19,5%, 26,2% e 41,4%, respectivamente. A seguir, escolheu-se a dose de seselina que apresentou maior eficácia (40,5 mg/kg-sc), para ser utilizada no teste da placa quente. Entretanto, a seselina, na dose utilizada, não foi capaz de modificar o tempo de reação ao estímulo térmico induzido por este teste. **Discussão e Conclusão:** os resultados demonstram que a seselina possui importante efeito analgésico, para o qual se sugere predomínio periférico, visto que a mesma não exerceu antinocicepção no teste da placa quente. É possível, portanto, uma ação inibitória da seselina sobre mediadores inflamatórios. **Apoio Financeiro:** UNIFOR

06.081

EFEITO DO METOTREXATO (MTX) SOBRE AS ALTERAÇÕES MORFOMÉTRICAS INTESTINAIS DE CAMUNDONGOS KNOCKOUT PARA O RECEPTOR 1 DE TNF- α

Lima, V.¹; Cunha, F. de Q.²; Brito, G. A. C.³; Ribeiro, R. A.⁴ ¹UNIFOR/UFC Fisiologia e Farmacologia; ²FMRP-USP; ³UFC Morfologia; ⁴UFC Fisiologia e Farmacologia

Introdução: A mucosite intestinal (MI) induzida por antineoplásico é um efeito limitante do tratamento do câncer. Avaliamos as alterações morfológicas induzidas por MTX em camundongos. **Métodos:** a MI foi induzida em camundongos C57BL/6 selvagens para o receptor 1 de TNF- α (TNF-R1+/+), através de injeções de MTX 1,25; 2,0 e 2,5 mg/kg ou em camundongos deficientes desse receptor (TNF-R1-/-) com MTX 2,5 mg/kg, por 3 d consecutivos. No 5º d os animais foram mortos e segmentos de duodeno (D), jejuno (J) e íleo (I) foram removidos, fixados em formol-10% por 24 h e processados para coloração H&E. Avaliaram-se as alterações de comprimento de vilos (V) e profundidade de criptas adjacentes (C). Os valores obtidos foram expressos como relação V/C de 8-10 secções/animal. **Resultados e Discussão:** MTX 2,5 mg/kg causou redução da relação V/C em D=68%, J=70% e I=59%

($P < 0,01$) dos animais TNF-R1+/+. A deficiência do receptor 1 causou redução ($P < 0,01$) da relação V/C em D e J, quando comparada a animais selvagens, indicando que níveis basais de TNF- α são importantes para a homeostasia intestinal. MTX em animais TNF-R1-/- causou menores alterações na relação V/C ($P < 0,01$; D=58%, J=24% e I=26%), quando comparada a animais TNF-R1-/- não submetidos a MTX. Sugere-se que TNF- α possa ser um fator de lesão nesse modelo. **Conclusão:** níveis basais de TNF- α parecem ser importantes para homeostasia intestinal, porém, sua indução pode resultar em amplificação da mucosite intestinal induzida por MTX. **Apoio Financeiro:** CNPq

06.082

EFEITO DO EXERCÍCIO MODERADO SOBRE A LEUCOCITOSE INDUZIDA PELO LPS EM CAMUNDONGOS

Medina Dallago, B.¹; Garcia, R. C. F.¹; Gomes, R. N.²; Castro-Faria Neto, H. C.²; Altenburg, S. P.¹ ¹UFF Fisiologia e Farmacologia; ²FIOCRUZ Fisiologia e Farmacodinâmica

Introdução: Exercício moderado crônico (EMC), feito regularmente, reforça a resposta imunológica frente ao agente agressor. Camundongos exercitados sobrevivem melhor ao choque letal por LPS quando comparados aos sedentários. **Objetivo:** Verificar, em camundongos, se o ECM altera peso e leucitose após uma peritonite por LPS (250 ng/cav). **Métodos:** Camundongos BALB/C machos pesando 20-25 g divididos em 4 grupos: sedentários (S) salina ou LPS e exercício (E) salina ou LPS (n=8/grupo). O peso corporal foi monitorado por 4 semanas de exercício, no primeiro e último dia útil da semana. Animais caminharam em esteira por 30 min/dia, 5 vezes/semana, 20 m/s. Sedentários foram animais que permaneceram na gaiola sem exercitar. Após 14 h da última caminhada injetou-se LPS ip e 4 h após coletou-se amostras de sangue e peritônio para contagem leucocitária. **Resultados:** Observou-se que o EMC exacerbou sistemicamente a leucitose (mil/ml): 11860±840/16110±1570 (S) e 10440±670/24240±2720 (E) e neutrofilia 2290±550/6990±710 e 2310±260/11750±2880 e induziu linfocitose 8720±490/8750±750 e 7810±630/

11760±870 ($P < 0,05$). Apenas leucitose e neutrofilia aumentaram no peritônio (milhões/cav): 2960±770/4950±490 e 2630±360/4930±630 e 170±60/1670±380 e 130±20/2480±260 ($p < 0,05$). O peso dos animais não modificou durante o EMC. **Conclusão:** No modelo utilizado, o exercício moderado crônico exacerbou a leucitose e neutrofilia sistêmica e localizada sugerindo que o EMC reforça o aumento da mobilização celular da primeira linha de defesa frente ao LPS.

06.083

EFEITO DA PIOGLITAZONA SOBRE A GLICEMIA E O PERFIL LIPÍDICO EM MODELO EXPERIMENTAL DE RESISTÊNCIA AGUDA À INSULINA

Gonçalves, F. C.; Bersani-Amado, F. A.; Baroni, S.; Bersani-Amado, L. E.; Caparroz-Assef, S. M.; Bersani-Amado, C. A.; Cuman, R. K. N. UEM Laboratório de Inflamação

Introdução: O aumento da secreção ou administração de glicocorticóides causa hiperglicemia e hiperinsulinemia associada à resistência aguda à insulina (RAI). **Objetivo:** Avaliar o efeito do tratamento com pioglitazona (PGZ) sobre a glicemia e o perfil lipídico em animais com RAI induzida pela dexametasona (DEX). **Métodos:** Os ratos foram divididos nos grupos: controle (C), tratados com DEX (0,1 mg/kg/dia, sc, 4 dias) e DEX (0,1 mg/kg/dia, sc, 4 dias)+PGZ (10 mg/kg/dia, i.g, 4 dias). No 5º dia foi realizado o teste de tolerância à glicose (GTT) e determinado o perfil lipídico dos animais. **Resultados:** Os resultados obtidos (mg/dL) foram: colesterol total, C: 74±4, DEX 60±2, PGZ: 65±5; HDL, C: 49±2, DEX: 53±4, PGZ: 57±4; triglicerídeos, C: 89±9, DEX: 121±16, PGZ: 111±12). Os níveis de glicose (mg/dL) obtidos no GTT nos tempos zero, 5, 10, 20, 30, 60 min após injeção i.v. de glicose foram: C: 126±8; 313±15; 272±10; 228±11, 201±8; 181±11; DEX: 173±6*; 362±16*; 307±15*; 262±15*; 226±16; 34*,7±20; PGZ: 197,40±6,73*; 391,10±20,61*; 339,40±18,96*; 316,10±28,53*; 321,10±30,36*; 333,70±27,69*). Pela análise da área sob a curva do GTT, verificamos que no grupo PGZ (6152±729,4*mg/dL.min⁻¹) ela foi maior do que em C (5498±216,4 mg/dL.min⁻¹) e menor do que a do DEX (7208±475*mg/dL.min⁻¹). **Discussão:** Os dados demonstraram que a PGZ não alterou significativamente a

Farmacologia da Inflamação e da Dor

hiperglicemia e o perfil lipídico dos animais com resistência aguda à insulina. **Apoio Financeiro:** CNPq/UEM

06.084

REAÇÃO DO TECIDO CONJUNTIVO SUBCUTÂNEO DE RATOS A CIMENTOS ENDODÔNTICOS

Batista, R. C. F.; Agra, T. V.; Hidalgo, M. M.; Hernandez, L.; Victorino, F. R.; Cuman, R. K. N.; Bersani-Amado, C. A. UEM Laboratório de Inflamação

Introdução: A obturação do canal radicular é feita utilizando cones de gutta-percha (GP) associados a cimentos endodônticos, afim de selar hermeticamente o conduto radicular. O cimento obturador deve ser biocompatível, pois quando em contato com os tecidos apical e periapical pode induzir reação inflamatória. **Objetivo:** Avaliar a resposta do tecido conjuntivo subcutâneo de ratos a 4 cimentos.

Métodos: Foi realizado o implante de cânulas de polietileno obturadas com GP envolvidos com: Endofill®, Sealer 26®, AH Plus® e Endomethasone®. Como controle utilizou-se cânulas vazias ou preenchidas com GP. A avaliação da reação aos cimentos (n=6) foi feita através de análise histopatológica descritiva, 7, 14 e 30 dias após o implante, atribuindo-se escores ao conjunto dos fenômenos observados: reação inflamatória ausente (0), discreta (1), moderada (2) e intensa (3).

Resultados: O Endofill® provocou reação inflamatória cuja intensidade variou de 2 a 3 (2,7±0,2), sendo mantida durante todo o período avaliado. O AH Plus® e o Sealer 26® inicialmente provocaram reações intensas (2,5±0,3), as quais foram reduzidas (1,5±0,1) no 30º dia. O Endomethasone® causou reação inflamatória inicial cuja intensidade variou de 1 a 2 (1,5±0,1). No 30º dia tais reações estavam ausentes. **Conclusão:** Os resultados do presente trabalho revelaram que todos os cimentos endodônticos avaliados provocaram uma resposta inflamatória no tecido conjuntivo subcutâneo de ratos, cuja intensidade parece estar relacionada ao tipo de cimento, à quantidade do material e também ao tempo de avaliação. O Endomethasone® foi o que demonstrou melhor comportamento biológico em todos os períodos avaliados, seguido pelo Sealer 26® e AH-Plus®, os quais apresentaram um efeito irritante apenas nos períodos

iniciais. O Endofill® foi o que causou maior efeito irritante e mais prolongado. **Apoio Financeiro:** CNPq, UEM

06.085

H E P A T I C M E T A B O L I C A B N O R M A L I T I E S I N A D J U V A N T A R T H R I T I C R A T S : I N F L U E N C E O F D R U G T R E A T M E N T

Caparroz-Assef, S. M.¹; Bersani-Amado, C. A.²; Bracht, A. M.¹; Kelmer-Bracht, A. M.³; Iwamoto, E. L.¹ ¹UEM Laboratório de Metabolismo Hepático; ²UEM Farmácia e Farmacologia; ³UEM Bioquímica

Introduction: Previous work with perfused livers from adjuvant arthritic rats revealed that glucose and urea production from alanine are reduced whereas ammonia production is increased. The aim of the present work was to examine if these metabolic changes are normalized when the rats are treated with drugs acting by different modes, namely indomethacin (Id), dexamethasone (Dx) and cyclophosphamide (Cy). **Methods:** Arthritis was induced in Holtzman rats using Freund's complete adjuvant. Paw volume changes and body weight gain were measured. The livers were perfused with Krebs/Henseleit-bicarbonate buffer. Alanine (2.5 mM) was infused and glucose, ammonia and urea productions were measured.

Results: The abnormalities in urea and ammonia production were suppressed by Cy, Dx and partly so by Id treatment. The abnormalities in glucose production were not affected by Id or Dx, but they were partially suppressed by Cy. Cy and Dx suppressed the hind paw edema, without improvement of body weight. Id partially prevented the paw edema. **Discussion:** Glucose, urea and ammonia productions were not equally influenced by any of the drugs, suggesting that different factors are contributing to the development of each abnormality. The alterations in urea and ammonia production are probably associated with the immunopathological response. Prostaglandins seem to be implicated in the changes of urea and ammonia production, but not in those of glucose production. An association between the impairment of gluconeogenesis and body weight gain was apparent. **Support:** CNPq

06.086

PAPEL DA CICLOOXIGENASE 1 E 2 NA HIPERNOCICEPÇÃO MECÂNICA INDUZIDA PELA INTERLEUCINA-1β

Braz, D.; Cunha, F. de Q.; Ferreira, S. H. USP FMRP

Introdução: A sensibilização dos nociceptores é um fator preponderante para a instalação da hipernocicepção inflamatória. A interleucina-1β (IL-1β) induz hipernocicepção inflamatória mecânica indiretamente pela ativação da ciclooxigenase (COX) e consequente produção de prostaglandinas (PGs). Embora a participação da COX esteja bem estabelecida, há divergências na literatura em relação à qual das duas isoformas (COX-1 ou 2) é predominante. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a participação destas isoformas de COX em modelo de hipernocicepção mecânica induzido pela administração de IL-1β. **Métodos:** A hipernocicepção mecânica foi avaliada em ratos Wistar machos (180-200 g) pelo teste de pressão constante na pata de ratos (Randall&Selitto modificado). **Resultados:** A administração intraplantar (i.pl.) de IL-1β (0.5 pg/50 µL) induziu hipernocicepção mecânica somente na pata estimulada, avaliada na terceira hora após o estímulo hipernociceptivo. O pré-tratamento (30 min. antes do estímulo com IL-1β) com inibidor preferencialmente seletivo para COX-1 (valeril salicilato 27 µg/50 µL i.pl.) inibiu a hipernocicepção mecânica em 69%. O pré-tratamento (30 min. antes do estímulo com IL-1β) com inibidor preferencialmente seletivo para COX-2 (celecoxib 100 µg/50 µL i.pl.) inibiu apenas 31% a hipernocicepção mecânica induzida pela IL-1β. A administração i.pl. dos inibidores de COX (valeril salicilato- 27 µg e celecoxib- 100 µg) ou seus respectivos veículos (PBS - pH 7.2 e Tween 80 2%) não alterou o limiar hipernociceptivo mecânico dos animais. **Discussão:** Esses dados sugerem que na hipernocicepção mecânica induzida pela IL-1β administrada perifericamente o papel da COX-1 é predominante, visto que o tratamento com valeril salicilato (inibidor preferencialmente seletivo para COX-1) foi mais efetivo em inibir a hipernocicepção mecânica induzida pela IL-1β do que o celecoxib (inibidor preferencialmente seletivo para COX-2). **Apoio Financeiro:** FAPESP, CAPES, FAEPA.

06.087

SILDENAFIL REDUCES INFLAMMATORY PAIN THROUGH A MECHANISM INDEPENDENT OF NEUTROPHILS.

Bezerra, M. M.¹; Graça, J. R. V.¹; Pinto, V. P. T.¹; Cristino-Filho, G.¹; Santos, A. A.²; Rocha, F. A.² ¹UFC Faculdade de Medicina - Sobral; ²UFC Faculdade de Medicina - Fortaleza

Introduction: Several lines of evidence have shown that sildenafil, phosphodiesterase-5 inhibitor, induces anti-nociception. Neutrophils are involved in the control of inflammatory pain induced by different type of irritants. Considering this, we decided to investigate the possible interaction between the analgesic effect of sildenafil and neutrophil influx in writhing assay in mice. **Methods:** Male Swiss mice weighing 25 to 30 g were injected intraperitoneally with sildenafil (2.5 or 5 mg/kg). After 5 min acetic acid (0.1 ml/10 g body weight of a 0.6%) was injected into the peritoneal cavities of mice which were placed in a large glass cylinder and the intensity of nociception was quantified by counting the total number of writhings occurring between 0 and 30 min after stimulus injection. Peritoneal cavities were washed (i.p.) with saline (0.2 ml). After 5 min the peritoneal exsudate was collected by aspiration, centrifuged (500 g/10min) and total cell counts were performed using a Neubauer chamber. Non-treated (NT) animals received saline. **Results:** Sildenafil (5 mg/kg) significantly ($P < 0.05$) inhibited the writhing response (33.43 ± 10.1), compared to NT (77.2 ± 4.63). Neither sildenafil 2.5 or 5 mg/kg (2675 ± 307.8 and 3425 ± 496.03 cells/ mm^3 , respectively) affected the cell influx elicited in mice as compared to NT (2683.3 ± 444.9). **Discussion:** Sildenafil produces antinociception in the writhing test through a mechanism independent of neutrophils. **Support:** CNPq/Brazil

06.088

NITRIC OXIDE OPPOSING EFFECTS ON NEUTROPHIL MIGRATION DEPENDS ON THE SITE OF INFLAMMATION

Rocha de Melo Leite, A. C.¹; Carneiro Girão, V. C.¹; Fernandes Monteiro, M. M.¹; Bezerra, M. M.²; Cunha, F. de Q.³; Rocha, F. A.⁴ ¹UFC Fisiologia e Farmacologia; ²UFC Faculdade de Medicina Sobral; ³FMRP-USP; ⁴UFC Medicina Clínica

Introduction: The acute zymosan arthritis (ZyA) displays hyperalgesia and neutrophil (PMN) influx (Rocha *et al*, *Rev Bras Reumatol*, 206, 2003). We investigated whether NO effect on acute PMN migration is tissue dependent using ZyA and Zy peritonitis (ZyP). **Methods:** Rats received either 10-1000 μg Zy into the knee or 1mg Zy into the peritoneal cavity; controls received vehicle. After sacrifice, cell influx (CI) was assessed in the knee and peritoneum exudates. ZyA groups received L-NAME (LN1-30 mg/kg; i.p.) and ZyP groups Ln10 mg/kg (i.p. or s.c.) 30 min prior to Zy. **Results:** In the 10 μg and 100 μg ZyA groups, LN1-3 mg/kg reduced CI (5075%), as compared to control ($p < 0.05$). Ln30 mg/kg significantly reduced the CI in the 1 mg ZyA group, as compared to control. However, in the 1 mg ZyP group, LN injected either i.p. or s.c. significantly increased the CI ($13,900 \pm 2,464$; $10,933 \pm 844$ cells/ mm^3), as compared to control. **Discussion:** While NO may down regulate PMN chemotaxis by inhibiting their adhesion to endothelium (Benjamim *et al*, *J Infec Dis*, 214, 2000), we obtained that NOS inhibitors decrease PMN influx in ZyA and increase CI in ZyP. This is the first demonstration that NO has opposing effects on PMN migration in acute inflammation, depending on the site of the insult, rather than on the route of the NOS inhibitor administration or type of stimulus. **Support:** CNPq/Brazil

06.089

EFEITO ANTINOCICEPTIVO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE CASCAS DE UVAS VINÍFERAS (VITIS LABRUSCA)

Tano, T.¹; Santos, E. J. A.²; Blanco, R.¹; Azevedo, B. L. P.³; Mattoso, R. C. M.¹; Resende, A. C.¹; Souza, M. A. V.¹; Carvalho, L. C. R. M.¹; Lemos Neto, M. de¹; Moura, R. S. de¹ ¹UERJ Farmacologia e Psicobiologia; ²UERJ Anestesiologia; ³UERJ Farmacologia

Introdução: O extrato hidroalcoólico obtido de cascas de uvas *Vitis Labrusca* (GSE) induz efeito vasodilatador dependente de óxido nítrico (NO) e de EDHF em leito arterial mesentérico de ratos (Soares de Moura *et al*, *J. Pharm. Pharmacol.* 54:1515, 2002). Como o NO tem importante função nos mecanismos que controlam a dor, investigamos o possível efeito antinociceptivo do GSE em modelos experimentais de dor. **Métodos e resultados:** O efeito antinociceptivo do liofilizado obtido por extração hidroalcoólica das cascas de uvas foi avaliado usando os testes da formalina em ratos Wistar machos, contorções abdominais induzidas pelo ácido acético (0,6%) e pelo teste da placa quente em camundongos Swiss machos. O GSE (5 mg/kg ip) administrado 30 minutos antes da formalina reduziu ($p < 0,05$) ambas as fases do teste (fase 1: 77 ± 12 vs 20 ± 3 ; fase 2: 82 ± 12 vs 11 ± 10 ; $n = 4$). No teste das contorções abdominais, induzidas pelo ácido acético, o GSE (10 mg/kg, $n = 8$) reduziu significativamente o número das contorções (42 ± 1 vs 21 ± 2). Entretanto, no teste da placa quente o GSE apresentou efeito antinociceptivo somente em doses altas (> 100 mg/kg). O efeito antinociceptivo do GSE (5-30 mg/kg), avaliado pelos testes da formalina e contorções abdominais não foi modificado pelo pré-tratamento com antagonista α_2 -adrenérgico (ioimbina, 3 mg/kg) ou da NO sintase (7-nitroindazole, 30 mg/kg) administrados 15 min antes do GSE e 30 min antes dos testes. **Conclusões:** Nossos resultados demonstram que o GSE apresenta um importante efeito antinociceptivo e este efeito não é modulado pelo NO. **Apoio Financeiro:** CNPq - FAPERJ

06.090

CAPSAICIN TREATMENT OF FORMALIN-INJECTED RATS AFFECTED HYPERALGESIC AND OEDEMATOGENIC RESPONSES INDUCED BY PERITONEAL SUPERNATANT IN RECIPIENT ANIMALS

Santos, J. M. M.; Francischi, J. N. UFMG Farmacologia

Introduction: We have previously demonstrated that peritoneal supernatants from formalin injected rats induced hyperalgesia and paw oedema responses following administration into the paw of recipient animals. The aim of the present study was to verify whether sensitive nerve endings would contribute to the release of hyperalgesic and oedematogenic substances present in the supernatants. **Methods:** Three days newborn female Holtzman rats (donors animals) were treated with (25 mg/kg) capsaicin (Capsaicin, Sigma) or its vehicle (Physiological saline-tween80-ethanol solution) and 60 days later injected with either saline, 1.25% or 2.5%-formalin intraperitoneally. Four hours later, the animals were killed and the 3 ml-peritoneal lavage fluid (PLF) collected. Following centrifugation, 0.1 ml PLF-supernatant were administered intraplantarly in recipient animals. Hyperalgesia (g) and paw oedema (ml) were assessed at 0, 1/4, 1/2, 1, 2, 3, 4, 6 and 24 h following PLF intraplantar injections. **Results:** Capsaicin treatment of donor animals injected with 1.25 % formalin (CT) significantly reduced the hyperalgesia (CT: -10±5; C: -70±6, g) and paw oedema response (CT: 0.04±0.01; C: 0.08±0.01, ml) due to control supernatants (C), and 2.5% formalin donor (CT) reduced the hyperalgesia (CT: -8±4; C: -63±11, g) and increased the paw oedema response (CT: 0.11±0.02; C: 0.02±0, ml). One-way ANOVA were used (p<0.05). **Discussion:** Our data suggested that neuropeptides may be released into donor rats peritoneal cavity and might have contributed to the release of hyperalgesic and oedematogenic substances PLF-supernatants. **Supported by:** CNPq

06.091

EFEITO ANTINOCICEPTIVO PERIFÉRICO DA ANANDAMIDA E PARTICIPAÇÃO DOS CANAIS DE POTÁSSIO VOLTAGEM E CÁLCIO DEPENDENTES - MÉTODO DE FILAMENTOS DE VON FREY

Ramos, M. A.; Santos, J. M. M.; Duarte, I. D. UFMG Farmacologia

Introdução: A antinocicepção induzida pela Anandamida (AEA), um endocanabinóide vem sendo estudada a nível central e periférico. O objetivo deste trabalho foi estudar os possíveis mecanismos de ação antinociceptiva periférica da AEA envolvendo os canais de potássio (k⁺) ativados por cálcio (Ca²⁺) e voltagem dependentes. **Métodos:** A algometria foi feita pelo método dos filamentos de Von Frey (100 mN) em pata de ratos Wistar (n=5). O filamento foi aplicado perpendicularmente na superfície plantar até que se curve. A resposta positiva (hiperalgesia) foi dada pelo levantamento da pata (10 repetições/animal) e avaliada pela diferença (D) entre as medidas do total de retiradas da pata antes do agente hiperalgésico carragenina (Cg, 500 microgramas-mcg/pata) e 3 h após sua administração. Todos os fármacos foram administrados por via intraplantar (50 microlitros). **Resultados:** A hiperalgésia induzida por Cg (D= 9±1) foi revertida pela AEA (100 pg, D=4±1). A aplicação dos bloqueadores de canais de K⁺ 4-aminopiridina nas doses de 2,5 (D=3,4±0,7), 5 (D=3,6±0,4) e 10 (D=6,8±0,3) mcg, tetraetilamônio 3,5 (D=2,6±0,8), 7,5 (D=4,8±0,2) e 30 (D=6,4±0,5) mcg, dequalinium 5 (D=3±0,5), 10 (D=5,5±0,5) e 20 (D=7±0,5) mcg, paxilina 2,5 (D=3,8±0,2), 5 (D=5,6±0,6) e 10 (D=6±0,6) mcg e césio 10 (D=2,8±0,3), 20 (D=4,3±0,3) e 40 (D=6,3±0,4) mcg revertem o efeito da AEA de maneira dose-dependente (ANOVA, p<0,05). **Discussão:** Sugerimos o envolvimento dos canais de K⁺ (voltagem e Ca²⁺ dependentes) na antinocicepção periférica induzida pela AEA. **Apoio Financeiro:** CNPq/CAPES (PICD).

06.092

THE EFFECT OF INHALED NITRIC OXIDE ON THE CARRAGEENAN-INDUCED MICE PLEURISY

Leonardo, P. S. L. M.¹; Coelho, C. F.¹; Teixeira, S. A.²; Muscará, M. N.²; Cogo, J. C.¹; Lopes-Martins, R. A. B.¹
¹UNIVAP Fisiologia e Farmacodinâmica; ²USP Farmacologia

The gaseous molecule nitric oxide is well recognized for its involvement in several biological process, including vaso and bronchodilation, neurotransmission, antimicrobial defense and regulation of inflammatory-immune process. In the last eight years a significant development in lung inflammation was the use of inhaled nitric oxide (NO), in infants and more recently in adults. The aim of the present study was to investigate the effect of different NO inhalatory flows on the carrageenan-induced mice pleurisy. The experiments were carried out on Male Swiss mice weighing between 20 and 25 g. Pleurisy was induced by the intrathoracic (i.t.) injection of 100 ml of the agonist solution (carrageenan, 500 µg/cavity) and an equal volume of sterile saline was injected into the controls. The NO inhalation was performed 30 minutes after carrageenan injection at the flows of 5, 10 and 20 L/min. After four hours of the injection the animals were killed with CO₂ inhalation. The thorax were opened and the pleural cavities were washed with 1 ml of PBS plus heparin (20 IU.ml⁻¹). The total and differential cell counts in the pleural cavity were determined. The NO inhalation significant inhibited the Total number of leukocytes migrating to pleural cavity by 72±2, 62±4 and 65±5% respectively. The number of neutrophils were also dramatically inhibited by NO inhalation by 95±3, 69±7 and 73±5% respectively. The number of mononuclear cells was not affected by NO inhalation. Our results demonstrate an important inhibitory effect of inhaled nitric oxide on the leukocyte migration to pleural cavity induced by carrageenan in mice. The important inhibition of neutrophil migration should be a key mechanism involved in the beneficial effects of inhaled NO therapy. **Supported by:** UNIVAP

06.093

THE EFFECT OF INHALED NITRIC OXIDE ON THE CARRAGEENAN-INDUCED MICE PAW OEDEMA

Coelho, C. F.¹; Leonardo, P. S. L. M.¹; Teixeira, S. A.²; Muscara, M. N.²; Lopes - Martins, R. A. B. ¹UNIVAP Fisiologia e Farmacodinâmica; ²USP Farmacologia

Nitric oxide (NO), a gaseous molecule generated enzymatically from L-arginine was demonstrated to play a role in tissue injury in a number of inflammatory diseases. The acute inflammatory response depends on the release of chemical mediators which causes oedema formation and accumulation of polymorphonuclear neutrophils. There are controversial evidences implicating NO in the pathophysiology of inflammatory process as pro or anti-inflammatory molecule. The aim of the present study was to investigate the effect of inhaled NO on the carrageenan-induced mice paw oedema. The experiments were carried out on Male swiss mice weighing between 20 and 25 g. Paw oedema was induced by the intraplantar injection of 50 ul of carrageenan (500 ug/paw). The NO inhalation was performed 30 minutes after and before carrageenan injection at different times and flows. The nitric oxide donor Gliceryl Trinitrate (GTN) was also tested locally 30 min. after and before carrageenan injection. Paw oedema development was measured by plethysmometry. The area under the time vs volume curve was calculated for each protocol by the Graphpad Prisma software. The NO inhalation at the flows of 5, 10 and 20 L/min 30 minutes after carrageenan injection significant inhibited the paw oedema by 50±3, 40±4 and 43±5 % respectively. When the animals inhaled NO during 3, 5, 20 or 30 minutes in a flow of 5 L/min we also could observe a significant inhibition of paw oedema of 25±4, 49±4, 48 ± 5 and 39±5 % respectively. The NO donor GTN injected into the mice paw 30 min. after or before carrageenan injection did not alter the oedema formation. Our results demonstrated the anti-edematogenic effect of inhaled NO in the model of carrageenan-induced mice paw oedema, where the possible vasodilator effect seems to be not involved. **Supported by:** UNIVAP

06.094

EVIDÊNCIA PARA O ENVOLVIMENTO DO ATP ENDÓGENO NA DOR DA ATM

Oliveira, M. C.¹; Clemente, J. T.¹; Veiga, M. C. F. A.¹; Parada, C. A.²; Tambeli, C. H.¹ ¹FOP-UNICAMP Ciências Fisiológicas; ²FMRP - USP Farmacologia

Introdução: Considerando que a ativação de receptores P2X localizados na região da ATM (articulação temporomandibular) de ratos induz nocicepção (Oliveira, *et al.*, *Eur J Pain*, *in press*), o objetivo desse trabalho era avaliar o envolvimento do ATP endógeno no desenvolvimento da hiperalgesia na ATM. **Métodos:** Uma baixa dose de 5-hydroxytryptamina (5-HT; 75 µg) foi injetada na ATM de ratos previamente (1 h) sensibilizada pela Carragenina (Cg; 100 µg) e as respostas comportamentais nociceptivas, caracterizadas por coçar a região periarticular e levantar a cabeça reflexamente, foram quantificadas por 30 min. utilizando um cronômetro e somadas como uma medida quantitativa de comportamento nociceptivo. **Resultados:** As respostas comportamentais induzidas pela injeção de 5-HT na ATM 1h após a Cg foram significativamente maiores (média±EPM: 103.75±12.92, n=7, teste Tukey, p<0.05) que as induzidas pela injeção de salina (26.96±7.99, n=6), Cg (28.83±6.76, n=9) ou 5-HT sozinhas (49.23±9.58, n=6) na ATM. A co-administração de PPADS (300 µg) com Cg significativamente reduziu a hiperalgesia induzida pela carragenina (56.22±14.16; n=6, p<0.05, teste Tukey). Sozinho, PPADS (52.14±10.47; n=6) não afetou as respostas comportamentais induzidas pela subsequente injeção de 5-HT (49.23±9.58; n=6) na ATM. **Discussão:** Nós concluímos que o bloqueio de receptores P2X-sensíveis ao PPADS diminui a hiperalgesia inflamatória induzida pela carragenina na ATM de ratos. Esses dados indicam que os receptores P2X são possíveis alvos para o desenvolvimento de novas drogas analgésicas para o controle da dor na ATM. **Apoio Financeiro:** PROAP - FAEP

06.095

MELATONIN AS SCAVENGER OF REACTIVE OXYGEN SPECIES GENERATED BY STIMULATED NEUTROPHILS.

Paino, I. M. M.; Ximenes, V. F.; Brunetti, I. L.; Fonseca, L. M. UNESP Análises Clínicas

Introduction: Experimental evidences showing the antioxidant and antiinflammatory properties of the melatonin have increased in the last decade. In this study we investigated the effects of melatonin on the reactive oxygen species (ROS), generated by activated human neutrophils by luminol or isoluminol-amplified chemiluminescence assay. **Methods:** The neutrophils (1x10⁶/mL) were pre-incubated at 37°C with 1 mM melatonin and phosphate saline buffer (30 min), adding 100 mg/mL glucose, 0,5 mM luminol (total ROS) or isoluminol (extracellular ROS by inability to cross the cell membrane; in this assay, 110 U/mL of horseradish peroxidase-HRP was added). The reaction was started by 100 nmol/L phorbol miristate acetate (PMA). The chemiluminescence was recorded as integrate light emission (model 1251 luminometer, Finland). **Statistical Analysis:** Student's *t*-test. **Results:** Melatonin was able to scavenge the ROS in both assays. In the luminol assay, the control was (1.77±0.22) x 10⁶ (mV x s); plus melatonin (1.23±0.25) x 10⁶ (mV x s) or inhibition of 30.28%±4.27, (p<0.05). In the isoluminol assay, the control was (3.18±0.39) x 10⁶ (mV x s); plus melatonin (1.75±0.40) x 10⁵ (mV x s) or inhibition of 94.50%±1.28 (p<0.05). **Discussion.** Melatonin acted as an antioxidant which was able to scavenge the ROS generated by stimulated cells. The isoluminol assay showed that melatonin is particularly more efficient regarding the ROS that are released by the neutrophils. These results suggest that melatonin may be helpful against tissue damage caused by chronic inflammation. **Supported by:** UNESP-CAPES

06.096

THE EFFECTS OF DICLOFENAC AND INDOMETHACIN ON SUPEROXIDE ANION PRODUCED BY STIMULATED RAT NEUTROPHILS

Paino, I. M. M.; Ximenes, V. F.; Brunetti, I. L.; Fonseca, L. M. UNESP Análises Clínicas

Introduction: It is well established that reactive oxygen species (ROS) are involved in the adverse effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). Here our aim was to study the effect of diclofenac and indomethacin on the respiratory burst of stimulated rat neutrophils. **Methods:** *Chemiluminescent assay* (BIOOrbit model 1251 luminometer, Finland): The rat neutrophils (1×10^6 cells/mL) were pre-incubated at 37°C in buffer with or without the NSAIDs (diclofenac: 3,6 $\mu\text{mol/L}$ and indomethacin, 12 $\mu\text{mol/L}$) by 30 min. Lucigenin 10 $\mu\text{mol/L}$ was used as specific probe to superoxide anion generation. The reactions were started by adding 100 nmol/L of phorbol miristate acetate (PMA). The integrated light emission was taken as analytical parameter. *Oxygen uptake assay* (oxygen monitor, USA): The oxygen consumption by activated neutrophils (4×10^9 cells/mL) was incubated as previously. *Statistical Analysis:* Student's *t*-test. **Results:** Indomethacin was able to inhibit the lucigenin chemiluminescence. Control 76881 ± 1182 (mV x s); plus indomethacin 34138 ± 7246 (mV x s) or $52\% \pm 5$ ($p < 0,05$). Diclofenac had opposite effect. Control 15527 ± 1653 (mV x s); plus diclofenac 28882 ± 874 (mV x s) (amplification by $181\% \pm 60$), ($p < 0,05$). **Discussion:** In agreement with the chemiluminescence results, diclofenac provoked a small, but statistically significant ($p < 0,05$), increased in the oxygen uptake. Indomethacin had no this effect. Indomethacin inhibited the superoxide anion production. Diclofenac had a pro-oxidant activity, by promoting the generation of superoxide anion. **Supported by:** CAPES

06.097

RANTES-INDUCED FEVER IN RATS: DEPENDENCE ON PROSTAGLANDINS

Machado, R. R.¹; de Melo Soares, D.²; Proudfoot, A. E. I.³; Souza, G. E. P.¹ - ¹FCFRP-USP Física e Química; ²USP Farmacologia; ³Serono - Pharmaceutical Research Institute;

Introduction: RANTES (Regulated on activation, normal T cells expressed and secreted), a CC chemokine acts on CCR1, CCR3, and CCR5 receptors¹ and promotes fever sensitive to steroidal and non steroidal antipyretic drugs². This study investigated if RANTES promotes a real fever as well as compared the effects of ibuprofen (IBU) and indomethacin (INDO) on fever induced by this chemokine. **Methods:** RANTES (25 pg/rat) was injected into the anterior hypothalamus preoptic area (AH/POA) in male Wistar rats (200 g b.w.). Control animals received saline. Changes in rectal and skin tail temperatures were measured for up to 6 h by telemetry. IBU (10 mg/kg, i.p.) and INDO (2 mg/kg, i.p.) were administered 30 min before RANTES. **Results:** Injection of RANTES into AH/POA simultaneously increased rectal and decreased skin tail temperature of rats (2.5 h, °C, rectal: 1.61 ± 0.22 ; tail skin: -1.16 ± 0.22). IBU reduced the first phase by 71% (from 0 to 3.5 h; RANTES: 1.27 ± 0.07 ; IBU + RANTES: 0.36 ± 0.15 ; 2,0 h) while INDO reduced the last phase by 62% (from 3.5 to 6 h; RANTES: 1.51 ± 0.08 ; INDO + RANTES: 0.57 ± 0.07 ; 5,0 h) of fever to RANTES. **Discussion:** RANTES promotes a true fever by activating thermoregulatory mechanisms dependent on PGs synthesis. The robust reduction of the first phase of fever to RANTES in ibuprofen-treated rats may be related to central AVP release³. **Supported by:** FAPESP

06.098

ESTUDO DAS ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS (ANTIINFLAMATÓRIA E ANTIÁLGICAS) DOS EXTRATOS DICLOROMETANO DA FOLHA E DO CAULE DA ESPÉCIE *Cissus sulcicaulis* Baker

Grando, R.¹; Minami, M. M.¹; Silva, R. F. R.¹; Naufal, A. S.²; Foglio, M.³; Lopes, L. C.⁴ ¹UNIMEP-FACIS; ²UNISO Farmácia; ³UNICAMP-CPQBA Fitoquímica; ⁴UNIMEP-UNISO Farmacologia Clínica

Introdução: A espécie *Cissus sulcicaulis* Baker, erva de macaé, vem sendo usada para tratar dor e inflamação. **Métodos:** Foram confeccionados desta planta os extratos brutos diclorometano da folha (EBDF) e do caule (EBDC) e posteriormente evaporados. Os ensaios foram realizados em camundongos, swiss, 18-25g, machos, n=5-7/grupo. Utilizou-se como modelos experimentais o edema de orelha (óleo de crôton -2,5% v/v em acetona); contorção (ácido acético 1,2%, i.p) e lambedura (formalina intraplantar). **Resultados:** Houve inibição significativa do edema de orelha após os tratamentos tópicos (0,2 e 2,0 mg/orelha) e oral (300 mg/Kg/vo) com EBDC ($17,7 \pm 4,9$; $10,3 \pm 3,8$; $38,3 \pm 7,2\%$), EBDF ($44,26 \pm 1,08$; $40,2 \pm 7,2\%$) e dexametasona (200 μg /orelha- $80,4 \pm 2,9\%$) em relação ao controle (ANOVA $F_{(6,38)} = 6,16$ $p < 0,0002$). Houve diminuição do ID (Índice de Dor) na Fase 2 do modelo de lambedura, após o tratamento com 100 e 300 mg/kg/vo de EBDF ($41,4 \pm 3,13$; $33,79 \pm 8,9$), EBDC ($21,79 \pm 5,6$; $25,66 \pm 7,3$), indo (30 mg/kg/vo - $16,9 \pm 4,8$) em relação ao controle ($63,2 \pm 3,2$), ANOVA $F_{(5,35)} = 11,2$ $p < 0,0001$. As contorções foram reduzidas após os mesmos tratamentos com EBDF ($53,0 \pm 5,9$; $36,1 \pm 8,5$), EBDC ($44,3 \pm 4,4$; $48,5 \pm 8,8$), dipirona ($14,6 \pm 2,0$) e salina ($75,0 \pm 9,1$), ANOVA $F_{(5,33)} = 7,17$, $p < 0,0002$. **Discussão:** Conclui-se que o efeito antiálgico parece estar relacionado com a atividade antiinflamatória e os compostos mais lipossolúveis estão presentes em maior quantidade nas folhas, dada a resposta tópica obtida. **Apoio Financeiro:** CYTED- PIBARTRI, UNIMEP, PROBIC-UNISO

06.099

INFLUÊNCIA DO EXERCÍCIO FÍSICO REPETIDO NA RESPOSTA ANTINOCICEPTIVA INDUZIDA PELO ESTRESSE

Silva, M. T. B.¹; Santos, M. A. P.¹; Barros, T. L.¹; Almeida, F. R. C.² ¹UFPI NPPM; ²UFPI Bioquímica e Farmacologia

Introdução: O exercício físico agudo induz analgesia, mas existem controvérsias sobre esse efeito quando se repete o exercício. **Objetivo:** Avaliar o efeito do exercício físico repetido na antinociceção induzida pelo nado forçado (NF) em ratos. **Métodos:** Ratos Wistar machos (200 a 250 g) (biotério do NPPM) foram divididos nos grupos sem nado (SN), sham (S) e Nado, sendo nado 1 dia (N1) ou 7 dias (N7). No teste da placa quente (dor fásica), os animais eram testados na placa (54±1 °C)(N1a), e nadavam durante 5 min/dia, durante 1 (N1d) ou 7 dias (N7d), num recipiente com água a 28±1 °C. O grupo S entrava na água por 5 s. No 7.º dia, N7 e S7 voltavam à placa antes e após o nado. No teste da formalina (dor tônica), os grupos recebiam formalina 1 % (50 ml, i.pl.) após ou não o exercício por 1 ou 7 dias. Os movimentos da pata ou trem posterior eram quantificados em 2 fases (0-10 e 10-60 min.). **Resultados:** N1 demonstrou aumento da latência na placa (15,75±2,07/N1a e 28,28±2,47/N1d*), enquanto que S1 mostrou atividade na placa (14,54±2,11/S1a e 25,41±2,61/S1d*) e na 2.ª fase da formalina (351±59,76 e 186,50±36,66*). Os grupos N7d e S7d elevaram a latência na placa (25,39±1,07* e 20,79±1,52*) comparado ao 1.º dia (12,94±1,10/N1 e 14,16±1,30/S1), mas os grupos N7 e S7 não alteraram o teste da formalina. **Conclusão:** Os dados sugerem que a analgesia após o exercício é semelhante após 1 ou 7 dias no teste de dor fásica, o que não se verificou frente à dor tônica, nessas condições experimentais. **Apoio Financeiro:** UFPI

06.100

PARTICIPATION OF ENDOTHELINS (ETs) IN NOCICEPTION INDUCED BY E. coli LPS AND PRE-FORMED PYROGENIC FACTOR (PFPF) IN RATS

Camargo, D. C.¹; Lindsey, C. J.²; Rae, G. A.³; Veiga-Souza, F. H.¹; Souza, G. E. P.¹ ¹FCFRP-USP; ²UNIFESP-EPM; ³UFSC Farmacologia

Introduction: Acting via ET_A and/or ET_B receptors, ETs participate in nociception induced by different algogens^[1,2]. This study evaluates the importance of these receptors in the nociception induced by ET-1, LPS and PFPF. **Methods and Results:** Male Wistar rats (200 g b.w.) received an intraplantar (i.pl.) saline (50 µl) ET-1 (10 pmol), LPS (1 mg) or PFPF (200 ng) injection. Changes in nociceptive responses triggered by hindpaw mechanostimulation with von Frey filaments were assessed 1 h later, relative to baseline. Mechanical nociceptive response threshold was unchanged by saline (Δ= 1±0.4 g), but ET-1, LPS and PFPF caused marked hypernociception, which was reduced by BQ-123 or BQ-788 (ET_A and ET_B receptor antagonists, respectively; see Table). *Influence of BQ-123 and BQ-788 on hypernociception seen 1 h after ET-1, LPS and PFPF.*

Stimuli	Saline	BQ-123 (pmol)			BQ-788 (pmol)		
		0,1	1	10	0,1	1	10
ET-1	6.7±0.4	7.6±0.4	3.3±0.5*	2.0±0.3*	7.6±0.4	1.6±0.6*	1.1±0.8*
LPS	6.1±0.3	6.8±0.5	3.6±0.7*	1.4±0.6*	6.1±0.5	3.4±0.4*	1.3±0.3*
PFPF	7.5±0.4	-	4.0±0.5*	1.3±0.7*	-	7.0±0.4	3.7±0.5*

Values are Δ (in g) *P< 0.05, ANOVA-Bonferroni. Mean ± s.e.m. of 5-6 rats per group.

Conclusion: Mechanical hypernociception induced by ET-1 and LPS in the rat hindpaw depends equally on both ET_A and ET_B receptor-operated mechanisms, but those via ET_A receptors predominate in the response to PFPF.

[1] De-Melo *et al.*, *Pain*, 77:261, 1998; [2] Piovezan *et al.*, *Br. J. Pharmacol.*, 129:961, 2000. **Supported by:** FAPESP, CNPq.

06.101

PERFIL ANALGÉSICO E ANTINFLAMATÓRIO DE NOVOS DERIVADOS 6-BROMO-BENZODIOXOLA-N-ACILIDRAZÔNICOS

Schulz, D. F.¹; Faoro, D.³; Pinho, V. D.¹; Lima, L. M.¹; Fraga, C. A. M.¹; Barreiro, E. J.¹; Palhares de Miranda, A. L.¹ ¹UFRJ, Farmácia-Fármacos-LASSBio; ²UFRJ Instituto de Química Fármacos-LASSBio

Objetivo: Os AINEs têm suas ações analgésica e antiinflamatória relacionadas com a inibição do metabolismo do ácido araquidônico (AA) pela via da COX. Inserido numa linha de pesquisa que visa o planejamento racional e a síntese de novos protótipos bioativos capaz de atuar na cascata do AA, o presente trabalho teve como objetivo a avaliação das atividades analgésica e antiinflamatória de compostos 6-bromo-benzodioxola-N-acilidrazônicos, obtidos pela modificação do padrão de lipofilicidade do protótipo LASSBio 294 (Miranda *et al.*, 6^{ème} Congrès SFP, 296, 2002). **Métodos e Resultados:** As atividades antiinflamatória e analgésica foram determinadas nos ensaios de edema de pata de rato induzido por carragenina (1000 µg/pata) e contorção abdominal induzida por ácido acético 0,1 N em camundongo. Os compostos foram administrados *v.o.* na dose de 300 µmol/kg. Foram avaliados 4 compostos e nenhum deles apresentou atividade antiinflamatória significativa. LASSBio 294 na mesma dose inibe o edema em 29,7%*. Por outro lado, estes compostos foram capazes de inibir as contorções na ordem de 40%-30%, apresentando porém uma atividade analgésica inferior comparada à série análoga. O análogo direto do LASSBio 294 (60%*), isto é, LASSBio 942 inibiu em 36,5%* as contorções (n=8, *p<0,05). **Conclusões:** Os resultados obtidos mostram que a modificação estrutural realizada pela introdução do átomo de bromo nesta nova série não contribuiu para a atividade antiinflamatória e também não foi capaz de favorecer um aumento do perfil analgésico, ao contrário do que é observado em uma série análoga onde no lugar do átomo de bromo houve a introdução de um grupamento NO₂. Considerando o caráter lipofílico do átomo de Br e o importante perfil

antiplaquetário do LASSBio 294, este trabalho tem como perspectiva a avaliação destes compostos no modelo de hot plate e na agregação plaquetária. **Apoio Financeiro:** FINEP, CNPq, FAPERJ, CAPES.

06.102 GUANYLATE CYCLASE IS INVOLVED IN THE ANTI-EDMATOGENIC ACTION OF *Pfaffia glomerata* (SPRENG) IN MICE.

Piccoli, A. K.; Limas Teixeira, C.; Soares, L.; Costa, P.; da Silva-Santos, J. E. UNIVILLE Farmácia

Objective: In this study the hydroalcoholic extract from roots of *P. glomerata* (EPG), a plant popularly used as antiinflammatory, was evaluated for antiedematogenic activity. **Methods:** Mice (30-45 g) were treated with EPG (1, 10 and 300 mg/kg, p.o.) or water (0.1 ml/10 g, p.o.) 1, 3 or 6 h before the intraplantar (i.pl.) injection of carrageenan (CAR), bradykinin (BK) or histamine (H) into the paw (300 µg, 3 and 100 nmol/paw, respectively). Paw edema was measured by plethysmometry. **Results:** EPG (given 1 h before) caused a dose-dependent reduction in CAR-induced paw edema. For instance, 2 h after CAR paw edema was 127.9±9.9 µl in control group, 81.7±10.1 and 36±4 µl in EPG-treated mice (10 and 300 mg/kg, respectively; $p < 0.01$; $n \geq 8$). Administration of EPG (300 nmol/kg) 6 h before CAR decreased paw edema in 45%. The paw edema measured 10 min after i.pl. injection of BK and H was 95.1 and 90.4% lesser in EPG-treated mice (300 mg/kg). The action of EPG against CAR-induced edema was reduced in 60% by methylene blue (20 mg/kg, s.c.; given 3 h before EPG). **Discussion:** This study reveals that EPG reduce CAR-, BK- and H-induced paw edema in mice, an event that may be involving the guanylate cyclase enzyme (sGC). Since sGC activation is implicated in antiedematogenic effects of nitric oxide (NO; Fernandes, *Inflamm. Res.*, 51: 377, 2002) and that the antiulcer action of *P. glomerata* is NO-dependent (Freitas, *Life Sci.*, 74:1167, 2004), we are currently investigating the role of NO on antiinflammatory action of *P. glomerata*. **Supported by:** FAP/UNIVILLE

06.103 AVALIAÇÃO DO PERFIL ANTINFLAMATÓRIO E ANALGÉSICO DE NOVOS DERIVADOS SULFONA MODIFICADOS ANÁLOGOS AO SULINDACO

Soares Cardozo, S. V.; Leite, R. D. F.; Lima, L. M.; Fraga, C. A. M.; Barreiro, E. J.; Palhares de Miranda, A. L. UFRJ, Farmácia-Fármacos-LASSBio

Objetivos: O sulindaco é um pró-fármaco e sua forma ativa consiste no metabólito sulfeto, resultado de sua metabolização por enzimas hepáticas. Estudos demonstraram que modificações estruturais na indometacina levam a modificações de seu perfil farmacológico (Kalgutkar *et al*, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 97:925, 2000). No âmbito de uma linha de pesquisa de novas substâncias antiinflamatórias, uma nova série de derivados sulfona modificados, análogos ao sulindaco (sulfóxido), foi planejada e sintetizada visando à otimização do perfil antiinflamatório e a seletividade para a COX-2. No presente trabalho descrevemos a avaliação das atividades analgésica, antiinflamatória e seletividade sobre as isoformas de ciclooxigenase. **Métodos e Resultados:** As atividades analgésica e antiinflamatória da série foram avaliadas utilizando-se os ensaios de contorção abdominal induzida por ácido acético 0,1 N em camundongo e o edema de pata de rato induzido por carragenina (1000 mg/pata). Os compostos foram administrados *v.o.* na dose de 300 mmol/kg. Todos os compostos apresentaram atividade analgésica significativa ($\gg 50\% - 20\%*$). O composto LASSBio 853 (morfolina-amida) foi o mais ativo inibindo as contorções em 48%*, equivalente a indometacina e ao sulindaco ambos com inibição em torno de 49%*. Os derivados análogos direto do sulindaco, LASSBio 843 (ácido) e LASSBio 842 (éster) apresentaram inibição de 34,3% e 21,2%. No ensaio de inflamação o composto LASSBio 843 foi o mais ativo inibindo o edema em 47,4%*. Os derivados amídicos LASSBio 853 e LASSBio 854 inibiram o edema em 45,4%* e 35%*, enquanto LASSBio 842 não teve atividade. Estes compostos não apresentam efeitos gastrotóxicos na dose empregada, enquanto que o sulindaco inibe o edema na ordem de 66% com leve efeito gastrotóxico nas doses de 100 e 300 mmol/kg ($n=8-10$;

$*p < 0,05$). **Conclusão:** Os resultados obtidos permite-nos destacar o derivado LASSBio 853, com importante atividade analgésica e antiinflamatória, semelhante ao do sulindaco, sem apresentar o efeito gastrotóxico observado por este fármaco. Os resultados obtidos demonstram que as estratégias empregadas na síntese desta série lograram na obtenção de protótipos a fármacos com a desejável atividade farmacológica e livre de efeitos colaterais. **Apoio Financeiro:** PRONEX, FUJB, CNPq, FAPERJ

06.104 ATIVIDADE ANALGÉSICA DE DERIVADOS DI-TERC-BUTILFENOL-N-ACILIDRAZÔNICOS

Soares Cardozo, S. V.¹; Cunha, A. C.²; Barreiro, E. J.¹; Palhares de Miranda, A. L.¹ ¹UFRJ Farmácia-Fármacos-LASSBio; ²UFF Instituto de Química

Objetivos: A dor é um mecanismo de proteção do corpo que ocorre quando as fibras sensoriais primárias são estimuladas. Importantes mediadores envolvidos neste processo são os metabólitos do ácido araquidônico (AA) exemplificados pelas prostaglandinas e leucotrienos. Inserido numa linha de pesquisa que visa o planejamento racional e a síntese de novos protótipos bioativos capaz de atuar na cascata do AA, o presente trabalho teve como objetivo a avaliação da atividade analgésica dos novos derivados di-tercbutilfenol *N*-acilidrazônicos planejados como possíveis inibidores duais da COX-2/5-LO. **Métodos e Resultados:** O perfil analgésico da série foi avaliado utilizando-se os ensaios de contorção abdominal induzida por ácido acético 0,1N e de hiperalgesia induzida por formalina (2,5%) em camundongos. Toda a série, com exceção do composto LASSbio 690 (intermediário ácido com ausência da função acilidrazona), apresentou importante e significativa inibição do número de contorções (33% - 60%) e da 2ª fase do ensaio de formalina, considerada a fase hiperalgésica associada à inflamação (30% - 47%). ($n=8-10$; $*p < 0,05$). **Conclusões:** Os derivados di-tercbutilfenol-*N*-acilidrazônicos apresentaram um importante perfil analgésico e os resultados sugerem que estes compostos possam estar em parte intervindo na cascata do ácido araquidônico. A ausência de atividade

observada para o composto LASSBio 690 reforça o caráter farmacofórico da função acilidrazona para a atividade analgésica. A avaliação do perfil analgésico central dos compostos que apresentaram atividade na 1ª fase (neurogênica), está em andamento. **Apoio Financeiro:** CNPq, FINEP, FAPERJ, FUJB

06.105 ESTUDO COMPARATIVO DO EFEITO DA INJEÇÃO SUBCUTÂNEA E INTRADÉRMICA DE MORFINA.

Alves, P. H. F.; Sachs, D.; Schivo, I. R. S.; Rosa, S. R.; Cunha, F. de Q.; Ferreira, S. H. FMRP-USP Farmacologia

Introdução: A ativação da via arginina/óxido nítrico (NO)/guanosina 3',5'-monofosfato cíclico, (GMPc) dependendo da dose e do sítio de administração, pode causar efeitos duais, antinocicepção ou nocicepção. A injeção subcutânea (s.c.) na pata de ratos de doadores de NO ou análogos do GMPc, causam antinocicepção sobre o efeito hipernociceptivo induzido por PGE₂. Entretanto, a administração intradérmica (i.d.) dessas substâncias causa efeito oposto, hipernocicepção. Esses resultados indicam que existe diferente subtipo de neurônios nociceptivos primários nos quais a ativação da via arginina/NO/GMPc causa efeitos opostos, antinocicepção ou hipernocicepção. O efeito periférico da morfina (Mph) tem sido associado à estimulação da via L-arginina/NO/GMPc. Portanto o objetivo desse trabalho foi investigar se a administração i.d. de morfina a qual estimula a via L-arginina/NO/cGMP teria efeito pró-nociceptivo em tecidos intradérmicos. **Materiais e Resultados:** Utilizando o teste de pressão mecânico eletrônico demonstramos que a injeção i.d. tanto de Mph (10 mg) quanto de prostaglandina E₂ (PGE₂, 200 ng) na pata traseira de ratos (Wistar Machos, 180 g) induziram hipernocicepção imediata, atingindo pico hipernociceptivo 15-30 minutos (Mph 15,3±1,2; n=5; PGE₂ 19,2±0,6; n=5) e retornando a valores basais em 45-60 minutos (Mph 6,2±1; n=5; PGE₂ 1,5±0,8; n=5). A administração s.c. de PGE₂ (200 ng) induziu uma hipernocicepção tardia com pico máximo na 3ª hora após sua

administração (PGE₂ 20,5±1,6; n=5). A co-injeção de Mph (10 mg) e naloxone (1mg) i.d. inibiu a hipernocicepção induzida pela Mph (1,0±4,6; n=4). **Conclusão:** A morfina, via receptor opióides, causa hipernocicepção quando injetada pela via i.d.. **Apoio Financeiro:** CNPq, CAPES e FAEPA

06.106 LIPOPOLISSACARÍDEO (LPS) DA *E. coli* INIBE A LESÃO GÁSTRICA (LG) E A INFILTRAÇÃO DE NEUTRÓFILOS INDUZIDAS POR INDOMETACINA (INDO) EM RATOS

Gomes, A. S.; Lima, L. M. F.; Santos, C. L.; Souza, M. UFC Fisiologia e Farmacologia

A administração de LPS por via endovenosa é capaz de inibir a infiltração de neutrófilos em modelos clássicos de inflamação. A lesão gástrica por antiinflamatórios não esteroidais é um processo dependente da infiltração de neutrófilos. **Objetivos:** Verificar o efeito do LPS na LG e na infiltração de neutrófilos induzidas por INDO em ratos. **Métodos:** Ratos machos Wistar foram tratados com LPS da *E. coli* nas doses 30, 100, 300 mg/kg, e.v.. Após 30 min, 6, 12, 24 e 48 horas, foi administrado INDO (20 mg/kg, p.o.). Decorridas 3 horas, os animais foram sacrificados e a LG foi calculada. A infiltração de neutrófilos foi aferida pelo ensaio de mieloperoxidase (MPO). Foi também realizada a determinação da contagem total e diferencial das células sangüíneas. **Resultados:** LPS reduziu significativamente (p<0,001) a LG por INDO (42,0±7,4mm) e infiltração de neutrófilos (27,0±4,1UMPO/mg) de forma dose-dependente, com o efeito máximo na dose de 300 mg/kg e no tempo de 6 horas (1,4±0,8mm, 5,8±1,5UMPO/mg). O efeito protetor do LPS foi observado até 48 horas após a sua administração. Não foram observadas diferenças significativas na contagem dos leucócitos totais do grupo INDO (11120±972 cell/mm³) quando comparado com o grupo LPS+INDO (11687±211 cell/mm³) nos diversos intervalos de tempo. O LPS possui um efeito gastroprotetor persistente, pois é capaz proteger a mucosa gástrica das lesões e da infiltração de neutrófilos induzidas por Indometacina, sem induzir leucopenia. **Palavras-chave:** LPS, Lesão Gástrica e Gastroproteção. **Apoio Financeiro:** CNPq

06.107

SILDENAFIL (VIAGRA®), ACTING BY NITRIC OXIDE (NO) PATHWAY, PREVENT INDOMETHACIN (INDO)-INDUCED GASTROPATHY IN RATS: ROLE OF LEUKOCYTE ADHERENCE AND GASTRIC BLOOD FLOW

Santos, C. L.¹; Gomes, A. S.¹; Wallace, J. L.²; Lemos, H. P.³; Cunha, F. de Q.³; Souza, M. H. L. P.¹ ¹UFC Fisiologia e Farmac.; ²MIRG Canadá; ³FMRP-USP

Our hypothesis is that Sildenafil, a cyclic GMP-specific phosphodiesterase inhibitor, could increase mucosal defense in INDO- induced gastric damage (GD) in rats. To test this, Sildenafil (10 mg/kg, p.o) was administered to Wistar rats previously fasted for 24h. INDO (20 mg/kg, p.o) was administered 30 min after. After 3 hours, were sacrificed, GD and MPO activity were determined. The effect NO in Sildenafil gastric protection was assessed using L-NAME (3, 10 or 20 mg/kg, i.p), or L-Arginine (200 mg/kg, by i.p)+L-NAME (20 mg/kg, by i.p) treatments, 30 min before sildenafil treatment. Effects of Sildenafil on leukocyte adherence within mesenteric venules, and on gastric microcirculation were assessed by intravital microscopy and laser-Doppler flowmetry, respectively. Sildenafil (GD = 2.62±0.72, MPO = 2.15±0.77) reduced (p<0.01) dose dependently INDO-induced GD (42.31±8.87) and MPO (27.59±3.03). The L-NAME (GD = 25.63±6.68, MPO = 50.7±7.13), treatment reversed the Sildenafil protection; however L-Arginine plus L-NAME (GD = 6.24±2.93. MPO = 9.21±4.03) did not modify the effect of Sildenafil. INDO-induced leucocytes adhesion (2.35±0.26 cells) was decreased by Sildenafil treatment (0.53±0.06 cells). The L-NAME reversed this protective effect (2.74±1.7cells). INDO promoted a decrease in gastric blood flow, which was reverted by Sildenafil treatment. These results demonstrate that Sildenafil, acting by NO pathway, prevent INDO induced gastropathy, through a decrease on leukocytes adhesion and increase on gastric blood flow. **Supported by:** CNPq

06.108

EFEITO ANALGÉSICO DO β -MIRCENO NAS HIPERALGESIAS MECÂNICA, TÉRMICA E AO FRIO INDUZIDAS PELA CARRAGENINA EM RATOS

Guedes, G. C.; Prudente da Silva, N. T. T.; Buchi, A. T.; Rocha, N. P. IB-UNESP-Botucatu Farmacologia

Objetivos: A atividade analgésica do chá de capim-limão (*Cymbopogon citratus*) e do β -mirceno tem sido demonstrada em diversos modelos experimentais de nocicepção aguda, tais como a placa quente, contorsões abdominais e hiperalgisia mecânica inflamatória. Neste trabalho, visamos avaliar a atividade analgésica em testes de hiperalgisias mecânica, térmica (46°C) e ao frio (1°C) do pré-tratamento oral com o β -mirceno na inflamação intraplantar por carragenina em ratos.

Métodos: As hiperalgisias mecânica (teste de Randal-Selitto (0, 1, 2, 3 e 4 horas), térmica (46°C-3ª hora) e ao frio (1°C-3ª hora) foram avaliadas em ratos Wistar (220-280 g) administrados com carragenina intraplantar (300 μ g/pata). O tratamento oral com 50, 200 ou 400 mg/kg de β -mirceno ou veículo foi realizado 30 minutos antes da carragenina. Avaliou-se também o edema plantar. **Resultados:** O β -mirceno induziu uma ação analgésica dose-dependente na hiperalgisia mecânica em todas as horas estudadas. Na dose de 50 mg/kg, observamos redução apenas na 4ª hora (30%). O β -mirceno, nas doses de 200 e 400 mg/kg, reduziu a hiperalgisia mecânica em cerca de 50% e 85%, na 1ª hora, 30% e 95%, na 2ª hora, 36% e 42% na 3ª hora e 32% e 49% na 4ª hora, respectivamente. A hiperalgisia térmica induzida pela carragenina foi abolida pela dose de 200 mg/kg. A hiperalgisia térmica (46°C) induzida pela carragenina na 3ª hora não foi alterada pela dose de 50 mg/kg de β -mirceno, mas foi totalmente abolida com a dose de 200 mg/kg. Esta mesma dose de β -mirceno também reduziu em 50% a hiperalgisia ao frio na 3ª hora após a carragenina. O edema não foi modificado pelos tratamentos.

Conclusão: A administração oral de um dos constituintes do capim-limão presente em seu óleo essencial, o monoterpeneo β -mirceno, apresentou uma potente ação analgésica não só na hiperalgisia mecânica mas também na

hiperalgisia térmica e ao frio presentes fase aguda da resposta inflamatória por carragenina. **Apoio Financeiro:** CAPES

06.109

PARTICIPAÇÃO DO ÓXIDO NÍTRICO NO EFEITO ANALGÉSICO DE LONGA DURAÇÃO DO β -MIRCENO EM RATOS COM CONSTRIÇÃO CRÔNICA DO NERVO CIÁTICO

Buchi, A. T.; Rocha, N. P. UNESP Botucatu Farmacologia

Objetivos: Estudos realizados em nosso laboratório demonstraram a efetividade do tratamento único por via oral com chá de capim limão ou β -mirceno em reduzir drasticamente as hiperalgisias mecânica, térmica e ao frio presentes cronicamente em ratos com constrição do nervo ciático. Como esta analgesia se caracterizou por ser de longa duração (até o 15º dia), evidenciou-se um potencial efeito benéfico deste composto e do chá em atenuar a dor neuropática crônica em modelos como o da constrição do nervo ciático, visto que os analgésicos clássicos tem restrita utilização por serem pouco efetivos neste tipo de dor. Este trabalho consistiu em avaliar o efeito do bloqueio periférico da síntese de óxido nítrico com L-NAME e sua reversão com L-arginina sobre as ações analgésicas do β -mirceno na hiperalgisia mecânica no modelo de dor neuropática induzida pela constrição do nervo ciático em ratos.

Métodos: A neuropatia crônica foi induzida em ratos Wistar (280-350 g) pela constrição do nervo ciático. A hiperalgisia mecânica (teste de Randal-Selitto) foi avaliada a partir do 15º dia de constrição, antes e na 2ª, 4ª e 24ª horas e no 7º e 15º dias após o tratamento único via oral com 200 mg/kg de β -mirceno ou veículo. O L-NAME (50 μ g/pata) e/ou a L-arginina ou D-arginina (250 μ g/pata) foram administrados 30 min antes do β -mirceno. **Resultados:** O β -mirceno, administrado em dose única 15 dias após a cirurgia de constrição do nervo ciático, quando a dor neuropática já se estabilizou e é máxima, reduziu significativamente a hiperalgisia mecânica durante todo o período experimental (Controle: 300±22 g; β -mirceno: 2ª h: 80±15 g; 5ª h: 120±14 g; 24ª h: 140±16g; 7º dia: 100±22 g; 15º dia: 120±20 g, p<0,5, n=7). O pré-

tratamento intraplantar com L-NAME bloqueou a analgesia induzida pelo β -mirceno na 2ª h (234±20g). Quando a L-arginina foi administrada junto com o L-NAME, houve a restauração da analgesia (104±35g). A administração de D-arginina não alterou o bloqueio da analgesia do β -mirceno pelo LNAME na 2ª hora (250±40g). Nos períodos subseqüentes, nenhum dos tratamentos alterou a analgesia induzida pelo β -mirceno que se manteve significativa até o 15º dia (p<0,5, n=5-6). **Discussão:** O bloqueio da síntese de óxido nítrico com L-NAME e sua reversão com L-arginina ao nível do nociceptor periférico sugere que este mediador possa ser importante para o efeito analgésico do β -mirceno, considerando-se a inibição da analgesia pelo LNAME na 2ª hora e sua reversão pela reposição do substrato enzimático. No entanto, este retardo na instalação da analgesia não impediu que o efeito analgésico de longa duração do β -mirceno fosse observado a partir da 5ª hora até o 15º dia. Isto poderia ser decorrente do curto tempo de ação do LNAME intraplantar ou do longo tempo de ação do β -mirceno administrado sistemicamente. Dados obtidos em nosso laboratório tem demonstrado efeito analgésico do β -mirceno mesmo decorridas 24 horas após a administração. **Apoio Financeiro:** CAPES

06.110

EFEITO ANTINOCICEPTIVO DO CLORETO DE ZINCO NA NOCICEPÇÃO INDUZIDA POR AMINOÁCIDOS EXCITATÓRIOS EM CAMUNDONGOS

Rosa, K. A.¹; Gadotti, V. M.¹; Rosa, A. O.²; Rodrigues, A. L. S.³; Santos, A. R. S.¹; Calixto, J. B.⁴ ¹UFSC - Ciências Fisiológicas; ²UFSC Bioquímica; ³UFSC Bioquímica; ⁴UFSC Farmacologia

Introdução: O Zinco (Zn²⁺) é um metal presente em altas concentrações no sistema nervoso central, incluindo o hipocampo e a medula espinhal, e atua em vários canais iônicos ativados por voltagem e/ou por ligante, para modular a excitabilidade neuronal. Tem sido demonstrado que o Zn²⁺ age alostericamente como um antagonista na transmissão glutamatérgica, principalmente nos receptores NMDA. Neste sentido, o presente estudo analisa o efeito do cloreto de zinco

(ZnCl) na nocicepção induzida por agonistas glutamatérgicos em camundongos. **Métodos:** Foram utilizados camundongos Swiss (30-40g N= 8-12 por grupo) de ambos os sexos. A resposta nociceptiva foi caracterizada pelo tempo que o animal permaneceu lambendo e/ou mordendo (TLM) a pata injetada intraplantarmente (i.pl.) com glutamato (GLU, 10 nmol/pata). Em outra série de experimentos, a nocicepção foi induzida por agonista seletivos dos receptores glutamatérgicos tanto ionotrópicos quanto metabotrópicos, sendo avaliado o TLM os membros posteriores (patas posteriores, cauda e abdômen) após injeção intratecal (i.t.) de GLU (175 nmol/sítio), N-metil-D-aspartato (NMDA, 450 pmol/sítio), cainato (CA, 110 pmol/sítio) ou trans-ACPD (50 nmol/sítio). **Resultados:** O ZnCl administrado via i.p. (1-30 mg/kg) ou i.pl. (3-30 µg/pata, em associação com o GLU) foi capaz de reduzir de forma significativa e dose dependente o TLM induzido pela injeção i.pl. de GLU, com DI_{50} de 2,55 (1,82-3,56) mg/kg e 14,84 (11,41-19,31) µg/pata e inibição de 96±3 e 65±4%, respectivamente. O ZnCl (10 mg/kg, i.p.) também reduziu de forma significativa o TLM induzido pela injeção i.t. de GLU, NMDA, CA e trans-ACPD com inibição de 36±7, 57±9, 29±8 e 36±9%, respectivamente. **Discussão:** Estes resultados mostram que a atividade antinociceptiva do ZnCl na nocicepção causada pelo glutamato deve-se, pelo menos em parte, pelo bloqueio de receptores glutamatérgicos do tipo ionotrópico (NMDA e CA) e metabotrópicos. Contudo, o ZnCl foi mais eficaz contra a nocicepção causada pelo NMDA. **Apoio Financeiro:** CNPq, UFSC

06.111

PARTICIPAÇÃO DOS RECEPTORES GLUTAMATÉRGICOS IONOTRÓPICOS NA ANTINOCICEPÇÃO CAUSADA PELO ÁCIDO ASCÓRBICO EM CAMUNDONGOS

Rosa, K. A.¹; Gadotti, V. M.¹; Rosa, A. O.²; Rodrigues, A. L. S.²; Calixto, J. B.³; Santos, A. R. S.¹ - ¹UFSC Ciências Fisiológicas; ²UFSC Bioquímica; ³UFSC Farmacologia

Introdução: O ácido ascórbico (AA), encontrado em sistemas biológicos sob a forma de ânion ascorbato, está presente no sistema nervoso central de mamíferos atuando como um possível

neurotransmissor/neuromodulador. Estudos têm demonstrado que o AA apresenta significativo efeito antioxidante e neuroprotetor atuando como antagonista da transmissão glutamatérgica. Neste trabalho, avaliou-se o possível efeito antinociceptivo do AA, contra a nocicepção induzida por agonistas glutamatérgicos em camundongos. **Métodos:** Foram utilizados camundongos Swiss (30-40g N = 8-12 por grupo) de ambos os sexos. A resposta nociceptiva foi caracterizada pelo tempo que o animal permaneceu lambendo e/ou mordendo (TLM) a pata injetada intraplantarmente (i.pl.) com glutamato (GLU, 10 µmol/pata). Em outra série de experimentos, a nocicepção foi induzida por agonistas seletivos dos receptores glutamatérgicos tanto ionotrópicos quanto metabotrópicos, sendo avaliado o TLM nos membros posteriores (patas posteriores, cauda e abdômen) após a injeção intratecal (i.t.) de GLU (175 nmol/sítio), NMDA (450 pmol/sítio), cainato (CA, 110 pmol/sítio), AMPA (135 pmol/sítio) ou trans-ACPD (50 nmol/sítio). **Resultados:** O AA administrado via intraperitoneal (i.p.) (1-3 mg/kg) ou i.pl. (0,01-1 µg/pata, em associação com o GLU) foi capaz de reduzir de forma significativa e dose dependente o TLM a pata injetada i.pl. com GLU, com DI_{50} de 2,11 (1,90-2,34) mg/kg e 0,31 (0,21-0,38) µg/pata e inibição de 66±5 e 83±4%, respectivamente. O AA (3 mg/kg, i.p.) também reduziu de forma significativa o TLM nos membros posteriores induzido pela injeção i.t. de GLU e dos agonistas ionotrópicos, NMDA, AMPA e CA, com inibição de 49±9, 42±7, 34±8, 38±5%, respectivamente. Contudo, o AA (3 mg/kg, i.p.) não foi capaz de reduzir de forma significativa o TLM nos membros posteriores induzido pela injeção i.t. de trans-ACPD, agonista metabotrópico. Além disso, o AA (3 mg/kg, i.p.) foi efetivo em reduzir o TLM nos membros inferiores induzido pela injeção i.t. de substância P (0,1 nmol/sítio) com inibição de 65±8%. **Discussão:** Estes resultados mostram que o AA apresenta significativo efeito antinociceptivo na nocicepção causada pelo glutamato. O mecanismo de ação ainda não está completamente elucidado, mas parece depender, pelo menos em parte, do bloqueio de receptores glutamatérgicos do tipo ionotrópicos (NMDA, CA e AMPA). **Apoio Financeiro:** CNPq, UFSC.

06.112

ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DA ESCOPOLETINA E DO ESPINAS-TEROL ISOLADOS DA *Polygala sabulosa*

Moura, J. A.¹; Meotti, F. C.²; Soldi, C.³; Pizzolatti, M. G.³; Santos, A. R. S.¹ - ¹UFSC Ciências Fisiológicas; ²UFSC Química; ³UFSC Química

Introdução: Recentemente demonstrou-se que o extrato hidroalcoólico e esterilpironas obtidos da *Polygala sabulosa* apresentaram efeito antinociceptivo em camundongos. Neste sentido, o presente estudo analisa a possível atividade antinociceptiva de dois compostos isolados da *Polygala sabulosa*, a escopoletina (EC) e o espinasterol (EP), além de dois derivados estruturais da EC, a acetilescopoletina (AC) e a benzoilescopoletina (BZ) na nocicepção induzida pelo ácido acético (AA) em camundongos. **Métodos:** Foram utilizados camundongos Suíços (30-40 g n=6-8/grupo) de ambos os sexos. Os compostos foram administrados via intraperitoneal (i.p) (0,001 10 mg/kg) 30 min antes da administração do AA. A resposta nociceptiva foi caracterizada pelo número de contorções abdominais induzida pela injeção i.p. de AA (0,6%) durante 20 min. **Resultados:** A administração, via i.p., de EC, EP, AC, BZ (0,001-10 mg/kg) e aspirina (utilizada como controle) causaram redução de forma significativa e dose dependente, no número de contorções abdominais induzidas pelo AA, com DI_{50} de 0,06 (0,04-0,08), 0,07 (0,05-0,09), 1,56 (1,05-2,32), 0,032 (0,014-0,073) e 24,0 (13,1-43,8) mg/kg e inibição de 84± 3, 95±2, 83±5, 81±8 e 83±2% respectivamente, sendo que os compostos foram de 15 a 400 vezes mais potentes que a aspirina. **Discussão:** Os resultados do presente estudo estendem os dados obtidos anteriormente e demonstram que a escopoletina e o espinasterol são dotados de atividade antinociceptiva no modelo utilizado. Além disso, a adição de um grupamento benzoil no núcleo escopol não altera a potência antinociceptiva da molécula original, por outro lado, a adição de um grupamento acetil reduz significativamente a potência da escopoletina. Os estudos estão em andamento visando caracterizar o mecanismo de ação, bem como verificar a relação entre a estrutura química e a atividade antinociceptiva. **Apoio Financeiro:** CNPq, CAPES, UFSC

06.113

SÍNDROME DO PÉ E MÃO (SPM) E DIARRÉIA INDUZIDOS POR CAPECITABINA EM RATOS

Freire, R. S.¹; Melo, M. L. P.¹; Kinjo, R. C.¹; Feitosa, R. R. P.¹; Falcão, E. A. A.¹; Silva Neto, I. V.¹; Soares, R. C.¹; Albuquerque, B. A. O.¹; Almeida, P. R. C.²; Ribeiro, R. A.¹ ¹UFC Fisiologia e Farmacologia; ²UFC Patologia

Introdução: A Capecitabina (CTB) é uma fluoropirimidina oral inativa que é convertida a 5-fluorouracil no tumor pela timidina fosforilase. Tem sido usada no tratamento do câncer de mama e de cólon, porém com uma limitação, o surgimento de alterações nos pés e mãos, às vezes incapacitantes, com eritema, edema e dor (SPM) e eventual diarréia. O objetivo deste trabalho foi desenvolver de forma inédita um modelo experimental destes efeitos da CTB. **Métodos:** Ratos *Wistar* (n=6) receberam 2x/dia (v.o) durante 14d. doses distintas (54, 180, 250, 360, 540 mg/kg) ou salina, em 2 ciclos com intervalo de sete dias. O peso corpóreo, presença de diarréia, aparecimento de lesões nas patas dos animais foram avaliados diariamente. Testes de placa quente e incapacitação articular foram observados a cada 3 dias. **Resultados:** Observou-se em 50% a 60% dos animais, eritema, unhas quebradiças e descamação focal de intensidade variável nas patas, de aspecto semelhante ao humano, entre o 6° e 10° dia na dose de 540 mg/kg. Avaliação pelo teste da placa quente e da incapacitação articular revelaram sensibilidade nociceptiva (6°dia) e inflamatória (10°dia) respectivamente. A análise histopatológica revelou mastócitos dispostos focalmente, de maneira heterogênea. Não se verificou diferença significativa nos escores de diarréia entre os grupos em estudo (p>0,05). **Discussão:** Os resultados indicam que reproduziu-se em ratos com fidelidade os achados da SPM humana, abrindo perspectivas para o estudo de sua fisiopatologia e do conseqüente controle farmacológico. **Apoio Financeiro:** CNPq

06.114

CURSO TEMPORAL DA CARDIOTOXICIDADE AGUDA INDUZIDA POR DOXORRUBICINA (DXR): ALTERAÇÕES ELETROCARDIOGRÁFICAS (ECG) E HISTOPATOLÓGICAS EM CAMUNDONGOS

Freire, R. S.¹; Sousa, R. B.¹; Capaz, R. A. C.¹; Brito, G. A. C.²; Souza, M.¹; Ribeiro, R. A.¹ ¹UFC Fisiologia e Farmacologia; ²UFC Morfologia

Introdução: O objetivo do nosso estudo foi estabelecer a cronologia da cardiotoxicidade aguda induzida por DXR, utilizando parâmetros ECG e histopatológicos, pois não existem na literatura dados precisos sobre os eventos celulares e funcionais ocorridos no coração dos animais submetidos a tratamento agudo com DXR. **Material e Métodos:** Camundongos *Swiss* machos (20-25 g) receberam salina ou DXR (25 mg/kg ip). Foi realizada avaliação por ECG de todos os grupos anteriormente ao sacrifício. Após 6, 12, 24, 48, 72 e 96 horas da administração de DXR os animais foram sacrificados para avaliação do índice cardíaco e análise histopatológica. Outro grupo de animais recebeu DXR (25 mg/kg ip) e foi mantido em observação por 7 dias a fim de determinar a curva de sobrevida. **Resultados:** Quanto às alterações do ECG, detectou-se após a 24^a h à 72^a h um aumento progressivo do QTc (23,2%, p<0,05) e na 72^ah, diminuição complexa de QRS (V) (27,5%, p<0,05). A partir da 24^ah ocorre diminuição progressiva do índice cardíaco (23,5%, p<0,05). A análise histopatológica revelou ocorrência crescente de vacuolização citoplasmática e miocitólise a partir da 6^a h com efeito máximo após a 72^a h. A curva de sobrevida mostra que 96 horas após sua administração, apenas 30% dos animais ainda estão vivos. **Conclusão:** A evolução da cardiotoxicidade aguda induzida por uma única dose de DXR é progressiva e inicia-se a partir da 24^ah após sua administração, agravando-se a até 72^ah onde começa a inviabilidade da sobrevida do animal. **Apoio Financeiro:** CNPq

06.115

PATHOGENESIS OF PERIODONTAL DISEASE IN RATS EVALUATED BY MORPHOMETRIC ANALYSIS

Pacheco, C. M. F.¹; Caliari, M. V.²; Reis, G. M. L.¹; Francischi, J. N.¹ ¹UFMG Farmacologia; ²UFMG Patologia

Introduction: Periodontal disease (PD) derives from a subgingival accumulation of Gram-negative bacteria, which gives rise to a progressive inflammatory condition of the tooth-supporting tissues. However, it is the host response, more than infiltrating bacteria, the main responsible for disease progression. In this study, we sought to evaluate the development of the disease in two rat strains (*Wistar* and *Holtzman*). **Methods:** PD was induced by placing a sterile silk ligature around the cervix of the second left upper molars. The contralateral right tooth was used as the unligated control. After 0, 2, 5, 7, 11, 14, 21, and 28 days of PD induction animals were killed, the maxillae excised, fixed in 4% formaldehyde, and decalcified in 10% EDTA. The specimens were then dehydrated in graded alcohol and embedded in paraffin for further cutting (4 mm thickness). The images of the slides were digitalized and a special software analyzed the bone loss and the number of cells. **Results:** Our data showed that both strains presented a significant bone loss that started on the 5th day, had a maximum on the 11th, and decreased by 28th. The cell number remained significantly increased from the 5th day throughout 28th. Removal of ligature by 11th day did not account for cell reduction on day 21. **Discussion:** As the rat experimental PD reproduced data found for the human disease, our results indicated that this model is suitable for pathogenetic studies and drug assessment of human periodontal disease. **Supported by:** CNPq

06.116

BACLOFEN INDUCES PERIPHERAL ANTINOCICEPTION VIA ACTIVATION OF K⁺ CHANNELS

Reis, G. M. L.; Pacheco, C. M. F.; Duarte, I. D. UFMG Farmacologia

Introduction: Activation of GABA_B receptors increase K⁺ conductance in neuronal membranes (Bowery, Annu.

Rev. Pharmacol. Toxicol., V. 33, p. 109, 1993). Studies have demonstrated the relation between antinociception and drugs that activate potassium channel coupled receptors. The aim of this study was to verify the possible involvement of potassium channels in the peripheral antinociceptive effect induced by GABA_B receptor agonist baclofen. **Methods:** The hyperalgesia was measured by rat paw pressure test (160-200 g, male, Wistar, n=5). The nociceptive threshold was determined by the average of three consecutive trials recorded before (zero time) and 3 h after PGE₂ injection (2 mg/paw). The results were calculated as the difference between these two averages (Δ of nociceptive threshold) and expressed as grams. All drugs were administered by intraplantar injection. **Results:** The hyperalgesia induced by PGE₂ (D=93.6±4.8 g) was reverted in a dose-dependent manner by baclofen 15, 30, 60, 120 and 240 mg (D=78.8±6.9 g; 54.2±10.0 g; 40.6±11.0 g; 26.4±6.0 g and 31.6±8.8 g, respectively). The peripheral antinociceptive effect of baclofen (60 mg) was reverted by the K⁺ channel blockers tetraethylammonium 7.5; 15 and 30 mg (D=62.8±4.2 g; 72.6±5.3 g and 84.0±5.0 g, respectively) and 4-aminopyridine 2.5; 5 and 10 mg (D=55.1±5.1 g; 60.4±5.2 g and 86.8±6.4 g, respectively). **Discussion:** The peripheral antinociceptive effect of baclofen was antagonized by tetraethylammonium and 4-aminopyridine, suggesting that voltage-dependent K⁺ or G protein-coupled inwardly rectifying K⁺ channels play an important role in this effect. **Supported by:** CAPES, CNPq

06.117

LEUKOCYTE MIGRATION TO THE PERITONEAL CAVITY IN *Ancistrus multispinis* (Fish, Teleostei) EXPOSED TO DELTAMETHRIN

Pimpão, C. T.¹; Zampronio, A. R.²; Silva de Assis, H. C.² ¹PUC-PR Animal Science and Environment; ²UFPR Pharmacology

Introduction: Pesticides are harmful to the man and to the animals. Deltamethrin (DM), one pyrethroid insecticide type II, is commonly used in agriculture cultures as cotton, coffee, maize, soy, wheat, fruits, vegetables and for conservation of stored

products. Also it is used in the animal health against ectoparasites and in the public health against vectors. Preliminary studies in our laboratory showed that DM can increase the number of leukocytes into the peritoneal cavity of *Ancistrus multispinis*, a south Brazilian native river fish, which suggest that this insecticide could affect the inflammatory/immune response. The study aimed to evaluate if sublethal doses of DM could affect LPS-induced leukocyte migration to peritoneal cavity of *Ancistrus multispinis*. **Methods:** Fishes were exposed to DM 0.1 or 0.3 mg/kg or vehicle for 96 h. After this period, each group received lipopolysaccharide (LPS, E.coli, 0111: B4, 0.1 mg/kg, ip) or saline. The peritoneal exudate was collected after 4 hours. The results were analyzed by ANOVA followed by Bonferroni multiple comparisons test. **Results:** LPS induced a significant leukocyte migration to the peritoneal cavity of the fish exposed to DM 0.3 mg/kg (1485±115 cells/mm³ for LPS-treated animals and 685±49 cells/mm³ for saline-treated animals). After LPS stimulation, the leukocyte migration increased significantly. **Discussion:** The deltamethrin can be causing an immunestimulation due the increase of the leukocyte in the place of the inflammation.

06.118

EFFECT OF HEME OXYGENASE (HO) INHIBITION ON THE IMPAIRMENT OF NEUTROPHIL MIGRATION AND SURVIVAL IN POLYMICROBIAL INFECTION SEPSIS

Freitas, A.; Alves Filho, J. C.; Moreno, S. E.; Cunha, F. de Q. FMRP-USP Farmacologia

Introduction: Sepsis is a systemic inflammatory response commonly caused by bacterial infection. Recently, we have demonstrated that failure of neutrophil migration to the infectious focus is observed in severe sepsis induced by cecal ligation and puncture (CLP) and the outcome of disease correlated with the level of neutrophil failure. The mechanism of neutrophil migration impairment is not entirely understood, but it might be consequence of the increase of circulating inflammatory cytokines, which induce expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) with

consequent production of nitric oxide (NO) systemically. The enzyme heme oxygenase (HO) catalyzes heme producing carbon monoxide (CO) and biliverdin. Several studies have shown that CO exhibits properties similar to those of NO. In the present study we use a HO inhibitor (ZnDPBG), to investigate the role of HO products on the failure of neutrophil migration into the infectious site, as well as in survival rate of in mice subjected to sepsis induced by CLP. **Methods and Results:** Balb C submitted to lethal sepsis (L-CLP) were pretreated with saline or ZnDBPG (10 mg/kg) and neutrophil migration into peritoneal cavity was determined 6 h after L-CLP. It was observed that differently from control mice, the mice pretreated with ZnDPBG subjected to L-CLP did not present failure of neutrophil migration. Moreover, the inhibition of HO improved the survival rate, in 40%. **Conclusion:** This study provides evidences for the involvement of HO products on the impairment of neutrophil migration towards infectious focus and consequently on the susceptibility in severe sepsis. **Supported by:** CNPq/CAPES/FAPESP/FAEPA

06.119

KC INDUZ MIGRAÇÃO DE NEUTRÓFILOS (NE) POR MECANISMOS DEPENDENTES DE TNF-ALFA, LTB₄ E MACRÓFAGOS.

Freitas, A.; Ramos, C. D. L.; Cunha, F. de Q. FMRP-USP Farmacologia

Introdução: A quimiocina KC, homóloga a GRO- α humana, possui potente atividade quimiotática para NE tanto *in vivo* como *in vitro*. Neste estudo investigamos os mecanismos envolvidos na migração de NE para a cavidade peritoneal induzida por KC. **Métodos e Resultados:** Observamos que a administração i.p. de KC em camundongos Balb/c induz migração de NE para a cavidade peritoneal de maneira dose e tempo-dependente com pico na dose de 3 ng/cavidade e tempo de 4h. Pré-tratamentos dos animais com MK886 (inibidor da 5-lipoxigenase; vo; 1 mg/kg) ou talidomida (inibidor da síntese de TNF α ; sc; 50 mg/kg) inibem parcialmente, (42% e 59%, respectivamente), enquanto o pré-tratamento com dexametasona (glicocorticoide; sc; 0,5 mg/kg) inibe totalmente, a migração de

NE induzida por KC. Confirmando a participação do TNF α observou-se que a administração i.p. de KC em animais deficientes do receptor TNFR1 induziu fraco recrutamento de NE quando comparado aos animais selvagens (C57/B6). Com relação à participação de células residentes, observamos que o aumento de macrófagos peritoneais com tioglicolato 3% potencializa a migração de NE induzida por KC, enquanto a depleção de mastócitos peritoneais tanto com o composto 48/80 como pela água destilada leva ao aumento da migração de NE induzida por KC. **Conclusão:** Nossos resultados indicam que KC induz migração de NE para a cavidade peritoneal de maneira dependente da liberação de TNF α e LTB $_4$. Além disso, verificamos que o acúmulo de NE induzido por KC é dependente da participação de macrófagos peritoneais, enquanto que este processo é modulado negativamente por mastócitos residentes peritoneais. **Apoio Financeiro:** CNPq, CAPES, FAEPA.

06.120

ESTUDO DA INFLUÊNCIA DO TEMPO DE ISQUEMIA E REPERFUSÃO INTESTINAL SOBRE A INFLAMAÇÃO PULMONAR EM CAMUNDONGOS

Soares, A. L.¹; Vargaftig, B. B.¹; Russo, M.²; Tavares de Lima, W.¹ ¹ICB-USP Farmacologia; ²ICB-USP Imunologia

Objetivos: A isquemia e reperfusão intestinal (I/R-i) gera inflamação local e em sítios distantes onde o pulmão é o órgão alvo. Neste contexto, o tempo de isquemia é relevante para a compreensão dos mecanismos relacionados com a resposta local (intestinal) e distante (pulmão). **Materiais e métodos:** A I/R-i foi induzida em camundongos C57bl/6, machos, 7-12 semanas de idade, pela oclusão da artéria mesentérica superior (SMA) por 30 ou 45 minutos, seguida de 4 ou 24 horas de reperfusão. A lesão intestinal foi avaliada pela perda da atividade da LDH tecidual e a inflamação pulmonar pelo aumento da atividade de mieloperoxidase (MPO). Os grupos controle constituíram-se de animais não-manipulados (Basal) ou submetidos a 30 ou 45 minutos de laparotomia (Sham 30 ou 45 min). **Resultados:**

	LDH intestinal (U/mg de tecido) - Basal= 0,89±0,04		MPO Pulmonar (ID ₅₀ /mm) - Basal=0,48±0,11	
	Reperfusion 4h	Reperfusion 24h	Reperfusion 4h	Reperfusion 24h
Sham 30 min	0,86±0,04	0,74±0,07	1,62±0,23	0,41±0,09
Isquemia 30 min	0,70±0,03*	0,72±0,04	2,02±0,45	0,66±0,29
Sham 45 min	0,86±0,03*	0,85±0,04	1,52±0,13	0,71±0,11
Isquemia 45 min	0,77±0,04*	0,67±0,08*	3,12±0,47*	1,46±0,23*

*P<0,05 em relação ao respectivo grupo Sham

Conclusões: O desencadeamento da inflamação pulmonar não parece temporalmente relacionada com o desenvolvimento da lesão intestinal, dependendo portanto de maior tempo de isquemia (45 minutos) para que seja estabelecida. Manobras que possibilitem a redução do tempo de isquemia intestinal podem ter efeito protetor sobre o pulmão. **Apoio Financeiro:** FAPESP (03/02271-0, 02/06606-3), CNPq

06.121

ENVOLVIMENTO DA PROTEÍNA G (Gi/o) NA AÇÃO ANTINOCICEPTIVA DO FLAVONÓIDE MIRICITRINA.

Luiz, A. P.¹; Meotti, F. C.²; Pizzolatti, M. G.³; Santos, A. R. S.¹ ¹UFSC Ciências Fisiológicas; ²UFSC Química; ³UFSC Química

Introdução: Recentemente demonstrou-se que o flavonóide miricitrina (MI) possui efeito antiinflamatório e antinociceptivo em modelos de dor crônica. O presente estudo analisa o efeito antinociceptivo da MI no modelo de nociceção induzida pelo ácido acético e pelo glutamato, bem como, o possível envolvimento da proteína G_{i/o} e das fibras aferentes primárias do tipo C na antinociceção causada pela MI em camundongos. **Métodos:** Foram utilizados camundongos Suíços adultos (25-35 g n=6/grupo) de ambos os sexos. A resposta nociceptiva foi caracterizada pelo número de contorções abdominais induzida pela injeção intraperitoneal (i.p) de ácido acético (AA, 0,6%) e pelo tempo que o animal permaneceu lambendo e/ou mordendo (TLM) a pata injetada intraplantarmente (i.pl) com glutamato (GLU, 10 μ mol/pata). Para verificar o envolvimento da proteína G_{i/o}, os animais foram pré-tratados com toxina pertussis (0,5 μ g/sítio), via intratecal, 7 dias antes do teste do AA. A participação das fibras aferentes do tipo C foi verificada pelo tratamento de camundongos neonatos (2º dia de vida) com capsaicina (50 mg/kg, subcutâneo), decorridos 60 dias do tratamento os animais foram submetidos ao teste do AA. **Resultados:** A MI (0,01-100 mg/kg, i.p.) reduziu de forma significativa e dose dependente o número de contorções abdominais induzidas pelo AA e o TLM causado pelo GLU, com DI₅₀ de 0,33 (0,20-0,54) e 16,8 (10,3-27,5) mg/kg e inibição de 84±5 e 81±10%,

respectivamente. O tratamento dos animais com capsaicina não alterou a antinociceção induzida pela MI (1 mg/kg, i.p.). Por outro lado, o pré-tratamento dos animais com toxina pertussis foi capaz de reverter completamente a antinociceção causada tanto pela MI (1 mg/kg, i.p.) quanto pela morfina (5 mg/kg, i.p.). **Dicussão:** Estes resultados estendem os dados anteriores e mostram claramente que a MI possui efeito antinociceptivo em modelos de nociceção aguda, como o teste do AA e o GLU. Além disso, os dados indicam que a antinociceção induzida pela MI depende da proteína G_{i/o}-sensível a toxina pertussis, mas não envolve a participação das fibras aferentes primárias do Tipo C. **Apoio Financeiro:** CNPq; CAPES; UFSC.

06.122

PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA OPIÓIDE NA AÇÃO ANTINOCICEPTIVA DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Humirianthera ampla*

Luiz, A. P.¹; Moura, J. A.²; Meotti, F. C.³; Guimarães, C. L. S.⁴; Azevedo, M. S.⁴; Santos, A. R. S.¹ ¹UFSC Ciências Fisiológicas; ²UFSC Fisiologia; ³UFSC Química; ⁴UNIR Química

Introdução: A *Humirianthera ampla* é um arbusto delgado, da família das *Icacenaceae*, conhecida como "Surucucaína" e utilizado pelos índios da Amazônia como analgésico e antiinflamatório. O presente trabalho analisa a possível atividade antinociceptiva do extrato etanólico obtido das raízes da *H. ampla* na nociceção causada pela injeção de formalina, capsaicina e glutamato em camundongos. **Métodos:** Foram utilizados camundongos adultos Suíços (2535 g, n= 6-8/grupo) de ambos os sexos. A nociceção foi induzida através da injeção intraplantar (i.pl) de 20 μ l de capsaicina (5,2 nmol/pata), glutamato (10 μ mol/pata) ou formalina (2,5%), sendo que foi observado o tempo que o animal permaneceu lambendo ou mordendo (TLM) a pata injetada com o irritante. Os animais foram tratados com o extrato de *H. ampla* (3-500 mg/kg) ou veículo por via oral (v.o.), 1 h antes dos testes. A participação do sistema opióide foi verificada através do pré-tratamento dos animais com

naloxona, 1mg/kg intra peritonial (i.p.), 20 min antes da administração do extrato (30 mg/kg, v.o.) ou da morfina (5 mg/kg, i.p.) e analisado na nocicepção induzida pelo glutamato. **Resultados:** O extrato de *H. ampla* reduziu de forma significativa e dose dependente o TLM induzido pela injeção i.pl. de capsaicina e glutamato, com DI_{50} de 20,0 (17,4-23,0) e 19,8 (15,6-25,2) mg/kg e inibição de 80 ± 4 e $71 \pm 5\%$, respectivamente. Além disso, o extrato de *H. ampla* também causou redução significativa tanto da nocicepção neurogênica (1^o fase) quanto da inflamatória (2^o fase) induzida pela formalina, sendo que sua eficácia foi maior na 2^o fase com DI_{50} de 144,5 (119,3-175,1) mg/kg e inibição de $97 \pm 2\%$. O efeito antinociceptivo do extrato e da morfina foi revertido completamente pelo pré-tratamento dos animais com naloxona (antagonista opioide não seletivo) quando analisado no teste do glutamato. **Conclusão:** Estes resultados mostram que a *H. ampla* possui efeito antinociceptivo nos modelos analisados. Contudo, o seu mecanismo de ação antinociceptiva ainda não está completamente esclarecido, mas podemos sugerir que há participação do sistema opioide. **Apoio Financeiro:** CNPq, CAPES, UNIR, UFSC

06.123
LONG TERM SENSITIZATION INDUCED BY PGE₂ IN TEMPOROMANDIBULAR JOINT
Ting, E.; Ferreira, S. H. FMRP-USP Pharmacology

Introduction: Orofacial pain frequently originates from pathologic conditions in temporomandibular joints (TMJs). Usually PGE₂ has been shown to be associated with hyperalgesia/allodynia and to be present in the arthritic TMJ. The aim of this study was to investigate the phenomenon of long term sensitization in TMJ region by PGE₂ and its influence on specific TMJ pain with sensitization in inflammatory TMJ disorders. **Methods:** The overt behavior and the hypernociception were evaluated using behavioral model patterned and designed by Roveroni *et al* (*Pain*, 94(2):185-91, 2001). The intensity of hypernociception was measured by the number of flinching head and rubbing of the orofacial region during 30 min

after intra-articular injection in white male Wistar rats (weight 180~250 g). **Results:** PGE₂ (100 ng/50 microL) was able to induce immediate overt behavior after injection in rats and it persists less than 1 hour (113.42 ± 21.19). Carrageenin (Cg) (100 microg/50 microL, 23.44 ± 11.55) and NaCl (0,9%/50 microL, 38.67 ± 6.22) did not induce overt behavior. Pretreatment with PGE₂ or Cg (48 hours) potentiated the overt behavior induced by a sublimiar dose of ATP (200 microg/50 microL) (144.11 ± 24.98) and (101.71 ± 22.28) respectively. **Discussion:** PGE₂ is capable to activate and/or sensitize nociceptors of primary afferent neurons in TMJ region by acute treatment. The sensitization process lasts longer than 48 hours after the unique treatment. These observations may explain why the administration of NSAID does not conspicuous effect on ongoing TMJ pain. **Acknowledgements:** Thanks to our technicians Igor, Ieda Regina, Sérgio Roberto. **Apoio Financeiro:** FAPESP, CNPq

06.124
ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DO NUCLEOSÍDEO INOSINA EM CAMUNDONGOS
Almeida, R. C.; Ostroski, R.; Nascimento, F. P.; Santos, A. R. S. UFSC Ciências Fisiológicas

Introdução: A inosina é um nucleosídeo endógeno proveniente da deaminação da adenosina que possui propriedades anti-inflamatória, imunomodulatória e neuroprotetora, além de estimular a regeneração nervosa. O presente estudo tem como objetivo analisar a possível atividade antinociceptiva da inosina na nocicepção induzida pela formalina, ácido acético e glutamato em camundongos. **Métodos e Resultados:** Foram utilizados camundongos Suíços machos (35-40 g, N= 6 a 10 por grupo). A administração de inosina (0,1-100 mg/kg), pela via intraperitoneal 0,5 h antes, foi capaz de reduzir de forma significativa e dose dependente o número de contorções abdominais induzidas pela injeção i.p. de ácido acético (0,6%), com DI_{50} de 1,96 (0,64-5,99) mg/kg e inibição de $86 \pm 6\%$. A inosina (0,01-10 mg/kg, i.p. 0,5 h antes) reduziu de forma significativa e dose dependente o tempo de lambida e/ou mordida (TLM) induzida pela

injeção intraplantar de glutamato (10 nmol/pata), com DI_{50} de 0,60 (0,41-0,87) e inibição de $69 \pm 5\%$. Além disso, a inosina (1-100 mg/kg, i.p. 0,5 h antes) também foi capaz de inibir de forma dose dependente a nocicepção inflamatória (2^a fase), mas não a nocicepção neurogênica (1^a fase), induzida pela injeção intraplantar de formalina (2,5%), com DI_{50} de 6,39 (5,43-7,52) mg/kg e inibição de 96 ± 2 . **Conclusão:** Os resultados apresentados neste trabalho mostram, pela primeira vez, que a inosina um nucleosídeo endógeno, também apresenta significativa atividade antinociceptiva nos modelos de nocicepção utilizados. Estudos estão em andamento visando determinar os possíveis mecanismos de ação responsáveis pela atividade antinociceptiva da inosina. **Apoio Financeiro:** CNPq/UFSC

06.125
ZYMOSAN-INDUCED TIBIO-TARSAL JOINT MONOARTHRITIS: ROLE OF PROSTAGLANDINS AND SYMPATHETIC AMINES ON MECHANICAL HYPERNOCEPTION
Guerrero, A. T. G.; Verri Jr., W. A.; Cunha, F. de Q.; Ferreira, S. H. FMRP-USP Pharmacology

Introduction: The intra-articular injection of zymosan (Zym) in the knee joint has been used as a model to evaluate monoarthritis. Intra-articular injection of zym induces local inflammation, with the release of inflammatory mediators which induce chemotaxis of leucocytes and nociceptor sensitization (hypernociception). Thus, the aim was of the present study to investigate the role of eicosanoids and sympathetic amines mechanical hypernociception induced by zym injected into tibio-tarsal joint. **Methods:** Mechanical hypernociception was evaluated with electronic pressure-meter paw test. The leukocyte migration to the tibio-tarsal joint was evaluated by mieloperoxidase colorimetric assay (MPO). **Results:** The tibio-tarsal injection of zym in C57BL/6 mice induced a doses (10-100 mg) and time- (1-96 h) dependent mechanical hypernociception and MPO activity and both responses peaked 7h after zym injected. The maximal hypernociception and MPO activity were observed the dose of 30 mg. The pre-treatment of mice with

Farmacologia da Inflamação e da Dor

indomethacin (COX inhibitor, 5 mg/kg, i.p., 40 min) or guanethidine (sympathetic blocker, 30 mg/kg, s.c. 1h) inhibited the mechanical hypernociception (84 and 67% respectively) induced by zym. Moreover, morphine treatment also inhibited in dose dependent manner (2, 4 and 8 mg/kg, 2 h after stimulus) the hypernociception (59, 74 and 94% respectively), which was prevented by Naloxone (1mg/Kg). **Discussion:** These results suggest that prostanoids and sympathetic amines mediate zym-induced mechanical joint hypernociception. **Supported by:** CAPES, CNPq, FAPESP, FAEPA

06.126

ATORVASTATIN REDUCES THE NEUTROPHIL MIGRATION TO INFECTION FOCUS IN CECUM LIGATION AND PUNCTURE (CLP) INDUCED SEPSIS

Garzón-Santodomingo, T.; Torres, D.; Ferreira, S. H.; Cunha, F. de Q. FMRP-USP Pharmacology

Introduction: Sepsis is a systemic inflammatory response to severe infections and is the leader of death causes at the intensive care units. In an infectious process, such as bacterial peritonitis, the neutrophil migration is extremely important for control of bacterial growth, preventing bacterial dissemination. Statins (The 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase inhibitors) are effective serum cholesterol-lowering agents in clinical practice and may also have anti-inflammatory properties. The purpose of this work was to determinate the role of statins on neutrophil migration in CLP-induced sepsis. **Materials and methods:** For all experiments, C57BL6 mice (weight, 20-30 g) were used. Sepsis was induced through CLP. Three experimental groups were made. SL-CLP (Sublethal), L-CLP (Lethal) and SHAM operated. Neutrophil migration was evaluated 6 h after surgery. Animals daily received pretreatment with atorvastatin or PBS during 6 days. **Results:** It was observed a massive neutrophil migration to the peritoneal cavity of SL-CLP group compared with SHAM-operated was observed, whereas the L-CLP group presented failure of neutrophil migration to peritoneal cavity. Pretreatment of SL-CLP animals with atorvastatin at a dose of 30 mg/kg significantly reduced the neutrophil

migration compared with nontreated group. Atorvastatin pretreatment did not affect the failure of neutrophil in L-CLP. **Discussion:** These results suggest that statins use might increase the severity of sepsis. **Supported by:** CNPq, FAPESP, FAEPA

06.127

EFEITO DO TRATAMENTO SISTÊMICO COM LPS SOBRE AS RESPOSTAS INFLAMATÓRIAS MEDIADAS PELOS RECEPTORES B₁ NA PATA DE CAMUNDONGOS. PARTICIPAÇÃO DO TNF α .

Camargo Rocha, A.; Fernandes, E. S.; Passos, G. F.; Campos, M. M.; Calixto, J. B. UFSC Farmacologia

O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos do tratamento sistêmico com LPS em camundongos sobre a indução funcional dos receptores B₁ para as cininas, bem como, analisar a participação do fator de necrose tumoral alfa (TNF α) neste processo. Foram utilizados camundongos suíços ou camundongos p55 ^{-/-} machos (*knockout* para o receptor TNF α) (25 e 35 g). Os animais foram tratados com LPS (10mg, e.v., 24 h) e o edema de pata foi induzido pela injeção intraplantar do agonista de receptores B₁, a des-Arg⁹-BK (DABK, 50 nmol/pata). Animais controle receberam salina. A DABK (50 nmol/pata) produziu pequena alteração de volume (19 \pm 3 mL) em patas de animais controle, enquanto que o pré-tratamento com LPS (10mg, e.v., 24 h) aumentou significativamente o edema à DABK (90 \pm 8 mL). O antagonista seletivo do receptor B₁, a des-Arg⁹-Leu⁸-BK (50 nmol/pata) reduziu significativamente o edema da DABK em animais tratados com LPS (38 \pm 6 %). Da mesma forma, o edema à DABK foi reduzido significativamente (42 \pm 4 %) pelo tratamento sistêmico com anticorpo anti-TNF α (50 nmol/kg, e.v., 24h). Este resultado foi confirmado pela inibição do edema da pata induzido pela DABK em camundongos *knockout* p 55^{-/-} (56 \pm 6 %). Em conjunto, os resultados fornecem evidências consistentes de que o tratamento sistêmico com LPS é capaz de induzir o aumento funcional dos receptores B₁ para as cininas em camundongos. Além disso, a citocina pró-inflamatória TNF α parece exercer um papel essencial na modulação dos

receptores B₁ neste modelo. **Apoio Financeiro:** CNPq, PRONEX, CAPES

06.128

ATIVIDADE ANALGÉSICA E ANTINFLAMATÓRIA DE NOVOS DERIVADOS 6-NITRO-BENZODIOXOLA-N-ACILIDRAZÔNICOS

Lacerda, D. I.; Bezerra Netto, H. J. C.; Fraga, C. A. M.; Barreiro, E. J.; Palhares de Miranda, A. L. UFRJ, Faculdade de Farmácia FÁrmacos, LASSBios

Objetivo: Inserido numa linha de pesquisa que visa o planejamento racional e a síntese de novos protótipos bioativos capaz de atuar na cascata do ácido araquidônico, o presente trabalho teve como objetivo a avaliação das atividades analgésica e antinflamatória de compostos 6-nitro-benzodioxola-N-acilidrazônicos. **Métodos e Resultados:** As atividades antinflamatória e analgésica foram determinadas nos ensaios de edema de pata de rato induzido por carragenina (1000 μ g/pata), contorção abdominal induzida por ácido acético 0,1N e dor induzida por formalina 2,5%, em camundongos. Foram avaliados 23 compostos, administrados nas doses de 100 μ mol/kg (*v.o.*; analgesia) e 300 μ mol/kg (*i.p.*; inflamação). A propriedade sequestrante de radicais livres foi avaliada através do ensaio espectrofotométrico do DPPH. Todos os compostos apresentaram atividade analgésica significativa com inibição das contorções variando 20% a 60%, destacando os compostos LASSBio 891 e LASSBio 883 com 57,8%* e 59,8%* de inibição, respectivamente. Nem todos os compostos apresentaram atividade antinflamatória, que variou de 20% a 45%, verificando-se uma inibição de 42,8% e 27,7% para LASSbio 883 e 891, que por sua vez não foram capazes de inibir nenhuma das fases do ensaio de formalina (n = 5-8, *p<0,05). Nenhum dos compostos apresentaram capacidade sequestrante do radical DPPH. **Conclusões:** O composto mais ativo para ambas as atividades foi o LASSBio 891. A introdução do grupo nitro nesta série não foi relevante para a atividade antinflamatória, reforçando o caráter farmacofórico da função NAH. Os resultados obtidos destacam um perfil analgésico predominante para os compostos 6-nitro-benzodioxola-N-acilidrazônicos, indicando que de maneira geral estes compostos podem

estar agindo por mecanismos distintos para produzirem seus efeitos analgésicos e antinflamatórios observados. **Apoio Financeiro:** PRONEX, CNPq, FAPERJ E CAPES

06.129

NITRIC OXIDE OPPOSING EFFECTS ON NEUTROPHIL MIGRATION DEPENDS ON THE SITE OF INFLAMMATION

Rocha de Melo Leite, A. C.; Fernandes Monteiro, M. M.; Bezerra, M. M. UFC Fisiologia e Farmacologia

Introduction: The acute zymosan arthritis (ZyA) displays hyperalgesia and neutrophil (PMN) influx (Rocha *et al*, *Rev Bras Reumatol*, 206, 2003). We investigated whether NO effect on acute PMN migration is tissue dependent using ZyA and Zy peritonitis (ZyP).

Methods: Rats received either 10-1000 µg Zy into the knee or 1mg Zy into the peritoneal cavity; controls received vehicle. After sacrifice, cell influx (CI) was assessed in the knee and peritoneum exudates. ZyA groups received L-NAME (LN1-30 mg/kg; i.p) and ZyP groups Ln10 mg/kg (i.p or s.c) 30 min prior to Zy. **Results:** In the 10µg and 100 µg ZyA groups, LN1-3 mg/kg reduced CI (5075%), as compared to control (P<0.05). Ln30 mg/kg significantly reduced the CI in the 1mg ZyA group, as compared to control. However, in the 1mg ZyP group, LN injected either i.p. or s.c. significantly increased the CI (13,900±2,464; 10,933±844 cells/mm³), as compared to control. **Discussion:** While NO may down regulate PMN chemotaxis by inhibiting their adhesion to endothelium (Benjamim *et al*, *J Infec Dis*, 214, 2000), we obtained that NOS inhibitors decrease PMN influx in ZyA and increase CI in ZyP. This is the first demonstration that NO has opposing effects on PMN migration in acute inflammation, depending on the site of the insult, rather than on the route of the NOS inhibitor administration or type of stimulus. **Supported by:** CNPq/Brazil

06.130

A ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DA BUDLEÍNA A ISOLADA DA *Viguiera robusta* Gardn. DEPENDE DA INIBIÇÃO DA LIBERAÇÃO DE TNF- α .

Valério, D. A. R.¹; Verri Jr., W. A.¹; Cunha, T. M.¹; Arakawa, N. S.²; da Costa, F. B.²; Cunha, F. de Q.¹; Ferreira, S. H.¹ ¹FMRP-USP Farmacologia; ²FCFRP-USP

Introdução: A espécie *Viguiera robusta* Gardn. (Asteraceae; Heliantheae) é um arbusto nativo do cerrado brasileiro. Os seus metabólitos secundários incluem as lactonas sesquiterpênicas, dentre elas a budleína A, isolada do extrato diclorometânico. Foi demonstrado que *in vitro* a budleína A inibe a ativação do fator de transcrição NF- κ B. **Métodos:** Dessa forma, a hipernocicepção mecânica induzida pela carragenina (Cg 0.1 mg/pata) ou TNF- α (100 ng/pata) foram avaliadas pelo método de pressão crescente na pata e a concentração de TNF- α avaliada por ELISA.

Resultados: O tratamento com budleína A inibiu de maneira dose-(2.5, 5 e 10 mg/Kg, v.o., 30 min) dependente e na maior dose (10 mg/kg, v.o., 30 min), a hipernocicepção mecânica induzida pela Cg (18, 37 e 49 %, respectivamente) e pelo TNF- α (36 %) na 3^a h, respectivamente. Ainda, a liberação de TNF- α induzida pela Cg foi inibida pela budleína A na 1^a h após o estímulo (52 %). **Discussão:** Esses resultados sugerem que a budleína A possui atividade antinociceptiva via inibição da liberação de TNF- α induzida pela Cg. Ainda, inibe a hipernocicepção do próprio TNF- α , o que é coerente com a demonstração *in vitro* da inibição da ativação do NF- κ B pela budleína A. **Apoio Financeiro:** CNPq, CAPES, FAPESP e FAEPA.

06.131

POTASSIUM CHANNEL INHIBITION DECREASES LETHALITY IN MICE SUBMITTED TO CECAL LIGATION AND PUNCTURE

Duarte, J. A.; Cunha, G. B.; da Silva-Santos, J. E.; Ribeiro Terluk, M.; Fernandes, D.; Assreuy, J. UFSC Farmacologia

Introduction: Our previous results indicate that potassium channels (KC)

are essential players in the deleterious effects of nitric oxide (NO) in septic shock. Here, we investigate the consequence of KC pharmacological manipulation in the CLP (cecal ligation and puncture) model. **Methods and Results:** Female Swiss mice (30-40 g), were anesthetised, the ileo-cecal valve was partially ligated and the cecum was punctured 5 times with a 30 G needle. Groups of mice (7-10) were injected (s.c.) with saline or tetraethylammonium (TEA; a non-selective KC blocker) at 60, 180 or 300 µmol/kg, at 4, 8 and 16 h after the surgery. CLP group exhibited a lethality rate of approximately 50-60% death in the first 36 h post-surgery. When injected 4 h after CLP, TEA caused an important protective effect at the smaller dosis (CLP 60% mortality; TEA 60 µmol/kg 25% and 180 µmol/kg 40% mortality), but increased lethality at the highest dose (300 µmol/kg 80% versus 60% mortality in saline group). A similar, although less evident, pattern was observed when TEA was injected 8 h after the surgery. When injected 16 h after the surgery, TEA in fact increased lethality (CLP 40% versus TEA 60%). **Conclusion:** KC blockage thus seems to be a viable alternative as an adjuvant to decrease lethality of sepsis. However, there is a proper window for KC blockage after sepsis onset (between 4 and 8 h), as well as an important dependence to the dose of TEA. **Financial support:** CAPES, CNPq and PRONEX.

06.132

PERFIL ANALGÉSICO E ANTINFLAMATÓRIO DE NOVOS DERIVADOS N-ACILIDRAZÔNICOS (NAH) ANÁLOGOS AO ÁCIDO ACETIL SALICÍLICO (AAS)

Araújo, R. M.; Torreão, C. L. D.; Silva, A. C. A.; Lima, L. M.; Barreiro, E. J.; Palhares de Miranda, A. L. UFRJ Farmácia FÁRMACOS LASSBio

Objetivo: O ácido acetilsalicílico (AAS) é largamente utilizado para tratar distúrbios inflamatórios e dor, tendo como mecanismo de ação a interação covalente com a COX-1 e COX-2 resultando assim na inibição irreversível dessas enzimas nos diversos tecidos. Entretanto, essa terapia tem efeitos colaterais que a limitam, como a gastrot toxicidade. Visando a obtenção de novos AINEs de segunda geração, foi planejada e

sintetizada no LASSBio uma nova série de derivados NAH análogos ao AAS buscando seletividade para a isoforma COX-2 através da remoção do grupamento farmacofórico primário para a atividade inibitória sobre a COX-1.

Métodos e Resultados: As atividades analgésica e antiinflamatória foram avaliadas nos ensaios de contorção abdominal induzida por ácido acético 0,1N em camundongo e edema de pata de rato induzido por carragenina (1000 µg/pata). Os compostos foram administrados *v.o.* nas doses de 100 µmol/kg (analgésia) e 300 µmol/kg (inflamação). Dentre os dez compostos estudados apenas três não apresentaram atividade analgésica significativa, observando-se uma inibição das contorções de 30% a 50%. LASSBio 917 e LASSBio 916 foram os mais ativos com inibição significativa de 49,4%* e 45,7%* respectivamente, semelhante à observada para o AAS (52,5%*) na mesma dose. No ensaio de edema de pata de rato apenas os compostos LASSBio 909 e LASSBio 919 apresentaram efeito antiinflamatório significativo, inibindo o edema em 27,8%* e 39,5%* (n=5-10; *p<0,05). Não foi observado efeito gastrotóxico para nenhum dos compostos.

Conclusões: Os resultados obtidos reforçam as estratégias empregadas no planejamento racional de novos fármacos e corroboram mais uma vez com o caráter farmacofórico da função NAH. Considerando a predominância do perfil analgésico da série e a ausência de propriedade antiinflamatória, estes compostos podem estar agindo em uma isoforma de COX distinta, como a COX-3. Estudos sobre o potencial antipirético e antitrombótico consistem perspectivas deste trabalho na busca de esclarecer os mecanismos envolvidos nas atividades observadas. **Apoio Financeiro:** CNPq/PIBIC, CNPq, FINEP, FAPERJ, FUJB.

06.133

ESTUDO DO PERFIL ANTINFLAMATÓRIO E ANALGÉSICO DE NOVOS DERIVADOS N-ACILDRAZÔNICOS ANÁLOGOS DO COMPOSTO LASSBIO 294.

Mendonça Tributino, J. L.¹; Duarte, C. M.²; Lacerda, D. I.³; Fraga, C. A. M.³; Barreiro, E. J.³; Castro, N.⁶; Palhares de Miranda, A. L.³ - ¹UFRJ Farmacologia Básica e Clínica LASSBio; ²UFRJ Instituto de Química LASSBio; ³UFRJ LASSBio Farmácia; ⁶UFRJ Farmacologia Básica e Clínica

Introdução: Visando a obtenção de novos protótipos de fármacos potencialmente úteis no tratamento da isquemia cerebral, foi sintetizada em nosso laboratório uma nova série de derivados N-acilidrazônicos planejada a partir da hibridação molecular do composto LASSBio 294, molécula com um importante perfil neuroprotetor, antiagregante plaquetário e vasodilatador, com o Nimesulido, antiinflamatório COX-2 seletivo. O objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil antiinflamatório e analgésico destes compostos em modelos específicos. **Métodos:** Para a avaliação da atividade antiinflamatória foram utilizados os ensaios de edema de pata de rato induzido por carragenina e de edema de orelha induzido por AA e éster de forbol (TPA) em camundongos. A atividade analgésica foi avaliada utilizando-se os ensaios de hiperalgesia induzida por formalina e pelo ensaio da placa quente em camundongos. Todos os compostos foram avaliados por via oral.

Resultados e Discussão: O composto LASSBio 881, na dose de 300 µmol/kg, foi o que apresentou melhor perfil antiinflamatório no ensaio de edema de pata, com porcentagem de inibição de 38,6 %*, sem contudo apresentar inibição significativa no ensaio de edema de orelha induzido por AA e TPA. Os compostos LASSBio 881 e LASSBio 879, na dose de 500 µmol/kg, apresentaram um perfil analgésico central significativo, aumentando o tempo de latência dos animais no ensaio da placa quente em 43,2* e 32,3%* respectivamente. Além disso ambos os compostos, foram capazes de inibir em torno de 45%* a primeira fase do ensaio de formalina evidenciando um perfil analgésico central não observado para o Nimesulido utilizado com substância de referência (n=8,

*p<0,05). **Conclusão:** Os resultados obtidos para o composto LASSBio 881 evidenciam uma atividade antiinflamatória e analgésica central significativa, requisitos que podem ser úteis para o tratamento da isquemia cerebral. **Apoio Financeiro:** FAPERJ, CNPq, FUJB, PRONEX

06.134

CARACTERIZAÇÃO FARMACOLÓGICA DAS RESPOSTAS CONTRÁTEIS PARA AS CININAS NO CÓLON DE CAMUNDONGOS NORMAIS OU COM COLITE EXPERIMENTAL

Balz, D.; El Sayah, M.; Cabrini, D. A.; Campos, M. M.; Calixto, J. B. UFSC Farmacologia

Existem várias evidências indicando que as cininas exercem papel relevante no trato gastrointestinal. Contudo, são ainda escassos os estudos que sugerem o papel das cininas na colite. O presente trabalho tem por objetivo avaliar farmacologicamente a participação dos receptores B₁ e B₂ para as cininas no cólon de camundongos normais ou após indução da colite. Foram utilizados camundongos machos (35-40 g). A colite foi induzida pela administração de TNBS via retal (2,5 mg/animal) 72 h antes dos experimentos. Os cólons foram retirados e montados em cubas contendo 5 ml de solução Krebs, aerados com (O₂95% e CO₂5%) à 37° C. Os resultados foram expressos em (% do CCh). A adição de concentrações cumulativas de bradicinina (BK) nas preparações de animais tratados com salina causou contração estável, quando as curvas foram obtidas com 90 min de intervalo. A CE₅₀ para a BK foi 0,912 µM e a resposta máxima (R_{max}) de 67,5±7,4 % (N=5). Nas preparações de animais com colite, a resposta da BK foi potencializada (cerca de 18 vezes) acompanhada com aumento da R_{max}. A CE₅₀ foi de 0,05 µM e a R_{max} de 97,3±9,9 % (N=5). Já o agonista B₁ a des-Arg⁹-BK (1 µM) não causou contração nas preparações controles até 90 min após a montagem, mas demonstrou aumento tempo-dependente da resposta contrátil com R_{max} de 20,9±2,3 % no final de 8h. Esses resultados mostram pela primeira vez a participação tanto dos receptores B₁ como dos receptores B₂ para as cininas no cólon de camundongo durante a colite experimental. **Apoio Financeiro:** CNPq, PRONEX e CAPES

06.135

EFEITO DOS INIBIDORES DA SÍNTESE DE ÓXIDO NÍTRICO (NO) L-NAME E AMINOGUANIDINA (AG) NA MUCOSITE INTESTINAL (MI) INDUZIDA POR METOTREXATO (MTX) EM RATOS

Leitão, R. F. C.¹; Macedo, F. D.¹; Bellaguarda, E.¹; Diogenes, C. B.¹; Silva, J. V.²; Oria, R. B.²; Ribeiro, R. A.¹; Brito, G. A. C.² ¹UFC Fisiologia e Farmacologia; ²UFC Morfologia

Introdução e Objetivos: A MI e suas consequências como diarreia, vômito e sangramento são efeitos debilitantes da quimioterapia do câncer. Tem sido descrito a participação de citocinas na patogênese dessas lesões e, estudos demonstram que esses mediadores inflamatórios são importantes reguladores da síntese de NO. Objetivou-se avaliar a participação do NO na MI induzida por antineoplásicos.

Métodos: A MI foi induzida em ratos Wistar machos pela administração de MTX (2,5 mg/kg/sc) durante 3 dias. No 5º dia os animais foram sacrificados e seções do duodeno, jejuno e íleo foram removidas e processadas para coloração H&E. Os inibidores da NO sintase, N^o-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME; 20 mg/Kg, i.p.) ou AG (10 mg/kg; i.p.) foram injetados diariamente. As alterações morfológicas das alturas dos vilos em duodeno, jejuno e íleo foram avaliadas. Os valores foram expressos como média ± EPM de 8-10 unidades de vilos bem orientados por seção. **Resultados:** A MI induzida por MTX causou redução na altura dos vilos e necrose de criptas. Essas alterações morfológicas foram prevenidas com o tratamento com L-NAME e AG (p<0.05) no duodeno (AG 60%, L-NAME 40%) e jejuno (AG e L-NAME 65%). No entanto, não foram observadas, no íleo, diferenças significativas na altura dos vilos nos grupos tratados com AG e L-NAME, em relação ao controle. **Conclusão:** Os resultados sugerem a participação do NO na patogênese da mucosite intestinal. **Apoio Financeiro:** CNPq

06.136

EFEITO DOS INIBIDORES DA SÍNTESE DE ÓXIDO NÍTRICO (NO) L-NAME E AMINOGUANIDINA NA MUCOSITE ORAL INDUZIDA POR ANTINEOPLÁSICOS EM HAMSTERS

Leitão, R. F. C.¹; Bellaguarda, E.¹; Macedo, F. D.¹; Diogenes, C. B.¹; Ribeiro, R. A.¹; Brito, G. A. C.² ¹UFC Fisiologia e Farmacologia; ²UFC Morfologia

Introdução e Objetivos: A mucosite é um efeito adverso importante decorrente da terapia do câncer. Tem sido descrito a participação de citocinas na patogênese dessas lesões e, estudos demonstram que esses mediadores inflamatórios são indutores da síntese de NO. Objetivou-se investigar a participação do NO na mucosite oral. **Materiais e Métodos:** A mucosite foi induzida em hamsters pela administração de 5-fluorouracil (5-FU) no primeiro e segundo dia de experimento (60 e 40 mg/kg/i.p., respectivamente). Os animais foram tratados com N-Nitro-L-Arginina Metil Ester (L-NAME; 5, 10 ou 20 mg/kg, i.p.) ou aminoguanidina (5 ou 10 mg/kg, i.p.) 1 hora antes da administração de 5-FU e, diariamente, até o sacrifício, no 10º dia. Os seguintes parâmetros foram avaliados: macroscopia, hispopatologia e mieloperoxidase.

Resultados: O tratamento com aminoguanidina (10 mg/kg) apresentou redução de úlceras e abscessos no 10º dia (p<0.05). Esses resultados foram confirmados pela análise histopatológica. A menor atividade de mieloperoxidase detectada no tecido sugere redução da infiltração neutrofílica (p<0.05) nos animais tratados com aminoguanidina (10 mg/kg) em relação aos animais submetidos a mucosite oral que não receberam tratamento. L-NAME (5, 10 ou 20 mg/kg, i.p.) não reverteu, de forma significativa, as alterações inflamatórias induzidas pela mucosite experimental. **Conclusões:** Esses resultados sugerem a participação de NO na patogênese da mucosite oral induzida por antineoplásicos, via NO sintase induzida. **Apoio Financeiro:** CNPq

06.137

EFEITO PROTETOR DA AMIFOSTINA (WR-2721) NA LESÃO GÁSTRICA INDUZIDA POR INDOMETACINA EM RATOS

Menezes, A. A. J.; Mota, J. M. S. C.; Soares, P. M. G.; Souza, M.; Ribeiro, R. A. UFC Fisiologia e Farmacologia

Introdução: Amifostina (AMF) é um fármaco que, após ser metabolizado, transforma-se no tiol livre WR-1065 com propriedades de modular os níveis de glutatona e de capturar radicais livres. AMF é usada clinicamente na prevenção da nefrotoxicidade da cisplatina e da xerostomia da radioterapia. Demonstramos que AMF apresenta efeito protetor na mucosite oral e intestinal (Mota *et al*, 2003, *Anais do XXXV Congresso da SBFTE*, 06-040) e na cistite hemorrágica (Batista *et al*, 2003, *Anais do XXXV Congresso da SBFTE*, 06-124), induzidas por quimioterapia. **Objetivos:** Este estudo avalia o possível papel protetor da AMF na prevenção da lesão gástrica (LG) induzida por Indometacina (INDO).

Métodos: Ratos Wistar machos pré-tratados com AMF (10, 30 e 90 mg/kg, i.p.) ou salina. Decorridos 30 min., os animais receberam por gavagem INDO 20 mg/kg. Após 3 h, os ratos foram sacrificados, os estômagos retirados, e a extensão das lesões medidas através da soma da extensão de todas as lesões encontradas (IL). **Resultados:** O tratamento com AMF inibiu significativamente (p<0,05) a lesão gástrica por INDO (IL=17.85 ± 1.53 mm, N=7) de maneira dose-dependente a partir da dose de 10 mg/Kg (IL=12.53±2.65 mm, N=6), tendo a dose de 30 mg/kg um efeito de IL=6.82±1.36 mm (N=6), com efeito máximo na dose de 90 mg/kg (IL= 0 mm, N= 8).

Conclusão: Os dados sugerem um efeito inédito da Amifostina na prevenção da LG induzida por INDO. **Apoio Financeiro:** CNPq/CAPES.

06.138

PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA SEROTONÉRGICO E GLUTAMATÉRGICO NA ANTINOCICEPÇÃO CAUSADA PELO BUSPIRONA EM CAMUNDONGOS

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

Introdução: O presente estudo tem como objetivo analisar a atividade

antinociceptiva da BUSP administrada pela via oral (v.o.), intratecal (i.t.) e intraplantar (i.pl.) na nocicepção induzida pelo glutamato em camundongos, bem como o possível envolvimento do sistema serotoninérgico e dos receptores glutamatérgicos na antinocicepção causada pela buspirona. **Métodos:** Foram utilizados camundongos fêmeas adultas (30-40g N = 8-12 por grupo). A resposta nociceptiva foi caracterizada pelo tempo que o animal permaneceu lambendo e/ou mordendo (TLM) a pata injetada i.pl. com glutamato (GLU, 10 µmol/pata). A nocicepção [caracterizada pelo TLM nos membros posteriores (patas posteriores, cauda e abdômen)] causada pelos agonistas glutamatérgicos, foi verificado através da injeção i.t. de GLU (175 nmol/sítio), NMDA (450 pmol/sítio), cainato (CA, 110 pmol/sítio), AMPA (135 pmol/sítio) ou trans-ACPD (50 nmol/sítio). A participação dos receptores serotoninérgicos na antinocicepção da BUSP (10 mg/kg, v.o.), foi verificado pelo pré-tratados com pindolol (1 mg/kg, i.p., antagonista 5-HT_{1A/1B}), ondansentron (0,5 mg/kg, i.p. antagonista 5HT₃) e cetancerina (0,3 mg/kg, i.p., antagonista 5HT_{2A}), 20 min antes da nocicepção induzida pela injeção i.pl. de GLU. **Resultados:** A BUSP administrada v.o. (2,5-20 mg/kg, 1 hora antes) ou i.t. (0,5-5 µg/sítio) reduziu de forma significativa e dose dependente o TLM induzido pela injeção i.pl. de GLU (10 µmol/pata), com DI₅₀ de 5,47 (3,239,26) mg/kg e 0,87 (0,312,49) µg/i.t. e inibição de 72±3 e 69±4%, respectivamente. Além disso, a BUSP (1-100 µg/sítio) administrada via i.pl. (em associação com o glutamato) não reduzir a nocicepção induzida pelo GLU. A BUSP (10 mg/kg, v.o.) reduziu de forma significativa a nocicepção induzida pela injeção i.t. de GLU e de NMDA, mas não aquela causada pelo CA, AMPA e trans-ACPD, com inibição de 66±7 e 52±8%, respectivamente. A antinocicepção causada pela BUSP (10 mg/kg, v.o. 1 h antes) foi revertida de forma significativa (p<0,05) pelo pindolol e ondansentron, mas não pela cetancerina. **Conclusões:** Estes resultados demonstram que a BUSP apresenta efeito antinociceptivo significativo quando administrada pela via oral e intratecal, mas não pela via intraplantar, sugerindo uma possível ação antinociceptiva central. O

mecanismo de ação antinociceptiva da BUSP parece envolver a ativação dos receptores serotoninérgicos do tipo 5-HT₁ e 5HT₃ e o bloqueio dos receptores ionotrópicos NMDA. **Apoio Financeiro:** CNPq, UFSC.

06.139
PIOGLITAZONE, A PEROXISOME PROLIFERATOR-ACTIVATED RECEPTOR γ (PPAR γ) AGONIST, INHIBITS NOCICEPTION AND EDEMA IN EXPERIMENTAL MODELS
Oliveira, A. C. P.; Costa, K. A.; Bertollo, C. M.; Rocha, L. T. S.; Nascimento Jr, E. B.; Rezende, K. S.; Cruz, F. M.; Coelho, M. de M. UFMG Faculdade de Farmácia

Introduction: PPARs are nuclear receptors and act as ligand-activated transcriptional factors. Three PPAR isotypes (α , β e γ) have been characterized. They are involved in lipid metabolism, glucose homeostasis and cell proliferation. Recently, PPAR α and PPAR γ have been shown to have an important role in the control of inflammatory response. The aim of this study was to investigate the effect of a PPAR γ agonist (pioglitazone) in models of nociception and edema. **Methods:** The effect of pioglitazone (50 or 100 mg/kg, *p.o.* -2 h) on the glycaemia and the nociceptive response induced by formaldehyde (0.92%; 20 µl; *s.c.*) or by exposure to a hot plate (54 °C) was evaluated in male Swiss mice. Male Wistar rats were used to evaluate the effect of pioglitazone (10 or 50 mg/kg, *i.p.*, -1 h) on the carrageenan-induced edema (1%, 50 µl, *i.pl.*). **Results:** Pioglitazone inhibited (~ 50%) the 2nd phase of nociceptive response in the formaldehyde test and the edema induced by carrageenan (maximum of 78%). However, the nociceptive response in the hot plate model and the glycaemia were not changed by pioglitazone. **Discussion:** Pioglitazone inhibited nociception and edema, effects that were not associated with glycaemia reduction. These results are supported by *in vitro* studies indicating that PPAR γ agonists inhibit the production of different inflammatory mediators, including many proinflammatory cytokines, and raises the potential use of these drugs in the treatment of inflammatory conditions. **Supported by:** FAPEMIG, CAPES

06.140
MECHANICAL ALLODYNIA AND EDEMA INDUCED BY A PROTEIN KINASE C ACTIVATOR: CHARACTERIZATION AND COMPARATION WITH THE RESPONSE INDUCED BY CARRAGEENAN

Costa, K. A.; Rezende, K. S.; Oliveira, A. C. P.; Bertollo, C. M.; Nascimento Jr, E. B.; Rocha, L. T. S.; Cruz, F. M.; Coelho, M. de M. UFMG Farmácia

Introduction: Protein kinase C (PKC) activation is important for the nociceptive response and other aspects of inflammation. We characterized and compared the nociceptive response and paw edema induced by a PKC activator or carrageenan (Cg). **Methods:** Mechanical allodynia (withdrawal frequency to 10 touches) and edema (paw volume) induced by a PKC activator (phorbol 12,13-didecanoate - PDD) or Cg in male Wistar rats were evaluated with a 10 g von Frey filament and a plethysmometer, respectively. **Results:** PDD (100 µg, *i.pl.*), but not 4 α -PDD (inactive analogue), induced allodynia (9 times increase) and edema (66%). Cg (1%, 50 µl) induced allodynia (9 times increase) and edema (69%). Indomethacin (2 or 4 mg/kg, *i.p.*, -30 min) partially inhibited (45%) allodynia, but not the edema induced by PDD. However, this non-selective cyclooxygenase (COX) inhibitor attenuated allodynia (66%) and edema (23%) induced by Cg. Rofecoxib (5 or 10 mg/kg, *p.o.*, -1 h), a selective COX₂ inhibitor, did not inhibit allodynia induced by PDD, but inhibited the nociception (88%) and edema (44%) induced by Cg. Dexamethasone (0.25 or 1 mg/kg, *i.p.*, -1 h) inhibited the edema induced by PDD (85%) or Cg (79%), but not the allodynia induced by these inflammatory mediators. **Discussion:** PDD and Cg induce an inflammatory response characterized by mechanical allodynia and edema. Different mediators are involved in these responses. Eicosanoids derived from the COX₁, but not COX₂ pathway, partially contribute to the initial phase of the nociceptive response induced by PDD. However, eicosanoids derived from the COX₂ pathway greatly contribute to the nociceptive response induced by Cg. Altogether, eicosanoids provide greater contribution to the nociceptive response and edema induced by Cg than that induced by PDD. **Supported by:** CNPq, CAPES, FAPEMIG

06.141

EFEITO DA METALOPROTEINASE BaP1, ISOLADA DO VENENO DE *Bothrops asper* SOBRE MACRÓFAGOS: PRODUÇÃO DE ÓXIDO NÍTRICO

Fernandes, C. M.¹; Zuliani, J.¹; Leanza, E. C.²; Bevilacqua, E.²; Gutiérrez, J. M.³; Teixeira, C. de F. P.¹ ¹Instituto Butantan Farmacologia; ²ICB-USP Histologia; ³Universidade da Costa Rica Instituto Clodomiro Picado

Introdução: Metaloproteinasas são componentes relevantes em venenos viperídeos. Além da ação hemorrágica, algumas enzimas induzem inflamação. Neste trabalho investigou-se o efeito da BaP1, isolada do veneno de *B. asper*, sobre a produção de óxido nítrico (NO) por macrófagos (MØs). **Métodos:** MØs de camundongos foram obtidos 96 h após a injeção intraperitoneal de tioglicolato 3% e incubados (1-48h) com a BaP1 (6,25-200 µg/mL) ou RPMI (controle). A liberação de NO e a expressão gênica de RNAm para iNOS foram avaliadas pelo método de Griess e RT-PCR, respectivamente. **Resultados:** A BaP1 (6 a 50 µg/mL) nativa, mas não a complexada com EDTA, causou aumento da produção de NO, máximo na concentração de 12,5 µg/mL (16±1,3 µMNO₂) em relação ao controle (7±1 µMNO₂). Este efeito foi inibido na presença de 1 mM/poço de L-NAME e aminoguanidina. A BaP1 nativa aumentou a expressão de RNAm para iNOS (1,2 unidades densitométricas) em relação ao controle (0,45 unidades densitométricas) após 1h de incubação. **Discussão:** A BaP1 induz *in vitro* a produção de NO por macrófagos isolados. Esse efeito parece estar relacionado ao aumento da expressão gênica da iNOS. **Apoio Financeiro:** FAPESP (03/08529-9) e CNPq

06.142

AVALIAÇÃO DA REATIVIDADE BRÔNQUICA DE RATOS SUBMETIDOS À ISQUEMIA/REPERFUSÃO INTESTINAL (I/R-i).

Rodrigues Coelho, F.; Cavriani, G.; Soares, A. L.; Lucia da Silva, Z.; Oliveira-Filho, R. M.; Tavares de Lima, W. ICB-USP

Introdução: Na vigência da I/R-i, há geração de mediadores inflamatórios os quais causam alteração funcional em órgãos distantes do local onde foi

desencadeada a isquemia. Ente eles, o pulmão ocupa lugar de destaque. Estudos avaliando a reatividade brônquica após a I/R-i ainda não foram explorados. Neste estudo avaliamos o efeito da I/R-i sobre a reatividade brônquica frente à metacolina (MCh). **Métodos:** Ratos machos Wistar foram submetidos à isquemia intestinal (45 min) pela oclusão da artéria mesentérica superior seguida da sua perfusão (30 min, 2, 4 ou 24 h). O controle consistiu de ratos não manipulados (basal) e falso operados (sham). Decorrido o tempo desejado de estudo os animais foram sacrificados e o brônquio intrapulmonar (Bi) foi removido para cuba de vidro contendo Krebs-Henseleit (37°C, 95%O₂/5% CO₂). Após 40 min de equilíbrio construiu-se curvas concentração efeito (MacLab) à MCh. Os animais foram tratados previamente à I/R-i (60min) com L-NAME (5 mg/kg, i.v.), aminoguanidina (AG 20 mg/kg, i.v.) e budesonida (Bud) (330 µg/kg i.n.). **Resultados:** Os dados obtidos indicaram que:

Emax (%)	Grupos	Sham	I/R-1 30min	2h	4h	24h
	Basal	11,4±2,3	9,4±1,4	6,1±0,3*	5,3±0,3*	10,8±0,7
	Tratamentos I/R-1 - 2h					
	L-NAME		AG		Bud	
	8,7±2,0		10±0,9**		11±0,8**	

* p<0.05 versus grupo sham **p<0.05 versus I/R-2h. n: 4-6 animais. **Conclusão:** A reperfusão intestinal causa hiporreatividade brônquica à MCh reversível a qual parece ser modulada pelo NO. É possível que mediadores gerados no pulmão modulem a alteração da reatividade. **Apoio Financeiro:** FAPESP: 03/11787, 020/6606-3, CNPq

06.143

TRATAMENTO DA ARTRITE REUMATÓIDE COM APTOXINA

Martins, M. R.¹; Cardoso, D.¹; Souza, I. D.¹; Morsoleto, M. J.²; Miranda, M. A.³; Aoyama, H.³ ¹UNIARARAS Fisioterapia; ²UNIARARAS / FCM - UNICAMP Fisioterapia; ³UNICAMP Bioquímica

Objetivo: Avaliar o efeito da Aptoxina na Artrite Reumatóide Induzida (ARI) em ratos *Novergicus Wistar*, através da aplicação tópica via fonoforese. **Método:** Foram utilizados 15 ratos *Wistar* fêmeas peso aproximado de 170 g, divididos em 3 grupos. Ao grupo I (controle) não foi administrado nenhum tipo de tratamento. O Grupo II, houve inoculação de turpentine e não foram

tratados com Aptoxina. Ao grupo III, houve inoculação com turpentine e tratado com aptoxina via fonoforese. Os grupos inoculados receberam injeção intrarticular de 0,2ml de essência de turpentine no joelho direito. O tratamento com Aptoxina em gel de carbopol a 0,1% iniciou-se após 7 dias com utilização de piezoelectricidade gerada por ultra-som (0,2 Watts/cm² de potência, intensidade de 1 MHz durante 1 minuto) durante 21 dias de tratamento consecutivos. Para a indução da artrite e o sacrifício os animais foram anestesiados com 0,4 ml de hidrato de cloral 10% (subcutâneo) para cada 100 gramas do peso corporal. Os sacrifícios ocorreram com 3 e 21 dias após o tratamento, e os resultados foram analisados por imagens radiográficas e, diariamente, verificadas as temperaturas corporais. Os espaços intrarticulares foram mensurados em escala milimétrica através de paquímetro eletrônico. **Resultados:** As medidas do espaço intrarticular do grupo I apresentaram média de 0,15mm e temperatura de 35,7°C. Após 7 dias da inoculação com turpentine, nos animais do grupo II e III, observou-se uma distância de 0,08mm e temperatura média de 37,3 °C. Com 3 dias de tratamento com Aptoxina foi encontrada uma distância articular de 0,07 mm e temperatura de 37,3 °C para o grupo III. No entanto, após 21 dias observou-se valores de espaço intrarticular de 0,075 mm e temperatura de 37,3 °C para o grupo II, e de 0,146 mm e temperatura de 36,1 °C para grupo III. **Conclusão:** A aptoxina administrada via fonoforese foi capaz de reverter o efeito do turpentine retornando as medidas dos espaços intrarticulares próximas ao grupo controle, e reduzir a temperatura corpórea em 1,2°C, após 21 dias de tratamento. **Bibliografia:** Korolkovas, A. B. J. H. - *Química Farmacêutica* (1988); Morsoleto, M. J. M. Tese de mestrado UNESP- Rio Claro (2003); Palos E.; XXIX Congresso Apimondia Budapeste Hungria 1983 anais p. 410; Kriov, V. N. *et al.* XXXIV Congresso Apimondia Lauzane Suíça 1995; Wolfe, F.; Pincus, T. *Pathogenesis, assessment, outcome, and treatment.* Copyright © 1994 by Marcel Dekker, Inc. **Apoio Financeiro:** CNPq, UNIARARAS

06.144

EFFECTS OF CHRONIC STRESS ON THE SEVERITY OF ALLERGIC ENCEPHALOMYELITIS SYMPTOMS IN RATS

Varriano, A. A.¹; Dias, A. A.¹; Teixeira, S. A.¹; Martins Porto, R.¹; Lepsch, L. B.¹; Leza, J. C.²; Scavone, C.¹; Muscara, M. N.¹ ¹USP Farmacologia; ²Universidad Complutense Farmacologia

Objectives: To show the effects of unpredictable chronic stress (UCS) on the clinical course of experimental allergic encephalomyelitis (EAE), an animal model of human multiple sclerosis) when applied either before or after the induction of the disease in Lewis rats. **Methods and Results:** EAE was induced (groups I) by injecting 50 mg of myelin basic protein (MBP) emulsified with complete Freund's adjuvant (CFA); controls received CFA (groups NI). During the week before or starting on the day after immunization, half of animals were exposed to a 7-day UCS paradigm (groups S) while the other half remained in their home cages (groups NS); 6 groups were thus defined according to the procedure sequence (NS-NI, S-NI, NS-I, S-I, NI-S, I-S). The rats were daily weighed and scored for clinical symptoms (0 to 4) during the next 4 weeks. Neurological signs of all immunized animals (I) were significantly attenuated in the S-I group on days 14 (0.6±0.4 vs. 1.4±0.3) and 16 (0.8± 0.2 vs. 2.2±0.5), but potentiated in the I-S group on days 13 (1.5±0.3 vs. 0.5±0.2) and 15 (2 ± 0.4 vs. 1.2 ±0.4); secondary body weight loss of I animals was also lower or higher in the S-I or I-S groups, respectively (p<0.05).

Discussion: These results suggest that UCS protects against EAE symptoms when applied before the induction, but exacerbates all the clinical signs when applied after the immunization. The involved mechanisms and/or mediators responsible for these opposite effects are under current investigation. **Supported by:** CNPq, FAPESP

06.145

AVALIAÇÃO DA AÇÃO CICATRIZANTE DA ALOE VERA (L) EM ESCARAS INDUZIDAS

Guimarães, A. L.¹; Caetano, C. S.¹; Amoroso, D. L.¹; Morsoleto, M. J.²; Amoroso, V. J.¹; Franchini, C. C.¹ - ¹Centro Universitário Hermínio Ometto Farmácia; ²UNIARARAS/FCM-UNICAMP Fisioterapia

Objetivo: Avaliar a ação cicatrizante do Aloe vera (L) *in natura* em escaras induzidas. **Métodos:** Foram utilizados 18 ratos machos wistar novogrigicus com peso de ±350 g, separados em 3 grupos: Grupo I (Controle), Grupo II (lesado sem tratamento) e Grupo III (Lesado e Tratado com Aloe Vera (L) *in natura*). A Escara foi produzida por bisturi cirúrgico lamina 20 no dorso mediano dos ratos com dimensões de 2x1x0,5 cm. Para a cirurgia e sacrifício foi utilizado hidrato de cloral 10% com dosagem de 0,4 mL para cada 100 gramas do peso corporal. Os curativos diários de Aloe Vera (L) utilizou 5mL de gel *in natura* para cada rato, onde foi verificado diariamente a área do ferimento e a temperatura corporal. **Resultados:** o Grupo I apresentou temperatura de 35,5 °C em média de 6 animais; o Grupo II apresentou temperatura corporal de 37,8°C em média de 6 animais, a área da incisão no 3º dia foi de 2 cm², no 7º dia 1,26 cm² e no 14º dia 0,76 cm²; o Grupo III apresentou média de temperatura corporal em 6 animais de 35,5°C, com área da incisão no 3º dia de 1,26 cm², 7º dia 0,65 cm² e no 14º dia 0 cm².

Conclusão: A Aloe Vera (L) controlou os picos febris e inflamatórios durante o processo cicatricial e regenerou o tecido epitelial em 14 dias. **Palavras-chaves:** Aloe vera (L), cicatrização. **Referências Bibliográfica:** Newall, C. A.; Anderson, L. A.; Phillipson, J. D. Plantas Mediciniais - Guia para Profissional de Saúde. 1. ed. São Paulo. Editorial Premier. 2000. 31 e 32. Teske, M.; Tretini, A. M. M. Herbarium Compendio de Fitoterapia. 3. ed. Curitiba. Herbarium Laboratório Botânico. 1997. 52, 53, 54. **Apoio Financeiro:** UNIARARAS

06.146

ESTUDO DO EFEITO ANTINOCICEPTIVO DA INTERAÇÃO ENTRE TIOLCHICOSIDO E DICLOFENACO SOBRE A DOR NEUROPÁTICA EM RATOS

Vilanova, M. F.¹; Pinheiro, R. M.¹; Beirith, A.² ¹Universidade Regional de Blumenau Ciências Farmacêuticas; ²Universidade Regional de Blumenau - Ciências Naturais

Objetivos: O tiocolchicosido é um gabamimético, derivado sulfurado de um glicosídeo natural da colchicina, que atua farmacologicamente como miorrelaxante, promovendo a atenuação ou supressão considerável da contração muscular de origem central. O diclofenaco sódico, um analgésico não esteroideal com acentuadas propriedades anti-reumática, antiinflamatória e antipirética, tem como mecanismo de ação principal a inibição da biossíntese de prostaglandinas. Em alguns casos clínicos é utilizada uma associação destes fármacos (2 mg de tiocolchicosido com 25 mg de diclofenaco sódico por via intramuscular [i.m.]) para promover uma melhora em quadros de dor de origem inflamatória. O objetivo do presente trabalho é avaliar a ação antinociceptiva da associação de doses menores destes fármacos na dor induzida pela formalina em camundongos. **Métodos e Resultados:** Foram utilizados camundongos suíços machos (30-40 g, n: 6-8) e os resultados expressos como média ± e.p.m.. O diclofenaco sódico (1-10 mg/i.m.) e o tiocolchicosido (0,11 mg/i.m.) foram administrados 30 min antes da injeção intraplantar de formalina (2,5%). O tempo que os animais permaneceram lambendo ou mordendo a pata foi avaliado nos intervalos 0-5 (primeira fase) e 15-30 (segunda fase) após a injeção de formalina. Tanto o diclofenaco sódico quanto o tiocolchicosido causaram inibição da nocicepção observada na segunda fase (15-30 min) da dor induzida pela formalina, sem alterar a nocicepção observada na primeira fase (0-5 min após a injeção). As inibições máximas observadas foram 71,37±10,5% (na dose de 10 mg/i.m.) e 69,6±11,1% (na dose de 1 mg/i.m.) e as DI₅₀ calculadas para estes efeitos foram 7,1 (6,9-7,3) mg/i.m. e 0,7 (0,5-0,9) mg/i.m. A associação de doses subliminares de

diclofenaco sódico (1 mg/i.m.) e tiocolchicosido (0,1 mg/i.m.), que não causaram efeito significativo sobre a nocicepção quando administradas isoladamente, também causou marcante inibição (55,6± 7,5%) da nocicepção induzida pela formalina.

Conclusões: Esses resultados indicam que as altas doses utilizadas na associação entre diclofenaco sódico (25 mg/i.m.) e tiocolchicosido (2 mg/i.m.) poderiam ser significativamente reduzidas (cerca de 20 vezes) para obter o mesmo efeito analgésico, observado na clínica, sobre a dor de origem inflamatória. **Apoio Financeiro:** Universidade Regional de Blumenau

06.147

ANGIOTENSINA II (ANGII) MODULA INFLAMAÇÃO ATRAVÉS DA DEGRANULAÇÃO DE MASTÓCITOS

Carvalho, R. F.¹; Falcão, R. A. A.¹; Lima, R. C. L.¹; Feitosa, R. R. P.¹; Ribeiro, R. A.¹; Brito, G. A. C.²; Souza, M. H. L. P.¹
¹UFC Fisiologia e Farmacologia; ²UFC Morfologia

Introdução: A ANGII é conhecida por seus efeitos sobre a pressão arterial e homeostase eletrolítica. Nosso objetivo foi avaliar o efeito da ANGII em modelos de inflamação aguda. **Metodologia:** Ratos Wistar foram separados nos grupos: salina (sal), ANGII (1mg), DXT e ANGII+DXT. O edema de pata foi induzido por injeção subplantar de Dextran (DXT 100mg) e foi medido, com um pletismógrafo, imediatamente antes da injeção de DXT e 1, 2, 3 e 4h após. Tecido da pata foi retirado para contagem da degranulação dos mastócitos, utilizando coloração com azul de toluidina. Grupos DXT e DXT+ANGII foram tratados com injeção intraperitoneal (ip) de Mepiramina (anti-histamínico, 10 mg/kg) e Metisergida (anti-serotoninérgico, 1,5 mg/kg) 1 h antes da injeção do DXT. Animais foram pré-tratados com ANGII (1 mg, ip) ou salina e após 1h, os mesentérios dos animais foram removidos, incubados em solução de 48/80 por 30 min e processados para contagem do percentual de mastócitos degranulados. **Resultados:** ANGII potencializou o edema de pata do DXT, reduziu de maneira significativa a degranulação de mastócitos na pata e no mesentério. Além disso, Mep e Met reduziram o edema do Dextran potencializado pela ANGII. **Discussão:** Nossos resultados sugerem que a ANGII promoveu

aumento da permeabilidade vascular via indução de degranulação de mastócitos, uma vez que a ANGII potencializou o edema vascular do DXT, a degranulação de mastócitos e os antagonistas da serotonina e da histamina inibiram o edema do DXT e a potenciação do mesmo pela Ang II.

Apoio Financeiro: CNPq

06.148

INFLUENCE OF THE TREATMENT WITH METFORMIN ON INFLAMMATORY RESPONSE IN SODIUM MONOGLUTAMATE OBESE RATS

Sartoretto, S.¹; Marrafão, A. E.¹; Svidzinski, A. E.¹; Toledo, D. P.²; Takaki, I.¹; Silva, M. A. R. C. P.¹; Bersani-Amado, C. A.¹; Fortes, Z. B.²; Cuman, R. K. N.¹
¹UEM Farmácia e Farmacologia; ²ICB-USP Farmacologia

Introdução: The acute inflammatory response is reduced in sodium monoglutamate (MSG) obese rats (Toledo *et al.*, *SBFTE* p.151, 2002).

Objective: In the present study we investigated the influence of metformin (Met) treatment on the altered inflammatory response of MSG obese rats. **Methods:** Newborn Wistar rats were injected with MSG (4 g/kg/day/s.c.) during 5 days. After three months after, the inflammatory response was studied by carrageenan induced paw edema in MSG-control, MSG-Met (300 mg/kg, *per os*, by 7 days), and normal (C) rats. **Results:** The reduced inflammatory response observed in MSG animals was reversed by the treatment with Met (1h: MSG = 0.1±0.04 mL; MSG+Met = 0.22±0.01; C = 0.24±0.02 mL; 2h: MSG = 0.36±0.04* mL; MSG+Met = 0.53±0.03; C = 0.57±0.03 mL; 4h: MSG = 0.58±0.10* mL; MSG+Met = 0.83±0.04; C = 0.81±0.02 mL; 24h: MSG = 0.03±0.00 mL; MSG+Met = 0.16±0.00; C = 0.03±0.00 mL). **Discussion:** The Metformin treatment was effective in restoring the decreased inflammatory response observed in MSG obese rats.

Supported by: CNPq/UEM

06.149

ANTINOCICEPTIVE, ANTI-EDEMATOUS AND ANTI-ANGIOGENIC EFFECTS OF BENZALDEHYDE SEMICARBAZONE

Rocha, L. T. S.¹; Bertollo, C. M.¹; Oliveira, A. C. P.¹; Costa, K. A.¹; Nascimento Jr, E. B.¹; Cruz, F. M.¹; Rezende, K. S.¹; Araujo, F. A.²; Teixeira, L. R. S.³; Andrade, S. P.²; Beraldo, H.³; Coelho, M. de M.¹
¹UFMG Farmácia; ²ICB-UFMG; ³UFMG Química

Introduction: Semicarbazones present many activities such as antihypertensive, hypnotic and anticonvulsant. As some anticonvulsants also present anti-inflammatory activity, effects of benzaldehyde semicarbazone (BS) on models of nociception, edema and angiogenesis were evaluated. **Methods:** Effect of ip injection of BS on paw edema, mechanical and thermal allodynia induced by carrageenan were evaluated in male rats. Nociception induced by formaldehyde and in hot plate and motor activity in rota-rod (14 rpm, 1 min) were evaluated in male mice. Angiogenesis was evaluated by determining the haemoglobin content in a sponge disc 7 days after sc implantation in mice. **Results:** BS (50 mg/kg, -30 min) inhibited thermal (37%) and mechanical (45%) allodynia and edema (70%) induced by carrageenan. The nociceptive response in the hot plate model was not changed by BS (50 mg/kg, -60 min), but both phases of nociception induced by formaldehyde were inhibited (59 and 92%). BS (2.5 mg/kg.day, 7 days) inhibited angiogenesis (57 %). BS did not change the time mice spent in the rota rod. **Discussion:** Inhibition of nociception induced by formaldehyde, allodynia and angiogenesis associated with absence of antinociceptive effect in the hot plate model suggest that BS inhibits release of inflammatory mediators that contribute to these responses. Lack of effect in the rota rod indicates that BS effects are not due to a non-specific effect due to motor incoordination or muscle relaxing effect. **Supported by:** FAPEMIG, CAPES

06.150

ANTINOCICEPTIVE EFFECT OF RIBOFLAVIN IN DIFFERENT EXPERIMENTAL MODELS

Bertollo, C. M.; Costa, K. A.; Cruz, F. M.; Oliveira, A. C. P.; Rezende, K. S.; Rocha, L. T. S.; Coelho, M. de M. UFMG Farmácia

Introduction: B complex vitamins are used to alleviate the pain associated with some pathological conditions related or not with their deficiency. So far, the studies have focused on thiamine, pyridoxine and cyanocobalamin. We aimed to investigate the effect of another B vitamin, riboflavin (B_2), in different models of nociception. **Methods:** Female Swiss mice (25-30 g) and female Wistar rats (200-250 g) were used. The motor activity of mice was evaluated in the rota-rod (12 rpm, 1 min). The antinociceptive effect was evaluated in the hot plate test (54 °C) and formaldehyde model (0.92%, 20 ml, sc) in mice and mechanical allodynia (withdrawal frequency to 10 touches with a 4 g von Frey hair) induced by carrageenan (Cg; 1%, 50 ml, ipl) in rats. Intraperitoneal injection of B_2 was carried out 30 min before the nociceptive test or the evaluation in the rota-rod apparatus. **Results:** B_2 did not alter the time mice spent in the rota-rod. Formaldehyde induced a biphasic nociceptive response (licking time: 0-5 min \approx 100 s, 15-30 min \approx 136 s). B_2 (50, 100 mg/kg) inhibited (\approx 70%, 73%) the second phase of the nociceptive response induced by formaldehyde in mice. Cg induced mechanical allodynia (\approx 7 times increase) that was partially inhibited (\approx 62%, 4 h after Cg) by B_2 (50 mg/kg, administered 0.5 before and 1.5 and 3.5 h after Cg). Latency of control mice to jump or lick the paws after exposure to the hot plate was \approx 12 s. B_2 (25, 50 mg/kg) increased (\approx 73%, 114%) the latency in the hot plate model. **Discussion:** B_2 induced an antinociceptive effect in different experimental models. This effect may result from action at different sites. B_2 adds to thiamine and pyridoxine as another B vitamin that may be useful as an analgesic drug. **Supported by:** FAPEMIG, CNPq, CAPES

06.151

NOVO AGONISTA DOS RECEPTORES DE ADENOSINA A_{2a} (ATL313) REDUZ ENTERITE E APOPTOSE INDUZIDAS PELA TOXINA A DO *Clostridium difficile* (TxA) EM CAMUNDONGOS

Cavalcante, I. C.¹; Castro, M. V.²; Barreto, A. F.²; Almeida, P. R. C.³; Linden, J.⁴; Rieger, J. M.⁴; Sullivan, G. W.⁵; Ribeiro, R. A.¹; Brito, G. A. C.² ¹UFC Fisiologia e Farmacologia; ²UFC Morfologia; ³UFC Patologia; ⁴Adenosine Therapeutics LLC, USA; ⁵University of Virginia, USA Infectious Disease

A TxA do *C. difficile* é importante na patogenia da diarréia e colite pseudomembranosa induzidas por antibióticos. A atividade de agonista nos receptores A_{2a} da adenosina reduz a inflamação. **Objetivo:** Avaliou-se o efeito de um novo agonista da adenosina seletivo para receptores A_{2a} (ATL313) na inflamação e secreção induzidas por TxA em alças ileais isoladas de camundongos. **Métodos:** Utilizaram-se camundongos machos Balb-C pesando 25-30g. ATL313 (10 nM/50 μ L) ou PBS foi injetado no lúmen das alças ileais isoladas por meio de seringas de 1mL (UltraFine) imediatamente antes da injeção de TxA (5 μ g/alça) ou PBS. As razões secreção/comprimento da alça e peso/comprimento da alça foram calculadas 3h depois. Amostras de tecido foram coletadas para dosagem de atividade de mieloperoxidase (MPO), histopatologia, imunohistoquímica para apoptose (ApopTag®) e dosagem de TNF α . **Resultados:** A injeção de TxA (5 μ g) nas alças ileais aumentou ($p < 0,05$) as razões secreção/comprimento da alça (TxA = 23.271 \pm 2.860 vs. PBS = 2.222 \pm 1.470 volume de secreção/ tamanho da alça; n=7-9) e peso/ comprimento da alça (TxA = 72.028 \pm 4.683 vs. PBS = 41.164 \pm 5.029 peso/tamanho da alça; n=9). O tratamento das alças com ATL313 (mas não com PBS) reduziu ($p < 0,05$) o peso e a secreção das alças ileais induzidos por TxA (TxA = 60.772 \pm 3.817 vs. ATL313+TxA = 38.189 \pm 2.399 peso/tamanho da alça; n=9-10 e TxA = 26.364 \pm 3.652 vs. ATL313+TxA = 2.143 \pm 2.143 volume de secreção/tamanho da alça; n=7-10) e reduziu o aumento de TNF α no tecido ileal induzido por TxA (TxA = 0.594 \pm 0.032 vs. ATL313+TxA = 0.392 \pm 0.054 [pg/(mL.g)]; n=4-5). Os

efeitos do ATL313 foram bloqueados pelo antagonista do receptor A_{2a} (ZM241385). O ATL313 preveniu a destruição da mucosa conforme análise histopatológica, reduziu a dosagem de MPO (TxA = 12.656 \pm 2.659 vs. ATL313+TxA = 1.001 \pm 0.612 U/mg de tecido; n=8-12), e reduziu a apoptose no tecido do íleo de camundongo induzida pela TxA. **Conclusão:** O agonista do receptor A_{2a} de adenosina, ATL313, reduz o aumento do peso e do volume de secreção das alças ileais, a destruição tecidual, a apoptose e a quantidade de TNF α no tecido do íleo de camundongos induzidos por TxA. Estes efeitos são revertidos com o antagonista do receptor A_{2a} de adenosina, o ZM241385. O ATL313 também reduz a atividade de MPO induzida pela TxA no tecido das alças ileais. Estes resultados sugerem que o ATL313, via receptores A_{2a} de adenosina, exerce uma atividade antiinflamatória no modelo de enterite induzida por TxA em alça isolada do íleo em camundongos. **Apoio Financeiro:** CNPq

06.152

EFEITO DE UM NOVO AGONISTA DOS RECEPTORES DE ADENOSINA A_{2a} (ATL313) NA ATIVIDADE DE ADENOSINA DESAMINASE (ADA) INDUZIDA PELA TOXINA A DO *Clostridium difficile* (TxA) EM CAMUNDONGOS E EDEMA DE PATA INDUZIDO POR CARRAGENINA (Cg) EM RATOS

Cavalcante, I. C.¹; Barreto, A. F.¹; Castro, M. V.¹; Rieger, J. M.²; Sullivan, G. W.³; Vale, M. R.¹; Ribeiro, R. A.¹; Brito, G. A. C.¹ - ¹FM- UFC Fisiologia e Farmacologia; ²Adenosine Therapeutics - Chemistry; ³University of Virginia - USA - Infectious Diseases

A TxA é importante na patogenia da diarréia e colite pseudomembranosa induzidas por antibióticos. Avaliou-se o efeito da TxA associada ou não ao agonista seletivo de receptores A_{2a} (ATL313) na atividade da enzima adenosina desaminase (ADA) em alças ileais isoladas de camundongos, bem como efeito do ATL313 no edema de pata induzido por Cg, em ratos. **Métodos:** Utilizou-se neste estudo camundongos machos Balb-C (25-30 g) e ratos Wistar (200-250g). O ATL313 (10 nM/50 μ L) ou PBS foi injetado, através de seringa de 1mL (UltraFine) no lúmen de alças ileais isoladas de

camundongos imediatamente antes da administração de TxA (5 µg/alça) ou PBS. Amostras das alças ileais foram coletadas para a dosagem da atividade da ADA. ATL313 (1µg/kg) ou PBS (1mL) foi injetado via i.p. em ratos, ½h antes da administração de Cg (500 µg/100 µL; sub-plantar) na pata esquerda traseira destes animais. O edema da pata foi aferido por pletismômetro e o tecido da região plantar foi coletado para dosagem da atividade de MPO.

Resultados: A TxA induziu um aumento da atividade de ADA em tecido ileal que foi revertido pelo ATL313 ($p < 0,05$; PBS = $2,476 \pm 0,585$ vs. TxA = $5,731 \pm 0,764$ vs. ATL313+TxA = $1,706 \pm 0,328$ mmol de NH₃/mg de proteína/h; n=5-8). A administração i.p. do ATL313 reduziu ($p < 0,05$) o edema de pata induzido por Cg na 3ªh (Salina+Cg = $0,398 \pm 0,045$ vs. ATL313+Cg = $0,186 \pm 0,021$ mL; n=5-6) e na 4ªh (Salina+Cg = $0,427 \pm 0,039$ vs. ATL313+Cg = $0,297 \pm 0,042$ mL; n=6) e preveniu a infiltração neutrofílica medida pela atividade de MPO no tecido da pata (Salina + Cg = $12,322 \pm 2,010$ vs. ATL313 + Cg = $6,254 \pm 1,224$ U/mg de tecido; n=5). **Conclusão:** O ATL313 reduz o aumento de atividade da ADA induzida pela TxA em íleo de camundongo, bem como o edema e atividade de MPO na pata de ratos. Sugerindo que esta nova droga, um agonista dos receptores A_{2a} de adenosina, desempenhe um papel anti-inflamatório. **Apoio Financeiro:** CNPq

06.153

MORFINA INTRATECAL: AÇÃO CENTRAL OU EFEITO SOBRE O GÂNGLIO DA RAIZ DORSAL?

Ferrari, L. F.; Araldi, D.; Guimarães, R. G. S.; Ferreira, S. H. FMRP-USP

Introdução: A injeção intratecal (i.t.) de morfina abole a resposta nociceptiva da formalina na pata traseira de ratos por ação nos neurônios espinais. Porém, a difusão da morfina pelo espaço subaracnóide pode causar antinociceção ao atuar em sítios diferentes da região lombar da medula. Além disso, sua ação parece não estar limitada aos neurônios secundários, mas também às raízes aferentes e gânglio da raiz dorsal (GRD), estruturas envolvidas pela membrana aracnóide e, portanto, banhadas pelo líquido. Dessa forma, o objetivo foi demonstrar a possível ação da morfina i.t. sobre neurônios primários aferentes e sua

difusão para outras regiões espinais.

Métodos e Resultados: A morfina (6 µg/10 µL, i.t. (L5-L6, ± 1)) reverteu em 86% a resposta nociceptiva mensurada pelo tempo de lambida e/ou mordidas induzida pela injeção de formalina 1% na pata dianteira direita de ratos Wistar machos (150-250 g). Este efeito antinociceptivo da morfina i.t. foi revertido pelo pré-tratamento, 30 minutos antes, com L-NMMA (N^G-monometil-L-arginina-monoacetato) (50 mg/20 mL) na pata ipsi- (73%) ou contralateral (75%). Utilizando corante biológico no mesmo volume da morfina ou como veículo para a mesma, observamos, após a exposição da medula, difusão pela extensão medular, atingindo os GRD da região torácica (T3/T4). **Conclusão:** A difusão da morfina i.t. até a região torácica da medula sugere efeito sobre neurônios secundários dessa região, inibindo a nociceção causada pela formalina na pata dianteira direita. Porém, uma vez que o L-NMMA injetado nas patas ipsi- ou contralateral reverteu essa antinociceção, a ação desse opióide no GRD ou raízes aferentes não pode ser descartada. **Apoio Financeiro:** CAPES; FAEPA.

06.154

O PAPEL DA ANGITENSINA II (ANGII) EM MODELOS DE INFLAMAÇÃO AGUDA EM RATOS

Carvalho, R. F.¹; Falcão, E. A. A.¹; Falcão, R. A. A.¹; Lima, R. C. L.¹; Brito, G. A. C.²; Ribeiro, R. A.¹; Cunha, F. de Q.³ ¹UFC Fisiologia e Farmacologia; ²UFC Morfologia; ³FMRP-USP

Introdução: A ANGIO age via da modulação de receptores AT1 e AT2. Nosso objetivo foi avaliar os efeitos da ANGIO em modelos de inflamação aguda. **Metodologia:** Ratos Wistar foram separados nos grupos: salina (sal), ANGIO (1µg), Losartan (antagonista AT1, 62,5 µg), CGP42112A (agonista AT2, 142,5 µg) e Pd123319 (antagonista AT2, 200 e 500 µg). Edema de pata foi induzido por injeção sub-plantar de carragenina (Cg) 100 µg e foi mensurado com pletismógrafo imediatamente antes da injeção de Cg e 1, 2, 3 e 4 h após. Nos grupos de ANGIO e sal, pele e tecido subcutâneo foram retirados para histopatológico, dosagem de mieloperoxidase (MPO) e de citocinas (IL-1 e TNF). ANGIO (0,5 µg, ip) foi injetada i.p. 1h antes da injeção i.p. de Cg para analisar a migração de

leucócitos para a cavidade peritoneal.

Resultados: ANGIO, Losartan e CGP potencializaram o edema induzido por Cg, já na primeira hora. PD não teve efeito no edema. A administração de ANGIO não alterou a infiltração neutrofílica, o conteúdo de MPO, TNF e IL-1 nos tecidos, nem a migração de neutrófilos para cavidade peritoneal.

Discussão: Nossos resultados sugerem que a ANGIO aumenta a resposta inflamatória via receptores AT2, já que o antagonista AT1, o agonista AT2 e a ANGIO potencializaram o edema de pata. O efeito da ANGIO sobre o edema parece ser vascular, não estando relacionada com migração de neutrófilos, uma vez que não alterou a infiltração neutrofílica, o conteúdo tecidual de MPO e citocinas. **Apoio :** CNPq

06.155

ANTI-EDEMATOGENIC PROPERTIES OF A SPECIES OF THE MELIACEAE FAMILY

Costa, M. F. S.; Costa, K. A.; Penido, C.; Henriques, M. G. M. O. FIOCRUZ Farmacologia Aplicada

Species of the Meliaceae family are widely used in folk medicine for the treatment of several inflammatory diseases. In the present study, we investigated the anti-edematogenic activity of crude extract and of a class of terpenes (TNTP) isolated from a member of this family in different *in vivo* models using Swiss mice (due to patent request, the name of the species was omitted). Paw edema induced by ovalbumin (Ova, 3 mg/paw) into sensitized mice was inhibited by oral pre-treatment with crude extract (100-400 mg/kg) ($92,6 \pm 5,6$ vs $48,1 \pm 9,4$, n=7) and with TNTP (12.5100 mg/Kg) ($90,5 \pm 3,7$ vs $40,8 \pm 7,3$, n=7). TNTP also inhibited paw edema produced by allergic related mediators, such as histamine (100 mg/paw) ($54,4 \pm 4,4$ vs $10 \pm 4,8$, n=7), PAF (1 mg/paw) ($45,2 \pm 7,9$ vs $20,5 \pm 3,8$, n=7) and bradykinin (3 nmol/paw) ($279,9 \pm 19,8$ vs $184,8 \pm 24,8$, n=7). Moreover, oral (25-200 mg/kg) and topical pre-treatment (2-5%) with TNTP inhibited histamine (100 mg/cav) -induced pleural exsudation ($4,2 \pm 0,6$ vs $1,5 \pm 0,1$, n=7) and ear edema (10 mg/ear) ($5,3 \pm 0,7$ vs $3,5 \pm 0,6$, n=7), respectively. In addition, we observed that oral pre-treatment with crude extract was able to inhibit paw edema induced by zimosan (500 mg/paw)

(220.4±15.9 vs 144.6±16.5, n=7) and carrageenan (300 mg/paw) (76.3±6.9 vs 29.4±7.7, n=7). Taken together, these results indicate that crude extract of a species of the Meliaceae family and TNTP present a potent anti-edematogenic activity in different experimental *in vivo* models.
Supported by: CNPq; FarManguinhos

06.156

LIBERAÇÃO CENTRAL DE OPIÓIDES INDUZIDA PELA ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA NERVOSA TRANSCUTÂNEA (TENS) EM RATOS. Sabino, G. S.¹; Pereira, L. S. M.¹; Francischi, J. N.²; Resende, M. A. De¹
¹UFMG Fisioterapia; ²UFMG Farmacologia

Introdução: Em trabalho anterior (resumo 06-080; SBFTE 2003) demonstramos que TENS de alta (AF/130 Hz) e baixa frequência (BF/10 Hz) foram efetivos em reduzir a hiperalgesia da carragenina (Cg). Além disso, mostramos a participação de opioides endógenos no mecanismo de analgesia pela BF. O objetivo deste estudo foi verificar o efeito do TENS de BF na pata não inflamada. **Métodos e Resultados:** Ratos Holtzman, fêmeas (160-180 g) receberam por via intraplantar 0,1 ml de Cg (250 mg) ou salina (controle), tendo sido acompanhada a medida de hiperalgesia (gramas, método de Randall-Selitto modificado) das patas posteriores até 6 h após as injeções. A máxima hiperalgesia foi obtida na 3^a h (48,0±3,9 g; n=4) após a administração da Cg. Naltrexona (3 mg/kg/sc) 2 h após Cg e 30 minutos antes da aplicação do TENS (BF) por 20 min. na pata do animal reduziu a analgesia significativamente na 3^a h (-18,0±4,89 g; n=5; C=8,33±11 g; n=6), enquanto Naltrexona aplicada nas mesmas condições antes do tratamento com TENS (AF) não reduziu a analgesia (-5,0± 2,20 g; n=6; C=-3,3±2,10 g; n=6). TENS de BF aplicado na pata não inflamada (PE) reduziu significativamente a hiperalgesia da Cg na 3^a h com valores semelhantes ao obtido com TENS de BF aplicado na pata direita (PD) administrada com Cg (PE=0±5,2 g; n=6; PD=-1,7±3,1 g; n=6; C=-48,0±3,9 g; n=4). **Conclusão:** Sugere-se que o mecanismo analgésico do TENS de BF envolva a participação de opioides principalmente a nível do sistema nervoso central. **Apoio Financeiro:** CNPq, FAPEMIG

06.157

A NOVEL HOT PLATE TEST SENSITIVE TO HYPERALGESIC STIMULI AND NON OPIOID ANALGESICS

Lavich, T. R.; Cordeiro, R. S. B.; Silva, P. M. R. e; Martins, M. A. IOC-FIOCRUZ Fisiologia e Farmacodinâmica

Introduction: It is largely accepted that the classical constant-temperature hot plate test is clearly insensitive to cyclooxygenase inhibitors. In the current work we developed a variant of the hot plate testing procedure for measuring inflammatory nociception in freely moving rats and mice. **Methods:** Following left and right hind paws stimulation with flogogen and vehicle respectively, the animals were placed individually on a hot plate surface at 51°C and the withdrawal latency of each paw was simultaneously determined in measurements performed at 15, 60, 180 and 360 min post-challenge. **Results:** Stimulation with prostaglandin (PG) E2 (0.25 -1 µg/paw) or carrageenan (100 - 500 µg/paw) led to rapid hyperalgesic response of the ipsilateral paw that plateaued from 15 (7.35±1.54; 6.10±0.94) to 60 min (8.05±0.92; 7.68±0.91) reducing after 180 min (4.50±0.92; 6.32±0.99). Indomethacin (4 mg/kg) clearly prevented carrageenan-evoked plantar hyperalgesia (2.10±0.68) but failed to alter the withdrawal latency of non inflamed paws as expected. As compared to the classical focal radiant heat test (Hargreave's test), the modified hot plate test (MHP) detected hyperalgesia by PGE2 or carrageenan at lower concentrations (3 and 2 times, respectively) and for a longer period of time (3 h) while the Hargreave's test detected until 1 h. **Conclusion:** In conclusion, the MHP test is a simple and sensitive method for detecting peripheral hyperalgesia in rats and mice. **Financial Support:** FAPERJ, CNPq

06.158

FUNCTIONAL UP-REGULATION OF KININ B₁ RECEPTOR IN ALLERGIC HYPERALGESIA IN RATS: ROLE OF IGE SENSITIZATION

Lavich, T. R.; Cordeiro, R. S. B.; Silva, P. M. R. e; Martins, M. A. FIOCRUZ Fisiologia e Farmacodinâmica

Introduction: Kinin B₁ receptor is inducible upon inflammation and appears implicated in the hyperalgesic response noted in the early phase of the allergic reaction. In this study, a model of plantar thermal hyperalgesia was used to compare the effect of kinin-B₁ receptor agonists in IgE-sensitized and sham-sensitized rats. **Methods:** The left hind paw of Wistar rats was sensitized with an intraplantar injection of specific IgE MAb (1 µg/paw) and challenged with either Bradykinin (BK) (dual B₁ and B₂ receptor agonist) or Lys-des-Arg⁹-BK (selective B₁ receptor agonist) 24 h later. The susceptibility of these agonists to the local treatment with a B₁ receptor antagonist was also investigated. **Results and Discussion:** In IgE sensitized rats, BK and Lys-des-Arg⁹-BK challenge yielded a time-dependent thermal hyperalgesia in the ipsi-lateral paw, both reaching a plateau from 15 min to 1 h both diminishing thereafter. In contrast, the effect of Lys-des-Arg⁹-BK was not apparent until 1 h post-challenge in sham-sensitized rats, condition in which the time-course of BK effect remained unaltered. BK-evoked hyperalgesia noted within 15 min was sensitive to the B₁ receptor antagonist des-Arg⁹[Leu⁸]BK only when stimulation was performed in IgE-sensitized rats. Furthermore, the protein synthesis inhibitor cycloheximide clearly inhibit hyperalgesia-induced by Lys-des-Arg⁹-BK noted 15 min post-challenge in sensitized rats[M1]. **Conclusion:** These findings suggest the up-regulation of the kinin-B₁ receptor following IgE sensitization. **Support:** FAPERJ, CNPq

06.159

EFFECT OF FLUNISOLIDE AND NITRIC OXIDE (NO)-RELEASING FLUNISOLIDE ON SILICOSIS IN MICE

Lima, J. M.¹; Ferreira, T. P. T.¹; Jurgilas, P.²; Farias-Filho, F. A.¹; Roque, D. C.¹; Cordeiro, R. S. B.¹; Perales, J.³; Lagente, V.⁴; Wallace, J. L.⁵; Martins, M. A.¹; Silva, P. M. R. e¹ ¹FIOCRUZ Fisiologia e Farmacodinâmica; ²FIOCRUZ Laboratório de Toxicologia; ³FIOCRUZ IOC; ⁴Université des Rennes; ⁵University of Calgary

Inhalation of crystalline silica dusts leads to silicosis, a chronic fibrotic lung pathological process. Steroids are routinely used to treat pulmonary fibrosis, although the timing of initiation is crucial for their effect. In this study, we compared the curative effect of flunisolide (FLU) as well as NO-flunisolide (NO-FLU) on silicosis in mice. Intranasal injection of silica (10 mg) into Swiss-Webster mice led to a 3-fold increase in the number leucocytes in BAL, mainly neutrophils and mononuclear cells, from 7 to 28 days. Zymograms of BAL showed the presence of active forms of gelatinases, which paralleled with a marked lung leucocyte influx at 7 days and numerous granulomas at day 14, mostly with peribronchial distribution. The fibrotic response progressed and a collagenous framework was observed in the center of the granulomas at 28 days. Intranasal administration of FLU and NO-FLU (0.005 and 0.022 $\mu\text{mol/kg}$) for 1-wk period at earlier times and from days 7-14, after silica challenge, had a significant therapeutic effect on inflammatory cellular infiltration and on gelatinase secretion in the BAL, although failed when given from days 21-28. Doses required of NO-FLU were lower than those of FLU. Our data indicate that FLU as well as NO-FLU do constitute a promising therapy for silicosis if given at earlier times after silica challenge. **Financial support:** FIOCRUZ/INSERM.

