

Setor 02. Neurofarmacologia

02.001

MOTOR FUNCTIONS IN MICE DEFICIENT FOR THE VESICULAR ACETYLCHOLINE TRANSPORTER (VACHT)

De Castro, B. M.¹; Pereira, G. S.¹; Cota, V. R.²; Martins-Silva, C.¹; Martins-Silva, C.¹; Lage, G. P.¹; Moraes, M. F. D.³; Caron, M. G.⁴; Prado, V. F.⁵; Prado, M. A. M.¹ - ¹UFMG - Farmacologia; ²UFMG - Fisiologia; ³ICB - UFMG - Fisiologia e Biofísica; ⁴Duke University - Cell Biology; ⁵UFMG - Bioquímica e Imunologia

Acetylcholine(ACh)-mediated neurotransmission has a crucial role in the control of movement. Release of ACh depends on its storage in synaptic vesicles, a step controlled by the activity of the VACHT. We developed a genetically altered strain of mice with reduced expression of this transporter. Heterozygous (VACHT KD^{HET}) and homozygous (VACHT KD^{HOM}) knock-down mice have 45 and 65% decrease in VACHT protein. To evaluate whether VACHT deficiency may affect motor functions, we used the following tasks: grip force, wire hang and treadmill. Motor learning was measured on the rotarod. We were unable to detect any alteration in the grip force, wire hang and treadmill tests in VACHT KD^{HET} mice; however VACHT KD^{HOM} mice were significantly impaired in all three tasks. Reduced grip strength in VACHT KD^{HOM} mice was readily reversed by prior injection of galantamine. Moreover, motor learning performance on the accelerating rotarod task by VACHT KD^{HET} mice was worse than for wild type controls. Our results demonstrate that different levels of cholinergic hypofunction may causes distinct types of motor abnormality. VACHT KD^{HOM} shows a myastenic profile, while VACHT KD^{HET} mice presented a decrease in motor learning with normal motor function. These genetically modified mice may represent a novel model system for investigation of motor control and congenital myasthenic syndromes. **Supported by:** CNPq, FAPEMIG, NIH-FOGARTY, Instituto do Milênio.

02.002

EFEITOS DO DIAZEPAM SOBRE A FUNÇÃO MOTORA E OUTRAS VARIÁVEIS DE RATOS WISTAR

Cantadeiro, L. S. M.¹; Assis, P. R. G. R.²; Santos, N. F.¹; Rossi, D. M. T.³; Paulino, C. A.³ - ¹UNIBAN - Enfermagem; ²UNIBAN - Biomedicina; ³UNIBAN - Reabilitação Neuromotora

Introdução: o diazepam é amplamente utilizado pelos seus diferentes usos terapêuticos. Neste trabalho foram estudados os efeitos deste fármaco sobre variáveis biológicas de ratos. **Métodos:** foram utilizados 36 ratos Wistar machos, com 5 meses e peso inicial de 350-400g, divididos em 4 grupos (n=9 cada um), a saber: um grupo recebeu 2 mg/kg de diazepam, via ip, durante 7 dias, sendo avaliado após 1 hora (Diazepam I); outro recebeu o mesmo tratamento e foi avaliado após 2 horas (Diazepam II); outro recebeu apenas Veículo (solução salina) na mesma dose e período e, um grupo Controle, cujos ratos foram apenas manipulados. Foi utilizado o *Rota Rod* (Ugo Basile®) para se avaliar a função motora, e medidos os consumos diários de ração e água, bem como o peso corporal dos animais. Todos os ratos foram reavaliados no *Rota Rod* 72 horas após os tratamentos. Para análise estatística utilizou-se Análise de Variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey-Kramer, adotando-se $P < 0,05$. **Resultados:** os ratos do grupo Diazepam I mantiveram-se por menor tempo no *Rota Rod* em relação ao grupo Controle ($P < 0,01$), efeito não observado às 72 horas. Ainda, os animais tratados com diazepam reduziram o consumo alimentar em relação ao Controle ($P < 0,05$), bem como seu peso corporal em relação aos grupos Controle e Veículo ($P < 0,05$). **Discussão:** o diazepam prejudicou a função motora dos ratos após 1 hora, indicando um pico de ação desta droga neste momento, e reduziu o peso corporal destes animais, como resultado do menor consumo alimentar, provocado, talvez, pelo seu efeito depressor central. **Apoio Financeiro:** Fundação UNIBAN.

02.003

EFFECT OF CLOMIPRAMINE ON MELATONIN PROFILE OF NORMAL SUBJECTS

Franco, D. G.¹; Ferreira, Z. S.¹; Gorenstein, C.²; Markus, R. P.¹ - ¹IB - USP - Fisiologia; ²ICB - FM - USP - Farmacologia - Psiquiatria

Antidepressants can induce positive changes in the subjective state of some psychiatric patients and normal individuals. The aim of this study was to evaluate the melatonin secretion profile in relation to the emotional state after 4 weeks of treatment with clomipramine (10-40 mg/day). 25 volunteers without personal or family history of psychiatric disorders were selected through psychiatric interview and physical exams. Operational criteria for improvements on subjective mood was blindly rated by two psychiatrists. Melatonin secretion, as expressed by its metabolite 6-sulphatoxymelatonin (6-sMT), was measured with Bullmann ELISA kit in total 24-h urine and in 4 six-hour samples before and after 1-day and 4-week treatment. Considering the whole sample, clomipramine increased the total 24-h 6-sMT excretion in the first day (47.2 ± 7.4 vs 107 ± 28 $p=0.0013$, paired t test), while no change was observed after 3 weeks. The rhythm and secretion in different hours was not changed. The unresponsive group ($n=11$) followed the profile just described. However, the 14 subjects who met response criteria after 3 to 4 weeks of clomipramine treatment showed a significant increase in the 6-sMT excretion peak (24h00 to 06h00) one day after clomipramine ($p=0.0052$, paired t test). In three weeks the values returned to basal levels. The present data show that clomipramine interferes in melatonin production in the first day of treatment. This effect tends to be predictive of mood regulation, since only in this group nocturnal 6-sMT excretion was selectively increased. **Supported by:** FAPESP/CNPq

02.004

EFEITOS COMPORTAMENTAIS, ELETROENCEFALORÁFICOS E HISTOPATOLÓGICOS DA ML-9 ISOLADA DO VENENO DA *Micrurus lemniscatus* (MI).

Oliveira, D. A.¹; Casais e Silva, L. L.²; Sandoval, M. R. L.¹; Lebrun, I.³ - ¹Instituto Butantan - Farmacologia; ²Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública - BA - Farmacologia; ³Instituto Butantan - Bioquímica e Biofísica do Instituto Butantan - SP

Objetivo: Venenos de serpentes elapídicas contêm reconhecidas neurotoxinas. Neste trabalho estudamos os efeitos centrais da MI-9 isolada do veneno da MI em ratos. **Métodos:** Três dias após a cirurgia estereotáxica de implantação de eletrodos e cânula, ratos Wistar machos (250g) foram injetados no Hipocampo (Hpc) com a MI-9 (0,57; 1,15 ou 4,5 µg/µl). Observamos os ratos por até 8 horas. Sete dias após, os cérebros foram processados para histologia. **Resultados:** MI-9 1,15 e 4,5µg/µl induziram "wet dog shake", coceira, vocalização, pulos e convulsão clônica. Latência para aparecimento de efeitos de ±4hs. EEG apresentou espículas isoladas, agrupadas e descargas moderadas. As doses 0,57[CA1(40,99±28,4), CA3(45,7±30,5), CA4(33,7±12,4), GD(158,1±10,9)] e 1,15 µg/µl [CA1(36±26,4), CA3(48,8±4,6), CA4(28,4±2,2) e GD(165,3±0,3)] induziram perda neuronal não significante quando comparado ao controle (CA1:51,2±8,2; CA3:55,6±17,3; CA4:51,5±16,5 e GD:220,4±21,1). MI-9 4,5 µg/µl causou lesão em 100% das células do Hpc. Conclusões: MI-9 tem atividade neurotóxica induzindo convulsão, alterações no EEG e lesão neuronal. A grande latência para início das convulsões nos leva a pensar que esta toxina, com atividade fosfolipásica A2, possa induzir alterações na membrana neuronal semelhante à β-bungarotoxina. **Apoio Financeiro:** CNPq e FAPESP

02.005

EFEITOS DA DIACEREÍNA SOBRE A MEMÓRIA NO MODELO DA ESQUIVA INIBITÓRIA EM RATOS

Guginski, G.¹; Gadotti, V. M.²; Santos, A. R. S.² - ¹UFSC - Farmacologia; ²UFSC - Ciências Fisiológicas

Introdução: Dados anteriores demonstram que a diacereína (DC) apresenta importante efeito antinociceptivo por atuar sobre o sistema glutamatérgico e citocinas pró-inflamatórias. Assim, este trabalho analisa o efeito da DC sobre a memória no teste da esQUIVA INIBITÓRIA (EI). **Métodos:** Foram utilizadas fêmeas Wistar (180-250 g, n= 6-8). Para avaliar a aquisição (AQ) o animal recebeu DC (1-100 mg/kg) ou veículo (vh) 1h (v.o.) ou 0,5 h (i.p.) antes do treino, e para analisar a retenção(RT) o animal recebeu a DC ou vh imediatamente após o treino. No treino o animal recebeu um choque logo após descer da plataforma e no teste foi medido o tempo (s) que o animal levou até descer. A memória de curta duração (STM) e a memória de longa duração (LTM) foram medidas 1,5 e 24h após o treino, respectivamente. A ambulação dos animais foi verificada no teste do campo aberto durante 6 min. **Resultados:** A DC (via i.p.) aumentou a AQ tanto da STM quanto da LTM, com valores de latência (VL) para o controle de 6,7 e 8,4 s e de 116,9 ($p \leq 0,01$) e 58,2 ($p \leq 0,01$) s na dose de 100 mg/kg, respectivamente. A DC aumentou a RT tanto da STM quanto da LTM, com VL para o controle 8,7 e 12 s e de 167,5 ($p \leq 0,01$) e 128,7 ($p \leq 0,01$) s para a dose de 100 mg/kg, respectivamente. Por via oral, a DC também aumentou a AQ tanto da STM quanto da LTM, o VL para o controle foi de 12,5 e 58,7s e de 180,0 ($p \leq 0,01$) e 162,0 ($p \leq 0,01$) s na dose de 100 mg/kg, respectivamente. A DC (v.o.) aumentou a RT tanto da STM quanto da LTM, com VL para o controle 21,3 e 44,5 s e de 180,0 ($p \leq 0,01$) e 180,0 ($p \leq 0,05$) s para a dose de 100 mg/kg, respectivamente. A DC (i.p. ou v.o.) não alterou a atividade locomotora do animal no campo aberto. **Conclusão:** Os dados mostram que a DC melhorou significativamente a memória em ratos na EI. Apoio financeiro: CNPq, CAPES, FAPESC, UFSC.

02.006

ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS PRODUZIDAS POR ETANOL E ESTRESSE EM CAMUNDONGOS

Santos, J. R. B. dos¹; Carrara-Nascimento, P. F.¹; Soares, S. L.¹; Rueda, A. V. L.¹; Munhoz, C. D.¹; Scavone, C.¹; Camarini, R.¹ - ¹ICB - USP - Farmacologia

INTRODUÇÃO: A sensibilização comportamental é usada como ferramenta para o estudo de dependência de drogas de abuso. O consumo de drogas e a exposição a estresse são duas condições interligadas. O estresse aumenta a propensão à auto-administração de drogas de abuso e existe sensibilização cruzada entre drogas e estresse. O objetivo deste trabalho foi investigar alterações comportamentais produzidas por etanol e estresse imprevisível em camundongos adultos. **MÉTODOS:** Foram usados 44 camundongos Swiss machos, divididos nos grupos: controle (C; N=11), salina (S; N=11), etanol (ET; N=11), estresse (ECI; N=11). Durante onze dias, os animais dos grupos S e ET receberam uma injeção, i.p., de salina 0,9% ou etanol 1,8 g/kg, respectivamente. No mesmo período, o grupo ECI foi submetido ao estresse crônico imprevisível, enquanto o grupo C permaneceu na caixa-moradia. O ECI consistiu em: privação de água e comida, isolamento, imobilização, natação, permanência em serragem úmida. No 12º. dia, todos os animais receberam uma injeção, i.p., de etanol (1,8 g/kg) e a atividade locomotora foi quantificada durante 5 min, após 5 min da injeção. **RESULTADOS:** Os animais submetidos ao ECI (307 ± 47) apresentaram uma atividade locomotora maior do que o grupo C (130 ± 31), quando desafiados com etanol [$F(3,40) = 3,06$; $p < 0,05$]. **DISCUSSÃO:** Somente o grupo ECI apresentou sensibilização cruzada com etanol, quando comparado com o grupo C, sugerindo que o ECI induziu um efeito mais pronunciado sobre os eventos mediadores da sensibilização comportamental do que as injeções diárias de etanol. **Apoio Financeiro:** FAPESP

02.007

PSYCHOSTIMULANT AND CONTEXT CONDITIONING EFFECTS INDUCED BY COCAINE: INTERFERENCE BY CANNABIDIOL

Leite, J. V.¹; Guimarães, F. S.² - ¹FMRP - USP - Farmacologia; ²USP - FMRP

Introduction Cannabidiol (CBD) is a major component of cannabis sativa that may possess antipsychotic effects. It attenuates the hyperlocomotion induced by amphetamine but its effects against the psychostimulant effect of cocaine have not been tested. The aim of the present study was to investigate if CBD would interfere with the psychostimulant and context conditioning effects induced by cocaine. *Methods* Male Swiss mice received cocaine (5 mg/kg, i.p.) or vehicle (saline) and were immediately placed in an open arena and the distance moved was evaluated for 10 min. In the first experiment animals were pretreated with CBD (60mg/kg i.p.) or vehicle and, 30 min later, received cocaine. In the second experiment animals were treated daily with cocaine or saline for 5 days. All injections were performed with the animals inside the open arena. In the 8th day they were pretreated with CBD or vehicle before receiving saline. Behavior analysis was performed in the 1st, 5th and 8th days of treatment. *Results* CBD potentiated the psychostimulant effect of cocaine (total distance moved, cocaine: 4206+/-671cm, CBD+cocaine= 7073+/-914, p<0.05). It failed to change the cocaine place conditioned effects in distance moved (vehicle: 2935+/-237; CBD:3104+/-506). *Discussion and Conclusions* The potentiation effect of CBD on cocaine induced hyperlocomotion may involve a pharmacokinetic interaction, since concomitant administration of CBD was reported to increase cocaine concentrations in the brain. Moreover, the drug does not seem to interfere with hyperlocomotion place conditioned effects induced by cocaine. **Supported by:** Fapesp/CNPq/FAEPA

02.008**GLUCOCORTICÓIDES E DEPRESSÃO: EFEITOS DA DEXAMETASONA NO TESTE DE PREFERÊNCIA POR SACAROSE E NÍVEIS DE BDNF.**

Casarotto, P. C.¹; Andreatini, R.¹; Zanata, S. M.² - ¹UFPR - Farmacologia; ²UFPR - Patologia Básica

Introdução: Uma série de trabalhos vem evidenciando a participação dos glucocorticóides na patogênese da depressão. Além dos corticóides emergem as neurotrofinas, especialmente o *brain derived neurotrophic factor* (BDNF), como envolvidas no processo. Métodos: foram utilizados ratos Wistar machos adultos, pesando entre 200 e 300 g, sob ciclo de luz de 12h, temperatura 22 ± 2 °C, com água e comida à vontade, acondicionados individualmente. Teste de preferência por sacarose (SPT): os animais são privados de água por 16h, em seguida são apresentadas 2 garrafas, contendo água ou solução de sacarose 1% previamente pesadas. A preferência é definida como a porcentagem de sacarose consumida (peso das garrafas) em relação ao consumo total (sacarose + água). Dosagem de BDNF: 8 animais foram divididos em 2 grupos e tratados com uma única dose de DEX (5mg/kg ip) ou veículo e monitorados pelo SPT antes e depois do tratamento, sacrificados 48h após o mesmo. Os hipocampus foram homogeneizados em tampão de lise com inibidores de proteases e submetidos ao protocolo de dosagem de BDNF por ELISA. Resultados: Tabela 1: nível de BDNF (pg/μg de proteínas totais) no hipocampo. Resultados expressos como Média ± EPM (n=4 animais/grupo). * $p < 0,05$ em relação ao grupo VEI.

	VEI	DEX
BDNF/PT	0,134 ± 0,012	0,082 ± 0,010 *

Tabela 2: efeito da DEX no SPT. Resultados expressos como Média ± EPM (n=4 animais/grupo) da porcentagem de preferência. * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle (VEI).

	DEX	VEI
T0	89,13 ± 2,99	86,29 ± 3,14
24h	79,09 ± 3,85	87,76 ± 5,65
48h	56,74 ± 4,78 *	79,84 ± 7,39

Conclusão: 1. A dexametasona foi capaz de induzir anedonia nos animais e de reduzir os níveis de BDNF no hipocampo dos ratos. 2. O tratamento com desipramina foi capaz de reverter a anedonia induzida por DEX.

Apoio Financeiro: CAPES/CNPq

02.009

PERINATAL MATERNAL EXPOSURE TO CADMIUM: II. HETEROSEXUAL BEHAVIOR OF RAT OFFSPRING

Moraes, R. C.¹; Felício, L. F.²; Bernardi, M. M.² - ¹ICB - USP - Farmacologia; ²FMVZ - USP - Patologia

INTRODUCTION: The *cadmium* is an important toxic from the environment. **OBJECTIVE:** The aim of this study was to evaluate the effects about sexual behavior of maternal exposure to the chloride cadmium (CdCl₂) during sexual differentiation of CNS in male rat offspring, and to verify the role of testosterone (T). **METHODS:** Forty Wistar pregnant rats were used. They were divided into 3 groups: control (C, n=8, NaCl 0.9%, 1mL/kg BW); experimental 1 (E1, n=16, CdCl₂, 10 mg/kg BW) and experimental 2 (E2, n=16, CdCl₂, 20mg/kg BW). All the groups were treated in the 18th and 21st gestational day, and from this to the 7th lactacional day. Right after birth, half of the offspring from the experimental groups received 50 µL of T 0.2 % i.p. (E1T; E2T). The parameters evaluated were: *latency to first mount* (LFM), *latency to first intromission* (LFI), *latency to first ejaculation* (LFE), *number of mounts until ejaculation* (NME), *number of intromissions until ejaculation* (NIE), *postejaculatory mount latency* (PEML), *postejaculatory intromission latency* (PEIL), and *number of ejaculations in 40 min* (NE40) of male rat offspring on PND100. **RESULTS:** Significant changes in the *heterosexual behavior* were observed. All the animals from the experimental groups presented an increase in the LFM (E1: 105.3±43.4; E2: 121.6±36.1; E2T: 86.9±31.3), as well as an increase in the LFI (E1: 110.6±46.5; E2: 130.3±36.7; E2T: 90.1±29.6) when compared to C (31.6±30.7; 35.4±30.8, respectively), except the group E1T in both parameters (60.8±29.4; 62.3±28.5, respectively). An increase in the LFE (C: 930.0±396.0) was exhibited in E2 (1891.1±354.8) and E2T (1970,9±363,7). There was an increase in the NIE (C: 33.8±12.1) in the E2 (75.4±21.6) and E2T (58.9±14.9). When considering the NE40 (C: 2.6±0.7), animals from E1 (1.5±0.5) and E2 (1.1±0.4) presented decrease of this parameter. No significant differences in the NME, PEML, and PEIL were observed. **CONCLUSION:** The exposure to Cd produces damage of sexual behavior even when on the maternal administration. FAPESP (03/10114-1)

02.010

MODULAÇÃO DOPAMINÉRGICA E GLUTAMATÉGICA DO CÓRTEX PRÉ-FRONTAL MEDIAL SOBRE A MEMÓRIA OPERACIONAL ESPACIAL

Valentim Jr, S.¹; Nakamura-Palacios, E. M.¹; Anhoque, C. F.¹; Favero, P. C.¹; Gontijo, A. V. L.¹ - ¹UFES - Ciências Fisiológicas

Introdução: A porção medial do córtex pré-frontal (CPFm) está envolvida com a memória operacional (MO). Receptores NMDA (N-metil-D-aspartato) e D₁ são encontrados em alta densidade nesta estrutura e parecem modular a MO. **Objetivos:** Investigar a interação do antagonista não competitivo dos receptores NMDA (MK-801: MK) com o agonista seletivo dos receptores D₁ (SKF 38393: SKF) na MO. **Métodos:** Ratos Wistar machos (n=10; 250-300g; 3 meses de idade), previamente treinados no labirinto radial de 8 braços (LR), com cânulas bilaterais implantadas no CPFm (B: +2,5mm A; +/- 1mm L; -2,7mm V), receberam infusões intracorticais de salina (SAL) ou SKF (0,56, 1,8 ou 5,6 µg) 10 minutos antes da infusão de SAL ou MK (0,32, 1,0 ou 3,2 µg). Cinco minutos após a última infusão, os animais foram submetidos ao teste no LR com retardos de 1 hora. **Resultados:** A combinação de SKF 0,56 µg (2,21 ± 0,17) ou 1,8 µg (1,8 ± 0,43) com a SAL aumentou significativamente (p < 0,01) o número de erros no pós-retardo de 1 h em relação ao controle (SAL/SAL). O MK (0,32 e 1,0 µg; 1,14 ± 0,27 e 1,14 ± 0,28, respectivamente) reduziu significativamente (p < 0,05; p < 0,01, respectivamente) o efeito do SKF 0,56 µg. **Discussão:** O SKF prejudicou a MO nas doses de 0,56 e 1,8 µg. Esse prejuízo foi revertido pelas doses de 0,32 e 1,0 µg de MK. Esses resultados sugerem uma importante modulação de receptores D₁ no CPFm sobre a MO de ratos e um envolvimento de receptores NMDA neste efeito. **Apoio Financeiro:** CNPq (bolsa de Doutorado)

02.011

MECANISMOS DE AÇÃO DE NOVOS PROTÓTIPOS PIRAZOLO[3,4-b]PIRROLO[3,4-d]PIRIDÍNICOS FUNCIONALIZADOS NEUROATIVOS, ANÁLOGOS AO ZOLPIDEM.

Mendes, T. C. F.¹; Raimundo, J. M.¹; Sudo, R. T.¹; Menegatti, R.²; Barreiro, E. J.²; Zapata-Sudo, G.¹ -
¹UFRJ - Farmacologia Básica e Clínica; ²UFRJ - Síntese de Substâncias Bioativas

Introdução. Quatro novos derivados pirazolo[3,4-b]pirrolo[3,4-d]piridínicos funcionalizados foram planejados como análogos estruturais do zolpidem apresentaram atividade analgésica, sedativa e hipnótica (Menegatti e cols. *Bioorg Med Chem* 14, 632, 2006). Este trabalho investiga prováveis mecanismos para sedação induzida pelos derivados LASSBio-980 e LASSBio-873. **Métodos.** A atividade motora de camundongos suíços machos foi determinada utilizando-se um campo aberto que emite raios infravermelhos a cada 2,5 cm. A interrupção dos feixes num período de 40 min foi medida após a injeção i.p. do veículo (DMSO), dos derivados LASSBio-981 (6 mg/kg) e LASSBio-873 (4 mg/kg), em 10 camundongos por grupo.

Resultados. O grupo controle apresentou 209,1±26,2 mov/min. LASSBio-981 e LASSBio-873 reduziram a atividade motora para 93,7 ±15,3 e 86,7 ± 16,5 mov/min, respectivamente. Resultado semelhante foi observado após tratamento com o benzodiazepínico, midazolam (80,9±26,6 mov/min, P<0,05). Apenas a sedação induzida pelo LASSBio-873 foi revertida com o pré-tratamento com flumazenil, um antagonista de receptor benzodiazepínico, aumentando a atividade motora para 153,5 ± 36,8 mov/min, semelhante ao grupo controle. **Discussão.** A via inibitória central relacionada aos receptores benzodiazepínicos parece estar envolvida somente no efeito de LASSBio-873. **Apoio Financeiro:** IM-INOFAR, PRONEX-Rio, CAPES, FUJB, CNPq, FAPERJ.

02.012

MICROINJEÇÃO DO WAY₁₀₀₆₃₅ E DA XANTONA OBTIDA DA *KIELMEYERA CORIACEA* NO NDR OU NMR DE RATOS NO TESTE DO NADO FORÇADO

Sela, V. R.¹; Villa Nova, M.¹; Hattanda, I.¹; Martins, J. V. C.¹; Cortez, D. A. G.¹; Audi, E. A.¹ - ¹UEM - Farmácia e Farmacologia

Introdução: O extrato e a fração diclorometano de caule de *K. coriacea* produziram efeito antiimobilidade no teste do nado forçado (TNF), sugestivo de atividade antidepressiva. A 1,3,7-trihidroxi-2-(3-metilbut-2-enil)-xantona (Xtn) poderá vir a ser um marcador para a planta. A ativação ou inibição de auto-receptores somatodendríticos 5-HT_{1A} nos núcleos dorsal e mediano da rafe (NDR e NMR) mostram diferenças no papel funcional e sensibilidade desses receptores provocando diferentes respostas fisiológicas e comportamentais. Este estudo compara o efeito da microinjeção do antagonista de receptores 5-HT_{1A}, WAY₁₀₀₆₃₅ e da Xnt, no NDR ou NMR no TNF, e verifica se há interação entre os compostos. **Métodos:** ratos Wistar machos, (n=8-15; 55 dias) com cânulas implantadas no NDR ou NMR, tratados com salina+salina (C), WAY₁₀₀₆₃₅ (0,2; 0,4; 0,8nmol)+salina (S), S+Xnt (0,3; 0,6; 0,9pmol) ou WAY₁₀₀₆₃₅+Xnt foram submetidos ao TNF. **Resultados:** NDR: Xnt ou WAY₁₀₀₆₃₅ não produziram alteração no tempo de imobilidade (TI) nas doses testadas em relação ao C. A associação de WAY₁₀₀₆₃₅ (0,8nmol)+ Xnt (0,3pmol) reduziu TI em 24,4% (p<0,05). NMR: WAY₁₀₀₆₃₅ não alterou o TI em relação ao C, enquanto a Xtn (0,9pmol) reduziu o TI em 23,2% (p<0,01). WAY₁₀₀₆₃₅ (0,8nmol) não bloqueou o efeito da Xnt (Anova seguido do teste de Dunnett). **Discussão:** NMR e NDR mostraram diferença na resposta comportamental produzida no TNF para o WAY₁₀₀₆₃₅ e Xnt. A interação entre WAY₁₀₀₆₃₅+Xnt foi observada apenas no NDR. **Apoio Financeiro:** Capes/Fundação Araucária

02.013

DEFICITS IN SOCIAL RECOGNITION IN MICE DEFICIENT FOR THE VESICULAR ACETYLCHOLINE TRANSPORTER (VACHT)

De Castro, B. M.¹; Pereira, G. S.¹; Martins-Silva, C.¹; Lage, G. P.¹; Caron, M. G.²; Prado, V. F.³; Prado, M. A. M.¹ - ¹UFMG - Farmacologia; ²Duke University - Cell Biology; ³UFMG - Bioquímica e Imunologia

Recognition of a familiar conspecific is the basis of several social interactions. The role of acetylcholine (ACh) in social recognition is unknown. Efficient release of acetylcholine depends on its storage in synaptic vesicles, a step controlled by the activity of VACHT. We developed a genetically altered strain of mice with reduced expression of this transporter (VACHT KD), and with a significant decrease in the release of ACh. We evaluated whether cholinergic hypofunction may affect social interactions in a habituation-dishabituation paradigm using a mouse intruder. A second experiment was done exposing the subject to the same intruder twice with an inter-trial of 30 min. In addition, two tests to analyze the olfactory response of the mice were conducted. In these experiments, the VACHT KD mice explored unfamiliar mice almost as extensively as wild-type littermates; however, they clearly are impaired in remembering intruder mice. Galantamine (s.c 1mg/kg) was able to rescue the phenotype. There were no differences between two genotypes in olfactory habituation or in their ability to discriminate between two test odors. Our observations provide new information on the role of reduced cholinergic function in social memory, which is profoundly affected in neurological diseases such as Alzheimer disease. **Supported by:** CNPq, FAPEMIG, NIH-FOGARTY, Instituto do Milênio.

02.014

ALPHA-ADRENERGIC RECEPTORS MEDIATING THE CARDIOVASCULAR RESPONSES TO MICROINJECTION OF NORADRENALINE INTO BED NUCLEUS OF STRIA TERMINALIS OF UNANESTHETIZED RATS

Crestani, C. C.¹; Alves, F. H. F.¹; Resstel, L. B. M.²; Correa, F. M. A.² - ¹FMRP - USP - Farmacologia; ²USP - FMRP

INTRODUCTION: The bed nucleus of stria terminalis (BST) is involved in cardiovascular control. Our goal was to verify the receptors that mediating the cardiovascular responses to microinjection of NA into BST.

METHODS: Male Wistar rats were used. Guide cannulas were implanted in the BST for drug injection and a polyethylene catheter was implanted into the femoral artery for arterial pressure (AP) and heart rate (HR) recording using a computerized acquisition system.

RESULTS: Injection of 10 nmol/100 nL of NA in the BST caused pressor (+30±3 mmHg) and bradycardic (-33±4 bpm) responses. Pretreatment with vehicle did not affect the pressor (33±3 vs 35±3 mmHg, $t=0,5$, $p>0.05$, $n=5$) and bradycardic (-35±6 vs -32±5, $t=0,3$, $p>0.05$, $n=5$) response to NA microinjection in BST. The local pretreatment with increasing doses of RX 821002, alpha-2 receptors antagonist; WB 4101, alpha-1 receptors antagonist or RX 821002 + WB 4101, progressively reduced the pressor (RX 821002, $r^2=0,84$, $df= 9$, $n=12$; WB 4101, $r^2= 0,98$, $df= 7$, $n=12$; and RX 821002 + WB 4101, $r^2= 0,98$, $df= 9$, $n=15$) and bradycardic (RX 821002, $r^2=0,89$, $df= 8$, $n=12$; WB 4101, $r^2= 0,95$, $df= 9$, $n=12$; and RX 821002 + WB 4101, $r^2= 0,99$, $df= 9$, $n=16$) responses to microinjection of NA into the BST. **DISCUSSION:** The present results suggest that the cardiovascular responses to the microinjection of NA into the BST are mediated by alpha-adrenergic receptors **Supported by:** CAPES, CNPq

02.015

INFLUENCE OF THE *Phoneutria nigriventer* TOXIN Tx3-4 IN THE SYNAPTIC VESICLE EXOCYTOSIS

Junior, C. J. C.¹; Pinheiro, A. C.¹; Guatimosim, C.²; Gomez, M. V.¹ - ¹UFMG - Farmacologia; ²UFMG - Morfologia

Introduction: Toxins that interfere with specific calcium channel subtypes have been proved to be useful tools for studying neurotransmitter release, thus, it may be viable for applying in pathologic conditions such as ischemic injuries and pain in terminal patients. Tx3-4, a toxin present in the venom of the spider *Phoneutria nigriventer*, acts as a calcium channel blocker. This lead us to investigate it supposed action in the synaptic vesicle exocytosis. **Methods:** Cortical brain synaptosomes were obtained from rats by centrifugation in a percoll gradient. Isolated nerve terminals were stained with the styryl dye FM2-10 upon depolarizing stimulus with KCl 30mM. After washing, another depolarizing stimulus with KCl was applied to trigger exocytosis. Fluorescence signal was followed by using a spectrofluorimeter, and the exocytosis was calculated as being function of the fluorescence signal decreasing after the 2^o depolarizing stimulus. **Results:** KCl-evoked exocytosis of synaptic vesicles stained with FM2-10 was dependent of extracellular Ca²⁺ based on experiments performed in the presence of Cd or EGTA. Tx3-4 reduces with great potency (Ic₅₀ = 0,89nM) the KCl-evoked exocytosis, with a maximum inhibition of 42%. **Discussion:** Our data show that Tx3-4 is a potent inhibitor of calcium-dependent exocytosis, a key event in the neurotransmission. In addition, this results suggests this toxin may act as a new tool for the study of neurotransmission and also as a new prototype for drugs development. **Supported by:** CNPq, Instituto Milenium.

02.016

EXPRESSÃO E ATIVIDADE DE ÓXIDO NÍTRICO SINTASE (NOS) EM MITOCÔNDRIAS DE CÉREBRO DE RATOS COM ENCEFALOMIELE AUTOIMUNE EXPERIMENTAL (EAE).

Carrari, C. C.¹; Teixeira, S. A.¹; Varriano, A. A.¹; Bolonheis, S. M.¹; Oliveira, J. F. de¹; Scavone, C.¹; Costa, S. K. P.¹; Muscara, M. N.¹ - ¹ICB - USP - Farmacologia

INTRODUÇÃO: A EAE é um modelo animal da esclerose múltipla (EM) humana. Em trabalho anterior descrevemos que há alterações na produção de NO no SNC. O conhecimento sobre a patogênese desta doença e sua correlação com as mitocôndrias ainda é obscuro. Neste trabalho, avaliamos a expressão protéica e atividade de NOS mitocondrial (mtNOS), expressão de Mn-SOD e resíduos protéicos de nitrotirosina (NT) em mitocôndrias de cérebros de ratos com EAE. **MÉTODOS:** A EAE foi induzida em ratas Lewis pela imunização ativa com proteína básica de mielina de cobaia. No estágio III da doença (paralisia dos membros posteriores), as ratas foram decapitadas, as massas encefálicas foram retiradas e as mitocôndrias isoladas através de sucessivas centrifugações. A atividade de NOS foi medida pelo método de conversão de ³H-L-arginina para ³H-L-citulina, e a expressão protéica de nNOS, Mn-SOD e NT avaliada por Western blot. **RESULTADOS:** Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos experimentais quanto à expressão protéica de Mn-SOD, mtNOS ou NT. A atividade mitocondrial de NOS dependente de Ca⁺² mostrou-se diminuída na EAE, porém, sem alcançar significância estatística. **DISCUSSÃO:** Nossos resultados mostram que a indução da EAE nesses animais leva a uma tendência de diminuição da atividade de NOS Ca⁺²-dependente, no entanto esta indução não foi capaz de alterar as expressões protéicas de mtNOS, resíduos de NT, bem como da enzima Mn-SOD. **Apoio Financeiro:** CNPq, CAPES, FAPESP

02.017

INTRACELLULAR TRAFFICKING OF THE STRESS-INDUCIBLE PROTEIN 1 (STI-1), A LIGAND FOR CELLULAR PRION PROTEIN

Caetano, F. A.¹; Magalhaes, A. C.¹; Hajj, G. N. M.²; Lopes, M. H.²; Massensini, A. R.³; Prado, V. F.⁴; Martins, V. R.²; Prado, M. A. M.¹ - ¹UFMG - Farmacologia; ²Ludwig Institute for cancer research - Biologia Celular e Molecular; ³UFMG - Fisiologia e Biofísica; ⁴UFMG - Bioquímica e Imunologia

Conversion of the normal cellular prion protein (PrP^c) into an abnormal, protease resistant isoform (PrP^{sc}) has been suggested to participate in the pathogenesis of prion diseases. The cellular functions of the PrP^c are not fully understood, but previous work has shown that recombinant PrP^c interacts with STI-1 promoting neuritogenesis and neuroprotection by distinct signaling pathways. The STI-1 is a co-chaperonine and it also may function as a secreted neurotrophic factor. In order to understand possible physiological functions of STI-1 and PrP^c we investigate their trafficking. A functional fluorescent STI-1 was generated to follow protein trafficking by fluorescence microscopy. Fluorescent STI-1 binds to cells in a saturable and specific way and after 10-20 minutes of cell contact the protein is internalized and accumulates in endocytic organelles (n = 3). Co-localization studies with markers of sub-cellular organelles indicated that fluorescent STI-1 is internalized to flotillin-1 positive vesicles and is then found in Rab7 positive acidic organelles (69 +/- 19%). In contrast, by using markers of endosomes and coated-pits, we found no evidence for the participation of the classical clathrin-mediated endocytic pathway in the internalization of STI-1. These results suggest that STI-1 is endocytosed by a clathrin independent pathway, and it is delivered to late endosomes/lysosomes. **Supported by:** CNPq e FAPESP

02.018

EFFECT OF OVARECTOMY ON ANTIAPOPTOTIC PROTEIN Bcl-2 EXPRESSION IN RAT HIPPOCAMPUS

Sales, S.¹; Porto, C. S.²; Abdalla, F. M. F.¹ - ¹Instituto Butantan - Farmacologia; ²UNIFESP - EPM - Endocrinologia Experimental

Introduction: The effects of estrogens on neuroprotection have been shown, but the mechanisms involved remains unclear. Studies suggest that estrogen replacement in women can help to prevent or delay the development of Alzheimer's disease (Tang et al., *Lancet*, 348: 429, 1996) and reduce the severity of Alzheimer's related dementia (Honjo et al., *Horm. Metab. Res.*, 27: 204, 1994). Recent evidence suggests that some of the effects may be due, in part, to ability of estrogens to regulate members of the Bcl-2 family in specific regions of the basal forebrain (Nilsen & Brinton, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 100: 2842, 2003). The present study was designed to investigate the effect of ovariectomy on protein Bcl-2 expression in adult rat hippocampus. **Methods:** Hippocampus were obtained from rats in proestrus (control), ovariectomized for 15 days (C15) and ovariectomized for 21 days (C21). Protein levels of Bcl-2 were determined by Western blotting as previously described (Nunez & McCarthy, *Neuroscience*, 129: 393, 2004). Briefly, 50 µg of protein was electrophoresed on 12% SDS-PAGE, and then electrotransferred to nitrocellulose membrane. The membrane were blocked with 5% non-fat milk in PBS containing 0.2% Tween-20, 1 h, 4°C and then incubated with primary antibody (1:100, Santa Cruz Biotechnology, CA, USA), 12 h, 4°C, washed three times with PBS and incubated with a anti-rabbit secondary antibody (1:25,000), 1 h, 4°C. Proteins were visualized on x-ray films after exposure to Luminol. β-actin levels were monitored on the same blot to ensure equal protein loading. **Results:** The expression of protein Bcl-2 decreased in hippocampus from C15 and C21 rats (respectively, 59.66 ± 25.86 %, n=3 and 45.69 ± 10.64 %, n=3) when compared with those obtained from control animals (100 %). This effect was similar in both period of ovariectomy. **Conclusion:** The results suggest the regulation by ovariectomy of the protein Bcl-2 expression in rat hippocampus. **Supported by:** PRONEX/FAPESP

02.019

NORADRENALINE MICROINJECTION INTO VENTROLATERAL PERIAQUEDUCTAL GRAY AREA EVOKES CARDIOVASCULAR CHANGES IN RATS

Pelosi, G. G.¹; Tavares, R. F.¹; Correa, F. M. A.¹ - ¹FMRP - USP - Farmacologia

INTRODUCTION: The periaqueductal grey area (PAG) is a mesencephalic area involved in cardiovascular modulation. Chemical stimulation (excitatory amino acids) of the ventrolateral PAG (vIPAG) caused depressor responses. There are reports showing the existence of noradrenergic projection to the PAG in the rats. We attempted to verify the cardiovascular effects of noradrenaline (NA) microinjected into the vIPAG of unanesthetized rats and to identify the peripheral mechanism involved. **METHODS:** Male Wistar rats were used (220-270g). Guide cannulas were implanted into the vIPAG. Catheters were introduced into the femoral artery and vein for respectively blood pressure recording and drug administration. **RESULTS:** Injection of NA in the vIPAG evoked dose-related pressor response accompanied by bradycardia. (nonlinear regression analysis: DMAP: $r = 0.99$ and DHR: $r = 0.95$, $p < 0.05$). The pressor response to NA was potentiated (DMAP before: $+17 \pm 0.8$ mmHg and after: $+39 \pm 3^*$ mmHg, $n=4$; $t = 9.4$, $*p < 0.05$) by pretreatment with the ganglion blocker (pentolinium, 5mg/Kg i.v.). Otherwise, administration of the vasopressin antagonist (dTyr(CH₂)₅(Me)AVP 50mg/Kg i.v.) significantly reduced (DMAP before: $= +32 \pm 3.9$ mmHg and after: $+11 \pm 2.1^*$ mmHg, $n=6$; $t = 5.2$, $*p < 0.05$) the pressor response evoked by the NA (9nmol/50nL) microinjection into the vIPAG. **DISCUSSION:** The results suggest the existence of a pressor noradrenergic mechanism within the vIPAG of unanesthetized rats that is mediated by acute vasopressin release. **Supported by:** FAPESP and CNPq

02.020

NEUROIMUNOMODULAÇÃO: OS EFEITOS DA ANFETAMINA SOBRE A COABITAÇÃO COM UM ANIMAL DOENTE

Alves, G. J.¹; Vismari, L.¹; Palermo-Neto, J.¹ - ¹USP - FMVZ

Introdução: A literatura mostra que a coabitação exclusiva com o doente (*caregivers*) induz a alterações comportamentais que são indicativas de ansiedade/estresse. A anfetamina é um fármaco que tem diferentes ações no SNC. **Objetivo:** Avaliar as alterações comportamentais induzidas por anfetaminas em animais que conviveram exclusivamente com um doente. **Métodos e Resultados:** Camundongas foram separadas em pares que foram divididos em um grupo controle (C) e um experimental (E). Um animal de cada par (C) foi inoculado com NaCl 0.9% (0.1 ml/10g), já o outro não recebeu tratamento sendo o “companheiro saudável” (CS). Um camundongo de cada par (E) foi inoculado com 5×10^6 células do tumor de Ehrlich; o outro, o objetivo deste estudo não recebeu tratamento sendo o “companheiro do doente”(CD). No 11º dia os animais dos pares (C) foram divididos em dois sub grupos: CS₁ e CS₂. O mesmo foi feito com os animais do grupo (E) que foram subdivididos em CD₁e CD₂. Os animais CS₁ e CD₁ foram tratados com 1 mg/kg de anfetamina; e aqueles CS₂ e CD₂ com 2 mg/kg de anfetamina. Quinze minutos após as administrações, os animais foram colocados individualmente no centro da arena do campo aberto que registra a atividade geral, cada animal foi observado por 5 minutos. Foi observado na dose de 2 mg/kg no (CD₂) um significativo aumento na locomoção total (CS₂=2658.9.0±489.7; CD₂= 3161.9±723.9) e também na zona central do campo aberto(CS₂=230.0±63.9; CD₂= 338.1±175.2). Na dose de 1 mg/kg no (CD₁) um significativo aumento na locomoção na zona periférica do campo aberto (CS₁=791,2±412.9; CD₁= 1145.5±365.0). **Conclusão:** A coabitação produziu um aumento dose-dependente dos efeitos da anfetamina sobre alguns parâmetros da atividade locomotora medida no campo aberto. **Apoio Financeiro:** CAPES, FAPESP.

02.021

PERINATAL MATERNAL EXPOSURE TO CADMIUM: I. PHYSICAL, REFLEX AND SEXUAL DEVELOPMENT OF RAT OFFSPRING

Moraes, R. C.¹; Felício, L. F.²; Bernardi, M. M.² - ¹ICB - USP - Farmacologia; ²FMVZ - USP - Patologia

INTRODUCTION: The *cadmium* is an important toxic from the environment. **OBJECTIVE:** The aim of this study was to evaluate the effects about physical, reflex and sexual development of maternal exposure to the chloride cadmium (CdCl₂) during sexual differentiation of CNS in male rat offspring, and to verify the role of testosterone (T). **METHODS:** Forty Wistar pregnant rats were used. They were divided into 3 groups: control (C, n=8, NaCl 0.9%, 1mL/kg BW); experimental 1 (E1, n=16, CdCl₂, 10 mg/kg BW) and experimental 2 (E2, n=16, CdCl₂, 20mg/kg BW). All the groups were treated in the 18th and 21st gestational day, and from this to the 7th lactacional day. Right after birth, half of the offspring from the experimental groups received 50mL of T 0.2 % i.p. (E1T; E2T). The parameters evaluated were: (1) *physical development* (PD); (2) *reflex development* (RD); (3) *sexual development* (SD). **RESULTS:** Significant changes in the PD were observed. All the animals from the experimental groups presented a reduction in the *body weight* in the 1st and 21st day, when compared to C, as well as a decrease in *body weight gain*. The same condition was observed in the *body length* of the male animals from E2 and E2T. An increase in *hair appearance* was exhibited in E2 and E2T. No significant differences in *ear unfolding*, *incisor eruption*, *eye opening* and *auditive channel opening* were observed. When considering the RD, animals from E2 and E2T presented decrease in *palmar grasp* and *negative geotaxis*. There were no changes in *adulthood walking*. In the SD, a decrease in the *anogenital distance* was detected in the 1st and 21st days. There was an increase in *testis descent* in the E2 and E2T. **CONCLUSION:** The exposure to Cd produces signs of early neurotoxicity even when on the maternal administration. **Supported by:** FAPESP (03/10114-1)

02.022

THE ROLE OF TNF α AND iNOS ON AMYLOID- β MODEL OF ALZHEIMER DISEASE

Medeiros, R.¹; Prediger, R. D. S.¹; Passos, G. F.¹; Pandolfo, P.¹; Duarte, F. S.¹; Franco, J.²; Dafre, A. L.²; Campos, M. M.¹; Takahashi, R.¹; Calixto, J. B.¹ - ¹UFSC - Farmacologia; ²UFSC - Ciências Fisiológicas

Purpose: Alzheimer disease (AD) is a progressive neurodegenerative disorder characterized by deposition of amyloid- β (A β) in different brain areas, resulting in strong cognitive impairments. In the current study, we have evaluated the role played by tumor necrosis factor (TNF) α and inducible nitric oxide synthase (iNOS) on A β -induced early impairment of learning and memory in mice. *Methods:* Mice were treated intracerebroventricularly (icv) with A β ₁₋₄₀ (400 pmol/mice) and water maze test was performed 7 days later. The induction and/or activation of inflammatory proteins were analyzed by RT-PCR and western blot. *Results:* The icv injection of A β ₁₋₄₀ strongly evokes cognitive deficits in mice, a phenomenon clearly reduced by TNF α or iNOS blockage. Similar results were obtained in TNF receptor 1 and iNOS knockout mice. The icv A β ₁₋₄₀ injection induced an increase of TNF α mRNA expression and oxidative alterations in cortex and hippocampus. Likewise, the A β ₁₋₄₀ leads to activation of two important intracellular pathways involving the c-Jun-NH₂-terminal kinase (JNK)/c-Jun/c-Fos, and the Rel family transcriptional factor NF- κ B, that in turn control the up-regulation of iNOS. Finally, the icv TNF α antibody (100 η mol/mice) injection significantly reduced all these intracellular alterations promoted by A β ₁₋₄₀. *Conclusions:* Collectively, these results provide strong molecular and functional insights concerning the relevant role played by TNF α and iNOS in A β model of AD. **Supported by:** CNPq, FAPESC, CAPES

02.023

EFEITOS DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Melissa officinalis* NO MODELO DA ESQUIVA INIBITÓRIA

Guginski, G.¹; Emmel, V. G.²; Duarte, M. S.³; Ferreira, V. M. M.³; Santos, A. R. S.³ - ¹UFSC - Farmacologia; ²UFSC - CFS; ³UFSC - Ciências Fisiológicas

Introdução: No presente trabalho avaliou-se o possível efeito do extrato etanólico de *Melissa Officinalis* (EEMO) na memória de ratos no modelo da esQUIVA inibitória (EI). **Métodos:** Foram utilizados ratos Wistar fêmeas (180 – 250 g, n = 6 a 8). Para avaliar a aquisição (AQ) o animal recebeu o EEMO (10 -1000 mg/kg) ou veículo v.o. (1 h) ou i.p. (0,5 h) antes do treino, e para a retenção o animal recebeu o EEMO ou veículo imediatamente após o treino. No treino o animal recebe um choque após descer da plataforma. No teste foi medido o tempo que o animal levou para descer da plataforma. A memória de curta duração (STM) e a memória de longa duração (LTM) foram medidas 1,5 e 24 h após o treino, respectivamente. A ambulação dos animais foi verificada no teste do campo aberto durante 6 min. **Resultados:** O EEMO (i.p.) aumentou a AQ tanto da STM quanto da LTM, com valores de latência (VL) para o controle de 5,6 e 9,8 s e de 163,5 ($p \leq 0,05$) e 74,3 s ($p \leq 0,01$) na dose de 100 mg/kg, respectivamente. O EEMO também aumentou a RT tanto da STM quanto da LTM, com VL para o controle 6,7 e 5,1 s e de 40,8 ($p \leq 0,01$) e 37,8s ($p \leq 0,01$) para a dose de 100 mg/kg, respectivamente. Por v.o., o EEMO aumentou a AQ tanto da STM quanto da LTM, com VL para o controle de 18,3 e 8,0 s e de 58,1 ($p \leq 0,01$) e 25,6 s ($p \leq 0,001$) na dose de 300 mg/kg, respectivamente. O EEMO (v.o.) também foi eficaz em aumentar a RT tanto da STM quanto da LTM, com VL para o controle 17,8 e 5,2 s e de 40,8 ($p \leq 0,01$) e 60,6 s ($p \leq 0,001$) para a dose de 300 mg/kg, respectivamente. O EEMO diminui a atividade locomotora do animal no campo aberto 1 h após a sua administração via i.p., mas não 24 h. **Conclusão:** Os dados mostram que a EEMO melhora a memória em ratos na EI. Apesar de gerar um déficit motor nos animais na primeira hora após a sua administração, não gera nenhum distúrbio motor após 24 horas, sugerindo que sua ação na LTM parece ser específica. **Apoio Financeiro:** CNPq, CAPES, FAPESC, UFSC.

02.024

INFLUÊNCIA DA LIDOCAÍNA NO BLOQUEIO NEUROMUSCULAR PRODUZIDO PELO ROCURÔNIO. ESTUDO EXPERIMENTAL EM DIAFRAGMA DE RATO

Loyola, Y.¹; Braga, A.²; Braga, F.²; Sousa, S.³; Poterio, G.²; Fernandes, S.³ - ¹UNIFENAS - Farmacologia; ²UNICAMP - Anestesiologia; ³UNICAMP - Farmacologia

Introdução: Muitos estudos estão sendo realizados para investigar o mecanismo de ação dos anestésicos locais (AL) na junção neuromuscular. Em baixas doses, seu emprego isolado, não interfere na transmissão neuromuscular, no entanto em altas doses atuam na transmissão neuromuscular. Objetivamos estudar em preparação nervo frênico diafragma de rato, a influência da lidocaína no bloqueio neuromuscular produzido pelo rocurônio. **Método:** Utilizou-se a preparação nervo frênico-diafragma de rato (NFD), para verificar o efeito da lidocaína (20mg/ml) na transmissão neuromuscular e a sua influência no bloqueio neuromuscular produzido pelo rocurônio (4mg/ml). **Resultados:** Nas preparações NFD, a lidocaína isoladamente não alterou a amplitude das respostas musculares no entanto potencializou o bloqueio produzido pelo rocurônio em 82,8%, significativamente maior do que quando o rocurônio foi empregado isoladamente (57,8%). **Discussão e Conclusões:** A interação entre os anestésicos locais e os bloqueadores neuromusculares não está completamente elucidada, e vários mecanismos podem ser responsáveis por esta potencialização. Por ação pré-sináptica, os (AL) deprimem seletivamente a condução nas fibras motoras e diminuem a liberação de acetilcolina durante a estimulação nervosa e por ação pós-sináptica podem se ligar a locais específicos de acetilcolina, resultando em dessensibilização desses receptores. Os resultados mostraram que a lidocaína empregada isoladamente não exerceu efeitos na junção neuromuscular mas potencializou o bloqueio produzido pelo rocurônio.

02.025

EFEITO DO TRATAMENTO COM ACUPUNTURA TRADICIONAL (MANUAL) SOBRE O EDEMA INDUZIDO POR CARRAGENINA EM PATAS DE RATOS.

Ferreira, M. L. P. K.¹; Demarco, V.²; Beirith, A.² - ¹FURB - Fisioterapia; ²FURB - Ciências Naturais

INTRODUÇÃO: A Acupuntura é integrante da Medicina Tradicional Chinesa, que tem uma história de 5.000 anos. A palavra Acupuntura, reunindo as raízes latinas *acus* (agulha) e *punctum* (picada), refere-se à inserção de agulhas através da pele, em pontos específicos localizados em um sistema chamado meridianos, com o objetivo de produzir efeito terapêutico. Diversos artigos publicados recentemente demonstram aplicações da Acupuntura nas mais variadas patologias. Os objetivos do presente trabalho foram verificar a eficácia do tratamento através da Acupuntura Manual como antiedematogênica, antes ou após a indução do edema de pata em ratos. **MÉTODOS:** Foram utilizados ratos Wistar machos (4 a 6 animais por grupo, pesando 150-180 g) e o modelo utilizado foi do edema de pata induzido por carragenina (300 µg/pata, em 100 µl de PBS). A medida da espessura das patas, do mesmo modo que as sessões de Acupuntura (nos pontos E36 (Zusanli) e B60 (Kunlun), com duração de 40 min), foi realizada antes (30 min) e após (15 min) a administração de carragenina, com o auxílio de um paquímetro. Os animais foram divididos em 4 grupos sendo: 1) animais que receberam somente PBS (100 µl/pata) por via intraplantar (i.pl.), 2) animais que receberam PBS por via i.pl. e a sessão de Acupuntura Manual, 3) animais que receberam somente carragenina (300 µg/pata) por via i.pl. e 4) animais que receberam carragenina por via i.pl. e a sessão de Acupuntura Manual. **RESULTADOS:** Os resultados indicam que a sessão de Acupuntura Manual, realizada antes da administração de carragenina, não apresenta atividade antiedematogênica neste modelo, quando avaliada até 4, 24 e 48 horas após a aplicação do agente flogístico. Quando a sessão de Acupuntura Manual é realizada após a administração de carragenina, há uma atividade antiedematogênica significativa (inibição máxima de $56 \pm 6\%$) neste modelo, quando avaliada até 4 horas após a aplicação da carragenina. **DISCUSSÃO:** Os resultados do presente estudo nos permitem concluir que a Acupuntura Manual pode ser considerada um recurso adicional a ser usado para o tratamento e controle dos efeitos nocivos da exacerbação, dor e perda de função decorrentes da inflamação. Além disso, o efeito antiedematogênico pode estar associado a um efeito antiinflamatório, o que será estudado em ensaios específicos posteriores. **Apoio Financeiro:** FURB

02.026

ENVOLVIMENTO DE RECEPTORES A-1 NA RESPOSTA PRESSORA DESENCADEADA PELA MICROINJEÇÃO DE NORADRENALINA (NA) NA ÁREA SEPTAL LATERAL (ASL) DE RATOS

Scopinho Augusto, A.¹; Resstel, L. B. M.¹; Correa, F. M. A.¹ - ¹FMRP - USP - Farmacologia

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS: A NA administrada na ASL de ratos não anestesiados produz efeito pressor e bradicardia dose-dependentes. Nosso objetivo foi investigar qual o tipo de receptor adrenérgico que estaria sendo ativado pela administração de NA na ASL. **MÉTODOS:** Foram utilizados ratos Wistar (220-270g). Cânulas-guia foram implantadas na ASL para microinjeção de NA. Um catéter foi introduzido na artéria femoral para registro da pressão arterial. **RESULTADOS:** A ED₅₀ da NA (21nmol/200nL) foi a dose utilizada nos protocolos (Δ PAM= +20 ± 1,4 mmHg e Δ FC= -52.2± 6.4 bpm, n=5). O pré-tratamento com WB4101 (antagonista α 1) bloqueou a resposta pressora causada pela microinjeção de NA na ASL (DPAM antes do WB4101= +22.6 ± 2.5 mmHg e após o WB4101= +1.2 ± 0.5 mmHg, n=5) e a diminuição da FC (DFC antes do WB4101= -60 ± 3.9 bpm e após o WB4101= -2 ± 3.4 bpm, n= 5). O pré-tratamento com RX821002 (antagonista α 2) não alterou a resposta pressora causada pela microinjeção de NA na ASL (DPAM antes do RX821002= +22 ± 1.1 mmHg e após o RX821002= +28.1 ± 3.4 mmHg, n=5) e a diminuição da FC (DFC antes do RX821002= -54.5 ± 9.1 bpm e após RX821002 = -71 ± 5.9 bpm, n= 5). **CONCLUSÃO:** Os dados sugerem que os receptores α 1 estão envolvidos na resposta pressora à NA na ASL. **Apoio Financeiro:** A. S. Augusto (bolsa Cnpq), FAPESP 0410445-0.

02.027

BETA-ADRENERGIC RECEPTORS ANTAGONIZE THE CARDIOVASCULAR RESPONSES TO MICROINJECTION OF NORADRENALINE IN BED NUCLEUS OF STRIA TERMINALIS OF UNANESTHETIZED RATS

Crestani, C. C.¹; Alves, F. H. F.¹; Resstel, L. B. M.¹; Correa, F. M. A.¹ - ¹FMRP - USP - Farmacologia

INTRODUCTION: The bed nucleus of stria terminalis (BST) is involved in cardiovascular control. Our goal was to verify the role of beta-adrenergic receptors in the cardiovascular responses to microinjection of noradrenaline (NA) in the BST. **METHODS:** Male Wistar rats were used. Guide cannulas were implanted in the BST for drug injection and a polyethylene catheter was implanted into femoral artery for arterial pressure (AP) and heart rate (HR) recording using a computerized acquisition system. **RESULTS:** Injection of 10 nmol/100 nL of NA in the BST caused a pressor (+32±4 mmHg) and bradycardic (-33±2 bpm) responses. Pretreatment with vehicle did not affect the pressor (33±3 vs 35±3 mmHg, t=0,5, p>0.05, n=5) and bradycardic (-35±6 vs -32±5, t=0,3, p>0.05, n=5) response to NA microinjection in the BST. The local pretreatment with increasing doses of propranolol, beta-adrenergic receptors antagonist, dose-related potentialized pressor ($r^2=0,82$, df= 7, n=12) and bradycardic ($r^2= 0,87$, df= 7, n=12) responses to microinjection of NA in the BST. **DISCUSSION:** The present results suggest that the cardiovascular responses to the microinjection of NA into the BST are antagonized by beta-adrenergic receptors activation in the BST. **Supported by:** CAPES, CNPq

02.028

A AUSÊNCIA DA AÇÃO ANTIINFLAMATÓRIA DOS GLICOCORTICÓIDES (GC) NO CÓRTEX FRONTAL NÃO É MEDIADA PELA DIMINUIÇÃO DA LIGAÇÃO DO COMPLEXO GC-GR AO DNA

Munhoz, C. D.¹; Sa Lima, L.²; Lepsch, B. L.²; Malta, M. B.³; Kawamoto, E. M.¹; Sapolsky, R.⁴; Scavone, C.² - ¹ICB - Farmacologia; ²ICB - USP - Farmacologia; ³Instituto de Ciências Biomédicas - Farmacologia; ⁴Stanford University - Biological Sciences

Apesar dos glicocorticóides (GC) serem utilizados como antiinflamatórios, esses hormônios potencializam a inflamação no cérebro danificado. Nós mostramos que estresse, via GC, potencializa a ativação do NF- κ B induzida por LPS no córtex frontal e hipocampo de ratos e que GC potencializam a expressão de genes pró-inflamatórios, como TNF- α , NOSi e IL-1 β nestas regiões. Para verificar se esta ação dos GC era devido à sua sinalização intracelular prejudicada, nós analisamos, pelo ensaio de gel shift, a ligação do complexo GC-GR (receptor de GC) ao DNA no córtex frontal. Ratos intactos (INT) ou adrenalectomizados implantados com pellets contendo níveis crescentes de GC receberam injeção (e.v) de salina (SAL) ou LPS (1mg/kg) e foram sacrificados após 2 horas. 15%, 60% e 100% CORT aumentou a ligação GC-GR no córtex frontal quando comparados ao grupo INT SAL (n=5, p<0,001). O tratamento com LPS provocou aumento na ligação GC-GR quando comparado ao grupo INT SAL. O mesmo efeito foi observado nos animais 15% e 60% CORT (n=5, p<0,001). Já nos animais 30% CORT, o tratamento com LPS potencializou a ligação GC-GR quando comparado ao mesmo grupo que recebeu SAL (n=5, p<0,05). Esses resultados indicam que a ausência da ação antiinflamatória dos GC no córtex frontal de ratos não é devido a danos na sinalização intracelular desses hormônios, uma vez que a ligação GC-GR está preservada e até mesmo aumentada na vigência do estímulo infamatório. **Apoio Financeiro:** FAPESP; CNPq

02.029

NEUROCHEMICAL CHARACTERIZATION OF MICE DEFICIENT FOR THE VESICULAR ACETYLCHOLINE TRANSPORTER

Martins-Silva, C.¹; De Castro, B. M.¹; Gomez, M. V.¹; Caron, M. G.²; Prado, M. A. M.¹; Prado, V. F.³ -
¹UFMG - Farmacologia; ²Duke University - Cell Biology; ³UFMG - Bioquímica e Imunologia

The vesicular acetylcholine transporter (VACHT) is responsible to fulfill cholinergic synaptic vesicles and comprises an essential step to support cholinergic neurotransmission. In order to study the consequences of VACHT hypofunction we generated a mouse line with alteration in VACHT protein levels (Knock-down). PCR and Southern blot analysis confirmed genomic alteration in this new mouse line. Northern analysis indicated that the major mRNA species for VACHT was significantly reduced in VACHT knock-down (KD) mice whereas a second species was slightly increased. We investigated VACHT protein levels by immunoblot analysis in several central nervous system regions. Heterozygous VACHT mutant mice (KD^{HET}) presented an overall decrease of $56 \pm 4\%$ of VACHT protein levels, whereas levels of VACHT were reduced to $31 \pm 7\%$ in homozygous mutant mice (KD^{HOM}). Distinct methods showed that decreased VACHT expression levels in VACHT knock-down mice lead to decreased ACh release. In addition, VACHT knock-down mice showed higher intracellular ACh content compared to wild-type mice. This increase in ACh content was not the result of an increase in choline acetyltransferase activity, nor of high-affinity choline transporter activation. In conclusion we generated a mouse line in which VACHT expression was reduced. The consequence of this reduction was a decrease in the ACh release resulting in accumulation of this neurotransmitter in the cytosol. **Supported by:** CAPES, CNPq, AHAF, NIH-Fogarty, FAPEMIG, Instituto do Milênio.

02.030

THE INJECTION OF ANGIOTENSINS (ANG) III AND IV IN THE RAT PERIAQUEDUCTAL GRAY MATTER (PAG) ELICITS ANTINOCICEPTION

Rosa, E.¹; Guethe, L. M.¹; Pelegrini-Da-Silva, A.²; Juliano, M. A.³; Prado, W. A.⁴; Martins, A. R.⁴ - ¹FFCLRP - USP - Psicologia e Educação; ²Faculdade de Odontologia de Piracicaba - Fisiologia; ³UNIFESP - EPM - Instituto de Farmacologia; ⁴FMRP - USP - Farmacologia

Introduction Endogenous Ang II elicits receptor-mediated antinociception upon injection into the PAG (Pelegrini-da-Silva *et al*; Neuroscience 132: 453, 2005). Since most CNS effects elicited by Ang II are predominantly due to Ang III, we have tested whether Ang III and IV can elicit antinociception upon injection into the PAG. **Materials and Methods** Peptide or vehicle was microinjected into the ventrolateral PAG (vIPAG) of anesthetized *Wistar* rats using the stereotaxic coordinates of Paxinos and Watson's (1986) atlas. Antinociception was determined using the tail flick test. **Results** The latencies obtained in the tail flick test (seconds) of the different doses of Ang III (nmol) [0.05 ($X=3.3 \pm 0.26$; n=8), 0.1 ($X=3.6 \pm 0.63$; n=7), 0.2 ($X=3.7 \pm 0.67$; n=8), 0.4 ($X=3.8 \pm 0.55$; n=8), 0.8 ($X=3.4 \pm 0.59$; n=5), 1.6 ($X=3.4 \pm 0.43$; n=6) and of the different doses of Ang IV (nmol) [0.05 ($X=3.7 \pm 0.55$; n=6), 0.1 ($X=3.5 \pm 0.43$; n=8), 0.2 ($X=3.6 \pm 0.54$; n=6), 0.4 ($X=3.6 \pm 0.51$; n=7), 0.8 ($X=3.7 \pm 0.54$; n=8), 1.6 ($X=3.5 \pm 0.57$; n=5) that elicited antinociception differed significantly from saline ($X=3.0 \pm 0.22$; n=6, $p \leq 0.001$, $f=4.5$ to Ang III and $X=3.0 \pm 0.15$; n=6, $p < 0.02$, $f=2.92$ to Ang IV). Ang III (0.05 nmol) did not elicit antinociception, whereas the same dose of Ang IV did. Antinociceptive effect lasted for about 20 min for both Ang. Angiotensins III and IV-elicited antinociception changed according to the AP coordinate, being apparently more intense at rostral PAG. **Conclusions** Ang III and IV elicited intense antinociception upon their injection into the vIPAG. This effect appears to be strongest at the rostral vIPAG region. **Supported by:** FAPESP, FAEPA and CNPq.

02.031

DORSAL PERIAQUEDUCTAL GRAY AREA PRESSOR RESPONSE: THE HYPOTHALAMIC PARAVENTRICULAR NUCLEUS INVOLVEMENT

Pelosi, G. G.¹; Tavares, R. F.¹; Correa, F. M. A.¹ - ¹FMRP - USP - Farmacologia

INTRODUCTION: The dorsal periaqueductal gray area (dPAG) is involved in cardiovascular modulation. In a previous study we showed that noradrenaline (NA) microinjected in the dPAG caused pressor response mediated by vasopressin release. In the present study we evaluated the involvement of the hypothalamic paraventricular nucleus (PVN) in the cardiovascular response of NA in the dPAG of unanesthetized rats.

METHODS: Male Wistar rats were used (220-270g). Guide cannulas were implanted into the dPAG and PVN. A catheter was introduced into the right femoral artery for blood pressure recording.

RESULTS: Cobalt (1mM/100nL - synaptic inhibitor) microinjection in the PVN reduced the pressor response (DMP, before: $+41.6 \pm 4.0$ mmHg; after: $+11 \pm 2.3^*$ mmHg, n=7; F=16, *p<0.05) evoked by NA injection (15nmol/50nL) in the dPAG, but it did not affect the cardiac response (DHR, before: -38 ± 8.5 bpm; after: -32 ± 6.4 bpm, n=7; F=0.4). 24 hours later the cardiovascular response to NA into the dPAG was restored (DMP: $+35 \pm 5.0$ mmHg; DHR: -38 ± 8.5 bpm, n=7). **DISCUSSION:** The results suggest that the noradrenergic dPAG pathway involves synapses in the PVN. **Supported by:** FAPESP (02/14147-9; 04/01270-2); CNPq (306381/2003-6; 505394/2003-0).

02.032

MODULAÇÃO DA VIA DE SINALIZAÇÃO DAS MAPKs PELO ALCALÓIDE MONTANINA

da Silva, A. F. S.¹; Andrade, J. P.²; Zuanazzi, J. A. S.²; Izquierdo, I. A.²; Henriques, A. T.²; Bevilaqua, L. R. M.³ - ¹UFRGS - Farmacologia; ²UFRGS - Farmacognosia; ³UFRGS - Bioquímica

A acetilcolina é um dos principais neurotransmissores presentes no hipocampo, uma estrutura subcortical essencial para o aprendizado e a formação de memórias. Acredita-se que o déficit mnemônico observado nos pacientes com a doença de Alzheimer resulte de uma alteração no sistema colinérgico hipocampal. Atualmente, a galantamina (GAL), capaz de inibir a enzima acetilcolinesterase aumentando, conseqüentemente, os níveis de acetilcolina, é o tratamento de escolha para a doença de Alzheimer. No presente estudo, isolamos um alcalóide pertencente à mesma classe que a galantamina, montanina (MON) e verificamos o efeito que o mesmo apresenta sobre o estado de fosforilação de diversos componentes da via de sinalização das MAPKs, via bioquímica envolvida com a plasticidade do SNC, através do uso de anticorpos fosfo-específicos e da técnica de Western Blot. A investigação da atividade anticolinesterásica da MON foi avaliada por cromatografia em camada delgada. Nossos resultados demonstram claramente um aumento no estado de fosforilação de pRaf ($p < 0,05$; $n=3$), pERK1/2 ($p < 0,01$; $n=5$), pMEK ($p < 0,05$; $n=3$) e pCREB ($p < 0,05$; $n=3$), indicando que a via das MAPKs é ativada pelo tratamento de fatias hipocampais com MON. A MON apresentou também uma importante atividade anticolinesterásica. **Apoio Financeiro:** CAPES, CNPq, FAPERGS.

02.033

OUABAIN ACTIVATES NF-kB IN CEREBELLAR PRIMARY CELL CULTURE.

Sa Lima, L.¹; Munhoz, C. D.²; Lepsch, B. L.¹; Kawamoto, E. M.²; De Lima, T. M.³; Curi, R.⁴; Scavone, C.¹ -
¹ICB - USP - Farmacologia; ²ICB - Farmacologia; ³USP - Fisiologia; ⁴ICB - USP - Fisiologia e Biofísica

Introduction: The Na,K-ATPase enzyme is responsible for maintaining the electrochemical gradient of sodium and potassium ions and play an important role in the regulation of ionic homeostasis in tissue and cells. This enzyme can also act as a signal transducer and a transcription activator by interacting with membrane proteins and organized cytosolic cascades of signaling proteins. Our aim was to study if Ouabain, an inhibitor of Na,K-ATPase, can regulate NF-kB in primary cell culture. Methods: Cerebellar cell culture was treated with Ouabain (10uM) in different time points (1, 2, 4 and 24 hours). Cells were incubated with PP1 (Src-family tyrosine kinase inhibitor) (10uM) or PD98059 (MAPK inhibitor) (10uM) 20 min before Ouabain. Nuclear extracts were isolated and gel mobility shift assay used to measure changes in NF-kB activity. FACS assay to measure cell viability was also performed. Statistic comparisons were performed by ANOVA-Newman-Keuls test – P<0.05. Results: Ouabain induces NF-kB activation in all times studied (A.U. = Control= 4.9 ± 0.1 (n=14); Ouabain -10uM -1h= 7.3 ± 1.7, n=2; 2h=9.2 ± 0.7, n=7; 4h= 7.4 ± 1.2, n=3; 24h= 8.1 ± 1.0, n=2). This activation was partially reduced by PP-1 and completely reverted by PD98059 (n=3). By FACS assay none of these treatments caused cell death (n=6). These results suggest that Ouabain activates NF-kB by Src-MAPK pathways in cerebellar cell culture. **Supported by:** FAPESP, CNPq, Procontes-USP

02.034

MORTE CELULAR E ATIVAÇÃO DO FATOR DE TRANSCRIÇÃO NF-kappaB PELA COCAÍNA É DEPENDENTE DA DOSE E DO TEMPO DE INCUBAÇÃO

Lepsch, B. L.¹; Munhoz, C. D.¹; Kawamoto, E. M.¹; Sa Lima, L.²; Planeta, C. da S.³; Scavone, C.² - ¹ICB - Farmacologia; ²ICB - USP - Farmacologia; ³UNESP - Araraquara - Princípios Ativos Naturais e Toxicologia

Introdução: As drogas de abuso estão associadas a déficit cognitivos e neurodegeneração. Há evidências de varias drogas de abuso que causam morte celular por apoptose e/ou necrose e essas alterações podem estar envolvidas nas mudanças comportamentais causadas pelo uso compulsivo da droga. A cocaína é uma droga de abuso que atua bloqueando o sítio de recaptção da dopamina e/ou bloqueando canais de sodio. O NF-kappaB é um fator de transcrição envolvido na ativação de genes pró-apoptóticos, tendo deste modo, uma grande participação no processo de morte celular. Nosso objetivo foi avaliar a modulação da atividade do NF-kappaB e a morte celular após tratamento com cocaína em células dopaminérgicas PC12. **Materiais e Métodos:** Células PC12 foram incubadas com concentrações crescentes de cocaína (0,05; 0,25; 0,5; 0,75; 1,0mM) durante 8 horas. Para o decurso temporal as células foram incubadas com 1mM de cocaína por 1,3,6,8,16 e 24 horas. Após isolamento do extrato nuclear as células foram submetidas ao Ensaio de Retardamento da Mobilidade Eletroforética da atividade do NF-kappaB. A morte celular foi mensurada através da análise de citometria de fluxo 8 e 24 horas após 1mM e 2mM de cocaína. **Resultados:** A cocaína induziu a ativação do NF-kappaB nas concentrações de 0,75 e 1mM após 8 horas de tratamento. Esta ativação iniciou-se após 3 horas como observado no decurso temporal (cont: 120 ± 15 UA n=3; cocaína: 10000 ± 24 UA n=3). Após 24 horas de tratamento não houve ativação do NF-kappaB, porém, observamos uma diminuição dose dependente da viabilidade celular e fragmentação do DNA. **Conclusão:** Nossos resultados sugerem que a cocaína, em células PC12, induz uma ativação dose dependente do NF-kappaB após 8 horas e causa morte celular após 24 horas de tratamento. Deste modo podemos sugerir uma participação desse fator de transcrição na indução da morte celular causada pela cocaína. **Apoio Financeiro:** Fapesp

02.035

EFEITO DE AGONISTAS DE RECEPTORES CANABINÓIDES NO CRESCIMENTO DE CÉLULAS-TRONCO NEURAIAS HUMANAS

Fernandes, A. M.¹; Guimaraes, M. Z. P.²; Mesquita, C. M.²; Rehen, S. K.¹ - ¹UFRJ - Anatomia; ²UFRJ - Farmacologia Básica e Clínica

Introdução: Análogos sintéticos de tetra-hidrocanabinol (THC) aumentam a neurogênese hipocampal em camundongos (Jiang et al J. Clin. Invest. 115:3104, 2005) mas seu efeito sobre o desenvolvimento de células-tronco neurais humanas (CTNh) é desconhecido. Neste trabalho, examinamos a influência do agonista sintético específico de receptores CB1 e CB2 (WIN 55212-2) sobre o crescimento de neuroesferas humanas *in vitro*. **Métodos e resultados:** CTNh derivadas do córtex cerebral *pós-mortem* de pacientes com 25 semanas de idade (National Human Neural Stem Cell Resource, USA) foram cultivadas como neuroesferas individuais em placas de 96 poços contendo DMEM/F12, 2% B-27, 10⁵ unidades/l penicilina-estreptomicina a 37°C e 5% CO₂ na presença ou ausência de R(+) WIN 55212-2 (Axxora). Diferenciação neuronal (bTubulinaIII), morfologia nuclear (DAPI) e diâmetro das neuroesferas foram analisados. Após 5 dias *in vitro* o tratamento com WIN 55212-2 modificou o curso de diferenciação das neuroesferas e provocou alteração em até 50% no tamanho destas, sem entretanto induzir morte celular. **Discussão:** Nossos resultados indicam que a ativação específica de receptores canabinóides influencia a neurogênese de progenitores neurais derivados do cérebro humano e interfere com o crescimento de neuroesferas *in vitro*. **Apoio Financeiro:** CNPq, CAPES e PEW Latin American Program in Biomedical Sciences.

02.036

ALTERAÇÕES NEUROQUÍMICAS PRODUZIDAS POR ETANOL E ESTRESSE EM CAMUNDONGOS

Carrara-Nascimento, P. F.¹; Santos, J. R. B. dos¹; Soares, S. L.¹; Rueda, A. V. L.¹; Munhoz, C. D.¹; Scavone, C.¹; Camarini, R.¹ - ¹ICB - USP - Farmacologia

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS: A sensibilização comportamental é usada como ferramenta para o estudo de dependência de drogas de abuso. O consumo de drogas e a exposição a estresse são duas condições interligadas. O estresse aumenta a propensão à auto-administração de drogas de abuso e existe sensibilização cruzada entre drogas e estresse. Além disso, danos neuronais produzidos por etanol e estresse conduzem a complicações neurodegenerativas. O fator de transcrição NF-κB regula inúmeros genes e processos celulares, como desenvolvimento neuronal, plasticidade, inflamação, morte e defesa celular. A ativação de fatores de transcrição como a proteína de ligação ao elemento de resposta do AMPc (CREB – *cAMP response element binding protein*) no núcleo accumbens e outras regiões cerebrais por drogas de abuso ou estresse participam de certos aspectos da dependência. Tanto a sensibilização comportamental a psicoestimulantes quanto fatores estressantes aumentam a quantidade da forma fosforilada de CREB. O objetivo deste trabalho foi investigar alterações neuroquímicas produzidas por etanol e estresse imprevisível em camundongos adultos.

MÉTODOS: Foram usados 44 camundongos Swiss machos, divididos nos grupos: controle (C; N=11), salina (S; N=11), etanol (ET; N=11), estresse (ECI; N=11). Durante onze dias, os animais dos grupos S e ET receberam uma injeção, i.p., de salina 0,9% ou etanol 1,8 g/kg, respectivamente. No mesmo período, o grupo ECI foi submetido ao estresse crônico imprevisível, enquanto o grupo C permaneceu na caixa-moradia. O ECI consistiu em: privação de água e comida, isolamento, imobilização, natação, permanência em serragem úmida. No 12º dia, todos os animais receberam uma injeção, i.p., de etanol (1,8 g/kg) e a atividade locomotora foi quantificada durante 5 min, 5 minutos após a injeção. Os animais foram sacrificados 3h após a injeção e o encéfalo dissecado em córtex frontal e hipocampo para análise do fator de expressão NF-κB e CREB. **RESULTADOS:** Somente o tratamento repetido com etanol foi capaz de diminuir a atividade de ligação ao DNA do NF-κB no córtex pré-frontal (C=179,35±10,55; S=159,64±20,94; E=155,20±12,87; Et=104,59±11,06). Por outro lado, todos os grupos que receberam algum tratamento prévio (S, E e ET), apresentaram um aumento da ativação do fator CREB no córtex frontal, quando comparados com o grupo C (C=71,33±9,54; S=147,38±40,87; E=197,26±11,07; Et=206,16±7,32).. **DISCUSSÃO:** A estimulação de receptores NMDA ativa o NF-κB; o etanol é considerado um antagonista destes receptores. Já a exposição aguda a estresse aumenta a ativação do NF-κB em córtex frontal de ratos. Nossos resultados mostraram uma inibição do fator NF-κB em córtex pré-frontal de animais tratados repetidamente com etanol (ET), mas o mesmo não foi observado nos animais do grupo E. Esses resultados sugerem uma plasticidade compensatória ao tratamento repetido com etanol. Além disso, parece haver uma competição entre os efeitos do estresse e do etanol sobre o NF-κB. Segundo a literatura, a exposição a estímulos estressantes aumenta o grau de expressão do CREB.. Nossos resultados mostraram que todos os animais que receberam algum tratamento prévio (grupos S, ET e ECI) apresentaram um aumento da ativação do fator CREB no córtex pré-frontal. Assim, injeções repetidas de salina podem também ser um fator de estresse para o animal. Dessa forma, os dados sugerem que a ativação do CREB possa estar mais relacionada às alterações intracelulares induzidas pelo estresse do que ao efeito do etanol. **Apoio Financeiro:** FAPESP

02.037

INFLUÊNCIA DA NIFEDIPINA NO BLOQUEIO NEUROMUSCULAR PRODUZIDO PELO ATRACÚRIO E PELO CISATRACÚRIO. ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATO

Braga, A.¹; Sousa, S.²; Poterio, G.¹; Braga, F.¹; Loyola, Y.³; Fernandes, S.² - ¹UNICAMP - Anestesiologia; ²UNICAMP - Farmacologia; ³UNIFENAS - Farmacologia

Introdução: Muitos estudos têm sido realizados para investigar os efeitos dos bloqueadores de canais de cálcio nas respostas musculares e no bloqueio neuromuscular (BNM) produzido por bloqueadores neuromusculares. Objetivamos estudar em preparação nervo frênico diafragma de rato (NFD), a influência da nifedipina no BNM produzido pelo atracúrio e cisatracúrio. **Método:** Utilizou-se a preparação (NFD), para verificar o efeito da nifedipina (4mg/ml) na transmissão neuromuscular e a sua influência no BNM produzido pelo atracúrio (20mg/ml) e cisatracúrio (3mg/ml). **Resultados:** Nas preparações NFD, a nifedipina isoladamente não alterou a amplitude das respostas musculares. O BNM produzido pelo atracúrio e pelo cisatracúrio, isoladamente foi de $45,02 \pm 6,33\%$ e $48,01 \pm 10,33$, respectivamente. Associando a nifedipina aos bloqueadores neuromusculares, os bloqueios neuromusculares foram significativamente maiores: atracúrio ($64,19 \pm 9,37\%$) e cisatracúrio ($74,04 \pm 10,12\%$) em relação ao bloqueio isolado dos bloqueadores neuromusculares. **Discussão e Conclusões:** Os bloqueadores de canais de cálcio, impedem o influxo de cálcio através da membrana dos canais lentos, alterando a concentração de cálcio e de adenosina monofosfato cíclico pré-sináptico, prejudicando a liberação do neurotransmissor, inibindo a transmissão neuromuscular. Estas drogas também apresentam atividade anestésica local, que pode contribuir para o efeito depressor na contração muscular, talvez devido sua ação no canal rápido de sódio. A nifedipina na concentração empregada potencializou o bloqueio neuromuscular produzido pelo atracúrio e pelo cisatracúrio

02.038

ESTABELECIMENTO DE UM MODELO DE PARAPLEGIA EXPERIMENTAL POR LESÃO MEDULAR EM RATOS

Koepp, J.¹; Bento, A. F.¹; Dias, M. A.²; Mazzuco, T. L.¹; Calixto, J. B.¹ - ¹UFSC - Farmacologia; ²Instituto do Câncer de Londrina - Neurocirurgia, Londrina, PR

Introdução: O trauma raquimedular é uma das lesões traumáticas com grande impacto sobre a sociedade, o que faz com que enormes investimentos sejam feitos em estudos visando entender os mecanismos envolvidos nesta doença. Para tal, é fundamental a reprodução seriada de lesões com o mesmo tipo de trauma medular levando a áreas danificadas com volumes de necrose tecidual idênticos. Assim, este trabalho visa o desenvolvimento de um sistema de estudo de lesões medulares em animais de pequeno porte, com a padronização de um modelo de fase aguda do trauma medular. **Métodos e Resultados:** Ratos Wistar machos anestesiados com xilazina e quetamina (300 mg/kg. i.p.) foram submetidos à laminectomia no nível T9-T10 seguida de inserção (grupo lesado) ou não (grupo falso-operado) de um catéter com balão (Fogarty 2F) diretamente no espaço subdural, o qual foi inflado (diâmetro de 4,5 mm) por 1 min. A laminectomia causou queda da temperatura retal de $36,1 \pm 0,2$ para $35,6 \pm 0,3$ °C em ambos os grupos (n=24) retornando a valores basais ao final da cirurgia. Nos animais do grupo lesado, houve uma diminuição do peso corpóreo ($- 14,7 \pm 1,2$ g; n=12) nas primeiras 48 h após a lesão, com evidência à necropsia de alterações macroscópicas na medula espinhal (zona hemorrágica de 5 – 10 mm de extensão, na região de T9 – T10) e na bexiga (perda da elasticidade da parede vesical e hematúria franca), mas não em outros órgãos como intestino, fígado, estômago, baço e coração. A análise histológica da medula espinhal de ratos lesados, mas não falso-operados, sacrificados 48 h após a cirurgia revelou ausência de corpos neuronais. Todos os animais submetidos ao trauma apresentaram analgesia e hipotonia abaixo do nível da lesão, caracterizando paraplegia. **Conclusão:** O modelo experimental mostrou-se aplicável ao estudo das lesões provocadas pelo trauma raquimedular, uma vez que os resultados reproduziram com fidelidade as lesões obtidas em situações clínicas de traumatismo medular em humanos, constituindo uma ferramenta útil para o estudo terapêutico desta patologia a nível experimental. **Apoio Financeiro:** CNPq, PRONEX, FAPESC